

SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA ANALOG UK-3A
Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester

Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Magister Sains Ilmu Kimia

AKHMAD DARMAWAN
0606151072



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA
DEPOK
2008

**SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA ANALOG UK-3A
Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester**

Tesis Magister Sains Ilmu Kimia

AKHMAD DARMAWAN

0606151072



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA
DEPOK
2008**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tesis ini telah disetujui oleh :

Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc.
Pembimbing I

Dr. Muhammad Hanafi
Pembimbing II

Prof. Dr. Sumi Hudiyono, PWS.
Ketua Penguji

Dr. Herry Cahyana
Sekretaris Penguji

Prof. Dr. Endang Asijati, W., MSc.
Anggota Penguji

Dr. Emil Budianto
Anggota Penguji

**Program Studi Magister Ilmu Kimia
Program Pascasarjana FMIPA – UI
Ketua,**

Dr. Jarnuzi Gunluardi
NIP. 131 625 268

*Semakin tinggi ilmu yang dicari dan dipelajar
Semakin nyata dan terasa ketidaktahuan kita, maka
Semakin kecil bayangan kita di hadapan Sang Pencipta.*



*Tesis ini merupakan persembahanku kepada
Allah S.W.T atas Karunia, Rahmat dan Hidayah-Nya;
Kedua Orang Tua atas do'a, ridho dan dorongannya;
Istriku atas pengertian, dorongan serta pengorbanannya;
Afif Faturrahman Huzairi dan Mumtaz Rahadatul 'Aisy atas senyum lugu dan canda
tawanya.*

ABSTRAK

SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA ANALOG UK-3A Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester

Xii + 83 halaman, tabel, gambar, lampiran

Telah disintesis senyawa pikolinil serin oktil ester dan pikolinil serin oktil oktanoil ester, yang merupakan hasil modifikasi struktur dari senyawa UK-3A yang secara biologi aktif menghambat pertumbuhan bakteri dan sel kanker. Berdasarkan nilai E-docking -11,3575 Kcal/mol (log P 1,61) untuk senyawa pikolinil serin oktil ester dan E-docking -13,50 Kcal/mol (log P 4,35) untuk pikolinil serin oktil oktanoil ester, diharapkan kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa aslinya. Sintesis ini dilakukan melalui dua tahapan reaksi untuk senyawa pikolinil serin oktil ester dan tiga tahapan reaksi untuk senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester. Reaksi pertama adalah esterifikasi antara asam L-serin dan 1-oktanol dengan pelarut benzen dan katalis *p*-toluenasulfonat (*p*-TsOH) menghasilkan senyawa serin oktil ester *p*-TsOH sebesar 57,10%. Selanjutnya senyawa hasil reaksi pertama kembali direaksikan pada tahap kedua dengan asam 3-hidroksipikolinat menggunakan aktivator/katalisator DCC/DMAP dalam pelarut piridin menghasilkan senyawa pikolinil serin oktil ester sebesar 61,73%. Untuk hasil berupa senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester yang

diperoleh sebesar 63,43%, hasil reaksi tahap kedua kembali direaksikan dengan asam oktanoat menggunakan aktivator dan katalisator DCC/DMAP dalam pelarut kloroform. Uji toksisitas metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) terhadap kedua senyawa diperoleh nilai LC_{50} sebesar 851,14 $\mu\text{g/mL}$ dan 1071,52 $\mu\text{g/mL}$. Uji sitotoksitas terhadap sel *Murine leukemia* P-388 diperoleh nilai LC_{50} untuk senyawa pikolinil serin oktil ester dan pikolinil serin oktil oktanoil ester berturut-turut sebesar 32 $\mu\text{g/mL}$ dan 50 $\mu\text{g/mL}$.



ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOACTIVITY TEST OF UK-3A ANALOGUES Picolinyl Serin Octyl Ester and Picolinyl Serin Octyl Octanoyl Ester

Xi + 83 pages, tables, pictures, appendixes

The novel compounds of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoyl ester were obtained from modification of the UK-3A compound, known biologically active to inhibit bacterial and cancer cells growth. Based on E-docking value -11,3575 Kcal/mol (log P 1,61) for picolinyl serin octyl ester compound and E-docking -13,50 Kcal/mol (log P 4,35) for picolinyl serin octyl octanoyl ester, synthesis of these two compounds were carried out in two steps reaction for picolinyl serin octyl ester and three steps reaction for picolinyl serin octyl octanoyl ester. The synthesis started by esterification reaction between L-serin acid and 1-octanol with *p*-toluenesulfonic acid as catalyst in benzene yielded 57.10% of serin octyl ester-*p*-TsOH. The esterification product in the first step was reacted using 3-hydroxypicolinic acid in pyridine and DCC/DMAP as catalyst/activator yielded 61.73% of picolinyl serin octyl ester. Picolinyl serin octyl octanoyl ester was obtained from second step reaction (amidation) reacted with octanoic acid in chloroform using

DCC/DMAP as catalyst/activator yielded 63.43% of picolinyl serin octyl octanoyl ester. The LC_{50} value of brine shrimp lethality test of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoyl ester were 851,14 $\mu\text{g/mL}$ and 1071,52 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Cytotoxicity test on *Murine leukemia* P-388 cells of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoyl ester yielded LC_{50} 32 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$, respectively.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur yang tak terhingga Penulis panjatkan kepada Allah S.W.T atas izin, rahmat dan hidayah-Nya sehingga tesis dengan judul Sintesis dan Uji Bioaktivitas Senyawa Analog UK-3A, Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester ini dapat diselesaikan. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk menempuh ujian akhir Program Studi Magister Ilmu Kimia pada Program Pascasarjana Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini Penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih dan rasa hormat yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc., selaku pembimbing I dan Dr. Muhammad Hanafi, selaku Pembimbing II, yang telah banyak membantu dan memberikan bimbingan serta arahan hingga terselesaikannya tesis ini.
2. Dr. Jarnuzi Gunlazuardi, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kimia, Program Pascasarjana Universitas Indonesia.
3. Dr. L. Broto S. Kardono, Apt., Apu. selaku kepala Pusat Penelitian Kimia - LIPI yang telah memberikan kesempatan mengikuti perkuliahan kepada Penulis.

4. Dr. Muhammad Hanafi, selaku kepala Bidang Bahan Alam, Pangan dan Farmasi, Puslit Kimia – LIPI, yang telah memberikan kesempatan serta fasilitas kepada Penulis untuk menyelesaikan tugas belajar.
5. Saudara/i Yulia Anita, Rizna Triana Dewi, Sofa Fajriah, Gozali, Lala dan Ibu Puspa Dewi, yang telah banyak membantu penulis melakukan penelitian tugas akhir.
6. Rekan-rekan kerja di Pusat Penelitian Kimia – LIPI atas dorongan dan semangatnya.
7. Kedua orang tua atas do'a dan harapannya

Tesis ini adalah sebuah persembahan sebagai rasa sayang Penulis kepada Istri dan kedua anakku (Afif Faturrahman Huzairy & Mumtaz Rahadatul 'Aisy) atas dukungan moral, do,a, pengertian dan pengorbanannya selama penulis menempuh studi.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritik sangat Penulis harapkan. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi kita semua.

Depok, Juni 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	5
1.3. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kanker	6
2.2. Senyawa UK-3A	8
2.3. Senyawa Antikanker	10
2.4. Sintesis Senyawa Analog UK-3A	11
2.5. Tahapan Reaksi Sintesis Senyawa Analog UK-3A	15
2.5.1. Reaksi Esterifikasi	15
2.5.2. Katalis	17
2.5.3. Reaksi Amidasi	19
2.6. Uji Bioaktivitas	20
2.6.1. <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	20
2.6.2. Uji Sitotoksisitas	21
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Bahan	23
3.2. Peralatan	23
3.3. Cara Kerja	24

3.3.1. Sintesis senyawa serin oktil ester- <i>p</i> -TsOH	24
3.3.2. Sintesis senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE)	25
3.3.3. Sintesis senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE)	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. E-docking	28
4.2. Sintesis Senyawa Analog UK-3A	31
4.3. Sintesis Senyawa Serin Oktil Ester <i>p</i> -TsOH	32
4.4. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester	37
4.5. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	46
4.6. Uji Bioaktivitas Senyawa Analog UK-3A	55
4.6.1. Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	55
4.6.2. Uji Sitotoksitas terhadap Sel <i>Murine leukimia</i> P-388	57
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	63
5.2. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit dengan jumlah korban jiwa yang sangat besar di dunia, dan penyakit ini tidak hanya berjangkit pada negara-negara berkembang saja, melainkan juga dirasakan oleh negara-negara maju. Lebih dari 7,6 juta jiwa telah menjadi korban penyakit kanker diseluruh dunia (Danaei, 2005). Banyaknya faktor penyebab terjadinya kanker seperti perokok aktif dan pasif, konsumsi alkohol, rendahnya konsumsi sayuran dan buah-buahan, pola hidup tidak sehat, polusi, merupakan salah satu pemicu banyaknya jumlah penderita kanker (Danaei, 2005). Sama halnya dengan penyakit kanker di dunia, di Indonesia, kanker telah menjadi penyakit nomor lima yang menyumbangkan jumlah korban meninggal dunia. Berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia (WHO), di Indonesia tidak kurang dari 206.000 jiwa melayang akibat penyakit ini (WHO, 2005).

Banyak usaha yang dilakukan untuk menanggulangi penyakit kanker, salah satu diantaranya adalah dengan mencari sumber obat baru. Salah satu usaha penemuan obat baru yang lebih disukai dan banyak dilakukan dalam dunia penelitian adalah pengembangan senyawa aktif/obat melalui proses modifikasi struktur suatu senyawa yang telah diketahui aktivitasnya terhadap

sel kanker, untuk mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi dibandingkan senyawa aslinya. Modifikasi struktur atau membuat senyawa analog yang lebih sederhana banyak dilakukan karena selain lebih cepat, juga lebih ekonomis (Siswandono & Soekarjo, 1995).

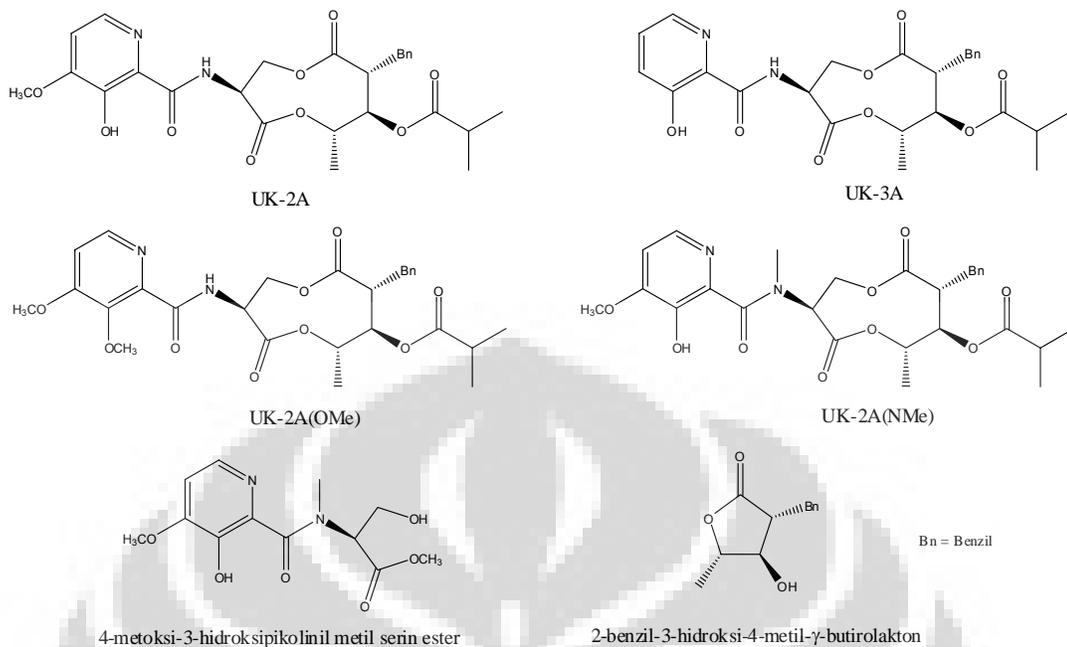
Senyawa UK-2A dan UK-3A berhasil diisolasi oleh Ueki (1995) dari miselium *Streptomyces* sp. 517-02. Senyawa UK-2A yang merupakan komponen mayor, mempunyai aktivitas yang tinggi sebagai antibakteri dan antijamur, sedangkan senyawa UK-3A yang merupakan komponen minor, mempunyai aktivitas sebagai antijamur (Tabel 1), antibakteri (Tabel 3) dan antikanker (Tabel 2). Pengembangan senyawa UK-3A sebagai antikanker terhambat dengan sedikitnya rendemen yang diperoleh dari hasil isolasi. Total sintesis telah berhasil dilakukan namun memerlukan tahapan yang cukup panjang dan rumit, dan sebagai akibatnya diperlukan biaya yang cukup besar (Hanafi, 1995).

Senyawa UK-2A dan UK-3A mempunyai struktur molekul dilakton cincin sembilan, yang membedakan hanyalah gugus metoksi pada cincin piridin yang terdapat pada senyawa UK-2A namun tidak terdapat pada senyawa UK-3A (Gambar 1.). Sebelum tahapan sintesis dilakukan, gugus fungsi aktif harus diketahui terlebih dahulu sebagai dasar, sehingga dapat ditentukan jenis senyawa analog sederhana yang akan disintesis namun memiliki gugus fungsi aktif yang sama. Berdasarkan hasil pengujian gugus fungsi aktif terhadap senyawa UK-2A melalui proses metilasi menggunakan

diazometan menghasilkan dua buah senyawa, yaitu UK-2(OMe) dan UK-2(NMe) yang tidak mempunyai aktivitas antijamur seperti senyawa UK-2A (Tabel 1.). Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa gugus aktif pada senyawa UK-2A adalah gugus hidroksi pada cincin piridin dan gugus amida. Proses pemutusan rantai menggunakan HCl kering dalam metanol terhadap senyawa UK-2A menghasilkan dua senyawa tidak aktif, yaitu senyawa 4-metoksi-3-hidroksipikolinil metil serin ester dan senyawa 2-benzil-3-hidroksi-4-metil- γ -butirolakton (Gambar 2), hal ini menunjukkan bahwa selain gugus hidroksi pada cincin piridin dan gugus amida, gugus dilakton juga merupakan gugus aktif (Hanafi, 1997). Berdasarkan data tersebut di atas, kemungkinan besar gugus aktif yang terdapat pada senyawa UK-2A juga merupakan gugus aktif pada senyawa UK-3A, mengingat perbedaan yang ada hanya gugus metoksi yang terletak pada cincin piridin.

Tabel 1. Hasil uji antijamur senyawa UK-2A, UK-3A, UK-2(OMe), UK-2A(NMe), 4-metoksi-3-hidroksipikolinil metil serin ester (A), dan 2-benzil-3-hidroksi-4-metil- γ -butirolakton (B) (Hanafi, 1995)

Jenis Mikroba	UK-3A	UK-2A	UK-2(OMe)	UK-2A(NMe)	A	B
<i>Saccharomyces cereviceae</i>	1,56	0,78	>100	>100	>100	>100
<i>Aspergillus niger</i>	0,78	0,39	>100	>100	>100	>100
<i>Neurospora sitophila</i>	0,39	0,10	>100	>100	>100	>100
<i>Phycomyces nitens</i>	0,39	0,10	>100	>100	>100	>100
<i>Rhizopus formosaensis</i>	0,39	0,01	>100	>100	>100	>100
<i>Penicillium crisogenum</i>	1,56	0,39	>100	>100	>100	>100
<i>Mucor mucedo</i>	0,78	0,03	>100	>100	>100	>100



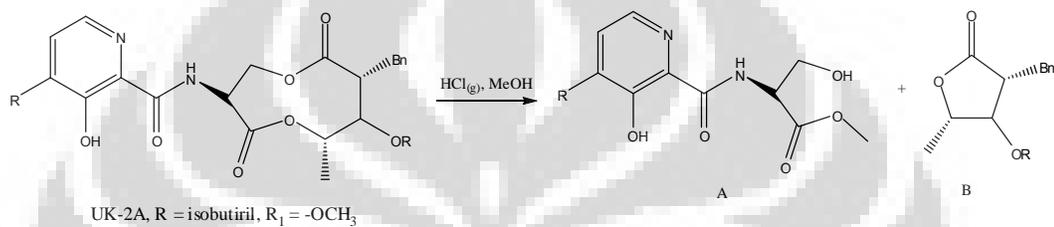
Gambar 1. Struktur molekul senyawa UK-2A, UK-3A, UK-2(OMe), UK-2A(NMe), 4-metoksi-3-hidroksipikolinil metil serin ester, dan 2-benzil-3-hidroksi-4-metil- γ -butirolakton (Hanafi, 1997).

Tabel 2. Hasil Uji Hambatan Pertumbuhan Sel Kanker Senyawa UK-2A, UK-3A dan Antimicyn A3 (IC_{50} μ g/mL) (Hanafi, 1995)

Sel Kanker	Senyawa UK-2A	Senyawa UK-3A	Antimicyn A3
P-388	100	38	0,015
B-16	100	18	0,02
KB	17	20	0,063
COLO-201	35	45	0,018
3T3	100	100	15

Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa analog UK-3A yang memiliki struktur lebih sederhana namun tetap mempunyai gugus fungsi aktif (farmakofor), dengan harapan senyawa analog tersebut tetap

mempunyai aktivitas biologi. Untuk mendapatkan senyawa analog yang lebih aktif, dilakukan dengan cara memvariasikan gugus hidroksi (-OH) dan metoksi (-OCH₃) pada serin dengan gugus butil, pentil, heksil, heptil dan oktil. Untuk mengetahui kesesuaian senyawa yang disintesis (ligan) dengan reseptor (protein Bcl-xl), dilakukan proses docking dengan menggunakan program Arguslab versi 4.0.



Gambar 2. Reaksi Pemutusan Rantai Senyawa UK-2A (Hanafi, 1997)

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa analog UK-3A, yaitu pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE), serta mengetahui aktivitasnya terhadap sel kanker *Murine leukemia* P-388.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai sintesis senyawa analog UK-3A yang mempunyai potensi sebagai antikanker, dan mengetahui pengaruh modifikasi gugus hidroksi (-OH) dan metoksi (-OCH₃) pada serin terhadap aktivitasnya sebagai antikanker.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker

Kanker adalah penyakit yang diawali dengan terjadinya pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan dari sel-sel tersebut menyebar dan menyerang jaringan biologis tubuh lainnya, baik secara *invasi* (jaringan yang bersebelahan) maupun *metastatis* (migrasi sel ke jaringan yang jauh). Pembelahan sel yang tidak terkendali tersebut diakibatkan oleh kerusakan DNA, ataupun terjadinya perubahan DNA, yang menyebabkan terjadinya mutasi pada gen vital termasuk pada gen yang mengontrol proses pembelahan sel. Terjadinya proses mutasi dapat diakibatkan oleh berbagai faktor (karsinogen) seperti kebiasaan merokok, kekurangan konsumsi sayuran dan buah-buahan, konsumsi alkohol, polusi, dll (WHO, 1995). Mutasi dapat terjadi secara spontan (faktor luar) ataupun faktor keturunan (mutasi *germline*) (<http://en.wikipedia.org/wiki/cancer>).

Pertumbuhan sel yang tidak normal pada suatu jaringan sebagai akibat adanya kekeliruan urutan DNA karena terpotong, tersubstitusi, perubahan ekspresi gen, adisi bahan kimia ataupun virus. Adapun tumor yang bersifat membahayakan dikenal sebagai kanker, pemicu terjadinya kanker disebut karsinogen, sementara proses perkembangan sel kanker dikenal dengan istilah karsinogenesis. Berbagai jenis senyawa kimia yang

bersifat karsinogen antara lain adalah hidrokarbon polisiklik aromatik (benzo (α)piren, naftalena, antrasena, krisin), amino aromatik (2-naftilamina, aflatoksin, dialkilnitrosamin, safrol, alkaloid pirolizidin), Nitrosamin & Nitrosamid, radiasi senyawa radioaktif, sinar *ultra-violet*, atau sinar-x (Wolff, 1994; Siswandono & Soekarjo, 1995). Hidrokarbon polisiklik aromatik bekerja sebagai karsinogen melalui suatu tahapan ikatan kovalen dengan sel makro DNA, RNA dan protein (Wolff, 1994).

Berbeda dengan sel normal, sel kanker tidak mengalami proses apoptosis (kematian sel), tidak mempunyai fungsi penunjang aktivitas tubuh (sel normal memiliki kemampuan berkoordinasi dengan sel lain sebagaimana fungsinya dalam tubuh), mempunyai kemampuan untuk hidup dan tumbuhan pada jaringan sel lain, dan mempunyai kemampuan memperbanyak diri (proliferasi) yang tidak terkendali.

Karsinogenesis dapat dibagi menjadi dua tahap, yaitu *inisiasi* : karsinogen mulai bekerja dengan mengubah atau mengikat DNA sehingga urutannya berubah dan mengakibatkan terjadinya mutasi sel. Proses mutasi yang banyak dan terjadi pada berbagai jenis DNA lah yang akhirnya menyebabkan terjadinya perubahan sifat sel yang berbeda dari sifat sel normal sebelumnya. Sel abnormal tersebut akan memperbanyak diri (proliferasi) pada jaringan tubuh tertentu dan membentuk kelompok sel abnormal yang dikenal sebagai tahapan promosi kanker. Tahap kedua karsinogenesis adalah proses *proliferasi* : pembelahan sel kanker yang tak

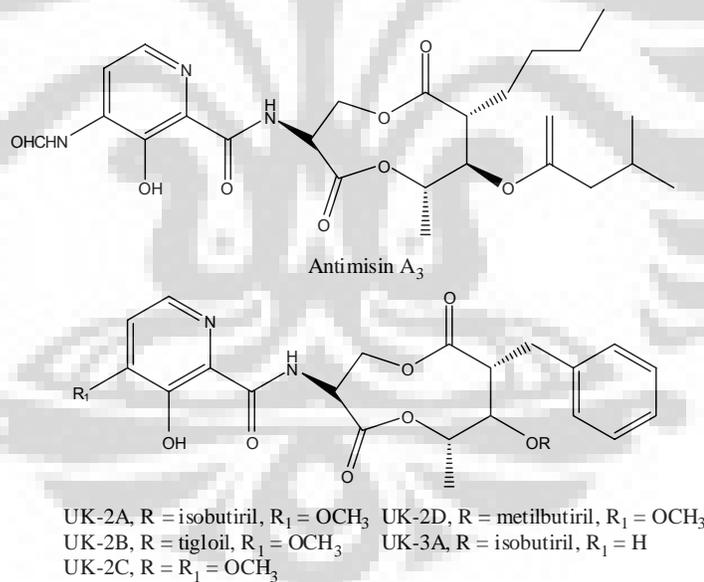
terkendali. Sel abnormal hasil pembelahan dapat memisahkan diri dan berpindah ke jaringan lain (metastatis) untuk kemudian kembali membelah dan memperbanyak diri (proliferasi). Dalam upaya memenuhi kebutuhannya untuk bertahan hidup dan membelah, sel kanker akan membentuk pembuluh darah (neoangiogenesis) (<http://www.nano.lipi.go.id>).

2.2. Senyawa UK-3A

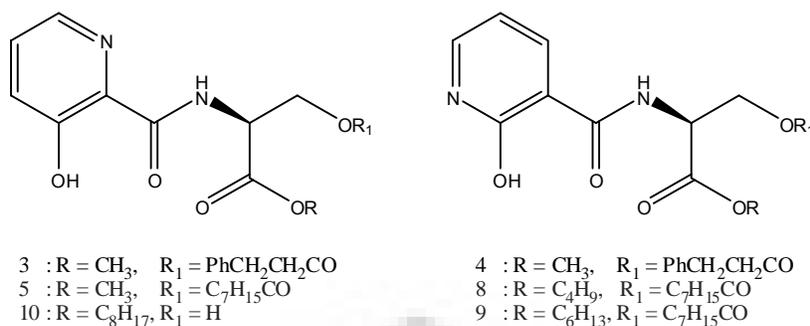
Ueki (1995) telah berhasil mengisolasi senyawa UK-1, UK-2 dan UK-3 dari miselium *Streptomyces* sp 517-02 yang berpotensi sebagai senyawa antibiotika. Senyawa UK-1 memiliki aktivitas sebagai antikanker. Senyawa UK-2 diekstraksi lebih lanjut menghasilkan senyawa UK-2A, UK-2B, UK-2C dan UK-2D, sementara senyawa UK-3 merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari senyawa UK-3A, UK-3B, UK-3C, UK-3d dan UK-3E (Gambar 4). Senyawa UK-3A yang telah ditentukan struktur molekulnya merupakan komponen utama yang berupa kristal jarum tak berwarna, sedangkan senyawa UK-3B, UK-3C, UK-3D, dan UK-3E belum dapat ditentukan struktur molekulnya karena terbentur jumlah rendemen yang sangat sedikit, namun diperkirakan mempunyai struktur molekul yang mirip dengan UK-3A (Hanafi, 1995).

