



**STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SENYAWA *N*-(BENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL
DENGAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER DAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

oleh
Oky Christi Kyrie Eleisen
NIM 092210101073

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SENYAWA *N*-(BENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL
DENGAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER DAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Oky Christi Kyrie Eleisen
NIM 092210101073**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan anugerah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga mendapat kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini. Semoga karya ini menjadi suatu ibadah.
2. Ayahanda Nugrendi Wirawan dan Ibunda Sri Sardiyastuti yang tercinta, terima kasih atas segala doa dan jerih payah yang telah dilakukan demi kebaikan, kebahagiaan, dan kesuksesanku.
3. Kakakku Elka Yuvita Crisdyawanti, A. Md. I.P., S. H. dan Irwanto Dwi Yhana Putra, A. Md. I.P., S. Sos., terima kasih buat semangat dan dukungannya.
4. Pahlawan tanpa tanda jasa. Guru-guru dan dosen - dosenku yang terhormat.
5. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah dan kebenarannya, maka semuanya itu akan ditambahkan kepadamu”

(Matius 6 : 33)

"Hidup ini memang tidak semudah nasihat, tapi jika nasihat itu bersumber dari firman Tuhan, beranikah engkau mencelanya?"

(Mario Teguh)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Oky Christi Kyrie Eleisen

NIM : 092210101073

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan senyawa N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil Dengan Pendekatan Docking Molekuler dan Metode DPPH* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari ini tidak benar.

Jember, 24 September 2013

Yang menyatakan,

Oky Christi Kyrie Eleisen

NIM. 092210101073

SKRIPSI

**STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SENYAWA *N*-(BENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL
DENGAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER DAN
METODE DPPH**

Oleh

Okky Christy Kyrie Eleisen

NIM 092210101073

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ayik Rosita Puspaningtyas, S. Farm., Apt., M., Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M., Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan senyawa N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil Dengan Pendekatan Docking Molekuler dan Metode DPPH* telah di uji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 24 September 2013

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dosen Pembimbing Utama,



Ayik Rosita P., S. Farm., Apt., M., Farm.
NIP. 198102012006042001

Dosen Pembimbing Anggota,



Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M., Farm.
NIP. 198204062006042001

Dosen Penguji I,



Prof. Drs. Bambang K., M. Sc., Ph. D.
NIP. 196902011994031002

Dosen Penguji II,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP. 197604142002122001

Oky Christi Kyrie Eleisen

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

Cellular damage on cancer by reactive oxygen species (ROS) free radical and antioxidant activity have important character as free radical scavenging in body. This study was carried out to evaluate the in vitro antioxidant and ligand affinity toward human ROS receptor (PDB code : 3ZBF). In DPPH method, N-(benzoyloxymethyl)-5-fluorouracil with etil asetat dissolve, while 5-fluorouracil and ascorbic acid as standard with methanol dissolve. The free radical scavenging activity was measured spectrophotometrically as maximum wavelenght at 512 nm. Result of DPPH method that is ascorbic acid have strong antioxidant activity (IC50 = 19,092 ppm), while N-(benzoyloxymethyl)-5-fluorouracil (IC50 = 12487,775 ppm) and 5-fluorouracil are didn't have antioksidant activity(IC50 = -4.998,450 ppm). Molecular docking toward human ROS receptor is indicate N-(benzoyloxymethyl)-5-fluorouracil ($K_i = -6,0 \pm 0,00$ kkal/mol) have best affinity than ascorbic acid ($K_i = -5,0 \pm 0,25$ kkal/mol) and 5-fluorouracil ($K_i = -4,6 \pm 0,00$ kkal/mol). This studies conclusion are DPPH method result can't give comparable antioxidant activity with molekular docking result (in silico).

