

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Seiring dengan berkembangnya zaman, banyak penelitian yang mengulas tentang manfaat dari suatu senyawa yang sebelumnya belum banyak diketahui, baik itu untuk pencegahan maupun penyembuhan, diolah secara tradisional ataupun secara modern. Salah satunya senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang merupakan senyawa sintetis turunan kalkon yang memiliki beberapa manfaat.

Penyebaran senyawa kalkon di alam sangat terbatas dan hanya ditemukan pada beberapa golongan tumbuhan dalam jumlah yang sedikit. Hal ini disebabkan kalkon memiliki peranan penting dalam pembuatan turunan flavonoid karena berfungsi sebagai zat antara. Kalkon biasanya langsung berubah menjadi flavanon maupun turunan flavonoid yang lain. Kalkon dan turunannya juga memegang peranan penting di dalam bahan alam dan telah diteliti berbagai aktivitas farmakologi dan aktivitas biologi. Kalkon dan turunannya mempunyai beberapa aktivitas seperti: antibakteri, antiplatelet, antiulceratif, antimalaria, antikanker, antiviral, antileismanial, antioksidan, antihiperlipidemia, immunomodulator, antiinflamasi (Kishor, *et al.*, 2009). Oleh karena itu, aktivitas biologi dan potensi senyawa ini sangat bermanfaat bagi pengembangan obat, maka perlu adanya upaya pengembangan sintesis senyawa kalkon dan derivatnya (Diedrich, 1962). Salah satu contoh tanaman yang mengandung kalkon adalah tanaman ashitaba, tanaman ashitaba juga

mengandung senyawa alkaloid yang dapat digunakan untuk terapi spasme uterus, tetapi hal tersebut belum diuji efektifitasnya (Akihisa *et al.* 2003).

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa kandungan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki prospek yang cerah untuk dikembangkan sebagai agen anti-inflamasi, sehingga dapat digunakan untuk mengurangi berbagai gejala inflamasi. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dilaporkan memiliki efek spasmolitik pada ileum marmut yang berkontraksi menggunakan histamin dan asetilkolin (Setiyani, 2016).

Spasmolitik adalah zat yang dapat mengatasi kejang otot disekitar perut yang mengakibatkan nyeri kronis. Kejang atau spasme otot secara umum adalah kontraksi otot yang terjadi secara tiba-tiba yang dapat terjadi karena penggunaan otot yang terus-menerus atau pada saat kondisi udara yang dingin sehingga mengganggu aliran darah terganggu. Prevalensi spasme otot ini belum pasti karena banyak penderita yang tidak melaporkan gejala mereka. Apabila spasme tersebut terjadi di uterus maka hal tersebut dinamakan Disminorhea. Disminorhea adalah nyeri selama menstruasi yang disebabkan oleh kejang otot uterus. Nyeri tersebut terasa diperut bagian bawah. Nyeri dapat terasa sebelum atau sesudah haid, dapat bersifat kolik atau terus menerus. Hal ini disebabkan oleh kontraksi miometrium yang diinduksi oleh prostaglandin tanpa adanya kelainan patologis pelvis (Tortora, *et al.* 2006)

Penelitian terdahulu menjelaskan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki kemampuan untuk

menghambat peningkatan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler melalui penghambatan influks  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraseluler dan menghambat pelepasan  $\text{Ca}^{2+}$  dari *calcium-store* sehingga mampu mengurangi respon kontraksi otot polos ileum (Setiyani, 2016)

Penelitian ini memusatkan pada uji farmakodinamik interaksi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor asetilkolin pada otot polos uterus. Seperti yang dijelaskan pada penelitian terdahulu, pada organ uterus terdapat pula reseptor ACh-M<sub>3</sub>. Untuk lebih mengetahui lebih dalam mengenai kekuatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor ACh-M<sub>3</sub>, penelitian ini dilanjutkan dengan uji *in silico* yaitu *docking* dengan menggunakan program *Autodock*.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- a. Apakah 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki efek antagonisme pada reseptor ACh-M<sub>3</sub> uterus marmut terisolasi ?
- b. Berapakah dosis optimal untuk memberikan efek antagonisme pada reseptor ACh-M<sub>3</sub> uterus marmut terisolasi?
- c. Berapakah skor *docking* 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada reseptor ACh-M<sub>3</sub> ?