UK-3A merupakan senyawa antibiotika alamiah yang mempunyai aktivitas sebagai antijamur, antibakteri (Tabel 1) dan antikanker (Tabel 2). Berdasarkan hasil elusidasi struktur, diketahui bahwa ternyata struktur

molekul dari senyawa UK-3A sangat mirip dengan struktur molekul dari senyawa UK-2A, hanya berbeda pada gugus metoksi dalam cincin piridin, dan juga mirip dengan struktur molekul antimisin A₃ (hasil isolasi sebelumnya dari *Streptomyces* sp.) (Gambar 3). Antimisin A₃ itu sendiri merupakan senyawa antibiotika pertama yang digunakan sebagai antijamur, namun juga mempunyai aktivitas yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. (Tabel 2). Konfigurasi struktur molekul senyawa UK-3A dan UK-2A yang ditentukan berdasarkan hasil retrosintesis (pemutusan rantai) adalah berupa senyawa 3-hidroksi-4-metoksi-pikolinil serin metil ester dan 2-benzil-3-hidroksi-4-metil-γ-butirolakton (Gambar 2).



Gambar 3. Struktur Molekul Senyawa Antimisin A₃, UK-2A, UK-2B, UK-2C, UK-2D dan UK-3A (Hanafi, 1995)



Gambar 4. Struktur Molekul Senyawa Analog UK-3A (Hanafi, 1997)

Tabel 3. Aktivitas antimikroba (MIC, µg/mL) dan LC₅₀ senyawa Antimycin A₃, UK-3A dan analog UK-3A (Hanafi, 1997)

Senyawa	Mikroba Uji				LC ₅₀ (ppm)
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	
Antimycin A ₃	≥ 50	≥ 250	≥ 250	≥ 50	4,27
UK-3A	≥ 100	≥ 100	≥ 100	3,13	NT
3	≤ 10	≥ 250	≥ 100	≤ 10	2768,3
5	≥ 50	≥ 100	≥ 250	≥ 10	944,05
8	≥ 75	≥ 50	≥ 100	≥ 250	5148,4
9	≥ 75	≥ 250	≥ 250	≥ 75	893,55
10	≥ 50	≥ 250	≥ 50	≥ 250	3728,4

Keterangan : ≥ dan ≤ berarti ada hambatan pada konsentrasi tersebut
 NT : tidak diuji

2.3. Senyawa Antikanker

Senyawa antikanker adalah senyawa kimia yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker atau bahkan membunuhnya. Kemampuan senyawa antikanker yang mempunyai sifat selektif dan spesifik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker maupun membunuh sel kanker tanpa mengganggu sel normal sangat sukar diperoleh,

dan sampai saat ini hal tersebut masih menjadi suatu keterbatasan dari senyawa-senyawa yang diklaim sebagai senyawa antikanker.

Sifat sel kanker yang tidak begitu berbeda secara morfologi sehingga tidak dianggap berbeda dengan sel normal jika berada dalam suatu jaringan, adalah merupakan salah satu alasan tidak dapat bekerjanya senyawa/obat antikanker secara spesifik dan selektif terhadap sel kanker, selain faktor lain dari beberapa senyawa/obat antikanker yang juga bersifat sebagai karsinogenik, teratogenik dan mutagenik (Siswandono & Soekarjo, 1995).

2.4. Sintesis Senyawa Analog UK-3A.

Sintesis senyawa analog UK-3A dilakukan dengan memodifikasi struktur molekulnya. Modifikasi struktur molekul bertujuan untuk mendapatkan senyawa baru yang lebih sederhana, mudah dilakukan, dengan bahan baku yang terjangkau, namun mempunyai aktivitas lebih tinggi, dan diharapkan mempunyai efek samping yang lebih rendah, lebih selektif dan lebih stabil. Modifikasi molekul menurut pendekatan yang dilakukan Topliss (dalam Siswandono & Soekardjo, 1995) adalah memasukkan gugus-gugus yang memiliki sifat lipofil, elektronik dan sterik tertentu di posisi tertentu pada struktur molekul induk, dengan ramalan akan menghasilkan senyawa yang memberikan aktivitas lebih tinggi, sama atau lebih rendah dibandingkan dengan senyawa aslinya, untuk kemudian dicari jalur sintesis yang paling menguntungkan (Siswandono & Soekardjo, 1995; Wolff, 1994). Hal tersebut

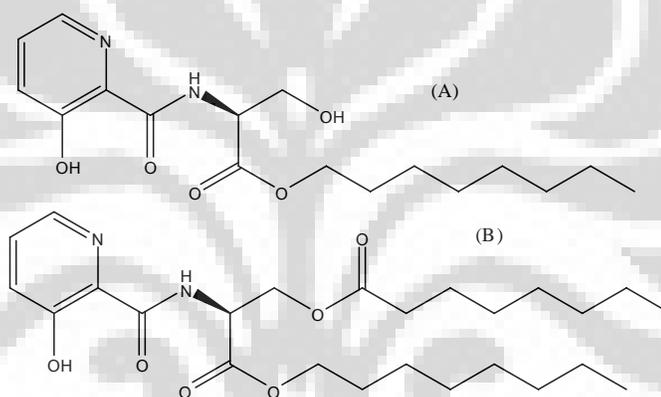
merupakan suatu penjabaran dari dugaan bahwa suatu aktivitas merupakan fungsi dari tiga faktor terpisah yaitu efek elektronik, efek sterik dan partisi pelarut atau efek hidrofobik. (Wolff, 1994). Menurut Schueler (dalam Siswandono & Soekardjo, 1995), modifikasi struktur molekul mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya adalah :

- a. Kemungkinan besar senyawa homolog atau analog mempunyai sifat farmakologis serupa dengan senyawa aslinya, dibandingkan dengan senyawa yang diperoleh secara seleksi, atau sintesis secara acak.
- b. Mempunyai kemungkinan lebih besar untuk mendapatkan produk dengan aktivitas yang lebih tinggi.
- c. Data yang diperoleh dari modifikasi struktur dapat membantu dalam menjelaskan hubungan antara struktur dan aktivitas.
- d. Metoda sintesis dan uji bioaktivitas yang digunakan sama, sehingga dapat menghemat waktu dan biaya.
- e. Produksi obat baru menjadi lebih ekonomis.

Modifikasi senyawa analog UK-3A dalam penelitian ini dilakukan dengan mengubah gugus dilakton rantai tertutup menjadi gugus dilakton rantai terbuka dengan variasi rantai hidrokarbon pada gugus hidroksi di bagian serin. Dengan variasi tersebut diharapkan dapat diperoleh senyawa dengan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa UK-3A (Hanafi, 1997; Ueki, 1997). Sintesis senyawa analog UK-3A dilakukan melalui dua tahapan reaksi untuk senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan tiga

tahapan reaksi untuk senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE). Sintesis senyawa PSOE dan PSOOE dipilih didasarkan pada hasil *docking* menggunakan program Arguslab versi 4.0 dari penelitian sebelumnya, dimana untuk senyawa PSOE dan PSOOE memberikan hasil *docking* terhadap reseptor berupa protein Bcl-xl yang cukup tinggi (Tabel 4.).

E-docking adalah percobaan/riset dengan menggunakan program komputer tertentu (dalam penelitian ini digunakan Arguslab versi 4.0)



Gambar 5. Struktur molekul senyawa pikolinil serin oktil ester (A) dan senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (B).

Tabel 4. Hasil Perhitungan Parameter QSAR UK-3A dan Analognya
(Hanafi, 2008)

No	Compds	Geometry Optimazation (Kcal/mol)	Hydration Energy (Kcal/mol)	Log P	Polarizability (°A)	Surface Area	Volume	Edocking Kcal/mol
1	UK-3A	26.89	-12.63	1.61	48.54	648.45	1,319.16	-11.65
2	Antimycin A3	33.85	7.41	1.30	51.40	757.87	1,421.13	-10.3867
3	Taxol	300.44	-7.32	1.67	86.64	713	1398,40	-10.39
4	Cisplatin							
5	PSME	12	-16.22	-1.18	-22.33	405.7	704.0	-7,1095
6	PSMBE	12.57	-11.67	-0.03	29.76	530	918.1	-8.3918
7	PSMPE	13.49	-11.27	0.37	31.59	567.17	970.76	-9,70
8	PSMHE	14.45	-10.88	0.76	33.43	603.37	1,023.53	-10.28
9	PSMhpE	15.37	-10.54	1.16	35.27	640.11	1,078.87	-10,79
10	PSMOE	16.21	-10.14	1.56	37.10	677.22	1,132.98	-11.93
11	PSMPPE	16.53	-13.98	0.42	37.59	577.89	1,077.15	-12.65
12	PSEPE	14.81	-9.17	-0.82	33.43	568.61	998.96	-9.3959
15	PSEHE	15.25	-8.16	-0.43	35.26	606.61	1060.63	-10.1561
16	PSEHpE	16.20	-7.81	-0.03	37.10	639.37	1113.25	-10.8433
18	PSEOE	17.10	-7.37	0.36	38.94	678.56	1169.48	-11.8577
19	PSOE	17.92	-12.35	1.61	35.18	644.89	1,077.90	-11.3575
12	PSOBE	22.59	-8.18	2.76	42.61	757.09	1,269.48	-12.5057
11	PSOPE	20.73	-8.68	3.16	44.44	752.24	1,290.80	-12.2397
12	PSOHE	21.55	-6.86	3.56	46.28	822.67	1,381.14	-12.4473
13	PSOHPe	20.64	-5.74	3.95	48.11	875.30	1,447.15	
14	PSOOE	21.82	-6.71	4.35	49.95	931.88	1,510.92	-13.50
15	PSBBE	14.19	-8.49	-0.36	35.26	595.08	1042.41	-9.31
16	PSPPE	16.88	-7.40	0.44	38.94	678.32	1163.41	-10.3605
17	PSHHE	17.25	-6.85	1.23	42.61	1258.24	1258.24	-12.2851
18	SSMHE	13.62	-7.53	0.61	34.14	534.00	976.45	-10.8936
19	SSMOE	15.28	-6.61	1.40	37.81	603.51	1081.32	-12.3371
20	SOA	17.42	-6.32	2.13	29.02	538.34	867.31	-11,8796
21	SA	23.41	-11.32	-0.17	24	410.73	653.81	-10,2111

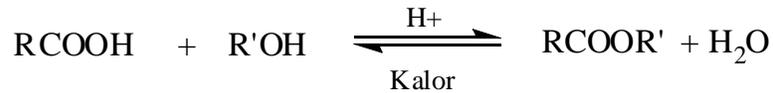
2.5. Tahapan Reaksi Sintesis Senyawa Analog UK-3

Tahapan reaksi yang dilakukan untuk mensintesis senyawa analog UK-3A, pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) meliputi reaksi esterifikasi dan amida. Sintesis senyawa PSOE hanya terdiri dari dua tahapan reaksi, yaitu reaksi esterifikasi pada tahap reaksi pertama antara L-serin dan 1-oktanol dalam benzen dengan menggunakan katalis asam *p*-TsOH (Gambar 6), dilanjutkan dengan reaksi amidasi antara senyawa hasil sintesis tahap pertama (serin oktil ester *p*-TsOH) dan asam 3-hidroksi pikolinat dalam piridin menggunakan aktivator DCC (N,N-disikloheksilkarbodiimida) dan katalis DMAP (4-N,N-dimetilamino-piridin) (Gambar 6). Sama halnya dengan tahapan reaksi sintesis senyawa pikolinil serin oktil ester, pada sintesis senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester juga menggunakan bahan baku, katalis, aktivator, alat, kondisi dan jenis reaksi yang sama, namun pada sintesis senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester dilanjutkan dengan tahapan ketiga berupa reaksi esterifikasi antara senyawa hasil reaksi pada tahap kedua (PSOE) dengan asam oktanoat dalam kloroform menggunakan aktivator/katalis berupa DCC/ DMAP (Gambar 6).

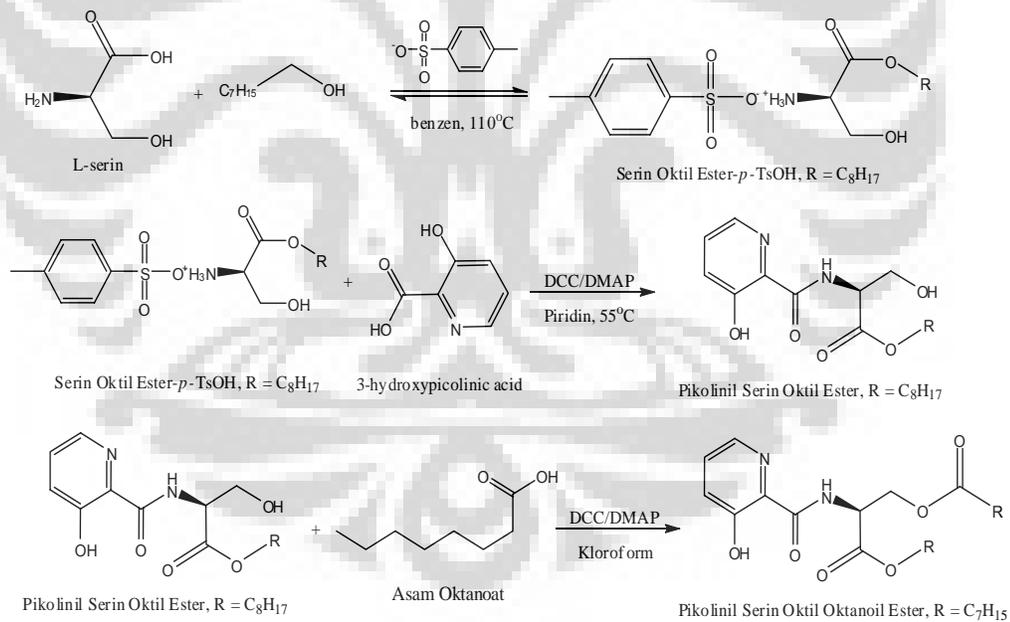
2.5.1. Reaksi Esterifikasi

Reaksi esterifikasi merupakan reaksi antara alkohol dengan asam karboksilat atau turunan asam karboksilat, yang akan membentuk ester asam karboksilat. Senyawa ester dapat dibuat melalui reaksi langsung antara suatu

asam karboksilat dan suatu alkohol menggunakan katalis asam, dan reaksi tersebut berlangsung secara reversible.



Agar diperoleh rendeman yang banyak, maka kesetimbangan reaksi pembentukan ester harus digeser ke sebelah kanan. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan salah satu pereaksi secara berlebih. Cara lainnya adalah dengan memisahkan salah satu produk yang dihasilkan dari proses reaksi, sehingga kesetimbangan tetap bergeser ke arah ester (kanan).



Gambar 6. Sintesis Senyawa Serin Oktil Ester-*p*-TsOH, Pikolinil Serin Oktil Ester, dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester.

Reaksi esterifikasi sangat dipengaruhi oleh tingkat kereaktifan dari asam karboksilat dan juga alkoholnya. Kereaktifan asam karboksilat terhadap reaksi esterifikasi adalah sebagai berikut :



Sementara, tingkat kereaktifan dari alkohol terhadap reaksi esterifikasi adalah sebagai berikut :



(Fessenden & Fessenden, 1992).

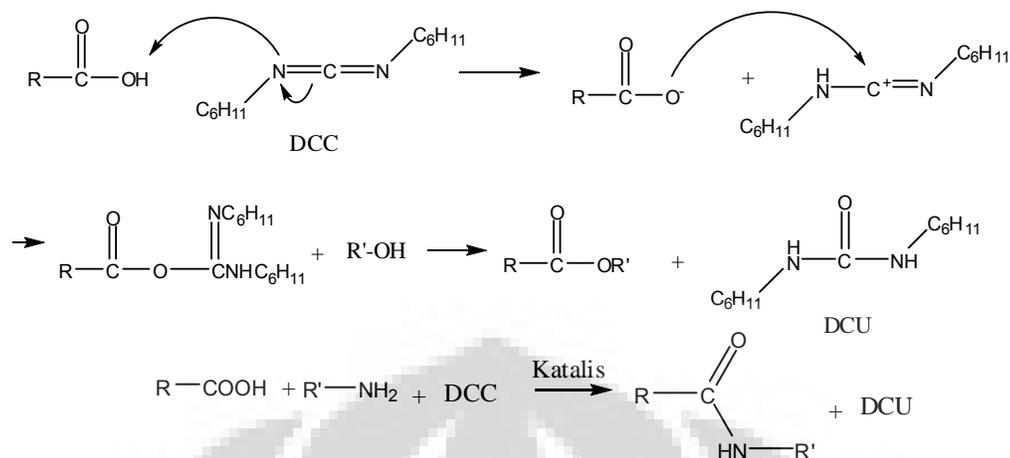
2.5.2. Katalis

Alkohol merupakan nukleofil lemah, sehingga kemampuannya menyerang atom karbonil pada asam karboksilat yang kurang reaktif sangat lambat. Untuk mengantisipasi lambatnya proses tersebut, kereaktifan gugus karbonil ditingkatkan dengan cara protonasi, misalnya dengan menggunakan katalis asam. Penggunaan katalis asam semakin memudahkan lepasnya gugus pergi, yang dalam hal ini adalah pelepasan gugus H₂O dari gugus asam karboksilat (Sykes, 1989).

Beberapa jenis katalis asam yang dapat digunakan dalam reaksi esterifikasi seperti HCl, HClO₄, H₂SO₄, dan *p*-toluensulfonat (*p*-TsOH). Selain jenis-jenis katalis asam di atas, reaksi esterifikasi dapat juga dibantu dengan menggunakan aktivator dan katalis seperti 1,3-disikloheksilkarbodiimida (DCC) dan N,N'-dimetilaminopiridin (DMAP). Sebagai aktivator, DCC

digunakan secara luas dalam berbagai reaksi seperti reaksi sintesis polipeptida, reaksi esterifikasi, juga reaksi amidasi. Dalam reaksi esterifikasi, DCC berfungsi untuk mengaktifkan gugus karboksilat, namun demikian untuk mengoptimalkan laju reaksi, tetap diperlukan bantuan katalis seperti DMAP, HOSu (hidroksisuksinimida), atau HOBt (hidroksibenzotriazol) (Hanafi, 1997). Penggunaan DCC/DMAP sebagai aktivator/katalis, dipilih berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, dimana dengan penggunaan kombinasi DCC/DMAP memberikan hasil yang paling baik dibandingkan kombinasi antara DCC dengan katalis lain.

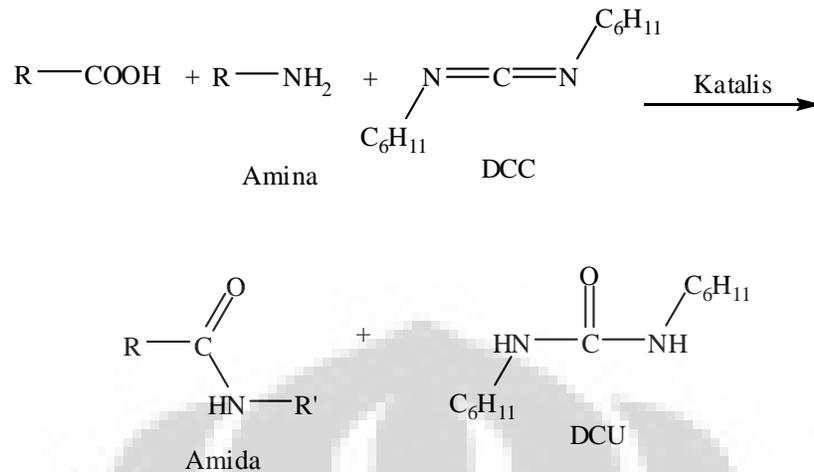
Pada reaksi esterifikasi, DCC akan mengaktifkan gugus karboksilat dengan cara meningkatkan elektrofilitasnya, sehingga oksigen menjadi gugus asil yang reaktif (gugus asilisourea) berfungsi sebagai nukleofil dan akan menyerang atom C sentral pada DCC, sehingga ikatan rangkap C=N dari isourea (-N=C=N-) menjadi gugus karbonil yang lebih stabil, sehingga pada akhir reaksi akan terbentuk amida/ester dan produk samping berupa DCU (1,3-disikloheksilurea) tanpa terbentuk air (Carey & Sunberg, 1991).



Gambar 7. Mekanisme Reaksi DCC sebagai Aktivator (Carey & Sunberg, 1991).

2.5.3. Reaksi Amidasi

Amidasi merupakan reaksi antara asam karboksilat/derivat asam karboksilat dengan amonia atau amina dan menghasilkan suatu amida. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, reaksi amidasi yang menghasilkan produk amida optimum diperoleh dari reaksi amidasi yang menggunakan kombinasi antara aktivator dan katalis berupa DCC dan DMAP, dibandingkan kombinasi yang menggunakan DCC/HOSu dan DCC/HOBt (Sherley, 1998).



Gambar 8. Mekanisme Reaksi Amidasi dengan DCC sebagai Aktivator (Hanafi, 1997)

2.6. Uji Bioaktivitas

2.6.1. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Brine shrimp lethality test (BSLT) merupakan uji toksisitas pendahuluan yang paling banyak digunakan terhadap suatu senyawa bioaktif. Keuntungan metode BSLT ini karena murah, mudah diperoleh, dapat bertahan hidup beberapa tahun dalam keadaan kering, mudah dan cepat dalam pelaksanaannya, serta hanya menggunakan peralatan yang cukup sederhana.

A. salina Leach., adalah hewan air yang termasuk dalam filum Anthropoda, kelas *Crustaceae* yang hidup di daerah subtropics dengan salinitas tinggi. Larva *A. salina* diperoleh dengan cara menetasakan telurnya dalam air laut atau air laut buatan selama 48 jam (Meyer, 1992) dengan suhu

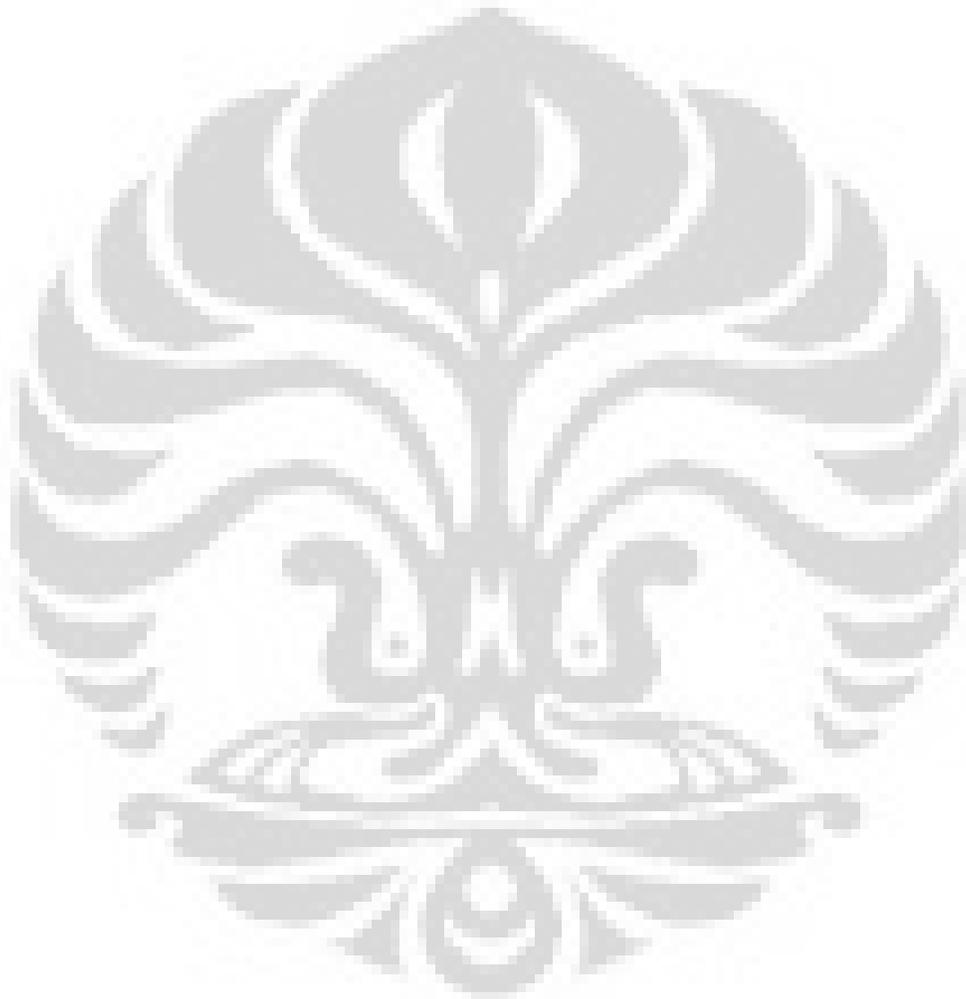
penetasan antara 20-35 °C. Pada uji toksisitas digunakan larva *A. salina* berumur 24 jam sebanyak 10-15 ekor yang dimasukkan ke dalam vial berisi sample dengan beberapa konsentrasi berbeda, dan dibiarkan pada tempat dengan udara dan sinar yang cukup. Persentase kematian larva *A. salina* dihitung setelah 24 jam pemberian terhitung sejak larva dimasukkan ke dalam vial berisi sample uji, untuk kemudian dihitung nilai LC₅₀-nya (konsentrasi senyawa uji dalam ppm yang dapat menyebabkan kematian sebanyak 50% larva *A. salina* di bawah kondisi yang telah ditetapkan/sesuai (Rosalina, 1996).

2.6.2. Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksitas adalah salah satu uji yang berguna untuk mengetahui seberapa besar aktivitas suatu senyawa uji. Dalam penelitian ini uji sitotoksitas dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker *Murine leukimia* P-388.