Keywords: *5-fluorouracil, antioxidants, DPPH, human ROS, molecular docking.*

RINGKASAN

Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan senyawa N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil Dengan Pendekatan Docking Molekuler dan Metode DPPH: Oky Christi Kyrie Eleisen, 092210101073; 2013; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Kanker dapat disebabkan oleh sel dengan pembelahan untaian DNA yang rusak, gangguan metabolisme sel dan kekacauan duplikasi sel sehingga terjadi karsinogenesis yang diawali dengan terjadinya mutasi sel. Antioksidan memberikan efek perlindungan dengan mengurangi kerusakan oksidatif pada DNA dan mengurangi peningkatan abnormal pada pembelahan sel. Aktivitas antioksidan tersebut berfungsi untuk meredam radikal bebas yang terdapat dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya karsinogenesis. ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan salah satu bentuk radikal bebas dalam tubuh yang dapat berasal dari luar tubuh maupun dari dalam tubuh. Kadar ROS pada pasien kanker lebih tinggi daripada orang sehat. Salah satu derivat antikanker 5-fluorourasil yang telah disintesis dan diketahui struktur molekul beserta aktivitas biologisnya sebagai antikanker yaitu senyawa N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil. Upaya pencegahan berkembangnya kanker melibatkan penurunan kadar ROS dalam tubuh, dimana hal tersebut perlu adanya aktivitas antioksidan untuk meredam radikal bebas (ROS) dalam tubuh.

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap senyawa N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil dilakukan melalui pendekatan *docking* molekuler dan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan dengan pendekatan *docking* molekuler bertujuan untuk mengetahui kemampuan pengikatan (afinitas) senyawa N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil sebagai ligan terhadap reseptor antioksidan (*human ROS*, kode reseptor : 3ZBF). Perbandingan yang digunakan yaitu asam askorbat sebagai antioksidan potensial dan 5-fluorourasil sebagai senyawa induknya. Hasil pengujian dengan metode *docking* molekuler yang diperoleh dari senyawa asam askorbat, 5-fluorourasil dan N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil berturut – turut adalah -5,2 kkal/mol, -4,6 kkal/mol dan -6,0 kkal/mol. Dimana afinitas N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil

lebih baik daripada asam askorbat dan 5-fluorourasil terhadap reseptor *human ROS*, jika dilihat dari nilai *Ki* senyawa N-(benzoioksimetil)-5-fluorourasil yang lebih kecil daripada asam askorbat dan 5-fluorourasi. Semakin kecil nilai *Ki* maka afinitas ligan-reseptor semakin baik.

Hasil pengujian metode DPPH berupa absorbansi peredaman radikal DPPH yang kemudian dihitung % *inhibisi* dan akan diperoleh IC_{50} . Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum yaitu 512 nm. IC_{50} asam askorbat sebagai pembanding antioksidan potensial sebesar 19,092 ppm, maka dapat dikatakan bahwa asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. IC_{50} senyawa 5-fluorourasil sebagai senyawa induk sebesar 4.998,450 ppm, dapat dikatakan bahwa senyawa 5-fluorourasil tidak memiliki aktivitas antioksidan. Sedangkan IC_{50} senyawa N-(benzoioksimetil)-5-fluorourasil sebesar 12.487 ppm, kemampuan peredaman radikal DPPH senyawa ini tidak lebih baik dari asam askorbat karena membutuhkan konsentrasi lebih besar untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan metode DPPH tidak dapat memberikan aktivitas antioksidan yang sebanding dengan uji antioksidan secara *in silico*.

PRAKATA

Syukur Puji Tuhan penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang maha Esa, yang telah memberikan kemampuan dan kemudahan berpikir sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan senyawa N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil Dengan Pendekatan Docking Molekuler dan Metode DPPH. Skripsi ini diselesaikan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Farmasi (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember
2. Ibu Ayik Rosita Puspaningtyas, S. Farm., Apt., M., Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M., Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota. Terima kasih telah merelakan waktu demi membimbing penyelesaian skripsi ini.
3. Prof. Drs. Bambang K., M. Sc., Ph. D. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji II terima kasih atas saran dan kritiknya.
4. Ibu Indah Purnama Sary, S. Si., Apt. dan Ibu Evi Umayah Ulfa, S. Si., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih atas kesabaran dalam mengarahkan dan membimbing penulis selama menempuh studi.
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis.
6. Bu Wayan, Mbak Hani, dan Mbak Dini yang selalu membantu penulis saat melaksanakan penelitian di laboratorium.

