



**STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA 4-
(FLUOROBENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL DENGAN METODE
DPPH DAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER**

SKRIPSI

Oleh

Mohammad Rifky Putra Perdana

NIM 092210101008

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2013



**STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
ANTIKANKER 4-(FLUOROBENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL
DENGAN METODE DPPH DAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER**

SKRIPSI

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

Oleh

Mohammad Rifky Putra Perdana

NIM 092210101008

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2013

PERSEMBAHAN

Dengan penuh syukur, skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas ridho dan anugerah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga mendapat kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini. Semoga karya ini menjadi suatu ibadah.
2. Rasulullah Muhammad SAW, yang telah membawa pencerahan sehingga saya dapat sampai pada saat ini.
3. Ayahanda Drs. Aunur Rofik dan Ibunda Hartatik yang tercinta, terima kasih atas segala doa yang selalu menyertai di setiap waktunya, serta telah mendidik saya menjadi manusia yang lebih bermanfaat.
4. Adikku Pertiwi Kesuma Yekti, terima kasih buat semangat dan dukungannya.
5. Guru-guru dan dosen – dosenku tercinta, yang telah mendidik saya untuk menjadi manusia yang berilmu dan bertakwa.
6. Almamaterku Fakultas Farmasi Universitas Jember atas seluruh kesempatan menimba ilmu yang berharga ini.

MOTTO

“Live as if you were to die tomorrow. Learn as if you were to live forever.”

(Mahatma Gandhi)

“Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow. The important thing is not to stop questioning.”

(Albert Einstein)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mohammad Rifky Putra Perdana

NIM : 092210101008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: *Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Dengan Metode DPPH dan Pendekatan Docking Molekuler* 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,

Mohammad Rifky Putra Perdana

NIM 092210101008

SKRIPSI

STUDI PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTIKANKER 4-(FLUOROBENZOILOKSIMETIL)-5-FLUOROURASIL DENGAN METODE DPPH DAN PENDEKATAN *DOCKING* MOLEKULER

Oleh:

Mohammad Rifky Putra Perdana

NIM 092210101008

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama

: Ayik Rosita Puspaningtyas., S.Farm., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota

: Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Dengan Metode DPPH dan Pendekatan Docking Molekuler* 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,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

NIP. 197503092001121001

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

NIP. 197604142002122001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

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

NIP. 196902011994031002

Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si.

NIP. 197806092005012004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP. 197604142002122001

Mohammad Rifky Putra Perdana

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTARCT

Free radicals are molecules that contain one or more unpaired electrons that are highly reactive and can easily become uncontrolled reactions, and cause oxidative damage to important functional groups. Reactive Oxygen Species (ROS) is a form of free radicals in the body which may come from outside the body or from the body. Efforts to prevent the development of cancer involves a decrease in ROS levels in the body, where it is necessary to reduce the antioxidant activity of free radicals in the body. One 5-fluorouracil anticancer derivatives that have been synthesized and its molecular structure is known compounds 4-(fluorobenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil . In this study, we tried to test the antioxidant activity of the compound 4-(fluorobenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil through DPPH method and molecular docking approach. The test results by molecular docking method obtained after docking by 10 replication of the compound 4-(fluorobenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil, ascorbic acid, and 5-Fluorouracil respectively is -6,0 kcal/mol, -4,97 kcal/mol and -4,6 kcal/mol where the compound 4-(fluorobenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil have binding force on human ROS1 receptor kinase complex in Crizotinib better and stronger than ascorbic acid and its lead compound 5-Fluorouracil. The test results by radical form DPPH absorbance damping are then calculated % inhibition and IC₅₀ will be obtained. Based on the test results of the in vitro antioxidant activity (DPPH method) IC₅₀ value for compound 4-(fluorobenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil is equal to 166,592 ppm, whereas the IC₅₀ value of ascorbic acid and 5-Fluorouracil as reference compounds amounted to 19,092 ppm and -499,845 ppm. In conclusion, based on the results of this study showed DPPH method can not provide antioxidant activity of antioxidants comparable to the in silico testing.