Uji sitotoksitas secara *in vitro* dapat menggunakan sel primer maupun sub kultur sel turunan dari sel primer (*cell line*). Senyawa diujikan terhadap sel dalam media nutrient tertentu dan berada di bawah kondisi yang terkontrol. Pada penelitian ini *cell line* yang dipergunakan berasal dari sel kanker leukemia tikus yaitu *cell line* P-388 dan metode uji yang digunakan adalah metode MTT, yang didasarkan pada pengukuran intensitas warna yang terjadi sebagai hasil metabolisme sel hidup. Garam MTT (3-(4,5-

dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang ditambahkan pada media, akan direduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang terdapat pada mitokondria menjadi formazan (zat warna ungu) (Wyllie *et al.* dalam Budi, 2006).



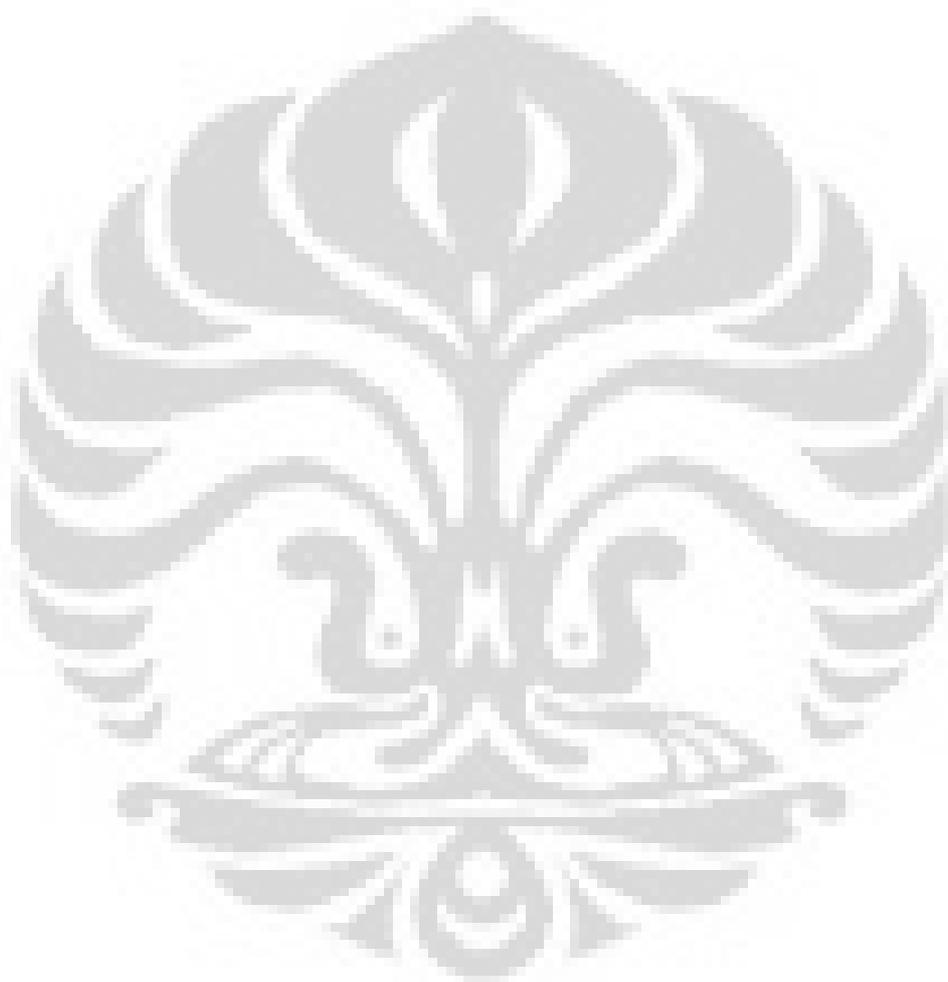
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil uji antijamur senyawa UK-2A, UK-3A, UK-2(OMe), UK-2A(NMe), 4-metoksi-3-hidroksipikolinil metil serin ester (A), dan 2-benzil-3-hidroksi-4-metil- γ -butirolakton (B)	3
Tabel 2. Hasil Uji Hambatan Pertumbuhan Sel Kanker Senyawa UK-2A, UK-3A dan Antimycin A3 (IC ₅₀ μ g/mL)	4
Tabel 3. Aktivitas antimikroba (MIC, μ g/mL) dan LC ₅₀ senyawa Antimycin A ₃ , UK-3A dan analog UK-3A	10
Tabel 4. Hasil Perhitungan Parameter QSAR UK-3A dan Analognya	14
Tabel 5. Data Pergeseran Kimia dari Spektrum ¹ H-NMR Senyawa Serin Oktil Ester- <i>p</i> -TsOH	37
Tabel 6. Data Pergeseran Kimia dari Spektrum ¹ H- dan ¹³ C-NMR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester	45
Tabel 7. Data Pergeseran Kimia dari Spektrum ¹ H- dan ¹³ C-NMR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	54
Tabel 8. Hasil uji sitotoksitas senyawa PSOE dan PSOEE terhadap sel kanker <i>Murine leukimia</i> P-388.	57
Tabel 9. Hasil Perhitungan Parameter QSAR, UK-3A, Antimycin dan Analog UK-3A	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur molekul senyawa UK-2A, UK-3A, UK-2(OMe), UK-2A(NMe), 4-metoksi-3-hidroksipikolinil metal serin ester, dan 2-benzil-3-hidroksi-4-metil- γ -butirolakton..	4
Gambar 2. Reaksi Pemutusan Rantai Senyawa UK-2A.	5
Gambar 3. Struktur Molekul Senyawa Antimisin A3, UK-2A, UK-2B, UK-2C, UK-2D dan UK-3A (Hanafi, 1995)	9
Gambar 4. Struktur Molekul Senyawa Analog UK-3A..	10
Gambar 5. Struktur molekul senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE).	13
Gambar 6. Sintesis Senyawa Serin Oktil Ester- <i>p</i> -TsOH, Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	16
Gambar 7. Mekanisme Reaksi DCC sebagai Aktivator	19
Gambar 8. Mekanisme Reaksi Amidasi dengan DCC sebagai Aktivator.	20
Gambar 9. Hasil e-docking senyawa antimicin _{A3} menggunakan program ArgusLab versi 4.0	30
Gambar 10. Hasil e-docking senyawa Taxol menggunakan program ArgusLab versi 4.0	30
Gambar 11. Hasil e-docking senyawa PSOE menggunakan program ArgusLab versi 4.0	31
Gambar 12. Mekanisme reaksi sintesis senyawa SOE- <i>p</i> -TsOH	34
Gambar 13. Struktur Kimia Senyawa SOE- <i>p</i> -TsOH	37
Gambar 14. Struktur Kimia Senyawa PSOE	42

Gambar 15. Mekanisme reaksi sintesis senyawa PSOE	46
Gambar 16. Mekanisme reaksi sintesis senyawa PSOOE	48
Gambar 17. Struktur Kimia Senyawa PSOOE	53



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil (KLT) Reaksi Sintesis	69
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Hasil Reaksi Sintesis	70
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Sudut Putaran Optik	73
Lampiran 4. Spektrum FTIR Serin Oktil Ester- <i>p</i> -TsOH	74
Lampiran 5. Spektrum FTIR Pikolinil Serin Oktil Ester	75
Lampiran 6. Spektrum FTIR Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	76
Lampiran 7. Hasil Analisis MS Serin Oktil Ester- <i>p</i> -TsOH	77
Lampiran 8. Hasil Analisis MS Pikolinil Serin Oktil Ester	78
Lampiran 9. Hasil Analisis MS Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	79
Lampiran 10. Spektrum ¹ H-NMR Serin Oktil Ester- <i>p</i> -TsOH	80
Lampiran 11. Spektrum ¹ H- dan ¹³ C-NMR Pikolinil Serin Oktil Ester	81
Lampiran 12. Spektrum ¹ H- dan ¹³ C-NMR Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	83
Lampiran 13. Spektra UV-Vis Pikolinil Serin Oktil Ester	85
Lampiran 14. Spektra UV-Vis Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester	86
Lampiran 15. Data Hasil Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) dan Kurva Linear Korelasi antara Log Konsentrasi dengan % Kematian Senyawa PSOE	87
Lampiran 16. Data Hasil Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) dan Kurva Linear Korelasi antara Log Konsentrasi dengan % Kematian Senyawa PSOEE	88
Lampiran 17. Data Hasil Uji Antikanker P-388 Senyawa PSOE	89



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan

Bahan yang dipergunakan adalah :

- a. Pelarut : kloroform, n-heksan, etil asetat, metanol, benzen, piridin, aquades.
- b. Bahan baku : L-serin, 1-oktanol, asam 3-hidroksipikolinat, asam oktanoat.
- c. Katalis dan Aktivator : asam *p*-toluenasulfonat (*p*-TsOH), N,N-dimetilaminopiridin (DMAP) dan disikloheksilkarbodiimida (DCC).
- d. Zat pengering : Na₂SO₄ anhidrat
- e. Pemurnian/Identifikasi : Kromatografi lapis tipis (KLT) Silica Gel 60 F 254 (Merck), larutan ninhidrin 0,1% dalam aseton, Kromatografi kolom gravitasi Silica gel 60 ukuran partikel 230-400 mesh, kloroform deuterium.

3.2. Peralatan

Peralatan yang dipergunakan adalah :

- a. Alat gelas : Labu bulat leher satu, satu set destilasi Deanstark dilengkapi dengan pendingin (*condensor*), corong, corong pisah, tabung reaksi, satu set alat destilasi pelarut, pipet tetes Pasteur, labu

Erlenmeyer, gelas ukur, *microbial chamber*, dan kolom kromatografi gelas.

- b. Alat penunjang : *Hot plate & stirrer*, *rotary evaporator*, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, lampu ultraviolet, *thermometer*, Spektrometer NMR, Spektrometer Massa, Spektrofotometer FT-IR, Spektrofotometer UV-Visible.

3.3. Cara Kerja

3.3.1. Sintesis senyawa serin oktil ester – *p*-TsOH (Reaksi Tahap I: reaksi esterifikasi)

Sintesis senyawa serin oktil ester-*p*-TsOH dilakukan dengan mereaksikan antara 1,051 gram L-Serin (0,01 mol) dan 6,08 mL 1-oktanol (0,039 mol) dengan menggunakan katalis *p*-TsOH (1,940 gram) dalam 5 mL pelarut benzen pada labu bulat leher satu, yang dihubungkan dengan satu set alat destilasi Deanstark dan kondensor untuk kemudian direaksi-kan pada suhu 110°C selama 24 jam sambil diaduk dengan magnetic stirrer. Setelah 24 jam hasil reaksi di analisis menggunakan KLT dengan fase gerak kloroform : metanol (3:1) dan diamati di bawah lampu ultra-violet pada panjang gelombang (λ) 254 dan 366 nm serta penampak bercak ninhidrin 0,1% dalam aseton dan dipanaskan. Reaksi dianggap berhasil bila telah terbentuk noda berwarna ungu (berfluoresensi) pada λ 366 nm dan bercak berwarna kemerahan setelah disemprot dengan ninhidrin, serta tidak tampak noda L-

serin yang berarti telah habis bereaksi. Hasil reaksi kemudian diekstrak dengan kloroform : aquades. Filtrat kloroform kemudian diuapkan dengan rotari evaporator untuk selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut dengan FTIR, UV-Vis, LC-MS dan NMR.

3.3.2. Sintesis senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) (Reaksi Tahap II: reaksi amidasi)

Sintesis senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dilakukan dengan mereaksikan senyawa hasil sintesis tahap I (serin oktil ester-*p*-TsOH) sebanyak 0,8154 gram (0,002 mol) dan 0,5606 gram 3-hidroksi-pikolinat (0,004 mol) dengan menggunakan aktivator dan katalisator 1,3-disikloheksil-karbodiimida (DCC) sebanyak 0,5060 gram (0,002 mol) dan N,N-dimetilaminopiridin (DMAP) sebanyak 0,4800 gram (0,004 mol) dalam 10 mL piridin, pada labu bulat leher satu yang dihubungkan dengan kondensor, untuk kemudian direaksikan pada suhu 55°C selama 24 jam sambil diaduk dengan magnetik stirrer. Setelah 24 jam reaksi berlangsung, hasil reaksi kemudian di analisis dengan KLT (fase gerak n-heksan:etil asetat (2:1)). Reaksi dianggap berhasil jika terbentuk noda berpendar berwarna ungu pada lampu ultraviolet λ 366 nm. Hasil reaksi kemudian dinetralkan dengan menambahkan beberapa mL HCl 2% dicek dengan kertas pH, setelah netral kemudian diekstraksi dengan kloroform dan kembali dicek pH dan dinetralkan dengan penambahan NaOH atau HCl, setelah netral ditambahkan aquades untuk

proses partisi dalam corong pisah. Filtrat kloroform kemudian dipisahkan dan diuapkan.

Pemurnian senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dilakukan dengan kromatografi kolom kromatografi fase diam silika gel dengan fase gerak sistem gradien mulai dari n-heksan, n-heksan-etil asetat (99:1), n-heksan-etil asetat (98:2), dan seterusnya. Setiap fraksi ditampung pada tabung reaksi dengan volume kira-kira 10 mL untuk kemudian dilakukan analisis dengan KLT sampai diperoleh fraksi yang memberikan pola noda tunggal berpendar berwarna ungu (senyawa PSOE). Fraksi yang memiliki noda tunggal berpendar berwarna ungu atau kemerahan setelah disemprot ninhidrin tersebut kemudian digabungkan untuk selanjutnya dievaporasi. Hasil evaporasi kemudian diidentifikasi lebih lanjut untuk memastikan apakah senyawa tersebut merupakan senyawa pikolinil serin oktil ester atau bukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS, spektrofotometer infra merah (FTIR), spektrometer, Spektrometer massa (MS), Polarimeter dan Spektrometer NMR (^1H - dan ^{13}C -NMR).

3.3.3. Sintesis senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE)

(Reaksi Tahap III: reaksi esterifikasi)

Sintesis senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) dilakukan dengan mereaksikan senyawa hasil sintesis tahap II (PSOE) sebanyak 0,134 gram (0,4 mmol) dan 100 μL asam oktanoat (0,6 mmol) dengan

menggunakan aktivator dan katalisator 1,3-disikloheksilkarbo-diimida (DCC) sebanyak 0,124 gram (0,6 mmol) dan N,N-dimetilamino-piridin (DMAP) sebanyak 0,012 gram (0,1 mmol) dalam 5 mL kloroform, pada labu bulat leher satu, direaksikan selama 4 jam pada suhu ruang sambil diaduk dengan magnetic stirrer. Setelah 4 jam reaksi berlangsung, hasil reaksi kemudian dianalisis dengan KLT (fase gerak n-heksan:etil asetat (4:1)). Reaksi dianggap berhasil jika terbentuk noda berpendar berwarna ungu pada lampu ultraviolet λ 366 nm. Senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) yang terbentuk dalam reaksi dimurnikan dengan kromatografi kolom kromatografi fase diam silika gel dengan fase gerak sistem gradien mulai dari n-heksan, n-heksan-etil asetat (99,5 : 0,5), n-heksan-etil asetat (99,5 : 0,5) dan seterusnya. Setiap fraksi ditampung pada tabung reaksi dengan volume kira-kira 10 mL untuk kemudian dilakukan analisis dengan KLT sampai diperoleh fraksi yang memberikan pola noda tunggal berpendar berwarna ungu (senyawa PSOOE). Fraksi yang memiliki noda tunggal berpendar berwarna ungu tersebut kemudian digabungkan untuk selanjutnya dievaporasi. Hasil evaporasi kemudian diidentifikasi lebih lanjut untuk memastikan apakah senyawa tersebut merupakan senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester atau bukan dengan spektrofotometer UV-VIS, spektrofotometer infra merah (FTIR), spektrometer massa (MS), Polarimeter dan Spektrometer NMR (^1H - dan ^{13}C -NMR).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

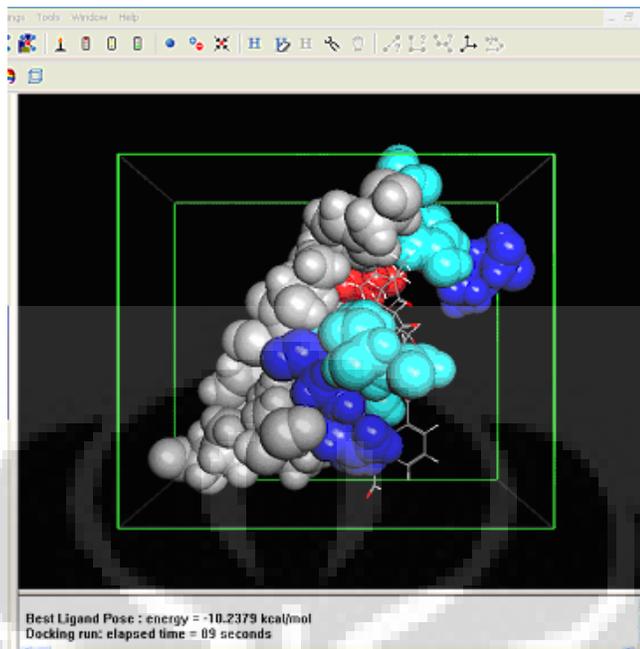
4.1. E-docking

E-docking adalah praktikum untuk mencari segala kemungkinan kesesuaian antara ligan (senyawa yang akan disintesis dan diharapkan aktif) dengan protein sebagai target. Lebih sederhana docking dapat digambarkan sebagai “*lock and key*”, dimana protein berperan sebagai “*lock*” dan ligan sebagai “*key*”. Secara umum molekular docking dapat dijabarkan sebagai suatu metode mengetahui kesesuaian antara senyawa aktif (ligan) dengan reseptor, sehingga diketahui dan diperoleh suatu senyawa dengan bentuk dan orientasi yang sesuai untuk dapat berikatan dengan “*active site*” dari reseptor target (dalam hal ini protein Bcl-xl) tertentu yang menjadi target. (Wikipedia, 2008).

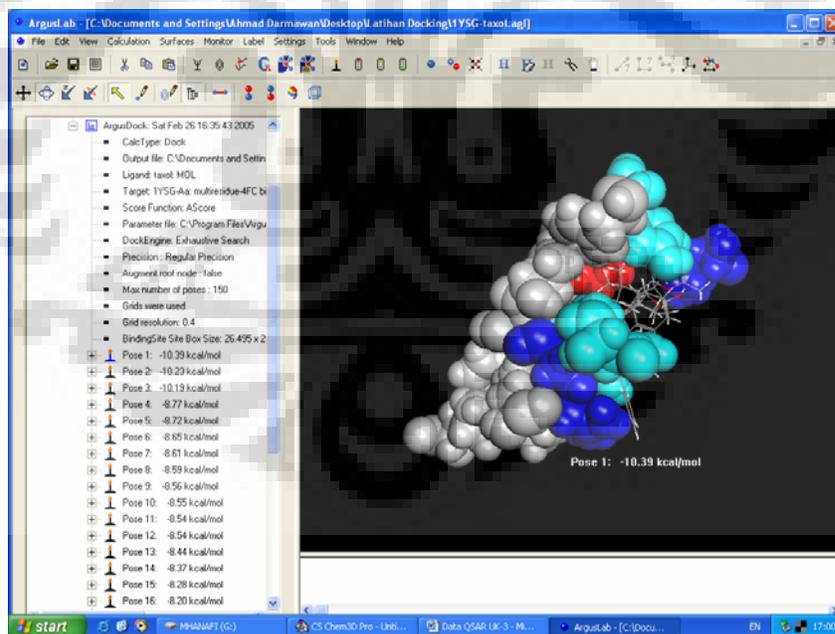
Tingkat kesesuaian antara ligan dengan protein yang diperoleh secara *in siliko* menggunakan program ArgusLab versi 4.0 dinyatakan sebagai ΔG_{bind} dalam satuan kcal/mol. Tidak ada ketentuan yang jelas mengenai batas optimum, batas atas maupun batas bawah dari nilai e-docking yang diperoleh yang menunjukkan bahwa ligan tersebut cocok atau sesuai dengan protein yang dijadikan sebagai target, namun berdasarkan dari beberapa referensi yang diperoleh, ada kecenderungan yang menyatakan bahwa semakin kecil (negatif) nilai dari e-docking, biasanya berbanding terbalik dengan nilai log P yang menyatakan tingkat lipofilisitas atau hidrofobisitas suatu senyawa, dan

hal tersebut mempunyai arti semakin kecil nilai e-docking yang diperoleh, maka semakin cocok atau sesuai antara ligan sebagai “key” dengan protein target sebagai “lock”. Log P (lipofilisitas/hidrofobisitas) merupakan suatu parameter krusial yang menentukan kemampuan suatu senyawa/obat untuk menembus membran sel dan berinteraksi dengan target (Patrick, 2001). Ketentuan yang berlaku adalah bahwa kisaran nilai log P yang baik adalah antara 1-3. Perubahan yang dilakukan terhadap substituen pada senyawa/obat akan memberikan efek yang signifikan terhadap nilai log P dan otomatis terhadap aktivitas biologinya (Patrick, 2001). Hasil e-docking senyawa PSOE diperoleh nilai ΔG_{bind} -11,3575 kcal/mol dengan nilai log P 1,61; sedangkan senyawa PSOOE mempunyai nilai ΔG_{bind} -13.50 kcal/mol dengan nilai log P 4,35. Dilihat dari nilai ΔG_{bind} keduanya mempunyai tingkat kesesuaian antara ligan dan protein yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa antimicin_{A3} (ΔG_{bind} -10,3867 Kcal/mol; log P 1,30) dan taxol (ΔG_{bind} -10,39 kcal/mol; log P 1,67) yang merupakan senyawa aktif yang telah dikenal luas.

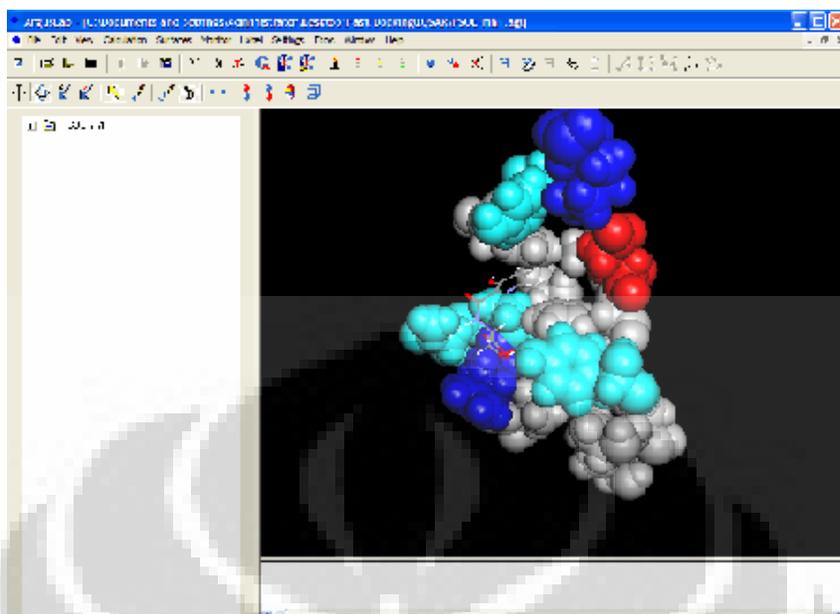
Korelasi dan hubungan antara struktur dan aktivitas serta nilai yang diperoleh dari hasil komputasi e-docking akan dapat dilihat setelah hasil uji bioaktivitas yang dilakukan terhadap kedua senyawa PSOE dan PSOOE tersebut selesai dilakukan.



Gambar 9. Hasil e-docking senyawa antimycin_{A3} menggunakan program ArgusLab versi 4.0 (Hanafi, 2008)



Gambar 10. Hasil e-docking senyawa Taxol menggunakan program ArgusLab versi 4.0 (Hanafi, 2008)



Gambar 11. Hasil e-docking senyawa PSOE menggunakan program ArgusLab versi 4.0 (Hanafi, 2008)

4.2. Sintesis Senyawa Analog UK-3A

Sintesis senyawa analog UK-3A, yaitu pikolinil serin oktil ester (PSOE) dilakukan melalui dua tahapan reaksi, sementara pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) dilakukan melalui tiga tahapan reaksi. Reaksi tahap pertama merupakan esterifikasi yang menghasilkan senyawa serin oktil ester *p*-TsOH (PSO-*p*-TsOH). Hasil reaksi tahap pertama kemudian dilanjutkan dengan reaksi amidasi untuk menghasilkan senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE). PSOE yang terbentuk kemudian kembali di-reaksikan melalui reaksi esterifikasi untuk membentuk senyawa analog UK-3A selain PSOE, yaitu senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE). Senyawa PSOE dan PSOOE ini adalah merupakan senyawa target sintesis dalam penelitian ini.

Senyawa analog UK-3A (PSOE dan PSOOE) yang diperoleh di analisis menggunakan spektrofotometer UV-Visible untuk mengetahui ada tidaknya gugus kromofor dalam senyawa, spektrofotometer infra merah (FT-IR) untuk mengetahui gugus fungsi, spektrometer massa (MS) untuk bobot molekul senyawa, spektrometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) untuk penentuan struktur molekul berdasarkan pergeseran kimia (δ) dan polarimeter untuk memastikan struktur stereokimia yang dimiliki oleh senyawa hasil sintesis.

