

**SINTESIS SENYAWA O-METILKUERSETIN DAN UJI AKTIVITAS  
ANTI-KANKER SENYAWA HASIL METILASI**

**SKRIPSI**



**ROMY TRIADI NUGROHO**

**F1C119035**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JAMBI**

**2024**

### **SURAT PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim.

Tanda tangan yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli, saya siap menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Jambi, 29 Februari 2024

Yang menyatakan

Romy Triadi Nugroho

NIM. F1C119035

## **RINGKASAN**

Salah satu senyawa Flavonoid yang memiliki Aktivitas Beragam adalah Kuersetin. Dimana Kuersetin memiliki aktivitas farmakologis yang sangat beragam, Seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Salah satu cara untuk meningkatkan aktivitas antikanker adalah metilasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk memetilasi gugus Hidroksil pada kuersetin menjadi gugus metoksi sehingga meningkatkan aktivitas antikanker. Penelitian dilakukan menggunakan metode refluks dengan variasi waktu 2, 3, 4 jam dan agen metilasi menggunakan Dimetil Sulfat (DMS) serta diuji Antikanker menggunakan uji BSLT. Karakterisasi dilakukan menggunakan Spektrometer FTIR, dan uji kemurnian menggunakan uji  $\text{FeCl}_3$  Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Berdasarkan hasil penelitian hasil optimal sintesis metilasi kuersetin ditunjukkan pada variasi waktu 3 jam ditunjukkan dengan rendemen sebesar 57,31 %. Uji FTIR menunjukkan adanya serapan gugus metoksi pada panjang gelombang  $1076,49 \text{ cm}^{-1}$  dan  $602,94 \text{ cm}^{-1}$ . Uji KLT menunjukkan telah terjadinya metilasi ditandai dengan perbedaan noda yang terlihat pada kuersetin dan senyawa hasil sintesis. Uji  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan hasil negatif yang ditandai warna hijau. Uji BSLT nilai  $\text{LC}_{50}$  bisa dikatakan kuat ditunjukkan untuk kuersetin 82,054 ppm dan kuersetin hasil metilasi 122,954 ppm berdasarkan tingkat toksisitas 100 – 500 ppm kuat dan nilai 0 – 100 sangat kuat. Hasil Sintesis lebih rendah dibandingkan dengan Kuersetin sebelum Metilasi. Hal ini disebabkan gugus OH Fenolik pada posisi 5 termetilasi. Hal ini disebabkan gugus hidroksil pada posisi 5 memiliki energy bebas ikatan yang rendah dan mampu berikatan dengan reseptor antikanker. Sehingga Nilai  $\text{LC}_{50}$  menjadi rendah dibandingkan dengan Kuersetin sebelum Metilasi.

Kata kunci : Metilasi, Kuersetin, BSLT

## SUMMARY

One of the flavonoid compounds that has various activities is quercetin. Where Quercetin has very diverse pharmacological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and anticancer. One way to increase anticancer activity is methylation. The aim of this research is to methylate the hydroxyl group in quercetin into a methoxy group there by increasing its anti-cancer activity. The research was carried out using the reflux method with time variations of 2, 3, 4 hours and the methylation agent used Dimethyl Sulfate (DMS) and was tested for anticancer using the BSLT test. Characterization was carried out using an FTIR spectrometer, and purity testing using the FeCl<sub>3</sub> Thin Layer Chromatography (TLC) test.

Based on the research results, the optimal results of quercetin methylation synthesis were shown at a time variation of 3 hours with a yield of 57.31%. The FTIR test shows the absorption of methoxy groups at wavelengths of 1076.49 cm<sup>-1</sup> and 602.94 cm<sup>-1</sup>. The TLC test showed that methylation had occurred, marked by the difference in staining seen in quercetin and the synthesized compound. The FeCl<sub>3</sub> test shows a negative result which is marked in green. The BSLT test LC<sub>50</sub> value can be said to be strong, shown for quercetin 82,054 ppm and methylated quercetin 122,954 ppm based on a toxicity level of 100 - 500 ppm strong and a value of 0 - 100 very strong. Synthesis Yield is lower compared to Quercetin before Methylation. This is because the Phenolic OH group at position 5 is methylated. This is because the hydroxyl group at position 5 has a low binding free energy and is able to bind to anticancer receptors. So the LC<sub>50</sub> value is lower compared to Quercetin before Methylation.

Key words: Methylation, Quercetin, BSLT

**SINTESIS SENYAWA O-METILKUERSETIN DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIANKER SENYAWA HASIL METILASI**

**S K R I P S I**

Diajukan sebagai salah satu syarat dalam melakukan penelitian dalam  
penulisan Skripsi pada Program Studi Kimia



**ROMY TRIADI NUGROHO  
F1C119035**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JAMBI  
2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul “**SINTESIS SENYAWA O-METILKUERSETIN DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER SENYAWA HASIL METILASI**” yang disusun oleh **ROMY TRIADI NUGROHO**, NIM: F1C119035 telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 29 Februari 2024

Susunan Tim Penguji:

Ketua : Dr. Madyawati Latief, S.P., M.Si.  
Sekretaris : Dr. Lenny Anwar S, S.Si., M.Si.  
Anggota : 1. Dr. Yusnaidar, S.Si., M.Si.  
2. Indra Lasmana Tarigan, S.Pd., M.Sc.  
3. Restina Bemis, S.Si., M.Si.

Disetujui :

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Madyawati Latief, S.P., M.Si.  
NIP. 197206241999032001

Dr. Lenny Anwar S, S.Si., M.Si.  
NIP. 197206031999032003

Diketahui:

Dekan,  
Fakultas Sains dan Teknologi

Ketua Jurusan MIPA,  
Fakultas Sains dan Teknologi

Drs. Jefri Marzal, M.Sc., D.I.T.  
NIP. 196806021993031004

Dr. Yusnaidar, S.Si., M.Si.  
NIP. 196809241999032001

## **DAFTAR RIWAYAT HIDUP**



Romy Triadi Nugroho, lahir pada tanggal 19 Juli 2001. Di Kota Jambi. Provinsi Jambi. Penulis merupakan anak ke 2 dari 3 bersaudara dari pasangan Rohman dan Misnawati Penulis pertama kali masuk pendidikan formal di SDN 73 Kota Jambi pada tahun 2007 dan lulus pada tahun 2013. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikan ke MTsN Model Kota Jambi dan tamat pada tahun 2016. Pada tahun 2016 penulis melanjutkan sekolah ke MAN Model Kota Jambi dan tamat pada tahun 2019. Penulis melanjutkan pendidikan di jenjang perkuliahan di Universitas Jambi yang dimulai pada Tahun 2019. Penulis diterima sebagai mahasiswa program studi Kimia di Fakultas Sains dan Teknologi melalui jalur Mandiri. Selama Perkuliahan penulis aktif di Organisasi Kampus Maupun Prodi Kimia yaitu HIMKI. Penulis melakukan Penelitian dengan judul skripsi “Sintesis senyawa O-Metilkuersetin dan uji aktivitas antikanker senyawa hasil Metilasi”, dibawah bimbingan, dukungan dan arahan dari Dr. Madyawati Latief, S.P., M.Si. dan Dr. Lenny Anwar S, S.Si., M.Si.

## **PRAKATA**

Segala puji dan rasa syukur senantiasa penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Sintesis senyawa O-Metilkuersetin dan uji aktivitas antikanker senyawa hasil Metilasi”. Shalawat serta salam tak lupa penulis haturkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Strata Satu (S1) pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi. Tidak sedikit hambatan yang penulis hadapi dalam menyelesaikan tugas akhir ini, akan tetapi dengan adanya semangat serta dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Helmi, S.H., M.H. Selaku Rektor Universitas Jambi yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tugas akhir ini.
2. Drs. Jefri Marzal, M.Sc., D.I.T. Selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi.
3. Dr. Yusnaidar, S.Si., M.Si. Selaku Ketua Jurusan MIPA Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi.
4. Indra Lasmana Tarigan, S.Pd., M.Sc. Selaku Koordinator Progam Studi Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Jambi sekaligus dosen penguji yang memberi pengarahan dan bimbingan serta telah banyak membantu baik secara moril maupun materil kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tugas akhir ini.
5. Dr. Madyawati Latief, S.P., M.Si., Selaku dosen pembimbing sekaligus Dosen Akademik yang telah memberi semangat, arahan dan bimbingan selama Perkuliahan.
6. Dr. Lenny Anwar S, S.Si., M.Si., Selaku dosen pembimbing yang telah memberi semangat, arahan dan bimbingan selama penulisan Skripsi.
7. Seluruh Bapak serta Ibu dosen FST, khususnya dosen Prodi Kimia yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang dengan sabar memberikan ilmu dan didikan selama penulis mengikuti bangku perkuliahan.
8. Kedua orang tua saya yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan penuh serta menjadi motivasi terbesar penulis. Terimakasih banyak karna telah membiayai, membantu, membimbing, memberikan kasih sayang yang tiada habisnya kepada penulis. Semoga apa yang didapatkan penulis nantinya dapat bermanfaat baik di dunia maupun akhirat yang telah

memberikan dukungan dan doa kepada penulis hingga akhirnya dapat menyelesaikan studinya

9. Nisrul, Rika, Nani, Ilham, Selpa, Astri, Yunika, Vera dan Desi selaku teman-teman yang menemani Ketika berada di Laboratorium.
10. M. Bintang Anugrah Utama Arnold, Gilang Saputra dan Jhonatan Johan Parulian selaku sahabat yang telah saling berjuang dan saling mendukung serta saling menasehati, memotivasi penulis selama masa perkuliahan dan penyelesaian tugas akhir.
11. Abdul Aziz dan Ilham yang telah membantu dan menyediakan tempat kepada penulis dalam melaksanakan penyusunan Proposal Usulan Penelitian dan Skripsi.
12. Teman-teman kimia angkatan 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan pengalaman, cerita, suka dan duka serta sebagai rekan seperjuangan dalam menyelesaikan pendidikan Sarjana ini.
13. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam membantu penulis menyelesaikan tugas akhir ini. Kebajikan kalian sangat berharga bagi penulis akan senantiasa diingat dan akan dibalas oleh Allah SWT.

Semoga jasa baik kepada penulis menjadi amal jariyah dan mendapatkan balasan kebaikan dari Allah SWT. Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan ini. Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat kepada pembaca.

## DAFTAR ISI

|                                               |     |
|-----------------------------------------------|-----|
| HALAMAN PENGESAHAN .....                      | i   |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....                    | ii  |
| PRAKATA .....                                 | iii |
| DAFTAR ISI .....                              | iv  |
| DAFTAR TABEL .....                            | v   |
| DAFTAR GAMBAR .....                           | vi  |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                         | vii |
| I. PENDAHULUAN .....                          | 1   |
| 1.1 Latar Belakang .....                      | 1   |
| 1.2 Identifikasi dan Rumusan Masalah .....    | 3   |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                   | 3   |
| 1.4 Hipotesis .....                           | 3   |
| 1.5 Manfaat Penelitian .....                  | 3   |
| II. TINJAUAN PUSTAKA .....                    | 5   |
| 2.1 Kuersetin .....                           | 5   |
| 2.2 BioAktivitas Kuersetin .....              | 6   |
| 2.3 Sintesis .....                            | 7   |
| Substitusi Bimolekuler ( $S_N2$ ) .....       | 7   |
| Retrosintesis .....                           | 8   |
| Dimetil Sulfat (DMS) .....                    | 9   |
| 2.4 FTIR .....                                | 10  |
| 2.5 Uji BSLT (Brine Shrimp Lethal Test) ..... | 11  |
| 2.6 The State Art of Metilasi Kuersetin ..... | 12  |
| III. METODOLOGI PENELITIAN .....              | 15  |
| 3.1 Waktu dan Tempat .....                    | 15  |
| 3.2 Bahan dan Peralatan .....                 | 15  |
| Bahan Penelitian .....                        | 15  |
| Alat Penelitian .....                         | 15  |
| 3.3 Metode Kerja .....                        | 15  |
| Sintesis Senyawa .....                        | 15  |
| Uji Kemurnian Senyawa .....                   | 15  |
| Karakterisasi Senyawa .....                   | 16  |
| Uji BSLT .....                                | 16  |
| 3.4 Analisis Data .....                       | 16  |
| Analisis Rendemen Sintesis .....              | 16  |
| Analisis data hasil Metilasi .....            | 17  |
| Analisis data hasil BSLT .....                | 17  |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....                | 18  |
| 4.1 Sintesis Senyawa .....                    | 18  |
| 4.2 Uji Kemurnian Senyawa .....               | 19  |
| Uji Kromatografi Lapis Tipis .....            | 19  |
| Uji $FeCl_3$ .....                            | 22  |
| 4.3 Karakterisasi Senyawa .....               | 22  |
| Uji FTIR .....                                | 22  |
| 4.4 Uji BSLT (Brine Shrimp Lethal Test) ..... | 24  |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN .....                 | 26  |
| 5.1 Kesimpulan .....                          | 26  |
| 5.2 Saran .....                               | 26  |
| DAFTAR PUSTAKA .....                          | 27  |
| LAMPIRAN .....                                | 31  |

## DAFTAR TABEL

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 1.</b> BioAktivitas Kuersetin.....                  | 7  |
| <b>Tabel 2.</b> Metilasi Kuersetin .....                     | 12 |
| <b>Tabel 3.</b> Hasil Sintesis Metilasi Kuersetin.....       | 19 |
| <b>Tabel 4.</b> Data Rekristalisasi dan hasil Rendemen ..... | 20 |
| <b>Tabel 5.</b> Perbandingan panjang gelombang FTIR .....    | 23 |
| <b>Tabel 6.</b> Hasil BSLT .....                             | 24 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 1.</b> Kuersetin.....                                                                                                                                                                                                                           | 5  |
| <b>Gambar 2.</b> Ilustrasi Reaksi Metilasi Alkohol .....                                                                                                                                                                                                  | 9  |
| <b>Gambar 3.</b> Struktur DMS.....                                                                                                                                                                                                                        | 10 |
| <b>Gambar 4.</b> Artemia Salina.....                                                                                                                                                                                                                      | 11 |
| <b>Gambar 5.</b> Hasil Sintesis Metilasi Kuersetin .....                                                                                                                                                                                                  | 19 |
| <b>Gambar 6.</b> Hasil KLT Sintesis (a) DCM (6) : Aseton (4) dan (b) DCM .....                                                                                                                                                                            | 20 |
| <b>Gambar 7.</b> Hasil KLT setelah Rekristalisasi (A) Etil Asetat : n- Heksan<br>(7:3) (a) Sintesis 2 jam, (b) sintesis 3 jam, (c) sintesis 4 jam,<br>(B)Etil Asetat : n- Heksan (8:2) (a) Sintesis 2 jam, (b) sintesis<br>3 jam, (c) sintesis 4 jam..... | 21 |
| <b>Gambar 8.</b> Perbandingan KLT kuersetin dan hasil sintesis (A) etil asetat<br>: n-heksan (7:3) dan (B) etil asetat : n-heksan (8:2).....                                                                                                              | 21 |
| <b>Gambar 9.</b> Uji $\text{FeCl}_3$ (a) Kuersetin, (b) Sintesis 2 jam, (c) Sintesis 3 jam, (c)<br>Sintesis 4 jam.....                                                                                                                                    | 22 |
| <b>Gambar 10.</b> Grafik FTIR (a) FTIR hasil Sintesis, (b) FTIR Kuersetin.....                                                                                                                                                                            | 23 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| <b>Lampiran 1.</b> Skema Penelitian.....       | 31 |
| <b>Lampiran 2.</b> Sintesis Senyawa.....       | 32 |
| <b>Lampiran 3.</b> Kemurnian Senyawa.....      | 33 |
| <b>Lampiran 4.</b> Karakterisasi Senyawa ..... | 34 |
| <b>Lampiran 5.</b> Uji BSLT .....              | 35 |
| <b>Lampiran 6.</b> Perhitungan.....            | 37 |
| <b>Lampiran 7.</b> Hasil uji BSLT .....        | 39 |
| <b>Lampiran 8.</b> Dokumentasi.....            | 40 |

## I. PENDAHULUAN

### I. Latar Belakang

Kanker merupakan pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal yang tumbuh melampaui batas normal, dan yang kemudian dapat menyerang bagian sebelah tubuh dan menyebar ke organ lain. Proses ini disebut metastasis, Metastasis merupakan penyebab utama kematian akibat kanker (WHO, 2009). Salah satu pencegahan kanker adalah dengan mengonsumsi buah-buahan dan sayur-sayuran, yang memiliki kandungan senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Salah satu senyawa aktif yang memiliki sifat farmakologis yang baik adalah flavonoid.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol ditemukan hampir secara luas ditemukan pada tanaman dan memiliki efek bioaktivitas seperti antiVirus, anti-inflamasi (Wang *et al.*, 2016), antidiabetes dan antikanker (Marzouk, 2016). Tiga cincin fenolik A, B dan C, aktivitas metabolit flavonoid bergantung pada struktur dan orientasi dari gugus fungsi tersebut.

