

SKRIPSI

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN PIRAZOL
SULFONAMIDA SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR
TIROSINASE**



NAHL LAILATUL IHSAN

**PROGRAM STUDI SARJANA KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SKRIPSI

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN
PIRAZOL SULFONAMIDA SEBAGAI KANDIDAT
INHIBITOR TIROSINASE**



NAHL LAILATUL IHSAN

**PROGRAM STUDI SARJANA KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

**DESAIN DAN SINTESIS SENYAWA TURUNAN PIRAZOL
SULFONAMIDA SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR TIROSINASE**

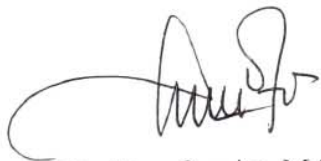
SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Nahl Lailatul Ihsan
081811533062

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 Pirazol Sulfonamida
Sebagai Kandidat Inhibitor Tirosinase

Penyusun : Nahl Lailatul Ihsan

NIM : 081811533062

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

Pembimbing II : Kautsar Ul Haq, S.Si., M.Si.

Tanggal Sidang : 26 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



Mochamad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D.
NIP. 198307022009312100

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 penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, berkah dan hidayah-Nya, sehingga naskah skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Naskah skripsi yang berjudul “*Desain dan Sintesis Senyawa Turunan Pirazol Sulfonamida sebagai Kandidat Inhibitor Tirosinase*” disusun untuk memenuhi salah satu syarat menjadi Sarjana Sains dalam Bidang Ilmu Kimia, Faklutas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu, membimbing dan mendukung, khususnya kepada:

1. Dr. Hery Suwito, M.Si. selaku dosen pembimbing I dan dosen wali yang telah memberikan bimbingan, saran, nasihat, dan perwalian dalam penyusunan naskah skripsi ini dan selama proses perkuliahan.
2. Kautsar Ul Haq, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing II yang bersedia meluangkan waktunya untuk berdiskusi, memberikan bimbingan dan masukan dalam proses penyusunan naskah skripsi ini.
3. Mohamad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Beserta Bapak dan Ibu dosen, dan seluruh tenaga kependidikan Departemen Kimia yang telah memberikan ilmu, nasihat dan pengalaman selama proses perkuliahan di Universitas Airlangga.
4. Bapak, Ibu, dan Adik-adik tercinta sekaligus keluarga besar penulis yang selalu memberikan dukungan dan doa selama menempuh perkuliahan.
5. Yayasan Karya Salemba Empat yang memberikan dukungan moril, materil, serta dukungan pendidikan non-eksakta untuk melanjutkan studi dengan baik.
6. Teman-teman seperjuangan ‘Synthetor’ SSO dan Kimia Bahan Alam yang senantiasa memberi motivasi dalam penyusunan proposal skripsi.
7. Saudara-saudara kimia angkatan 2018 yang telah memberikan banyak bantuan dan doa untuk kelancaran penulisan naskah skripsi ini.
8. PUI-PT Pusat Rekayasa Molekul Hayati (*Research Center of Bio-molecule Engineering* (BioMe), Universitas Airlangga yang telah menyediakan fasilitas server untuk investigasi *in silico*. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih memiliki kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk terbentuknya skripsi yang lebih baik.

Surabaya, 11 Juli 2022
Penyusun,

Nahl Lailatul Ihsan

Ihsan, Nahl Lailatul, 2022. Desain dan Sintesis Senyawa Turunan Pirazol Sulfonamida Sebagai Kandidat Inhibitor Tirosinase, 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.