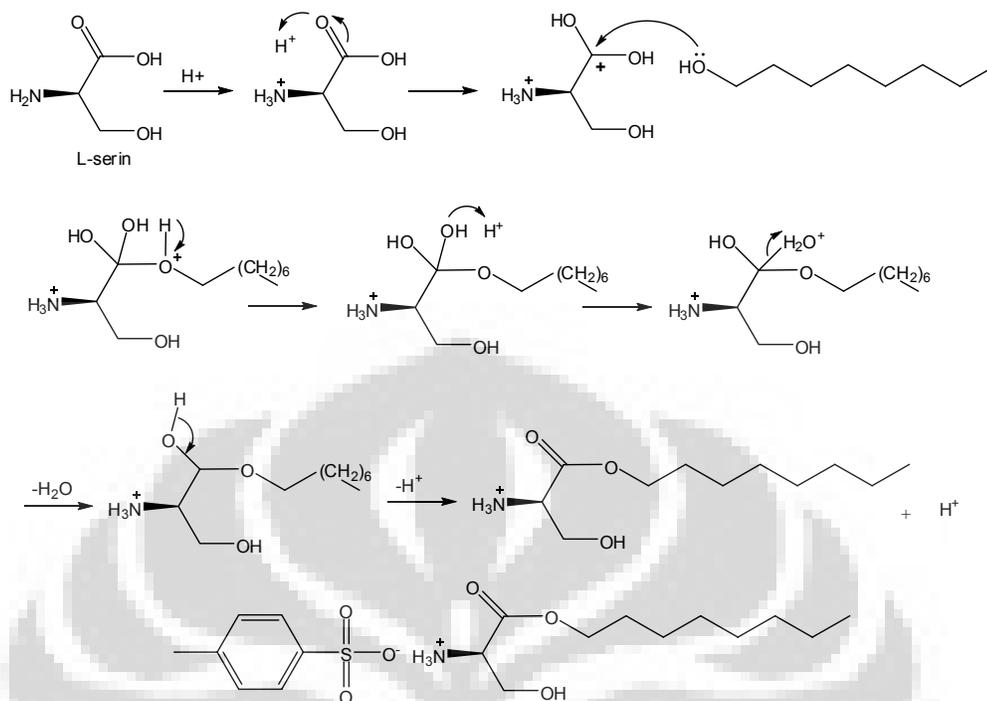
Setelah senyawa target sintesis terbentuk kemudian dilakukan uji toksisitas dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) sebagai uji bioaktivitas awal sebagai dasar sebelum dilakukan uji aktivitas *in vitro* sebagai inhibitor terhadap pertumbuhan sel kanker *Murine leukemia* P-388 dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida). Uji aktivitas ini berfungsi untuk mengetahui nilai IC_{50} senyawa hasil sintesis, yaitu senyawa PSOE dan PSOOE.

4.3. Sintesis senyawa serin oktil ester *p*-TsOH (SOE-*p*-TsOH)

Untuk mendapatkan senyawa serin oktil ester *p*-TsOH (SOE-*p*-TsOH) sebagai target reaksi tahap pertama sebelum dilakukan reaksi tahap selanjutnya untuk mendapatkan senyawa analog UK-3A yaitu PSOE dan PSOOE, dilakukan melalui reaksi esterifikasi antara 6,08 mL alkohol alifatik (oktanol) dengan 1,0515 gram asam amino L-serin menggunakan katalis

asam *p*-toluenasulfonat (*p*-TsOH) sebanyak 1,9407 gram dalam 5 mL pelarut benzen. Reaksi ini dilakukan pada suhu 110 °C selama 24 jam (Widodo, 1998). Pemanasan diperlukan dengan tujuan untuk menaikkan energi kinetik, yaitu semakin memperbanyak tumbukan antar molekul sehingga reaksi berlangsung lebih cepat, selain itu juga bertujuan air (H₂O) sebagai hasil samping reaksi dapat menguap dan tidak mengganggu reaksi yang sedang berlangsung 24 jam. Waktu reaksi yang dibutuhkan bertujuan untuk menyempurnakan reaksi. Uji pendahuluan hasil sintesis dilakukan melalui uji kualitatif menggunakan pelat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel 60 F 254 dengan eluen kloroform : metanol (3:1), noda dilihat dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang penampak noda ninhidrin dengan nilai R_f = 0,66 (bercak mayoritas) dengan pembanding senyawa asam amino L-serin. Mekanisme reaksi dapat dilihat pada Gambar 12.

Setelah reaksi berlangsung, hasil reaksi di partisi dengan kloroform : air (1:1), kemudian filtrat kloroform diuapkan dengan rotary evaporator. Rendemen produk senyawa SOE-*p*-TsOH diperoleh sebesar 2,21 gram (57,10%), kecilnya jumlah rendemen yang diperoleh disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah ketidakstabilan proses pengadukan (stirrer) sebagai akibat dari tidak stabilnya alat magnetik stirrer yang digunakan, sehingga reaksi yang terjadi belum sempurna, hal ini ditandai dengan masih adanya spot/bercak dari pereaksi yaitu L-serin yang tersisa.



Gambar 12. Mekanisme reaksi sintesis senyawa SOE-*p*-TsOH (Widodo, 1998)

Untuk memastikan produk yang terbentuk dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan, spektrofotometer UV-Vis, spektrometer FTIR, spektrofotometer LC-MS dan spektrometer NMR.

Berdasarkan hasil analisis FTIR (Lampiran 4) diketahui bahwa pada senyawa SOE-*p*TsOH terdapat pita serapan vibrasi ulur ikatan karbonil ester alifatik ($\text{C}=\text{O}$) pada bilangan gelombang 1708 cm^{-1} yang diperkuat dengan pita serapan yang muncul pada bilangan gelombang 1220 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur C-O ester. Pita serapan pada bilangan gelombang 3319 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus hidroksi ($-\text{OH}$) dari alkohol asam amino yang diperkuat oleh pita serapan doublet pada 1122 dan 1028 cm^{-1}

yang menunjukkan adanya gugus alkohol (-CH₂-OH). Gugus amina (-NH₂) juga dapat ditunjukkan oleh pita pada bilangan gelombang yang sama dengan hidroksi (-OH) yaitu pada 3319 cm⁻¹, namun keberadaan gugus tersebut dapat terlihat dengan munculnya pita serapan pada 1571 cm⁻¹ dan 1290 cm⁻¹. Gugus C-H alifatik dapat terlihat dengan munculnya vibrasi ulur C-H alifatik yang muncul pada 2926 cm⁻¹ dan didukung oleh serapan pada 765 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan C-H alifatik (-C-(CH₂)_n-C-) (Sastrohamidjojo, 1992; Kemp, 1979; Simon, 1989; Sudjadi, 1985; Williams & Fleming, 1989).

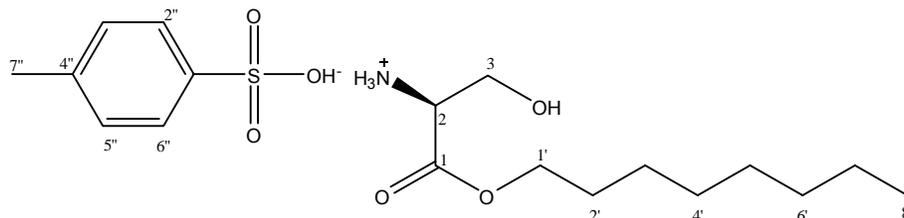
Hasil analisis spektrometer massa (MS) dengan metode *direct injection* (Lampiran 7) menunjukkan bahwa bobot molekul produk hasil sintesis tahap pertama adalah 217 m/z (M+H=218; 2M+H=435)(Simon, 1989; Williams & Fleming, 1989).

Kepastian bahwa senyawa produk reaksi esterifikasi tahap pertama tersebut merupakan senyawa SOE-*p*-TsOH dipastikan dengan spectrum ¹H-NMR (Lampiran 10) yang memberikan sinyal-sinyal pergeseran kimia (Tabel 5) sebagai berikut :

1. Gugus oktil ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 0,84 ppm (triplet, 3H, -CH₃) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 3 buah proton gugus metil yang terikat dengan gugus metilen (-CH₂), sedangkan puncak pada δ 1,21 (abroad, 10H, (-CH₂)₅) menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 10 buah proton yang berasal dari 5 buah gugus metilen (C = 3', 4', 5', 6' dan 7'). Puncak pada δ 1,45 ppm

(multiplet, 2H, -CH₂-) merupakan puncak dari gugus metilen pada posisi C-7' yang bertetangga dengan 2 buah gugus metilen lainnya, sedangkan puncak pada δ 3,99 ppm menunjukkan adanya gugus metilen yang downfield karena berdekatan dengan gugus elektro-negatif yaitu oksigen.

2. Gugus L-serin ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 3,87 ppm (dd, 1H) dan 4,09 ppm (dd, 1H) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 2 buah proton dari gugus metilen yang muncul terpisah dan downfield pada posisi C-3 (atom karbon asimetris). Puncak pada δ 3,49 ppm (triplet, 1H, -CH-) menunjukkan pergeseran kimia dari satu buah proton pada posisi C-2 yang muncul downfield karena berdekatan dengan atom yang elektronegatif yaitu nitrogen dan dengan gugus karbonil ester (-C=O).
3. Katalis *p*-TsOH ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 7,07 ppm (doublet, 2H, -CH=) menunjukkan pergeseran kimia dari 2 buah proton metin simetris pada C-3'' dan C-5'', puncak pada δ 7,67 ppm (doublet, 2H, -CH=) menunjukkan pergeseran kimia 2 buah proton metin pada posisi atom C-2'' dan C-6''. Puncak pada δ 2,29 ppm (singlet, 3H, -CH₃) menunjukkan pergeseran dari 3 buah proton terisolir sehingga muncul sebagai puncak singlet dan terikat langsung pada gugus fenil.



Gambar 13. Struktur Kimia Senyawa SOE-*p*-TsOH

Tabel 5. Data Pergeseran Kimia dari Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa Serin Oktil Ester-*p*-TsOH

No.	Posisi Atom Karbon	Pergeseran Kimia (δ ppm) $^1\text{H-NMR}$
1	1	-
2	2	3,49 (t, 1H, -CH=)
3	3	4,09 (t, 1H); 3,87 (dd, 1H) (-CH ₂ -)
4	1'	3,99 (m, 2H, -CH ₂ -)
5	2'	1,45 (m, 2H, -CH ₂ -)
6	3'-7'	1,21 (abroad, 10H, -(CH ₂) ₅ -)
7	8'	0,84 (t, 3H, -CH ₃)
8	2'' & 6''	7,67 (d, 2H, -CH=)
9	3'' & 5''	7,07 (d, 2H, -CH=)
10	7''	2,29 (s, 3H, -CH ₃)

4.4. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester (PSOE)

Untuk mendapatkan senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dilakukan dengan melangsungkan reaksi tahap kedua, yaitu reaksi amidasi dengan cara mereaksikan sebanyak 0,8156 gram produk reaksi tahap pertama (SOE-*p*-TsOH) dengan 0,5605 gram asam 3-hidroksipikolinat menggunakan 0,5062 gram aktivator disikloheksilkarbodiimida (DCC) dan

0,4813 gram katalis dimetil amino piridin (DMAP) dalam pelarut piridin pada suhu 55 °C selama 24 jam. Piridin digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang merupakan senyawa polar, bersifat basa serta dapat melarutkan material sintesis, aktivator dan katalis dengan baik sehingga diharapkan reaksi dapat berjalan dengan sempurna. Reaksi amidasi ini dapat terjadi karena gugus asam dari asam 3-hidroksipikolinat akan diaktivasi oleh DCC dan dikatalis dengan DMAP sehingga mudah untuk diserang oleh elektron bebas pada atom nitrogen dalam gugus amina mem-bentuk gugus amida. Mekanisme reaksi amidasi pembentukan senyawa PSOE dapat dilihat pada Gambar 14.

Setelah reaksi berlangsung selama 24 jam, kemudian ditambahkan dengan HCl 2% untuk menetralkan produk reaksi yang bersifat basa dengan adanya pereaksi piridin, proses penetralan ini dilakukan dengan penambahan pelarut HCl 2% jika terlalu basa (cek dengan kertas pH) dan penambahan pelarut NaOH, jika sebaliknya. Setelah pH netral (± 7), terbentuknya endapan berwarna putih dalam hasil reaksi amidasi ini merupakan pertanda telah terbentuknya DCU yang merupakan senyawa hasil samping sebagai akibat dari penggunaan DCC sebagai aktivator. Keberadaan senyawa hasil samping DCU di atasi dengan cara penyaringan, filtrat yang telah terpisah dari DCU kemudian dipartisi menggunakan 2 pelarut yang tidak saling bercampur yaitu kloroform dan air dengan perbandingan 1:1. Kedua pelarut tersebut digunakan selain karena keduanya tidak dapat saling bercampur, keduanya

juga mempunyai fungsi yang sama-sama penting, dimana kloroform akan melarutkan produk hasil reaksi yang menjadi target reaksi, yaitu PSOE, sementara air berfungsi untuk mengikat piridin yang masih bersisa. Setelah fase kloroform dipisahkan dari fase air, kemudian dianalisis kualitatif menggunakan pelat KLT dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (2:1) yang memberikan bercak mayoritas produk (PSOE) dengan nilai $R_f = 0,56$ yang berpendar jika dilihat pada UV panjang gelombang (λ) 254 nm dan memberikan bercak berwarna merah keunguan setelah disemprot dengan penyemprot bercak ninhidrin, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa PSOE yang menjadi senyawa target telah terbentuk. Proses pemurnian senyawa PSOE dilakukan melalui kolom kromatografi gravitasi menggunakan fase diam silika gel serta fase gerak gradient *n*-heksana : etil asetat, dimulai dari fase gerak *n*-heksana 100%, 99.5%, 99%, dst. Masing-masing fraksi ditampung setiap 10 mL menggunakan tabung reaksi, dan setiap fraksi diuji dengan kromatografi lapis tipis (eluen *n*-heksana : etil asetat (1:1) hingga diperoleh bercak tunggal dari senyawa PSOE. Setiap filtrat yang memiliki bercak yang sama digabung menjadi satu. Filtrat yang mempunyai bercak tunggal senyawa target pada KLT diidentifikasi dan dikarakterisasi lebih lanjut dengan UV-Vis, FTIR, LC-MS, polarimeter, ^1H - dan ^{13}C -NMR untuk menentukan struktur molekulnya. Produk analog UK-3A yang diperoleh berbentuk *oily* berwarna kuning kecoklatan dengan jumlah rendemen produk senyawa PSOE diperoleh sebesar 0,4135 gram (61,73%), semakin kecilnya jumlah perbandingan mol senyawa direaksikan menjadi salah satu penyebab

semakin kecilnya rendeman yang diperoleh kembali setelah melalui beberapa tahapan pemurnian senyawa, khususnya setelah melalui proses pemurnian menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi dengan fase diam berupa silika gel.

Dua buah puncak serapan maksimum yang diperoleh dari analisis UV-Vis (Lampiran 13) pada 293 nm menunjukkan adanya transisi elektronik dari $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan adanya gugus karbonil ($-C=O$) terkonjugasi (Silverstein *et al.*, 1991). Sedangkan puncak panjang gelombang maksimum pada 236 nm menunjukkan adanya transisi elektronik dari $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan adanya gugus karbonil dari ester ($R-CO-OR$) (Simon, 1989; Sudjadi, 1985; Williams & Fleming, 1989)).

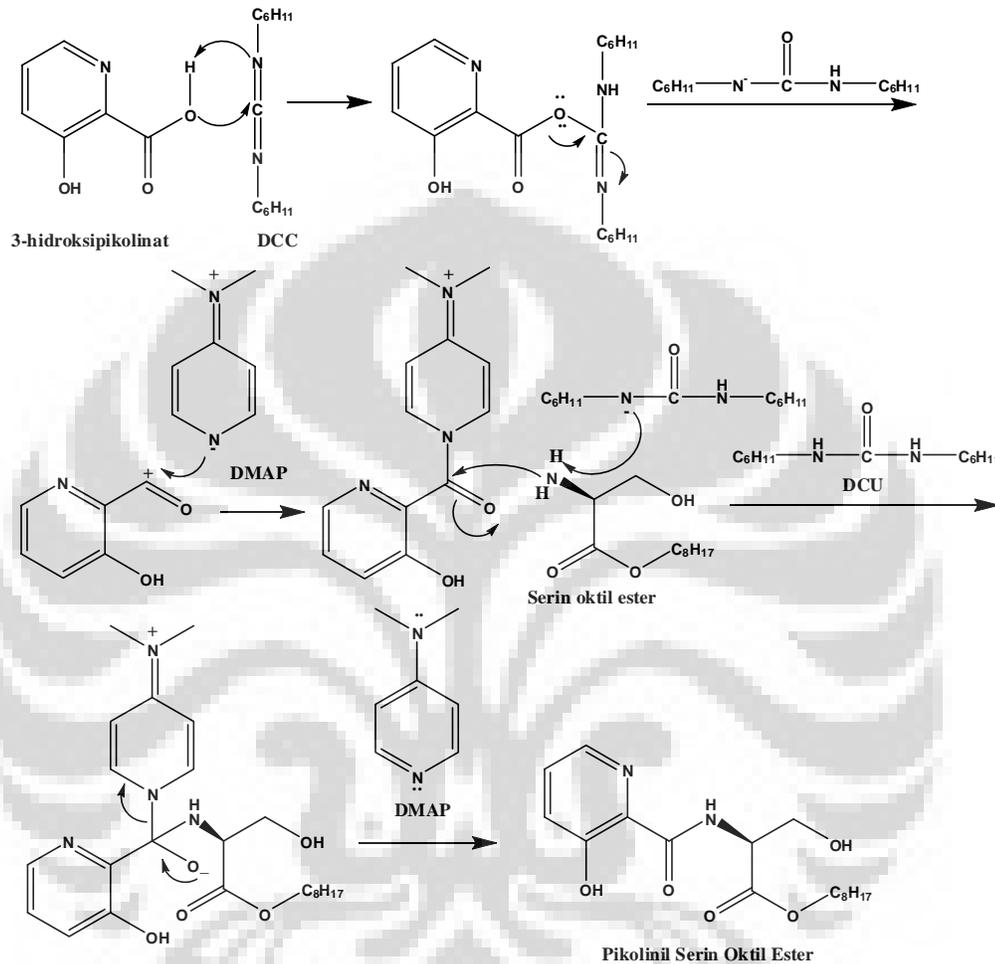
Berdasarkan hasil analisis FTIR (Lampiran 5) diketahui bahwa produk hasil reaksi tahap kedua (PSOE) yang merupakan salah satu senyawa analog UK-3A mempunyai pita serapan pada 1737 cm^{-1} yang merupakan pita serapan vibrasi ulur ikatan karbonil ester ($-C=O$) yang diperkuat oleh pita serapan vibrasi ulur C-O ester pada 1242 cm^{-1} . Berbeda dengan nilai serapan C=O di atas. Pita serapan pada 3377 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus -OH yang diperkuat oleh serapan pada 1188 cm^{-1} yang merupakan vibrasi dari gugus aromatik ($-C-OH$), namun keberadaan serapan pada 3377 cm^{-1} juga bisa menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus -NH- dari amida sekunder yang juga didukung dengan adanya serapan yang lemah pada 1597 cm^{-1} dan serapan sedang pada 810 cm^{-1} yang masing-masing menunjukkan vibrasi dari gugus amida ($-NH-$). Adanya gugus aromatik terlihat

pada bilangan gelombang 3064 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan C-H aromatik, yang didukung oleh serapan pada 1649 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan $\text{C}=\text{C}$ - aromatik. Gugus eter ($\text{-C-O-CH}_2\text{-}$) muncul pada serapan 2854 cm^{-1} , sedangkan vibrasi ulur C-H alifatik muncul pada 2926 cm^{-1} yang didukung oleh serapan pada 786 cm^{-1} (Sastrohamidjojo, 1992; Kemp, 1979; Simon, 1989; Sudjadi, 1985; Williams & Fleming, 1989).

Hasil analisis LC-MS terhadap produk reaksi tahap kedua (Lampiran 8) menunjukkan bahwa bobot molekul senyawa tersebut adalah 338 m/z ($\text{M}+\text{H} = 339$; $2\text{M}+\text{H} = 677$; $2\text{M}+\text{Na} = 699$) (Simon, 1989; Williams & Fleming, 1989).

Pengukuran sudut putaran optik terhadap L-serin dan senyawa produk hasil reaksi tahap kedua (reaksi amidasi) berturut-turut memberikan hasil sebesar $+0,229$; $+0,182$; $+0,122$ dan $+0,262$; $+0,233$; $+0,224$. Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan terhadap hasil pengukuran, diperoleh data yang menunjukkan nilai sudut putaran optik dari kedua senyawa tersebut di atas berturut-turut sebesar $+35$ dan $+16$. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut dapat diketahui bahwa kedua senyawa tersebut memberikan sudut putaran optik positif (+), yang berarti bahwa atom karbon kiral dalam L-serin tidak mengalami perubahan konfigurasi absolut dalam proses reaksi sintesis senyawa PSOE. Kondisi reaksi merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi suatu reaksi, apakah mudah untuk terjadi proses rasemisasi atau sukar untuk terjadi proses tersebut. Dalam hal reaksi amidasi

pembentukan senyawa PSOE, yang dilakukan dalam kondisi asam, menyebabkan sukarnya terjadi proses rasemisasi.



Gambar 14. Mekanisme reaksi amidasi sintesis senyawa PSOE (Carey & Sunberg, 1991)

Kepastian bahwa senyawa produk reaksi amidasi (tahap kedua) tersebut merupakan senyawa analog UK-3A yaitu pikolinil serin oktil ester (PSOE) dipastikan menggunakan spektra ^1H -dan ^{13}C -NMR (Lampiran 11) yang memberikan sinyal-sinyal pergeseran kimia (Tabel 6) sebagai berikut :

1. Gugus oktil ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 0,86 ppm (t, 3H, $-\text{CH}_3$) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 3 buah proton gugus metil yang bertetangga dengan gugus metilen ($-\text{CH}_2$) pada posisi C8', sedangkan puncak pada δ 1,25 (abroad, 10H, $(-\text{CH}_2-)_5$) menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 10 buah proton yang berasal dari 5 buah gugus metilen (C = 3', 4', 5', 6' dan 7'). Puncak pada δ 1,66 ppm (multiplet, 2H, $-\text{CH}_2-$) merupakan puncak dari gugus metilen pada posisi C-2' yang bertetangga dengan 2 buah gugus metilen lainnya, sedangkan puncak pada δ 4,21 ppm (t, 2H, $-\text{CH}_2$) menunjukkan adanya gugus metilen (C-1') yang downfield karena berikatan langsung dengan gugus elektronegatif yaitu oksigen.
2. Gugus L-serin ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 4,10 ppm (dd, 1H) dan 4,09 ppm (dd, 1H) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 2 buah proton dari gugus metilen yang muncul terpisah dan downfield berada pada posisi α pada karbon asimetrik (C-3). Puncak pada δ 4,79 ppm (m, 1H, $-\text{CH}-$) menunjukkan pergeseran kimia dari satu buah proton pada posisi C-2 yang muncul downfield karena berdekatan dengan atom yang elektro-negatif yaitu nitrogen dan dengan gugus karbonil ester ($-\text{C}=\text{O}$). Puncak pada δ 8,76 ppm (d, 1H, $-\text{NH}-$) menunjukkan adanya gugus amida yang muncul downfield karena berdekatan dengan gugus karbonil.
3. Gugus pikolinil ditunjukkan dengan adanya puncak-puncak pergeseran kimia proton aromatik pada 7,30 ppm (dd, 1H, aromatik $-\text{CH}-$) pada

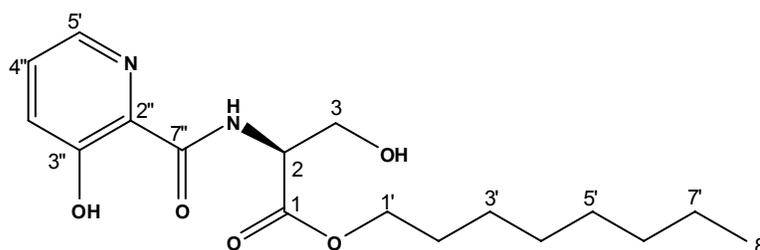
posisi atom C-5", puncak pada 7,35 ppm (dd, 1H, aromatik -CH-) pada posisi atom C-4", dan pada 8,07 ppm (dd, 1H, aromatik -CH-) pada posisi C-6" yang masing-masing menunjukkan adanya 3 buah proton aromatik yang berasal dari gugus pikolinil. Gugus hidroksi (-OH) yang terikat langsung pada cincin aromatik piridin (C-3") dan membentuk ikatan hidrogen (jembatan hidrogen) karena posisi ruangnya yang berdekatan dengan gugus karbonil puncak pergeseran kimianya muncul pada δ 11,71 ppm (s, 1H, -OH).

Puncak spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ pada δ 14,25 ppm menunjukkan adanya satu atom karbon metil pada posisi C-8', puncak pada δ 22,78 ppm (C-7'); 25,93 ppm (C-3'); 28,63 ppm (C-2'); 29,29 ppm (2C) (C-4' dan C-5') dan 31,89 ppm (C-6') merupakan 6 buah gugus karbon metilen dari rantai karbon alifatik gugus oktil. Puncak pada δ 66.431ppm adalah puncak karbon metilen (C-1') dari gugus oktil yang muncul downfield karena adanya pengaruh dari atom oksigen. Puncak pada δ 54,60 ppm (C-2) merupakan puncak karbon metin dari gugus L-serin yang berikatan dengan amida, sedangkan gugus karbon metilen dan karbonil dari L-serin masing-masing ditunjukkan oleh puncak spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ pada pergeseran kimia δ 63,43 ppm (C-3) dan 170,03 ppm (C-1). Untuk atom-atom karbon metin dari gugus pikolinil ditunjukkan secara berturut-turut oleh puncak δ 126,34 ppm (C-4"); 129,13 ppm (C-5") dan 140,05 ppm (C-6"), sedangkan puncak karbon δ 131,11 ppm (C-2") merupakan gugus karbon kuartener yang berikatan rangkap langsung

dengan nitrogen. Atom karbon yang mengikat gugus hidroksi dan atom karbon dari gugus karbonil ditunjukkan masing-masing oleh puncak pada nilai pergeseran kimia δ 157,96 ppm (C-3'') (downfield karena mengikat gugus hidroksi) dan δ 169,15 ppm (C-7'').

