



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**TRANSFORMASI SENYAWA METIL SINAMAT MENJADI  
FENIL SINAMAT DAN 4-FENILKROMAN-2-ON SEBAGAI  
KANDIDAT ANTIKANKER**

**TESIS**

**DILA FAIRUSI  
1006734426**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM PASCASARJANA KIMIA  
DEPOK  
JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**TRANSFORMASI SENYAWA METIL SINAMAT MENJADI  
FENIL SINAMAT DAN 4-FENILKROMAN-2-ON SEBAGAI  
KANDIDAT ANTIKANKER**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister sains**

**DILA FAIRUSI  
1006734426**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM PASCASARJANA KIMIA  
DEPOK  
JULI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Dila Fairusi**

**NPM : 1006734426**

**Tanda Tangan :**



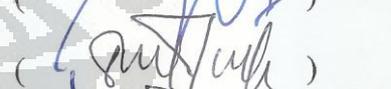
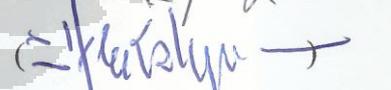
**Tanggal : 13 Juli 2012**

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Dila Fairusi  
NPM : 1006734426  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Judul Tesis : Transformasi Senyawa Metil Sinamat Menjadi  
Fenil Sinamat dan 4-Fenilkroman-2-on sebagai  
Kandidat Antikanker

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. Soleh Kosela (  )  
Pembimbing : Dr. Muhammad Hanafi (  )  
Penguji : Dr. Endang Saepudin (  )  
Penguji : Dr. Emil Budianto (  )  
Penguji : Prof. Dr. Sumi Hudyono P.W.S. (  )  
Penguji : Dr. Herry Cahyana (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 13 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya tertuju pada Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua, khususnya penulis dalam menyelesaikan tesis yang berjudul “Transformasi Senyawa Metil Sinamat Menjadi Fenil Sinamat dan 4-Fenilkroman-2-on sebagai Kandidat Antikanker”. Shalawat dan salam semoga tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, teladan umat manusia dalam menjalani hidup.

Tesis ini disusun berdasarkan hasil penelitian di Laboratorium Bahan Alam Pangan dan Farmasi (BAPF), Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia serta teori yang didapat dari berbagai literatur. Dalam menyelesaikan masa perkuliahan sampai penulisan tesis ini, penulis tidak terlepas dari bantuan dan belas kasih banyak pihak. Oleh karena itu, ucapan terima kasih penulis haturkan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Soleh Kosela sebagai Pembimbing I dan Dr. Muhammad Hanafi sebagai Pembimbing II yang telah memberikan waktu, tenaga, pikiran, dan nasehat selama penelitian dan penulisan tesis.
2. Bapak Dr. Endang Saepudin, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan arahan selama masa perkuliahan.
3. Ibu Teni Ernawati, M.Sc. sebagai pembimbing selama melakukan penelitian di Laboratorium BAPF.
4. Peneliti dan staf di Laboratorium BAPF: Ibu Lia, Ibu Mimin, Uni Mega, Mba Anita, Pak Ahmad, Ibu Puspa, Ibu Jamilah, Ibu Tati, Ibu Hani, Pak Udin yang telah memberikan bantuan selama penulis melakukan penelitian.
5. Ibu Silmi dari Pusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor yang telah membantu dalam melakukan uji antikanker.
6. Kedua orang tua dan keluarga yang selalu memberikan bantuan dukungan material, moral, dan doa yang tak pernah putus.
7. Teman-teman di Magister Ilmu Kimia: Mba Dini, Fany, Yona, Habibah, Winda, Hero, Kak Heri, Suci, Mba Farah, Pak Salim, Pak Parya, Pak Asep,

dan Bu Sugi atas semangat dan kebersamaan kita selama perkuliahan berlangsung.

8. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium BAPF: Ibu Dwi, Dewi, Lisa, Ziya, Irwanto atas segala doa, perhatian dan semangat yang telah teman-teman berikan.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian dan penulisan.

Semoga semua bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, bak ibarat gading yang tak retak. Oleh karena itu, saran dan kritik yang bersifat membangun akan penulis nantikan. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 13 Juli 2012

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dila Fairusi  
NPM : 1006734426  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Transformasi Senyawa Metil Sinamat Menjadi Fenil Sinamat dan 4-Fenilkroman-2-on sebagai Kandidat Antikanker”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 13 Juli 2012  
Yang menyatakan,



Dila Fairusi

## ABSTRAK

Nama : Dila Fairusi  
Program Studi : Magister Ilmu Kimia  
Judul : Transformasi Senyawa Metil Sinamat Menjadi Fenil Sinamat dan 4-Fenilkroman-2-on sebagai Kandidat Antikanker

Sintesis turunan metil sinamat telah dilakukan untuk meningkatkan aktivitas biologinya. Sintesis diawali dengan reaksi hidrolisis metil sinamat menjadi asam sinamat, rendemen 83,6%. Asam sinamat yang dihasilkan digunakan untuk sintesis tahap selanjutnya dengan esterifikasi. Reaksi esterifikasi menggunakan tionil klorida ( $\text{SOCl}_2$ ) sebagai aktivator dan penambahan fenol, menghasilkan padatan putih fenil sinamat, rendemen 14,71%. Reaksi esterifikasi menggunakan katalis asam *p*-toluensulfonat dan ditambahkan fenol, menghasilkan senyawa dihidrokumarin, yaitu 4-fenilkroman-2-on, rendemen 16,18%. Uji toksisitas senyawa metil sinamat, asam sinamat, fenil sinamat, dan 4-fenilkroman-2-on menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) diperoleh nilai  $\text{LC}_{50}$  masing-masing sebesar 144,21; 169,82; 223,87; dan 112,72 ppm. Hasil uji sitotoksitas dengan metode MTT terhadap sel HeLa (ATCC CCL2) pada fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on didapatkan persentase inhibisi di atas 50%. Penghambatan terhadap pertumbuhan sel HeLa paling baik terjadi pada penambahan dosis fenil sinamat.

Kata kunci : metil sinamat, asam sinamat, esterifikasi, metode MTT, sel HeLa  
xiv + 70 halaman : 21 gambar; 7 tabel  
Daftar Pustaka : 43 (1977 – 2012)

## ABSTRACT

Name : Dila Fairusi  
Programme Study : Magister Chemistry  
Title : Transformation of Methyl Cinnamate Compound to Phenyl Cinnamate and 4-Phenylchroman-2-one as Candidate Anticancer

Synthesis of methyl cinnamate derivatives have been done to improve the biological activity. Synthesis are begun with the hydrolysis reaction of methyl cinnamate, yield 83.6%. Cinnamic acid produced by the hydrolysis is used for the next step of reactions by esterification methods. Esterification reaction using thionyl chloride ( $\text{SOCl}_2$ ) as an activator and the addition of phenol, yielded white solid phenyl cinnamate, yield 14.71%. Esterification reaction using acid catalyst, *p*-toluenesulfonic acid, and the addition of phenol, yielded dihydrocoumarin compound, 4-phenylchroman-2-one, yield 16.18%. Toxicity test of methyl cinnamate, cinnamic acid, phenyl cinnamate, and 4-phenylchroman-2-one using the brine shrimp lethality test (BSLT) obtained  $\text{LC}_{50}$  values 144.21; 169.82; 223.87; and 112.72 ppm, respectively. The results of cytotoxicity test by MTT method against HeLa cells (ATCC CCL2) in phenyl cinnamate and 4-phenylchroman-2-one were obtained inhibition percentage above 50%. The best inhibition of HeLa cell growth occurred in the addition of phenyl cinnamate dose.

Keywords : methyl cinnamate, cinnamic acid, esterification, MTT method, HeLa cell

xiv + 70 pages: 21 pictures; 7 tables

Reference : 43 (1977 – 2012)

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.3 Hipotesisi Penelitian .....	4
1.4 Ruang Lingkup Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Metil Sinamat .....	6
2.2 Reaksi Esterifikasi .....	8
2.3 Reaksi Hidrolisis .....	9
2.4 Reaksi Friedel-Crafts .....	10
2.5 Uji Toksisitas .....	11
2.6 Uji Sitotoksisitas terhadap Sel Kanker Serviks HeLa .....	12
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	14
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	14
3.2.1 Alat-Alat Penelitian .....	14
3.2.2 Bahan Penelitian .....	14
3.3 Rancangan Percobaan dan Prosedur Perlakuan .....	15
3.3.1 Prosedur Sintesis Asam Sinamat .....	15
3.3.2 Prosedur Sintesis Fenil Sinamat .....	16
3.3.3 Prosedur Sintesis 4-fenilkroman-2-on .....	16
3.3.4 Uji Toksisitas secara BSLT .....	17

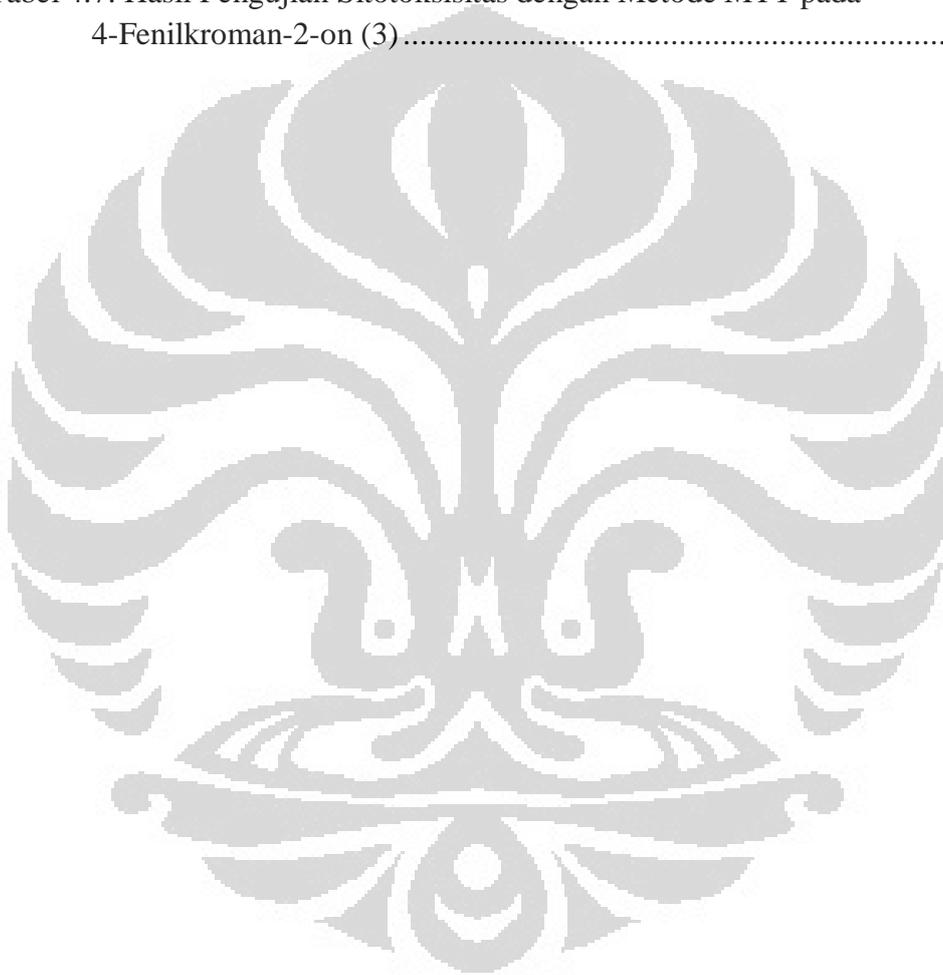
3.3.4.1 Penetasan larva udang .....	17
3.3.4.2 Persiapan larutan yang akan diuji.....	17
3.3.4.3 Uji toksisitas.....	17
3.3.5 Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT .....	17
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>19</b>
4.1 Metil sinamat .....	19
4.2 Sintesis Asam Sinamat .....	23
4.3 Sintesis Fenil Sinamat .....	28
4.4 Sintesis 4-fenilkroman-2-on .....	31
4.5 Uji Bioaktivitas .....	36
4.5.1 Uji Toksisitas secara BSLT .....	36
4.5.3 Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT .....	38
<b>BAB V. KESIMPULAN.....</b>	<b>40</b>
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
LAMPIRAN .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Metil trans Sinamat .....	6
Gambar 2.2. Rimpang Lengkuas .....	7
Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Hidrolisis dengan Katalis Basa .....	9
Gambar 2.4. Reaksi Friedel-Crafts .....	10
Gambar 2.5. Sel HeLa di Bawah Mikroskop .....	12
Gambar 3.1. Bagan Rancangan Percobaan .....	15
Gambar 4.1. Kristal Metil Sinamat .....	19
Gambar 4.2. Hasil Analisis GC-MS Metil Sinamat .....	20
Gambar 4.3. Spektrum <sup>1</sup> H NMR Metil trans Sinamat .....	21
Gambar 4.4. Spektrum <sup>13</sup> C NMR Metil trans Sinamat .....	22
Gambar 4.5. Struktur Metil Sinamat.....	23
Gambar 4.6. KLT Hasil Reaksi Hidrolisis .....	24
Gambar 4.7. Senyawa Hasil Hidrolisis Metil Sinamat .....	25
Gambar 4.8. MS Asam Sinamat .....	26
Gambar 4.9. Asam Sinamat (1) .....	27
Gambar 4.10. Hasil KLT Fenil Sinamat .....	28
Gambar 4.11. Fenil Sinamat (2) .....	31
Gambar 4.12. Reaksi Asam Sinamat dengan Fenol Menggunakan Katalis Asam <i>p</i> -TSOH.....	32
Gambar 4.13 Hasil KLT Padatan Dihidroksumarin.....	34
Gambar 4.14. 4-fenilkroman-2-on (3) .....	34
Gambar 4.15. Kurva Hasil Uji Toksisitas BSLT.....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Analisis $^1\text{H}$ NMR dan $^{13}\text{C}$ NMR Metil Sinamat .....	22
Tabel 4.2. Hasil Analisis $^1\text{H}$ NMR dan $^{13}\text{C}$ NMR Reaksi Hidrolisis.....	26
Tabel 4.3. Hasil Analisis $^1\text{H}$ NMR dan $^{13}\text{C}$ NMR Fenil Sinamat.....	30
Tabel 4.4. Hasil Analisis $^1\text{H}$ NMR Dihidroksikumarin.....	35
Tabel 4.5. Hasil Pengujian Toksisitas dengan Metode BSLT.....	37
Tabel 4.6. Hasil Pengujian Sitotoksisitas dengan Metode MTT pada Fenil Sinamat (2).....	38
Tabel 4.7. Hasil Pengujian Sitotoksisitas dengan Metode MTT pada 4-Fenilkroman-2-on (3).....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Sintesis Asam Sinamat .....	46
Lampiran 2. Skema Kerja Sintesis Fenil Sinamat .....	47
Lampiran 3. Skema Kerja Sintesis 4-Fenilkroman-2-on .....	48
Lampiran 4. Skema Kerja Uji Toksisitas Metode BSLT .....	49
Lampiran 5. LC Asam Sinamat .....	50
Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Asam Sinamat .....	51
Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Fenil Sinamat .....	52
Lampiran 8. Perhitungan Rendemen Dihidroksumarin (4-Fenilkroman-2-on) .	53
Lampiran 9. Spektrum $^1\text{H}$ NMR Asam Sinamat .....	54
Lampiran 10. Spektrum $^{13}\text{C}$ NMR Asam Sinamat .....	56
Lampiran 11. Spektrum $^1\text{H}$ NMR Fenil Sinamat .....	57
Lampiran 12. Spektrum $^{13}\text{C}$ NMR Fenil Sinamat .....	60
Lampiran 13. Spektrum $^1\text{H}$ NMR 4-Fenilkroman-2-on.....	61
Lampiran 14. Spektrum $^{13}\text{C}$ NMR 4-Fenilkroman-2-on.....	64
Lampiran 15. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT .....	65
Lampiran 16. Kurva Uji Toksisitas dengan Metode BSLT .....	66
Lampiran 17. Perhitungan Uji Sitotoksisitas dengan Metode MTT terhadap Sel HeLa.....	68
Lampiran 18. Kurva Uji Sitotoksisitas dengan Metode MTT terhadap Sel HeLa.....	69
Lampiran 19. Gambar Pertumbuhan Sel HeLa .....	70

# **BAB I PENDAHULUAN**

## **1.1 Latar Belakang**

Obat-obatan tradisional yang berasal dari tumbuh-tumbuhan telah lama dikenal oleh masyarakat. Obat-obatan alami ini banyak digunakan karena memiliki resiko yang kecil. Selain itu, obat-obatan tersebut dapat diperoleh dengan mudah, harganya terjangkau, dan berkualitas baik.

Pemanfaatan bahan-bahan alami dapat dilakukan dengan menemukan senyawa aktif di dalamnya, mencari sifat kimia yang bertanggung jawab untuk menyebabkan aksi, dan membuat senyawa sejenis secara sintetik yang lebih efektif dan efisien sebagai pengganti senyawa yang berasal dari alam (Sardjoko, 1993). Tumbuh-tumbuhan yang dikenal sebagai obat-obatan tradisional itu juga telah banyak diteliti senyawa aktif yang ada di dalamnya. Senyawa aktif tersebut adalah bahan kimia alami yang dapat diterima oleh sistem tubuh manusia.

Salah satu upaya pengobatan kanker adalah dengan menggunakan obat-obatan, baik natural maupun sintetik. Upaya untuk pengobatan kanker lainnya adalah dengan melakukan kemoterapi, penyinaran, pembedahan, dan terapi kombinasi. Namun, masing-masing cara dari pengobatan kanker tersebut masih memiliki kelemahan, sehingga pengobatan kanker pada umumnya sampai saat ini belum ada yang menunjukkan hasil yang memuaskan (Hariyanti dkk., 2010).

Peluang untuk mencari senyawa bioaktif dari bahan alam ataupun mensintesis senyawa sejenis dengan bahan alam untuk pengobatan kanker masih sangat besar. Data Badan Kesehatan Dunia (WHO) menyebutkan bahwa tahun 2003, setiap tahun timbul lebih dari 10 juta kasus penderita baru kanker dengan prediksi peningkatan setiap tahun kurang lebih 20%. Jumlah penderita baru penyakit kanker tahun 2020 diperkirakan meningkat hampir 20 juta penderita (Hariyanti dkk., 2010). Pada wanita, kanker serviks menduduki peringkat ketiga dengan jumlah kasus sebesar 9,8% dan angka kematian 8,5% (Parkin dkk., 1999). Saat ini, para peneliti melakukan penelitian untuk mencari senyawa aktif terhadap kanker tersebut.

Metil sinamat merupakan minyak atsiri yang banyak terkandung pada spesies *Alpinia malaccensis* dari famili Zingiberaceae, yang termasuk salah satu kelompok penting dari tanaman obat (Sinaga dan Chudiwal, 2010). Metil sinamat telah berhasil diisolasi dari *A. malaccensis* dengan rendemen yang tinggi dan kemurnian yang baik (Ernawati dkk., 2011).

Sementara itu, sinamat memiliki beberapa senyawa turunan alami, yaitu delapan ester sinamat frukto-oligosakarida yang telah diisolasi dari tanaman *Lindelfia stylosa*, diantaranya 6'-O-kumaril-3-O-feruloilsukrosa, 6'-O-kafeoil-3-O-feruloilsukrosa, 3,6'-O-diferuloilsukrosa, 3-O-feruloil fruktofuranosil sukrosa, 3,6'-O-diferuloil-1-kestosa, 6'-O-kumaril-3-O-feruloil-1-kestosa, 3,6'-O-diferuloilnistosa, dan 6'-O-kumaril-3-O-feruloilnistosa (Choudhary dkk., 2006).

Penelitian di bidang organik sintesis terhadap derivat metil sinamat juga telah berkembang. Asam sinamat merupakan analog dari metil sinamat, yang termasuk dalam jalur turunan asam shikimat (Muchtaridi dkk., 2008). Asam sinamat dan analog alaminya dikenal sebagai pengobatan kanker selama beberapa abad. Ginsenosida Rg1 dari ginseng, asam sinamat dari Xuanshen, dan tanshinon IIA dari Danshen (RCT) merupakan pengobatan tradisional untuk menjaga agar tetap awet muda dan menjaga keseimbangan seluruh tubuh untuk mencegah penyakit. Eksplorasi lebih jauh, RCT diberikan pada sel osteosarkoma MG-63, bentuk histologis paling umum dari kanker tulang (Li dkk., 2008).

Turunan asam sinamat lainnya adalah asam kafeat, sinamida, sinamoil ester, hidrazid sinamat. Senyawa-senyawa turunan asam sinamat tersebut, baik natural maupun sintesis, telah dilakukan pengujian antikanker. Asam sinamat dan beberapa senyawa turunannya telah diperiksa sebagai inhibitor yang baik terhadap aktivitas AKR1C3. AKR1C3 merupakan sel kanker yang terbentuk dengan adanya hormon, seperti kanker prostat, kanker payudara, dan kanker endometrial. Asam sinamat merupakan inhibitor yang baik terhadap AKR1C3 ( $IC_{50} = 50 \mu M$ ) sebagaimana asam 3,4,5-trimetoksisinamat ( $IC_{50} = 50 \mu M$ ) (Baltas dkk., 2011). Di samping itu, asam kafeat mempunyai potensi sitotoksik *in vitro* yang rendah melawan sel myeloid leukemia (HL-60) (Nitzsche dkk., 2004) dan berpotensi sebagai agen kemopreventif melawan kanker kulit (Baltas dkk., 2011).

Gabungan dari senyawa asam sinamat dan guanilhidrazon telah disintesis. Hasil sintesis memiliki aktivitas yang tinggi untuk melawan *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang merupakan agen penyebab tuberkulosis (TB) (Bairwa dkk., 2010).

Bairwa dkk. (2010) dan Li dkk. (2011) melaporkan sintesis asam sinamat dengan tionil klorida menghasilkan halida asam. Halida asam ini dapat direaksikan dengan alkohol sehingga menjadi ester sinamat (sinamoil ester). Ester sinamat merupakan kelompok agen antikanker. Beberapa ester sinamat yang diisolasi dari propolis Belanda, benzilkafeate, fenetilkafeate, dan sinamoilkafeate, memiliki potensi sebagai agen anti proliferasi terhadap karsinoma usus besar 26-L5 dengan nilai EC<sub>50</sub> berturut-turut 0,288, 1,76, dan 0,114 µg/mL. Fenetilkafeate (*caffeic acid phenethyl ester*, CAPE) memiliki beberapa aktivitas biologi, yaitu antioksidan, antiinflamasi, dan menghambat pertumbuhan tumor (Baltas dkk., 2011).

Sementara itu, salah satu pembuatan kumarin adalah dengan hidroarilasi asam sinamat dan fenol menggunakan asam kuat (Li, dkk., 2005). Senyawa turunan kumarin telah lama dikenal memiliki aktivitas biologi yang luas, seperti antiinflamasi, antioksidan, *anti-aging*, dan antikanker. Eskuletin berpotensi paling baik diantara kumarin lainnya sebagai penangkap radikal pada pengujian antioksidan (Lin dkk., 2008). 7-isopenteniloksi-kumarin merupakan salah satu senyawa aktif dari *Heracleum lanatum* Michx. (Umbelliferae) sebagai agen pencegah pembentukan tumor kulit (Baba dkk., 2002). Kumarin dari *Callophyllum sp.* memiliki potensi sebagai agen anti-HIV, seperti (+)-kalanolid A, (-)-kalanolid B, dan (+)-inofilum B (Wang dkk., 2006). Kalanon (senyawa derivat kumarin) dari *Callophyllum sp.* mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker serviks HeLa, dengan IC<sub>50</sub> 22,887 µM (Ekowati dkk., 2010). Kumarin juga aktif terhadap pengujian sitotoksik sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC<sub>50</sub> 54,2 µM (Chuang dkk., 2007).

