

RINGKASAN

**SINTESIS ASAM N^{10} -(*p*-TOLUOIL)FOLAT DAN UJI AKTIVITAS
SITOTOKSIKNYA TERHADAP
KULTUR SEL HELA**

Didy Yoga Lucky Prayoga

Dalam penelitian ini akan dikembangkan analog asam folat sebagai antikanker. Analog asam folat (contohnya metotrexat) dalam tubuh berinteraksi secara kompetitif dengan dihidrofolat reduktase sehingga menyebabkan kematian sel. Namun obat golongan ini memiliki banyak efek samping diantaranya dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan hati sehingga diperlukan pengembangan analog asam folat yang baru yang memiliki potensi antikanker yang besar namun toksisitasnya rendah.

Penelitian ini diawali dengan merancang struktur analog asam folat yaitu asam N^{10} -(*p*-toluoil)folat kemudian dilakukan uji *in silico* dengan metode *docking* molekular untuk melihat interaksi senyawa tersebut pada reseptor dihidrofolat reduktase (DHFR) (PDB: 1DDS). Kemudian dilakukan sintesis dari N^{10} -(*p*-toluoil)folat. Sintesis N^{10} -(*p*-toluoil)folat dilakukan dengan mereaksikan asam folat dengan *p*-toluoil klorida yang dilakukan pada suhu ruang $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 10. Senyawa hasil sintesis kemudian diuji dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), spektroskopi *infrared* (IR) dan spektrometri resonansi magnet inti (^1H -NMR). Untuk membuktikan potensi antikanker asam N^{10} -(*p*-toluoil)folat maka dilakukan uji aktivitas sitotoksik asam N^{10} -(*p*-toluoil)folat pada konsentrasi 10.8 – 1080 ppm terhadap kultur sel HeLa dengan jumlah sel 10.000 per sumuran.

Hasil *docking* molekul pada reseptor DHFR (PDB: 1DDS) menunjukkan bahwa senyawa asam N^{10} -(*p*-toluoil)folat memiliki nilai

rerank score -129,51, lebih rendah dibanding *rerank score* metotreksat sebesar -114,60. Senyawa dengan *rerank score* lebih rendah membutuhkan energi interaksi yang rendah sehingga diasumsikan kompleks ligan – reseptor yang terbentuk lebih stabil dan dan diprediksikan memiliki aktivitas yang lebih besar. Senyawa hasil sintesis yang berbentuk minyak menunjukkan adanya noda tunggal pada plat KLT dengan eluen metanol : air (1:1); metanol : air (3:7); asetonitril : air (3:1). Konfirmasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan spektrofotometri IR dan spektrometri resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$). Spektrum IR senyawa hasil sintesis tidak memberikan hasil yang baik karena metode dengan pellet KBr tidak cocok digunakan untuk menganalisa senyawa dengan bentuk cair. Untuk sampel dengan bentuk cair lebih baik digunakan dengan metode nujol mulls. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari asam folat (senyawa penuntun) dan senyawa hasil sintesis menunjukkan terdapat beberapa perbedaan yaitu puncak triplet di 6.07 ppm dengan intensitas relatif 1 yang ada pada asam folat namun tidak nampak pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil reaksi. Selain itu puncak doublet di 4.46 ppm dengan intensitas relatif 2 yang pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ asam folat tidak nampak pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil reaksi namun pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil reaksi terdapat penambahan puncak singlet di 5.21 ppm dengan intensitas relatif 2. Perubahan ini diasumsikan bahwa pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil reaksi puncak yang hilang di 6.07 ppm itu adalah puncak dari $-\text{NH}$ di posisi 10 sedangkan puncak di 4.46 ppm merupakan adalah puncak dari $-\text{CH}_2$ di posisi 11 berubah menjadi puncak singlet di 5.21 ppm. Hal ini diasumsikan karena $-\text{NH}$ pada posisi 10 telah berikatan dengan *p*-toluoil klorida sehingga $-\text{CH}_2$ pada posisi 10 tidak memiliki atom H tetangga dan menyebabkan puncaknya berbetuk singlet. Penambahan puncak lain juga terjadi pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil reaksi yaitu puncak doublet

di 7.03 ppm dan 7.23 ppm dengan intensitas relatif masing – masing 2 serta penambahan puncak singlet di 2.19 ppm dengan intensitas relatif 2. Puncak – puncak tersebut diasumsikan merupakan puncak dari gugus *p*-toluolil yang telah berikatan dengan asam folat. Dengan data tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa yang terbentuk adalah asam N^{10} -(*p*-toluolil)folat.

Uji aktivitas sitotoksik asam N^{10} -(*p*-toluolil)folat terhadap kultur sel HeLa dengan pembandingan metotrexat menunjukkan dengan jumlah 10.000 sel per sumuran, sampel dalam konsentrasi 10 – 1080 ppm memberikan jumlah % sel hidup diatas 90%. Pada metotrexat dengan konsentrasi 20 - 155 ppm juga memberikan jumlah % sel hidup diatas 90%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa dengan metode ini asam N^{10} -(*p*-toluolil)folat tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel HeLa. Perbedaan hasil uji aktivitas sitotoksik secara *in vitro* dengan prediksi aktivitas secara *in silico* dengan *docking* molekul pada DHFR (PDB: 1DDS) dikarenakan pada uji *in silico* senyawa langsung berinteraksi dengan reseptor sedangkan pada uji *in vitro* senyawa harus melewati beberapa tahap sebelum berinteraksi dengan reseptor seperti penembusan dinding sel.

Dari penelitian yang sudah dilakukan, dalam hal sintesis perlu dilakukan upaya untuk memperoleh senyawa dalam bentuk padat sedangkan terkait aktivitas asam N^{10} -(*p*-toluolil)folat secara *in vitro* diharapkan menggunakan sel kanker lain.

ABSTRACT

**SYNTHESIS OF N^{10} -(*p*-TOLUOYL)FOLIC ACID AND
CYTOTOXICITY TEST AGAINST HELA CELL LINE**

Didy Yoga Lucky Prayoga

This research comprise of in silico study, synthesis, and cytotoxic study of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid. Activity prediction of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid is examined through molecular docking. Synthesis of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid by reacting folic acid with *p*-toluoi chloride. The product was analyzed by using thin layer chromatography with 3 different eluents and the structure of product is confirmed by using IR and $^1\text{H-NMR}$. *In vitro* studies is conducted to prove cytotoxic activity of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid and can be used as anticancer agent. In silico studies of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid and methotrexate shows rerank score -129.51 and -114.60 respectively. IR spectra of the product is not giving any valuable leads because the ineffectiveness of the method used in IR. Therefore, $^1\text{H-NMR}$ spectra shows that *p*-toluoyl group binds with secondary amine N^{10} - instead of N^2 - thus the product produced by this method is N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid . In vitro study shows that 10 - 1080 ppm of N^{10} -(*p*-toluoyl)folic acid is giving life cells percentage of HeLa cell is above 90%.

Keywords: acylation; folic acid; cytotoxic activity; HeLa cell line