Keywords : *antioxidant, molecular docking, DPPH method, 5-Fluorouracil.*

RINGKASAN

Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Dengan Metode DPPH dan Pendekatan *Docking* Molekuler: Mohammad Rifky Putra Perdana, 092210101008; 2013; 93 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Radikal bebas adalah setiap molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan bersifat sangat reaktif dan dengan mudah menjadi reaksi yang tidak terkontrol, menghasilkan ikatan silang (*cross-link*) pada DNA, protein, lipida atau kerusakan oksidatif pada gugus fungsional yang penting. Salah satu bentuk dari radikal bebas adalah ROS. 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. 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. Salah satu derivat antikanker 5-fluorourasil yang telah disintesis dan diketahui struktur molekul beserta aktivitas biologisnya sebagai antikanker yaitu senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-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 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil dilakukan melalui pendekatan *docking* molekuler dan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan dengan pendekatan *docking* molekuler bertujuan untuk mengetahui kemampuan pengikatan (afinitas) senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil sebagai ligan terhadap reseptor antioksidan (*human ROS*, kode reseptor : 3ZBF). Pembanding yang digunakan yaitu asam askorbat sebagai antioksidan

potensial dan 5-Fluorourasil sebagai senyawa induknya. Hasil pengujian dengan metode *docking* molekuler yang diperoleh setelah dilakukan docking sebanyak 10 replikasi dari senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil, asam askorbat, dan 5-Fluorourasil berturut – turut adalah -6,0 kkal/mol, -4,97 kkal/mol dan -4,6 kkal/mol dimana senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil memiliki kekuatan pengikatan terhadap reseptor *human ROS1 kinase complex in Crizotinib* yang lebih baik dan lebih kuat dibandingkan asam askorbat dan senyawa induknya yaitu 5-Fluorourasil. 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 -4998,450 ppm, dapat dikatakan bahwa senyawa 5-fluorourasil tidak memiliki aktivitas antioksidan. Sedangkan IC_{50} senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil sebesar 166593,333 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

Puji syukur diucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan kemampuan dan kemudahan berpikir sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Studi Perbandingan Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Dengan Metode DPPH dan Pendekatan *Docking Molekuler*”. Skripsi ini diselesaikan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Farmasi (S1) 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. Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ayik Rosita Puspaningtyas, S.Farm., Apt., M.Farm., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah banyak membantu dan merelakan waktu demi membimbing penyelesaian skripsi ini;
3. Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji I dan Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si., selaku Dosen Penguji II yang banyak memberikan saran, kritik, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan penulis dalam aktivitas perkuliahan;
5. Teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember Bu Wayan dan Mbak Hani yang selalu membantu penulis saat melaksanakan penelitian di laboratorium;

6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis;
7. Civitas Akademika dan seluruh Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuan dan kerjasamanya;
8. Orang Tua-ku tersayang, Ayahanda Drs. Aunur Rofik dan Ibunda Hartatik, terima kasih atas segala pengorbanan, doa, kasih sayang dan semua yang telah diberikan untukku;
9. Adikku tercinta Pertiwi Kesuma Yekti, terima kasih untuk semangat dan dukungannya selama ini;
10. Oky Christi dan Bramansyah Diar, *partner* kerja yang banyak membantu dalam suka maupun duka. *Thanks guys, you're my best friend together!*
11. Teman-teman seperjuangan di lab Kimia: Iis, Risa, Aang, Putri Indah, Sasya, Ina, Hesti, Ika, terima kasih atas dukungan, bantuan, dan dorongan semangat kalian selama ini;
12. Teman-teman satu angkatan 2009 (*Niners*) Fakultas Farmasi, terima kasih atas kerjasama, dukungan, dan kebersamaan kalian selama kurang lebih 4 tahun ini. Kita untuk selamanya *Guys!*
13. Teman-teman kosan 'Wisma Prabu Jl. Kalimantan X No. 94B', terima kasih kalian selalu ada buat aku selama ini. *Its not the end, its just the beginning!*
14. Diah Ayu Kusumaningrum, terima kasih atas dorongan semangat, bantuan, dan kasih sayangnya;
15. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 24 September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	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.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 5-Fluorourasil	6
2.2 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil.....	7
2.3 Radikal Bebas	9
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	9
2.3.2 Sumber Radikal Bebas	10
2.4 Antioksidan	11