Salah satu senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas beragam adalah kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid hampir menggambarkan seluruh sifat farmakologis dan biologis flavonoid. Dimana kuersetin memiliki aktivitas farmakologis yang sangat beragam, seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Salah satu contohnya kuersetin yang diekstrak dari anggur merah misalnya memiliki aktivitas antioksidan yang sebanding dengan  $\alpha$ -tokoferol dalam menghambat peroksidasi lipid (Sweetman, 2009). Kuersetin secara teratur melalui pangan nabati, seperti buah apel, teh, dan bawang dapat melindungi LDL dari reaksi oksidasi yang pada gilirannya dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner dan stroke (Kusuma *et al.*, 2010). Salah satu sumber kuersetin yang dapat ditemukan dari tanaman sungkai *P. canescens*. Berdasarkan penelitian Triana (2022), ditemukan isolat senyawa kuersetin dari ekstrak etanol dari daun sungkai. Kuersetin dan turunannya memiliki sifat farmakologis yang sangat banyak. Salah satu riset atau modifikasi dari senyawa kuersetin adalah metilasi. Metilasi adalah masuknya gugus metil ( $\text{CH}_3$ ) pada suatu senyawa. Metilasi sendiri biasanya dibagi menjadi 2 yaitu O-metilasi dan C-metilasi. O-metilasi merupakan penambahan gugus metil yang terjadi pada atom oksigen (O) pada gugus hidroksi dan dapat terjadi dengan adanya katalis basa (Asnawati, 2015), sedangkan reaksi C-metilasi merupakan reaksi penambahan gugus metil pada ikatan rangkap  $\text{C}=\text{C}$  yang dapat terjadi dengan katalis asam (Lidyawati, 2012). Metilasi pada senyawa merupakan salah satu modifikasi yang sering dilakukan untuk banyak metabolik sekunder yang baru (Magar dan Shong, 2020). Bentuk metilasi pada kuersetin biasanya membuat

lebih stabil dan mudah diaplikasikan dalam bioaktivitasnya. Metilasi pada senyawa flavanoid khususnya kuersetin dapat meningkatkan aktivitasnya dan memberikan aktivitas berbeda dari induknya (Cao *et al.*, 2013).

Berdasarkan penelitian metilasi pada senyawa kuersetin menunjukkan aktivitas yang beragam, Seperti *3-O-methylquercetin* dan *3,4,7-O-trimethylquercetin* memiliki aktivitas dalam peningkatan sel Melanin (Yamauchi *et al.*, 2014). Penelitian lain juga pada senyawa *3,3',4',7-tetra-O-methylate quercetin* dan *3,3',4',5,7-penta-O-methylated* menunjukkan menghambat *Breast Cancer Resistance Protein (BCRP)* (Yuan *et al.*, 2012 ; Juvalle *et al.*, 2013), Salah pengujian pada senyawa kanker payudara. Penelitian yang lain menunjukkan *Tamarixetin* yang merupakan kuersetin yang termetilasi pada gugus hidroksil pada posisi 4' memiliki aktivitas antiinflamasi yang sangat baik daripada kuersetin. Beberapa hasil metilasi juga telah ditemukan dan di uji bioaktivitasnya seperti *obuine* (*3,5,3'-trihydroxy-7,4'-dimetoxyflavon*) dan *pachypodol* (*5,4'-dihydroxy-3,7,3'-trimetoxyflavon*) menunjukkan aktivitas anti mutagenik terhadap senyawa-senyawa penginduksi (Miyazawa *et al.*, 2000). Selain meningkatkan aktivitas farmkologisnya metilasi pada senyawa kuersetin juga meningkatkan stabilitas metaboliknya dan meningkatkan transportasi membran dari senyawa hasil metilasi (Arifin dan Ibrahim, 2018). Kuersetin termetilasi sendiri dapat ditemukan dalam tanaman, seperti dilaporkan oleh Rahman *et al.*, (2020) *pachypodol* dan *ayanin* dapat ditemukan dari kulit batang *melicope quercifolia*. Dimana hasil isolat yang didapatkan adalah berupa padatan kuning.

Melihat potensi dan hasil aktivitas bioaktivitas yang dihasilkan, metilasi menjadi salah satu cara untuk meningkatkan aktivitas kuersetin. Metilasi kuersetin dari penelitian juga pernah dilakukan, dimana metilasi dilakukan dengan biotransformasi menggunakan Bakteri *E. Coli* menghasilkan senyawa 3'-Metil and the 3',4'-dimetil Kuersetin (Kim *et al.*, 2005). Dari penelitian lain metilasi kuersetin dengan menggunakan bakteri yang sama ditemukan kuersetin termetilasi pada posisi 4' (Pandey *et al.*, 2015).

Metilasi pada kuersetin diharapkan dapat memetilasi gugus hidroksil pada posisi 3, 5, 7, 3', 4'. Dimana reaksi menggunakan katalis NaOH, NaOH disini akan membentuk anion fenoksida yang dimana akan melepaskan atom ( $H^+$ ) dari gugus hidroksil. Selanjutnya akan mengalami reaksi  $S_N2$  dengan agen metilasi Dimetilsulfat. Dimetilsulfat dipilih karena bersifat stabil dan mampu memberikan rendemen yang tinggi.

Sintesis organik juga dipengaruhi beberapa hal seperti pelarut, suhu, lama reaksi dan katalis (Fesseden, 1997). Dimana reaksi  $S_N2$  akan cepat dalam pelarut aprotik, yaitu pelarut polar yang tidak membentuk ikatan hidrogen

intermolekuler, contoh pelarut aprotik adalah Dimetilsulfoksida (DMSO), Dimetilformamida (DMF) dan Asetonitril (Morrison dan Boyd, 2002).

Setelah melakukan metilasi, Untuk mengetahui kemurnian senyawa perlu dilakukan uji kemurnian terhadap senyawa hasil metilasi. Uji kemurnian dilakukan menggunakan melting point dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Melting point adalah uji mengukur titik leleh senyawa tersebut sedangkan KLT menguji kepolaran dari senyawa hasil metilasi. Selain itu, Untuk memastikan senyawa hasil metilasi menggunakan Spektrofotometer Infra Merah.

Salah satu uji awal untuk melihat apakah senyawa aktif memiliki kemampuan uji kanker menggunakan uji BSLT menggunakan Udang *Artemia Salina* L. Metode pengujian BSLT ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva udang *Artemia salina* (sebagai hewan uji). Hasil uji toksisitas dengan metode ini terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat (Sukadirman *et al.*, 2004).

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang senyawa turunan kuersetin dikarenakan senyawa hasil metilasi dapat meningkatkan sifat antikanker, Selain itu juga dapat meningkatkan stabilitas metabolik. Dimana kuersetin tersebut direaksi menggunakan reagen Dimetilsulfat (DMS) dengan katalis basa NaOH, gugus fungsi yang dilakukan dimodifikasi adalah gugus OH pada kuersetin menjadi gugus fungsi metoksi. Dan melakukan penelitian dengan judul **“SINTESIS SENYAWA O-METILKUERSETIN DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER SENYAWA HASIL METILASI”**.

## **1.2 Identifikasi dan Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan. Salah satu caranya untuk meningkatkan farmakologis senyawa kuersetin adalah dengan melalui reaksi metilasi. Metilasi merupakan reaksi penambahan gugus metil pada senyawa kuersetin maka berdasarkan uraian diatas rumusan masalah pada penelitian adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh waktu terhadap rendemen hasil sintesis senyawa O-metilkuersetin ?
2. Bagaimana karakteristik senyawa O-metilkuersetin ?
3. Bagaimana aktivitas antikanker senyawa O-metilkuersetin setelah dilakukan sintesis ?

### **1.3 Tujuan penelitian**

Adapun tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Menganalisis jumlah rendemen yang dihasilkan dari hasil reaksi.
2. Mengidentifikasi senyawa O-metilkuersetin setelah dilakukan reaksi metilasi dengan menggunakan Spektrofotometer IR.
3. Menganalisis aktivitas antikanker senyawa O-metilkuersetin hasil sintesis menggunakan BSLT.

### **1.4 Hipotesis**

Apakah senyawa hasil sintesis dapat meningkatkan aktivitas antiKanker hingga dibawah 100 ppm kuersetin sebagai antikanker dalam pengujian *artemia salina* Lench

### **1.5 Manfaat penelitian**

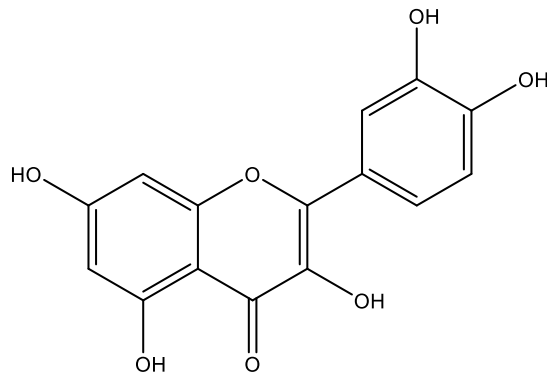
Manfaat dari penelitian sebagai berikut :

1. Memperoleh hasil metilasi yang optimal.
2. Memperoleh informasi tentang sifat kimia senyawa O-metilkuersetin hasil reaksi.
3. Memperoleh informasi mengenai jumlah rendemen yang dihasilkan terhadap reagen yang digunakan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kuersetin dan Senyawa Turunannya

Kuersetin merupakan flavonoid yang didapatkan hampir semua jenis tanaman. Kuersetin merupakan salah senyawa yang memiliki sifat fisikokimia yang penting diantaranya adalah sebagai antioksidan yang kuat dan mereduksi oksidasi low densitiy lipoprotein (LDL) (Astawan dan Kasih, 2008).



**Gambar 1.** Kuersetin (Astawan dan Kasih, 2008)

Biosintesis kuersetin dalam sel tumbuhan akan dimulai dengan prekursor fenilalanin dan beberapa senyawa aktivator diantaranya satu molekul 4-*coumaroyl-CoA* dan 3 molekul *malonyl-CoA* (Jusuf, 2010). Jika kuersetin dikonsumsi sebanyak 50-200 mg per sehari, dapat memberikan perlindungan karena berperan sebagai senjata pemusnah radikal bebas, sehingga dapat mencegah penuaan dini (Astawan dan Kasih, 2008). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kuersetin merupakan senyawa kelas II larut dalam etanol, mudah larut dalam dimetil sulfoksida dan sukar larut dalam air (Wisudyaningsih 2019).

Kuersetin dapat diisolasi dari tumbuhan karena kuersetin terdistribusi luas pada tumbuhan tingkat tinggi, terutama pada bagian daun, kelopak bunga, kulit buah dan kulit kayu atau dapat juga diperoleh dari hasil hidrolisis rutin dan kuersetin. Kuersetin yang terdapat di alam biasanya berada dalam bentuk glikosida yaitu kuersetin 3-glikosida (*isokuersetin*), *kuersetin-3-rhamnosida*, *kuersetin-3rutinosida* (*rutin*) adalah glikosida kuersetin. Kuersetin terdapat terutama pada tanaman teh, tomat, apel, kakao, anggur, dan bawang (Syofyan, 2007). Kuersetin merupakan serbuk hablur, berwarna kuning pucat sampai kuning kehijaun pucat. Satu gram kuersetin larut dalam 290 ml alkohol absolut dan larut dalam 23 ml alkohol mendidih, kuersetin larut dalam asam asetat glasial, praktis tidak larut dalam air. Kuersetin salah satu senyawa flavonoid, turunan flavonol yang mempunyai 3 cincin dengan 5 gugus hidroksil, kuersetin

dikenal dengan nama 3,5,7,3',4' pentahidroksi flavon. Selain itu, kuersetin juga disebut dengan *meletin*, *sopretin*, dan *sianidelon* (Azhari, 2015).

Kuersetin dan turunannya merupakan metabolit penting yang termasuk golongan flavonol dari flavonoid. Kuersetin dan beberapa konjugat telah banyak dimanfaatkan oleh manusia. Kuersetin tersebar luas di antara tumbuhan dan memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antikanker, antivirus, dan antioksidan. Oleh karena itu, biosintesis turunan baru merupakan bidang penelitian yang penting. Ada juga beberapa turunan kuersetin termetilasi. Misalnya, *tamrixetin*, *quercetin 4'-methyl ether*, mengandung gugus metil tambahan pada posisi 4' kuersetin. Demikian pula, kuersetin termetilasi lainnya, rhamnetin 7-O-metilkuersetin memiliki gugus metil pada 7-OH-kuersetin. Selain itu, kuersetin dimetilasi, bernama rhamnazin, mengandung dua gugus metil pada gugus kuersetin 3'- dan 7-OH. *Isorhamnetin* adalah flavonol termetilasi lainnya, juga dikenal sebagai 3-metilkuersetin dan *isorhamnetol* (Magar dan Sohng, 2020).