Melihat derivat alami dan sintesis dari senyawa sinamat, penelitian bahan baku obat menggunakan metil sinamat sebagai bahan dasar memiliki potensi untuk dikembangkan secara luas. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini

melakukan sintesis turunan senyawa metil sinamat. Senyawa akhir yang diharapkan memiliki bioaktivitas yang tinggi.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari dan melakukan sintesis senyawa turunan metil sinamat serta melakukan uji aplikasi terhadap senyawa hasil sintesis.

## 1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

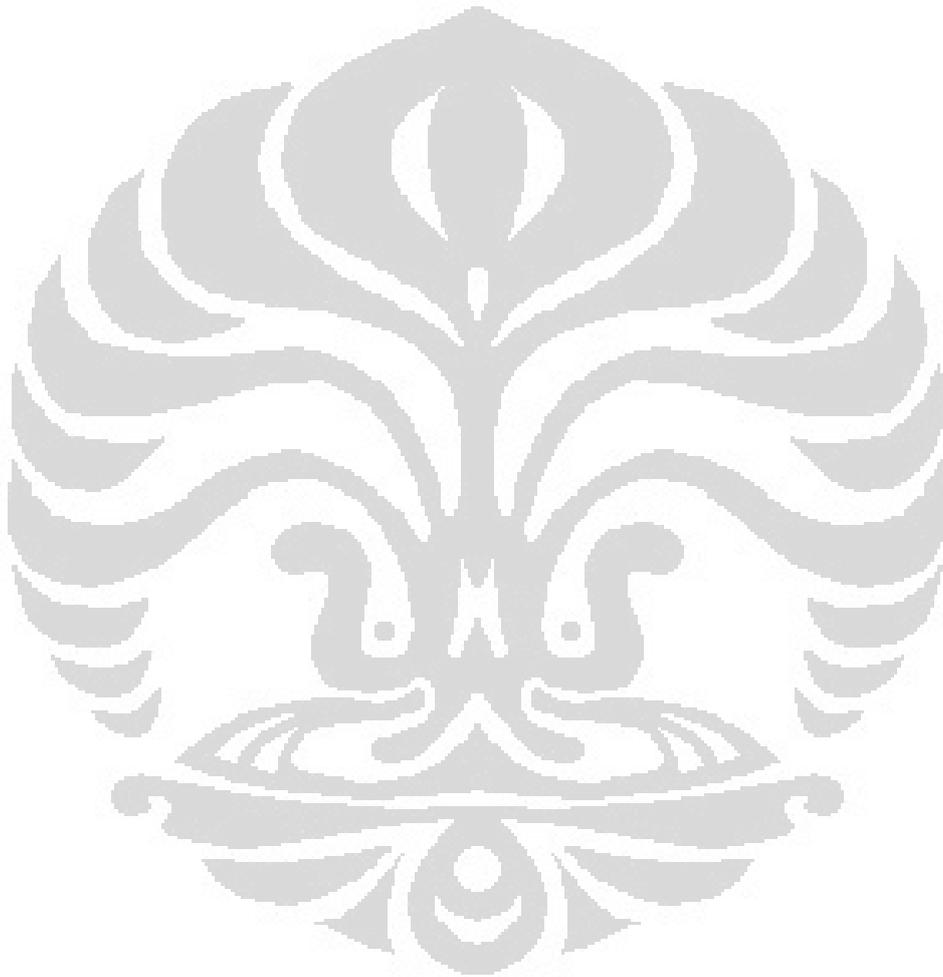
- a. Reaksi asam sinamat dengan tionil klorida dan fenol menghasilkan fenil sinamat.
- b. Reaksi asam sinamat dengan fenol menggunakan katalis asam menghasilkan senyawa dihidrokumarin.
- c. Senyawa hasil sintesis memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi.
- d. Senyawa hasil sintesis dapat dijadikan sebagai kandidat antikanker.

## 1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini akan melakukan sintesis turunan senyawa metil sinamat. Sintesis senyawa metil sinamat akan diawali dengan reaksi hidrolisis kemudian dilanjutkan dengan reaksi klorinasi dan esterifikasi. Hasil sintesis murni dilakukan pengujian toksisitas dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach, sitotoksitas dengan metode MTT dan diidentifikasi dengan spektrometer  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR, GC-MS serta LC-MS.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai sintesis senyawa turunan metil sinamat. Selain itu, senyawa hasil sintesis diharapkan dapat digunakan sebagai bahan baku obat antikanker yang bersumber dari bahan alam untuk kebutuhan industri farmasi.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Metil sinamat

Metil sinamat merupakan senyawa volatil berupa kristal putih yang memiliki aroma khas. Sinonimnya adalah metil 3-fenilpropenoat, asam 2-propenoat, 3-fenil-metil ester.

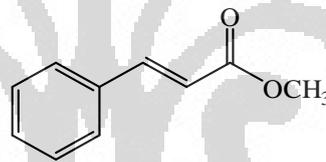
Sifat fisika dari metil sinamat adalah

Titik didih : 262°C

Titik leleh : 33°C

Titik nyala : > 200°F

Kelarutan dalam air : 387,1 mg/l pada suhu 25°C



Gambar 2.1. Struktur Metil Sinamat

Senyawa ini terdapat di dalam tumbuhan dan beberapa rempah-rempah sebagai minyak atsiri, seperti rimpang lengkuas atau laja goa (*A. malaccensis*) (Mughtaridi dkk., 2008) dan beberapa populasi *Conocephalum conicum* (Wood, 1996). Analisis GC-MS terhadap 12 *Ocimum spp* menyatakan bahwa sepuluh dari jenis tersebut mengandung metil sinamat dengan persentase yang tinggi (35 – 80%) (Murillo, 2003). Metil sinamat juga terdapat pada *Narcissus jonquilla* L. dan rimpang *Gastrochilus panduratum* Ridl. (Anonim, 2011).

Minyak atsiri pada lengkuas memiliki berbagai aktivitas biologi, diantaranya antiinflamasi, analgesik, antialergi, antijamur, antibakteri, antidiabetes, antioksidan, antikanker, dan antidermatofitik (Chudiwal dkk., 2010, Bhuiyan dkk., 2010 dan Lim dkk., 2008).



Gambar 2.2. Rimpang Lengkuas (sumber: Sinaga)

Metil sinamat digunakan sebagai zat pewangi dan pemberi rasa. Sebagai zat pewangi, metil sinamat dapat ditemukan dalam kosmetik, sampo, sabun, dan produk non-kosmetik, seperti pembersih dan deterjen. Sebagai zat pewangi dan pemberi rasa, metil sinamat tergolong aman. Dari berbagai data toksikologi, metil sinamat tidak memiliki efek klinis baik pada hewan uji (oral dan kulit) maupun manusia (kulit) (Bhatia dkk., 2007).

Huang dkk. (2009) menyatakan bahwa metil sinamat dapat mencegah aktivitas monofenolase dan difenolase pada jamur tirosinase. Metil sinamat juga memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Dari penelitian tersebut, Huang dkk. merekomendasikan bahwa metil sinamat dapat menjadi tambahan pada makanan (*food additive*) yang potensial untuk *anti-browning*.

Minyak atsiri metil sinamat juga terdapat pada *Ocotea quixos* Lam. Metil sinamat dari spesies tersebut menunjukkan efek antiinflamasi tanpa merusak lambung (Ballaben dkk., 2010).

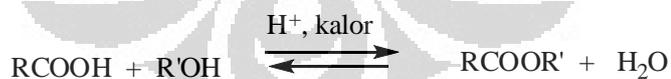
Sementara itu, sinamat memiliki beberapa senyawa turunan alami, yaitu delapan ester sinamat frukto-oligosakarida yang telah diisolasi dari tanaman *Lindelfia stylosa*, diantaranya 6'-O-kumaril-3-O-feruloilsukrosa, 6'-O-kafeoil-3-O-feruloilsukrosa, 3,6'-O-diferuloilsukrosa, 3-O-feruloil fruktofuranosil sukrosa, 3,6'-O-diferuloil-1-kestosa, 6'-O-kumaril-3-O-feruloil-1-kestosa, 3,6'-O-diferuloilnistosa, dan 6'-O-kumaril-3-O-feruloilnistosa (Choudhary dkk., 2006).

Adanya derivat-derivat alami dari metil sinamat memungkinkan untuk dilakukan sintesis derivat senyawa tersebut. Derivatisasi metil sinamat diharapkan menghasilkan produk turunan yang memiliki nilai tambah yang tinggi sehingga penggunaan metil sinamat semakin luas. Produk turunan diharapkan dapat digunakan sebagai antikanker dan selanjutnya digunakan sebagai bahan baku obat.

## 2.2 Reaksi Esterifikasi

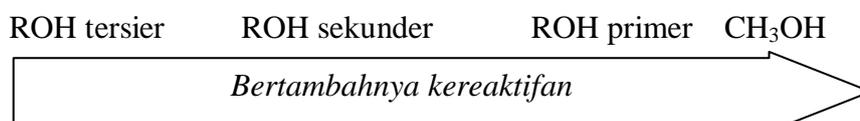
Ester asam karboksilat adalah suatu senyawa yang mengandung gugus –COOR, dengan R dapat berbentuk alkil maupun aril. Suatu ester dapat dibentuk dengan mereaksikan asam karboksilat dengan alkohol. Reaksi inilah yang disebut dengan reaksi esterifikasi. Esterifikasi menggunakan katalis asam dan merupakan reaksi yang reversibel.

Reaksi umum esterifikasi:



Laju esterifikasi asam karboksilat bergantung terutama pada halangan sterik dalam alkohol dan asam karboksilatnya. Kuat asam dari asam karboksilat hanya memainkan peranan kecil dalam laju pembentukan ester.

Kereaktifan alkohol terhadap esterifikasi:



Keraktifan asam karboksilat terhadap esterifikasi:

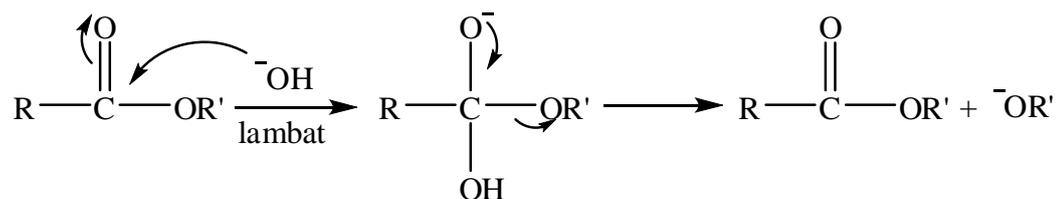


Reaksi esterifikasi bersifat reversibel. Untuk memperoleh rendemen tinggi dari reaksi esterifikasi, kesetimbangan harus digeser ke arah sisi ester. Satu teknik untuk mencapai ini adalah menggunakan salah satu zat pereaksi secara berlebihan. (Fessenden, 1986)

### 2.3 Reaksi Hidrolisis

Reaksi asam karboksilat dengan alkohol dibantu katalis asam mineral atau Lewis untuk memberikan ester sebagai produk disebut esterifikasi. Reaksi baliknya, yaitu pemisahan ester ke dalam komponen asam karboksilat dan alkohol dikenal sebagai hidrolisis ester. Pada prinsipnya, reaksi-reaksi ini reversibel, dan keduanya reaksi dapat dikatalisis baik dengan asam atau basa. Reaksi hidrolisis yang dikatalisis asam juga simetris, artinya hanya diperlukan untuk membalikkan langkah untuk mendapatkan mekanisme esterifikasi.

Reaksi hidrolisis biasanya lebih disukai dengan menggunakan katalisis basa, karena asam yang terbentuk akan dihapus sebagai garam, sehingga mendorong reaksi ke depan sampai selesai. Reaksi ini tidak reversibel dalam praktek, karena itu ditunjukkan oleh panah ke arah depan saja.



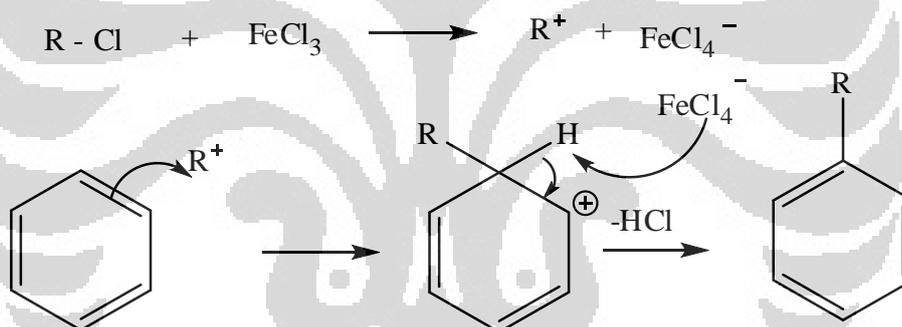
Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Hidrolisis dengan Katalis Basa

Mekanisme hidrolisis dengan basa diawali dengan pembentukan intermediet tetrahedral. Tahap berikutnya adalah terjadi pemutusan gugus asil (March, 1977).

## 2.4 Reaksi Friedel-Crafts

Reaksi Friedel-Crafts dikembangkan oleh Charles Friedel dan James Crafts pada tahun 1877. Ada dua kelompok besar reaksi Friedel-Crafts, yakni reaksi alkilasi dan reaksi asilasi.

Alkilasi Friedel-Crafts melibatkan cincin aromatik dan alkil halida menggunakan katalis asam Lewis. Biasanya digunakan feri klorida atau aluminium klorida.



Gambar 2.4. Reaksi Friedel-Crafts

Alkilasi tidak hanya terbatas pada alkil halida. Reaksi Friedel-Crafts dapat terjadi pada zat antara karbokation, seperti zat antara dari reaksi alkena dengan asam protik atau asam Lewis (Hajra dkk., 2007).

Sementara itu, asilasi Friedel-Crafts adalah asilasi cincin aromatik dengan asil klorida menggunakan katalis asam Lewis yang kuat. Asilasi Friedel-Crafts dapat terjadi dengan asam anhidrida.

## 2.5 Uji Toksisitas

Toksisitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan. Toksisitas selalu menunjukkan efek berbahaya atas mekanisme biologi tertentu. Istilah toksisitas biasa dipergunakan dalam membandingkan suatu zat kimia lebih toksik dari zat kimia lainnya (Purbarani, 2011).

Uji pendahuluan senyawa aktif biasanya menggunakan hewan uji. Kematian hewan uji menjadi salah satu kriteria toksisitas. Hewan uji yang biasa digunakan adalah *brine shrimp* (udang laut) yang termasuk dalam golongan artemia, yaitu *Artemia salina* Leach. *Brine shrimp* sebelumnya telah digunakan dalam berbagai sistem bioassay, diantaranya uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestesi, dan senyawa seperti morfin.

Uji toksisitas senyawa aktif dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) bertujuan untuk skrining awal senyawa terhadap potensi aktivitasnya sebagai anti kanker. Keuntungan metode BSLT ini adalah cepat, murah, mudah, dan sederhana. Metode ini dapat menguji ekstrak bahan alam, fraksi, atau senyawa murni pada konsentrasi 10, 100, dan 1000 ppm. Larutan uji dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi air laut dan sepuluh udang. Masing-masing konsentrasi larutan uji dilakukan tiga kali pengulangan (McLaughlin dkk., 1998).

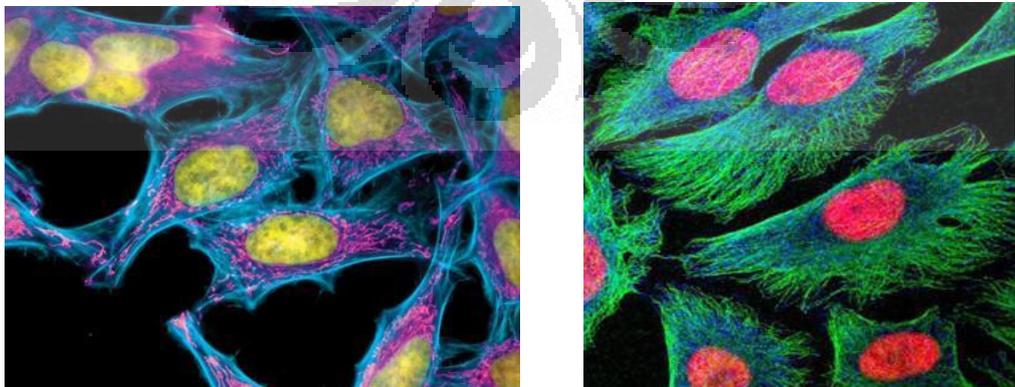
Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT dapat diketahui dari jumlah kematian larva udang *A. salina* Leach karena pengaruh senyawa dari dosis yang telah ditentukan. Tingkat toksisitas ekstrak kasar dapat ditentukan dengan melihat nilai  $LC_{50}$  (*lethal concentration*). Apabila nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ , ekstrak kasar tersebut dikatakan toksik dan sebaliknya jika nilai  $LC_{50}$  lebih dari 1000  $\mu\text{g/mL}$  tidak toksik (Indiastuti dkk., 2008).

## 2.6 Uji Sitotoksitas terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

Kanker adalah suatu penyakit dimana sel tubuh menjadi abnormal dan melakukan pembelahan tanpa terkontrol. Sel kanker dapat menyerang jaringan-jaringan yang ada di sekitarnya. Sel kanker tersebut dapat menyebar ke tubuh melalui aliran darah, sistem limfa, dan bagian tubuh lainnya.

Banyak sel kanker yang kini telah diketahui. Diantaranya adalah sel kanker paru-paru, kanker usus besar (kolon), kanker liver, kanker kerongkongan, kanker payudara, kanker serviks, dan lain sebagainya.

Kanker serviks menduduki peringkat ketiga pada wanita dengan jumlah kasus sebesar 9,8% dan angka kematian 8,5% (Parkin dkk., 1999). Kanker ini telah diketahui sejak tahun 1950-an. Henrietta Lacks, seorang wanita keturunan Amerika-Afrika, menderita kanker serviks dan akhirnya meninggal pada usia 31 tahun. Sampel sel kankernya, yang dikenal dengan sel HeLa-Henrietta Lacks, diambil tanpa sepengetahuannya ketika dia dirawat. Sel tersebut dikultur di laboratorium dan menjadi sel imortal (abadi). Sel HeLa ini kemudian menjadi sel manusia pertama yang imortal. Sel HeLa telah banyak membantu para peneliti dalam penelitiannya, seperti kloning, pemetaan gen, penelitian AIDS, penelitian virus, dan penelitian kanker (Jiang dkk., 2012).



Gambar 2.5. Sel HeLa di Bawah Mikroskop (sumber: Jiang dkk., 2012)

Dalam pengembangan obat antikanker baru sebagai agen-agen kemoterapi, evaluasi preklinik merupakan salah satu hal yang penting untuk mengetahui aktivitas neoplastiknya. Evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan apakah suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksik) secara biologis disebut uji sitotoksitas.

Syarat yang harus dipenuhi untuk sistem uji sitotoksitas diantaranya adalah sistem pengujian harus dapat menghasilkan kurva dosis-respon yang reproduibel dengan viabilitas yang didapat dari kurva dosis-respon harus sejalan dengan efek yang muncul pada *in vivo*. Salah satu metode yang umum digunakan untuk menetapkan jumlah sel adalah metode MTT.

Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut dalam air. Penambahan reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Junaedi dkk., 2008.).

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Pangan dan Farmasi (BAPF) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) kawasan PUSPIPTEK, Serpong. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan September 2011 – Mei 2012. Uji sitotoksitas dengan metode MTT dilakukan di Pusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat-Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu bulat, kolom kromatografi, termometer, *hot plate* dan stirer, *rotary evaporator*, penangas minyak, lampu UV, pipet eppendorf, spektrofotometer UV-Vis, dan spektrometer  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz) dan  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz), LC-MS, GC-MS serta peralatan gelas kimia lainnya.

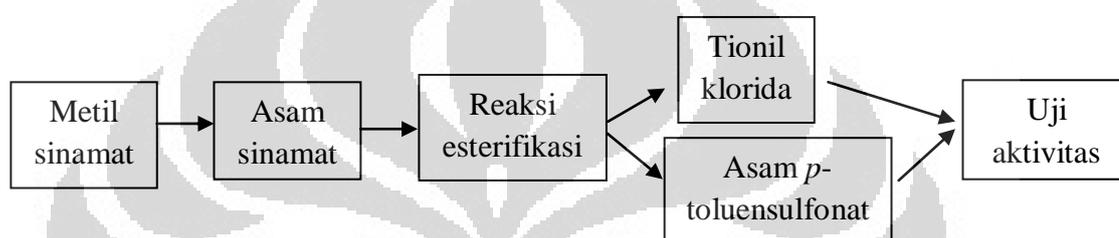
#### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa metil sinamat hasil isolasi dari lengkuas (*A. malaccensis*), natrium hidroksida (NaOH), tionil klorida ( $\text{SOCl}_2$ ), fenol, asam p-toluen sulfonat monohidrat (*p*-TSOH), pelarut organik (metanol, etanol, butanol, etil asetat, diklorometan, dan n-heksana), asam klorida (HCl), natrium sulfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), aquades, air laut, udang *Artemia salina* Leach, dimetil sulfoksida (DMSO), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), kertas saring, silika gel, dan plat kromatografi lapisan tipis (KLT) GF<sub>254</sub>.

### 3.3 Rancangan Percobaan dan Prosedur Perlakuan

Rancangan penelitian ini dibagi dalam beberapa tahap, yaitu:

1. Reaksi hidrolisis senyawa metil sinamat.
2. Reaksi esterifikasi dari asam sinamat dengan menggunakan tionil klorida dan katalis asam *p*-toluensulfonat.
3. Beberapa uji aktivitas untuk hasil sintesis.



Gambar 3.1. Bagan Rancangan Percobaan

Dalam melakukan reaksi sintesis, semua pelarut dan alat-alat gelas yang akan digunakan harus bebas dari air. Pelarut organik yang akan digunakan didestilasi terlebih dahulu. Sementara itu, alat-alat gelas yang digunakan dicuci bersih dan dibilas dengan aseton kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 50 – 60°C.

#### 3.3.1 Prosedur Sintesis Asam Sinamat

Metil sinamat 5 g (31 mmol) ditambahkan dengan etanol 50 mL, dan 5 M NaOH 10 mL. Campuran ini dipanaskan sampai suhu 55°C dalam penangas minyak dan distirer. Reaksi berlangsung sempurna selama 2 jam dilihat dari hasil kromatografi lapisan tipis (KLT). Hasil reaksi diuapkan kemudian diekstraksi dengan menggunakan butanol dan aquades. Hasil reaksi dinetralkan dengan penambahan HCl 1%. Ekstraksi dilakukan beberapa kali. Fasa butanol diuapkan dengan suhu 60°C dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C.

Hasil reaksi hidrolisis ditimbang dan diidentifikasi dengan spektrometer  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR serta LC-MS.

