

SKRIPSI

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN
5-AMINOPIRAZOL SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR
*HUMAN CARBONIC ANHYDRASE II***



RAHMANTO ARYABRAGA RUSDIPOETRA

**PROGRAM STUDI S1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SKRIPSI

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN
5-AMINOPIRAZOL SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR
*HUMAN CARBONIC ANHYDRASE II***



RAHMANTO ARYABRAGA RUSDIPOETRA

**PROGRAM STUDI S1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

i

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN
5-AMINOPIRAZOL SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR
HUMAN CARBONIC ANHYDRASE II**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh

Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia

pada Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Oleh:

Rahmanto Aryabraga Rusdipoetra

NIM 081811533021

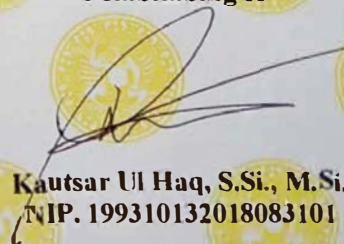
Disetujui oleh :

Pembimbing I



**Dr. Hery Suwito, M.Si.
NIP.196303081987011001**

Pembimbing II



**Kautsar Ul Haq, S.Si., M.Si.
NIP. 199310132018083101**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Desain Dan Sintesis Senyawa Turunan 5-Aminopirazol
Sebagai Kandidat Inhibitor *Human Carbonic Anhydrase*
II

Penyusun : Rahmanto Aryabraga Rusdipoetra

NIM : 081811533021

Pembimbing I : Dr. Hery Suwito, M. Si.

Pembimbing II : Kautsar Ul Haq, M. Si.

Tanggal Seminar : 27 Juli 2022.

Disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Hery Suwito, M.Si.
NIP.196303081987011001

Pembimbing II



Kautsar Ul Haq, S.Si., M.Si.
NIP.199310132018083101

Mengetahui,

Ketua Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Mohammad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D.
NIP. 198307022009121005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penulis dan harus menyebutkan sumbernya sesuai dengan kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “Desain Dan Sintesis Senyawa Turunan 5-Amino Pirazol Sebagai Kandidat Inhibitor *Human Carbonic Anhydrase II*”. Naskah skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana pada pendidikan sarjana sains dalam bidang kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Dalam penyusunan dan penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada semua pihak yang telah membimbing, membantu dan mendukung, khususnya kepada:

1. Dr. Hery Suwito, M.Si., selaku dosen pembimbing I atas waktu, motivasi, arahan, nasehat serta dorongan selama penyusunan naskah skripsi ini.
2. Kautsar Ul Haq, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing II atas waktu, motivasi, arahan, nasehat serta dorongan selama penyusunan naskah skripsi ini.
3. Mohamad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D., selaku Ketua Departemen Kimia dan Koordinator Program Studi S-1 Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. Drs. A. Budi Prasetyo, M.T., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, saran, dan arahan dalam penyusunan naskah skripsi ini.
5. Staff dosen dan karyawan yang telah memberikan bantuan, saran, dan nasihat dalam pelaksanaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
6. Ayah, ibu, kakak dan keluarga besar yang telah memberikan motivasi, dukungan, doa, nasehat, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi ini.
7. Rekan-rekan angkatan 2018 yang telah memberikan banyak bantuan dan doa untuk kelancaran penulisan naskah skripsi ini serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari dalam tulisan naskah skripsi ini masih belum sempurna sehingga kritik serta saran sangat diharapkan demi sempurnanya naskah skripsi ini. Semoga penulisan naskah skripsi tersebut dapat bermanfaat.

