



SINTESIS, STUDI *MOLECULAR DOCKING* DAN UJI AKTIVITAS INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE SENYAWA PIRAZOLIN-(*E*)-(4-KLOROBENZALDEHID)-3-(4-KLOROFENIL)-3,3A,4,5,6,7-HEKSAHIDRO-2-*H*-PIRAZOLO(4,3-*C*)-PIRIDIN-2-KARBOTIOAMIDA

Livia Andryani^{1*}, Yum Eryanti²

¹Mahasiswa Program S1 Kimia

²Dosen Bidang Kimia Organik Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Kampus Binawidya, Pekanbaru, 28293, Indonesia

*livia.andryani0708@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease caused by defects in insulin secretion, insulin action, or both of them. One method of treating diabetes mellitus is to take medication. Pyrazoline is five rings heterocyclic compound which has N atom and it has various bioactivities as antioxidant, antiinflammatory and antimicrobial. The purpose of this research to synthesis pirazolin-(*E*)-(4-chlorobenzaldehyde)-3-(4-chlorophenyl)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-carbotioamida (PR-4Cl-LA) from the reaction between a chloro-substituted curcumin with thiosemicarbazide in alkaline condition. The purity compound was determined by TLC test, melting point measurement and HPLC. Pure pyrazoline has a yield of 87% and the structure of pyrazoline compounds was confirmed through spectroscopic analysis of UV, FTIR, HRMS, and ¹H-NMR. The synthesized compound was analysis for inhibition enzymes α -glucosidase with study molecular docking conducted on the crystal structure of lysosomal acid (PDB-ID 5NN5) and analysis in vitro. The PR-4Cl-LA compound show results in inhibited enzymes α -glucosidase less good was 9,333% and confirmed by molecular docking that only one hydrogen bond interaction in common with acarbose that is Asp518 amino acid and large bond free energy is -14,7308 kcal/mol compared to acarbose which is -16,4969 kcal/mol.

Keywords: docking, inhibition, in vitro, pyrazoline, synthesis



ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Salah satu metode penanganan penyakit diabetes mellitus yaitu dengan cara mengonsumsi obat-obatan. Pirazolin merupakan senyawa yang memiliki ciri bentuk berupa cincin lima heterosiklik mengikat atom nitrogen yang memiliki beragam bioaktivitas seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa analog pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida (PR-4Cl-LA) dari senyawa kurkumin tersubstitusi kloro direaksikan dengan tiosemikarbazid dalam suasana basa. Senyawa hasil sintesis ditentukan kemurniannya melalui uji KLT, pengukuran titik leleh dan HPLC. Senyawa pirazolin murni memiliki rendemen sebesar 87% dan struktur dari pirazolin dikonfirmasi melalui uji UV, FTIR, HRMS dan $^1\text{H-NMR}$. Senyawa hasil sintesis dilakukan uji inhibisi enzim α -glukosidase melalui studi *molecular docking* terhadap struktur kristal asam lisosomal α -glukosidase (PDB ID 5NN5) dan uji *in vitro* terhadap enzim α -glukosidase. Senyawa PR-4Cl-LA menunjukkan hasil dalam menghambat enzim α -glukosidase yang kurang baik yaitu sebesar 9,333% dan dikonfirmasi melalui *molecular docking* yang hanya memiliki satu interaksi ikatan hidrogen yang sama dengan kontrol positif akarbosa yaitu dengan asam amino Asp518 dan energi bebas ikatan yang kurang baik yakni -14,7308 kkal/mol dibandingkan dengan akarbosa yakni -16,4969 kkal/mol.

Kata Kunci: *docking*, inhibisi, *in vitro*, pirazolin, sintesis



PENDAHULUAN

Diabetes merupakan penyakit yang diakibatkan oleh rusaknya sekresi insulin, atau insulin atau keduanya. Menurut *International Diabetes Federation* diprediksi sebanyak 483 juta pengidap diabetes pada tahun 2019 di seluruh dunia yang berusia 20-79 tahun (Binggga, 2021). Metode penanganan penyakit diabetes melitus salah satunya yaitu dengan cara mengonsumsi obat-obatan.