### 3.3.2 Prosedur Sintesis Fenil Sinamat

Asam sinamat ditambahkan dengan tionil klorida ( $\text{SOCl}_2$ ). Campuran direfluks dengan suhu  $70 - 80^\circ\text{C}$  dan distirer (Bairwa dkk., 2010 dan Li dkk., 2011). Setelah 2 jam, campuran reaksi ditambahkan fenol (perbandingan mol ekuivalen asam sinamat :  $\text{SOCl}_2$  : fenol adalah 1 : 2 : 1). Reaksi dilakukan selama semalam. Reaksi dihentikan dengan melakukan pengecekan KLT dimana sudah tidak terjadi lagi perubahan reaksi. Hasil reaksi didinginkan kemudian diekstraksi dengan etil asetat dan aquades beberapa kali. Fasa etil asetat digabungkan dan ditambahkan natrium sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anhidrat untuk menarik air. Fasa etil asetat dievaporasi kemudian dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan kolom kromatografi (eluen yang digunakan adalah n-heksana dan etil asetat).

Hasil reaksi ditimbang dan diidentifikasi dengan spektrometer  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR.

### 3.3.3 Reaksi Sintesis 4-fenilkroman-2-on

Asam sinamat direaksikan dengan asam *p*-TSOH dan fenol dalam labu 30 mL dengan perbandingan mol ekuivalen 1 : 1,2 : 1,2 secara berturut-turut. Campuran dipanaskan dengan penangas minyak hingga suhu  $125^\circ\text{C}$  dan distirer selama 3 jam. Reaksi ini berlangsung tanpa menggunakan pelarut. Hasil reaksi dilarutkan dengan etil asetat kemudian pH dinetralkan dengan menggunakan NaOH 5 M untuk menetralkan asam *p*-TSOH. Hasil reaksi diekstraksi dengan etil asetat dan aquades beberapa kali. Fasa etil asetat digabungkan dan ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat. Fasa etil asetat dievaporasi. Hasil evaporasi dilanjutkan dengan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana : etil asetat 10:1, v/v (Sudalai dkk., 2007).

Hasil reaksi ditimbang dan diidentifikasi dengan spektrometer  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR.

### 3.3.4 Uji Toksisitas secara BSLT (Dey, 1991 dan McLaughlin dkk., 1998)

#### 3.3.4.1 Penetasan larva udang

Kurang lebih 50 – 100 mg telur udang ditetaskan di dalam tempat persegi panjang (2 x 10 cm) yang dilengkapi pembatas berlubang diameter 2 mm dan telah diisi air laut, ditutup dengan aluminium foil pada bagian yang berisi telur, dan dibiarkan selama 48 jam. Telur akan menetas dan larva-larva udang yang akan diuji diambil dengan pipet pada bagian yang terang.

#### 3.3.4.2 Persiapan larutan yang akan diuji

Senyawa murni yang akan diuji dibuat dengan konsentrasi 2000, 1000, 200, 20 ppm dalam air laut. Bila senyawa tidak larut, ditambahkan 10  $\mu$ L DMSO.

#### 3.3.4.3 Uji toksisitas

Larva udang yang hidup sebanyak 10 – 15 ekor dimasukkan ke dalam vial uji yang berisi 100  $\mu$ L air laut. Ditambahkan larutan sampel yang akan diuji masing-masing sebanyak 100  $\mu$ L, sehingga konsentrasi akhir menjadi 10, 100, 500, 1000 ppm. Larutan diaduk sampai homogen, untuk setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel, kemudian didiamkan selama 24 jam. Larva yang mati dan hidup dihitung jumlahnya. Selanjutnya tingkat mortalitas dihitung dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva. Kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi terhadap mortalitas sehingga diperoleh persamaan regresi linier  $y = ax + b$ . Nilai  $LC_{50}$  diperoleh dengan memasukkan nilai  $y = 50$ , maka diperoleh konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan kematian 50% larva, yang disebut  $LC_{50}$ .

### 3.3.5 Uji Sitotoksisitas dengan Metode MTT (Wu, 2008, Hariyanti, 2010, Sumaryono, 2010)

Senyawa uji dibuat larutan stok sebanyak 1000 ppm dengan dimetilsulfoksida. Larutan stok kemudian diencerkan dengan media *Dulbecco's Modified Eagle Media* (DMEM) untuk uji terhadap sel HeLa (ATCC CCL2)

sehingga diperoleh variasi konsentrasi larutan uji. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 100, 50, dan 10 ppm. Sel ditumbuhkan dalam media DMEM dan didistribusikan ke dalam 96 *well plate* dengan jumlah 2000 sel/*well* (100µl) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%. Larutan uji dalam berbagai variasi konsentrasi masing-masing ditambahkan ke dalam sel HeLa, dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Setiap senyawa uji dilakukan pengujian sebanyak tiga kali pengulangan. 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il-(2,5-difenil tetrazolium bromida) (MTT) dalam natrium hidrogen karbonat (NaHCO<sub>3</sub>) kemudian ditambahkan 10 µl/*well* pada tiap konsentrasi dan diinkubasi lebih lanjut selama 4 jam pada suhu 37°C sampai terbentuk formazan. Sel yang hidup akan mengkonversikan MTT menjadi formazan yang berwarna biru tua. Formazan yang terbentuk dilarutkan dalam etanol 96%. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 562 nm. Persentase penghambatan proliferasi dihitung berdasarkan nilai *Optical Density* (OD) dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{rata-rata OD kontrol} - \text{rata-rata OD sampel})}{(\text{rata-rata OD kontrol})} \times 100\%$$

Hasil dari % inhibisi kemudian diplotkan dengan konsentrasi atau log konsentrasi dan diperoleh persamaan regresi linier. Harga viabilitas sel 50% dimasukkan dalam persamaan regresi linier yang diperoleh sehingga diperoleh nilai IC<sub>50</sub>.

## BAB IV PEMBAHASAN

Metil sinamat banyak digunakan sebagai zat penambah wangi. Penggunaan metil sinamat sebagai pewangi dapat ditemukan dalam berbagai produk kosmetik, sampo, sabun mandi, pembersih alat-alat rumah tangga dan deterjen (Bhatia, dkk., 2007). Sintesis turunan metil sinamat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas biologinya. Sintesis diawali dengan reaksi hidrolisis, kemudian dilanjutkan dengan reaksi esterifikasi.

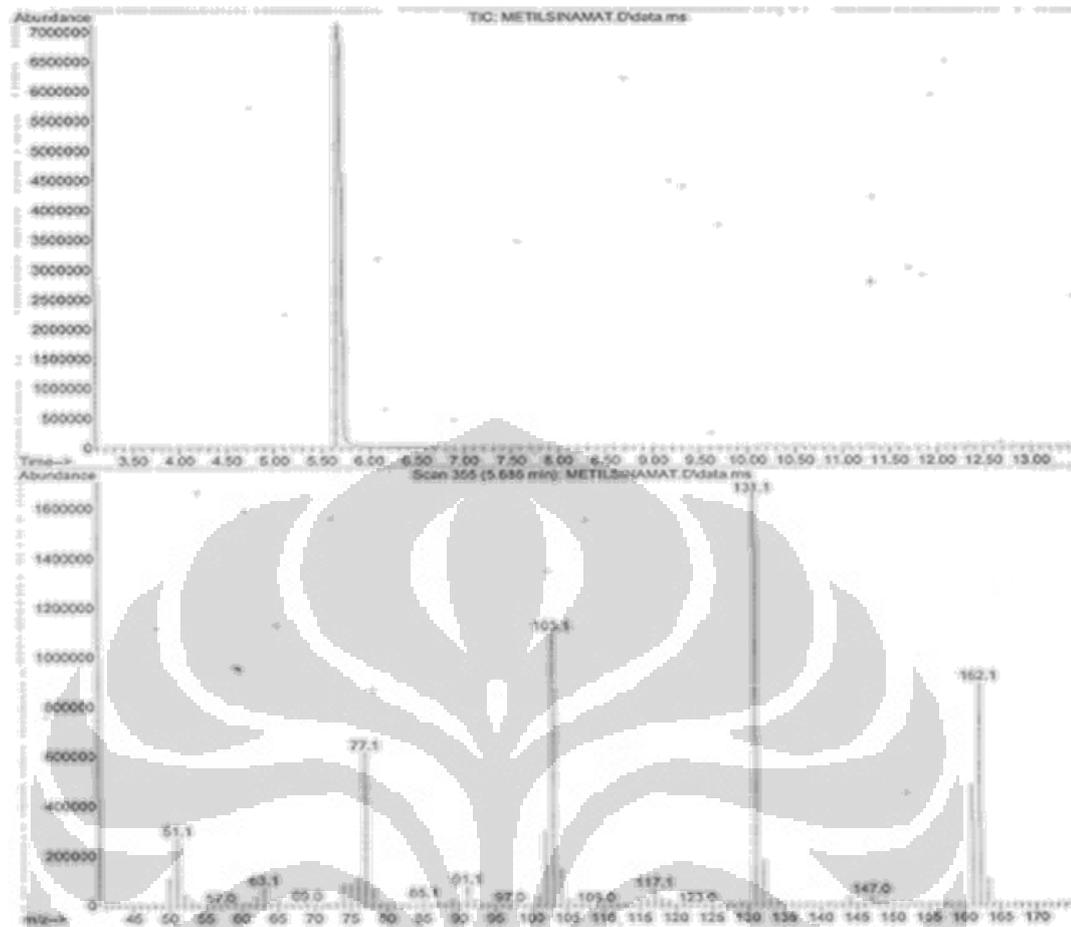
### 4.1 Metil Sinamat

Senyawa metil sinamat (Gambar 4.1) diperoleh dari Pusat Penelitian Kimia Laboratorium Bahan Alam Pangan dan Farmasi (BAPF) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan. Metil sinamat diisolasi dari lengkuas atau laja goa (*Alpinia malaccensis*).

Hasil analisis *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) menunjukkan puncak 5,6 menit pada kromatogram GC dan berat molekul 162,1 g/mol pada spektrum MS (Gambar 4.2).

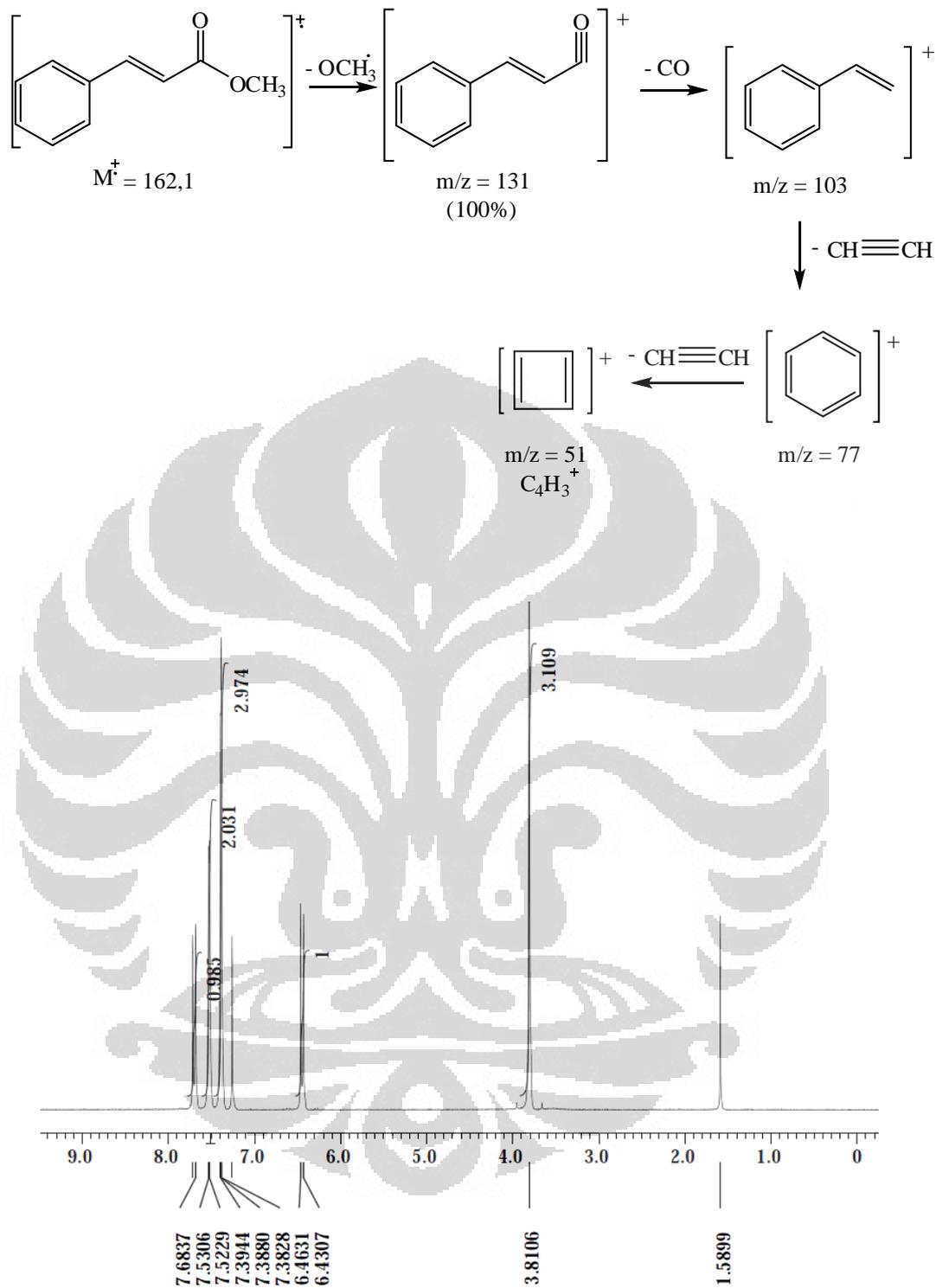


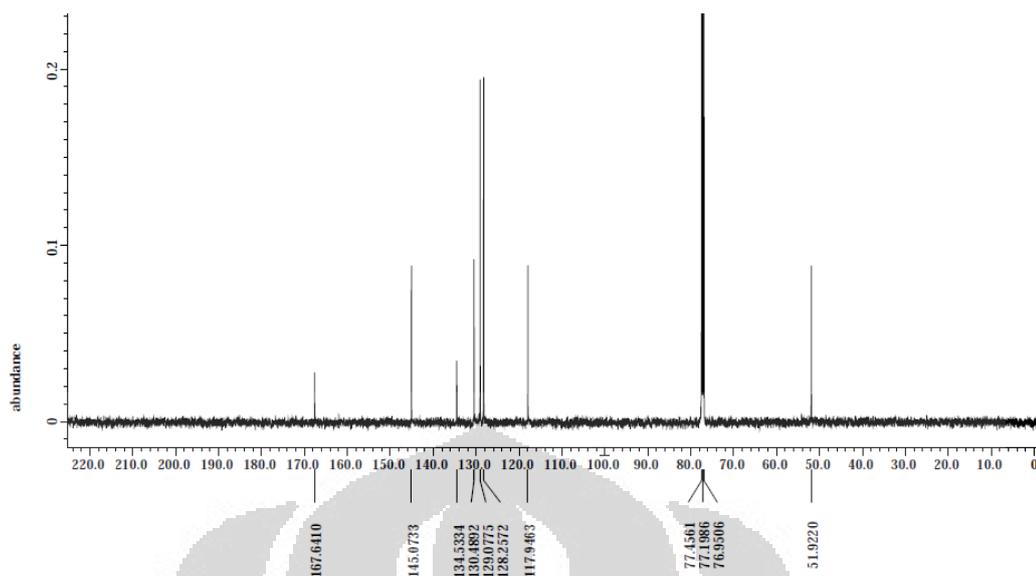
Gambar 4.1. Kristal Metil Sinamat



Gambar 4.2. Hasil Analisis GC-MS Metil Sinamat

Dari hasil MS (Gambar 4.2), fragmentasi pada struktur metil sinamat dapat terlihat, dengan  $m/z$ , yaitu 131; 103; 77; dan 51. Puncak yang tertinggi dan merupakan *base peak* dengan  $m/z$  sebesar 131 (- OCH<sub>3</sub>) merupakan fragmentasi yang banyak terjadi (100%). Puncak induk (*parent peak*) dengan  $M^+$  162,1 kelimpahannya 56%. Adapun fragmentasi yang terjadi pada metil sinamat adalah sebagai berikut:

Gambar 4.3. Spektrum <sup>1</sup>H NMR Metil Sinamat

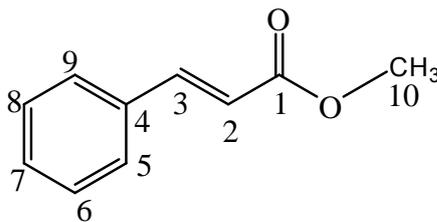


Gambar 4.4. Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR Metil Sinamat

Sementara itu, hasil analisis  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$  menunjukkan pergeseran kimia ( $\delta$ ) sebagai berikut:

Tabel 4.1. Hasil Analisis  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR Metil Sinamat

Posisi	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm) (multiplisitas, jumlah H, J dalam Hz)
1	167,6	
2	117,9	6,46 ( <i>d</i> , 1H, 13,2)
3	145,1	7,68 ( <i>d</i> , 1H, 13,2)
4	134,5	
5	128,3	7,52 ( <i>d</i> , 1H, 5,8)
6	129,1	7,38 ( <i>t</i> , 1H, 5,8)
7	130,5	7,38 ( <i>t</i> , 1H, 5,8)
8	129,1	7,38 ( <i>t</i> , 1H, 5,8)
9	128,3	7,52 ( <i>d</i> , 1H, 5,8)
10	51,9	3,86 ( <i>s</i> , 3H)



Gambar 4.5. Struktur Metil Sinamat

Spektrum  $^1\text{H}$  NMR metil sinamat memberikan sinyal pada pergeseran kimia 3,86 ppm (3 H) berbentuk *singlet*. Sinyal ini lebih *downfield* karena berikatan dengan oksigen ( $\text{CH}_3\text{-O-}$ , metoksi). Pergeseran kimia 6,46 ppm (1 H) berbentuk *doublet* mempunyai hubungan dengan puncak pada pergeseran kimia 7,68 ppm (1 H) berbentuk *doublet*, dengan nilai kopling konstan (J) yang sama sebesar 13,2 Hz. Bentuk tersebut adalah olefin dengan proton yang berkonfigurasi *trans*. Kemudian pada pergeseran kimia sekitar 7 ppm (5 H) merupakan proton-proton dari benzen dengan satu substitusi.

Pergeseran kimia 167,6 ppm pada spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR menandakan bahwa senyawa ini mempunyai gugus ester ( $\pm 160 - 180$  ppm). Pergeseran kimia 51,9 ppm menyatakan karbon  $\text{sp}^3$  (metil). Pergeseran kimia 117,9 dan 145,1 ppm merupakan alkena (karbon  $\text{sp}^2$ ). Adanya karbon kuartener dari aromatik ditunjukkan oleh sinyal pada pergeseran kimia 134,5 ppm. Sementara itu, pergeseran kimia sekitar 120 ppm merupakan karbon dari aromatik. Pada pergeseran kimia 128,3 dan 129,1 ppm, puncaknya dua kali lebih tinggi. Ini menunjukkan dari masing-masing puncak tersebut, ada dua karbon yang mempunyai lingkungan kimia yang sama.

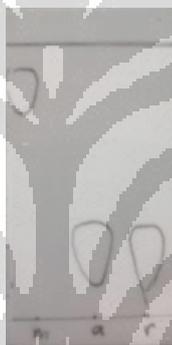
Dari data-data yang telah diperoleh tersebut, senyawa hasil isolasi dari lengkuas (*A. malaccensis*) adalah metil *trans* sinamat.

#### 4.2 Sintesis Asam Sinamat

Reaksi hidrolisis metil sinamat pada penelitian ini menggunakan katalis basa, yaitu natrium hidroksida (NaOH). Reaksi berlangsung sempurna setelah 2 jam dengan pengecekan KLT (Kromatografi Lapisan Tipis). Hasil reaksi diuapkan

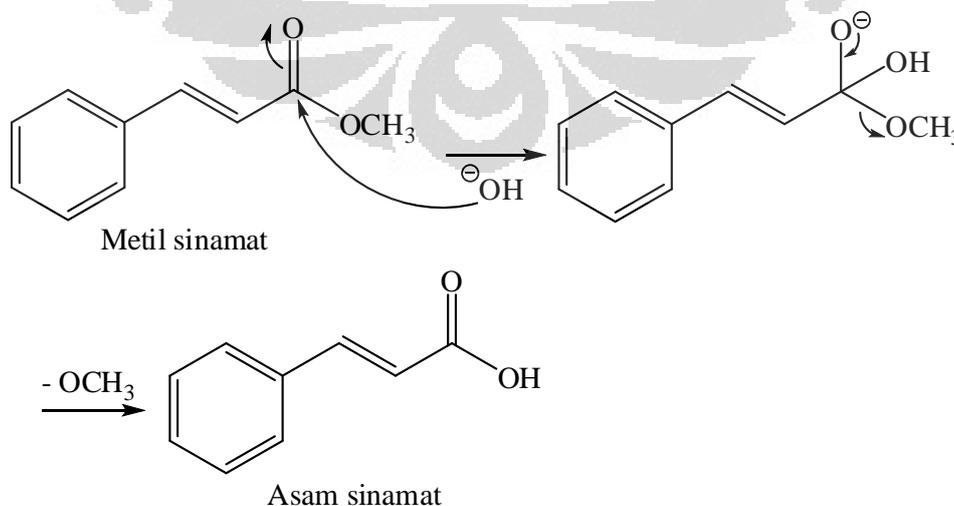
kemudian didinginkan. Ekstraksi hasil reaksi menggunakan butanol dengan aquades, pH dinetralkan terlebih dahulu dengan menggunakan asam klorida 1%. Fasa organik yang merupakan hasil reaksi tertarik oleh butanol. Kemudian, fasa butanol diuapkan dan dikeringkan.

KLT terhadap hasil reaksi hidrolisis dilakukan untuk membuktikan bahwa hasil reaksi tidak sama dengan bahan awal (Gambar 4.6). Nilai Rf metil sinamat adalah 0,83, sedangkan nilai Rf asam sinamat standar dan asam sinamat hasil reaksi adalah sama, 0,23. Hasil dari reaksi hidrolisis metil sinamat adalah senyawa yang berupa serbuk putih (Gambar 4.7), dengan rendemen sebesar 83,6 % (perhitungan di Lampiran 6).



Gambar 4.6. KLT Hasil Reaksi Hidrolisis, pengembang n-heksana : etil asetat = 7 : 3, m = metil sinamat, a = asam sinamat standar, r = hasil reaksi hidrolisis

Mekanisme reaksi hidrolisis metil sinamat:

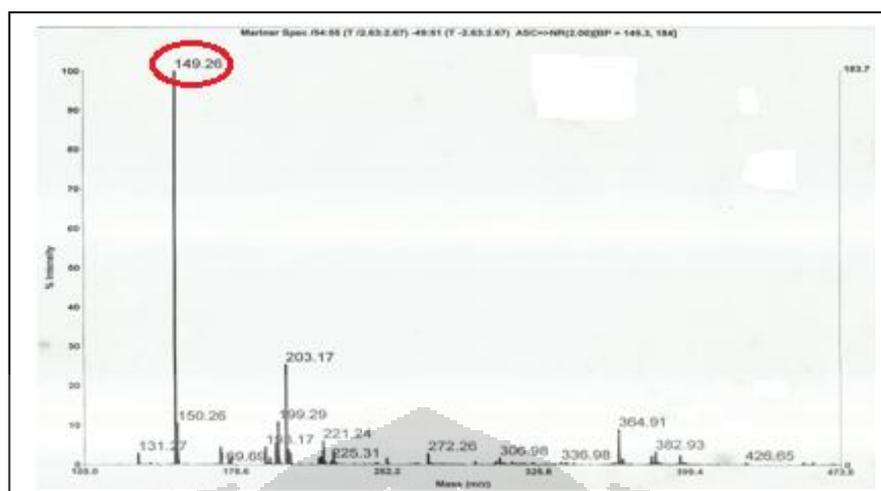


Katalis basa, NaOH, yang digunakan dalam reaksi hidrolisis sangat berperan. Hidrolisis metil sinamat dengan basa berlangsung dalam dua tahap (Miller, 1992). Mekanisme diawali dengan penyerangan oleh gugus hidroksi ( $\text{OH}^-$ ) dari NaOH ke karbon pada gugus fungsi ester (gugus karbonil) sehingga terbentuk intermediet tetrahedral ( $\text{sp}^3$ ). Selanjutnya, gugus metoksi ( $\text{CH}_3\text{O}^-$ ) akan lepas dari senyawa metil sinamat, sehingga karbon dari karbonil akan terhibridisasi kembali dari  $\text{sp}^3$  menjadi ikatan rangkap ( $\text{sp}^2$ ). Gugus metoksi digantikan oleh gugus hidroksi ( $\text{OH}^-$ ) yang berasal dari NaOH.



