

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTAGONISME SENYAWA 1-(2,5-dihidroksifenil)-
(3-piridin-2-il)-propanon PADA RESEPTOR ACh-M₃ UTERUS MARMUT
TERISOLASI : STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO***



**Disusun oleh
SARI NAFILA
20120350033**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTAGONISME SENYAWA *1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon* PADA RESEPTOR ACh-M₃ UTERUS MARMUT
TERISOLASI : STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

Disusun oleh
SARI NAFILA
20120350033

Telah disetujui pada tanggal 31 Oktober 2016

Dosen Pembimbing KTI

Puguh Novi Arsito, M.Sc., Apt.

NIK: 19861107201310173224

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji 2

Indra Putra Taufani, Msc., Apt.

NIK: 19830122201504173238

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.

NIK: 19870227201210173188

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt.

NIK: 19730223201310173127

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sari Nafila
NIM : 20120350033
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 31 Oktober 2016

Yang membuat pernyataan

Sari Nafila

MOTTO

Hai orang-orang yang beriman, mintalah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan (Mengerjakan) Shalat, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.

(QS. Al-Baqarah,153)

“Ilmu itu lebih baik daripada harta. Ilmu akan menjaga engkau dan engkau menjaga harta. Ilmu itu penghukum (hakim) sedangkan harta terhukum. Kalau harta itu akan berkurang apabila dibelanjakan, tetapi ilmu akan bertambah apabila dibelanjakan.”

(Sayidinia Ali bin Abi Thalib)

Kepuasan terletak pada usaha, bukan pada hasil. Berusaha dengan keras adalah

kemenangan yang hakiki

(Mahatma Ghandi)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis ini. Karya Tulis Ilmiah ini dipersembahkan untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, ayahanda A.kusno dan ibunda Ade Asani yang senantiasa mendoakan, berkerja keras, dan memberikan semangat serta nasihat.
2. Kakak Siska Alviyanah yang turut memberikan saran dan dukungan selama ini.
3. Untuk seluruh keluarga besar yang juga selalu mendoakan.
4. Teman-teman Farmasi 2012 yang berjuang bersama dalam mendapatkan gelar Sarjana Farmasi. Serta memberikan banyak pengalaman berkesan dan bermanfaat di masa perkuliahan.
5. Dosen dan rekan sejawat serta almamater sebagai identitas dan kebanggaanku.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil‘alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya akhirnya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Uji Aktivitas Antagonisme Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada Reseptor ACh-M₃ Uterus Marmut Terisolasi : Studi *In vitro* dan *In silico*”. Meskipun banyak hambatan yang penulis alami dalam proses pengerjaannya, tapi penulis berhasil menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tepat pada waktunya.

Tidak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada bapak Puguh Novi Arsito, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing, bapak Rifki Febriansah, M.Sc., Apt. dan bapak Indra Putra Taufani, M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah membantu dan membimbing dalam mengerjakan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Yogyakarta, Oktober 2016

Penulis

Sari Nafila

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Keaslian Penelitian.....	4
D. Tujuan Penelitian	4
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenone	6
2. Uterus	7
3. Reseptor Asetilkolin.....	9
4. Uji Organ Terisolasi.....	10
5. Uji <i>in silico</i> dengan <i>Docking</i>	11
B. Kerangka Konsep	12
C. Hipotesis.....	13
BAB III METODE PENELITIAN	14
A. Desain Penelitian	14
B. Tempat dan Waktu	14
C. Populasi dan Sampel (Subyek Peneltian)	14
D. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	14
E. Instrumen Penelitian	15
F. Cara Kerja	16
G. Skema Langkah Kerja.....	23
H. Analisis Data	24
I. Statistika.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Hasil penlitian dan pembahasan.....	26
1. Uji pelarut DMSO terhadap kontraksi otot polos uterus	26
2. Uji Senyawa Atropin.....	28
3. Pengaruh senyawa obat terhadap reseptor asetilkolin	32
B. Pembahasan	42

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
A. KESIMPULAN.....	50
B. SARAN.....	50
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR SINGKATAN