Sifat kimia dan fisika kuersetin

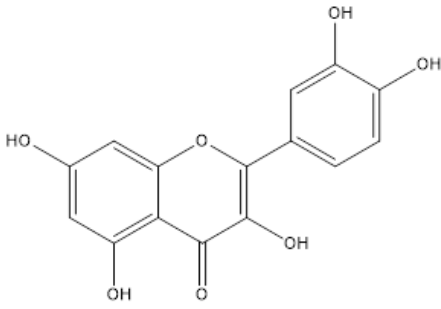
- Rumus Kimia :  $C_{15}H_{10}O_7$
- Massa Molar : 302,236 g mol<sup>-1</sup>
- Penampilan : Kristal Kuning
- Densitas : 1,799 g cm<sup>-3</sup>
- Titik Lebur : 316°C
- Titik Didih : 316°C

## 2.2 BioAktivitas Kuersetin

Kuersetin merupakan salah satu senyawa turunan flavonoid, Adanya gugus hidroksil (-OH) pada struktur senyawa kuersetin membuat senyawa kuersetin memiliki banyak bioaktivitas. Salah satu bioaktivitas adalah kuersetin memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC<sub>50</sub> 16,24 ppm (Cahyono *et al.*, 2020). Pada bioaktivitas lainnya kuersetin memiliki sifat antikanker, Hal ini dikarenakan kuersetin memiliki afinitas terhadap protein *HER-2* pengekspreksi kanker payudara (Rastini *et al.*, 2019). Penelitian lain kuersetin diteliti secara *molekuler docking* sebagai penghambat *Sar-Cov2* pada *3CLpro*, *PLpro* dan *NSP<sub>3</sub>* secara kimia komputasi menggunakan software Plants dan Yasara hasil : afinitas *docking* dalam penelitian kami terhadap protein target *3CLpro*, *PLpro* dan *NSP<sub>3</sub>* menunjukkan memiliki potensi sebagai kandidat obat. Kuersetin berpotensi dapat dikembangkan sebagai kandidat inhibitor SAR-CoV-2, dan senyawa ini dapat diperoleh dari berbagai etnofarmakologi yang banyak tumbuh dan telah digunakan secara empiris turun temurun oleh masyarakat Indonesia (Aryanti dan Susilo, 2022) .

Aktivitas lain kuersetin memiliki aktivitas antiInflamasi, Berdasarkan penelitian yang dilakukan Soemarie (2016), kuersetin isolasi dari kulit Bawang merah memiliki aktivitas antiinflamasi yang cukup baik. Kuersetin memiliki aktivitas yang beragam seperti antihipertensi (Utari *et al.*, 2021) dan antipiretik (Nurfitriah *et al.*, 2021). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kuersetin memiliki aktivitas yang signifikan dalam menghambat beberapa sel kanker seperti kanker payudara, prostat, kolon dan paru-paru ( Baghel *et al.*, 2016; Dajas, 2012; Smith *et al.*, 2016).

**Tabel 1.** Bioaktivitas Kuersetin

| Kuersetin                                                                                                           | BioAktivitas   | Referensi                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------|
|  <p>(Astawan dan Kasih, 2008)</p> | Antioksidan    | Cahyono <i>et al.</i> , 2020    |
|                                                                                                                     | AntiKanker     | Rastini <i>et al.</i> , 2019    |
|                                                                                                                     | AntiInflamasi  | Soemarie, 2016                  |
|                                                                                                                     | Antipiretik    | Nurfitriah <i>et al.</i> , 2021 |
|                                                                                                                     | Antivirus      | Aryanti dan Susilo, 2022        |
|                                                                                                                     | Antihipertensi | Utari <i>et al.</i> , 2021      |

## 2.3 Sintesis

### Substitusi Bimolekuler ( $S_N2$ )

Reaksi substitusi nukleofilik merupakan reaksi penyerangan secara selektif oleh nukleofilik yang kaya akan elektron ke muatan positif dari sebuah atom C pada rantai karbon yang mengikat gugus pergi (*leaving group*) sehingga nukleofilik akan menggantikan posisi gugus pergi. Pada reaksi substitusi nukleofilik antara halida dengan nukleofilik, halida akan digeser dari ikatannya dengan suatu atom karbon. Reaksi substitusi nukleofilik tergantung pada konsentrasi dari kedua pereaksi, apabila konsentrasi kedua pereaksi di tingkatkan dua kali lipat maka laju reaksi akan naik sebanyak empat kali lipat (Bruuce, 2016). Reaksi substitusi nukleofilik dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu reaksi substitusi nukleofilik bimolekuler ( $S_N2$ ) dan reaksi substitusi nukleofilik unimolekular ( $S_N1$ ) (Fessenden, 1997).

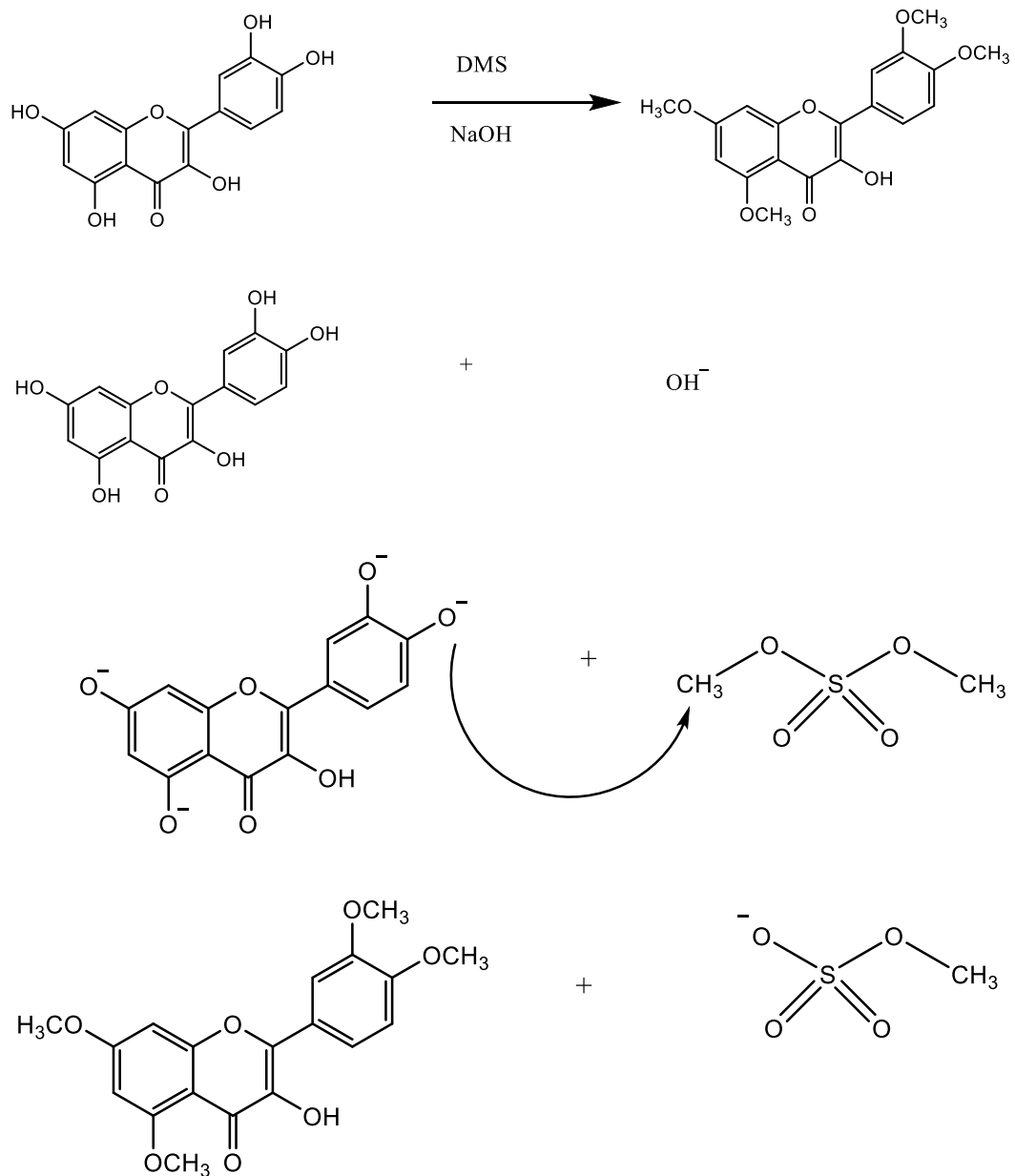
Reaksi  $S_N2$  berarti substitusi bimolekuler karena keadaan transisi melibatkan dua partikel ( $Nu^-$  dan  $RX$ ), maka reaksi  $S_N2$  dikatakan bersifat bimolekuler (Fessenden, 1997). Pada reaksi  $S_N2$  laju reaksi dipengaruhi oleh substrat dan reaktan sehingga reaksi berlangsung mengikuti orde dua dan dapat terjadi pembalikan (inversi) konfigurasi (McMurry, 2008). Reaksi ini bergantung

pada konsentrasi alkil halida maupun hidroksil. Pelarut yang digunakan juga berpengaruh pada laju reaksi substitusi nukleofilik. Pada reaksi  $S_N2$  digunakan pelarut aprotik seperti Tetrahidrofur (THF), Dimetilformamida (DMF), dan Dimetilsulfoksida (DMSO) karena dapat mempercepat laju reaksi. Pelarut aprotik merupakan pelarut yang tidak memiliki ikatan hydrogen (Clayden *et al.*, 2001). Nukleofilik biasanya bermuatan netral atau negatif, apabila nukleofil bermuatan negatif bertemu dengan ikatan hydrogen maka nukleofil negatif akan terlarut dengan ikatan hydrogen dan mengurangi jumlah nukleofil yang dapat menurunkan laju reaksi  $S_N2$  meningkat sejalan dengan jumlah nukleofil (Solomon dan Fryhke, 2011).

### **Retrosintesis**

Retrosintesis merupakan proses pembelahan molekul target sintesis menuju ke material start yang tersedia melalui serangkaian pemutusan ikatan (diskoneksi) dan perubahan gugus fungsi atau interkonversi gugus fungsional (IGF) (Warren, 1992). Retrosintesis merupakan teknik pemecahan masalah untuk mengubah struktur dari molekul target sintesis menjadi bahan-bahan yang lebih sederhana melalui jalur yang berakhir pada suatu material start yang sesuai dan mudah didapatkan untuk keperluan sintesis (Smith, 1994). Oleh karena itu retrosintesis merupakan suatu analisis teoritik yang didasarkan pada fakta-fakta reaksi yang telah diketahui sebelumnya untuk melakukan koneksi maupun IGF. Analisis retrosintesis merupakan prasyarat untuk melaksanakan sintesis suatu molekul di laboratorium.

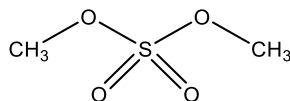
Kuersetin memiliki 5 gugus hidroksil. Dimana metilasi target pada kelima gugus hidroksil. Reaksi Metilasi Pertama-tama ion ( $-OH$ ) dari basa akan menyerang gugus hidroksil yang mana akan membentuk anion fenoksida dari senyawa Kuersetin. Selanjutnya anion fenoksida akan mengalami reaksi  $S_N2$  dengan agen metilasi menghasilkan senyawa O-metilkuersetin.



**Gambar 2.** Ilustrasi Reaksi Metilasi Kuersetin

### Dimetil Sulfate (DMS)

Dimetil sulfate (DMS) merupakan agent metilasi yang sering dipakai digunakan secara industri dalam sintesis obat-obatan, zat warna, parfum, dan pestisida, juga digunakan secara medis untuk pembelahan kimia sekuens DNA (Rippey dan Stallwood, 2005). DMS juga merupakan metilasi yang kuat agen untuk makromolekul seluler, termasuk DNA.



**Gambar 3.** Struktur DMS

Sifat Fisika dan Kimia Dimetil Sulfida

- Rumus kimia :  $C_2H_6S$
- Massa Molar :  $62,13 \text{ g mol}^{-1}$
- Penampilan : Cairan tak Berwarna
- Bau : Kubis, Belerang
- Densitas :  $0,846 \text{ g cm}^{-3}$
- Titik Lebur :  $98^\circ\text{C}$
- Titik Didih :  $98^\circ\text{C}$
- Tekanan Uap :  $53,7 \text{ kPa}$  (pada  $20^\circ\text{C}$ )

## 2.4 FTIR

Frekuensi inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang (*wavenumber*), yang didefinisikan sebagai banyaknya gelombang per centimeter. Spektroskopi secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Radiasi yang diserap oleh molekul muncul sebagai pita pada spektrum (Fannyda, 2014).

Dalam spektroskopi FTIR sinar inframerah dilewatkan pada sampel lalu diukur fraksi radiasi yang terabsorpsi pada panjang gelombang menghasilkan spektrum yang menunjukkan informasi kualitatif. Struktur kimia dan bentuk ikatan molekul serta gugus fungsional tertentu suatu sampel yang diuji menjadi dasar bentuk spektrum yang akan diperoleh dari hasil analisis (Sari, 2011).

Analisis spektroskopi inframerah bertujuan untuk menentukan gugus fungsional dari sampel. Perbedaan absorpsi gugus fungsional memberikan frekuensi radiasi infra merah sehingga spektroskopi ini penting untuk eludasi struktur dan identifikasi senyawa. Hasil deteksi perubahan intensitas transmisi atau absorpsi sebagai suatu fungsi frekuensi akan didapatkan spektra IR. Spektroskopi inframerah dapat menerima sampel seperti gas, cairan dan padatan. Spektroskopi infra merah terbagi menjadi dua tipe, yaitu dispersi spektrometer dan Fourier transform spektrometer. Dispersi spektrometer dan Fourier transform spektrometer spektra senyawa pada range  $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ . Keduanya menyediakan spektra inframerah yang identik tetapi Fourier transform spektrometer memberikan spektra yang lebih cepat daripada Dispersi Spektrometer (Pavia *et al.*, 2009). Spektroskopi FTIR yang seringkali digunakan

dalam analisis terdiri dari 2 jenis yaitu FTIR konvensional (FTIR-KBr/*potassium Bromide*) dan FTIR-ATR (*Attenuated Total Reflectance*). Hal yang membedakan FTIR-ATR dengan FTIR KBr terletak pada tahapan penyamplingan sampel. Pada FTIR konvensional, sampel dibentuk menjadi pellet dengan serbuk KBr agar sinar infra merah dapat menembus sampel yang akan dianalisis sedangkan pada FTIR-ATR tidak. FTIR KBr memiliki kelemahan yaitu tidak mampu mengeleminasi tahapan destruksi sampel sehingga sampel tidak bisa didapatkan kembali. Namun pada FTIR KBr hanya membutuhkan jumlah sampel lebih sedikit dibandingkan FTIR-ATR.

## 2.5 Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*)

*Artemia Salina* Leach atau disebut *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan promitif. Hewan ini hidup *planktonic* di perairan yang berkadar garam tinggi (15 – 300 per mil). *Artemia Salina* Leach. Merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaannya sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, Selain itu *Artemia salina* Leach. Juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007).