Gambar 4.7. Senyawa Hasil Hidrolisis Metil Sinamat

Hasil analisis reaksi hidrolisis dengan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS) adalah pada kromatogram LC dengan waktu retensi 2,6 menit (Lampiran 5) menunjukkan adanya ion molekul  $149,26 \text{ g/mol}$  ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup> (Gambar 4.8). Berat molekul tersebut menunjukkan bahwa senyawa hasil hidrolisis adalah asam sinamat, berat molekul  $148,26 \text{ g/mol}$ .

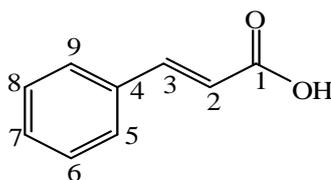


Gambar 4.8. MS Asam Sinamat

Hasil analisis spektra  $^1\text{H}$  NMR (lampiran 9) dan  $^{13}\text{C}$  NMR (lampiran 10) menunjukkan pergeseran kimia ( $\delta$ ) sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil analisis  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR reaksi hidrolisis

Posisi	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm) (multiplisitas, jumlah H, J dalam Hz)
1	172,9	
2	117,5	6,49 ( <i>d</i> , 1H, 16,0)
3	147,3	7,83 ( <i>d</i> , 1H, 16,0)
4	134,2	
5	130,9	7,57 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 5,2)
6	129,1	7,42 ( <i>t</i> , 1H, 5,2)
7	128,6	7,42 ( <i>t</i> , 1H, 5,2)
8	129,1	7,42 ( <i>t</i> , 1H, 5,2)
9	130,9	7,57 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 5,2)

Gambar 4.9. Asam sinamat (**1**)

Pergeseran kimia atom H dan C pada posisi 5 sama dengan posisi 9, sinyal muncul pada  $\delta H$  7,57 ppm dan  $\delta C$  130,9 ppm. Nilai pergeseran kimia yang sama ini menunjukkan bahwa lingkungan kimia pada posisi tersebut adalah sama. Sementara itu, kopling konstan ( $J$ ) pada pergeseran kimia 6,49 ppm (atom H no. 2) sebesar 16,0 Hz dan kopling konstan pada pergeseran kimia 7,83 ppm (atom H no. 3) adalah 16,0 Hz. Nilai kopling konstan tersebut menandakan bahwa kedua atom H pada posisi *trans*, sehingga senyawa hasil hidrolisis adalah asam *trans* sinamat (Gambar 4.9).

Asam sinamat memiliki dua proton yang terisolir, yaitu proton yang berkonfigurasi *trans*. Spektrum proton tersebut yang ditunjukkan pada NMR berbentuk *doublet*. Dua proton yang tidak ekivalen, terisolir, berinteraksi dengan proton lainnya, masing-masing proton berbentuk *doublet*, mempunyai tipe proton AX atau AB. Bila pergeseran kimia proton A ( $\delta A$ ) dikurangi pergeseran kimia proton X ( $\delta X$ ) dan dibagi kopling konstan AX ( $J_{AX}$ ) atau  $\Delta\delta AX$  dibagi kopling konstan AX ( $J_{AX}$ ) nilainya lebih besar dari 10, maka disebut orde pertama (tipe AX). Bila nilainya lebih kecil dari 10, maka disebut orde kedua (tipe AB) (Kosela, 2010).

Dari spektrum  $^1H$  NMR asam sinamat, diketahui  $\Delta\delta AX = (7,83 - 6,49)$  ppm = 1,34 ppm atau 670 Hz (1 ppm = 500 Hz). Nilai  $\Delta\delta AX$  dibagi dengan  $J_{AX}$  (16,0 Hz) lebih besar dari 10. Jadi, dua proton yang terisolir pada asam sinamat memiliki tipe proton AX atau orde pertama.

### 4.3 Sintesis Fenil Sinamat

Sintesis fenil sinamat diawali dengan mereaksikan asam sinamat dan tionil klorida ( $\text{SOCl}_2$ ).  $\text{SOCl}_2$  berperan sebagai aktivator, sehingga reaksi antara asam sinamat dengan  $\text{SOCl}_2$  menghasilkan halida asam, yaitu sinamoil klorida. Setelah dua jam, campuran reaksi ditambahkan dengan fenol. Reaksi ini seharusnya berjalan dua tahap, tetapi dilakukan secara langsung untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Ketika reaksi dilakukan secara terpisah, hasil sinamoil klorida sangat sedikit karena karakter tionil klorida yang sulit bereaksi dengan adanya air (MSDS, 2004). Adanya air dalam reaksi berasal dari udara luar atau asam sinamat yang masih mengandung air. Hasil sinamoil klorida yang sedikit mengakibatkan sulit untuk direaksikan ke tahap selanjutnya.

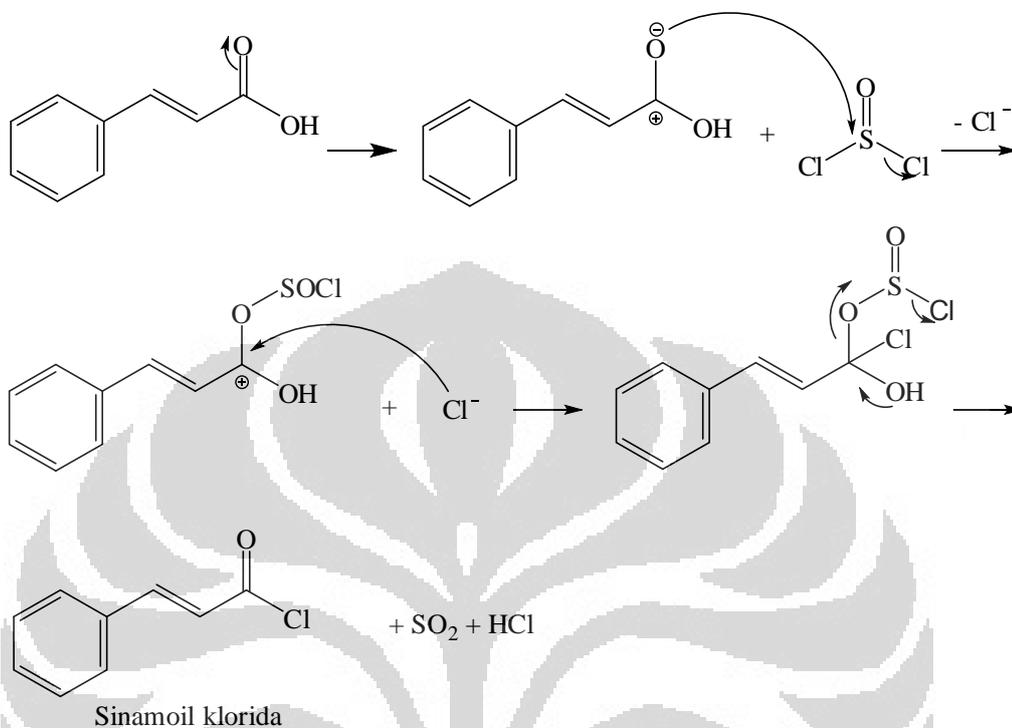
Hasil reaksi asam sinamat,  $\text{SOCl}_2$ , dan fenol berupa padatan putih. Padatan putih ini non polar, noda pada KLT di bagian atas, sehingga perlu dibandingkan dengan metil sinamat yang nodanya juga berada di bagian atas (Gambar 4.10). Pengembang KLT adalah n-heksana : etil asetat, 1 : 1. Nilai  $R_f$  metil sinamat 0,74, sedangkan nilai  $R_f$  fenil sinamat 0,80.



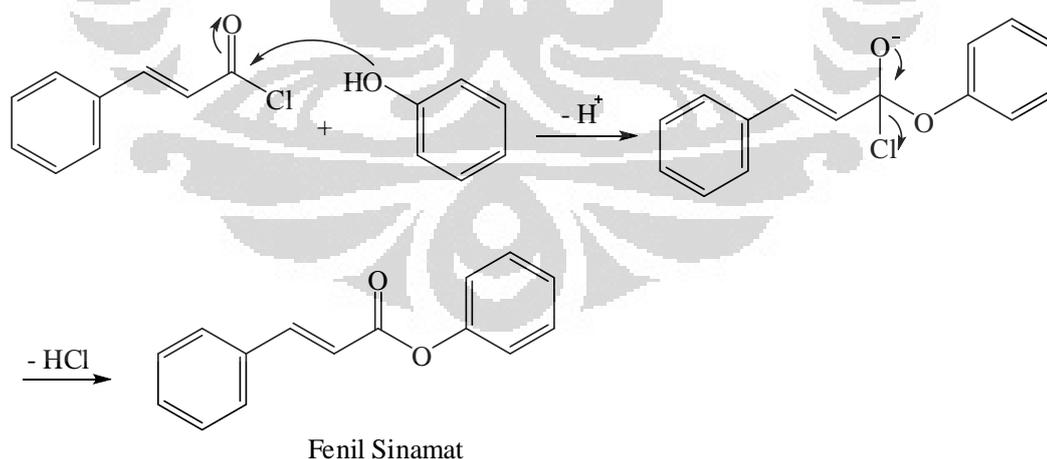
Gambar 4.10. Hasil KLT Fenil Sinamat, m = metil sinamat, K Cl = padatan fenil sinamat, A= di bawah lampu UV 254 nm, B = hasil uji pada plat KLT

Mekanisme reaksi sintesis fenil sinamat:

1. Pembentukan sinamoil klorida



2. Pembentukan ester dengan fenol



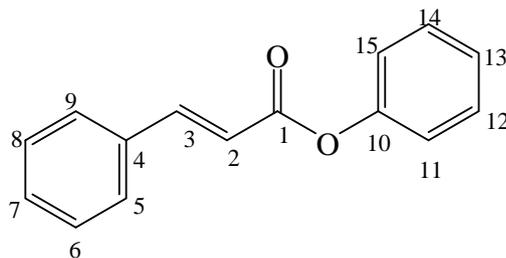
Mekanisme sintesis fenil sinamat diawali dengan gugus hidroksi pada asam sinamat digantikan oleh ion klorida dari tionil klorida. Gugus -COOH (karboksilat) menjadi gugus -COCl sehingga asam sinamat menjadi sinamoil

klorida. Aktivasi gugus  $-\text{COOH}$  menjadi  $-\text{COCl}$  dilakukan karena ion klorida merupakan gugus pergi (*leaving group*) yang baik dibandingkan dengan gugus hidroksi. Selanjutnya, sinamoil klorida direaksikan dengan fenol. Hasil reaksi menjadi ester fenol atau fenil sinamat.

Padatan putih fenil sinamat yang diperoleh diidentifikasi dengan  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR (lampiran 11 dan 12). Hasil analisis fenil sinamat dengan  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil Analisis  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR Fenil Sinamat

Posisi	$\delta$ C (ppm)	$\delta$ H (ppm) (multiplisitas, jumlah H, J dalam Hz)
1	165,3	
2	117,0	6,63 ( <i>d</i> , 1H, 15,6)
3	147,2	7,89 ( <i>d</i> , 1H, 15,6)
4	134,2	
5	128,5	7,60 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 7,8)
6	129,2	7,39 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 7,2)
7	131,3	7,36 ( <i>t</i> , 1H, 7,2)
8	129,2	7,39 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 7,2)
9	128,5	7,60 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 7,8)
10	149,5	
11	123,2	7,14 ( <i>dd</i> , 1H, 2,6; 7,1)
12	129,7	7,44 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 6,5)
13	131,0	7,43 ( <i>t</i> , 1H, 6,5)
14	129,7	7,44 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 6,5)
15	123,2	7,14 ( <i>dd</i> , 1H, 2,6; 7,1)



Gambar 4.11. Fenil Sinamat (2)

Ester fenol masih memiliki ikatan rangkap (olefin) seperti asam sinamat. Hal ini terlihat pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR di posisi 6,63 ppm dan 7,89 ppm, dengan kopling konstan (J) yang nilainya sama, yaitu 15,6 Hz. Pergeseran kimia sekitar 7 ppm merupakan sinyal dari proton aromatis dengan jumlah proton 10, berarti ada dua gugus aromatis. Masing-masing dari gugus aromatis tersebut memiliki satu substitusi. Dari gugus aromatis, ada empat sinyal proton yang memiliki lingkungan kimia yang sama, masing-masing dua proton berbentuk *doublet-doublet*. Pergeseran kimia 7,60 ppm merupakan proton pada posisi 5 dan 9, dengan kopling konstan (J) 2,0 dan 7,8 Hz. Posisi 6 dan 8 dengan pergeseran kimia 7,39 ppm dan J 2,0 dan 4,0 Hz. Pergeseran kimia 7,14 ppm merupakan proton posisi 11 dan 15 dengan J sebesar 2,6 dan 7,1. Pergeseran kimia 7,44 ppm merupakan proton pada posisi 12 dan 14 dengan J sebesar 2,0 dan 6,5. Dua proton yang memiliki sinyal berbentuk triplet, yaitu proton aromatis pada posisi 7 dan 13.

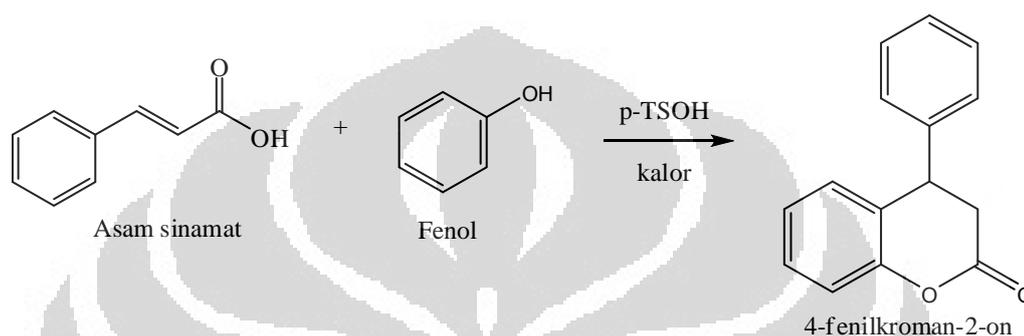
Hasil spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki gugus karbon ester (-COO-) pada pergeseran kimia 165,3 ppm dan ikatan rangkap pada pergeseran kimia 117,0 dan 147,2 ppm. Pergeseran kimia gugus aromatis berada di sekitar 120 – 150 ppm. Dari hasil analisis spektrometer  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR, terbukti bahwa padatan putih hasil reaksi adalah ester fenol atau fenil sinamat, dengan rendemen 14,71% dan titik leleh 95°C.

#### 4.4 Sintesis 4-fenilkroman-2-on

Metode yang paling banyak digunakan untuk mensintesis ester, yaitu mereaksikan asam karboksilat dengan alkohol dan bantuan asam mineral sebagai katalis. Penelitian ini menggunakan katalis asam *p*-toluensulfonat (*p*-TsOH).

Katalis asam digunakan dalam langkah-langkah pada mekanisme reaksi esterifikasi karena reaktan sangat sulit bereaksi sehingga membutuhkan adanya katalis (Patrick, 2004).

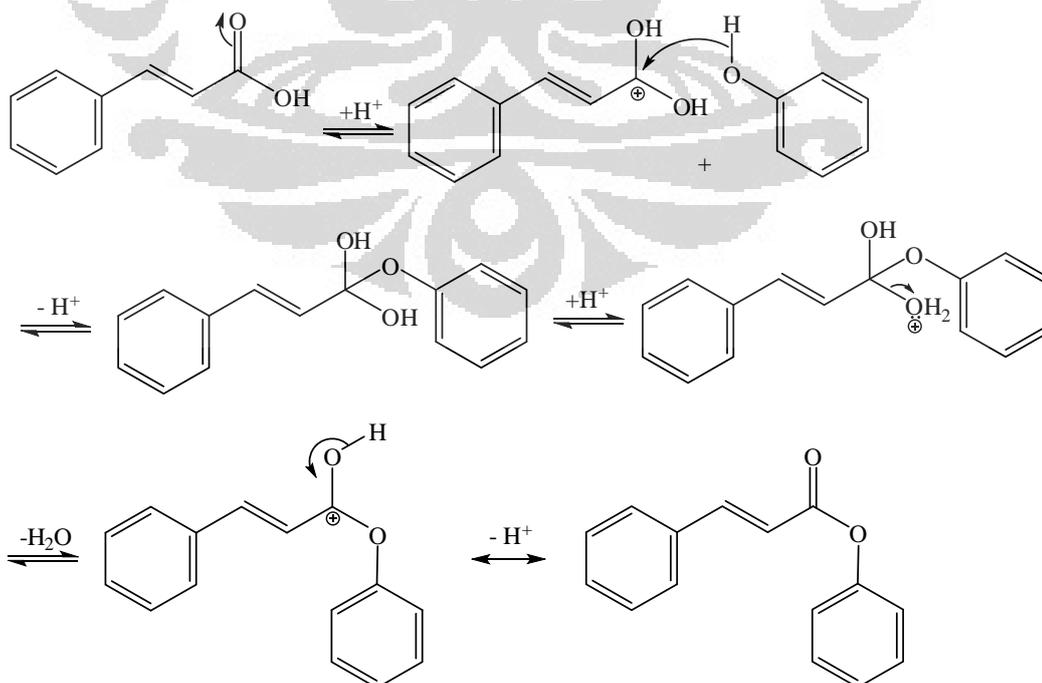
Reaksi ini menggunakan suhu 125°C. Reaksi ini juga bebas dari pelarut. Suhu yang tinggi tersebut memungkinkan bahan-bahan yang digunakan dalam reaksi meleleh sehingga memungkinkan reaksi berlangsung tanpa pelarut.



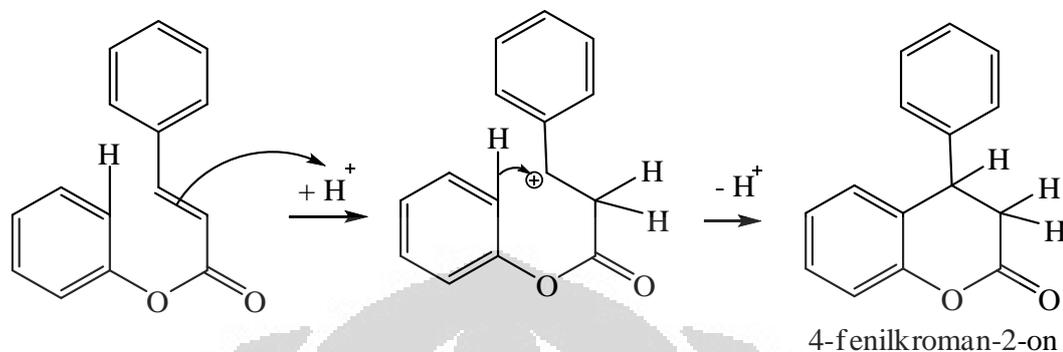
Gambar 4.12. Reaksi Asam Sinamat dengan Fenol Menggunakan Katalis Asam *p*-TsOH

Mekanisme reaksi esterifikasi dengan katalis asam *p*-TsOH:

#### 1. Reaksi Esterifikasi



## 2. Friedel-Crafts intramolekuler

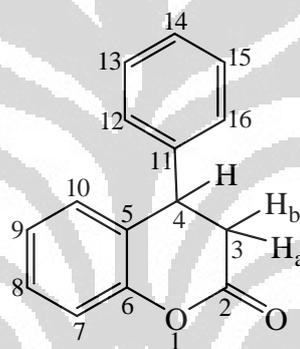


Reaksi asam sinamat dengan fenol menggunakan katalis asam *p*-TsOH menghasilkan senyawa dihidrokumarin. Mekanisme reaksi diawali dengan reaksi esterifikasi, dimana akan terjadi pembentukan ester antara asam sinamat dengan fenol, dibantu katalis asam. Setelah itu, dilanjutkan dengan siklisasi tipe Friedel-Crafts intramolekuler sehingga terbentuk turunan dihidrokumarin (Sudalai, 2007). Siklisasi tipe Friedel-Crafts ini terjadi karena alkena menyerang proton dari asam kuat *p*-TsOH (Hajra dkk., 2007).

Senyawa dihidrokumarin yang didapatkan berupa padatan putih. Padatan tersebut diperoleh setelah dilakukan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana : etil asetat, 10 : 1 (v/v). Senyawa ini dibandingkan dengan asam sinamat dengan KLT (gambar 4.13) menggunakan pengembang n-heksana : etil asetat 7 : 3 (v/v). Nilai  $R_f$  asam sinamat sebesar 0,20, sedangkan nilai  $R_f$  senyawa yang diperoleh sebesar 0,74. Padatan nonpolar ini selanjutnya diidentifikasi dengan spektrometer NMR.



Gambar 4.13. Hasil KLT Padatan Dihidroksumarin dengan pengembang n-heksana : etil asetat 7 : 3, as = asam sinamat, dk = dihidroksumarin



Gambar 4.14. 4-Fenilkroman-2-on (3)

Hasil analisis senyawa dihidroksumarin menggunakan  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR (Lampiran 13 dan 14) adalah:

Tabel 4.4. Hasil Analisis  $^1\text{H}$  NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR Dihidroksumarin

Posisi	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm) (multiplisitas, jumlah H, J dalam Hz)
2	167,8	
3a	37,2	3,09 ( <i>dd</i> , 1H, 7,0; 10,0)
3b	37,2	3,06 ( <i>dd</i> , 1H, 7,0; 10,0)
4	40,8	4,37 ( <i>t</i> , 1H, 7,0)
5	125,9	
6	151,9	
7	117,3	7,15 ( <i>dd</i> , 1H, 3,3; 7,8)
8	128,5	7,17 ( <i>t</i> , 1H, 7,8)
9	124,8	7,15 ( <i>dd</i> , 1H, 3,3; 7,8)
10	129,0	6,99 ( <i>d</i> , 1H, 7,8)
11	140,4	
12	127,7	7,32 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 6,5)
13	129,3	7,37 ( <i>dd</i> , 1H, 6,5; 7,0)
14	127,8	7,10 ( <i>t</i> , 1H, 7,0)
15	129,3	7,37 ( <i>dd</i> , 1H, 6,5; 7,0)
16	127,7	7,32 ( <i>dd</i> , 1H, 2,0; 6,5)

Tidak adanya alkena pada dihidroksumarin dibuktikan dengan spektrum  $^1\text{H}$  NMR yang berbeda pada asam sinamat. Spektrum asam sinamat terdapat alkena (olefin) pada posisi 6,49 dan 7,83 ppm. Spektrum dihidroksumarin tidak terdapat alkena, tetapi terdapat metin dan metilen.