Tabel 6. Data Pergeseran Kimia dari Spektra ^1H - dan ^{13}C -NMR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester (PSOE)

No.	Pergeseran Kimia (δ) ppm	
	^1H -NMR	^{13}C -NMR
1	-	170,03
2	4,79 (m, 1H)	54,60
3	4,10 (dd, 1H); 4,09 (dd, 1H)	63,43
1'	4,21 (t, 2H)	66,43
2'	1,66 (m, 2H)	28,63
3'	1,25 (b, 10H)	25,93
4' & 5'		29,29 (2C) C4' & C5'
6'		31,89
7'		22,78
8'		14,27
2''		131,11
3''	11,71 (s, 1H)	157,96
4''	7,35 (dd, 1H)	126,34
5''	7,30 (dd, 1H)	129,13
6''	8,07 (dd, 1H)	140,05
7''	-	169,15
	8,76 (d, 1H, -NH-)	-



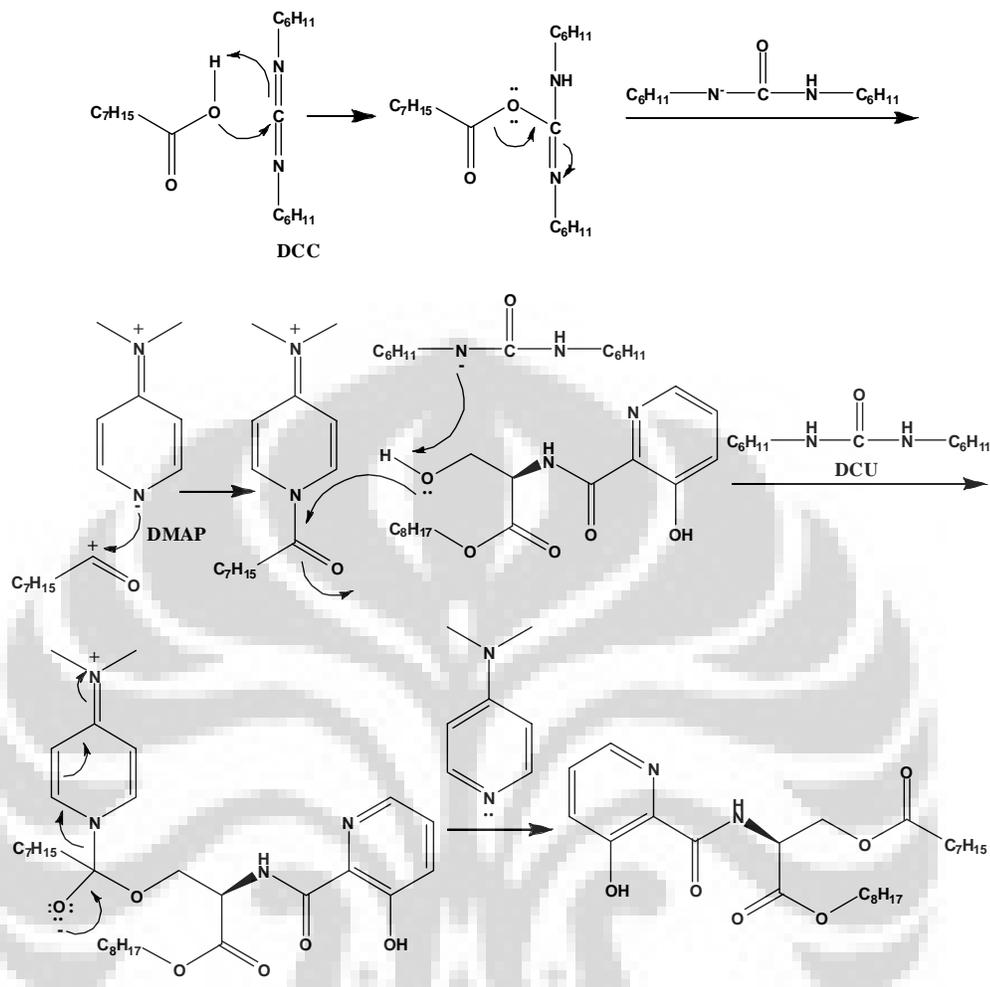
Gambar 15. Struktur Kimia Senyawa PSOE

4.5. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktanoil Ester (PSOOE)

Senyawa pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) diperoleh dengan melakukan reaksi tahap ketiga (reaksi esterifikasi) antara 99 mg produk reaksi tahap kedua (PSOE) dengan 71,3 μL asam oktanoat menggunakan 93 mg aktivator disikloheksilkarbodiimida (DCC) dan 9,6 mg katalis dimetil amino piridin (DMAP) dalam pelarut kloroform pada suhu ruang selama 4 jam. Esterifikasi ini dapat terjadi karena gugus asam dari asam oktanoat diaktivasi oleh DCC dan dikatalis dengan DMAP sehingga mudah untuk diserang oleh elektron bebas pada atom oksigen dari gugus alkohol senyawa PSOE dan menghasilkan produk berbentuk cairan (*oily*) berwarna jernih sebanyak 88,3 gram (63,43%). Mekanisme reaksi esterifikasi pembentukan senyawa PSOOE dapat dilihat pada Gambar 16.

Setelah reaksi berlangsung selama 4 jam, hasil reaksi yang diperoleh di analisa KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (4:1) dan memberikan 2 buah bercak dengan nilai $R_f = 0,92$ yang berpendar jika dilihat pada lampu UV λ 254 nm dan berwarna ungu kemerahan setelah disemprot

dengan penampakan bercak ninhidrin, serta bercak dengan $R_f = 0,72$ yang berasal dari kelebihan asam oktanoat. Hasil KLT tersebut menunjukkan bahwa target senyawa yang diinginkan (PSOOE) telah terbentuk. Hasil reaksi yang diperoleh, diuapkan dengan rotari evaporator. Produk kering yang diperoleh kemudian dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan eluent *n*-heksana : etil asetat mulai dari *n*-heksana 100%, 99.5%, dan 99%. Masing-masing fraksi hasil kolom kromatografi ditampung tiap 10 mL menggunakan tabung reaksi, dan setiap fraksi diuji dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (4:1) hingga diperoleh bercak tunggal dari senyawa target yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut telah terpisah (murni). Fraksi-fraksi yang memberikan bercak tunggal senyawa target pada KLT ($R_f = 0,92$) kemudian digabung dan kembali diuapkan menggunakan rotari evaporator. Senyawa target tersebut kemudian diidentifikasi lebih lanjut menggunakan UV-Vis, FTIR, LC-MS, polarimeter, ^1H - dan ^{13}C -NMR untuk menentukan struktur molekulnya.



Gambar 16. Mekanisme Reaksi Esterifikasi Sintesis Senyawa PSOOE (Carey & Sunberg, 1991)

Dua buah puncak pada λ 235 nm dan 211 nm (Lampiran 14) yang diperoleh berdasarkan analisa penentuan panjang gelombang maksimum senyawa PSOOE menggunakan spektrofotometer UV-Vis berturut-turut menunjukkan bahwa senyawa PSOOE tersebut menunjukkan adanya transisi elektronik dari $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan adanya gugus karbonil dari ester (R-CO-OR) (Silverstein *et al*, 1991) dan adanya transisi elektron dari orbital

$\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya gugus hidroksi (-OH) yang terikat pada cincin aromatik (Simon, 1989; Sudjadi, 1985; Williams & Fleming, 1989)).

Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa senyawa target (PSOOE) mempunyai serapan pada 1743 cm^{-1} yang merupakan pita serapan vibrasi ulur ikatan karbonil ester (-C=O) yang diperkuat oleh serapan vibrasi ulur C-O pada 1242 cm^{-1} . Pita serapan pada 3377 cm^{-1} dan diperkuat oleh serapan pada 1186 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus -OH yang terikat pada cincin aromatik (Ar-OH). Selain menunjukkan adanya gugus -OH, serapan pada 3377 cm^{-1} juga dapat diartikan sebagai petunjuk adanya gugus amida (-NH-) yang juga diperkuat oleh serapan pada 1597 cm^{-1} dan 810 cm^{-1} . Adanya gugus aromatik ditunjukkan oleh serapan pada 1650 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi ikatan olefinik karbon aromatik (-C=C-) yang didukung juga oleh serapan pada 3064 cm^{-1} yang merupakan serapan vibrasi atom hidrogen yang terikat pada cincin aromatik (Ar-H). Adanya gugus eter (-C-O-CH₂-) ditunjukkan oleh serapan pada 2854 cm^{-1} , sedangkan vibrasi ulur C-H alifatik muncul pada 2926 cm^{-1} dan 2953 cm^{-1} yang didukung oleh serapan pada 781 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus metilen alifatik (-C-(CH₂)_n-C-) (Sastrohamidjojo, 1992; Kemp, 1979; Simon, 1989; Sudjadi, 1985; Williams & Fleming, 1989).

Analisis bobot molekul menggunakan LC-MS dengan metode *direct injection* MS terhadap senyawa target menunjukkan bahwa bobot molekul dari senyawa tersebut adalah 464 m/z ($M+H = 465$; $M+Na = 487$; $2M+Na = 951$) (Simon, 1989; Williams & Fleming, 1989).

Pengukuran sudut putaran optik terhadap senyawa target (PSOOE) berturut-turut memberikan hasil sebesar +1,459; +1,442 dan +1,369. Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan terhadap hasil pengukuran, diperoleh data yang menunjukkan nilai sudut putaran optik sebesar +71. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa atom kiral yang terdapat dalam L-serin tidak mengalami perubahan atau pembalikan konfigurasi absolutnya selama terjadi proses reaksi sintesis mulai dari tahap pertama (esterifikasi), tahap kedua (amidasi) dan tahap ketiga (esterifikasi). Perubahan nilai putaran optik diakibatkan adanya perubahan dari gugus-gugus yang terikat oleh atom C asimetris (C kiral). Faktor kondisi reaksi dalam kondisi asam menyebabkan sukar terjadinya proses rasemisasi yang mungkin terjadi jika reaksi melibatkan senyawa yang mempunyai karbon kiral.

Kepastian bahwa senyawa produk reaksi esterifikasi (tahap ketiga) tersebut merupakan senyawa analog UK-3A yaitu pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) dipastikan menggunakan spektra ^1H -dan ^{13}C -NMR (Lampiran 12) yang memberikan sinyal-sinyal pergeseran kimia (Tabel 7) sebagai berikut :

1. Proton metil dari gugus oktil dan oktanoil ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 0,79 ppm (q, 6H, $-\text{CH}_3$) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 6 buah proton yang berasal dari 2 buah gugus metil yang bertetangga dengan gugus metilen ($-\text{CH}_2$), sedangkan puncak pada δ 1,20 (abroad, 18H, $(-\text{CH}_2)_9$) menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 18 buah proton yang berasal dari 9 buah gugus

metilen (C = 3', 4', 5', 6', 7', 4'', 5'', 6'' dan 7''). Puncak pada δ 1,52 ppm (m, 2H, -CH₂-) dan δ 1,59 ppm (m, 2H, -CH₂-) merupakan puncak dari dua gugus metilen pada posisi C-2' dan C-3'' yang bertetangga dengan 2 buah gugus metilen lainnya. Puncak pada δ 2,25 ppm (t, 2H, -CH₂-) merupakan puncak 2 buah proton metilen oktanoil pada posisi C-2'' yang muncul sedikit downfield karena bertetangga dengan gugus karbonil, sedangkan puncak yang muncul lebih downfield pada δ 4,13 ppm (m, 2H, -CH₂) menunjukkan adanya gugus metilen pada posisi gugus oktil C-1' yang berdekatan dan mengikat langsung atom elektronegatif yaitu oksigen.

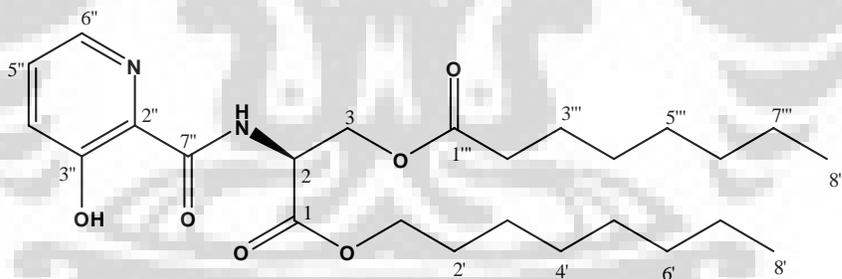
2. Gugus L-serin ditunjukkan dengan adanya puncak pada δ 4,3 ppm (dd, 1H) dan 4,49 ppm (dd, 1H) yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari 2 buah proton dari gugus metilen yang berdekatan dengan atom C asimetris sehingga muncul terpisah dan downfield pada posisi C-3 karena berdekatan atom elektronegatif oksigen dan nitrogen. Puncak pada δ 4,92 ppm (m, 1H, -CH-) menunjukkan pergeseran kimia dari satu buah proton pada posisi C-2 yang muncul downfield karena berdekatan dengan atom yang elektronegatif yaitu nitrogen dan dengan gugus karbonil ester (-C=O). Puncak pada δ 8,61 ppm (d, 1H, -NH-) menunjukkan adanya gugus amida yang muncul downfield karena berdekatan dengan gugus elektronegatif yaitu gugus karbonil.
3. Gugus pikolinil ditunjukkan dengan adanya puncak-puncak pergeseran kimia proton aromatik pada δ 7,24 ppm (dd, 1H, aromatik -CH-); δ 7,28

ppm (dd, 1H, aromatik-CH-) dan δ 8,03 ppm (dd, 1H, aromatik -CH-) menunjukkan pergeseran kimia dari tiga buah proton metin pada gugus pikolinil berturut-turut pada posisi C-5", C-4" dan C-6". Gugus hidroksi (-OH) yang terikat langsung pada cincin aromatik piridin posisi C3" dan membentuk ikatan hidrogen (jembatan hidrogen) karena posisi ruangnya yang berdekatan dengan gugus karbonil puncak pergeseran kimianya muncul pada 11,65 ppm (s, 1H, -OH).

4. Puncak spektrum ^{13}C -NMR untuk gugus oktil dan oktanoil muncul pada δ 14,17 ppm dan δ 14,20 ppm yang menunjukkan adanya dua atom karbon metil pada posisi C-8" dan C-8', puncak pada 22,71 ppm (C-7'); 22,75 ppm (C-7"); 24,96 (C-3"); 25,88 ppm (C-3'); 28,59 ppm (C-2'); 29,03 ppm (C-5"); 29,13 ppm (C-4"); 29,27 ppm (2C) (C-4' dan C-5'); 31,72 ppm (C-6"); 31,87 (C-6'), dan 34,11 ppm (C-2") merupakan 12 buah gugus karbon metilen dari rantai karbon alifatik gugus oktil dan oktanoil. Puncak pada 66,44 ppm adalah puncak karbon metilen (C-1') dari gugus oktil yang muncul downfield karena adanya pengaruh dari atom oksigen. Puncak pada δ 173,43 ppm adalah puncak gugus karbonil (C-1") dari oktanoil yang muncul lebih downfield dibanding dengan gugus karbonil pada posisi C-1 dan C-7" sebagai akibat pengaruh dari kedekatan ikatan dengan atom oksigen.
5. Puncak-puncak sinyal karbon dari gugus L-serin muncul pada 51,55 ppm (C-2) merupakan puncak karbon metin yang berikatan dengan amida, sedangkan gugus karbonil dan karbon metilen L-serin masing-

masing ditunjukkan oleh puncak spektrum ^{13}C -NMR pada pergeseran kimia 63,67 ppm (C-3) dan 168,98 ppm (C-1).

6. Untuk atom-atom karbon metin dari gugus pikolinil ditunjukkan secara berturut-turut oleh puncak spektrum ^{13}C -NMR pada nilai pergeseran kimia δ 126,22 ppm (C-4^{''}); 129,07 ppm (C-5^{''}) dan 139,99 ppm (C-6^{''}), sedangkan puncak karbon δ 131,01 ppm (C-2^{''}) merupakan gugus karbon kuartener yang berikatan rangkap langsung dengan nitrogen. Atom karbon yang mengikat gugus hidroksi dan atom karbon dari gugus karbonil ditunjukkan masing-masing oleh puncak pada nilai pergeseran kimia δ 157,96 ppm (downfield karena mengikat gugus hidroksi) dan δ 168,85 ppm.



Gambar 17. Struktur Kimia Senyawa PSOOE

Tabel 7. Data Pergeseran Kimia dari Spektra ^1H - dan ^{13}C -NMR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester (PSOOE)

No.	Pergeseran Kimia (δ) ppm		
	^1H -NMR	^{13}C -NMR	
1	-	168,98	
2	4,92 (m, 1H)	51,55	
3	4,31 (dd, 1H); 4,49 (dd, 1H)	63,67	
1'	4,13 (t, 2H)	66,44	
2'	1,52 (m, 2H)	28,59	
3'	1,25 (b, 10H)	25,88 & 24,96	
4' & 5'		29,27 (2C)	
4''		29,13	
5''		29,03	
6' & 6''		31,87 & 31,72	
7' & 7''		22,71 & 22,75	
8'		0,79(q, 6H)	14,17
8''			14,20
2''		131,01	
3''	11,65 (s, 1H)	157,96	
4''	7,28 (dd, 1H)	126,22	
5''	7,24 (dd, 1H)	129,07	
6''	8,03 (dd, 1H)	139,99	
7''	-	168,85	
	8,61 (d, 1H, -NH-)	-	
1'''	-	173,43	
2'''	2,25 (t, 2H)	34,11	
3'''	1,59 (m, 2H)	24,96	

Berdasarkan hasil analisis menggunakan KLT, FT-IR, LC-MS, ^1H -NMR, dan ^{13}C -NMR membuktikan bahwa senyawa analog UK-3A yaitu PSOE telah berhasil disintesis pada tahap kedua, sedangkan senyawa PSOOE juga telah berhasil disintesis pada tahap sintesis ketiga. Kedua senyawa memiliki tingkat kemurnian cukup tinggi. Sebagai tahapan selanjutnya dilakukan uji bioaktivitas senyawa PSOE dan PSOOE secara *in vitro* terhadap sel kanker *Murine leukemia* P-388. Penambahan panjang rantai alifatik pada gugus ester diharapkan akan berpengaruh terhadap aktivitas senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel kanker *Murine leukemia* P-388.

4.6. Uji Bioaktivitas Senyawa Analog UK-3A

4.6.1. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji aktivitas senyawa analog UK-3A, yaitu senyawa PSOE dan PSOOE diawali dengan uji pendahuluan untuk mengetahui efek toksisitas (LC_{50}) senyawa melalui metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Uji BSLT dilakukan terhadap senyawa PSOE dan PSOOE menggunakan konsentrasi 400, 600, 800 dan 1000 ppm dalam media air laut dan dilakukan dengan 3 kali ulangan (triplo) dan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Masing-masing sebanyak 30 ekor/konsentrasi. Proses penetasan telur *Artemia salina* Leach. sampai dengan menjadi larva membutuhkan waktu 48 jam, dan mulai dari penambahan sampel uji terhadap larva udang sampai dengan proses perhitungan membutuhkan waktu 24 jam. Jumlah larva udang

yang mati dan hidup dihitung, untuk kemudian ditentukan persentase kematian dengan cara membagi larva udang yang mati dengan jumlah larva udang hidup dikurangi kontrol. Nilai LC_{50} di-peroleh melalui analisis regresi linear. Rata-rata hasil uji toksisitas senyawa PSOE dan PSOOE pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Lampiran 15 dan 16.

Dari hasil tersebut diketahui bahwa kedua senyawa PSOE dan PSOOE mempunyai tingkat toksisitas yang rendah yaitu 851,14 ppm dan 1071,52 ppm, jika digunakan dasar yang diambil dari Meyer (1992) yang menyatakan bahwa suatu senyawa mempunyai efek toksisitas yang signifikan (tinggi) jika mempunyai nilai $LC_{50} \leq 50$ ppm. Rendahnya toksisitas dari kedua senyawa diakibatkan faktor kelarutan dari senyawa terhadap air laut yang digunakan, walaupun dilarutkan terlebih dahulu menggunakan DMSO, namun setelah senyawa PSOE dan PSOOE ditambahkan dengan air laut yang berisi larva udang *A. Salina*, senyawa PSOE dan PSOOE tidak dapat terlarut atau bercampur dan mengambang di bagian permukaan air laut, hal ini menunjukkan DMSO sebagai emulsifier tidak bekerja, sehingga diperlukan emulsifier yang lebih baik atau jumlah DMSO yang lebih banyak, namun harus dikontrol menggunakan kontrol positif DMSO tanpa penambahan sampel uji.

Perhitungan nilai LC_{50} dilakukan melalui kurva regresi linear dengan memplot % kematian udang terhadap log konsentrasi dari masing-masing senyawa uji sehingga diperoleh konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva udang *Artemisia salina* Leach.

4.6.2. Uji Sitotoksitas terhadap Sel *Murine leukimia P-388*

Uji aktivitas sitotoksik ini dilakukan dengan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetilazo-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida. Uji dilakukan dengan konsentrasi 0,1; 0,3; 1,0; 3,0; 10,0; 30,0 dan 100 µg/mL.

Efek penghambatan senyawa hasil sintesis terhadap pertumbuhan sel kanker *Murine leukimia P-388* dapat ditentukan melalui penghitungan senyawa formazan yang terbentuk dengan melarutkannya, untuk kemudian diukur densitas optiknya (OD). Sementara reaksi warna biru keunguan digunakan sebagai ukuran dari jumlah sel hidup yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 630 nm (Rianti, 2008). Besarnya penghambatan dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang menunjukkan hambatan pertumbuhan sel kanker sebesar 50%. Hasil uji sitotoksitas terhadap senyawa PSOE dan PSOEE dapat dilihat pada Tabel 8. di bawah ini.

Tabel 8. Hasil uji sitotoksitas senyawa PSOE dan PSOEE terhadap sel kanker *Murine leukimia P-388*.

Senyawa Uji	Nilai IC_{50} (µg/mL)
PSOE	27
PSOEE	57
UK-3A	38

Dari tabel di atas diketahui bahwa diantara kedua senyawa analog UK-3A mempunyai aktivitas sitotoksitas (IC_{50}) yang berbeda yaitu 32 µg/mL untuk senyawa PSOE dan 50 µg/mL untuk senyawa PSOEE. Suatu senyawa

hasil sintesis aktivitas sitotoksitasnya dinyatakan aktif jika mempunyai nilai IC_{50} dibawah 30 $\mu\text{g/mL}$, sehingga jika dibandingkan dengan ketentuan tersebut dan nilai IC_{50} dari senyawa UK-3A ($IC_{50} = 38 \mu\text{g/mL}$) senyawa PSOE mempunyai aktivitas sitotoksitas signifikan terhadap sel kanker *Murine leukimia* P-388 dibandingkan UK-3A. Sedangkan senyawa PSOEE bisa dinyatakan tidak mempunyai aktivitas sitotoksitas signifikan terhadap sel *Murine leukimia* P-388, juga mempunyai nilai aktivitas yang lebih rendah dibandingkan senyawa UK-3A.

Perbedaan tingkat aktivitas sitotoksitas kedua senyawa tersebut salah satu penyebabnya adalah perbedaan pada panjang rantai ester, dimana pada senyawa PSOE salah satunya merupakan gugus fungsi hidroksi (-OH), sementara pada senyawa PSOEE keduanya merupakan gugus ester rantai panjang, hal tersebut berdasarkan dari berbagai penelitian mengenai senyawa aktif khususnya senyawa bahan alam yang menyimpulkan bahwa gugus hidroksi (OH) merupakan salah satu gugus farmakofor atau gugus yang akan memberikan aktivitas biologis (Yuharmen, 2002; Achmad, S.A, 1990; <http://www.tempointeraktif.com/medika/arsip/042001/pus-2.htm>). Berdasarkan data hasil perhitungan QSAR (*Quantitative Structure and Activity Relationship*) (Tabel 9) yang telah dilakukan terhadap senyawa-senyawa analog UK-3A yang telah disintesis pada penelitian-penelitian sebelumnya, diperoleh data bahwa senyawa pikolinil serin metil ester (PSME) yang mempunyai nilai $\Delta G_{\text{bind}} -7,1095 \text{ kcal/mol}$ dengan nilai $\log P -1.18$ mempunyai aktivitas antikanker (terhadap sel *Murine leukimia* P-388) dengan

$IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ (Hanafi, 2008) lebih kecil aktivitasnya jika dibandingkan dengan senyawa PSOOE yang tidak mempunyai gugus hidroksi (OH), juga terhadap senyawa PSOE yang sama-sama memiliki gugus OH, namun mempunyai gugus ester dengan rantai yang lebih panjang yaitu oktil. Dari perbandingan terhadap ketiga senyawa tersebut, dapat diketahui bahwa gugus OH yang terdapat pada L-serin tidak mempunyai peran sebagai kromofor, dan perbedaan panjang rantai ester memberikan asumsi bahwa semakin panjang rantai karbon pada gugus ester, aktivitas antikankernya semakin tinggi. Hal tersebut juga didukung dengan data aktivitas antikanker dari senyawa pikolinil serin metil oktanoil ester (PSMOE) yang merupakan hasil esterifikasi dari senyawa PSME, dimana gugus OH diganti menjadi gugus ester rantai panjang yaitu oktanoil yang mempunyai nilai IC_{50} $15,4 \mu\text{g/ml}$ (Hanafi, 2008). Faktor lain yang mungkin mempengaruhi tingkat aktivitas suatu senyawa adalah nilai ΔG_{bind} (nilai e-docking) dan log P yaitu (lipofilisitas yang digambarkan sebagai kemampuan suatu senyawa untuk menembus membran lipid) (Misyetti, 2006), dimana nilai ΔG_{bind} dan log P senyawa PSME yaitu $-7,1095 \text{ kcal/mol}$ dan -1.18 lebih rendah dibandingkan PSMOE yaitu $-11,93$ dan $1,56$, berdasarkan kedua nilai tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas antikanker dari senyawa PSME dipengaruhi oleh nilai ΔG_{bind} dan nilai log P, dimana semakin rendah nilai ΔG_{bind} yang berarti semakin tinggi tingkat kesesuaian antara ligan dengan reseptor (protein), maka semakin tinggi aktivitasnya, demikian pula dengan nilai log P, dimana semakin tinggi nilai log P, maka semakin tinggi kemampuan ligan untuk

menembus membran lipid dan mencapai target, berarti semakin tinggi aktivitasnya. Hal tersebut juga berlaku terhadap aktivitas antikanker dari senyawa pikolinil serin pentil pentanoil ester (PSPPE) dan senyawa pikolinil serin heksil heksanoil ester) yang mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel *Murine leukimia* P-388 berturut-turut 23,5 µg/ml dan 23 µg/ml (Hanafi, 2008).