**Gambar 4.** *Artemia salina* L.

Klasifikasi *Artemia salina* Leach

Kingdom : Animalia

Phlum : Arthropoda

Classis : Crustacea

Ordo : Arostracia

Familia : Artemiidae

Genus : Artemia

Species : *Artemia salina*

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui ketoksikan suatu ekstrak ataupun senyawa bahan alam. Uji toksisitas dapat diketahui dari jumlah. Metode BSLT juga digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik dalam proses isolasi senyawa dari bahan alam yang berefek sitotoksik dengan menentukan harga  $LC_{50}$  dari senyawa aktif. Metode BSLT dapat digunakan dari berbagai sistem uji pestisida, karsinogenik dan ketoksikan dari hewan dan tumbuhan. Senyawa yang mempunyai kemampuan membunuh larva udang diperkirakan juga mempunyai kemampuan membunuh larva udang diperkirakan juga mempunyai kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel. Pengujian ini adalah pengujian letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktifitas tumor, tetapi merupakan indikator toksisitas yang baik dan menunjukkan korelasi yang kuat dengan pengujian antitumor lainnya seperti uji sitotoksitas dan uji leukemia tikus. Karena kesederhanaan prosedur pengerjaan, biaya yang rendah serta korelasinya terhadap pengujian toksisitas dan pengujian antitumor menjadikan BSLT sebagai uji hayati pendahuluan untuk aktivitas tumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (Sunarni *et al.*, 2003).

Metode BSLT juga digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik dalam proses isolasi senyawa dari bahan alam yang berefek sitotoksik dengan menentukan harga  $LC_{50}$  dari senyawa aktif. Metode BSLT dapat digunakan dari berbagai system uji seperti uji pestisida, mitotoksin, polutan, anestetik, komponen seperti morfin, karsinogenik, dan ketoksikan dari hewan dan tumbuhan laut serta senyawa racun dari tumbuhan darat (Mukhtar *et al.*, 2007).

## 2.6 The State Art of Metilasi Kuersetin

Kuersetin merupakan salah satu senyawa turunan Flavanoid yang memiliki banyak Bioaktivitas yang sangat beragam. Salah satu cara untuk Meningkatkan Bioaktivitas Kuersetin dengan melakukan metilasi dari gugus Fungsi Kuersetin.

**Tabel 2.** Metilasi Kuersetin

| Penelitian                                                                                                                                                                                                      | Hasil                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sintesis turunan Kuersetin sebagai stimulasi melanogenesis di <i>B16</i> sel melanoma dengan mempengaruhi ekspresi melanin biosintesis protein <i>MITF</i> dan <i>p38 MAPK</i> (Yamauchi <i>et al.</i> , 2014). | Hasil penelitian adalah telah dilakukan sintesis terhadap sembilan belas turunan kuersetin disintesis menggunakan rutin bahan awal untuk menentukan melanogenesis aktivitas modulasi dan untuk membantu |

|                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                      | <p>meningkatkan pemahaman kita tentang hubungan struktur-aktivitas mereka. Hasilnya 3',3,,7-<i>tri-O-MetilKuersetin</i> meningkatkan konten melanin intra dan ekstraseluler dengan mempercepat fosforilasi <i>p38 MAPK</i>, yang mengatur ekspresi tirosinase, <i>TRP-1</i>, dan <i>TRP-2</i>. Apalagi 3-O-MetilKuersetin adalah ditemukan untuk meningkatkan ekspresi enzim ini lebih kuat dari 3',3,,7-<i>tri-O-MetilKuersetin</i>. 3-O-MetilKuersetin meningkatkan ekspresi tirosinase, <i>TRP-1</i>, dan <i>TRP-2</i> tanpa melibatkan <i>MITF</i>, sebagaimana dibuktikan olehnya kurangnya stimulasi ekspresi <i>MITF</i> dan <i>p-p38 MAPK</i>.</p> |
| <p>Sintesis turunan kuersetin termetilasi dan aktivitas pembalikannya pada sel tumor resistensi multidrug yang dimediasi <i>P-gp</i> dan <i>BCRP</i> (<b>Yuan et al., 2012</b>).</p> | <p>Hasil penelitian adalah Tiga kuersetin termetilasi dan serangkaian O-3 menggantikan turunan <i>kuersetin</i> 5,7,3',4'-<i>tetra-O-metilasi</i> telah disintesis dan dievaluasi aktivitas modulasi <i>P-gp</i>, <i>BCRP</i> dan <i>MRP1</i> pada kanker garis sel. Senyawa dengan 2-((4-<i>metoksibenzoil</i>)oksi)etil pada O-3) adalah modulator <i>P-gp</i> yang paling kuat. Tiga turunan, senyawa (3,7,3',4'-<i>tetra-O-metil</i> kuersetin), senyawa dengan 2-((3-<i>oxo-3</i>-(3,4,5-<i>trimetoksifenil</i>)<i>prop-1-en-1-il</i>)oksi)etil pada O-3) dan senyawa, secara konsisten ditunjukkan</p>                                               |

|                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                     | aktivitas modulasi <i>BCRP</i> yang menjanjikan.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi dari kuersetin dan turunannya <b>(Lesjak et al., 2018).</b>                                                                                                                | Hasil penelitian dari keenam turunan kuersetin yaitu <i>quercetin-3-O-glukoronida</i> , <i>tamarixetin</i> , <i>isorhamnetin</i> , <i>isorhamnetin-3-O-glukosida</i> , <i>quercetin-3,4'-di-O-glukosida</i> , <i>quercetin-3,5,7,3',4'-pentamethylether</i> didapatkan hasil sebagai berikut <i>Tamarixetin</i> memiliki nilai antiinflamasi dibandingkan senyawa lain dan kuersetin, Sedangkan untuk aktivitas antioksidan kuersetin memiliki nilai aktivitas yang tinggi dibandingkan turunan lain. |
| Evaluasi biologis dan analisis SAR analog kuersetin O-metilasi sebagai penghambat proliferasi sel kanker. <b>(Shi et al., 2014)</b>                                                                                 | Metilasi kuersetin pada posisi 3' dan 4' kuersetin dapat meningkatkan aktivitas antikanker                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Sintesis dan evaluasi biologis flavon dan benzoflavon sebagai penghambat <i>BCRP/ABCG2</i> . <b>(Juvala et al., 2013)</b>                                                                                           | <i>7,8-benzoflavone methylated</i> menunjukkan mampu menghambat <i>Breast Cancer Resistance Protein (BCRP)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Potensi Antikanker Komparatif Derivatif Metilasi Taxifolin dan Kuersetin terhadap Garis Sel <i>HCT-116</i> : Efek O-Metilasi pada Taxifolin dan Kuersetin sebagai Timbal Alami Awal. <b>(Mohammed et al., 2022)</b> | Lima flavonoid yang diisolasi dalam <i>Pulicaria jaubertii</i> , yaitu, <i>7,3'-di-O-methyltaxifolin</i> , <i>3'-O-methyltaxifolin</i> , <i>7-O-methyltaxifolin</i> , <i>taxifolin</i> , <i>3-O-methylquercetin</i> . Kelima senyawa termetilasi mampu menghambat sel Kanker usus besar ( <i>HCT-116</i> , and <i>noncancerous, HEK-293</i> )                                                                                                                                                         |

### **III. METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian dimulai dari bulan Juni 2023 sampai September 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Instrumen dan Tugas Akhir Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi.

#### **3.2 Bahan dan Peralatan**

##### **Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian memiliki kualitas pro analisis dari Merck yaitu kuersetin,, dimetil sulfat (DMS), natrium hidroksida (NaOH), Etil Asetat, KBr dan Aquades.

##### **Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah labu leher tiga, penangas minyak, Stiter, Ph meter, Termometer, Refluks, Melting point, Pipa Kapiler Plat KLT, spektrofotometer Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) dan spektrofotometer Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) dan Instrumen NMR.

#### **3.3 Metode Kerja**

##### **Sintesis senyawa**

Metilasi menggunakan reagen dimetil sulfat dengan pemanasan (refluks) yang dimodifikasi dari peneltian (Yulinda et al., 2013). Metilasi kuersetin dilakukan dengan cara melarutkan 0,4 g (0,01 mmol) NaOH kedalam 0,8 ml akuades hingga larut. Setelah itu, kuersetin sebanyak 0,302 g (0,001 mmol) dilarutkan dengan 0,8 ml DMSO, lalu dimasukkan ke dalam labu dan diaduk hingga kuersetin larut. Lalu di refluks selama 30 menit 40° C. lalu Dimetilsulfat (DMS) sebanyak 1,261 mL (0,01 mmol) dimasukkan ke dalam corong tetes dan ditambahkan ke dalam labu tetes demi tetes. Setelah penambahan DMS selesai, campuran diaduk kemudian secara perlahan-lahan suhu dinaikkan hingga mencapai 100° C. Selanjutnya campuran direfluks dengan Variasi Waktu 1, 3, 4 Jam. Campuran hasil kemudian didinginkan dan di rekristalisasi menggunakan Etanol. Produk yang diperoleh kemudian ditimbang.

##### **Uji Kemurnian Senyawa**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Disiapkan pelat KLT berukuran 1x5 cm dengan batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm sehingga didapatkan jarak tempuh eluen 3,5 cm. Selanjutnya dibuat eluen dengan membandingkan pelarut organik dengan kepolaran bertingkat. Sampel ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler pada batas bawah pelat, dilakukan elusi dengan menggunakan fase gerak. Proses dihentikan setelah fase gerak mencapai batas atas pelat.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan noda di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm.

Uji  $\text{FeCl}_3$ . Disiapkan larutan kuersetin dan kristal hasil sintesis dengan variasi 2, 3, 4 jam menggunakan pelarut DMSO. Ditetaskan 3 tetes masing-masing variasi dengan kontrol positif. Ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  masing-masing sebanyak 3 tetes.

#### **Karakterisasi senyawa**

Spektrofotometer FTIR. 0,2 g pelet KBr ditambahkan 1 tetes sampel kemudian dikeringkan dan diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*)**

Persiapan hewan uji larva *Artemia salina* Leach. Telur *Artemia salina* L. sebanyak 1 gr dimasukkan kedalam wadah pembiakkan yang berisi air laut buatan sebanyak 2 L dan telah dilengkapi dengan aerator dan lampu 40-60 watt. Dilakukan proses aerasi selama 48 jam agar telur menetas membentuk larva (naupli) yang siap untuk digunakan sebagai hewan uji. Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 40 gr garam dalam 2 L air kemudian disaring.

Persiapan larutan uji. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Dibuat larutan induk 1000 ppm dengan cara menimbang 20 mg senyawa uji dimasukkan kedalam labu ukur 20 ml lalu diterakan dengan pelarut etil asetat. Untuk membuat konsentrasi 100 ppm, dipipet 2 ml larutan induk 1000 ppm, dimasukkan kedalam labu ukur 20 ml kemudian diterakan dengan etil asetat. Dan untuk konsentrasi 10 ppm, dipipet 0,2 ml larutan induk 1000 ppm, dimasukkan kedalam labu ukur 20 ml kemudian diterakan dengan etil asetat.

Uji antikanker. Disiapkan vial uji 10 ml, kemudian masing-masing larutan uji dipipet 1 ml diambil dari konsentrasi induk. Selanjutnya ditambahkan 10 ekor larva *Artemia Salina* L. yang telah berumur 2 hari, kemudian ditambahkan air laut hingga volume mencapai 5 ml, Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengujian ini dilakukan selama 24 jam kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup dari setiap vial, lalu dihitung dengan analisa probit untuk menentukan  $\text{LC}_{50}$ .

### 3.4 Analisis Data

#### Analisis Rendemen Sintesis

Analisis data hasil Sintesis dihitung rendemen dengan berat hasil Teoritis dan Hasil Percobaan dengan Rumus Berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat hasil Percobaan}}{\text{Berat hasil Teoritis}} \times 100 \%$$

#### Analisis data hasil Metilasi

Data yang diperoleh diuji menggunakan kromatografi lapis tipis dan hasil karakterisasi spektra FT-IR dan spektra H-NMR. Data hasil KLT berupa noda dan nilai RF digunakan untuk mengetahui apakah senyawa telah termetilasi semua. Data hasil karakterisasi Identifikasi gugus fungsi utama yang terbentuk dianalisis menggunakan FT-IR pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Untuk mengidentifikasi senyawa jumlah proton dan karbon senyawa target menggunakan H-NMR.

#### 3.4.2 Analisis data hasil BSLT

Analisis data dilakukan dengan melihat kematian larva *Artemia Salina* L pada setiap konsentrasi. Kemudian dihitung % mortalitas dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah contoh larva uji}} \times 100 \%$$

Dengan mengetahui kematian larva *Artemia salina*, kemudian dicari nilai probit melalui table dan dibuat persamaan garis

$$Y = a + bX$$

Keterangan : Y = nilai probit

A = intercept (garis potong)

B = slope (kemiringan regresi)

X = Logaritma konsentrasi

Nilai  $\text{LC}_{50}$  berdasarkan tingkat toksisitas dari 500-1000  $\mu\text{g/ml}$  rendah, nilai  $\text{LC}_{50}$  100-500  $\mu\text{g/ml}$  toksik dan nilai  $\text{LC}_{50}$  dari 0-100  $\mu\text{g/ml}$  sangat toksik. Semakin kecil nilai  $\text{LC}_{50}$  maka semakin berpotensi sebagai kandidat senyawa antikanker

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Pada penelitian ini telah dilakukan metilasi Kuersetin dengan pereaksi dimetilsulfat pada suhu 100 °C dalam pelarut DMSO dengan katalis basa NaOH. Pengamatan dilakukan pada selang waktu refluks selama 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Lama reaksi dimulai sejak terlihatnya tetesan pada pipa refluks dan dihitung selesai seperti batas waktu yang telah ditentukan, yakni 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Senyawa hasil sintesis yang didapatkan kemudian diuji kemurniannya dan dikarakterisasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), Uji FeCl<sub>3</sub> dan spektrofotometri infra merah, yang setelah itu diprediksi aktivitas antikankernya terhadap kanker payudara melalui pendekatan in vitro menggunakan BSLT.

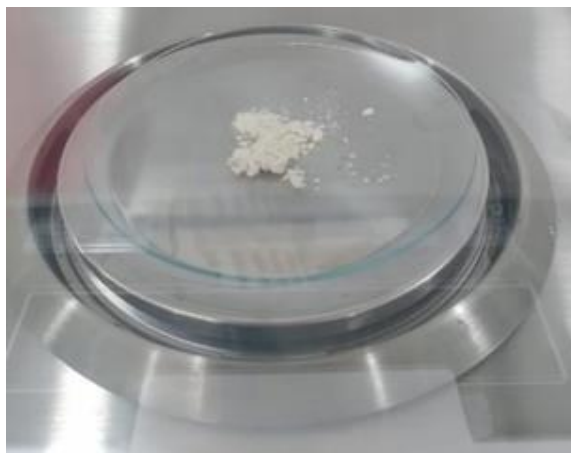
##### 4.1 Sintesis Senyawa

Sintesis dilakukan menggunakan metode refluks. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung (Zweifel *et al.*, 2006). Prinsip reaksi metilasi dilakukan melalui reaksi S<sub>N</sub>2 dimana reaksi awal terbentuk ion metoksida oleh NaOH dan ion metoksida akan mengalami reaksi substitusi nukleofilik dengan DMS menghasilkan senyawa Kuersetin termetilasi. Sintesis senyawa O-Metil Kuersetin dilakukan secara substitusi nukleofilik dengan menggunakan katalis NaOH dan agen metilasi DMS pada suhu 100 °C, dengan variasi waktu 2, 3 dan 4 jam.