Posisi proton metin pada  $\delta\text{H}$  4,37 ppm (H-4) lebih *downfield* dibandingkan dengan proton metilen pada  $\delta\text{H}$  3,06 dan 3,09 ppm (H-3) karena posisi proton metin merupakan  $2\alpha$  dari dua cincin benzen dan  $\beta$  dari gugus karboksil (-COO-). Pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR, puncak proton metin adalah *triplet*. Puncak proton metin seharusnya ada empat puncak, yaitu *doublet-doublet* antara proton metin dengan dua proton metilen. Puncak *doublet-doublet* menjadi *triplet* kemungkinan dua puncak di tengahnya bergabung menjadi satu puncak karena besar kopling

konstannya sama, yaitu 7 Hz. Sementara itu, puncak proton metilen adalah multiplet yang berjumlah delapan puncak. Kedelapan puncak ini adalah bentuk *doublet-doublet* antara dua buah proton metilen dengan proton metin (*dd-dd*).

Proton metin dan dua buah proton metilen merupakan tiga buah proton yang terisolir. Jika terdapat tiga proton yang tidak ekuivalen, terisolir dari proton lain, dan saling berinteraksi antara ketiganya, maka masing-masing proton akan berbentuk *doublet-doublet* (*dd*). Ketiga proton ini disebut dengan sistem AMX (Kosela, 2010).

Proton pada posisi 12 memiliki pergeseran kimia yang sama dengan proton 16, yaitu pada  $\delta H$  7,32 ppm. Sementara itu, proton 13 memiliki pergeseran kimia yang sama dengan proton 15 pada  $\delta H$  7,37 ppm.

Dari spektrum  $^{13}C$  NMR, terdapat sinyal karbon dari gugus ester (-COO-) dengan pergeseran kimia 167,8 ppm. Karbon metin ditunjukkan pada pergeseran kimia 40,84 ppm. Sinyal ini lebih *downfield* dibanding dengan karbon metilen pada  $\delta C$  37,2 ppm. Pergeseran kimia 151,9 merupakan salah satu karbon kuartener dari aromatis, yaitu pada posisi 6. Sinyal ini lebih *downfield* karena karbon pada posisi tersebut berikatan dengan oksigen. Karbon lainnya pada gugus aromatik berada pada pergeseran kimia antara 120 – 140 ppm. Dari hasil analisis spektrum NMR, dapat disimpulkan bahwa senyawa dihidrokumarin yang diperoleh adalah 4-fenilkroman-2-on (gambar 4.14), dengan rendemen 16,18% dan titik leleh 78°C.

## 4.5 Uji Bioaktivitas

### 4.5.1 Uji Toksisitas secara BSLT

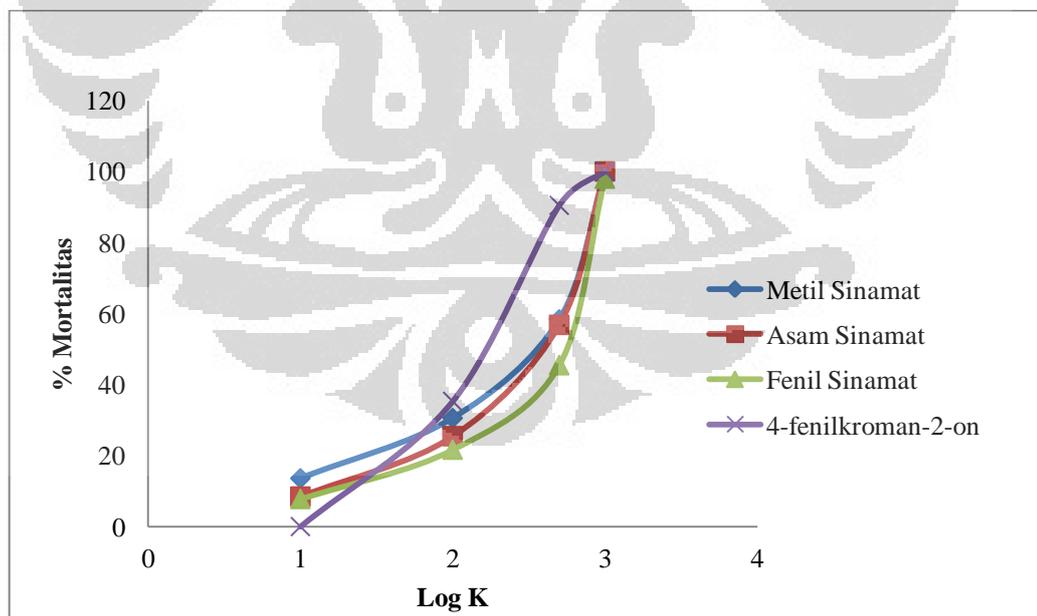
Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker, harus diujikan terlebih dahulu pada hewan percobaan. Senyawa metil sinamat diduga memiliki aktivitas antikanker. Oleh karena itu, senyawa turunan metil sinamat yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* L. Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal

dari ekstrak tanaman, isolat tanaman maupun hasil sintesis. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker.

Hasil pengamatan kematian udang *Artemia salina* L. setelah 24 jam pada senyawa metil sinamat dan derivat-derivatnya terlihat dalam tabel berikut (hasil perhitungan pada Lampiran 15):

Tabel 4.5. Hasil Pengujian Toksitas dengan Metode BSLT

No.	Sampel	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)	Keterangan
1	Metil sinamat	144,21	Aktif
2	Asam sinamat	169,82	Aktif
3	Fenil sinamat	223,87	Kurang Aktif
4	4-fenilkroman-2-on	112,72	Aktif



Gambar 4.15. Kurva Hasil Uji Toksitas BSLT

Tingkat toksisitas pada pengujian dengan metode BSLT adalah <30 ppm sangat toksik (aktif), 30 – 200 ppm aktif (Dey dan Harborne, 1991, McLaughlin dkk., 1998). Dari hasil pengujian didapatkan bahwa fenil sinamat kurang aktif terhadap uji toksisitas dengan metode BSLT dibandingkan yang lain. Asam sinamat dan dihidrokumarin (4-fenilkroman-2-on) memiliki tingkat toksisitas yang aktif. Tingkat toksisitas dihidrokumarin bahkan lebih besar dibandingkan dengan metil sinamat dan asam sinamat.

Secara kimia, tingkat toksisitas metil sinamat dan senyawa turunannya dapat dilihat dari strukturnya. Metil sinamat juga asam sinamat memiliki gugus  $\alpha$ ,  $\beta$  karbonil tak jenuh, yaitu sebuah bagian aktif yang sering digunakan dalam disain obat antikanker (Ahn, 1996).

Tingkat toksisitas metil sinamat dan turunannya dari yang terbesar adalah dihidrokumarin, metil sinamat, asam sinamat, dan fenil sinamat. Adanya tingkat toksisitas yang aktif pada derivat metil sinamat ini memungkinkan senyawa derivat metil sinamat untuk dianalisis lebih lanjut sebagai kandidat antikanker.

#### 4.5.3 Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT

Uji sitotoksitas terhadap sel kanker serviks HeLa dilakukan dengan metode MTT. Hasil pengujian pada fenil sinamat adalah sebagai berikut:

Tabel 4.6. Hasil Pengujian Sitotoksitas dengan Metode MTT pada Fenil Sinamat (2)

Konsentrasi Ekstraks (ppm)	Ulangan			Rataan	%inhibisi
	OD1	OD2	OD3		
100	0,065	0,063	0,088	0,072	62,82
50	0,058	0,06	0,084	0,067	65,23
10	0,069	0,065	0,113	0,082	57,49
Sel kontrol	0,183	0,196	0,202	0,194	0,00

Sedangkan hasil pengujian sitotoksitas dengan metode MTT pada 4-fenilkroman-2-on terdapat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil Pengujian Sitotoksisitas dengan Metode MTT pada 4-Fenilkroman-2-on (3)

Konsentrasi Ekstraks (ppm)	Ulangan			Rataan	%inhibisi
	OD1	OD2	OD3		
100	0,098	0,089	0,094	0,094	51,64
50	0,114	0,071	0,085	0,090	53,53
10	0,081	0,092	0,076	0,083	57,14
Sel kontrol	0,183	0,196	0,202	0,194	0,00

Nilai inhibisi pertumbuhan sel HeLa seharusnya bersifat *dose dependent*, artinya semakin tinggi dosis, persentase hambatan pertumbuhan semakin besar. Dari hasil pengujian sitotoksisitas, persentase inhibisi fenil sinamat pada pertumbuhan sel HeLa awalnya meningkat dengan penambahan konsentrasi, tetapi pada konsentrasi 100 ppm terjadi penurunan persentase inhibisi. Hal ini kemungkinan karena senyawa bersifat *dual effect*, yaitu senyawa yang dapat mendorong dan menghambat proliferasi sel, tergantung pada besarnya konsentrasi senyawa tersebut. Hal seperti ini pernah dilaporkan oleh Sumaryono dkk. (2010), yaitu senyawa dari fraksi n-heksana dan fraksi air dari ekstrak etanol daun *Aglaia elliptica* terhadap sel HeLa yang bersifat *dual effect*.

Hasil pengujian sitotoksisitas pada 4-fenilkroman-2-on terjadi sebaliknya. Semakin besar konsentrasi, semakin kecil persentase inhibisi pada pertumbuhan sel HeLa. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis senyawa 4-fenilkroman-2-on tidak berperan dalam penghambatan pertumbuhan sel HeLa.

Dari hasil pengujian sitotoksisitas dengan metode MTT, persentase inhibisi fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on di atas 50%. Ini menyatakan kedua senyawa tersebut aktif dalam penghambatan pertumbuhan sel HeLa. Dari kedua tabel di atas, diketahui bahwa penghambatan terbaik pada sel HeLa terjadi dengan penambahan dosis fenil sinamat. Namun demikian, pengujian antikanker lebih lanjut perlu dilakukan terhadap fenil sinamat.

## BAB V KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Reaksi hidrolisis metil sinamat menghasilkan asam *trans* sinamat dengan rendemen sebesar 83,6%.
2. Asam sinamat direaksikan dengan tionil klorida menghasilkan halida asam, yaitu sinamoil klorida. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi antara sinamoil klorida dengan fenol menghasilkan fenil sinamat, rendemen sebesar 14,71%.
3. Reaksi asam sinamat dengan fenol menggunakan asam *p*-toluensulfonat menghasilkan senyawa dihidrokumarin, yaitu 4-fenilkroman-2-on, rendemen 16,18%.
4. Uji toksisitas senyawa metil sinamat, asam sinamat, fenil sinamat, dan 4-fenilkroman-2-on menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) diperoleh nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 144,21, 169,82, 223,87, dan 112,72 ppm, secara berturut-turut.
5. Hasil uji sitotoksitas terhadap sel HeLa dengan metode MTT pada fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on menunjukkan bahwa penghambatan terhadap pertumbuhan sel HeLa paling baik terjadi pada penambahan dosis fenil sinamat.

### 5.2 Saran

Perlu adanya penelitian yang lebih lanjut dan komprehensif terhadap senyawa turunan metil sinamat dan melakukan optimasi dengan variasi pereaksi, kondisi reaksi, dan waktu reaksi. Di samping itu, asam sinamat sebaiknya dilakukan rekristalisasi terlebih dahulu sebelum memulai reaksi agar hasil reaksi yang didapatkan lebih optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, Byung Zun dan Dai Eun Sok. 1996. Michael Acceptors as a Tool for Anticancer Drug Design. *Current Pharmaceutical Design*. 2. 247 – 262.
- Anonim. 2011. Methyl Cinnamate.
- Baba, Masaki, Yongri Jin, Atsuo Mizuno, dkk. 2002. Studies on Cancer Chemoprevention by Traditional Folk Medicines XXIV. Inhibitory Effect of A Coumarin Derivative, 7-isopentenylcoumarin, Against Tumor-Prevention. *Biol. Pharm. Bull.* 25 (2). 244 – 246.
- Bairwa, Ranjeet, Mariam S. Degani, dkk. 2010. Novel Molecular Hybrid of Cinnamic Acids and Guanylhidrazones as Potential Antitubercular Agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 20. 1623 – 1625.
- Ballaben, Vigilio, Massimiliano Tognolini, Carmine Giorgio, dkk. 2010. *Ocotea quixos* Lam. Essential Oil: in vitro and in vivo Investigation on Its Antiinflammatory Properties. *Fitoterapia*. 81. 289 – 295.
- Baltas, M. P. De, dan F. Bedos Belval. 2011. Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents- A Review. *Current Medicinal Chemistry*. 18. 1672 – 1703.
- Bhatia, S. P., G. A. Wellington, dkk. 2007. Fragrance Material Review on Methyl Cinnamate. *Food and Chemical Toxicology*. 45. S113 – S 119.
- Bhuiyan, M. Nazrul Islam, dkk. 2010. Essential Oils Analysis of The Rhizomes of *Alpinia conchigera* Griff. and Leaves of *Alpinia malaccensis* (Burm. f.) Roscoe from Bangladesh. *African Journal of Plant Science*. 4(6). 197 – 201.
- Choudhary, M. Iqbal, Afshan Begum, Ahmed Abbaskhan, Shafiq-ur-Rehman, dan Atta-ur-Rahman. 2006. Cinnamate Derivatives of Fructo-oligosaccharides from *Lindelia stylosa*. *Science Direct. Carbohydrate Research* 341. Hlm. 2398-2405.
- Chuang, Jing-Yuang, Yung Feng Huang, Hsu Feng Lu, dkk. 2007. Coumarin Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Cervical Cancer HeLa Cells Through A Mitochondria and Caspase-3 Dependent Mechanism and NF-kB Down-Regulation. *In vivo*. 21. 1003 – 1010.

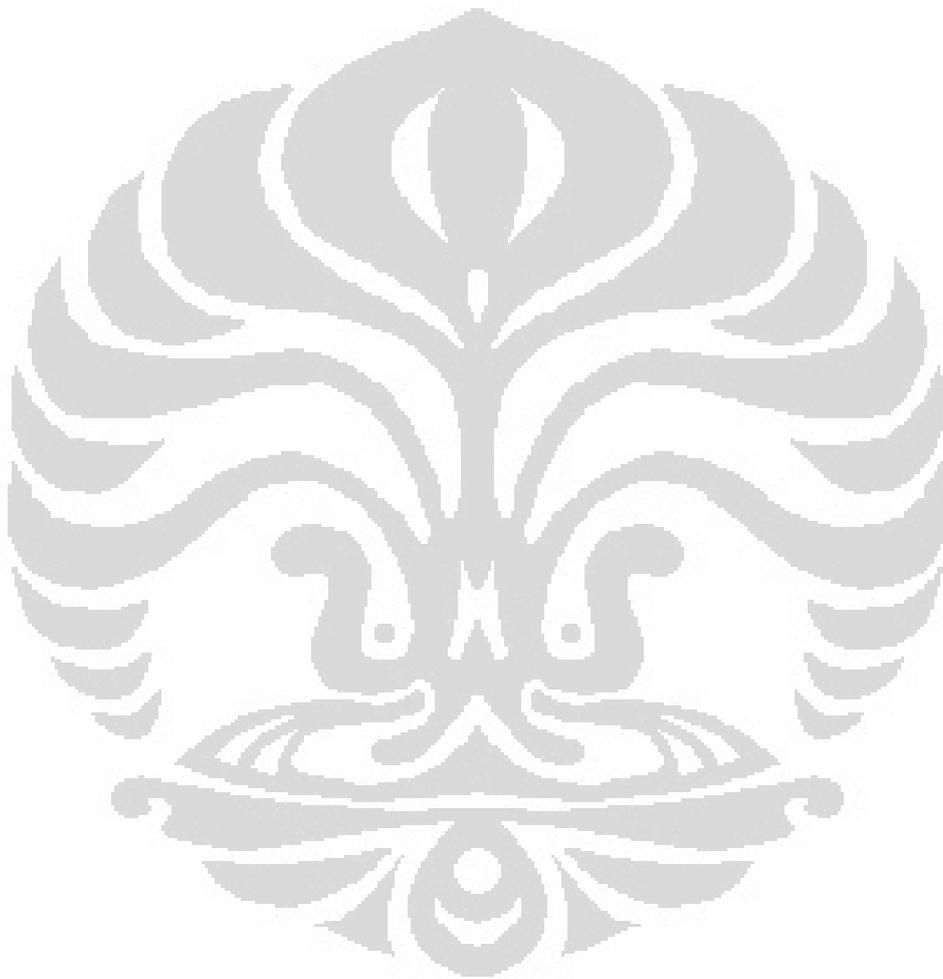
- Chudiwal, A. K., D. P. Jain, dan R. S. Somani. 2010. *Alpinia galanga* Willd. – An Overview on Phyto-pharmacological Properties. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. Vol. I (2). Hlm. 143-149.
- Dey, P. M. dan J. B. Harborne. 1991. *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*, Volume 6. London: Academic Press. 1 – 30.
- Ekowati, Heny, Indwiani Astuti, dan Mustofa. 2010. Anticancer Activity of Calanone on HeLa Cell Line. *Indo. J. Chem.* 10(2). 247 – 251.
- Ernawati, Teni, Deana Wahyuningrum, Minarti, Yulia Anita, Lia Meilawati, dan Puspa D. Lotulung. 2011. Development of Raw Materials for Drugs by Using Methyl *trans* Cinnamate Isolated from Galangal (*Alpinia malaccensis*) as Novel Approaches to Drug Discovery. *The Eijkman Institute Comes of Age: Vitamins, Genomics, dan Welfar*. Jakarta: Eijkman Institute for Molecular Biology.
- Fessenden, Ralp J. dan Joan S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik*, Jilid 2. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Hajra, S., B. Maji, dan S. Bar. 2007. Samarium Triflate-Catalyzed Halogen Promoted Friedel-Craft Alkylation with Alkenes. *Org. Lett.* 15. 2783 – 2786.
- Hariyanti, Nefranita Eka dan Mardi Santoso. 2010. Sintesis dan Uji Sitotoksitas 5-floro-3-hidroksi-3(1H-indol-3-il)indolin-2-on dan 3-hidroksi-5floro-1-metil-3(1H-indol-3-il)indolin-2-on terhadap Sel WiDr dan HeLa. Prosiding Skripsi. Kimia ITS.
- Huang, Qian Sheng, Zhu Yu Jiang, Li Hua Liang, dkk. 2009. Inhibitory Effects of Methyl *trans* Cinnamate on Mushroom Tyrosinase and Its Antimicrobial Activities. *J. Agric. Food Chem.* 57. 2565 – 2569.
- Indiastuti, Danti Nur, Sri Purwaningsih, Yuani Setiawati, dan Noor Cholies. 2008. Skringing Pendahuluan Toksisitas Beberapa Tumbuhan Benalu terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6. 81-85.
- Jiang, Hui, Ed P., Beverly Gordon. 2012. The Immortal Life of Henrietta Lacks and Beyond. <http://people.ehe.osu.edu/bgordon/files/2012/06/Hui-Jiang-834-spr.-2012.pdf>, tanggal 20 Juni 2012.

- Junaedi, Sendy, Endah P. Septi, dkk. 2008. Uji Sitotoksitas Metode MTT. *Cancer Chemoprevention Research Center*. Fak. Farmasi UGM.
- Kosela, Soleh. 2010. *Cara Mudah dan Sederhana Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Spektra Data (NMR, Mass, IR, UV)*. Jakarta: Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi.
- Li, Dong-Dong, Peng-Cheng Lu, dkk. 2011. The Combination of 4-anilinoquinazoline and Cinnamic Acid: A Novel Model of Binding to The Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase. *Bioorganic and Medical Chemistry*. 19. 5012 – 5022.
- Li, Kelin, Lindsay N. Foressee, dan Jon A. Tunge. 2005. Trifluoroacetic Acid Mediated Hydroarylation: Synthesis of Dihydrocoumarins dan Dihydroquinolones. *J. Org. Chem.* 70 (7). 2881 – 2883.
- Li, Q. F., S. L. Shi, Q. R. Liu, J. Tang, J. Song, dan Y. Liang. 2008. Anticancer Effects of Ginsenoside Rg1, Cinnamic Acid, and Tanshinone in Osteosarcoma MG-63 Cells: Down Regulation and Cytoplasmic Trafficking of Neucleophosmin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 40. 1918 – 1929.
- Lim, Y. Y., E. W. C. Chan, dkk. 2008. Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Properties of Leaves and Rhizomes of Ginger Species. *Food Chemistry*. 109. 477 – 483.
- Lin, Hsiu Chen, Shin Hui Tsai, Chien Shu Chen, dkk. 2008. Structure Activity Relationship of Coumarin Derivatives on *Xanthine oxidase* Inhibiting and Free Radical-Scavenging Activities. *Biochemical Pharmacology*. 75. 1416 – 1425.
- March, Jerry. 1977. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Second Ed. McGraw-Hill. 349 – 353.
- Material Safety Data Sheet (MSDS). 2004. Thionyl Chloride. Diunduh dari [www.clean,cise.columbia.edu/msds/thionylchloride.pdf](http://www.clean,cise.columbia.edu/msds/thionylchloride.pdf), tanggal 6 Juni 2012.
- McLaughlin, Jerry L., Lingling L. Rogers, dan Jon E. Anderson. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*. 32. 513 – 524.

- Miller, Audrey. 1992. *Writing Reaction Mechanism in Organic Chemistry*. USA: Academic Press Inc. 118 – 120.
- Muchtaridi, Ikhsan Rambia, Ida Musfiroh. 2008. Kadar Metil Sinamat dari Batang, Daun dan Rimpang Tumbuhan Laja Gowah (*Alpinia Malaccensis* (Burm f.)) dengan GC/MS. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran.
- Murillo, Elizabeth dan Amparo Vina. 2003. Essential Oil Composition from Twelve Varieties of Basil (*Ocimum spp*) Grown in Colombia. *J. Braz. Chem. Soc.* 14. 744 – 749.
- Parkin, M.D., Pisani Paola, Ferlay J. 1999. Global Cancer Statistics. *A Cancer Journal for Clinicians*. 49. 33 – 64.
- Patrick, Graham L. 2004. *Instant Notes Organic Chemistry*, Second Edition. London: BIOS Scientific Publisher.
- Purbarani, Nurul F. 2011. Studi Transformasi Kimia Senyawa Katekin serta Uji Aktivitas Biologi terhadap Larva Udang *Artemia salina* L. Tesis. Depok. Universitas Indonesia.
- Sardjoko. 1993. *Rancangan Obat*. Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Sinaga, Erna. *Alpinia galanga* (L.) Willd., Lengkuas. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat UNAS (P3TO UNAS). [http://www.warintek.ristek.go.id/pangan\\_kesehatan/tanaman\\_obat/depkes/Bunglai%20laki.pdf](http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/Bunglai%20laki.pdf), tanggal 10 Mei 2012.
- Sudalai, A. dan A. R. Jagdale. 2007. *p*-toluenesulfonic acid Mediated Hydroarylation of Cinnamic Acids with Anisoles and Phenols Under Metal and Solvent-Free Conditions. *Tetrahedron Letters*. 48. 4895 – 4898.
- Sumaryono, Wahono dan Agung Eru Wibowo. 2010. Aktivitas sitotoksik Ekstrak Etanol Daun *Aglaia elliptica* Blume terhadap Galur Sel Kanker Serviks (HeLa). *J. Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 8(1). 19 - 23.
- Wang, Lin, Tao Ma, dan Gang Liu. 2006. Recent Progress in Calophyllum Coumarins as Potent Anti-HIV Agents. *Medicinal Chemistry of Bioactive Natural Products*. John Willey & Sons, Inc.