ABSTRAK

Enzim Tirosinase merupakan kelompok enzim oksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi pembentukan melanin pada sel melanosit. Melanin merupakan agen pigmentasi serta sebagai pelindung alami kulit dari radiasi UV, namun ekspresi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan beberapa masalah kulit dan menurunkan kesegaran buah. Hal ini menjadi latar belakang dilakukan desain senyawa bioaktif inhibitor tirosinase. Pirazol dan sulfonamida merupakan farmakofor yang dipilih dalam mendesain kerangka utama inhibitor tirosinase karena aktivitas biologisnya yang beragam salah satunya adalah agen khelat dengan logam yang baik. Kerangka utama kemudian dilakukan modifikasi substituen, substituen yang memiliki *grid score* paling rendah adalah kerangka utama tersubstitusi 2,4-dihidroksi yang kemudian dilakukan sintesis dan uji kapasitas antioksidan dengan radikal DPPH. Sintesis senyawa target dilakukan melalui tiga tahapan reaksi, dimana pada tahap ke tiga senyawa target gagal disintesis melalui pembentukan benzilidinmalononitril. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa produk sintesis tahap tiga adalah senyawa turunan semikarbazon. Hal ini disebabkan oleh benzilidinmalononitril yang terhidrolisis menjadi benzaldehida dan malononitril, sehingga suatu hidrazinkarboksamida akan bereaksi dengan benzaldehida membentuk semikarbazon. Senyawa target semikarbazon kemudian dilakukan studi *molecular docking* untuk mengetahui afinitas nya terhadap tirosinase dan dilakukan uji in vitro antioksidan menggunakan radikal DPPH. Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa MT-1 semikarbazon memiliki kapasitas peredaman radikal yang sangat aktif dengan $IC_{50} : 19,1 \pm 1,5 \mu M$.

Kata kunci : Inhibitor tirosinase, pirazol sulfonamida, semikarbazon

Ihsan, Nahl Lailatul, 2022. Design and Synthesis of Pyrazole Sulfonamide Derivative Compounds as Candidates for Tyrosinase Inhibitors, The script was under the guidance of Dr. Hery Suwito, M.Si and Kautsar Ul Haq, S.Si, M.Sc., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University.

ABSTRACT

Tyrosinase enzymes are a group of oxidoreductase enzymes that catalyze the reaction of melanin formation in melanocyte cells. Melanin is a pigmentation agent as well as a natural skin barrier against UV radiation, but over-expression of melanin can cause some skin problems and reduce fruit freshness. This is the background for the design of tyrosinase inhibitor bioactive compounds. Pyrazoles and sulfonamides are the pharmacophores chosen in designing the main base structure of tyrosinase inhibitors because of their various biological activities, one of which is a good metal chelating agent. Substituent modification was performed on the main framework, the substituent having the lowest grid score was the 2,4-dihydroxy substituted main frame, which was then synthesized and tested for antioxidant capacity with DPPH radicals. The synthesis of the target compound was carried out through three reaction steps, where in the third step the target compound failed to be synthesized through the formation of benzylidinemalononitrile. The results of the characterization showed that the product of the third step of the synthesis was a semicarbazone derivative compound. This is caused by benzylidinemalononitrile which is hydrolyzed into benzaldehyde and malononitrile, so that a hydrazinecarboxamide will react with benzaldehyde to form semicarbazone. The target compound was then subjected to a molecular docking study to determine its affinity for tyrosinase and an in vitro antioxidant test was conducted using the DPPH radical. The antioxidant test results showed that MT-1 semicarbazone has a very active radical scavenging capacity with $IC_{50} : 19,92 \pm 0,24 \mu M$.

Keywords : Tyrosinase inhibitor, pyrazole sulfonamide, semicarbazone

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Nahl Lailatul Ihsan

NIM : 081811533062

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 Pirazol Sulfonamida sebagai Kandidat Inhibitor Tirosinase

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya

Surabaya, 30 Juli 2022



Nahl Lailatul Ihsan
NIM. 081811533062

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan.....	8
1.4 Manfaat.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Tirosinase	10
2.1.1. Struktur dan Aktivitas Tirosinase.....	10