Mengacu pada perbandingan senyawa-senyawa di atas, senyawa PSOE dan PSOEE mempunyai nilai ΔG_{bind} dan log berturut-turut yaitu -11,3575 kcal/mol; 1,61 dan -13,50 kcal/mol; 4,35. berdasarkan data tersebut seharusnya senyawa PSOEE mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa PSOE, hal tersebut berkaitan dengan lebih tingginya nilai ΔG_{bind} dan log P, namun dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa aktivitas senyawa PSOEE yang mempunyai tingkat lipofilisitas yang lebih besar (log P = 4,35) dan tingkat kesesuaian antara ligan dan reseptor (protein Bcl-xl) lebih tinggi (-13,50 kcal/mol) bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa UK-3A dan antimisin A3, ternyata mempunyai aktivitas yang lebih rendah. Berdasarkan hasil yang diperoleh tersebut, dapat diketahui bahwa suatu aktivitas tidak secara mutlak dipengaruhi oleh dua faktor penentu saja yaitu nilai ΔG_{bind} dan log P, akan tetapi ada faktor lain yang juga mempengaruhi tingkat aktivitas suatu senyawa, hal tersebut antara lain adalah : (1) kekuatan ikatan yang tinggi antara ligan dengan protein pada plasma lipid (Misyetti, 2006), dengan semakin kuatnya ikatan ligan dengan protein plasma lipid (bukan protein target), maka semakin sedikit ligan yang

bisa mencapai protein target, hal tersebut menyebabkan aktivitas ligan seakan menjadi lebih rendah. (2) bobot molekul (BM) senyawa ligan, sebagaimana yang telah diketahui dalam aturan Lipinski (*Lipinski's Rule of Five*) bahwa bobot molekul senyawa yang aktif sebagai obat sebaiknya lebih rendah dari 500 g/mol, senyawa PSOEE mempunyai BM sebesar 464 atau sedikit lebih rendah daripada ketentuan dalam aturan Lipinski, hal tersebut dapat berpengaruh terhadap kemampuannya menembus plasma lipid, mengingat ukuran molekulnya yang lebih besar dibandingkan dengan senyawa PSOE (BM = 338 g/mol), (3) tingkat lipofilisitas (log P), kisaran nilai log P berdasarkan aturan Lipinski yaitu antara -0,4 sampai +5,6, mengasumsikan bahwa semakin tinggi lipofilisitasnya, maka semakin tinggi aktivitasnya, namun berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyangkut nilai optimum log P terhadap hubungannya dengan aktivitas menunjukkan bahwa nilai optimum log P terhadap aktivitas berkisar antara 1 sampai dengan 4. Bila suatu senyawa mempunyai nilai log P ≥ 4 , maka senyawa tersebut semakin sukar untuk dapat menembus plasma lipid (Misyetti, 2006). Berdasarkan ketiga faktor tersebut di atas dan berdasarkan tingkat aktivitas antikanker senyawa-senyawa analog UK-3A lainnya yang dapat diketahui bahwa senyawa PSOEE mempunyai aktivitas antikanker yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa PSOE karena mempunyai tingkat lipofilisitas yang lebih besar dari 4, sehingga ada kemungkinan senyawa tersebut semakin sukar untuk menembus plasma lipid dan mengakibatkan semakin sedikitnya jumlah senyawa PSOEE yang berhasil

mencapai target (protein Bcl-xl) dibandingkan dengan senyawa PSOE yang mempunyai nilai log P pada kisaran nilai optimum yaitu 1,61. Hal ini juga diperkuat dengan lebih rendahnya aktivitas senyawa PSOEE dibandingkan dengan aktivitas senyawa UK-3A walaupun mempunyai bobot molekul yang lebih besar (BM 478 g/mol), akan tetapi mempunyai tingkat lipofilisitas yang sebanding dengan senyawa PSOE. Berdasarkan uraian di atas dapat diketahui bahwa faktor yang lebih berpengaruh terhadap aktivitas suatu senyawa adalah nilai lipofilisitas (log P) dibandingkan dengan nilai ΔG_{bind} .

Tabel 9. Hasil Perhitungan Parameter QSAR, UK-3A, Antimycin dan Analog UK-3^a (Hanafi, 2008)

No.	Senyawa	Log P	E-docking (kcal/mol)	Aktivitas Sitotoksik P-388 (IC ₅₀ µg/ml)
1	UK-3 ^a	1.61	-11.65	38
2	Antimycin A3	1.30	- 10.3867	0.015
3	Taxol	1.67	-10.39	
4	PSME	-1.18	-7,1095	>100
5	PSMOE	1.56	- 11.93	15,4
6	PSOE	1.61	-11.3575	32
7	PSOOE	4.35	-13.50	50
8	PSPPE	0.44	-10.3605	23,5
9	PSHHE	1.23	-12.2851	23,0

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

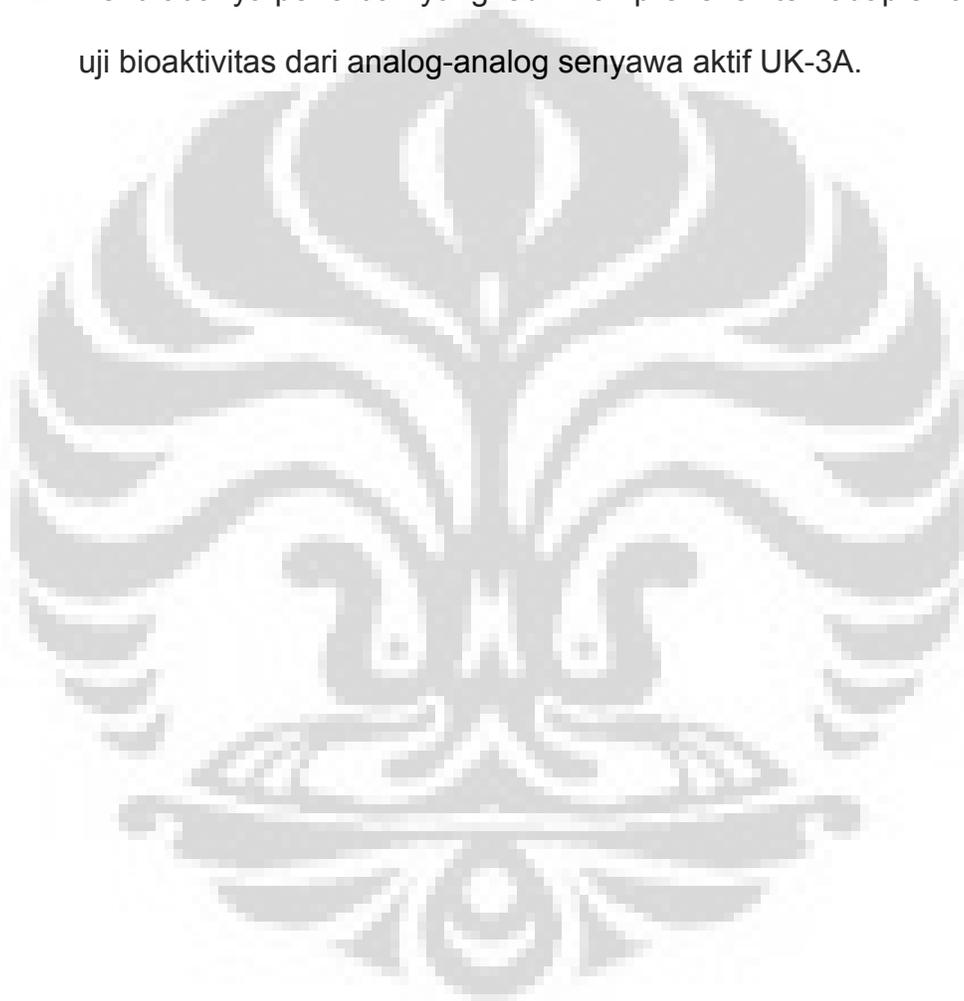
5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil identifikasi lebih lanjut menggunakan UV-Vis, FTIR, MS dan ^1H - dan ^{13}C -NMR menunjukkan bahwa senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) telah berhasil disintesis masing-masing sebesar 61,73% dan 63,43%.
2. Uji putaran optik menunjukkan bahwa senyawa hasil reaksi esterifikasi tahap pertama, amidasi tahap kedua maupun esterifikasi tahap ketiga tidak mengalami perubahan konfigurasi atom C asimetris pada gugus L-serin.
3. Hasil uji toksisitas pendahuluan menunjukkan bahwa senyawa PSOE dan PSOOE mempunyai aktivitas yang signifikan dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 851,14 ppm, dan 1071,52 ppm.
4. Uji sitotoksitas terhadap senyawa PSOE dan PSOOE menunjukkan bahwa senyawa PSOE memiliki aktivitas antikanker lebih tinggi dibandingkan dengan UK-3A, sedangkan senyawa PSOOE memiliki aktivitas yang lebih kecil dibandingkan UK-3A.
5. Parameter yang dapat dijadikan patokan aktivitas suatu senyawa adalah parameter lipofilisitas ($\log P$).

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai hubungan antara parameter lipofilisitas (nilai log P) dengan aktivitas biologi suatu senyawa aktif.
2. Perlu adanya penelitian yang lebih komprehensif terhadap sintesis dan uji bioaktivitas dari analog-analog senyawa aktif UK-3A.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. Flavonoid dan Phyto Medica: Kegunaan dan Prospek. *Phyto Medica*. Vol I, No.2. 1990.
- Budi, G.S. *Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Kulit Batang Tanjung (Bruguiera gymnorhiza) dalam Etanol dan Uji Sitotoksitasnya terhadap Sel HeLa*. Skripsi. Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Soedirman, 2006.
- Carey, F.A., dan Sunberg, R.J. *Advance Organic, Part B: Reaction and Synthesis, 3rd edition*. Plenum Press, New York and London, 1990.
- Danaei, G., Vander Hoorn, S., Lopez, A.D., Murray, C.J. and Ezzati, M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *The Lancet*, 2005, **366**:1784-1793.
- Hanafi, M., *Studies of Novel Antibiotics Metabolites from Streptomyces sp. 517-02*. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science, Osaka City University, 1995.
- Hanafi, M. Studi Korelasi Struktur Molekul dan Aktivitas Biologi dari Antibiotika UK-2, UK-3, Turunan dan Analognya. Konferensi Nasional 1, Kimia dalam Pembangunan, Yogyakarta, 1997.
- Hanafi, M., Anita, Y., Putra, A.M.J., dan Darmawan, A. Laporan Kegiatan Insentif Ristek : Anticancer Spesific Drug Based on UK-3A Analogues. 2008.

<http://en.wikipedia.org/wiki/cancer>

<http://www.nano.lipi.go.id>

<http://www.tempointeraktif.com/medika/arsip/042001/pus-2.htm>

Kemp, William. *Organic Spectroscopy*. English Language Book Society and The MacMillan Press Limited. ELBS Edition. 1979.

McLaughlin and Lingling L. Rogers. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*, 1998, vol **32**: 513-524.

Meyer, B.N., Ferriggi, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicols, D.E. and McLaughlin, J.L. Brine Shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *J. of Medicinal*, 1992, vol **45**:31-34.

Misyetti. Kajian Instabilitas Kit Kering Radiofarmaka Bertanda ^{99m}Tc Ditinjau dari Aspek Kimia dan Fisika. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. Vol. VII. No.1. Februari 2006:65-81.

Patrick, G.L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*. 2nd edition. Oxford University Press. 2001.

Rianti, D. Uji Sitotoksisitas Ekstrak dan Infusa *Coleus amboinicus* Lour. Menggunakan Esei MTT. *Research Report dari GDLHUB*, 2008.

Rosalina, L. *Sintesis dan Uji Aktivitas Biologi Senyawa Analog Antibiotika UK-3*. Tesis, Program Studi Pascasarjana Kimia, Universitas Indonesia. Jakarta, 1999.

Sastrohamidjojo, Hardjono. *Spektroskopi Inframerah*. Liberty, Yogyakarta. 1992.

Sherley. *Sintesis dan Uji Aktivitas Biologi Senyawa Analog Antibiotika UK-3, 3-hidroksinikotinil heksil serin ester dan turunannya*. Tesis Program Pascasarjana Kimia, Universitas Indonesia, 1998.

Sikes, P. *Penuntun Mekanisme Reaksi Kimia Organik*. Diterjemahkan oleh A.J. Hartomo, dkk, Gramedia, Jakarta, 1989.

Silverstein, R.M., Bassler, G.C. and Morrill, T.C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 3rd ed. New York. John Willey and Sons, Inc. 1991.

Simon, W., Seibl, J. and Clerc Thomas. *Table of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds*. Translated from the German by K. Bielman. 2nd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong. 1989.

Siswandono dan Soekardjo. *Kimia Medisinal*. Airlangga Surabaya, 1995.

Sudjadi. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. 1985.

Ueki, M., Kusumoto, A., Hanafi, M., Shibata, K., Tanaka, T. and Taniguchi, M. UK-3A, a Novel Antifungal Antibiotic from *Streptomyces* sp. 517-02: Fermentation, Isolation, Structural Elucidation and Biological Properties. *J. Antibiotics*, 1997, **50** (7):551-555.

WHO (<http://www.who.int/infobase/report.aspx>)

Widodo W. 1998. Sintesis senyawa analog antibiotika UK-3 (3-hidroksipikolinil serin isobutil ester dan turunannya [skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Williams, D.H., and Fkeming, I. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*.

3rd edition. McGraw-Hill Book Company (UK) Limited. 1989.

Wolff, M.E. *Asas-Asas Kimia Medisinal*. Edisi ke-4. Terjemahan Dr. Mujadi,

Apt., Dr. Sabikis, Apt., dan Drs. Sumarno, M.Sc., Apt., Gadjah Mada

University Press. 1994.

Yuharmen., Eryanti, Y., dan Nurbalatif. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri

dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*). *Jurnal Natur*. Vol 4(2).

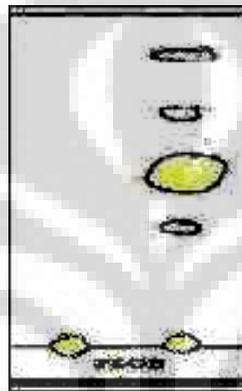
Universitas Riau. 2002. (www.unri.ac.id/jurnal/jurnal_natur/

vol4(2)/yuharmen.pdf.

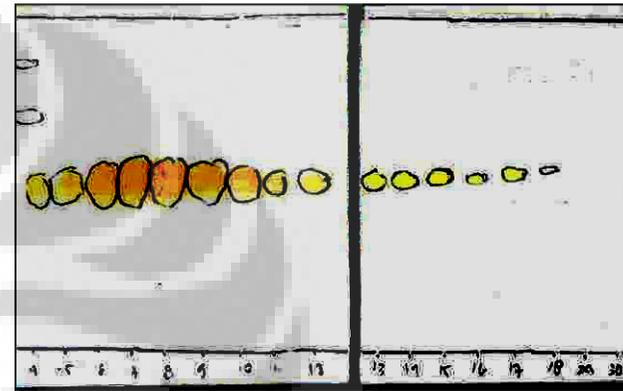
Lampiran 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



SOE-*p*-TsOH



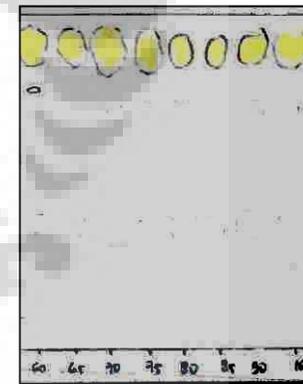
PSOE Awal



PSOE hasil pemurnian



PSOEE Awal



PSOEE hasil pemurnian

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Hasil Reaksi Sintesis

1. Sintesis Senyawa Serin Oktil Ester-*p*-TsOH

L-serin (BM 105,1 gr/mol)	: 1,0515 gram	= 0,01 mol
Oktanol (BM 130,23 gr/mol; 1L = 0,83 kg)	: 6,08 mL	= 0,04 mol
<i>p</i> -toluenasulfonat (BM 190, 22 gr/mol)	: 1,9402 gram	= 0,01 mol

Serin oktil ester-*p*-TsOH (BM 387,17 gr/mol) Hasil sintesis diperoleh = 2,2107 gram

	L-serin	+	1-Oktanol	→	Serin oktil ester- <i>p</i> -TsOH
Mula-mula :	0,01 mol		0,04 mol		
Reaksi :	0,01 mol		0,01 mol		0,01 mol
<hr/>					
Sisa :	-		0,03 mol		0,01 mol

Produk secara teoritis = jumlah mol produk x BM produk
 = 0,01 mol x 387,17 gr/mol
 = 3,8717 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Massa hasil sintesis}}{\text{Massa teoritis}} \times 100\%$$

$$= \frac{2,2107 \text{ gram}}{3,8717 \text{ gram}} \times 100\% = 57,10 \%$$

2. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester

SOE-*p*-TsOH (BM 387,17 gr/mol) : 0,8156 gram = 0,002 mol
 Asam 3-hidroksi pikolinat (BM 130,15 gr/mol) : 0,5606 gram = 0,004 mol
 DMAP (BM 122,0 gr/mol) : 0,48 gram = 0,004 mol

Pikolinil serin oktil ester (BM 338,18 gr/mol) Hasil sintesis diperoleh = 0,4135 gram

	SOE- <i>p</i> -TsOH	+ 3-hidroksipikolinat	→	Pikolinil serin oktil ester
Mula-mula :	0,002 mol	0,04 mol		
Reaksi :	0,002 mol	0,02 mol		0,02 mol
<hr/>				
Sisa :	-	0,02 mol		0,02 mol
Produk secara teoritis	= jumlah mol produk x BM produk = 0,002 mol x 338,18 gr/mol = 0,6763 gram			
Rendemen	= $\frac{\text{Massa hasil sintesis}}{\text{Massa teoritis}} \times 100\%$ = $\frac{0,4135 \text{ gram}}{0,6763 \text{ gram}} \times 100\% = 61,73 \%$			

3. Sintesis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester

PSOE (BM 338,18 gr/mol)	: 0,099 gram	= 0,30 mmol
Asam oktanoat (BM 144,12 gr/mol)	: 0,71,3 μ L	= 0,45 mmol
DMAP (BM 122,0 gr/mol)	: 0,0096 gram	= 0,08 mmol

Pikolinil serin oktil oktanoil ester (BM 464,29 gr/mol) Hasil sintesis diperoleh = 0,0883 gram

	PSOE	+	asam oktanoat	→	Pikolinil serin oktil oktanoil ester
Mula-mula :	0,30 mmol		0,45 mmol		
Reaksi :	0,30 mmol		0,30 mmol		0,30 mol

Sisa : - 0,15 mol 0,30 mol

Produk secara teoritis = jumlah mol produk x BM produk
 = 0,0003 mol x 464,29 gr/mol
 = 0,1392 gram

Rendemen = $\frac{\text{Massa hasil sintesis}}{\text{Massa teoritis}} \times 100\%$
 = $\frac{0,0883 \text{ gram}}{0,1392 \text{ gram}} \times 100\% = 63,43 \%$

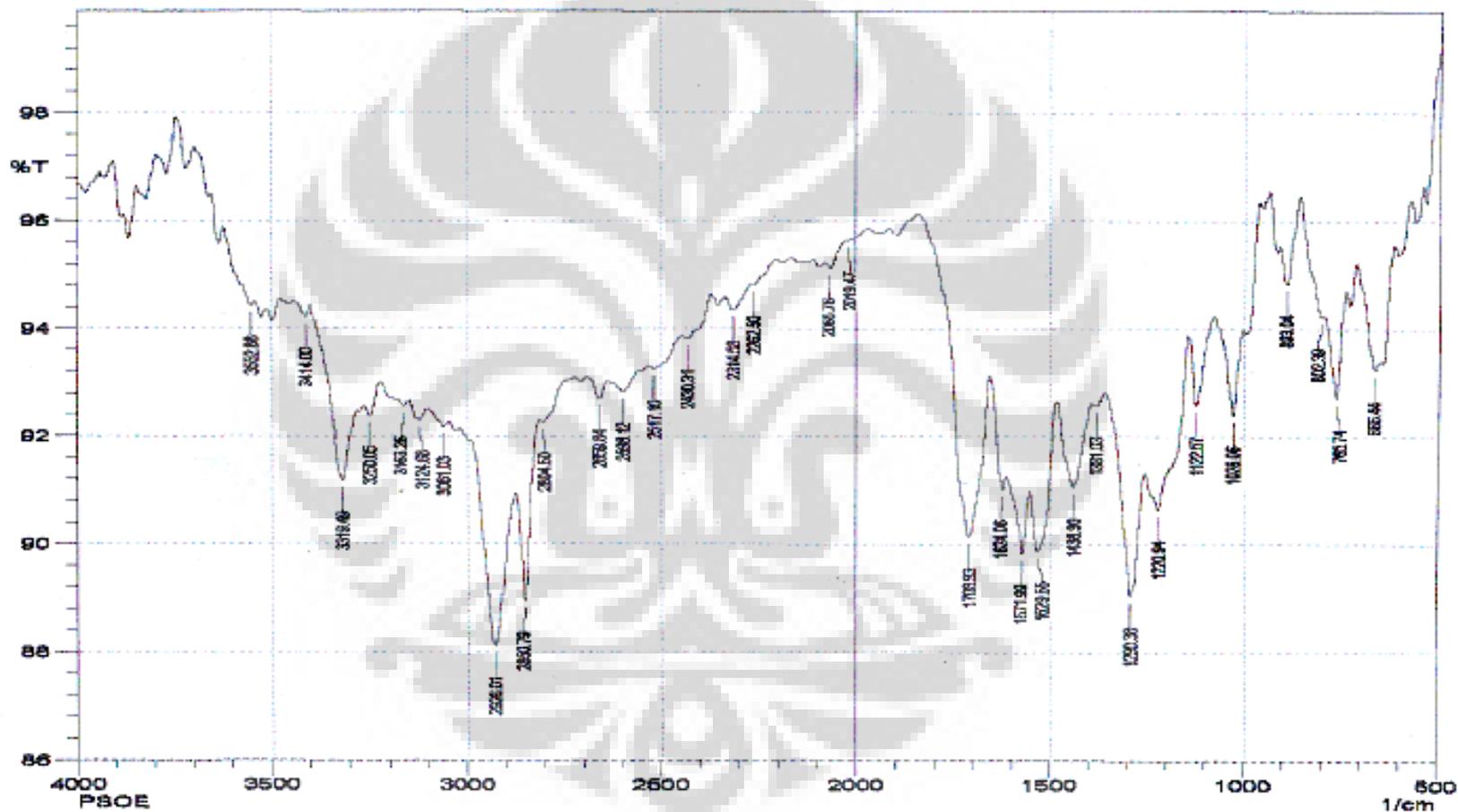
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Sudut Putaran Optik

Rumus

$$[\alpha]_D^T = \frac{100 \times \alpha}{L \times c}$$

Senyawa	Berat Sampel (g/100 mL)	α			α rata-rata	$[\alpha]_D^{20}$
		1	2	3		
L-Serin	0,005	+ 0,229	+ 0,182	+ 0,122	+ 0,178	+ 35,53
PSOE	0,015	+ 0,262	+ 0,233	+ 0,224	+ 0,240	+ 15,98
PSOOE	0,020	+ 1,459	+ 1,442	+ 1,396	+ 1,432	+71,62