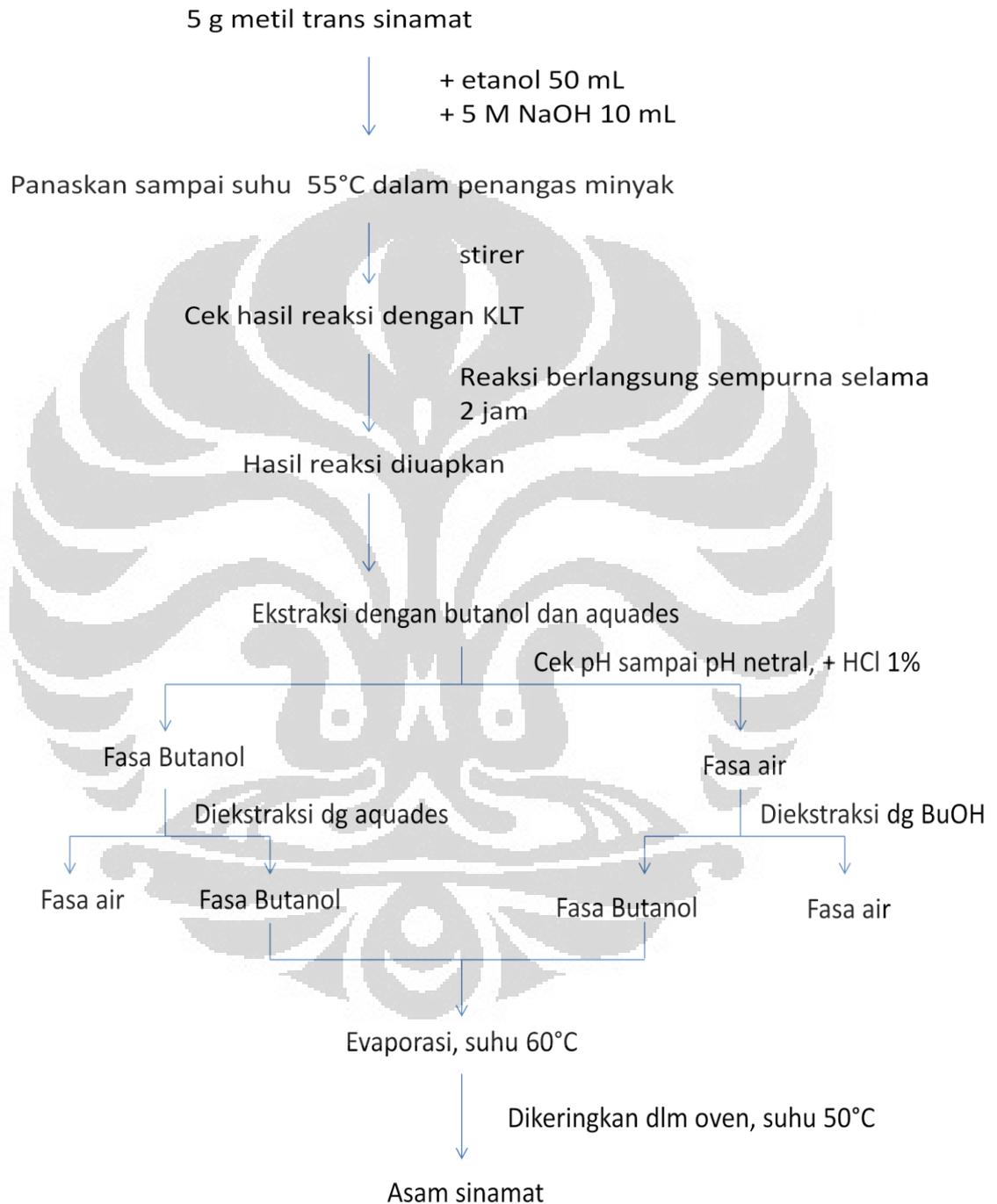
Wood, William F., William C., Lancaster, Christoph O. Fisher, dan Raymond E. Stotler. 1996. *Trans-Methyl Cinnamate: The Major Volatile from Some Populations of The Liverwort, Conocephalum Conicum. Phytochemistry.* Vol. 42. Hlm. 241-242.

Wu, Bin, Jin-Shui Zhu, Yi Zhang, Wei-Ming Shen, dan Qiang Zhang. 2008. Predictive Value of MTT Assay as An *in vitro* Chemosensitivity Testing for Gastric Cancer: One Institution's Experience. *World Journal Gastroenterology.* 14 (19). 3064 – 3068.

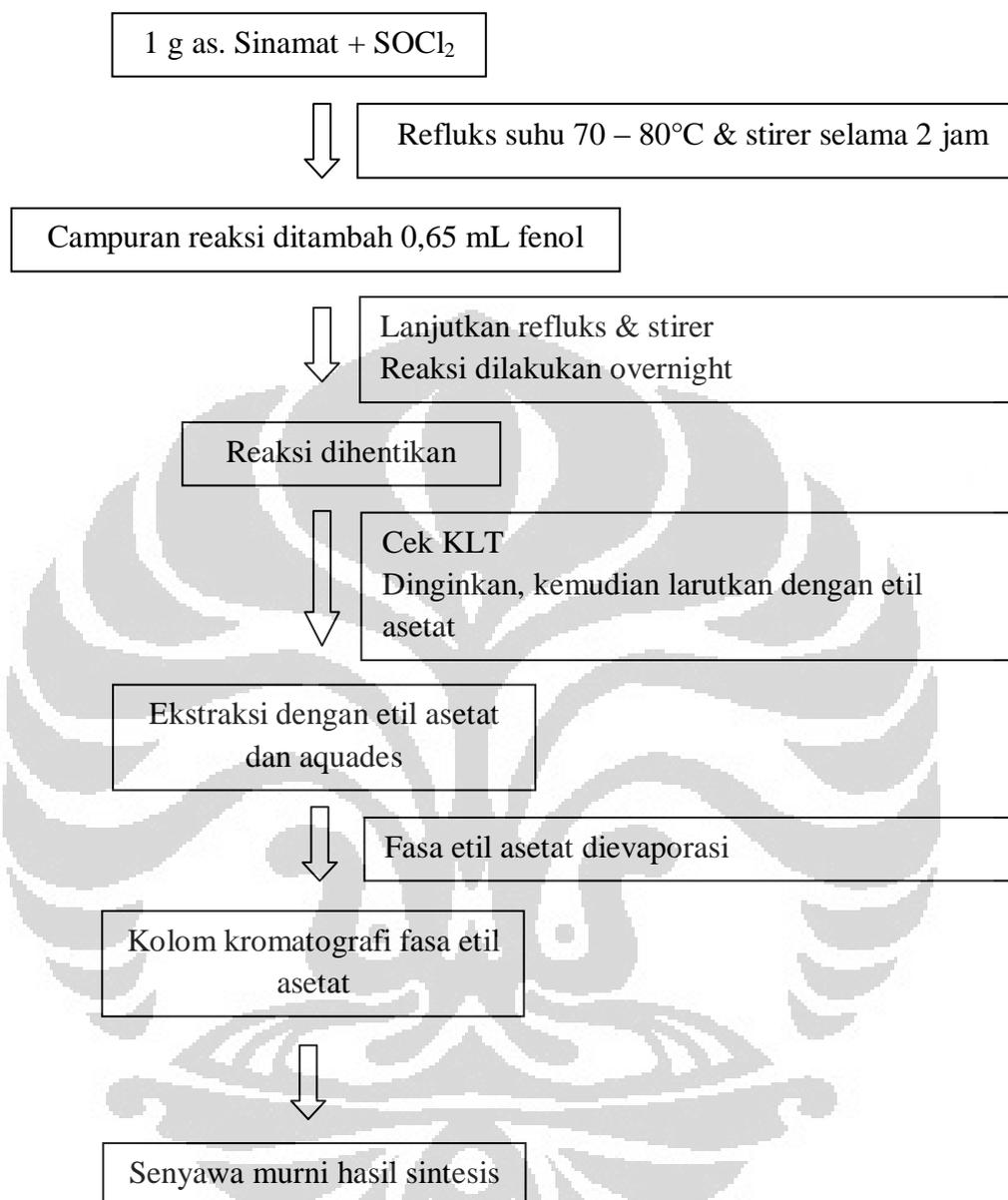


## LAMPIRAN

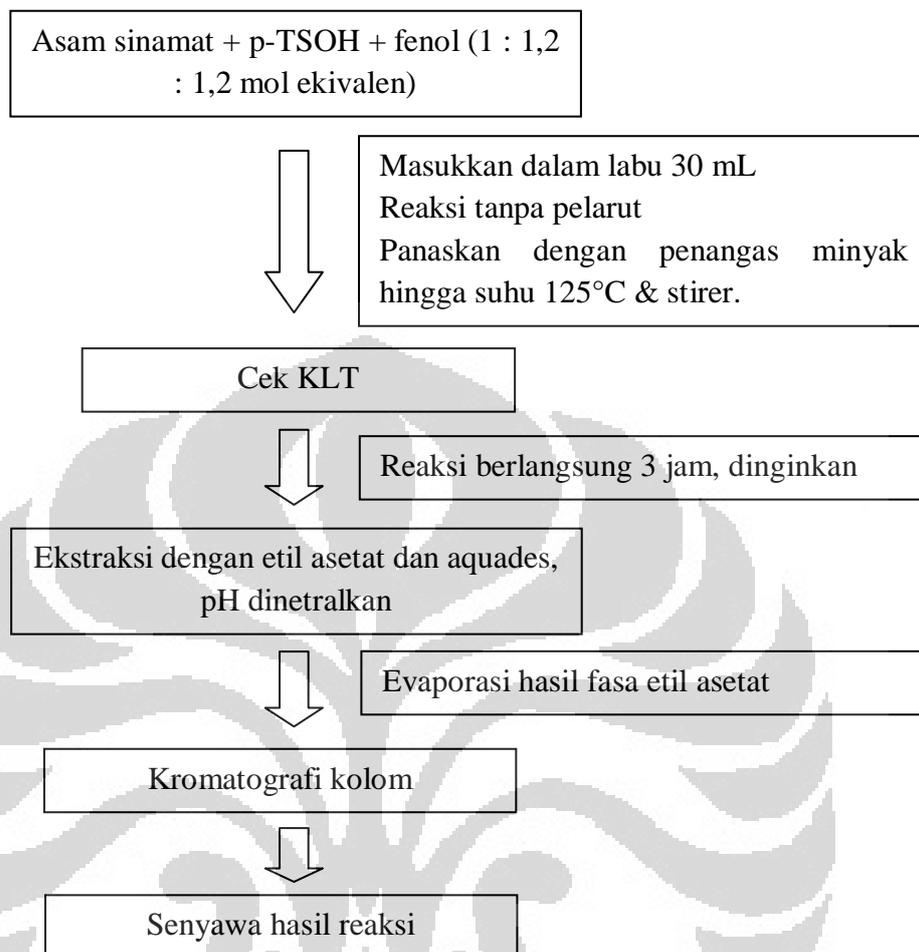
### Lampiran 1. Skema Kerja Sintesis Asam Sinamat



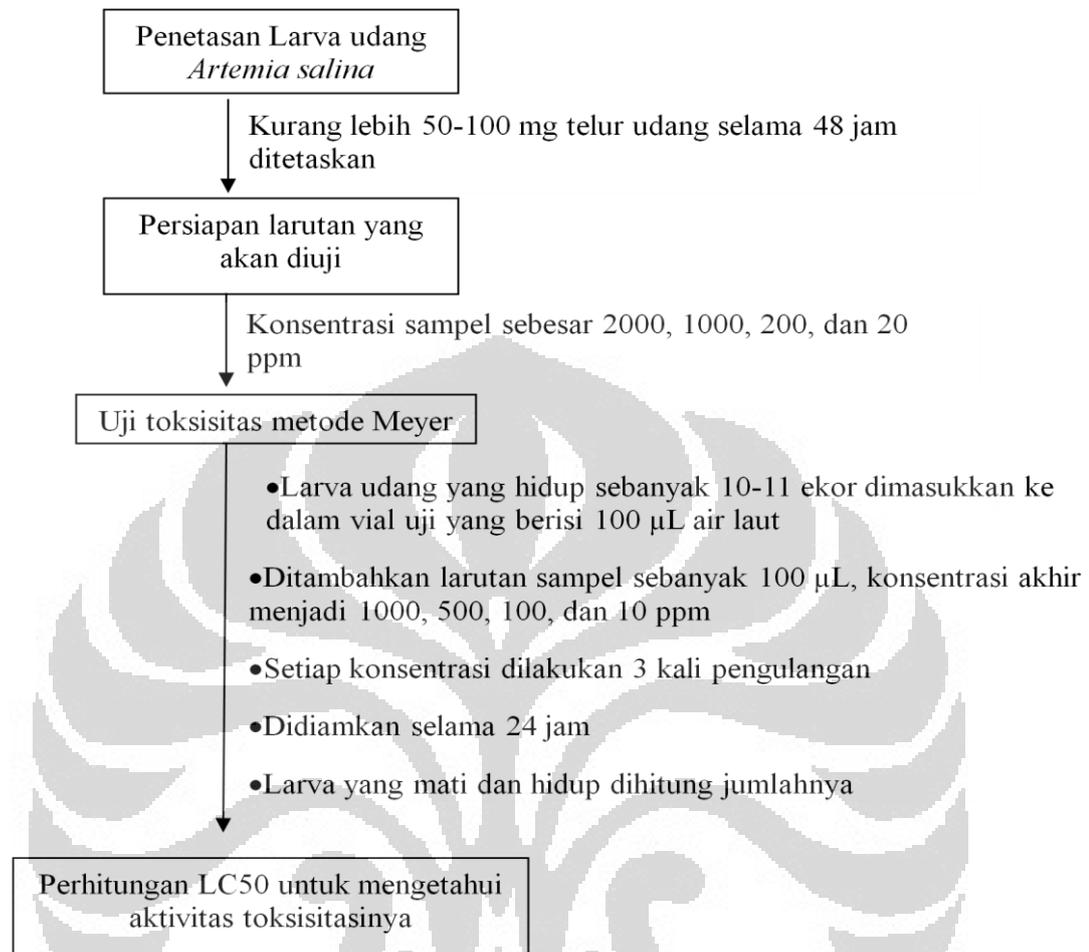
## Lampiran 2. Skema Kerja Sintesis Fenil Sinamat



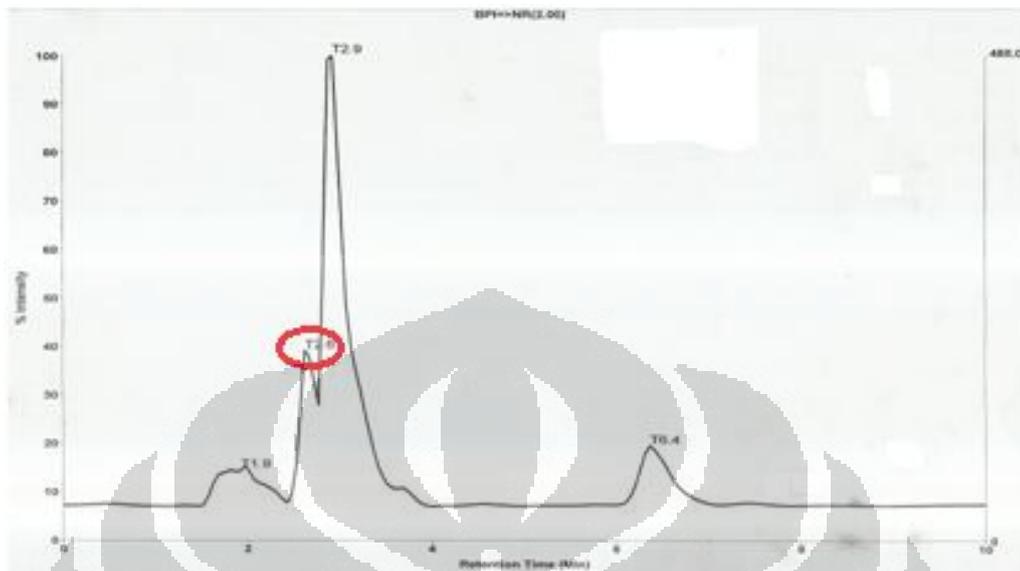
## Lampiran 3. Skema Kerja Sintesis 4-Fenilkroman-2-on



## Lampiran 4. Skema Kerja Uji Toksisitas Metode BSLT



## Lampiran 5. LC Asam sinamat



Waktu retensi asam sinamat adalah 2,6 menit.

## Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Asam Sinamat

$$\text{Berat metil sinamat} = 5 \text{ g}$$

$$\text{Mr metil sinamat} = 162,1 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol metil sinamat} = \frac{g}{Mr} = \frac{5 \text{ g}}{162,1 \text{ g/mol}} = 0,031 \text{ mol}$$

$$\text{Mr asam sinamat} = 148 \text{ g/mol}$$

$$\text{Berat asam sinamat yang diperoleh} = 4,18 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{\% rendemen} &= \frac{\text{berat asam sinamat}}{\text{berat metil sinamat}} \times 100\% \\ &= \frac{4,18 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100 \% = 83,6 \% \end{aligned}$$

## Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Fenil Sinamat

$$\text{Berat asam sinamat} = 1 \text{ g}$$

$$\text{Mr asam sinamat} = 148 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol asam sinamat} = \frac{g}{Mr} = \frac{1 \text{ g}}{148 \text{ g/mol}} = 0,0068 \text{ mol}$$

$$\text{Mr fenil sinamat} = 224,25 \text{ g/mol}$$

$$\text{Berat fenil sinamat yang diperoleh} = 159,1 \text{ mg} = 0,1591 \text{ g}$$

$$\text{Mol fenil sinamat} = \frac{0,1591 \text{ g}}{224,5 \text{ g/mol}} = 0,001 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{\% rendemen} &= \frac{\text{mol fenil sinamat}}{\text{mol asam sinamat}} \times 100\% \\ &= \frac{0,001 \text{ mol}}{0,0068 \text{ mol}} \times 100 \% = \mathbf{14,71 \%} \end{aligned}$$

## Lampiran 8. Perhitungan Rendemen Dihidroksumarin (4-Fenilkroman-2-on)

$$\text{Berat asam sinamat} = 1 \text{ g}$$

$$\text{Mr asam sinamat} = 148 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol asam sinamat} = \frac{g}{Mr} = \frac{1 \text{ g}}{148 \text{ g/mol}} = 0,0068 \text{ mol}$$

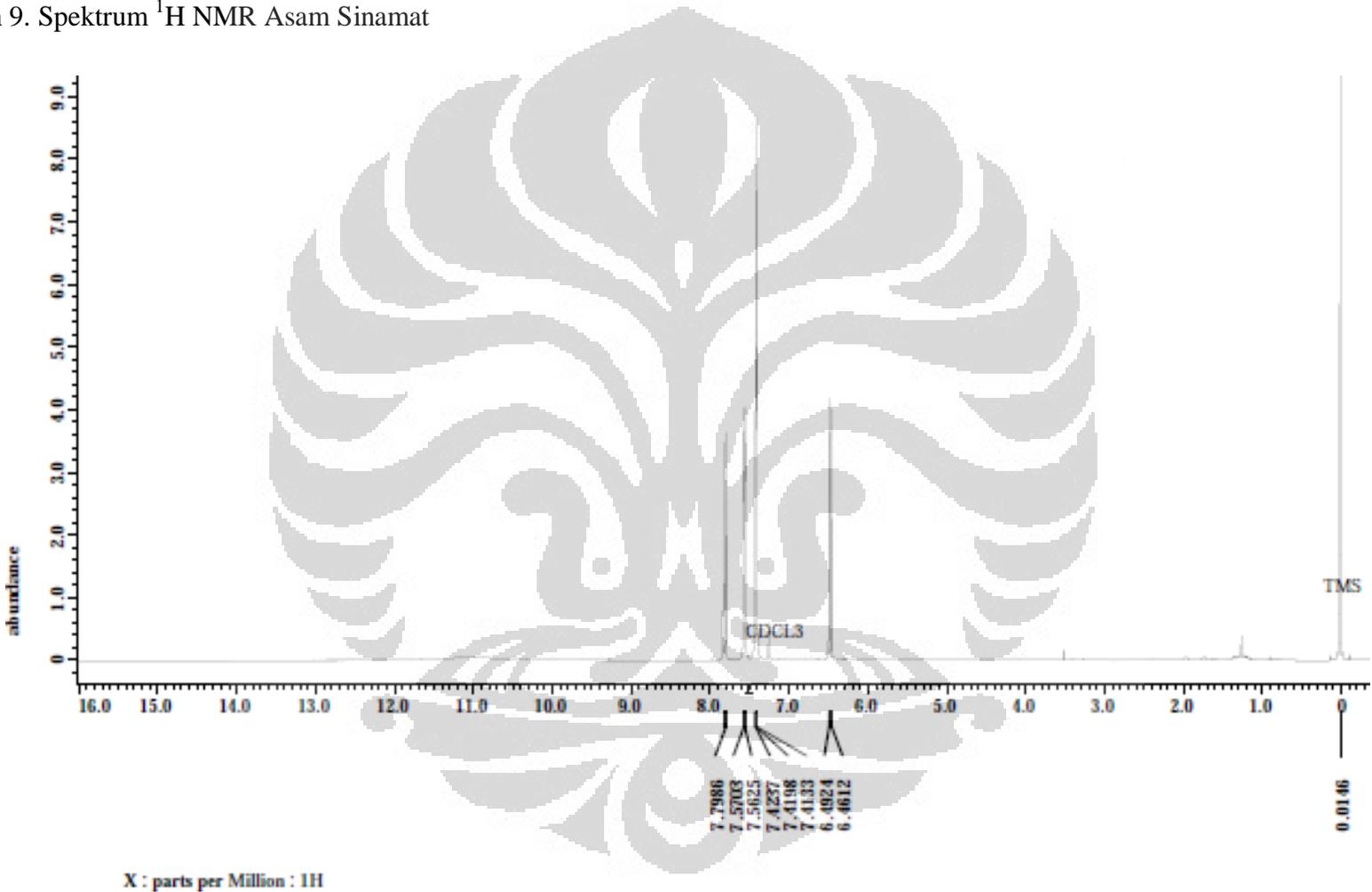
$$\text{Mr dihidroksumarin} = 224,25 \text{ g/mol}$$