Pada reaksi metilasi, NaOH berfungsi sebagai pemberi suasana basa dan juga sebagai katalis pada sampel sintesis. Hal ini karena gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena pada suasana basa akan mudah melepaskan atom hidrogen, sehingga atom oksigen yang tidak stabil akan menyerang dan berikatan dengan gugus metil pada saat kuersetin bereaksi dengan dimetilsulfat (Ulma *et al.*, 2018). Pemilihan DMSO sebagai pelarut adalah karena DMSO merupakan pelarut polar aprotik, yakni pelarut yang tidak dapat mensolvasi anion sehingga tidak menghalangi reaksi yang terjadi antara bentuk ion material awal dengan dimetilsulfat. Sedangkan pemilihan dimetilsulfat sebagai agen metilasi adalah karena dimetilsulfat memiliki reaktivitas yang tinggi dengan harganya yang terjangkau dan memang umum dipakai dalam metilasi fenol.

Tahapan awal sintesis terlebih dahulu dihitung berat stoikiometri dari setiap bahan yang akan digunakan pada saat reaksi sebelum di refluks. Setelah refluks dengan variasi waktu yang berbeda. Setelah dilakukan reaksi refluks selanjutnya dilakukan pendinginan. Dimana pendinginan ini berfungsi agar pembentukan endapan semakin cepat dan banyak. Sejalan dengan dilakukan

pendinginan hasil refluks juga di Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT ini berfungsi sebagai uji awal apakah telah Kristal yang terbentuk sudah satu noda atau telah murni. Hasil refluks yang telah didinginkan memiliki endapan berwarna putih.



**Gambar 5.** Hasil Sintesis Metilasi Kuersetin

**Tabel 3.** Hasil Sintesis Metilasi Kuersetin

| Waktu (Jam) | Berat (gr) |
|-------------|------------|
| 2           | 0,1563     |
| 3           | 0,2500     |
| 4           | 0,1046     |

Berdasarkan hasil sintesis diatas diketahui bahwa waktu optimal sintesis ditunjukkan pada waktu 3 jam, sedangkan pada waktu 4 jam mengalami penurunan berat. Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh keefektifan dalam proses sintesis. Menurut Wibowo *et al.*, (2015) faktor-faktor yang mempegaruhi sintesis antara lain waktu reaksi, katalis reaksi dan temperatur sintesis.

#### **4.2 Uji Kemurnian Senyawa**

##### **Uji Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis merupakan salah satu Uji dalam Sintesis untuk melihat kemurnian. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam penelitian pada umumnya untuk pemisahkan senyawa kimia dan biokimia secara rutin (Rosamah 2019). Pada penelitian ini dilakukan KLT menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran cukup rendah dikarenakan senyawa target merupakan semi polar antara lain :



(a)



(b)

**Gambar 6.** Hasil KLT Sintesis (a) DCM (6) : Aseton (4) dan (b) DCM

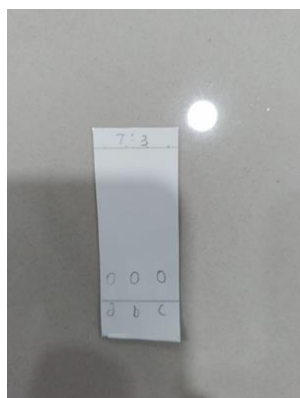
Dari hasil KLT didapatkan DCM : Aseton Terdapat 2 Noda yang berekor hal ini disebabkan belum murninya Kristal yang didapat dan DCM memiliki Noda yang berekor dimana bisa disimpulkan bahwa kristal yang tersebut masih memiliki pengotor pada kristal. Berdasarkan hasil KLT yang didapatkan diperlukan rekristalisasi untuk memurnikan senyawa.

Rekristalisasi merupakan teknik pemurnian suatu zat padat dari pengotor dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (Pinalla, 2011). Prinsip dasar dari proses rekristalisasi adalah perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan zat pengotornya. Dalam penelitian ini digunakan etanol sebagai pelarut rekristalisasi, Digunakan etanol karena tidak mengurangi komposisi kristal dan merusak hasil yang didapatkan.

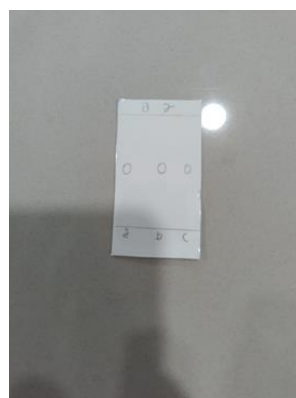
**Tabel 4.** Data Rekristalisasi dan hasil Rendemen

| Waktu (Jam) | Berat Sebelum<br>(gr) | Berat Setelah<br>(gr) | Rendemen |
|-------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| 2           | 0,1563                | 0,1206                | 32,42 %  |
| 3           | 0,2500                | 0,2132                | 57,31 %  |
| 4           | 0,1046                | 0,0898                | 24,14 %  |

Dari hasil yang didapatkan berat sebelum dan setelah di rekristalisasi memiliki berat yang menurun. Hal ini bisa disimpulkan bahwa kotoran yang terdapat pada kristal telah dimurnikan. Selain itu, sintesis metilasi kuersetin yang optimum adalah variasi waktu 3 jam.



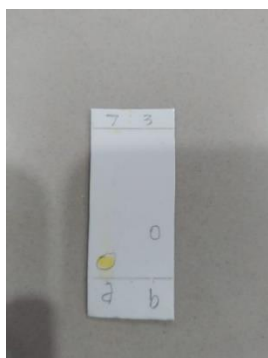
(A)



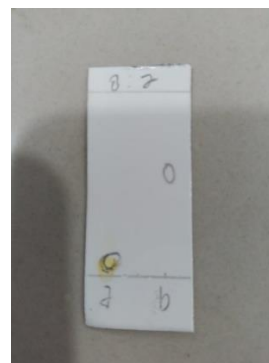
(B)

**Gambar 7.** Hasil KLT setelah Rekristalisasi (A) Etil Asetat : n- Heksan (7:3) (a) Sintesis 2 jam, (b) sintesis 3 jam, (c) sintesis 4 jam, (B) Etil Asetat : n- Heksan (8:2) (a) Sintesis 2 jam, (b) sintesis 3 jam, (c) sintesis 4 jam

Dari hasil KLT etil asetat (7) : n-heksan (3) dan etil asetat (8) : n-heksan (2) memiliki satu noda yang sama untuk ketiga variasi. Bisa disimpulkan hasil rekristalisasi menunjukkan hasil yang baik dimana terdapat satu noda pada yang menunjukkan kristal yang dihasilkan dikatakan sudah murni tanpa ada pengotor. Panjang noda yang sama juga menunjukkan kristal yang terbentuk dari hasil sintesis merupakan satu senyawa yang sama.



(A)



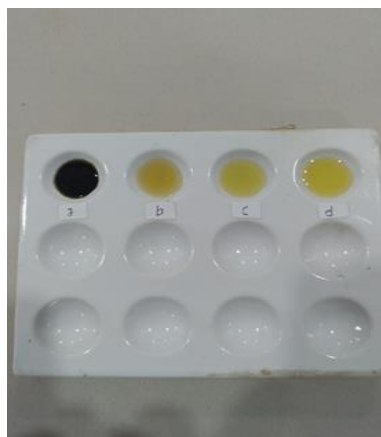
(B)

**Gambar 8.** Perbandingan KLT kuersetin dan hasil sintesis (A) etil asetat : n- heksan (7:3) dan (B) etil asetat : n-heksan (8:2)

Dari hasil perbandingan KLT antara senyawa kuersetin (a) dan kuersetin setelah metilasi (b) menunjukkan terjadinya reaksi metilasi pada kuersetin yang ini ditunjukkan dengan perbedaan noda yang dihasilkan. Kuersetin lebih terikat di fase diam dikarenakan memiliki sifat yang lebih polar dibandingkan senyawa hasil sintesis.

### Uji $\text{FeCl}_3$

Uji  $\text{FeCl}_3$  yang bertujuan untuk mengetahui kemurnian hasil reaksi. Uji  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  (Listiana *et al.*, 2022). Perubahan warna hijau kehitaman terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks antara fenol dengan  $\text{FeCl}_3$  (Ikalinus *et al.*, 2015). Ion  $\text{Fe}^{3+}$  yang mengalami hibridisasi reaksi  $\text{FeCl}_3$  dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini (Manongko *et al.*, 2020). Uji  $\text{FeCl}_3$  ini dilakukan karena pada kuersetin yang merupakan material awal memiliki gugus  $-\text{OH}$  fenolik. Pada penelitian ini, didapatkan hasil negatif yang dimana ketika ditambahkan  $\text{FeCl}_3$ , tidak terjadi reaksi berupa timbulnya warna hijau kehitaman yang berarti gugus  $(-\text{OH})$  fenolik sudah tidak ada lagi pada sampel hasil metilasi. Hasil reaksi dapat dilihat pada gambar berikut :



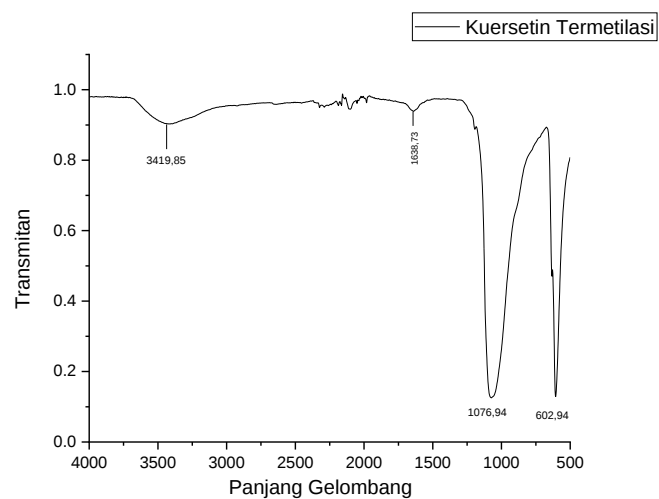
**Gambar 9.** Uji  $\text{FeCl}_3$  (a) Kuersetin, (b) Sintesis 2 jam, (c) Sintesis 3 jam, (d) Sintesis 4 jam

Dari hasil yang didapatkan untuk ketiga menghasilkan hasil yang negatif ditandai dengan perubahan warna yang tidak sesuai dengan literatur dengan perubahan warna berturut-turut kuning dan kuning kehijauan. Hal ini menandakan terjadinya reaksi metilasi pada kuersetin.

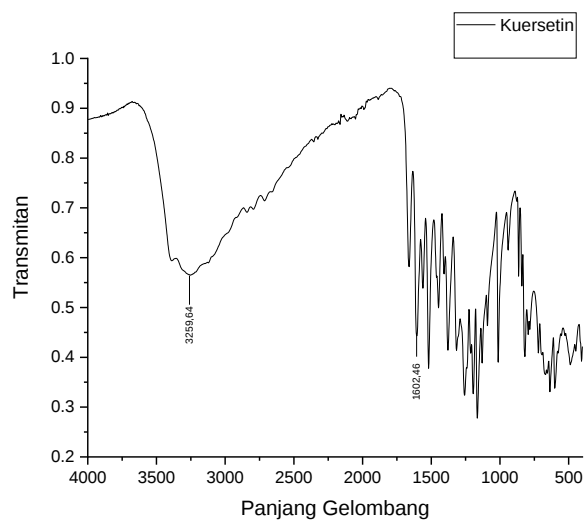
### 4.3 Karakterisasi Senyawa

#### Uji FTIR

Salah satu karakterisasi biasanya menggunakan FTIR. Penggunaan FTIR dilakukan untuk melihat apakah terjadi reaksi metilasi pada senyawa kuersetin. Hasil spektrum infra merah menunjukkan terjadinya metilasi jika terbentuk panjang gelombang  $1100-1000\text{ cm}^{-1}$  menandakan adanya serapan gugus fungsi metoksi. Berdasarkan hasil serapan infra merah didapatkan hasil sebagai berikut.



(a)



(b)

**Gambar 10.** Grafik FTIR (a) FTIR hasil Sintesis, (b) FTIR Kuersetin

**Tabel 5.** Perbandingan Panjang gelombang FTIR

| Bilangan Gelombang<br>(a) hasil Sintesis               | Gugus Fungsi    | Bilangan Gelombang<br>(b) Kuersetin | Gugus Fungsi    |
|--------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------|
| 3419,85 cm <sup>-1</sup>                               | Hidroksil (-OH) | 3259,64 cm <sup>-1</sup>            | Hidroksil (-OH) |
| 1638,73 cm <sup>-1</sup>                               | C=C(Aromatik)   | 1602,46 cm <sup>-1</sup>            | C=C(Aromatik)   |
| 1076,49cm <sup>-1</sup> dan<br>602,94 cm <sup>-1</sup> | Eter            |                                     |                 |

Menurut Alauhdin et al., (2021) 3550-3200 cm<sup>-1</sup> merupakan bilangan gelombang gugus fungsi hidroksil, 2000-1600 cm<sup>-1</sup> bilangan gelombang C=C (Aromatik), 1100-1000 cm<sup>-1</sup> bilangan gelombang eter dan 1000-400 cm<sup>-1</sup>

merupakan daerah sidik jari. Berdasarkan data diatas terdapat persamaan pada serapan gugus fungsi hidroksil (-OH) dan C rangkap (Aromatik) sedangkan, perbedaan serapan infra merah pada hasil sintesis didapatkan gugus fungsi eter pada panjang gelombang  $1076,49\text{ cm}^{-1}$  dan  $602,94\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan terjadinya metilasi pada senyawa kuersetin.

Berdasarkan hasil FTIR serapan gugus hidroksil pada senyawa hasil sintesis memiliki luas transmitan yang kecil dibandingkan senyawa kuersetin. Hal ini bisa disimpulkan masih terdapat gugus hidroksil yang belum termetilasi. Berdasarkan penelitian uji kualitatif FTIR bisa dihitung dengan menggunakan perbandingan luas transmitan standar dan zat yang diketahui (Sari *et al.*, 2018). Dari luas transmitan yang didapatkan untuk kuersetin memiliki transmitan kisaran 0,91-0,56 abs dan hasil sintesis memiliki transmiran kisaran 0,97-0,90 abs. hasil luas transmitan jika dibandingkan maka didapatkan terdapat satu gugus hidroksil pada kuersetin belom termetilasi. Berdasarkan penelitian Bouktaib *et al.*, (2002) nilai reaktivitas gugus (-OH) maka untuk gugus yang tidak termetilasi adalah gugus pada posisi 3. gugus (-OH) pada posisi 3 adalah yang paling tahan terhadap metilasi karena ikatan hidrogen intramolekulnya yang kuat dengan gugus kuersetin (Tatsuzaki *et al.*, 2018).