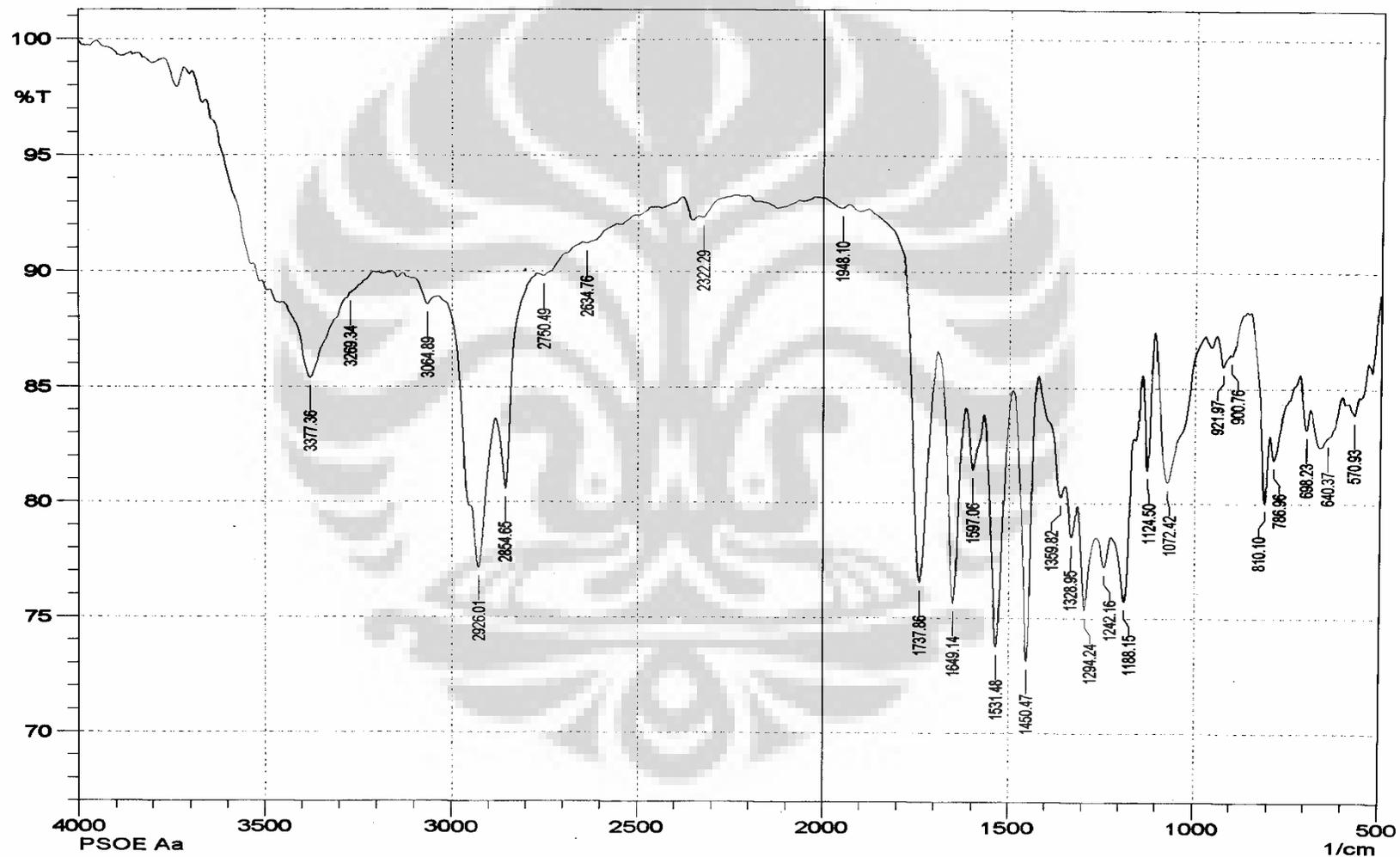
Lampiran 4. Spektrum FTIR Senyawa Serin Oktil Ester-*p*-TsOH



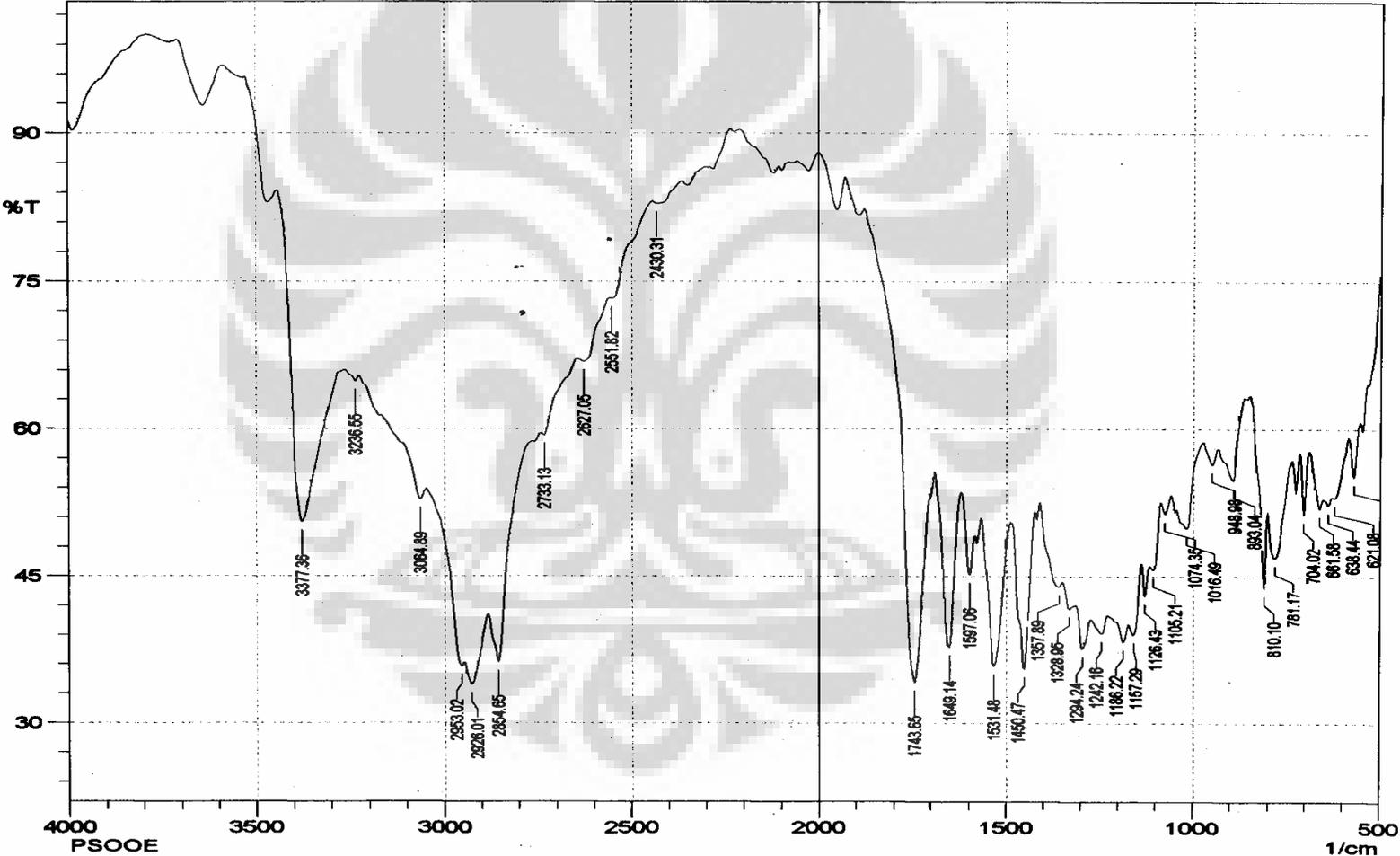
Comment;
SOE

Date/Time; 06/30/2008 09:47:26 AM
No. of Scans;

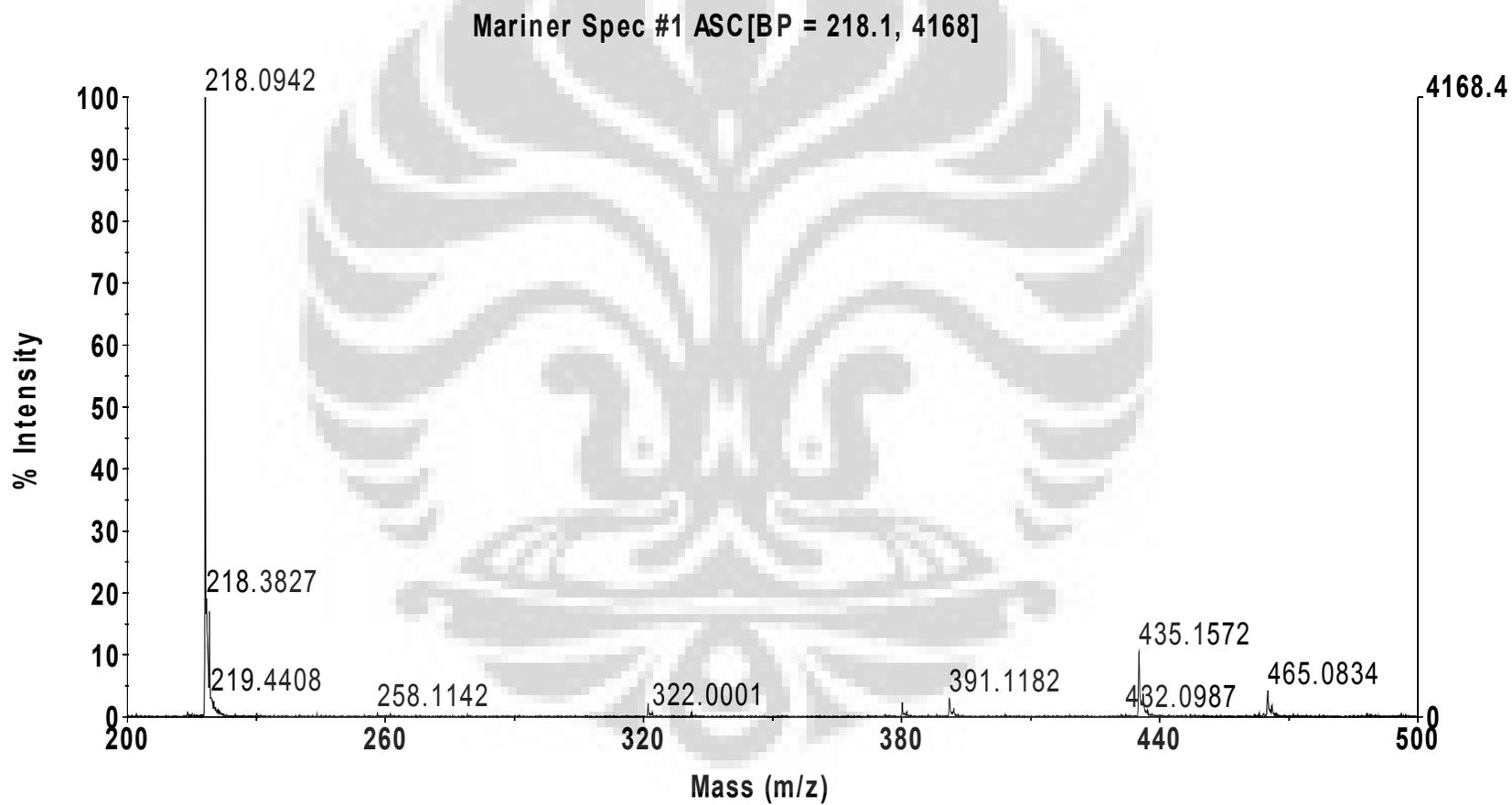
Lampiran 5. Spektrum FTIR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester (PSOE)



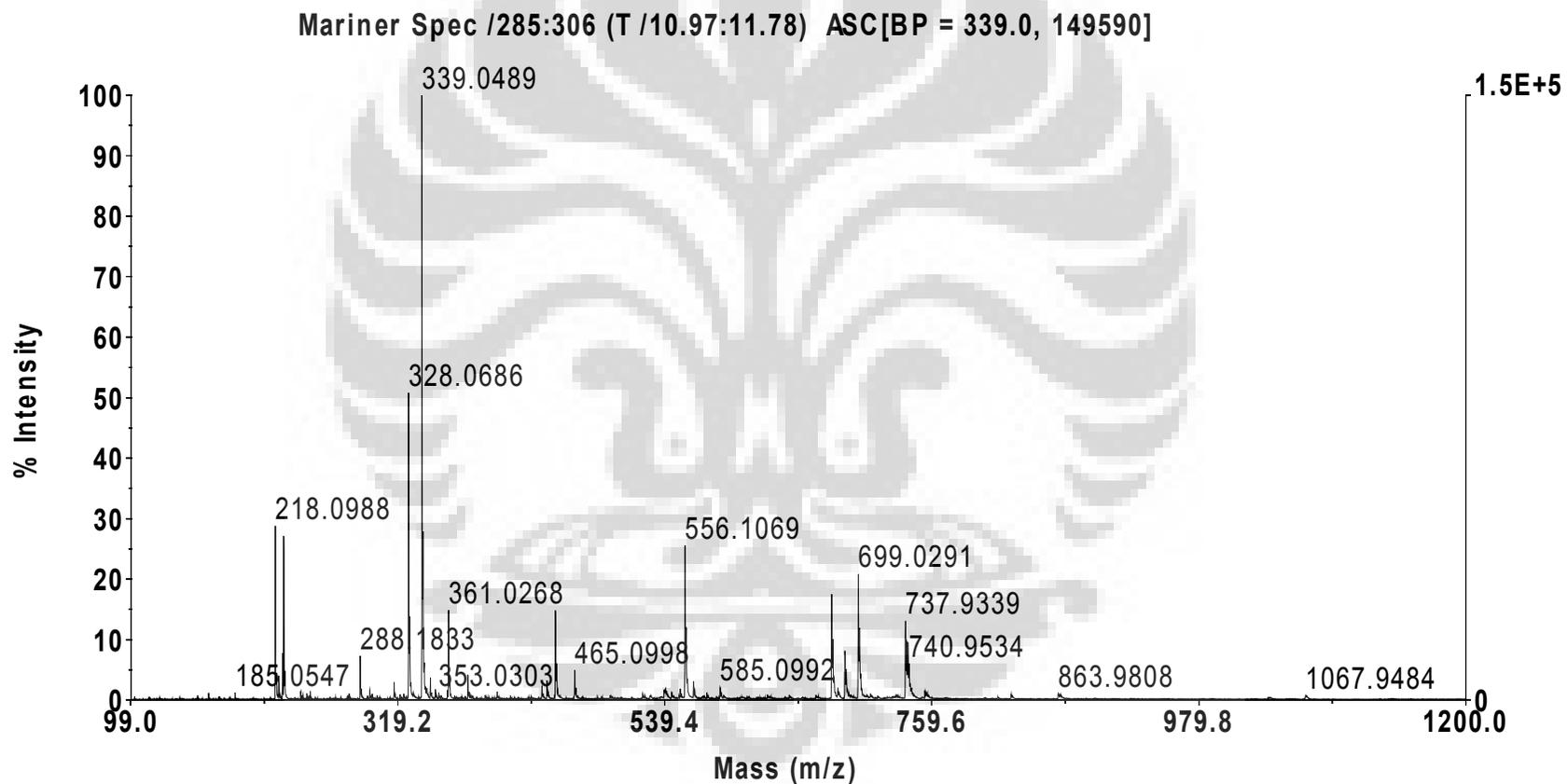
Lampiran 6. Spektrum FTIR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester (PSOOE)



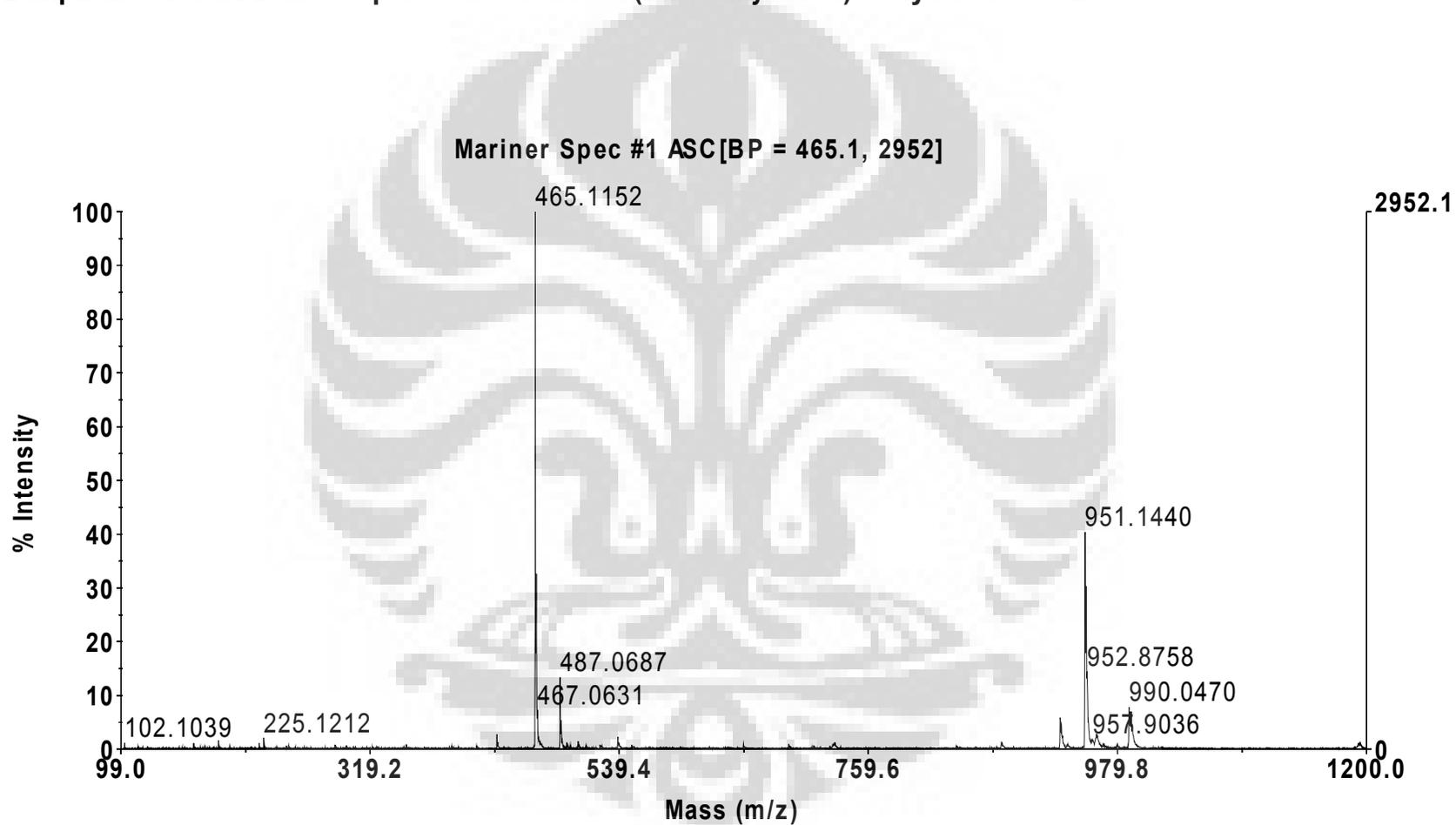
Lampiran 7. Hasil Analisis Spektrometer Massa (*Direct Injection*) Senyawa SOE-*p*-TsOH



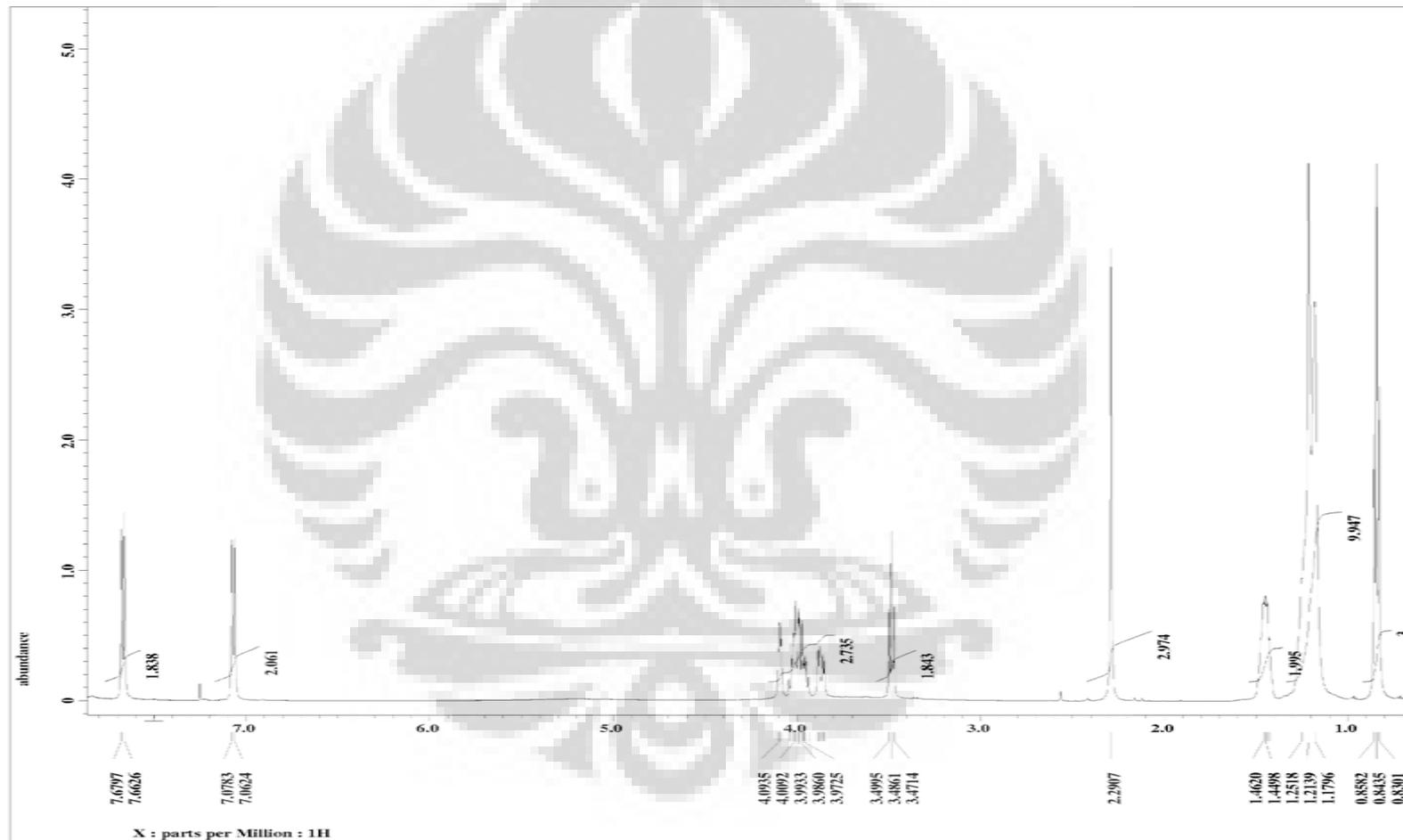
Lampiran 8. Hasil Analisis Spektrometer Massa (*Direct Injection*) Senyawa PSOE



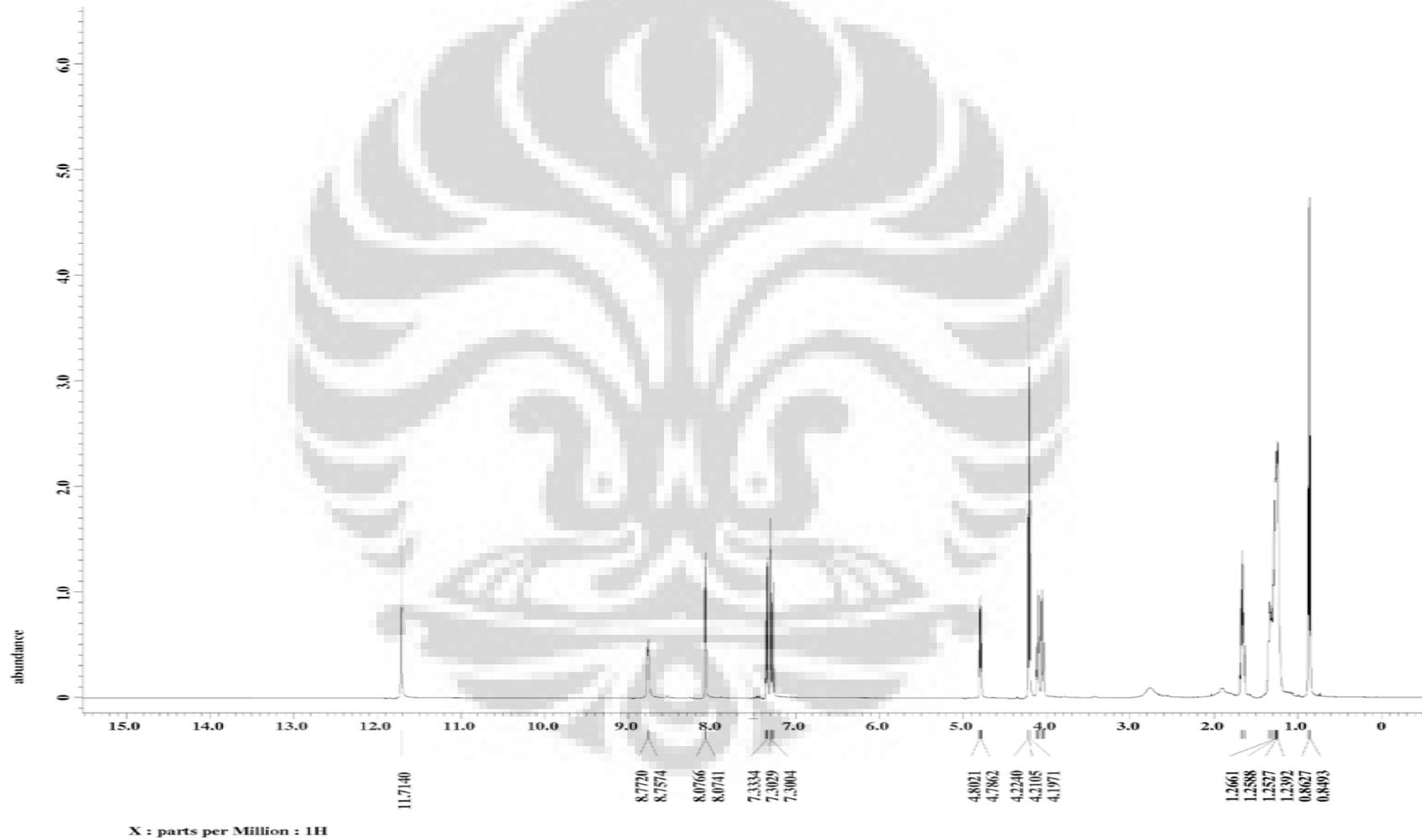
Lampiran 9. Hasil Analisis Spektrometer Massa (*Direct Injection*) Senyawa PSOOE