7. Orang Tua-ku tercinta dan terkasih, Bapak Nugrendi Wirawan dan Ibu Sri Sardiyastuti. Terima kasih atas kasih sayang, doa, dan semua yang telah diberikan untukku .
8. Kakak - kakakku tercinta Elka Yuvita Crisdyawanti, A. Md. I.P., S. H. dan Irwanto Dwi Yhana Putra, A. Md. I.P., S. Sos., terima kasih untuk semangat dan dukungannya selama ini.
9. Brahmansyah Diar Rosiarto dan Moh. Rifky Putra, partner kerjaku yang senasib dan sepenanggungan. Penelitian ini tak akan terlupakan dan terima kasih atas kerja samanya.
10. Sahabat-sahabat terbaikku: Laely, Erni, Fika, Anggih, Panda dan Niners lainnya. Terima kasih atas persahabatan yang sempurna ini.
11. Teman-teman seperjuangan di lab Kimia: Risa, Iis, Putri Indah, Fita, Fika, Nanda, Anggih, Anies, Dian, Titin, Lail, Prisma, Sabrina, Rani, Gray, Athika, dan Bayu. Terima kasih atas dukungan kalian.
12. Teman-teman yang menemaniku di rumah : Putri Wulandari, Endah, Anisa, Koteng, Selo, Yuda, Andi, Yoga, Iqbal, Puguh, Rendy, dan Vitra. Terima kasih atas kebersamaan yang hangat selama ini.
13. Rekan – rekan GP : Merryana Mega, Rara Olyvia, Jessica Ayuditha, Leonardo Jeffry, Priska. Terima kasih atas kasih dan dukungannya selama ini.
14. Teman-teman KKN Desa Curahtakir, Tempurejo gelombang I tahun 2013. Terima kasih atas kebersamaan 45 hari yang tidak terlupakan.
15. Terimakasih pada Nivo, Vio, dan Visto yang telah menemani malam – malamku yang sepi.

Hanya ucapan terimakasih yang dapat penulis sampaikan atas semua bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu teknologi farmasi. Amin.

Jember, 24 September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
ABSTRAK	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kanker	6
2.1.1 Pengertian Kanker	6
2.1.2 Siklus Sel Kanker	7
2.1.3 5-Fluorourasil	8
2.1.4 <i>N</i> -(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil	10
2.2 Radikal Bebas	11
2.2.1 Pengertian Radikal Bebas	11

2.2.2	Sumber Radikal Bebas	12
2.3	Antioksidan	14
2.3.1	Pengertian Antioksidan	14
2.3.2	Jenis Antioksidan.....	14
2.3.3	Aktivitas Antioksidan	16
2.4	Metode DPPH	17
2.5	<i>Docking</i> Molekuler	19
2.5.1	<i>AutoDock Vina</i>	24
2.5.2	<i>Protein Data Bank</i>	25
2.5.3	Interaksi Ligan-Reseptor	25
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	28
3.1	Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2	Alat dan Bahan Penelitian	28
3.2.1	Alat	28
3.2.2	Bahan.....	29
3.3	Diagram Alur Penelitian.....	29
3.3.1	Uji aktivitas antioksidan dengan metode <i>Docking</i> menggunakan program <i>Autodock vina</i>	29
3.3.2	Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	30
3.3.3	Perbandingan antara hasil uji aktivitas antioksidan metode <i>Docking</i> menggunakan program <i>Autodock vina</i> dengan metode DPPH.....	30
3.4	Prosedur Penelitian	31
3.4.1	<i>Docking</i>	31
3.4.2	Metode DPPH.....	37
3.5	Perbandingan Antara Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Docking</i> Menggunakan Program <i>Autodock vina</i> dengan Metode DPPH	39
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40