Obat antidiabetes terbagi menjadi beberapa macam berdasarkan proses penghambatan enzimnya, salah satunya yaitu obat yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase berfungsi untuk memecahkan karbohidrat menjadi glukosa pada usus. Obat yang dapat bertindak sebagai inhibitor enzim α -glukosidase yaitu akarbosa tetapi obat ini dapat menimbulkan efek samping dalam penggunaan jangka panjang, sehingga dikembangkan metode sintesis senyawa dalam mengatasi permasalahan tersebut (Kurniawati & Eka, 2016).

Senyawa kimia yang telah banyak diteliti aktivasnya dalam pengembangan obat yaitu pirazolin. Pirazolin merupakan senyawa golongan azol yang memiliki ciri bentuk berupa heterosiklik cincin lima mengandung atom nitrogen. Beberapa

penelitian telah membuktikan bahwa bioaktivitas dari pirazolin sangat beragam seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan lain-lain. Pirazolin juga memiliki kelemahan seperti sulit ditemui di alam sehingga dalam mengatasi permasalahan ini dikembangkan metode sintesis kimia (Okla *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian Rindiana (2021) telah dilakukan sintesis senyawa pirazolin dengan cara mereaksikan senyawa kurkumin tersubstitusi metoksi dengan fenil hidrazin. Kemudian dievaluasi aktivitas senyawa tersebut terhadap inhibisi enzim α -glukosidase diperoleh hasil berupa nilai IC_{50} sebesar 477,489 $\mu\text{g/mL}$ tergolong tidak aktif dan tidak memiliki aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase. Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan modifikasi struktur terhadap senyawa pirazolin dengan cara mereaksikan kurkumin tersubstitusi kloro dengan tiosemikarbazid. Penulis berharap dengan adanya gugus heterosiklik berupa atom N dan S pada struktur molekul target mampu memiliki aktivitas terhadap inhibisi enzim α -glukosidase. Senyawa pirazolin hasil sintesis dilakukan uji aktivitasnya terhadap inhibisi enzim α -glukosidase dengan menggunakan metode *in vitro* dan *molecular docking*.



METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave*, *monowave* 50 (Anton Paar), tabung reaksi tertutup, *magnetic stirrer*, satu set alat destilasi, neraca analitik (NEWTECH), cawan *Buchner*, oven, pompa vakum (GAST), *hotplate* (BOECO Germany), alat penentu titik leleh *Fisher John* (SMP 11-Smart), lampu UV (Camag 254 dan 366 nm), spektrofotometer *microplate reader*, spektrofotometer FTIR (FTIR Shimadzu IR Prestige-21), HPLC (UFLC Prominence-Shimadzu LC Solution, Detektor UV SPD 20AD), spektrofotometer UV-Visible (Genesys 10S UV-VIS v4.0022L9N175013), spektrofotometer NMR (Agilent 500 MHz dengan system konsol DD2), spektrofotometer massa (Water LCT premier XE mode positif), vial serta peralatan gelas lainnya yang digunakan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Riau.

Adapun bahan-bahan yang digunakan yaitu 4-piperidon monohidrat hidroklorida (Merck), 4-klorobenzaldehid (Fluka), natrium hidroksida (Merck), Asam klorida (Merck), tiosemikarbazid (Merck), pelat Kromatografi Lapis Tipis GF₂₅₄ (Merck), etanol, n-heksana, etil asetat, diklorometana,

indikator universal, aqua DM, enzim α -glukosidase, substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, natrium karbonat dan akarbosa.

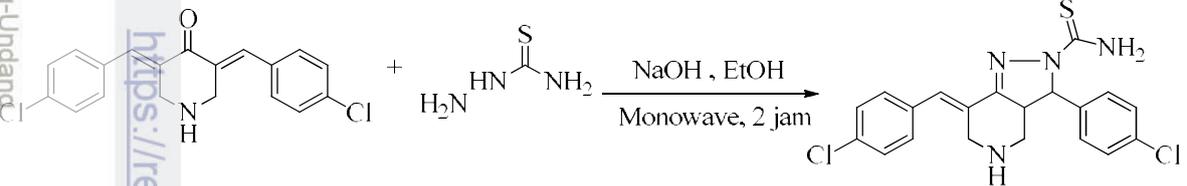
Perangkat lunak yang digunakan dalam *molecular docking* adalah Molecular Operating Environment 2019 (MOE 2019.0102) (Chemical Computing Group), Discovery Studio Visualizer v21.1.0.20298 (Dassault Systemes BIOVIA), dan ChemDraw Professional 12.0 (PerkinElmer). Sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah struktur kristal *human lysosomal α -glukosidase* (PDB ID : 5NN5) dari (<http://www.rcsb.org/>). Ligan yang digunakan yaitu struktur pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida dan moranolin sebagai pembanding kontrol positif.