2.1.2. Peran Tirosinase dalam Melanogenesis	14
2.2 ROS/RNS dan Antioksidan.....	15
2.2.1. Inhibitor Tirosinase sebagai Agen Antioksidan	16
2.3 Mekanisme Inhibisi dan Cakupan Eksplorasi Inhibitor Tirosinase	17
2.3.1. Inhibitor Tirosinase dari Senyawa Bahan Alam	18
2.3.2. Inhibitor Tirosinase Sintetik.....	20
2.4 Struktur dan Aktivitas Senyawa Turunan Pirazol	21
2.5 Sintesis Senyawa Turunan Pirazol	22
2.6 Ikatan Koordinasi dan Fenomena Khelat	24
2.7 Uji Antioksidan dengan Radikal DPPH	26
2.8 Investigasi <i>In Silico</i> dengan <i>Molecular Docking</i>	27
BAB III METODE PENELITIAN	29
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	29
3.2.1 Alat-Alat Penelitian	29
3.2.2 Bahan-Bahan Penelitian.....	30
3.3 Diagram Alir Penelitian	31
3.4 Prosedur Penelitian.....	32
3.4.1 Studi Komputasi <i>Molecular Docking</i> pada Senyawa Target.....	32
3.4.2 Sintesis Molekul Target.....	34
3.5 Penentuan Struktur Molekul Target	36
3.6 Uji aktivitas dan kapasitas antioksidan dengan radikal DPPH	37
a) Preparasi Uji DPPH	37

b)	Uji Aktivitas Peredaman Radikal DPPH Oleh Antioksidan.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		40
4.1	Hasil Investigasi <i>in silico</i> dengan <i>Molecular Docking</i> menggunakan DOCK6 pada Molekul Target.....	40
4.1.1	Hasil Validasi Parameter <i>Molecular Docking</i>	40
4.1.2	Hasil <i>Docking</i> Ligan Kandidat pada Target Protein Tirosinase	42
4.1.3	Prediksi Kecenderungan Senyawa Target untuk Menginhibisi Tirosinase	46
4.2	Sintesis dan Uji Kemurnian Reaktan	47
4.2.1	Hasil Sintesis dan Uji Kemurnian Senyawa Tahap 1	47
4.2.2	Karakterisasi Senyawa Tahap 1	48
4.2.3	Mekanisme Reaksi Sintesis Senyawa Tahap 1	51
4.2.4	Hasil Sintesis dan Uji Kemurnian Tahap 2.....	52
4.2.5	Karakterisasi Tahap 2	53
4.2.6	Mekanisme Reaksi Tahap 2.....	56
4.2.7	Hasil Sintesis dan Uji Kemurnian Senyawa Target.....	57
4.2.8	Karakterisasi MT-1 (2-(2,4-dihidroksibenzilidin)-N-(4-sulfamoilfenil)hidrazin-1-karboksamida).....	58
4.2.9	Mekanisme Reaksi Senyawa Target.....	63
4.2.10	Hasil Studi <i>Molecular Docking</i> Senyawa Target Turunan Semicarbazon	66
4.2.11	Uji Antioksidan Senyawa Target.....	68
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		71
5.1	Kesimpulan.....	71
5.2	Saran.....	72

DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil <i>docking</i> ligan kandidat sebagai <i>virtual screening</i> pada target Tirosinase	43
4.2	Parameter obat yang baik menurut lima aturan Lipinski dan prediksi bioavailabilitas	45
4.3	Hasil analisis spektra FTIR Senyawa 13	49
4.4	Pergeseran kimia ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR (APT) senyawa 13	51
4.5	Hasil analisis spektra FTIR Senyawa 12	54
4.6	Pergeseran kimia ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR (APT) senyawa 12	56
4.7	Hasil analisis spektra FTIR Senyawa MT-1	59
4.8	Pergeseran kimia ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR (APT) MT-1	62
4.9	Hasil <i>docking</i> ligan kandidat pirazol dan semikarbazon pada target Tirosinase	66
4.10	Hasil perhitungan IC_{50} (μM) dari senyawa target semikarbazon dan troloks	69