Surabaya, 27 Juli 2022

Penyusun

Rahmanto Aryabraga Rusdipoetra

Aryabraga R, Rahmanto, 2022, “Desain Dan Sintesis Senyawa Turunan 5-Aminopirazol Sebagai Kandidat Inhibitor *Human Carbonic Anhydrase II*”, Skripsi di bawah bimbingan Dr.Hery Suwito, M.Si dan Kautsar Ul Haq, S.Si, M.Si., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Enzim *hCA II* merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi pembentukan ion bikarbonat dari gas karbondioksida. Ekspresi enzim *hCA II* yang berlebihan pada penderita diabetes dapat berujung pada penyakit gagal jantung serta meningkatnya spesi oksigen reaktif/*Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh. Untuk itu, didesain senyawa sulfonamida dengan gugus pirazol untuk mengatasi hal tersebut. Turunan senyawa 5-amino pirazol MT-1 dan MT-2 yang dipilih dari penapisan virtual disintesis melalui 3 tahap dan dikarakterisasi dengan spektroskopi IR dan NMR. Kalkulasi secara *Density-Functional Theory* (DFT) dilakukan pada reaksi tahap 1 dan tahap 2 untuk mendapatkan kajian termodinamika dan kinetika reaksi. Adanya reaksi hidrolisis pada senyawa intermediet membuat gugus 5-amino pirazol tidak terbentuk. Senyawa turunan semikarbazon yang terbentuk dari tahapan reaksi yang didesain dianalisis secara *in-vitro* dan *in-silico*. Uji kemampuan antioksidan dengan reagen DPPH menunjukkan jika turunan senyawa semikarbazon MT-2 dengan gugus katekol memiliki kemampuan peredaman yang lebih baik dibanding trolaks sebagai standar, yakni dengan nilai TEAC 3,71. Kalkulasi secara DFT pada struktur radikal yang dimiliki oleh MT-2 menunjukkan jika gugus 4-OH pada katekol berperan dalam proses peredaman radikal bebas.

Kata Kunci : Enzim *hCA II*, ROS, 5-aminopirazol, Semikarbazon, DPPH

Aryabraga R, Rahmanto, 2022, “Design And Synthesis of 5-Aminopyrazole Compound Derivatives As Candidate of *Human Carbonic Anhydrase II* Inhibitor“, The script was under the guidance of Dr. Hery Suwito, M.Si. and Kautsar Ul Haq, S.Si, M.Si., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University.

ABSTRACT

The *hCA II* enzyme is an enzyme that catalyzes the reaction for the formation of bicarbonate ions from carbon dioxide gas. Overexpression of the enzyme *hCA II* in diabetics can lead to heart failure and reactive oxygen species (ROS) generation in the body. For this reason, a sulfonamide compound with a pyrazole group was designed to overcome this problem. The 5-amino pyrazole derivatives MT-1 and MT-2 selected from virtual screening were synthesized in 3 steps and characterized by IR and NMR spectroscopy. Density-Functional Theory (DFT) calculations were carried out for step 1 and step 2 reactions to obtain a study of thermodynamics and reaction kinetics. The presence of a hydrolysis reaction in the intermediate compound prevented the 5-aminopyrazole group from being formed. Semicarbazone derivative compounds formed from the designed reaction steps were analyzed in-vitro and in-silico. Antioxidant ability test with DPPH reagent showed that the semicarabazone derivative compound MT-2 with catechol groups had a better damping ability than trolox as standard, with a TEAC value of 3.71. DFT calculations on the radical structure of MT-2 show that the 4-OH group in the catechol plays a role in the process of reducing free radicals.

Keyword : *hCA II* enzyme, ROS, 5-aminopyrazole, Semicarbazone, DPPH

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Rahmanto Aryabraga Rusdipoetra
NIM : 081811533021
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

Desain Dan Sintesis Senyawa Turunan 5-Aminopirazol Sebagai Kandidat Inhibitor *Human Carbonic Anhydrase II*

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 11 Juli 2022



Rahmanto Aryabraga Rusdipoetra

NIM. 081811533021

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Human Carbonic Anhydrase (<i>hCA</i>)	9
2.1.1 Keanekaragaman karbonat anhidrase pada manusia	10
2.1.2 <i>Human carbonic anhydrase II (hCA II)</i>	12
2.2 Sulfonamida sebagai Inhibitor Enzim Karbonat Anhidrase (CAI)	13
2.3 Senyawa Turunan Pirazol	16
2.3.1 Struktur dan aktivitas senyawa turunan pirazol	16
2.3.2 Sintesis senyawa turunan pirazol	17
2.4 Radikal Bebas dan Antioksidan	19
2.4.1 Mekanisme kerja antioksidan	19
2.4.2 Kuantifikasi potensi antioksidan	21
2.5 <i>Molecular Docking</i>	22
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2 Alat dan Bahan	24