b. Sintesis senyawa pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida

Senyawa analog kurkumin (2 mmol) direaksikan dengan senyawa tiosemikarbazid (4 mmol) menggunakan pelarut etanol absolut sebanyak 5 mL dalam keadaan basa. Campuran direaksikan menggunakan *monowave* pada suhu 70°C selama 2 jam dapat dilihat pada **Gambar 1**. Reaksi



1. Dikontrol setiap satu jam menggunakan pelat Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Setelah reaksi selesai, campuran ditambahkan akua DM dingin dan pH campuran dinetralkan dengan penambahan larutan HCl 3N. Campuran didiamkan selama 24 jam dalam lemari pendingin hingga terbentuk endapan secara maksimal. Padatan yang terbentuk



Gambar 1. Skema sintesis senyawa pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida

b. Identifikasi struktur senyawa

Senyawa murni yang diperoleh kemudian diidentifikasi melalui analisis spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR dan HRMS. Pengukuran spektrum UV dan FTIR dilakukan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau, sedangkan pengukuran spektrum ¹H-NMR di Institut Teknologi Bandung dan HRMS di Universitas Padjajaran.

c. Molecular docking

Studi *molecular docking* dilakukan terhadap *human lysosomal α*-glukosidase (PDB ID: 5NEN5). Preparasi ligan dilakukan dengan cara struktur senyawa pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-

disaring menggunakan corong *buchner* dan dicuci dengan akua DM dan n-heksana dingin lalu dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya, padatan yang diperoleh diuji kemurniannya dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), pengukuran titik leleh, dan uji HPLC.

3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida dan dan akarbosa sebagai kontrol positif digambar melalui perangkat lunak ChemDraw Pro 12.0. Struktur senyawa disalin pada lembar kerja MOE 2019.0102. Ligan diprotonasi dan minimisasi energi dilakukan melalui menu *compute*, menggunakan *forcefield* Amber 10 : EHT. Kemudian file ligan disimpan dalam database dengan format .mdb.

Preparasi protein target dilakukan dengan cara struktur kristal protein dibuka pada jendela MOE 2019.0102. Molekul air dihapus, kemudian dilakukan perbaikan struktur, seperti protonasi, penambahan muatan dan perbaikan *missing atoms*.



Selanjutnya, dilakukan minimisasi energi menggunakan forcefield Amber 10 : EHT. Reseptor disimpan dalam format .moe. Saat docking untuk bagian Placement dan Refinement dipilih sesuai aturan standar MOE, scoring dilakukan menggunakan London dG. Hasil konformasi docking terbaik dilihat melalui konformasi yang memiliki nilai *binding free energy* (S) terkecil.

Uji aktivitas tirosinase secara in vitro

- 1. Pengujian kontrol blanko (B₀)**

DMSO ditambahkan sebanyak 5 µL dengan buffer fosfat (pH 7) sebanyak 70 µL dan *p*-NPG 20 mM sebanyak 25 µL lalu dicampurkan ke dalam *microplate reader* 96 well. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian larutan Na₂CO₃ 0,1 M ditambahkan sebanyak 100 µL, lalu absorbansi *p*-PNG diukur pada panjang gelombang 410 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.
- 2. Pengujian blanko (B₁)**

DMSO sebanyak 5 µL ditambahkan dengan buffer fosfat (pH 7) sebanyak 45 µL, *p*-NPG 20 mM sebanyak 25 µL, α-glukosidase (0,2 U/mL) sebanyak 25 µL lalu campuran diletak ke dalam *microplate reader* 96 well. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. setelah itu,

larutan Na₂CO₃ 0,1 M ditambahkan sebanyak 100 µL, lalu absorbansi dari *p*-PNG diukur pada panjang gelombang 410 nm dengan menggunakan spektrofotometer *microplate reader*.

3. Pengujian kontrol sampel (S₀)

Sampel 1000 µg/mL sebanyak 5 µL ditambahkan dengan buffer fosfat (pH 7) sebanyak 70 µL, *p*-PNG 20 mM ditambahkan sebanyak 25 µL dan diletakkan ke dalam *microplate reader* 96 well, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, larutan Na₂CO₃ 0,1 M ditambahkan sebanyak 100 µL, lalu absorbansi dari *p*-PNG diukur pada panjang gelombang 410 nm dengan spektrofotometer *microplate reader*.