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
1.1	Inhibitor tirosinase yang tersedia secara komersial	2
1.2	Senyawa-senyawa turunan pirazol yang telah diuji aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase	3
1.3	Struktur senyawa 3-amino-2-hidroksi-benzen-sulfonamida 9 .	4
1.4	Desain senyawa target 10 turunan sulfonamida 9 turunan pirazol 6	5
1.5	Analisis retrosintesis senyawa target	6
1.6	Skema sintesis senyawa target (i) tahap pertama (ii) tahap kedua (iii) tahap ketiga	7
2.1	(a) Struktur protein tirosinase rantai D (PDB : 2Y9X) (b) Sisi aktif tirosinase <i>A. bisporus</i> yang distabilkan dengan ikatan koordinasi antara kofaktor tembaga (bola jingga) dengan residu histidin	11
2.2	(a) Tiga bentuk sisi aktif tirosinase (i) E _{oksi} (ii) E _{met} (iii) E _{deoksi} , (b) Siklus aktivitas katalitik tirosinase	12
2.3	Bentuk kompleks sisi aktif tirosinase E _{oksi} (Merah), E _{met} (Jingga) dan E _{deoksi} (Biru) dengan substrat (Hitam)	13
2.4	Jalur biosintesis eumelanin dan feomelanin dalam proses melanogenesis	15
2.5	Senyawa sintesis dari benzofena-tiazol dengan aktivitas inhibitor tirosinase dan antioksidan	16
2.6	Inhibitor tirosinase pada senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid : kaempferol (20), quercetin (21), dan morin (22)	19
2.7	Dari Philouze et al., (2013) diketahui (a) X-ray struktur kristal kompleks tembaga binuklear tirosinase dengan asam kojat dan (b) Situs pengikatan asam kojat pada enzim tirosinase jamur <i>Streptomyces castanaeglobisporus</i> (PDB: 2ahk)	20
2.8	Senyawa inhibitor tirosinase yang disintesis dari beberapa farmakofor	21
2.9	Pirazol (26) dan Fenazon (27)	21
2.10	Senyawa turunan pirazol yang memiliki beragam aktivitas biologis	22

2.11	(a) Kompleks khelat dari senyawa <i>N</i> -(piridin-2-il)bifenil-4-sulfonamida dengan logam Cu ²⁺ (Bodoki <i>et al.</i> , 2010) (b) kompleks turunan pirazol dengan logam Cu ²⁺ (Mendes <i>et al.</i> , 2011)	25
2.12	Reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH	27
4.1	(a) Visualisasi kotak simulasi yang terbentuk yang mencakup target (hijau) dan <i>spheres</i> (biru) (b) Pose ligan hasil docking (biru) terhadap ligan asal (coklat).	41
4.2	(a) Visualisasi tiga dimensi dari interaksi ligan tropolon (merah muda)-tirosinase (abu-abu/atom karbon; merah/atom oksigen; biru/atom nitrogen) (b) visualisasi dua dimensi dari interaksi ligan tropolon-tirosinase	42
4.3	(a) Visualisasi 2 dimensi interaksi ligan-protein (b) visualisasi 3 dimensi interaksi ligan-protein (c) ligan menempati poket yang sama dengan tropolon	46
4.4	(a) permukaan dari kantung sisi aktif tirosinase (b) pose ligan kandidat (hijau) yang memasuki kantung sisi aktif tirosinase.	47
4.5	Mekanisme reaksi tahap 1	52
4.6	Mekanisme reaksi tahap 2	57
4.7	Mekanisme Reakasi Tahap 3	64
4.8	Mekanisme hidrolisis benzilidinemalononitril	65
4.9	(a) Visualisasi 2 dimensi interaksi ligan-protein (b) visualisasi 3 dimensi interaksi ligan-protein (c) ligan menempati poket yang sama dengan tropolon	68

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran
1	Perhitungan Rendemen dan Spektrum Hasil Analisis Senyawa Tahap 1
2	Perhitungan Rendemen dan Spektrum Hasil Analisis Senyawa Tahap 2
3	Perhitungan Rendemen dan Spektrum Hasil Analisis MT-1
4	Tabel dan Grafik Hasil Pengukuran Aktivitas dan Kapasitas Antioksidan MT-1 dan Trolox