2.4.1 Pengertian Antioksidan	11
2.4.2 Mekanisme Antioksidan.....	12
2.5 Asam Askorbat	13
2.6 Metode DPPH	15
2.7 Spektrofotometri UV-Vis.....	17
2.8 Pemodelan Molekuler	18
2.8.1 <i>Molecular Docking</i>	19
2.8.2 <i>Protein Data Bank</i>	20
2.8.3 <i>AutoDock</i>	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.3 Rancangan Penelitian	23
3.3.1 Rancangan Operasional.....	23
3.3.2 Alur Penelitian	24
3.3.2.1 Alur Penelitian Keseluruhan	24
3.3.2.2 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	25
3.3.2.3 Pemodelan molekuler senyawa 5-Fluorourasil, 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil dan asam askorbat menggunakan <i>AutoDock Vina</i>	26
3.3.2.4 Perbandingan antara hasil uji aktivitas antioksidan metode <i>Docking</i> menggunakan program <i>Autodock Vina</i> dengan metode DPPH.....	27
3.4 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	27
3.4.1 Alat.....	27
3.4.1.1 Alat untuk Pendekatan Pemodelan Molekuler (<i>Docking</i>).....	27
3.4.1.2 Alat untuk Metode DPPH	28
3.4.2 Bahan	28
3.5 Prosedur penelitian	28
3.5.1 <i>Docking</i>	28
3.5.2 Metode DPPH	37

3.6 Studi Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Docking</i> Menggunakan Program <i>AutoDock</i> Vina dengan Metode DPPH secara <i>In Vitro</i>	38
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil secara <i>In Vitro</i>	39
4.2 <i>Docking</i> Molekuler dengan <i>AutoDock</i> Vina.....	45
4.2.1 Preparasi Struktur Reseptor Target	45
4.2.2 Preparasi Ligan.....	46
4.2.3 <i>Docking</i> dengan <i>AutoDock</i> Vina.....	47
4.3 Studi Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Docking</i> Menggunakan Program <i>AutoDock</i> Vina dengan Metode DPPH secara <i>In Vitro</i>	52
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Serapan Rata-Rata dan % Inhibisi 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Pada Beberapa Konsentrasi.....	41
4.2 Hasil Serapan Rata-Rata dan % Inhibisi Asam Askorbat Pada Beberapa Konsentrasi	42
4.3 Hasil Serapan Rata-Rata dan % Inhibisi 5-Fluorourasil Pada Beberapa Konsentrasi	42
4.4 Nilai IC_{50} dari Senyawa Uji dan Pembanding	45
4.5 Hasil <i>Docking</i> 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil pada Reseptor <i>human ROS1</i>	50
4.6 Hasil <i>Docking</i> Asam Askorbat pada Reseptor <i>human ROS1</i>	50
4.7 Hasil <i>Docking</i> 5-Fluorourasil Reseptor <i>human ROS1</i>	51
4.8 Nilai K_i Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil, Asam Askorbat dan 5-Fluorourasil.....	51
4.9 Hasil Urutan Senyawa Mulai Dari yang Terbaik Antara Metode DPPH dengan Metode <i>Docking</i>	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Rumus Struktur 5-Fluorourasil	6
2.2 Mekanisme Aksi 5-Fluorourasil Sebagai Antikanker	7
2.3 Rumus Struktur 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil	8
2.4 Mekanisme ROS Sebagai Pemicu Terjadinya Kanker.....	10
2.5 Struktur Kimia Asam Askorbat.....	13
2.6 Reaksi Antara Asam Askorbat Dengan DPPH	14
2.7 Reaksi Penangkapan Radikal Bebas oleh DPPH	15
3.1 Alur Penelitian Secara Keseluruhan.....	24
3.2 Alur Penelitian Uji Aktivitas Antioksidan	25
3.3 Alur Penelitian <i>Docking</i> Dengan <i>AutoDock Vina</i>	26
3.4 Alur Penelitian Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Hasil <i>Docking</i>	27
4.1 Spektra Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH (100 ppm).....	40
4.2 Kurva % Inhibisi Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Terhadap DPPH	43
4.3 Kurva % Inhibisi Asam Askorbat Terhadap DPPH.....	43
4.4 Kurva % Inhibisi 5-Fluorourasil Terhadap DPPH.....	44
4.5 Visualisasi <i>Docking</i> Senyawa 4-(fluorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil Pada Reseptor <i>human ROS1</i>	48
4.6 Visualisasi <i>Docking</i> Asam Askorbat Pada Reseptor <i>human ROS1</i>	48
4.7 Visualisasi <i>Docking</i> 5-Fluorourasil Pada Reseptor <i>human ROS1</i>	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data dan Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	61
B. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Docking</i>	68
B. Tahapan Melakukan <i>Docking</i> Dengan <i>AutoDock Vina</i>	68