4. Pengujian sampel (S₁)

Sampel 1000 µg/mL sebanyak 5 µL ditambahkan dengan buffer fosfat (pH 7) sebanyak 50 µL, *p*-PNG 20 mM ditambahkan sebanyak 25 µL dan α-glukosidase (0,2 U/mL). Kemudian campuran diletakkan ke dalam *microplate reader* 96 well. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, larutan Na₂CO₃ 0,1 M ditambahkan sebanyak 100 µL, lalu absorbansi dari *p*-PNG diukur pada panjang gelombang 405 nm dengan spektrofotometer *microplate reader*. Pengujian diulangi terhadap variasi



1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis senyawa pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida (PR-4Cl-LA)

Sintesis senyawa pirazolin-(*E*)-(4-klorobenzaldehid)3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-*H*-pirazolo(4,3-*c*)-piridin-2-karbotioamida (PR-4Cl-LA) telah dilakukan dengan cara mereaksikan senyawa kurkumin (2 mmol) dengan tiosemikarbazid (4 mmol) dalam suasana basa (NaOH) dengan menggunakan pelarut etanol absolut sebanyak 5 mL. Campuran direaksikan menggunakan alat *monowave* 50 pada suhu 70°C selama 2 jam. Reaksi pembentukan senyawa pirazolin diawali OH^- pada basa mengambil atom hidrogen dari senyawa tiosemikarbazid pada gugus NH_2 . Reaksi ini dikenal dengan reaksi siklokondensasi. Senyawa pirazolin murni yang diperoleh memiliki ciri endapan berwarna putih kekuningan dengan berat sebesar 0,725 gram dan besar rendemen sebesar 87%. Hasil pengukuran titik leleh senyawa pirazolin adalah 182-184°C.

Hasil identifikasi spektroskopi UV menunjukkan satu puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 316 nm, yang menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dari ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin aromatik yang tersubstitusi kloro.

Hasil analisis FTIR yang diperoleh menunjukkan bilangan gelombang dan bentuk spektrum yang spesifik untuk gugus fungsi pada senyawa pirazolin PR-4Cl-LA. Bilangan gelombang sebesar 3440 cm^{-1} menunjukkan vibrasi ikatan pada gugus N-H sedangkan NH_2 muncul pada bilangan gelombang 3283 cm^{-1} . Selanjutnya vibrasi ikatan C=N pada bilangan gelombang 1602 cm^{-1} . Vibrasi ikatan C=S muncul pada panjang gelombang 2360 cm^{-1} sedangkan vibrasi ikatan C-Cl muncul pada bilangan gelombang 830 cm^{-1} .

Karakterisasi lebih lanjut senyawa pirazolin PR-4Cl-LA yaitu analisis HRMS untuk mengetahui massa molekul senyawa pirazolin PR-4Cl-LA. Berdasarkan uji ini diperoleh puncak ion molekul yang teramati sebesar 417, 0707 yang menunjukkan nilai dari $[\text{M}+\text{H}]^+$ yaitu besarnya masa molekul relatif senyawa pirazolin PR-4Cl-LA ditambah satu atom hidrogen. Massa terhitung dari senyawa pirazolin PR-4Cl-LA dengan rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{SCl}_2$



2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

sebesar 417,0713 sehingga diperoleh selisih antara keduanya sebesar 0,0006. Kemudian selain puncak ion molekul, terdapat puncak isotop pada m/z 419 yang menunjukkan ciri khas dari atom Cl dengan isotop ^{37}Cl dengan perbandingan 1:3, sehingga dapat disimpulkan bahwa massa ion molekul yang teramati sesuai dengan massa dihitung.

Analisis karakterisasi yang terakhir yaitu analisis $^1\text{H-NMR}$. Analisis ini menunjukkan kesesuaian dari jumlah proton hasil sintesis dengan jumlah proton dari struktur molekul target. Hasil dari H-NMR senyawa pirazolin yang telah dianalisis, diperoleh hasil yang kurang sesuai dengan molekul target yang ditandai dengan munculnya jumlah proton yang diperoleh hanya sebanyak 8H serta sinyal yang muncul sangat sederhana yang hanya mewakili beberapa proton saja.