4.1 Uji aktivitas antioksidan dengan metode <i>Docking</i> menggunakan program <i>Autodock vina</i>.....	40
4.2 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	43
4.2.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	44
4.2.2 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Perbandingan (Asam Askorbat)	45
4.2.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Perbandingan (Curasil – 5-Fluorourasil).....	46
4.2.4 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Sampel (<i>N</i> -(Benzoiloksimetil)-5-fluorourasil)	47
4.3 Studi Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Docking</i> Menggunakan Program <i>Autodock vina</i> dengan Metode DPPH secara In Vitro	50
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	53
Lampiran A	58
Lampiran B	64
Lampiran C	79
Lampiran D	82

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Hasil optimasi <i>docking</i> molekuler terhadap reseptor 3ZBF	42
4.2 Hasil pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh asam askorbat.....	45
4.3 Hasil pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh 5-fluorourasil.....	46
4.4 Hasil pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh <i>N</i> -(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil	48
4.5 IC ₅₀ senyawa Asam askorbat, 5-Fluorourasil dan <i>N</i> -(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil	49
4.6 Urutan senyawa berdasarkan besar afinitas dan IC ₅₀ terbesar hingga terkecil	50
4.7 Hasil analisis dengan uji Mann-Whitney	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Siklus sel kanker	7
2.2 Rumus Struktur 5-Fluorourasil	8
2.3 Mekanisme kerja 5-Fluorourasil	10
2.4 Rumus struktur <i>N</i> -(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil	10
2.5 Mekanisme terjadinya kanker yang disebabkan ROS	13
2.6 Rumus struktur vitamin C	16
2.7 Reaksi penangkapan radikal bebas (DPPH) oleh antioksidan	18
2.8 Siklus termodinamika pembentukan kompleks protein-inhibitor	23
2.9 Struktur kimia senyawa Crizitoxib	27
3.1 Skema uji aktivitas antioksidan dengan metode <i>Docking</i>	29
3.2 Skema uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	30
3.3 Skema perbandingan hasil uji aktivitas antioksidan metode <i>Docking</i> dan metode DPPH	30
4.1 Spektra absorbansi DPPH (100 ppm)	44
4.2 Kurva pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh asam askorbat	45
4.3 Kurva pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh 5-fluorourasil	47
4.4 Kurva pengukuran absorbansi peredaman DPPH oleh <i>N</i> -(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Data dan Perhitungan Metode DPPH.....	58
A.1 Perhitungan Bahan	58
A.1.1 Pembuatan Larutan DPPH	58
A.1.2 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat.....	58
A.1.3 Pembuatan Larutan Pembanding 5-Fluorourasil (CURASIL) ...	59
A.1.4 Pembuatan Larutan N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil	59
A.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	60
A.3 Data Spektrofotometri dan Perhitungan IC ₅₀	61
A.3.1 Asam Askorbat	61
A.3.2 5-Fluorourasil	62
A.3.3 N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil	63
B. Optimasi Metode <i>Docking</i> Molekuler	64
B.1 Asam Askorbat	64
B.2 5-Fluorourasil	68
B.3 N-(Benzoiloksimetil)-5-Fluorourasil.....	72
B.4 Crizotinib	76
C. Hasil Uji Statistik Mann-Whitney	79
C.1 <i>Docking</i> Molekuler	79
C.2 Uji DPPH.....	82
D. Spesifikasi Senyawa N-(benzoiloksimetil)-5-fluorourasil	84
D.1 Gambar Dua Dimensi Senyawa	84
D.2 Gambar Tiga Dimensi Senyawa.....	84
D.3 Data Uji Titik Leleh	84
D.4 Data Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	85
D.5 Spektroskopi Infra Merah (IR)	85
D.6 Data Spektrum H-NMR.....	86
D.7 Persentase Hasil Reaksi.....	86

D.8 Hasil Uji Sitotoksisitas 5-Fluorourasil Dan <i>N</i> -(Benzoiloksimetil)- 5-Fluorourasil Terhadap Sel Kanker Payudara MCF 7 Dengan Metode MTT	87
---	----