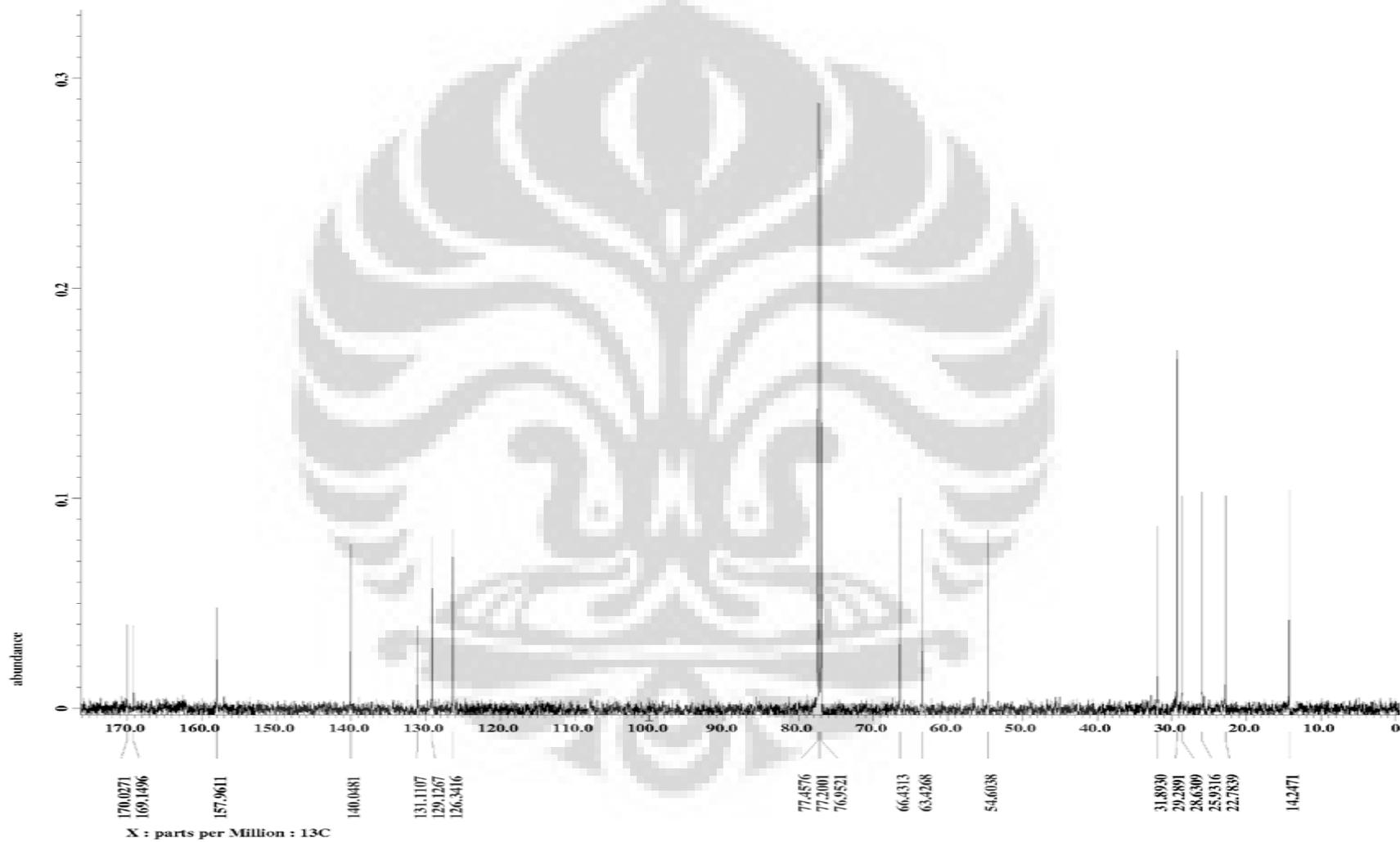


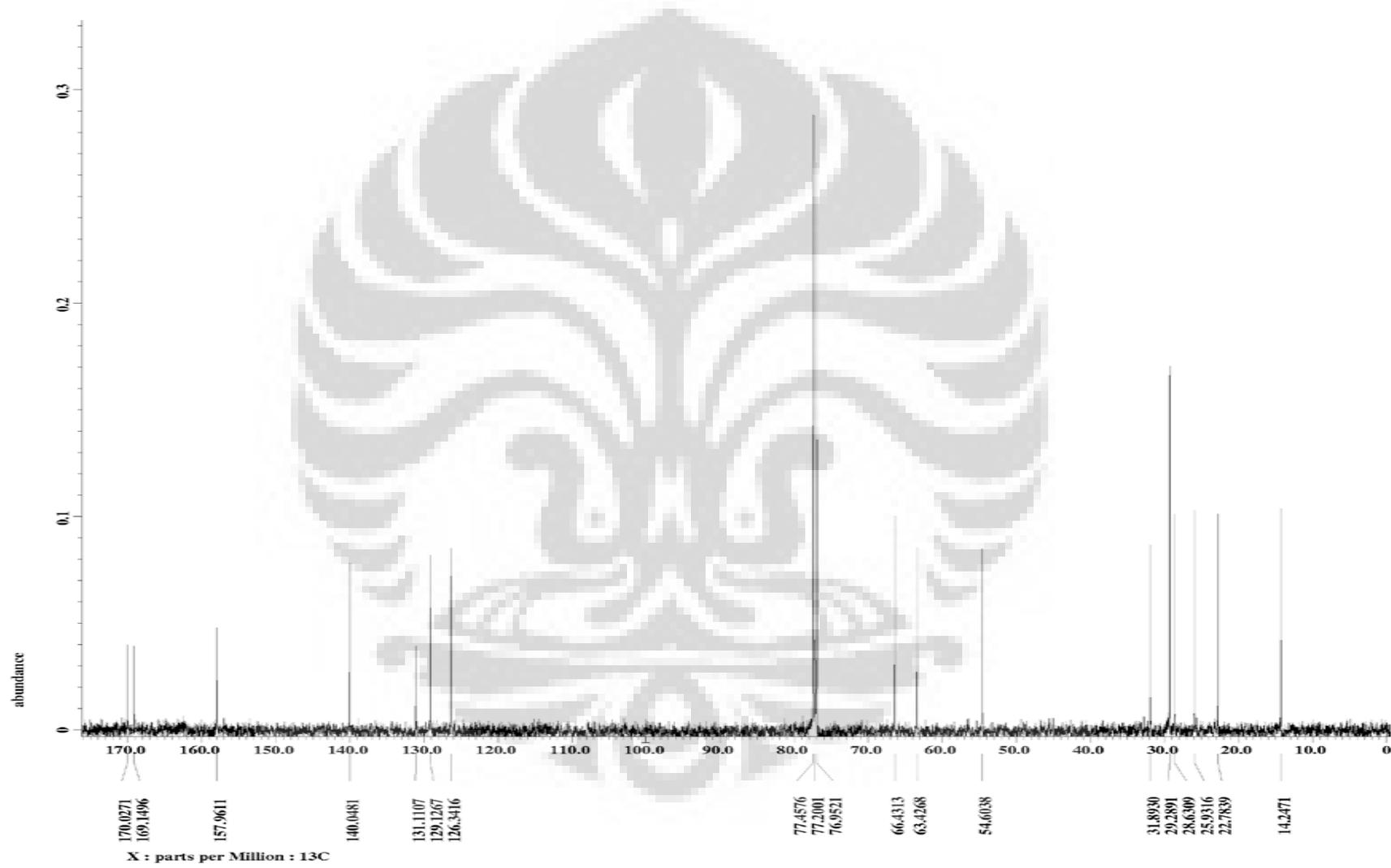
Lampiran 10. Spektra $^1\text{H-NMR}$ Senyawa Serin Oktil Ester-*p*-TsOH



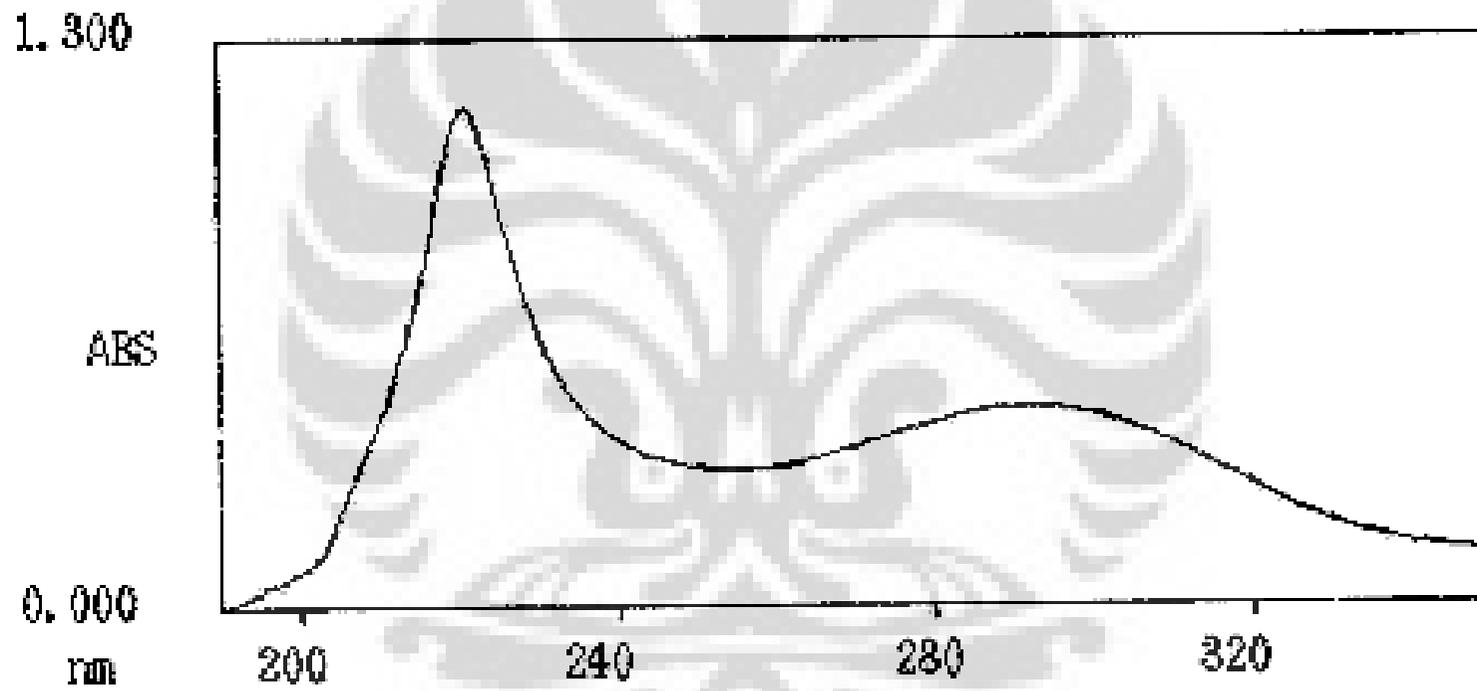
Lampiran 11. Spektra ^1H -dan ^{13}C -NMR Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester



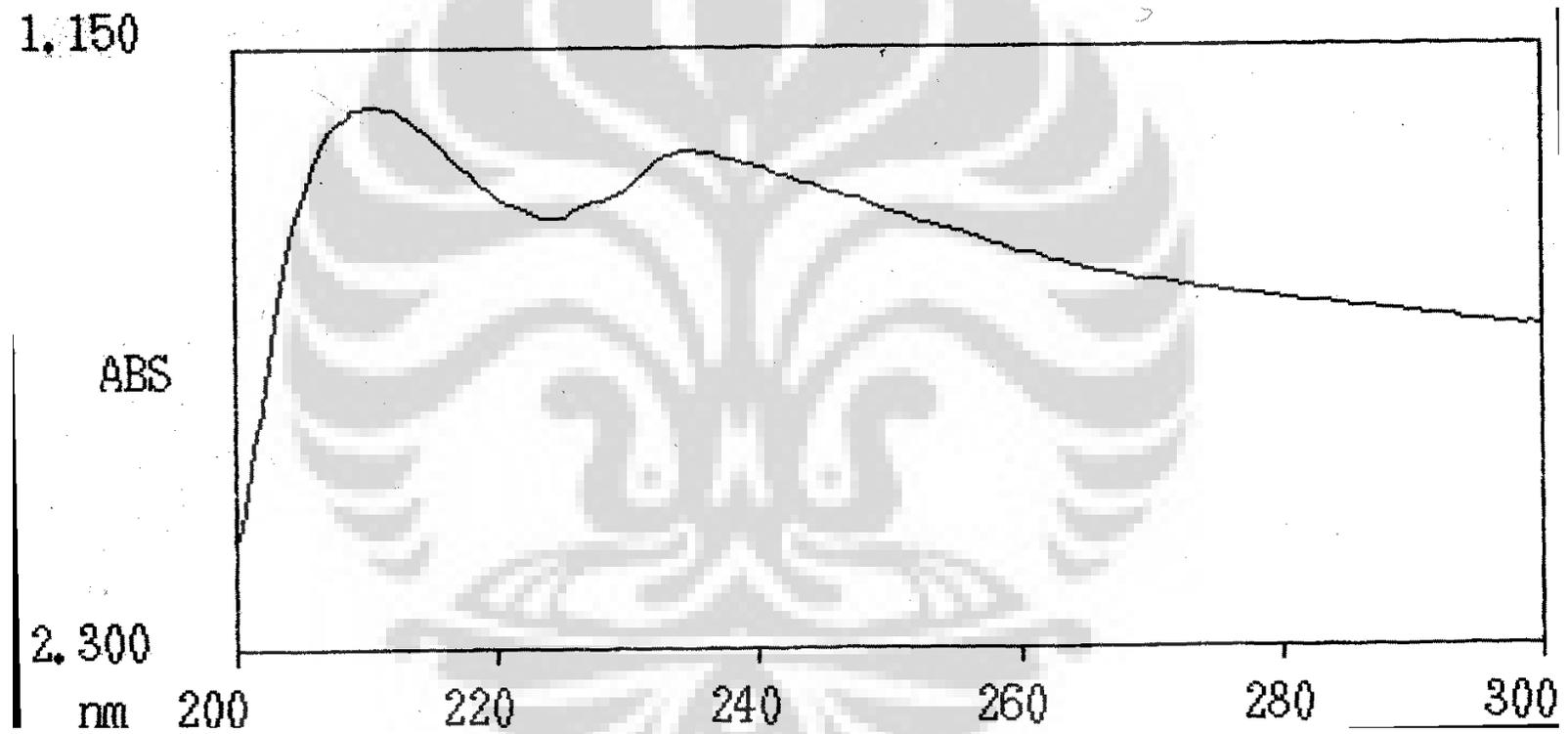




Lampiran 13. Spektra UV-Vis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Ester (PSOE)



Lampiran 14. Spektra UV-Vis Senyawa Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester (PSOOE)



Lampiran 15. Data Hasil Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan Kurva Linear Korelasi antara Log Konsentrasi dengan % Kematian Senyawa PSOE

Konsentrasi ppm	Larva Hidup						Larva		Akumulasi		%	Log Konsentrasi (ppm)	%	LC50 Log Konsentrasi	LC50 Konsentrasi
	Awal			Akhir			Hidup	Mati	Mati	Hidup					
400	10	10	10	9	9	9	27	3	3	101	2.97	2.60	2.97	2.93	851.14
600	10	10	10	9	8	9	26	4	7	74	9.46	2.78	9.46		
800	10	10	10	9	8	8	25	5	12	48	25.00	2.90	25.00		
1000	10	10	11	7	8	7	23	7	19	23	82.61	3.00	82.61		

Lampiran 16. Data Hasil Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan Kurva Linear Korelasi antara Log Konsentrasi dengan % Kematian Senyawa PSOEE

Konsentrasi ppm	Larva Hidup						Larva		Akumulasi		% Kematian	Log Konsentrasi (ppm)	% Kematian	LC50 Log Konsentrasi	LC50 Konsentrasi
	Awal			Akhir			Hidup	Mati	Mati	Hidup					
400	10	10	10	9	9	10	28	2	2	105	1.90	2.60	1.90	3.03	1071.52
600	10	10	10	9	9	9	27	3	5	77	6.49	2.78	6.49		
800	10	10	10	8	8	9	25	5	10	50	20.00	2.90	20.00		
1000	10	10	10	9	8	8	25	5	15	25	60.00	3.00	60.00		

Lampiran 17. Data Hasil Uji Antikanker terhadap sel *Murine leukimia* P-388 Senyawa PSOE

PSOE

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
100	-0,036
30	0.060
10	0.095
3	0.094
1	0.098
0,3	0.097
0,1	0.105

Average (PC) = 0.114

IC_{50} = 32,0

(Keterangan = 0.114 adalah absorbansi dimana semua sel murine leukemia P-388 hidup)

Lampiran 18. Data Hasil Uji Antikanker terhadap sel *Murine leukimia* P-388 Senyawa PSOE

PSOOE

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
100	-0.014
30	0.117
10	0.118
3	0.099
1	0.094
0,3	0.098
0,1	0.103

Average (PC) = 0.114

$\text{IC}_{50} = 50$

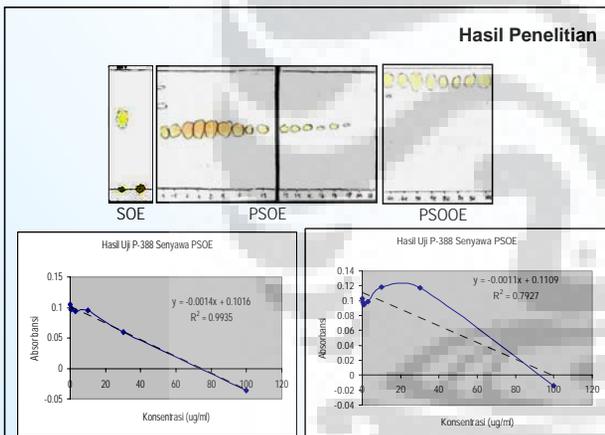
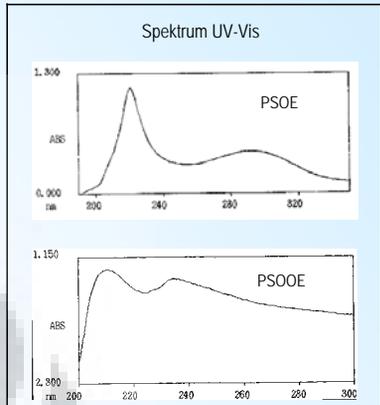
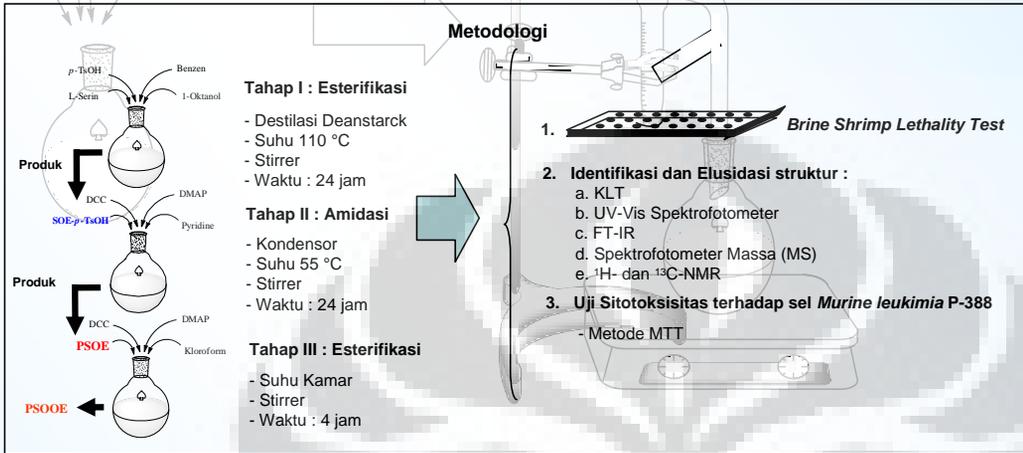
(Keterangan = 0.114 adalah absorbansi dimana semua sel murine leukemia P-388 hidup)

SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA ANALOG UK-3A Pikolinil Serin Oktil Ester dan Pikolinil Serin Oktil Oktanoil Ester

Akhmad Darmawan
0606151072

Pembimbing I : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc
Pembimbing II : Dr. Muhammad Hanafi

The novel compounds of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoil ester were obtained from modification of the UK-3A compound, known biologically active to inhibit bacterial and cancer cells growth. Based on E-docking value -11,3575 Kcal/mol (log P 1,61) for picolinyl serin octyl ester compound and E-docking -13,50 Kcal/mol (log P 4,35) for picolinyl serin octyl octanoil ester, synthesis of these two compounds were carried out in two steps reaction for picolinyl serin octyl ester and three steps reaction for picolinyl serin octyl ester. The synthesis started by esterification reaction between L-serin acid and 1-octanol with *p*-toluenesulfonic acid as catalyst in benzene yielded 57.10% of serin octyl ester-*p*-TsOH. The esterification product in the first step was reacted using 3-hydroxypicolinic acid in pyridine and DCC/DMAP as catalyst/activator yielded 61.73% of picolinyl serin octyl ester. Picolinyl serin octyl octanoil ester was obtained from second step reaction (amidation) reacted with octanoic acid in chloroform using DCC/DMAP as catalyst/activator yielded 63.43% of picolinyl serin octyl octanoil ester. The LC50 value of brine shrimp lethality test of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoil ester were 851,14 µg/mL and 1071,52 µg/mL, respectively. Cytotoxicity test on *Murine leukemia* P-388 cells of picolinyl serin octyl ester and picolinyl serin octyl octanoil ester yielded LC50 32 µg/mL and 50 µg/mL, respectively.



KESIMPULAN

Hasil identifikasi lebih lanjut menggunakan UV-Vis, FTIR, MS dan ¹H- dan ¹³C-NMR menunjukkan bahwa senyawa pikolinil serin oktil ester (PSOE) dan pikolinil serin oktil oktanoil ester (PSOOE) telah berhasil disintesis masing-masing sebesar 61,73% dan 63,43%, tidak mengalami perubahan konfigurasi atom C asimetris pada gugus L-serin, mempunyai aktivitas toksisitas yang rendah dengan LC50 masing-masing sebesar 851,14 ppm, dan 1071,52 ppm.

Uji sitotoksitas terhadap senyawa PSOE dan PSOOE menunjukkan bahwa senyawa PSOE memiliki aktivitas antikanker lebih tinggi dibandingkan dengan UK-3A, sedangkan senyawa PSOOE memiliki aktivitas yang lebih kecil dibandingkan UK-3A. Parameter yang dapat dijadikan patokan aktivitas suatu senyawa adalah parameter lipofilisitas (log P).

DAFTAR PUSTAKA

- Budi, G.S. *Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Kulit Batang Tanjung (Bruguiera gymnorhiza) dalam Etanol dan Uji Sitotoksitasnya terhadap Sel HeLa*. Skripsi. Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Soedirman, 2006.
- Carey, F.A., dan Sunberg, R.J. *Advance Organic, Part B: Reaction and Synthesis, 3rd edition*. Plenum Press, New York and London, 1990.
- Danaei, G., Vander Hoorn, S., Lopez, A.D., Murray, C.J. and Ezzati, M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *The Lancet*, 2005, **366**:1784-1793.
- Hanafi, M., *Studies of Novel Antibiotics Metabolites from Streptomyces sp. 517-02*. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science, Osaka City University, 1995.

Kemp, William. *Organic Spectroscopy*. English Language Book Society and The MacMillan Press Limited. ELBS Edition, 1979.

Misyetti. Kajian Instabilitas Kit Kering Radiofarmaka Bertanda ^{99m}Tc Ditinjau dari Aspek Kimia dan Fisika. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. Vol. VII. No.1. Februari 2006:65-81.

Patrick, G.L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*. 2nd edition. Oxford University Press, 2001.

Rianti, D. Uji Sitotoksitas Ekstrak dan Infusa *Coleus amboinicus* Lour. Menggunakan Esei MTT. *Research Report dari GDLHUB*, 2008.

Ueki, M., Kusumoto, A., Hanafi, M., Shibata, K., Tanaka, T. and Taniguchi, M. UK-3A, a Novel Antifungal Antibiotic from *Streptomyces* sp. 517-02: Fermentation, Isolation, Structural Elucidation and Biological Properties. *J. Antibiotics*, 1997, **50** (7):551-555.

Wolff, M.E. *Asas-Asas Kimia Medisinal*. Edisi ke-4. Terjemahan Dr. Mujadi, Apt., Dr. Sabikis, Apt., dan Drs. Akhmad Darmawan, FMIPA UII, 2008.

Disetujui oleh :

Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc.

Dr. Muhammad Hanafi