3.2.1	Alat	24
3.2.2	Bahan.....	25
3.3	Diagram Alir Penelitian	26
3.4	Prosedur Penelitian.....	27
3.4.1	<i>Molecular docking</i>	27
3.4.2	Sintesis molekul target turunan pirazol sulfonamida	29
3.4.3	Penentuan struktur molekul intermediat dan target.....	31
3.4.4	Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal DPPH	32
3.4.5	Investigasi aktivitas peredaman radikal secara teoritis	33
3.4.6	Investigasi mekanisme reaksi pembentukan reaktan.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		37
4.1	Hasil Investigasi Molecular Docking.....	37
4.1.1	Hasil validasi parameter <i>docking</i> pada enzim hCA II.....	37
4.1.2	Hasil <i>docking</i> Ligan Kandidat pada Enzim hCA II.....	40
4.2	Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Tahap 1 dan Tahap 2	44
4.2.1	Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Tahap 1	44
4.2.2	Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Tahap 2	53
4.3	Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Target MT-1	61
4.4	Rasionalitas Desain Obat Senyawa Turunan Semikarbazon pada Enzim hCA II	66
4.5	Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Target MT-2	68
4.6	Analisis interaksi secara Molecular Docking senyawa target MT-1 dan MT-2 pada sisi aktif enzim hCA II	72
4.7	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Target menggunakan reagen DPPH	74
4.8	Hasil Analisis Reaksi Peredaman Radikal Senyawa Target MT-2 secara in-silico.....	76
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		79
5.1	Kesimpulan.....	79
5.2	Saran	79
DAFTAR PUSTAKA.....		81
LAMPIRAN.....		90

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil nilai <i>gridscore</i> terhadap enzim hCA II	40
4.2	Hasil KLT 3 sistem eluen senyawa tahap 1	45
4.3	Hasil analisis bilangan gelombang yang teramati pada senyawa tahap 1	46
4.4	Hasil analisis spektra ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa tahap 1	47
4.5	Nilai faktor koreksi penerowongan kuantum dan konstanta laju reaksi pada struktur transisi	52
4.6	Hasil KLT 3 sistem eluen senyawa tahap 2	55
4.7	Hasil analisis bilangan gelombang yang teramati pada senyawa tahap 2	55
4.8	Hasil analisis spektra ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa tahap 2	57
4.9	Nilai faktor koreksi penerowongan kuantum dan konstanta laju reaksi pada struktur transisi	60
4.10	Hasil KLT 3 sistem eluen senyawa tahap MT-1	61
4.11	Hasil analisis bilangan gelombang yang teramati pada senyawa MT-1	63
4.12	Hasil KLT 3 sistem eluen senyawa tahap MT-2	69
4.13	Hasil analisis bilangan gelombang yang teramati pada senyawa MT-2	70
4.14	Daftar nilai <i>gridscore</i> dan interaksi yang dimiliki senyawa target pada enzim hCA II	73
4.15	Nilai BDE dan struktur radikal senyawa MT-2	78

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
1.1	Senyawa inhibitor karbonat anhidrase (CAI) yang dijual bebas sebagai obati anti glaukoma	2
1.2	Beberapa turunan benzensulfonamida yang telah diteliti sebagai senyawa kandidat CAI	3
1.3	Struktur beberapa turunan pirazol yang telah dijual secara komersial sebagai obat (7 dan 8) dan yang telah dilaporkan memiliki potensi sebagai CAI (9 dan 10)	4
1.4	Kerangka dasar struktur molekul target yang akan disintesis	5
1.5	Analisis retrosintesis senyawa target	5
1.6	Tahapan reaksi dalam sintesis senyawa target	6
2.1	Skema representatif dari proses reaksi katalisis enzim karbonat anhidrase pada hidrasi karbon dioksida (keterangan: B = residu basa)	9
2.2	Distribusi subseluler isoform hCA yang aktif secara katalitik	10
2.3	Struktur beberapa isoform hCA yang telah dikristalkan beserta kode PDB nya	11
2.4	Struktur kristal hCA II (PDB: 3D92). kiri: Struktur penuh hCA II, kanan: Sisi aktif hCA II yang terisi dengan substrat karbon dioksida, merah = residu hidrofilik, biru = residu hidrofobik, hijau = residu histidin	12
2.5	Skema representatif desain CAI berdasarkan pendekatan ekor	14
2.6	Skema representatif interaksi turunan sulfonamida dengan sisi aktif hCA II, (a) sulfonamida, (b) benzenasulfonamida	15
2.7	Beberapa senyawa turunan benzenasulfonamida yang telah dilaporkan dapat berpotensi sebagai CAI	15
2.8	Struktur umum senyawa pirazol	16
2.9	Beberapa senyawa turunan pirazol yang memiliki aktivitas biologis	17
2.10	Sintesis pirazol Knorr	17
2.11	Sintesis pirazol menggunakan enon	18