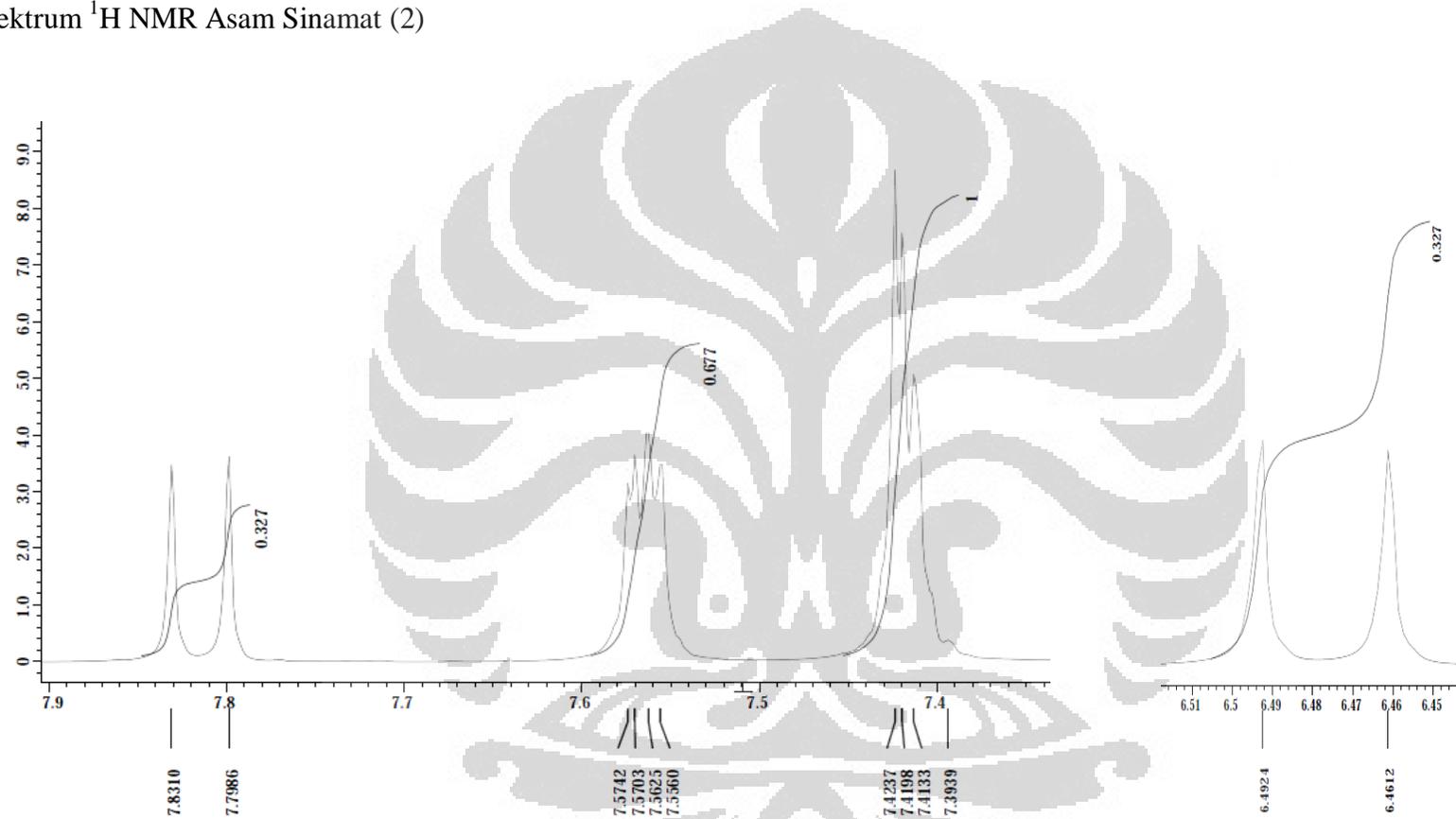
$$\text{Berat dihidroksumarin yang diperoleh} = 0,25 \text{ g}$$

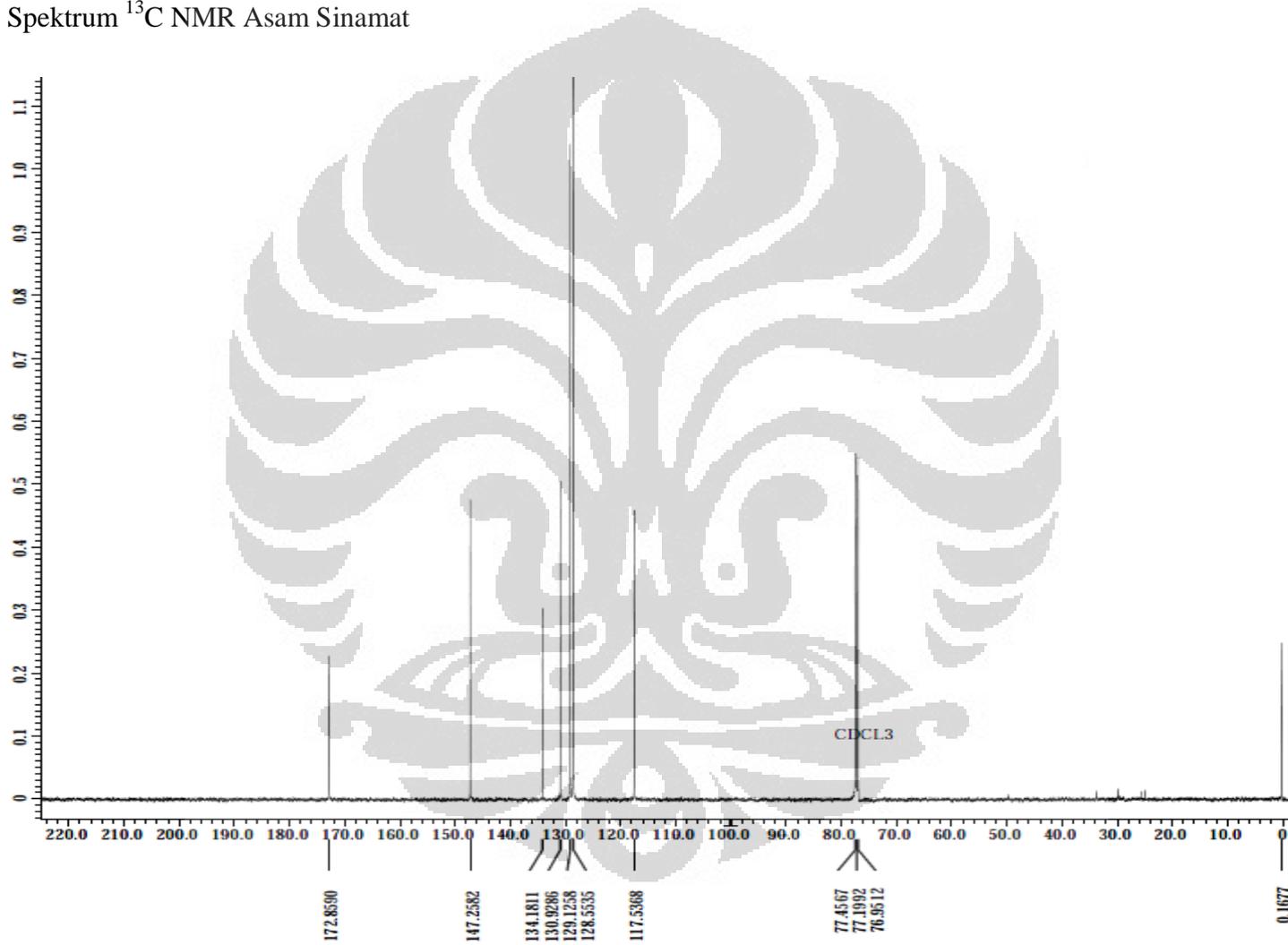
$$\text{Mol dihidroksumarin} = \frac{0,25 \text{ g}}{224,25 \text{ g/mol}} = 0,0011 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{\% rendemen} &= \frac{\text{mol dihidroksumarin}}{\text{mol asam sinamat}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0011 \text{ mol}}{0,0068 \text{ mol}} \times 100 \% = \mathbf{16,18 \%} \end{aligned}$$

Lampiran 9. Spektrum <sup>1</sup>H NMR Asam Sinamat

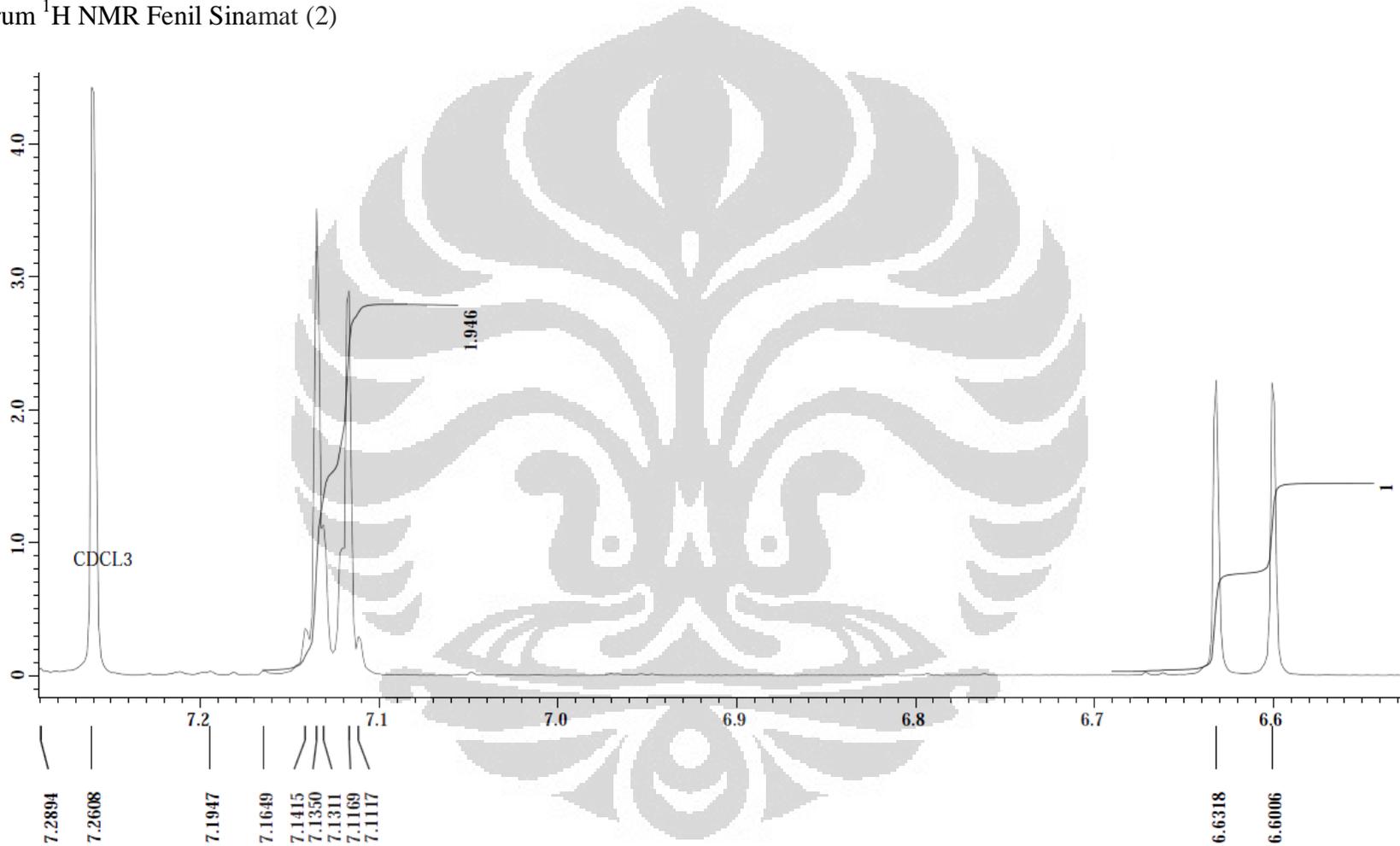


Spektrum  $^1\text{H}$  NMR Asam Sinamat (2)

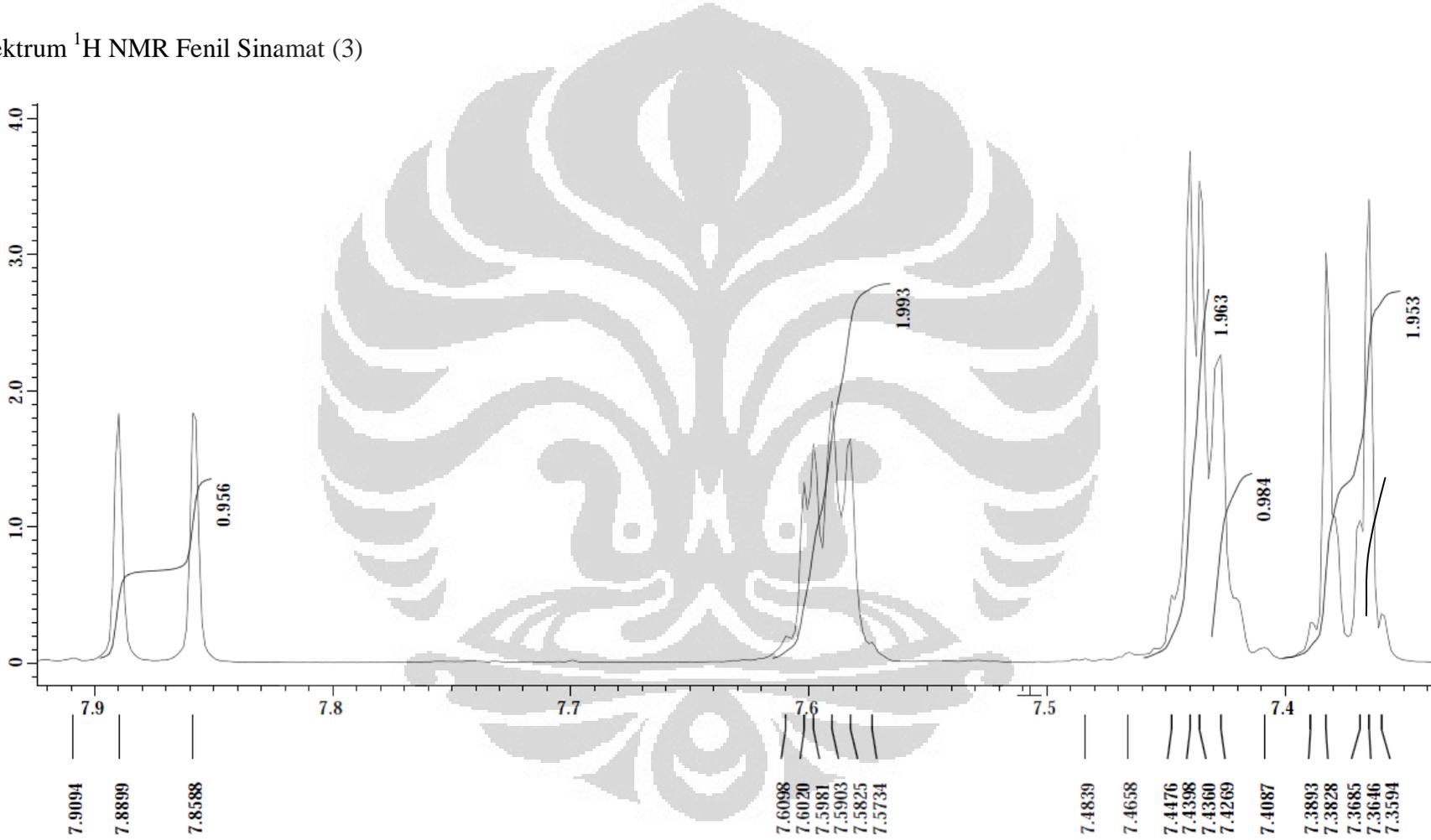
Lampiran 10. Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR Asam Sinamat



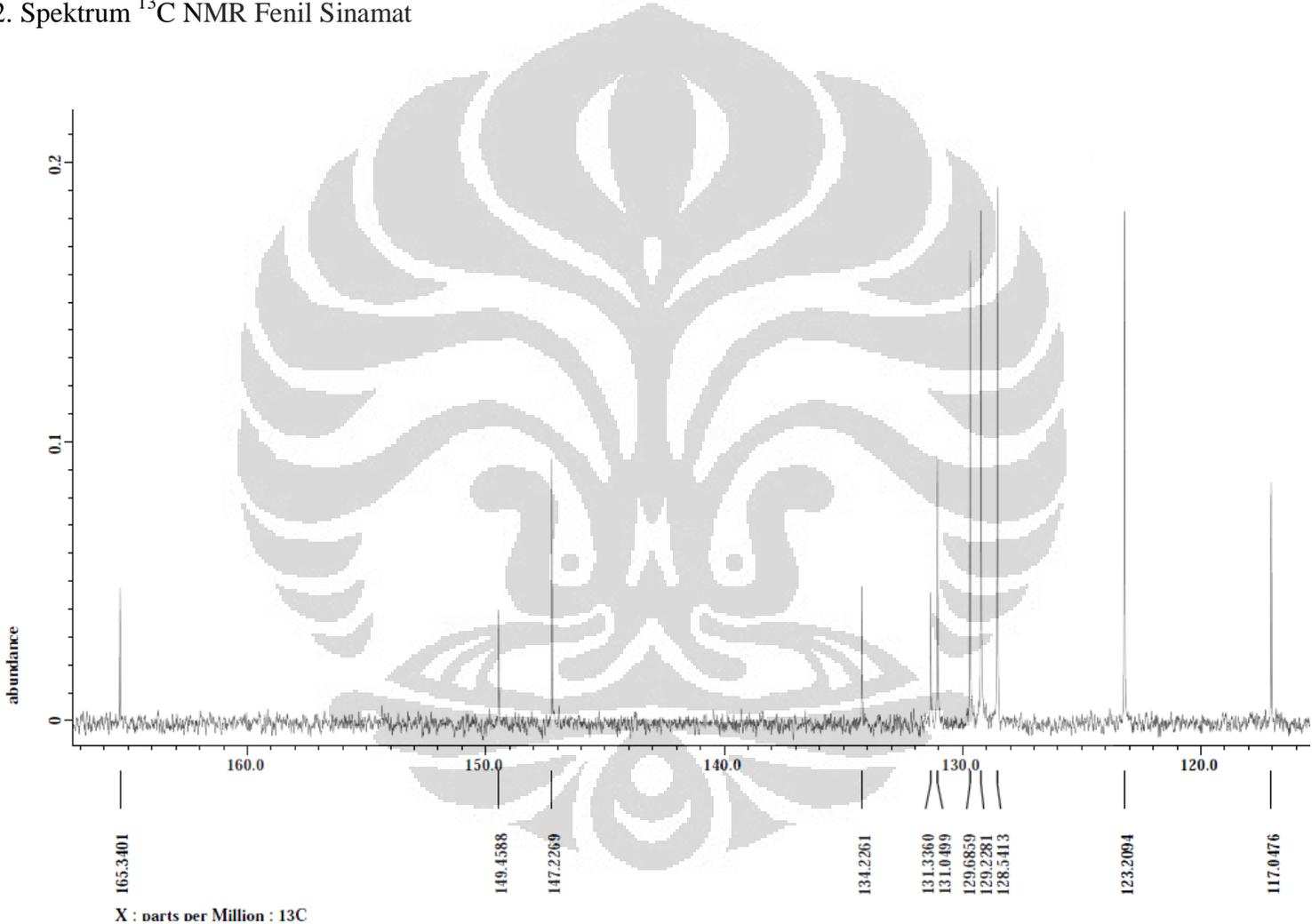
Spektrum <sup>1</sup>H NMR Fenil Sinamat (2)



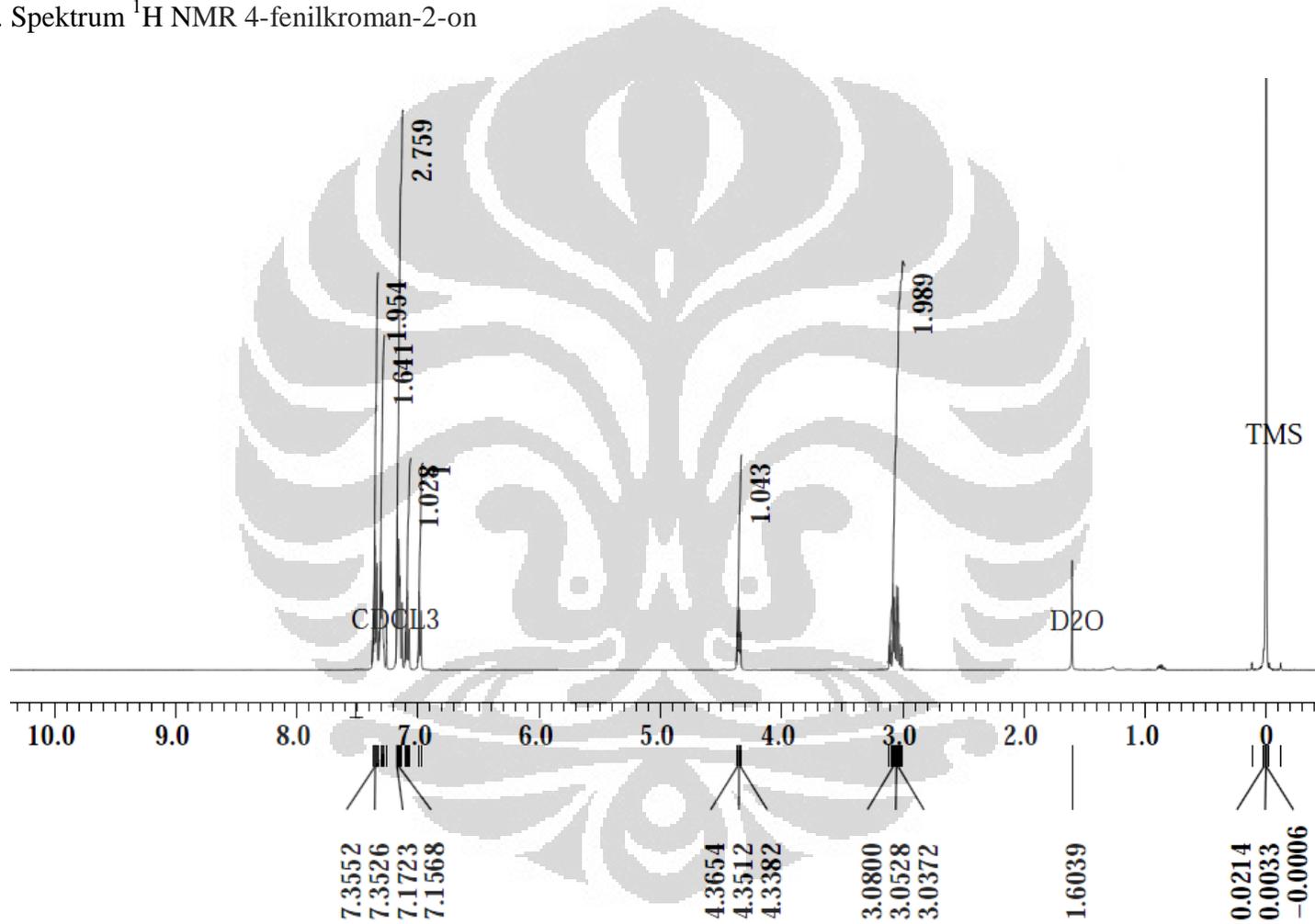
Spektrum <sup>1</sup>H NMR Fenil Sinamat (3)