#### 4.4 Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*)

Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*) merupakan uji yang bertujuan untuk melihat apakah senyawa aktif yang terkandung memiliki potensi sebagai antikanker. Uji menggunakan udang *Artemia Salina* Leach. BSLT sendiri merupakan suatu bioassay pertama untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik (Kusmiyati *et al.*, 2014). Langkah pertama dalam uji ini ialah penyiapan air garam dengan mencampurkan aquades dan garam laut. Air garam disiapkan berfungsi sebagai media penetasan larva udang.

Larutan uji terdiri dari senyawa kuersetin dan senyawa hasil sintesis dengan masing-masing variasi konsentrasi antara lain 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm untuk masing-masing larutan uji sehingga terdiri dari 6 sampel yang diamati (Triplo). Pembuatan larutan uji dengan melarutkan kedua sampel menggunakan pelarut air, hal ini dimaksudkan karena air mengganggu terjadinya reaksi dan senyawa hasil sintesis larut dalam pelarut air.

**Tabel 6.** Hasil BSLT

| Sampel             | LC <sub>50</sub> (ppm) | Keterangan  |
|--------------------|------------------------|-------------|
| Kuersetin          | 82,054                 | Sangat Kuat |
| Kuersetin Metilasi | 122,954                | Kuat        |

Berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa nilai  $LC_{50}$  dari kuersetin hasil yang didapatkan kuersetin metilasi memiliki kemampuan sebagai anti kanker. Berdasarkan hasil yang didapatkan kuersetin metilasi memiliki kemampuan antikanker yang sangat baik. Berdasarkan literatur nilai  $LC_{50}$  dibawah 500 ppm termasuk kategori toksik (Abasa dan Ishak, 2023). Hasil senyawa metilasi turun disebabkan karena senyawa kuersetin termetilasi pada semua gugus hidroksil. menurut massi *et al.*, (2017), kehadiran gugus OH posisi 5 memiliki peranan penting dalam penghambatan kanker. Hasil  $LC_{50}$  hasil sintesis memiliki nilai yang lebih rendah hal ini bisa disebabkan metilasi pada posisi 5 yang menyebabkan turunnya nilai BSLT. Hal ini disebabkan gugus hidroksil pada posisi 5 memiliki energy bebas ikatan yang rendah dan mampu berikatan dengan reseptor antikanker (Putra *et al.*, 2019). Sehingga, jika termetilasi akan menurunkan kemampuan aktivitas antikanker.

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan Penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian jumlah rendemen yang dihasilkan sintesis selama 2, 3, 4 jam berturut-turut adalah 32,42 %, 57,31 % dan 24,14 %. Sintesis metilasi kuersetin yang optimum adalah variasi waktu 3 jam.
2. Karakterisasi infra merah O-metilkuersetin panjang gelombang 1638,73  $\text{cm}^{-1}$  merupakan penyerapan untuk C rangkap Aromatik dan bilangan 1076,49  $\text{cm}^{-1}$  dan 602,94  $\text{cm}^{-1}$  merupakan penyerapan untuk gugus fungsi eter. Dan luas transmisi kisaran 0,97-0,90 abs. Sehingga, kuersetin termetilasi terdapat empat hidroksil termetilasi dan gugus hidroksil termetilasi adalah gugus hidroksil pada posisi 3.
3. Aktivitas antikanker O-metilkuersetin memiliki kemampuan antikanker yang sangat baik, dengan nilai  $\text{LC}_{50}$  sebesar 122,954 ppm. Rentang nilai dibawah 500 ppm bisa dikatakan baik (toksik).

### **5.2 Saran**

Sebaiknya dalam penelitian hendaknya memperdalam faktor-faktor sintesis dan mengembangkan ruang lingkup sintesis seperti variasi konsentrasi dan suhu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abasa, S dan P. Ishak. 2023. "Uji toksisitas akut Ekstrak Etanol daun Senggani (*Melastoma polyanthum* Bl.) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)". *PAPS Journal*. Vol 2(1) : 24-29.
- Alauhdin, M., W. T. Eden dan D. Alighiri. 2021. "Aplikasi spektroskopi inframerah untuk analisis tanaman dan obat herbal". *Inovasi Sains dan Kesehatan*. Artikel
- Arifin, B dan S. Ibrahim. 2018. "Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavanoid". *Jurnal Zarah*. Vol. 6 (1) : 21-29.
- Aryanti, I. F. K dan J. Susilo. 2022. "Aktivitas Quercetin sebagai Penghambat Sar-Cov2 Kajian Molekular Docking pada 3CLpro, PLpro, DAN NSP3". *Indonesian Journal of pharmacy and Natural*. Vol 5 (2): 97-107.
- Astawan, M dan A. L. Kasih. 2008. *Khasiat Warna-warni Makanan*. Jakarta : Gramedia.
- Asnawati, D. 2015. "Methylation Of Eugenol Using Dimethyl Carbonate and Bentonite As Catalyst". *Indonesia Journal Chemistry*. Vol 15 (3) : 256 – 262.
- Azhari, D. 2015. Identifikasi interaksi padatan pada sistem biner kuersetin-nikotinamida. *Diploma thesis* : Universitas Andalas.
- Baghel, S. S., N. Shrivastava., R. S. Baghel. 2016. "A review of quercetin : Antioxidant and anticancer properties". *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 1(1):146-60.
- Bruice, P. 2016. *Organic Chemistry 8th Edition*. California : pearson
- Bouktaib, M., A. Atmani., C. Rolando. 2002. "Regio- and stereoselective synthesis of the major metabolite of quercetin, quercetin-3-O- $\beta$ -d-glucuronide". *Tetrahedron Letters*. Vol 43 (35) : 6263-6266.
- Cahyono, B., C. S. Prihantini., M. Suzery dan D. N. Bima. 2020. "Penentuan Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin dan Ekstrak Lengkuas Menggunakan HPLC dan UV-Vis ". *Journal of chemistry*. Vol 8 (2): 24-32.
- Cao, H., X. Jing, ., D. Wu dan Y. Shi. 2013. "Methylation Of Genistein And Kaempferol Improves Their Affinities For Proteins". *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. Vol 64(1): 437–443.
- Clayden, J., N. Greeves dan S. Warren. 2001. *Organic Chemistry Second Edition*. Oxford : University of Oxford.
- Dajas, F. 2012 . "Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin". *Journal Ethnopharmacol*. Vol 143(2): 83–96.
- Fannyda, R. 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Medang Perawas (*Litsea Odorifera* Val.) Terhadap Tukak Lambung Mus *Musculus* Dan Karakterisasi Gugus Fungsi Dengan Spektroskopi FTIR. *Skripsi* : Universitas Bengkulu.
- Fesseden, R. J. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta : Erlangga.
- Ikalinus, R., S. K. Widyastuti dan N. L. E. Setiasih. 2015. "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*)". *Indonesia Medicus Veterinus*. Vol 4(1) : 71-79.
- Jusuf, E. 2010. "kandungan kuersetin dan pola proteomik varietas jambu batu (*Psidium guajava* L.) tumbuh liar dikawasan cibinong, bogor quercetin content and proteomic profile of guava (*Psidium guajava* L.) varieties wild growing in cibinong, bogor district". *Berita Biologi*. Vol 10 (3) : 401- 415.
- Juvale, K., K. Stefan., M. Wiese. 2013. "Synthesis and biological evaluation of flavones and benzoflavones as inhibitors of BCRP/ABCG2". *Europe Journal Mediciene Chemical*. Vol 67(1) : 115–126.
- Kanwar, A.S. 2007. "Brine Shrimp (*Artemia salina*) Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays". *Chinese Clinical Medicine*. Vol 2 (4): 35-42.
- Kim, D. H., B. G. Kim., Y. S. Lee., J. Y. Ryu., Y. H. Lim., H. G. Hur dan J. H. Ahn. 2005. "Regiospecific methylation of naringenin to ponciretin by soybean

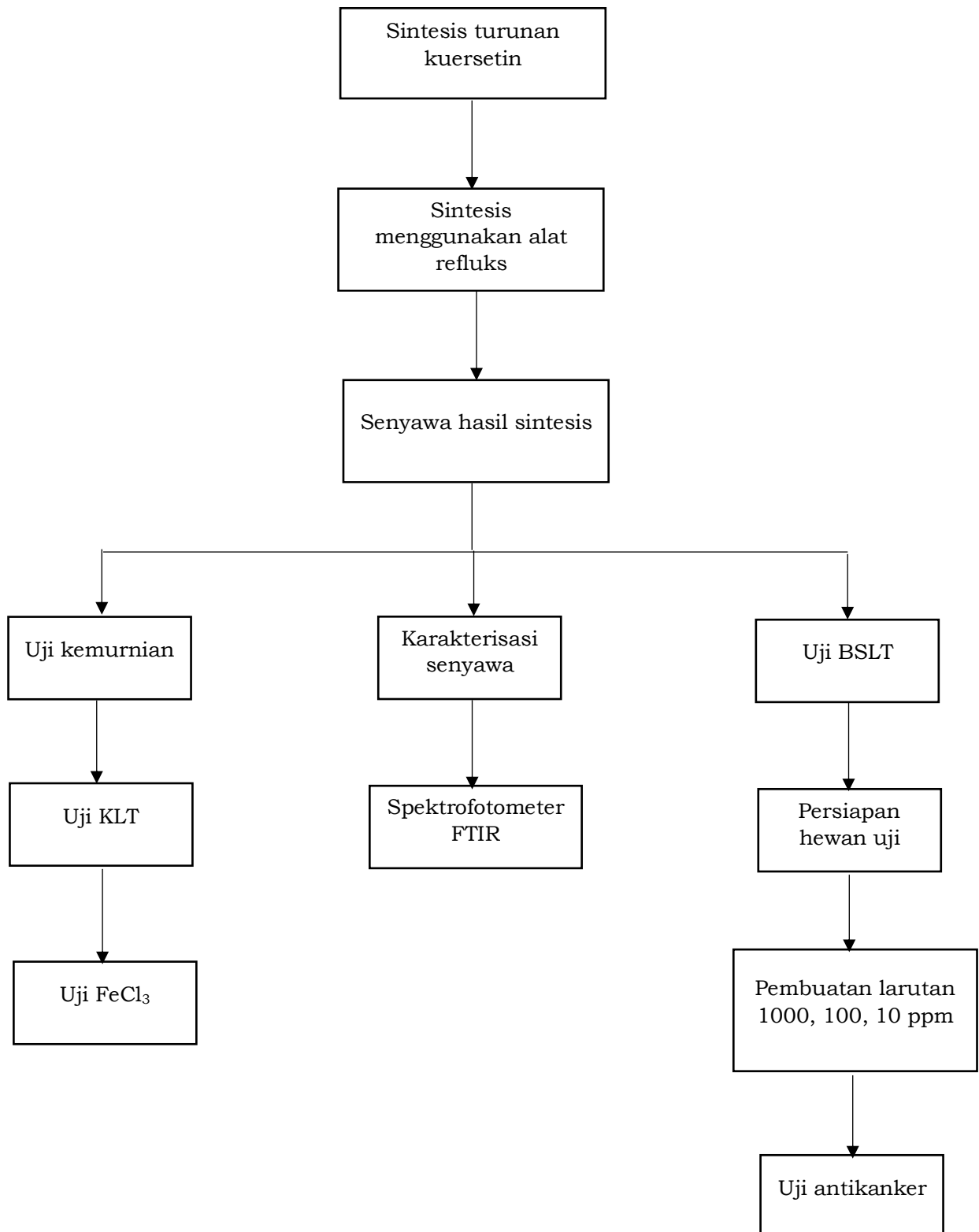
- O-methyltransferase expressed in *Escherichia coli*". *Journal of Biotechnology*. Vol 119 (1) :155–162.
- Kusmiati., E. Gangga dan E. Irmawati. 2014. "Uji aktivitas antimikroba dan toksisitas dengan metode bslt serta penapisan fitokimia ekstrak Daun Alamanda (*Allamanda cathartica* L.)". *Proceeding Biology Education Conference*. Vol 11 (1) : 131 – 137.
- Kusuma, A. W., N. A. Nurulita dan D. Hartanti. 2010. "Efek sitotoksik dan antiproliferatif kuersetin pada sel kanker kolon widr". *Pharmacy*. Vol.7 (3) : 107-122.
- Kusuma, M. P. H. 2012. Sintesis Senyawa Metil O-metoksibenzoit dari komponen Utama Minyak Gandapura melalui reaksi metilasi. *Skripsi* : Universitas Brawijaya Malang.
- Latief, M., I. L. Tarigan., P. M. Sari dan F. E. Aurora. 2021. "Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol 18(1): 23-36.
- Lidyawati. 2012. "Studi Reaksi O-Metilasi Eugenol Dengan Metanol Menggunakan Katalis Zeolit KNAX". *Skripsi* : Jakarta.
- Listiana, L., P. Wahlanto., S. S. Ramadhani dan R. Ismail. 2022. "Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr) Perasan Dan Rebusan Dengan Spektrofotometer UV-Vis". *Pharmacy Genius*. Vol 1 (1) : 62 – 73.
- Lesjak, M., I. Beara., N. Simin., D. Pintać., T. Majkić., K. Bekvalac., D. Orčić dan N. M. Dukić. 2018. "Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives". *Journal of Functional Foods*. Vol 40 (1) : 68 – 75.
- Magar, R. T dan J. K. Sohng. 2020. "A Review on Structure, Modifications and Structure-Activity Relation of Quercetin and Its Derivatives". *Journal Microbiology Biotechnology*. Vol 30(1): 11-20.
- Manongko, P. S., M. S. Sangi dan L. I. Momuat. 2020. "Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.)". *Jurnal MIPA*. Vol 9(2) : 64-69
- Marzouk, M. M. 2016. "Flavonoid constituents and cytotoxic activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce growing wild in Egypt". *Arabian Journal of Chemistry*. Vol
- Massi, A., O. Bortolini., D. Ragno., T. Bernardi., G. Sacchetti., M. Tacchini dan C. D. Risi. 2017. "Research Progress in the Modification of Quercetin Leading to Anticancer Agent". *Molecules*. Vol 22(1270) : 1 -27.
- McMurry, J. 2008. *Organic Chemistry seventh Edition*. America: Divisionof Thomson Learning.
- Miyazawa, M., Y. Okuno., S. Nakamura dan H. Kosaka. 2000. "Antimutagenic Activity of Flavonoids from *Pogostemon cablin*". *Journal agriculture food chemistry*. Vol. 48 (1) : 642 – 647.
- Mukhtar, M. H., A. Z. Adnan dan M. W. Pitra. 2007. "Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Metode Uji Brine Shrimp Lethality Bioassay". *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*. Vol 12(1): 1-4.
- Mohammed, H. A., S. A. Almahmoud., E. S. M. El-Ghaly., F. A. Khan., A. H. Emwas., M. Jaremko., F. Almulhim., R. A. Khan dan E. A. Ragab. 2022. "Comparative Anticancer Potentials of Taxifolin and Quercetin Methylated Derivatives against HCT-116 Cell Lines: Effects of O-Methylation on Taxifolin and Quercetin as Preliminary Natural Leads". *ACS Omega*. Vol 7 (50): 46629–46639.
- Morrinson R, T dan R. N. Boyd. 2002. *Organic Chemistry*. New Delhi: Prentice – Hall of India.
- Nurfithiah, S. F., K. Jayanti., Rofikoh., B. A. Putri., T. Trisnawati., R. Putri., S. S. Oktavia., M. Y. Alkandahri., S. Amal., D. Frianto dan M. Arfania. 2021.