2.12	Sintesis 5–aminopirazol tanpa katalis	18
2.13	Sintesis turunan 5-aminopirazol-4-karbonitril dengan katalis asam(atas) dan basa(bawah)	18
2.14	Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan (AO-H)	21
3.1	Diagram alir penelitian secara keseluruhan	26
3.2	Alur proses molecular docking	27
4.1	Struktur Ligan Asli pada Kode PDB 5N0E	37
4.2	Hasil validasi parameter docking. (Kiri) Kotak Simulasi yang digunakan untuk proses docking. (Kanan) Pose ligan asli secara kristalografi (coklat) dan pose ligan asli hasil re-docking (biru)	38
4.3	Visualisasi interaksi ligan asli dengan enzim hCA II secara 3 dimensi	38
4.4	Visualisasi interaksi ligan asli dengan enzim hCA II secara 2 dimensi	39
4.5	Visualisasi secara 2 dimensi interaksi ligan kandidat ke-12 pada sisi aktif enzim hCA II	41
4.6	Visualisasi interaksi ligan VS 18 pada sisi aktif enzim hCA II secara 3 dimensi dan 2 dimensi	42
4.7	Visualisasi secara 3d perbandingan interaksi ligan asli (hijau) dengan ligan kandidat, yakni ligan kandidat ke-12 (biru) dan ke-18 (pink) pada sisi aktif enzim hCA II. Bagian hidrofobik dan hidrofilik enzim berturut-turut divisualisasikan dengan warna merah dan biru	43
4.8	Struktur ligan kandidat yang dipilih untuk disintesis	44
4.9	Hasil Kontrol reaksi menggunakan KLT dengan sistem eluen kloroform : etil asetat (1:8). Keterangan : S = Sulfanilamida, Sy=Produk	44
4.10	Penomoran atom pada struktur tahap 1	45
4.11	Pergeseran kimia ^1H dan ^{13}C senyawa tahap 1	48
4.12	Mekanisme reaksi adisi nukleofilik pada sintesis senyawa tahap 1	49
4.13	Perbandingan nilai elektrofilitas global dan kekuatan pendonor elektron dari sulfanilamida, anilin, dan 4-metoksianilin.	49
4.14	Profil energi reaksi dari tahap 1 tanpa adanya air sebagai katalis (hitam) dan adanya air sebagai katalis	50

	(biru) yang dihitung pada level teori M06-2X/6-31+G(d,p).	
4.15	Perbandingan geometri struktur transisi reaksi tahap 1 tanpa menggunakan katalis (kiri) dan menggunakan air ssebagai katalis (kanan)	51
4.16	Mekanisme reaksi tahap 1 dengan adanya air sebagai katalis	52
4.17	Reaksi samping yang kemungkinan terjadi pada reaksi tahap 1	53
4.18	Hasil Kontrol reaksi menggunakan KLT dengan sistem eluen kloroform : etil asetat (1:8). Keterangan : U=Senyawa tahap 1, S=Sulfanilamida, P=Produk	54
4.19	Penomoran atom pada struktur tahap 2	56
4.20	Pergeseran kimia ^1H dan ^{13}C senyawa tahap 2	58
4.21	Profil energi reaksi dari tahap 2 yang dihitung pada level teori M06-2X/6-31+G(d,p).	59
4.22	Struktur transisi pembentuk intermediet pada pembentukan senyawa tahap 2.	60
4.23	Pergeseran kimia ^1H dan ^{13}C MT-1	64
4.24	Proses reaksi yang terjadi pada sintesis senyawa MT-1	65
4.25	Mekanisme reaksi pembentukan senyawa MT-1 baru	66
4.26	Siklus terjadinya gagal jantung pada penderita diabetes	67
4.27	Reaksi pembentukan radikal anion superoksida oleh gugus katekol	68
4.28	Struktur senyawa MT-2 baru	78
4.29	Pergeseran kimia ^1H dan ^{13}C MT-2	72
4.30	Visualisasi secara 3d perbandingan interaksi MT-1 (biru) dengan MT-2 (pink) pada sisi aktif enzim hCA II. Bagian hidrofobik dan hidrofilik enzim berturut-turut divisualisasikan dengan warna merah dan biru.	74
4.31	Kurva baku standar senyawa troloks pada pengujian peredaman radikal bebas dengan DPPH	74
4.32	Kurva regresi senyawa MT-2 pada pengujian peredaman radikal dengan DPPH	75

4.33	Konformasi senyawa MT-2 yang memiliki energi bebas paling rendah	76
4.34	Proses delokalisasi yang terjadi pada struktur radikal b dari senyawa MT-2.	77