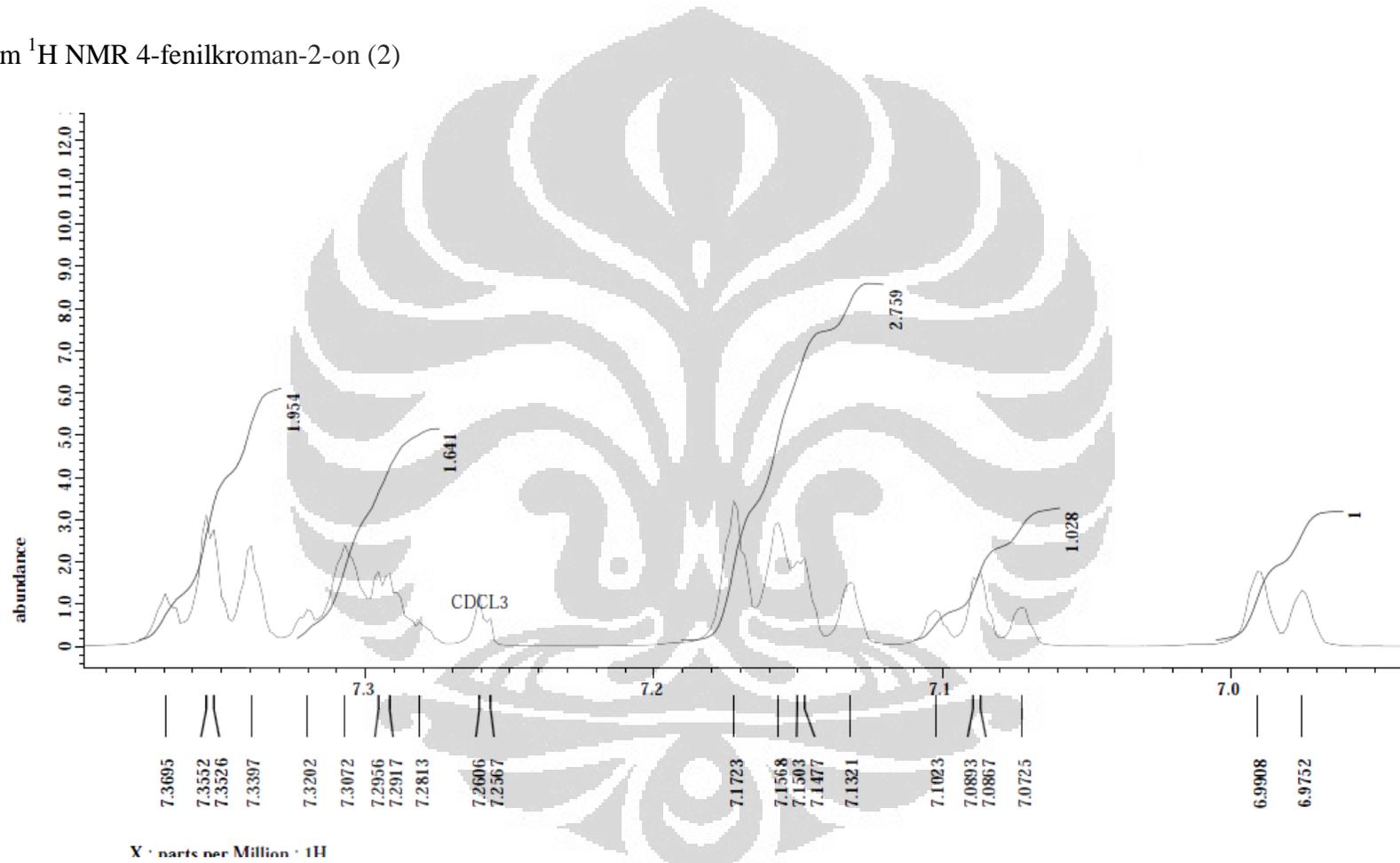
Lampiran 12. Spektrum <sup>13</sup>C NMR Fenil Sinamat

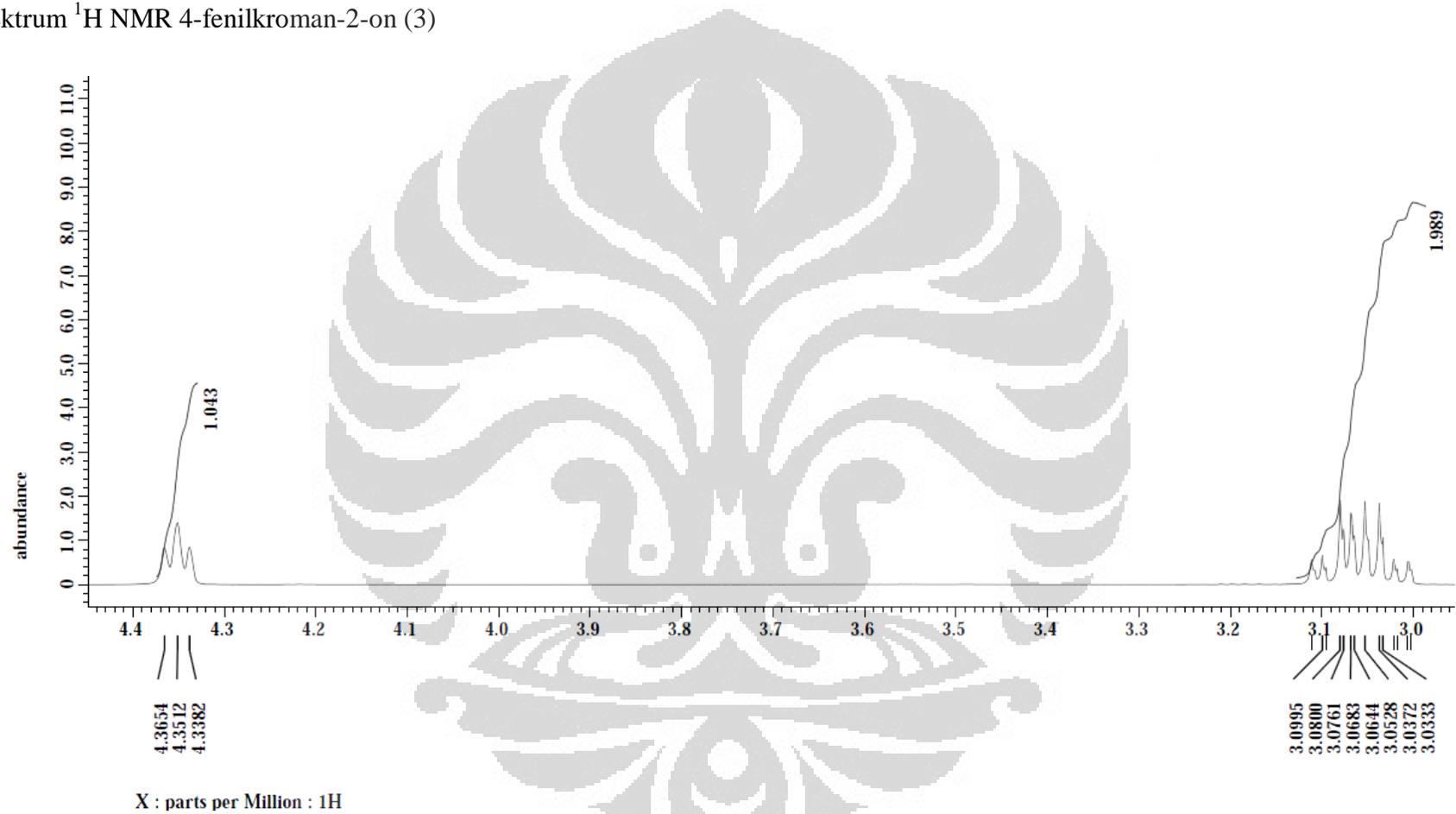


Lampiran 13. Spektrum <sup>1</sup>H NMR 4-fenilkroman-2-on

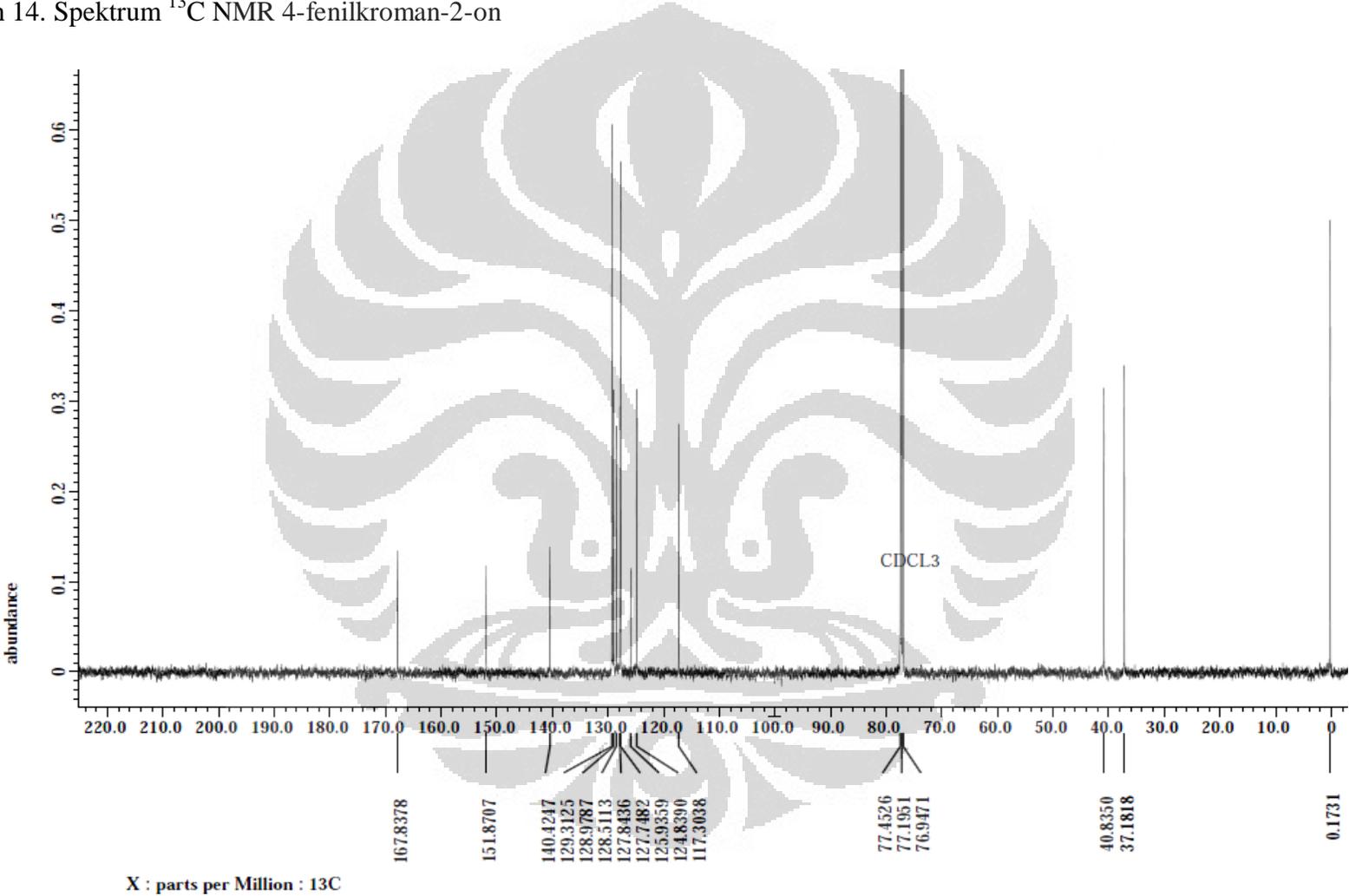


Spektrum <sup>1</sup>H NMR 4-fenilkroman-2-on (2)



Spektrum  $^1\text{H}$  NMR 4-fenilkroman-2-on (3)

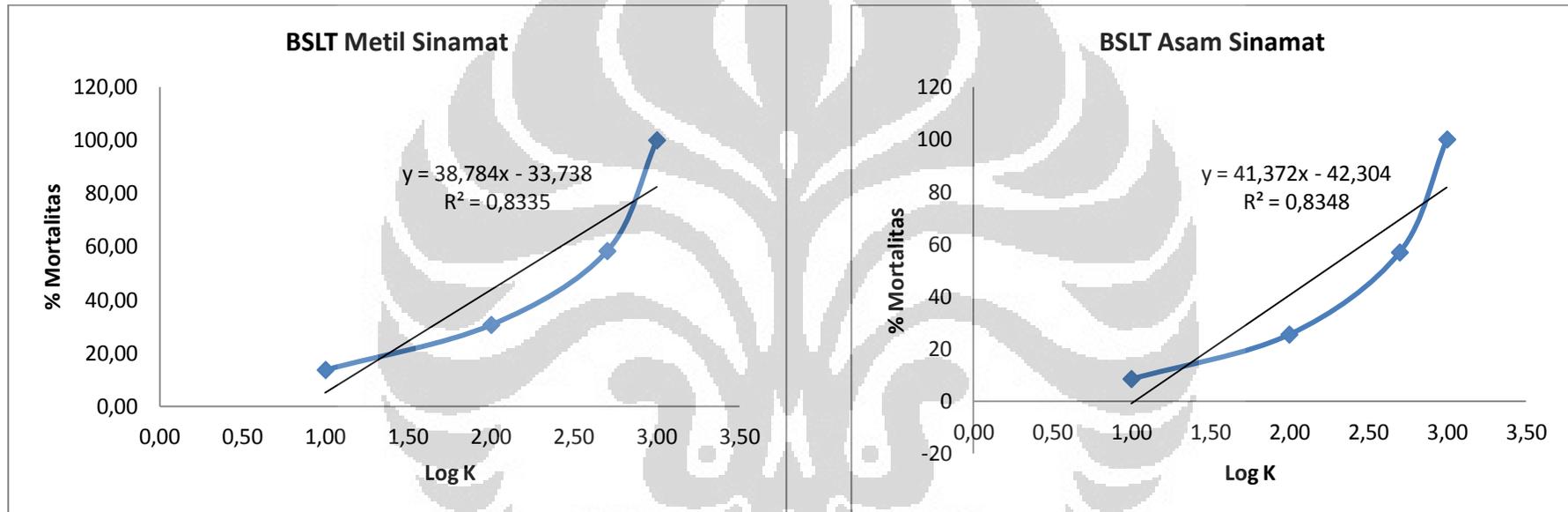
Lampiran 14. Spektrum <sup>13</sup>C NMR 4-fenilkroman-2-on

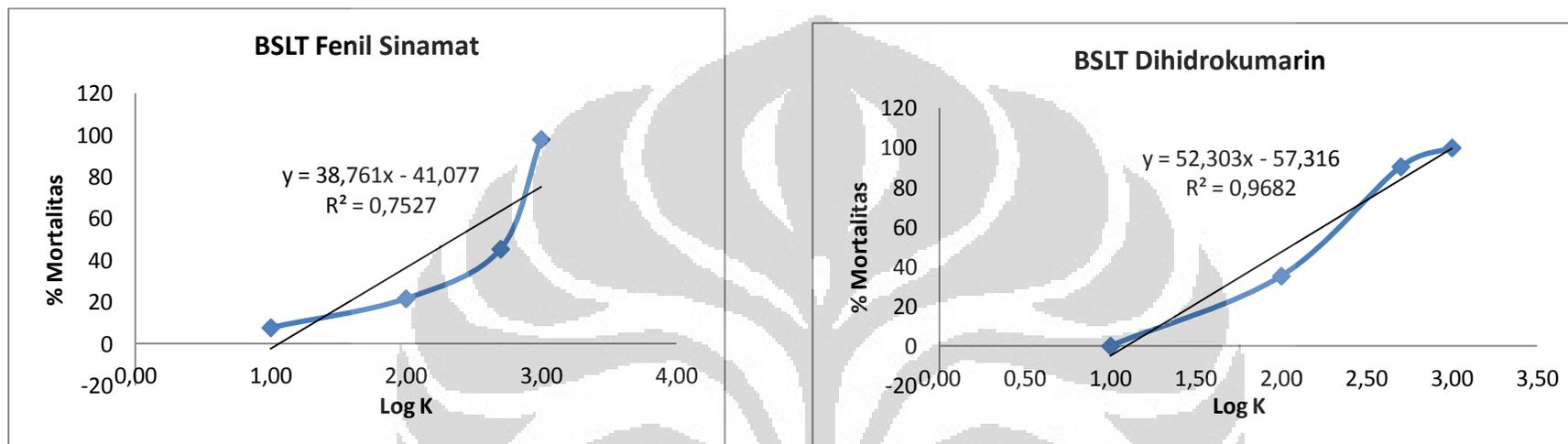


Lampiran 15. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

No	Sampel	Konsentrasi (K), ppm	Log K	Hidup awal			Hidup akhir			Mati	Hidup	Akumulasi mati	Akumulasi hidup	Mortalitas	LC <sub>50</sub>
	<b>Blanko</b>			11	11	11	11	10	10	2	31	<b>2</b>	<b>119</b>		
				10	10	11	9	10	10	2	29	<b>4</b>	<b>88</b>		
				10	10	10	10	10	9	1	29	<b>5</b>	<b>59</b>		
				11	10	10	10	10	10	1	30	<b>6</b>	<b>30</b>		
1	Metil sinamat	10	1,00	11	10	10	9	5	6	11	20	<b>11</b>	<b>70</b>	<b>13,580</b>	<b>144,21</b>
		100	2,00	11	10	10	7	6	7	11	20	<b>22</b>	50	<b>30,556</b>	
		500	2,70	10	10	10	4	3	3	20	10	<b>42</b>	30	<b>58,333</b>	
		1000	3,00	10	10	10	0	0	0	30	0	<b>72</b>	<b>0</b>	<b>100,000</b>	
2	As. sinamat	10	1,00	10	10	10	6	10	8	6	24	<b>6</b>	<b>65</b>	<b>8,450704</b>	<b>169,82</b>
		100	2,00	10	10	10	7	9	6	8	22	<b>14</b>	<b>41</b>	<b>25,45455</b>	
		500	2,70	10	10	10	8	6	5	11	19	<b>25</b>	<b>19</b>	<b>56,81818</b>	
		1000	3,00	10	10	10	0	0	0	30	0	<b>55</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	
3	Fenil sinamat	10	1,00	10	10	10	9	8	7	6	24	<b>6</b>	<b>71</b>	<b>7,792208</b>	<b>223,87</b>
		100	2,00	10	10	10	7	8	8	7	23	<b>13</b>	<b>47</b>	<b>21,66667</b>	
		500	2,70	10	10	10	6	7	10	7	23	<b>20</b>	<b>24</b>	<b>45,45455</b>	
		1000	3,00	10	10	10	0	0	1	29	1	<b>49</b>	<b>1</b>	<b>98</b>	
4	Dihidroksumarin	10	1,00	10	10	10	10	10	10	0	30	<b>0</b>	<b>52</b>	<b>0</b>	<b>112,72</b>
		100	2,00	10	10	10	7	4	7	12	18	<b>12</b>	<b>22</b>	<b>35,29</b>	
		500	2,70	10	10	10	2	1	1	26	4	<b>38</b>	<b>4</b>	<b>90,48</b>	
		1000	3,00	10	10	10	0	0	0	30	0	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	

Lampiran 16. Kurva Uji Toksisitas dengan Metode BSLT





## Lampiran 17. Perhitungan Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT terhadap Sel HeLa

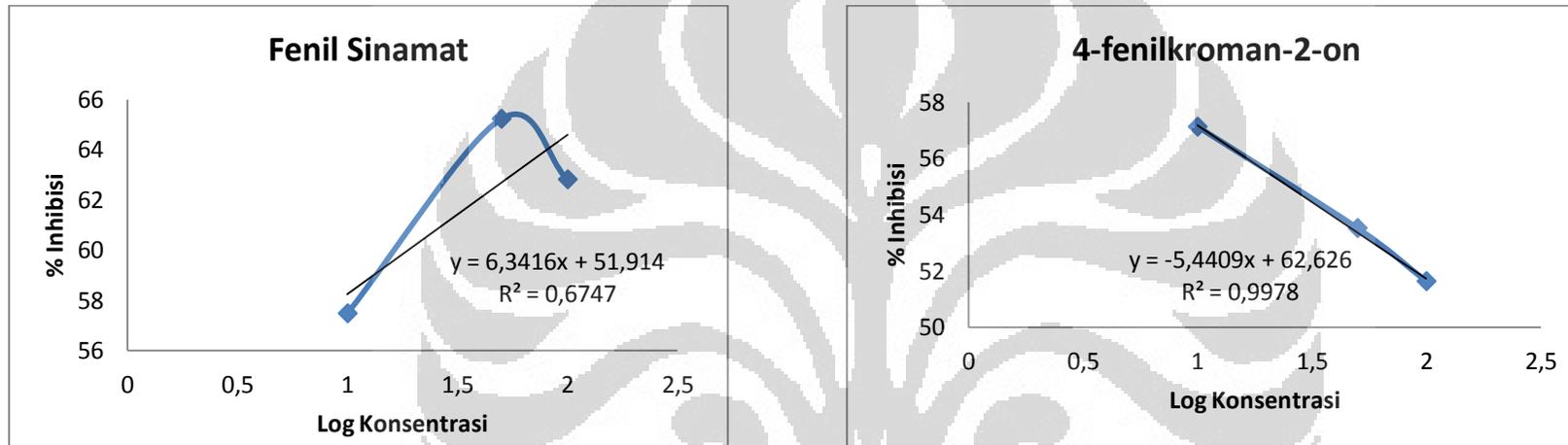
## Fenil Sinamat

Konsentrasi Ekstraks (ppm)	Ulangan			Rataan	%inhibisi	Log Konsentrasi	a	b	IC <sub>50</sub>
	OD1	OD2	OD3						
100	0,065	0,063	0,088	0,072	62,82	2,00	51,91	6,34	0,50
50	0,058	0,06	0,084	0,067	65,23	1,70			
10	0,069	0,065	0,113	0,082	57,49	1,00			
Sel kontrol	0,183	0,196	0,202	0,194	0,00				

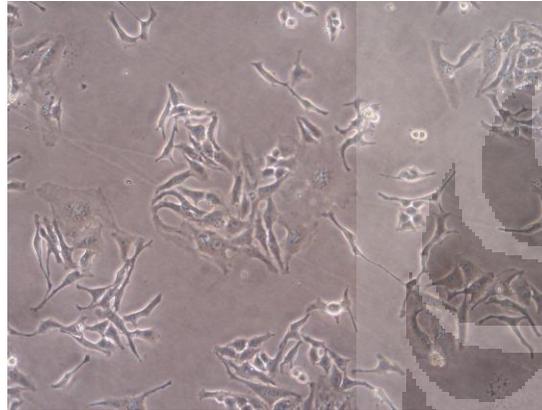
## Dihidroksumarin (4-fenilkroman-2-on)

Konsentrasi Ekstraks (ppm)	Ulangan			Rataan	%inhibisi	Log Konsentrasi	a	b	IC <sub>50</sub>
	OD1	OD2	OD3						
100	0,098	0,089	0,094	0,094	51,64	2,00	62,63	-5,44	209,20
50	0,114	0,071	0,085	0,090	53,53	1,70			
10	0,081	0,092	0,076	0,083	57,14	1,00			
Sel kontrol	0,183	0,196	0,202	0,194	0,00				

Lampiran 18. Kurva Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT terhadap Sel HeLa



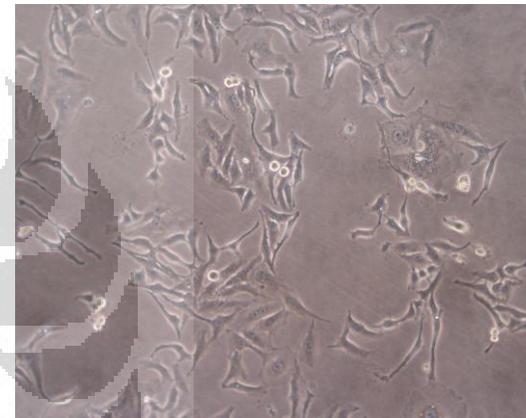
## Lampiran 19. Gambar Pertumbuhan Sel HeLa



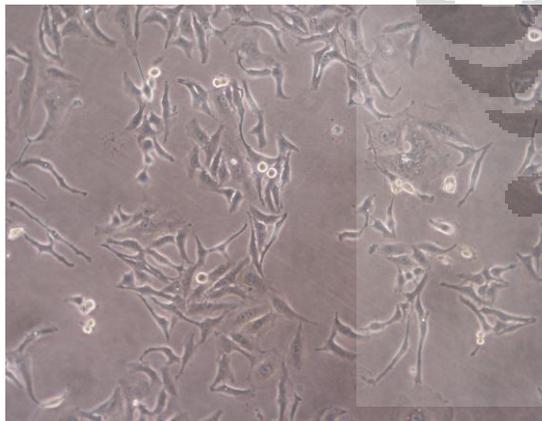
Sel HeLa Normal



Sel HeLa 24 jam



Sel HeLa inhibisi 10 – 30%



Sel HeLa inhibisi 30 – 50%



Sel HeLa inhibisi &gt;50%