- "Aktivitas Antipiretik dari beberapa senyawa aktif". *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol 1(3): 14-20.
- Pandey, R. P., P. Parajuli., L. L. Chu., S. Darsandhari dan J. K. Sohng. 2015. "Biosynthesis of amino deoxy-sugar-conjugated flavonol glycosides by engineered *Escherichia coli*". *Biochemical Engineering Journal*. *Biochemical Engineering Journal*. Vol 101 (1) : 191-199.
- Pavia, L. D., G. M. Lampman dan G. S. Kriz. 2009. *Introduction to Spektroskopi Third Edition*. New York : Thomson Learning.
- Pinalla, A. 2011. "Penentuan metode Rekristalisasi yang tepat untuk meningkatkan kemurnian kristal Amonium Perklorat (AP)". *Majalah Sains dan Teknologi Dirgantara*. Vol 6(2) : 64 – 70.
- Putra, D. P., A. M. Miftah dan D. H. Effendi. 2019. "Studi *In Silico* Interaksi Senyawa Kuersetin Terhadap Reseptor Kanker Insulin Like Growth Factor 1 (Igr-1)". *Prosiding Farmasi*. Vol 5(2) : 249-255.
- Perwira, G., Kasmui dan S. Hadisaputro. 2015. "Analisis hubungan kuantitatif struktur aktivitas antioksidan senyawa turunan Apigenin". *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol 4 (3) : 213-216.
- Rahman, A., I. Mahardika., R. D. Saputri. T. S. Tjahjandarie dan M. Tanjung. 2020. "Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Kuersetin dari kulit batang *Melicope quercifolia*". *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol. 2 (4) : 413-417.
- Rastini, M. B. O., N. K. M. Giantari., K. D. Adnyani dan N. P. L. Laksmiani. 2019. "Molecular docking aktivitas antikanker dari kuersetin terhadap kanker payudara secara *in silico*". *Journal of Chemistry*. Vol 13 (2): 180-184.
- Rippey, J. C. R dan M. I. Stallwood. 2005. "Nine cases of accidental exposure to dimethyl sulphate a potential chemical weapon". *Emergency Medicine Journal*. Vol 22(1) : 878-879.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Belajar.
- Rosamah, E. 2019. *Kromatografi Lapis Tipis*. Samarinda : Mulawarman University.
- Sari, N. W., M. Y. Fajri dan W. Anjas. 2018. "Analisis fitokimia dan gugus fungsi dari ekstrak etanol pisang Goroho Merah (*Musa Acuminata* (L))". *IJOBB* Volume 2 (1) : 30-34.
- Sastrohamidjojo, H. 2018. *Dasar-dasar Spektroskopi*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Shi, Z. H., N. G. Li., Y. P. Tang., Q. P. Shi., Tang H, Li W, Zhang X, Fu HA, Duan JA. 2014. "Biological evaluation and SAR analysis of O-methylated analogs of quercetin as inhibitors of cancer cell proliferation". *Europe PMC*. Vol 75(7):455-462.
- Smith A, J., J. Oertle., D. Warren., D. Prato. 2016. "Quercetin: A Promising Flavonoid with a Dynamic Ability to Treat Various Diseases, Infections, and Cancers". *Journal Cancer Ther*. Vol 7(7): 83-95.
- Smith, M. B. 1994. *Organic Synthesis*. New York : McGraw Hill.
- Soemarie, Y. B. 2016. "Uji Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin Kulit Bawang Merah (*allium cepa* L.) pada Mencit Putih Jantan (*mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. Vol 1(2): 163-172.
- Solomon, G. T. W dan C. B. Fryhke. 2011. *Organic Chemistry 10<sup>th</sup> edition*. New York : John Wiley and Sons.
- Sukardiman., R. Abdul, R., Nadia, F.P. 2004. "Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cf. planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif". *Majalah Farmasi Airlangga*. Vol. 4(3):1-4.
- Sunarni., Iskanto dan Suhartinah. 2003. "Uji Toksisitas dan Anti Infeksi Ekstrak Etanol Buah *Brucea sumatrana* Roxb. Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. dan *Staphylococcus aureus*". *Biosmart*. Vol 5 (4): 65-67.
- Sweetman, S. C. 2009. *The complete Drug Reference (36<sup>th</sup> ed)*. London : the Pharmaceutical Press

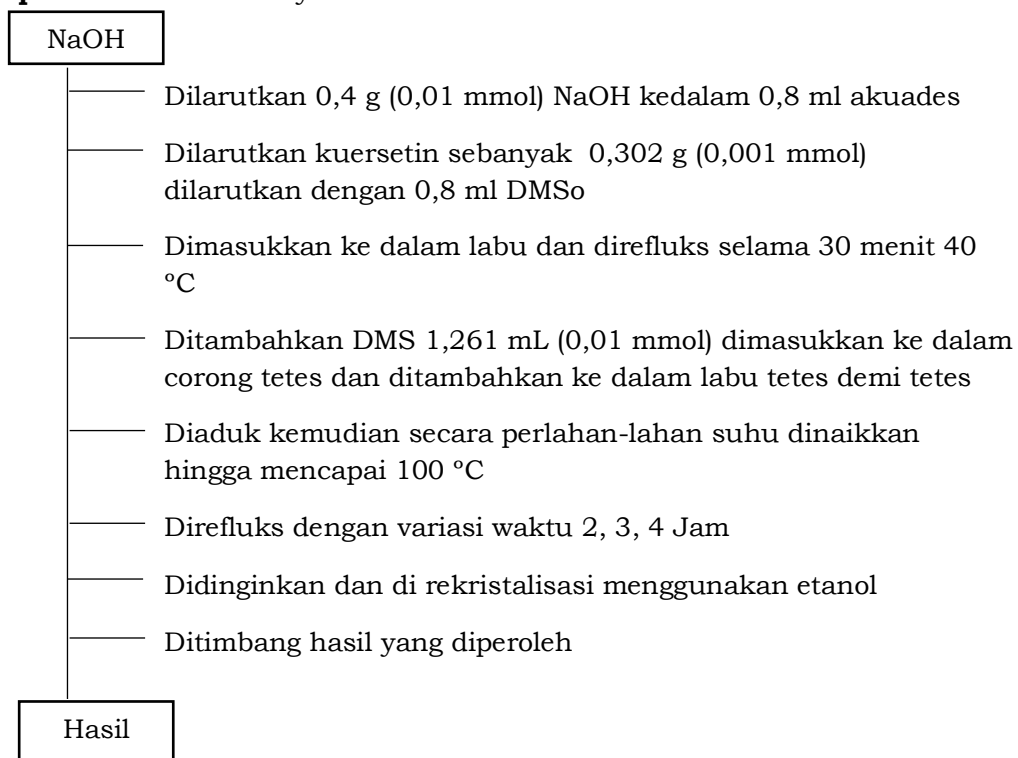
- Syofyan., H. Lucida H dan Bakhtiar, A. 2008. Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan  $\beta$ -siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Vol. 13 : 43 – 48.
- Tatsuzaki, J., T. Ohwada., Y. Otani., Inagi dan T. Ishikawa. 2018. "A simple and effective preparation of quercetin pentamethyl ether from quercetin". *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. Vol 14 (1) : 3112-3121.
- Tundo, P., 2001. "New Developments in Dimethyl Carbonate chemistry". *Pure & Appl. Chem*. Vol 73 (7): 1117-1124.
- Triana, A. 2022. Studi aktivitas antidiabetes senyawa bioaktif dari fraksi metanol daun sungkai (*peronema canescens jack*) secara in vivo dan in vitro. *Skripsi* : Universitas Jambi.
- Ulma, Z., E. Rahayuningsih dan T. D. Wahyuningsih. 2018. "Pengaruh Katalis NaOH Terhadap Proses Metilasi Senyawa Brazilein Pada Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan linn*)". *Jurnal Teknik Terapan*. Vol 1 (1) : 1 – 4.
- Utari, D. A. P., N. P. R. Anggreni., P. R. J. Putri dan N. P. L. Laksmiani. 2021. "Aktivitas Kuersetin sebagai Antihipertensi secara *in silico*". *Jurnal Ilmiah Medicamento*. Vol 7 (1): 71-76.
- Wang, Q., J. Jin., N. Dai., N. Han., J. Han dan B. Bao. 2016. "Anti inflammatory, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*". *Journal of food and Drug Analysis*. Vol 24 (1) : 385 -391.
- Wisudyaningih, B. 2019. Rekayasa Kristal Kuersetin Dengan Pembentukan Kokristal Kuersetin-Isonikotinamida Sebagai Upaya Peningkatan Kelarutan Dan Laju Disolusi. *Disertasi thesis*. Universitas Airlangga.
- Warren, S. G. 1992. *Organic Synthesis the Disconnection Approach*. New York : John Wiley and sons.
- Yamauchi, K., T. Mitsunaga., M. Inagaki dan T. Suzuki. 2014. "Synthesized quercetin derivatives stimulate melanogenesis in B16 melanoma cells by influencing the expression of melanin biosynthesis proteins MITF and p38 MAPK". *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Vol 22(13) : 3331 – 3340.
- Yang, L., B. Xu., H. Ye., F. Zhao dan B. Zeng. 2017. "A novel quercetin electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(para-aminobenzoic acid) on 3D Pd nanoparticles-porous graphene-carbon nanotubes composite". *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol. 252 (1): 660-668.
- Yuan, J., I. L. K. Wong., T. Jiang., S. W. Wang., T. Liu., B.J.Wen., L.M.C. Chow dan S. B.Wan. 2012. "Synthesis of methylated quercetin derivatives and their reversal activities on P-gp- and BCRP-mediated multidrug resistance tumour cells". *Eur. J. Med. Chem*. vol 54 (1): 413-422.
- Yulinda, L. R., T. D. Wahyuningsih dan H. D. Pranowo. 2013. "Metilasi Asam Galat menggunakan Agen Metilasi Dimetil Sulfat (DMS) atau Dimetil Karbonat (DMC)". *Berkala MIPA*. Vol 23(2) : 198-210.
- Zweifel, G. S., M. H. Nantz dan P. Somfai. 2006. *Modern Organic Synthesis*. New York : Willey.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Skema Penelitian