ACh-M ₃	Asetilkolin Muskarinik 3
DMSO	Dimetil sulfoksida

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Komposisi buffer <i>tyrode</i>	16
Tabel 2.	Nilai rata-rata pD ₂ asetilkolin karena pengaruh DMSO 100µL.....	28
Tabel 3.	Pergeseran nilai pD ₂ asetilkolin karena pengaruh atropin 10 dan 50µM.....	30
Tabel 4.	Pergeseran nilai pD ₂ asetilkolin reversibilitas karena pengaruh atropin 10 dan 50µM.....	32
Tabel 5.	Skor <i>docking</i> senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.....	35
Tabel 6.	Pergeseran nilai pD ₂ asetilkolin karena pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 µM.....	39
Tabel 7.	Pergeseran nilai pD ₂ asetilkolin reversibilitas karena pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 µM.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.....	7
Gambar 2.	Uterus Marmut.....	7
Gambar 3.	Struktur Kimia Asetilkolin.....	9
Gambar 4.	Langkah Kerja.....	23
Gambar 5.	Pengaruh DMSO terhadap Respon Kontraksi Otot Polos Uterus yang diinduksi Asetilkolin.....	27
Gambar 6.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin terhadap % respon kontraksi otot polos uterus terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian atropin 10 dan 50 μM	30
Gambar 7.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin terhadap % responkontraksi otot polos uterus terisolasi pada uji reversibilitas atropin 10 dan 50 μM terhadap reseptor ACh-M ₃	31
Gambar 8.	Visualisasi validasi <i>docking</i> molekuler tiotropium (4DAJ) pada reseptor ACh-M ₃	33
Gambar 9.	Stuktur sekunder molekul reseptor ACh-M ₃	34
Gambar 10.	Posisi senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ketika terikat ke reseptor ACh-M ₃	35
Gambar 11.	Posisi senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)propenon ketika terikat ke reseptor ACh-M ₃	36
Gambar 12.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin terhadap % respon kontraksi otot polos uterus terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 μM	38
Gambar 13.	Kurva Schild-Plot perhitungan parameter antagonis (pA_2) senyawa1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptorACh-M ₃	40
Gambar 14.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin terhadap % respon kontraksi otot polos uterus terisolasi pada uji reversibilitas senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 μM terhadap reseptor ACh-M ₃	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data Pengaruh Pelarut DMSO terhadap Kontraksi Otot Polos Uterus.....	54
Lampiran 2.	Data Pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap Reseptor ACh-M ₃ Otot polos uterus.....	56
Lampiran 3.	Data Uji Reversibilitas Pemberian Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 μ M dan 20 μ M terhadap Reseptor ACh-M ₃ Otot Polos Uterus.....	59
Lampiran 4.	Perhitungan Parameter Antagonis (pA ₂) Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada Reseptor ACh-M ₃	62
Lampiran 5.	Hasil Uji Statistik pada Uji Pengaruh DMSO terhadap Kontraksi Otot Polos Uterus.....	63
Lampiran 6.	Hasil Uji Reversibilitas Kontraksi Otot Polos Uterus.....	68
Lampiran 7.	Hasil Skor <i>Docking</i> pada Reseptor ACh-M ₃	71

INTISARI

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah turunan senyawa kalkon yang tersubstitusi oleh dua gugus hidroksi pada cincin A dan memiliki gugus 2-piridil pada cincin B. Analisis diskoneksi menunjukkan bahwa senyawa ini dapat disintesis dari *starting material* 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid. Sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon menggunakan metode *microwave* dilakukan dengan cara mereaksikan senyawa piridin-2-karbaldehid dan 2,5-dihidroksiasetofenon tanpa pelarut dengan katalis K_2CO_3 dalam *microwave*.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek farmakodinamik senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor asetilkolin yang diinduksikan pada uterus marmut terisolasi. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon diberikan dengan dosis 10 μM dan 20 μM . Sementara, agonis diberikan dengan seri kadar 10^{-8} - 10^{-2} M. Pada uji *in vitro* ini juga akan dipelajari tipe antagonisme dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan sifat reversibilitasnya pada reseptor. Selain uji *in vitro*, pada penelitian ini juga dilakukan uji *in silico* dengan menggunakan program *docking* dengan menggunakan *Autodock*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dapat menghambat kontraksi otot polos uterus terisolasi yang diinduksikan asetilkolin. Pada reseptor ACh-M₃ terjadi pergeseran nilai pD_2 yang signifikan ($p < 0,05$) hanya terjadi pada kelompok senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 20 μM . Nilai pD_2 kelompok kontrol, senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 μM dan 20 μM berturut-turut adalah sebesar 6,13; 5,54 dan 5,49. Dari hasil analisis *Schild-plot* diketahui tipe antagonismenya bersifat kompetitif (*slope*: 0,853, pA_2 :1,728). Ikatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ke reseptor ACh-M₃ tersebut bersifat lebih lemah jika dibandingkan dengan *native ligand* (tiotropium, skor *docking*: -115,107). Kesimpulan dari penelitian ini adalah senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki aktivitas antagonis kompetitif pada reseptor ACh-M₃.

Kata kunci: Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon, uterus marmut terisolasi, reseptor ACh-M₃, antagonis kompetitif.

ABSTRACT

The compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon calchone compound is a derivative that is substituted by two hydroxy groups on the A ring and has a 2-pyridyl group on the ring B. The analysis showed that the compound disconnection this can be synthesized from the starting material 2,5-dihydroxyacetophenon and pyridine-2-carbaldehyd. Synthesis of the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon using *microwave* method performed by reacting the compound pyridine-2-carbaldehyd and 2,5-dihydroxyacetophenon without solvent with a catalyst K_2CO_3 in *microwave*. This research aims to study the pharmacodynamic effects of the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon against acetylcholine receptors that induced in the isolated guinea pig uterine. The compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl) - (3-pyridine-2-yl) -propenon given at a dose of 10 μM and 20 μM . Then, agonis given the rate series $10^{-8} - 10^{-2}$ M. *In vitro* tests have also examined the type of antagonism of the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon and nature reversibility's receptor. In addition to *in vitro* assays, in this study also tested *in silico* using a *docking* program *Autodock*.

The results showed that the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon can inhibit uterine smooth muscle contraction induced isolated acetylcholin. In receptors ACh-M₃ shifts the value of pD₂ significant (p < 0.05) only in the group of compounds 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl) -propenon 20 μM . Value pD₂ control group, the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon 10 μM and 20 μM respectively of 6.13; 5.54 and 5.49. From the analysis of Schild-plot known type of antagonism is competitive (*slope*: 0.853, pA₂: 1,728). Bonding compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon to the ACh-M₃ receptors are weaker than the *native ligand* (tiotropium, *docking* score: -115.107). The conclusion of this study is the compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenon have a competitive antagonist activity at the receptor ACh-M₃.

Keywords: Compound 1-(2,5-dihydroxyphenyl) - (3-pyridine-2-yl)-propenon, isolated guinea pig uterine ACh-M₃ receptor, competitive antagonist.