Pada pergeseran 7,45 ppm muncul sinyal *doublet* dengan integrasi sebesar 2H. Sinyal ini mewakili proton aromatik posisi 2'' dan 6''. Sinyal ini muncul terlebih dahulu dikarenakan proton-proton pada posisi ini memiliki lingkungan kimia yang lebih *shielding* atau jauh dari gugus elektronegatif dibandingkan proton lainnya sehingga proton ini lebih dahulu muncul.

Pergeseran kimia sebesar 7,84 ppm muncul sinyal dengan orientasi *doublet*, sinyal ini mengindikasikan sinyal dari proton aromatik pada posisi 3'' dan 5'' dengan integrasi sebesar 2H, sinyal ini muncul mewakili dua proton diakibatkan oleh adanya kondisi lingkungan kimia yang hampir mirip antara proton 3'' dengan 5''. Kemudian muncul sinyal *singlet* pada pergeseran 8,02 ppm. Sinyal ini mengorientasikan sinyal dari proton posisi H4, proton ini lebih *deshielding* daripada proton Ha dan Hb dikarenakan adanya pengaruh efek induksi dari atom N pada cincin pirazolin sehingga mengakibatkan sinyal ini muncul pada pergeseran lebih besar.

Pergeseran 8,05 ppm muncul sinyal *singlet* yang mengorientasikan sinyal dari proton posisi 1''' pada alkena, proton posisi 1''' lebih *shielding* dibandingkan proton posisi 5 dikarenakan proton posisi ini jauh dari efek induksi atom N pada cincin pirazolin. Selanjutnya proton posisi 5 muncul pada pergeseran 8,20 ppm dengan orientasi sinyal berupa *singlet*. Proton posisi ini lebih *deshielding* dibandingkan proton posisi 4 dan 1''' dikarenakan adanya pengaruh efek induksi dari atom N pada cincin pirazolin sehingga proton posisi ini muncul pada pergeseran kimia lebih besar.



1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

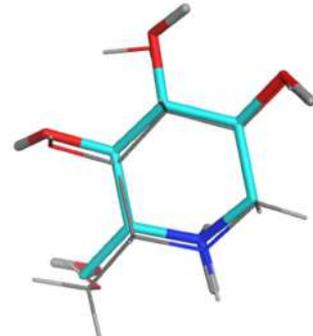
Selanjutnya proton pada NH_2 muncul pada pergeseran kimia paling besar yaitu pada pergeseran kimia sebesar 11,47 ppm dengan orientasi sinyal berupa *singlet*. Proton pada NH_2 merupakan proton yang paling *deshielding* karena adanya pengaruh induksi negatif dari gugus S dan N pada cincin pirazolin sehingga proton menjadi lebih teratrik dan mengakibatkan pergeseran kimia pada proton menjadi lebih besar dibandingkan proton yang lainnya.

b. *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan salah satu teknik untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptornya dengan bantuan perangkat komputer. Proses *docking* terbagi atas *blind docking* dan *oriented docking*. *Blind docking* adalah proses *docking* yang dimana letak sisi aktif dari reseptor belum diketahui. Sedangkan *oriented docking* adalah proses *docking* yang dimana letak sisi aktif pada reseptor sudah diketahui dengan tepat (Syahputra *et al.*, 2014).

Studi ini dilakukan terhadap reseptor target yang digunakan kristal protein *human*

lysosomal α -glukosidase (5NN5) terikat dengan moranolin sebagai ligan alami.



RMSD = 0,3290 Å

Gambar 2. Overlay konformasi *redocking* ligan alami moranolin

Pada analisis ini dilakukan *docking* kembali terhadap moranolin untuk memastikan kembali metode yang akan digunakan pada proses *docking*. Dari analisis yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa metode yang digunakan sesuai karena posisi ligan yang cenderung sama dengan posisi ligan alaminya, dilihat pada **Gambar 2**. Kemudian diperoleh nilai RMSD yang dimana RMSD merupakan salah satu parameter penting dalam *docking*. Hasil *redocking* diperoleh nilai RMSD sebesar 0,3290 yang menyatakan bahwa hasilnya baik karena apabila nilai RMSD <2 maka tergolong baik.