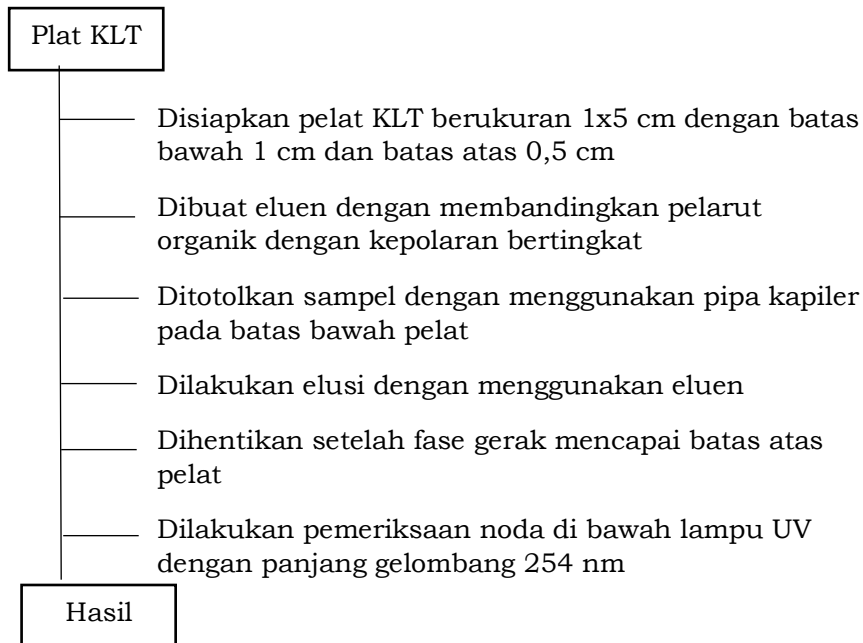


## Lampiran 2. Sintesis Senyawa

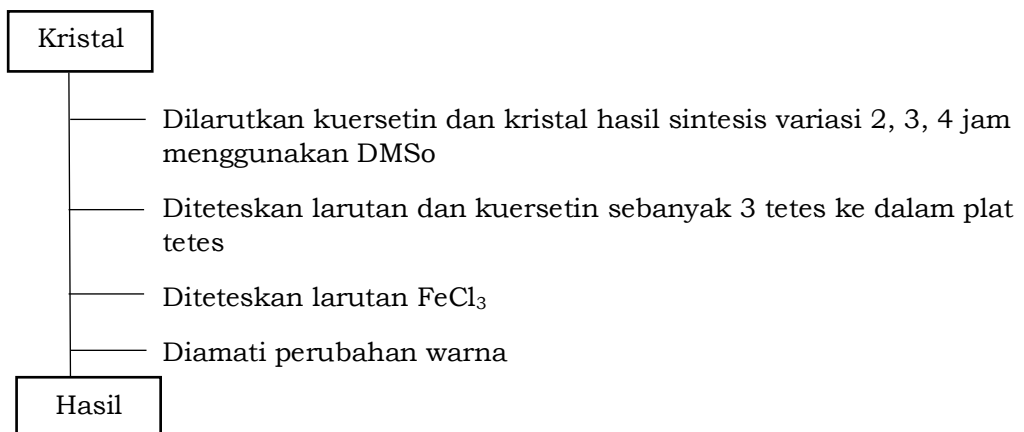


### Lampiran 3. Kemurnian senyawa

#### - Uji KLT

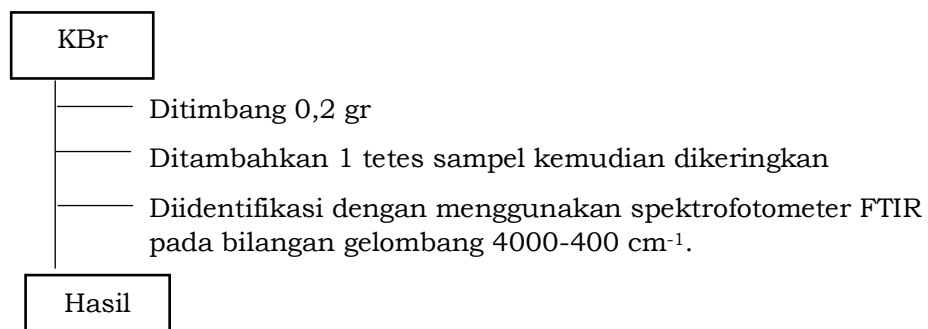


#### - Uji FeCl<sub>3</sub>



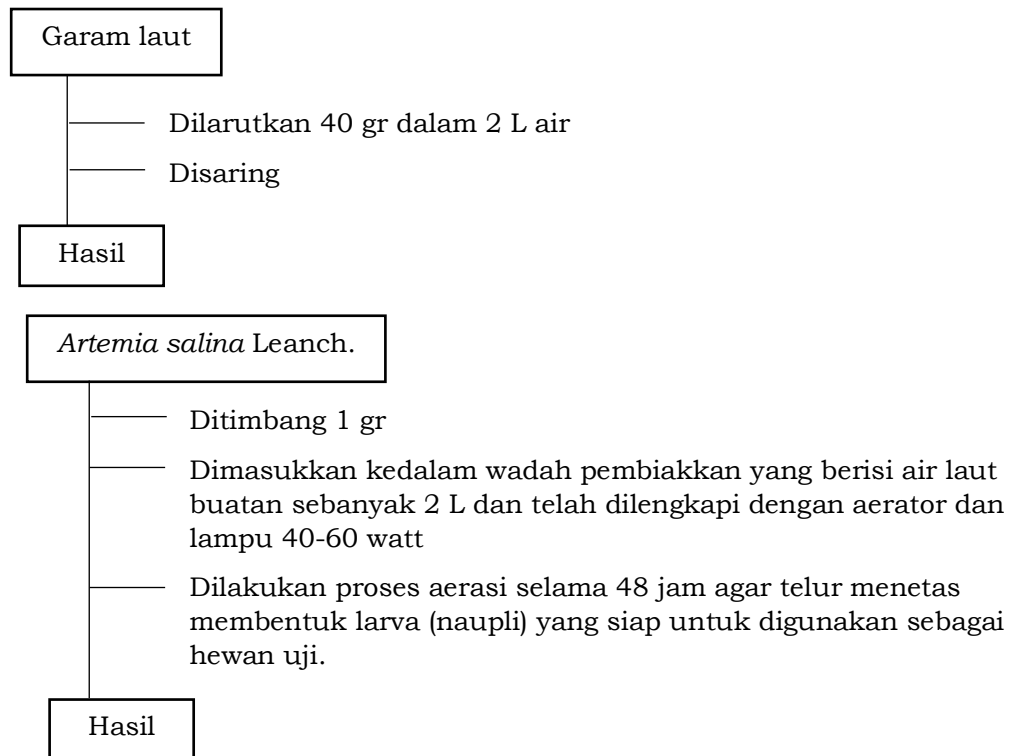
**Lampiran 4.** Karakterisasi Senyawa

- Uji FTIR

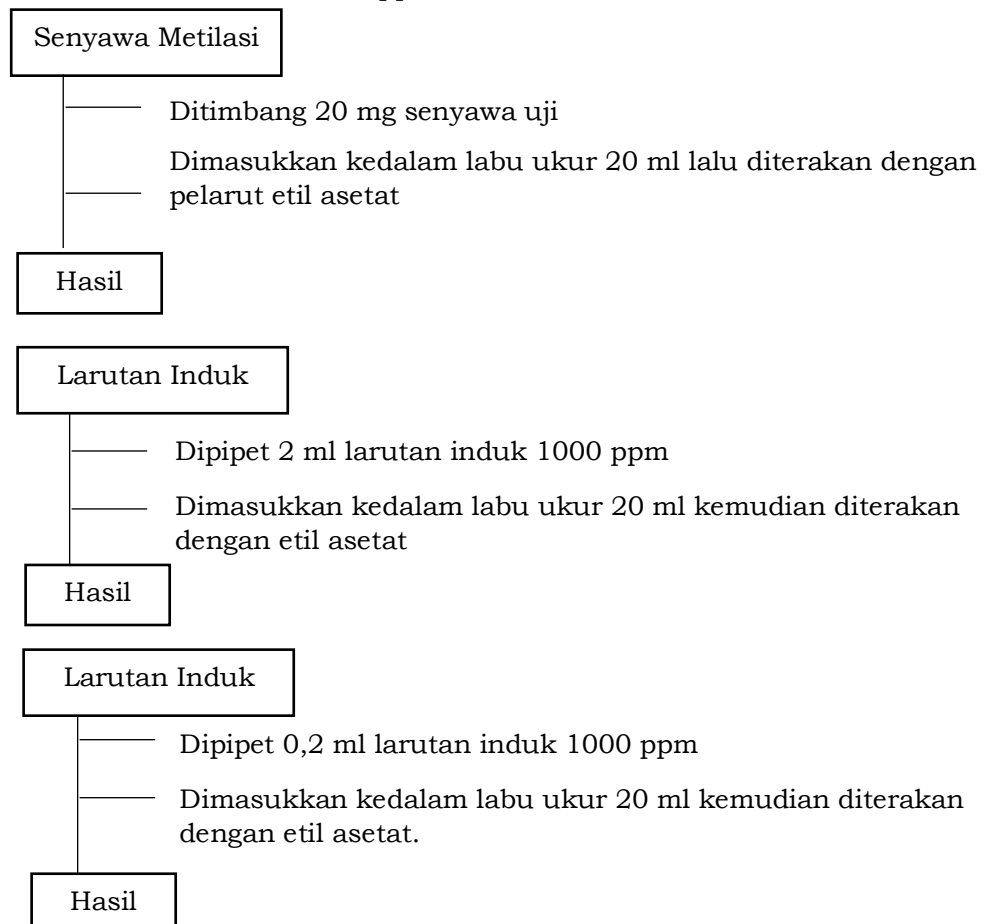


### Lampiran 5. Uji BSLT

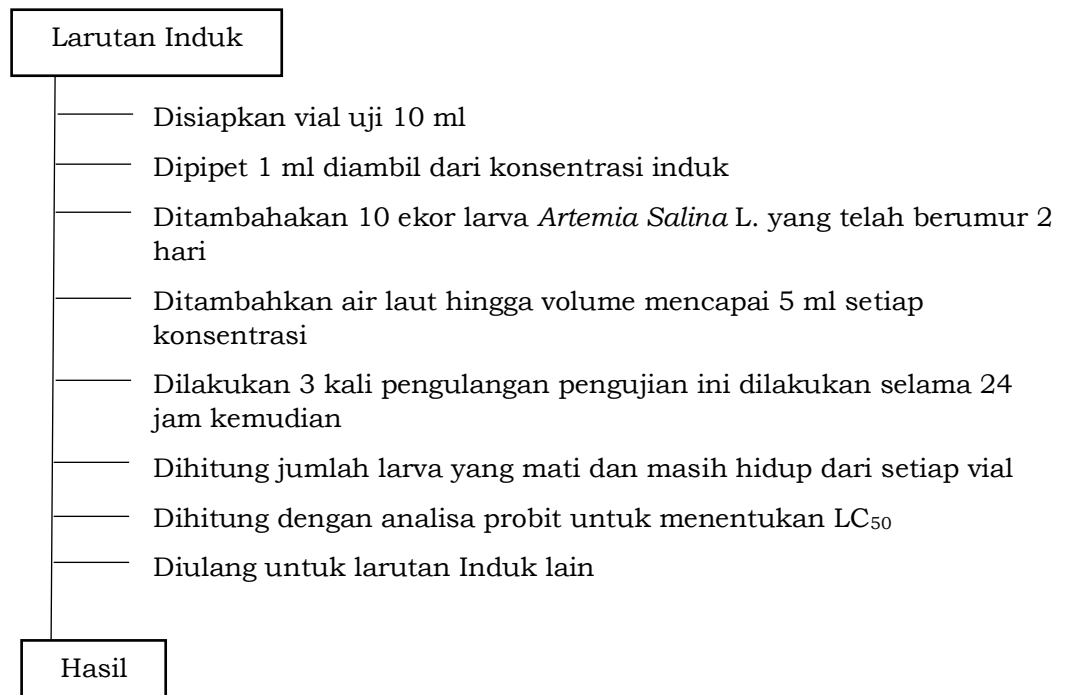
#### - Persiapan hewan uji



#### - Pembuatan larutan 1000, 100, 10 ppm



- Uji AntiKanker



## Lampiran 6. Perhitungan

- Reagen sintesis
- gr Kuersetin  
 $\text{gr} = 0,001 \times 302,236$   
 $= 0,302 \text{ gr}$
- gr DMS  
 $\text{gr} = 0,01 \times 126,13$   
 $= 1,261 \text{ gr}$
- gr DMSO  
 $\text{gr} = 0,001 \times 78,13$   
 $= 0,781 \text{ gr}$
- gr NaOH  
 $\text{gr} = 0,01 \times 40$   
 $= 0,4 \text{ gr}$

|           |          |         |   |          |
|-----------|----------|---------|---|----------|
|           | C15H10O7 | C2H6O4S | → | C19H18O7 |
| Mula-mula | 0,001    | 0,01    |   |          |
| Bereaksi  | 0,001    | 0,001   |   | 0,001    |
| Sisa      |          | 0,009   |   | 0,001    |

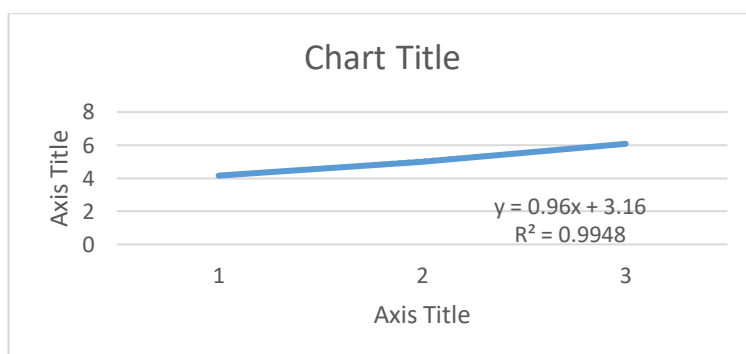
- Nilai Rendemen
- Berat teoritis  
 $\text{mol} = \frac{\text{gr}}{\text{mr}}$   
 $0,001 \text{ mol} = \frac{\text{gr}}{372 \text{ mol/gr}}$   
 $\text{gr} = 0,372 \text{ gr}$
- Variasi 2 jam  
 $\text{Rendemen} = \frac{0,1206 \times 100\%}{0,372}$   
 $= 32,42 \%$
- Variasi 3 jam  
 $\text{Rendemen} = \frac{0,2132 \times 100\%}{0,372}$   
 $= 57,31 \%$
- Variasi 4 jam  
 $\text{Rendemen} = \frac{0,0898 \times 100\%}{0,372}$   
 $= 24,14 \%$
- Luas Transmittan Kuersetin  
 $0,97 \text{ abs} - 0,90 \text{ abs} = 0,07 \text{ abs}$
- Luas Transmittan Hasil Sintesis  
 $0,91 \text{ abs} - 0,56 \text{ abs} = 0,35 \text{ abs}$
- larutan Uji
- $1000 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ mg}}{\frac{20 \text{ ml}}{2 \text{ ml}}}$
- $100 \text{ ppm} = \frac{1000}{20 \text{ ml}}$
- $10 \text{ ppm} = \frac{0,2 \text{ ml}}{20 \text{ ml}}$

- Menghitung  $LC_{50}$
- $LC_{50}$  Kuersetin
  - $Y = ax + b$
  - $y = 5$
  - $a = 0,96$
  - $b = 3,16$
  - $x = 1.916667$
  - $LC_{50} = 10^{1,96667}$
  - $LC_{50} = 82,54042$

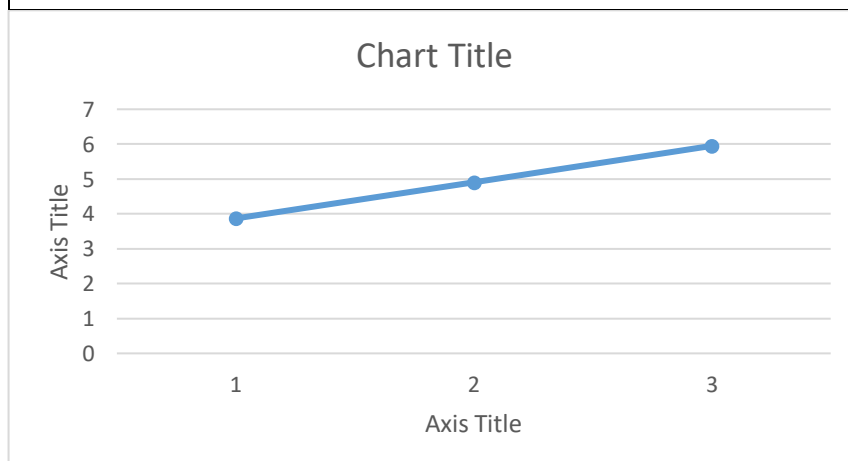
- $LC_{50}$  Kuersetin Metilasi
  - $Y = ax + b$
  - $y = 5$
  - $a = 1,04$
  - $b = 2,8267$
  - $x = 2,08971$
  - $LC_{50} = 10^{2,08971}$
  - $LC_{50} = 122,945$

**Lampiran 7.** Hasil uji BSLT

| Konsentrasi Uji | Log Konsentrasi | Jumlah larva uji | Jumlah Larva yang mati |   |   | Rata-rata | Persen kematian | Prohibit as |
|-----------------|-----------------|------------------|------------------------|---|---|-----------|-----------------|-------------|
|                 |                 |                  | 1                      | 2 | 3 |           |                 |             |
| 10              | 1               | 10               | 2                      | 2 | 2 | 2         | 20              | 4.16        |
| 100             | 2               | 10               | 5                      | 5 | 5 | 5         | 50              | 5           |
| 1000            | 3               | 10               | 9                      | 8 | 9 | 8.67      | 86.667          | 6.08        |
| LC50 = 82.54042 |                 |                  |                        |   |   |           |                 |             |



| Konsentrasi Uji | Log Konsentrasi | Jumlah Larva | Jumlah Larva yang mati |   |   | Rata-rata | Persen Kematian | Prohibit as |
|-----------------|-----------------|--------------|------------------------|---|---|-----------|-----------------|-------------|
|                 |                 |              | 1                      | 2 | 3 |           |                 |             |
| 10              | 1               | 10           | 2                      | 2 | 0 | 1.333     | 13.333          | 3.87        |
| 100             | 2               | 10           | 4                      | 5 | 5 | 4.667     | 46.6667         | 4.9         |
| 1000            | 3               | 10           | 8                      | 9 | 8 | 8.333     | 83.3333         | 5.95        |
| LC50 = 122.945  |                 |              |                        |   |   |           |                 |             |



## Lampiran 8. Dokumentasi



Refluks kuersetin dengan DMS



KLT hasil sintesis



Pendinginan hasil sintesis



Penyaringan hasil sintesis



Penimbangan hasil sintesis



Penyaringan hasil rekristalisasi



Penimbangan hasil rekristalisasi



Uji titik leleh



Penyiapan larva *Artemia salina*



Penyiapan botol uji antikanker



Uji antikanker