2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

1. Disimpulkan bahwa senyawa PR-4Cl-LA tidak memiliki aktivitas yang cukup baik dalam penghambatan enzim α -glukosidase.

Uji *in vitro* penghambatan enzim α -glukosidase.
pirazolin-(E)-(4-klorobenzaldehid)3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7-heksahidro-2-H-pirazolo(4,3-c)-piridin-2-karbotioamida (PR-4Cl-LA) dilakukan pengujian aktivitas inhibitor enzim α -glukosidase. secara *in vitro* terhadap enzim α -glukosidase. Mekanisme kinerja enzim pada uji ini yaitu bersifat inhibitor kompetitif, yang dimana antara substrat dengan inhibitor bersaing untuk dapat berikatan pada sisi aktif enzim. Pada uji ini substrat yang digunakan adalah senyawa p-nitrofenil- α -D glukopiranosida (p-NPG) dan akarbosa sebagai kontrol positif.

Pengujian dilakukan dengan 2 perlakuan. Perlakuan pertama ialah mereaksikan sampel, enzim α -glukosidase dan substrat p-NPG (S₁). Perlakuan kedua atau perlakuan sampel kontrol (S₀) ialah mereaksikan sampel dan enzim α -glukosidase tanpa substrat.

Inhibitor PR-4Cl-LA terhadap kerja enzim dapat dikatakan baik apabila senyawa PR-4Cl-LA dapat menempati sisi aktif pada enzim α -glukosidase sehingga kerja enzim terhadap substrat menjadi terhambat dan

pembentukan p-nitrofenol dan glukosa juga berkurang yang ditandai dengan munculnya warna lebih pudar pada larutan.

Hasil analisis aktivitas inhibitor α -glukosidase menunjukkan bahwa terjadi ikatan antara substrat dengan sisi aktif pada enzim sehingga mengakibatkan substrat terhidrolisis menjadi p-nitrofenol dan glukosa. Adapun besarnya nilai penghambat dari senyawa PR-4Cl-LA yaitu sebesar 9,333% dalam menghambat enzim α -glukosidase sedangkan besarnya nilai hambat pada akarbosa yaitu sebesar 12,817%.

KESIMPULAN

Senyawa pirazolin-(E)-(4-klorobenzaldehid)-3-(4-klorofenil)-3,3a,4,5,6,7,-heksahidro-2-H-pirazolo-(4,3-C)-piridin-2-karbotioamida (PR-4Cl-LA) berhasil disintesis melalui dua tahap reaksi menggunakan *microwave* dan *monowave* diperoleh hasil berupa padatan berwarna putih kekuningan dengan rendemen sebesar 84%.

Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV, FTIR dan HRMS menunjukkan bahwa struktur senyawa pirazolin yang disintesis telah sesuai dengan senyawa target yang diharapkan, namun hasil



1. Karakterisasi menggunakan $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan hasil yang kurang sesuai. Aktivitas senyawa pirazolin PR-4Cl kurang baik dalam menghambat enzim α -glukosidase yaitu sebesar 9,333% dan dikonfirmasi melalui *molecular docking* yang hanya memiliki satu interaksi ikatan hidrogen yang sama dengan kontrol positif akarbosa yaitu dengan asam amino Asp518 dan energi bebas ikatan yang kurang baik yakni -14,7308 kkal/mol dibandingkan dengan akarbosa yakni -16,4969 kkal/mol.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

DAFTAR PUSTAKA

- Bingga, I.A. 2021. Kaitan kualitas tidur dengan diabetes mellitus tipe 2. *Jurnal Medika Hutama*. **2**(4): 2-5.
- Kurniawaty, E & Eka, E.L. 2016. Uji efektivitas daun belimbing wuluh (*Avverhoa blimbi L*) sebagai pengobatan diabetes miletus. *Majority*. **5**(2):32-34.
- Okla, M., Alamri, S.A., Alaraidh, I.A., Al-ghamdi, A.A., Soufan, W.H., Allam, A.A., Fouda, M.M.G., & Gaffer, H.E. 2019. Synthesis of pyrazolin-5-one derivatives clubbed with thiazole and/or thiadiazole and evaluation

of their antioxidant and cytotoxic activities. *Chemistry Select*. **4**(40): 11735–11739.

Rindiana, E.N. 2021. Sintesis dan uji aktivitas inhibisi α -glukosidase senyawa analog kurkumin-pirazolin tersubstitusi dimetoksi. *Skripsi*. Pekanbaru: STIFAR

Syahputra, G., Ambarsari L, & T, S. 2014. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Biofisika*. **10**(1):55–67.