### C. Keaslian Penelitian

1. Seperti pada penelitian terdahulu (Arsito, 2013), salah satu tanaman herbal yaitu *Aegle Marmelos* mengandung senyawa marmin yang memiliki aktivitas antagonisme reseptor ACh-M<sub>3</sub> pada ileum marmut terisolasi uji *in vitro* dan *in silico*. Penelitian tersebut mengulas mengenai pengaruh suatu senyawa yang dapat mengantagonis reseptor ACh-M<sub>3</sub> sehingga penelitian tersebut memiliki korelasi dengan penelitian ini yaitu uji aktivitas senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada reseptor ACh-M<sub>3</sub> uterus marmut terisolasi studi *in vitro* dan *in silico*.
2. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah senyawa hasil sintesis yang dilakukan oleh Wibowo, A.E pada tahun 2013, senyawa ini memiliki aktivitas antiinflamasi setelah diuji dengan menggunakan beberapa metode salah satunya adalah metode *microwave*.

### D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum  
Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek farmakodinamik senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor ACh-M<sub>3</sub> uterus marmut terisolasi.
2. Tujuan khusus
  - a. Meneliti pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dalam menghambat kontraksi otot polos uterus marmut terisolasi akibat induksi agonis reseptor asetilkolin secara *in vitro*.

- b. Mengetahui dosis optimal yang digunakan untuk mengantagonis reseptor asetilkolin.
- c. Mengetahui skor *docking* senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap antagonis reseptor asetilkolin.

#### **E. Manfaat Penelitian**

Hasil akhir dari penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan baru, terutama dalam pemanfaatan senyawa baru sebagai agen anti spasmolitik khususnya pada terapi dismenorhea. Dan dapat menjadi dasar ilmiah pada penelitian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ke tahap selanjutnya.

## BAB II

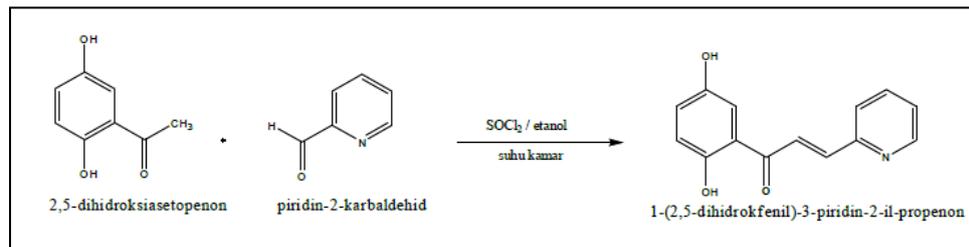
### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. TINJAUAN TEORI

##### 1. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenone

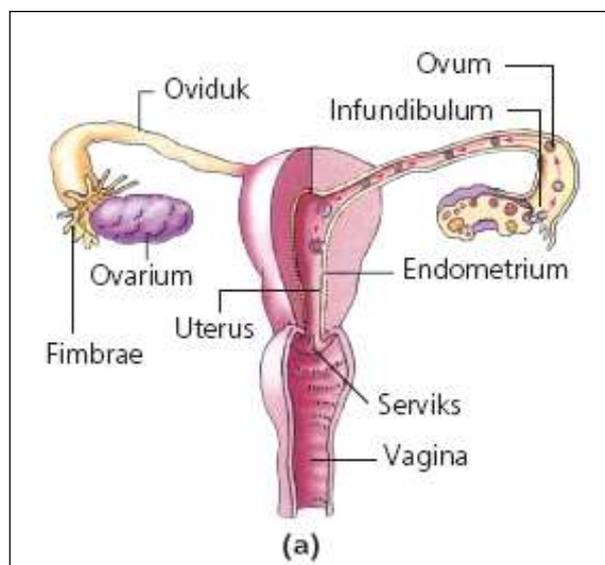
Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah turunan senyawa kalkon yang tersubstitusi oleh dua gugus hidroksi pada cincin A dan memiliki gugus 2-piridil pada cincin B. Sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon menggunakan metode *microwave* dilakukan dengan cara mereaksikan senyawa piridin-2-karbaldehid dan 2,5-dihidroksiasetofenon tanpa pelarut dengan katalis  $K_2CO_3$  dalam *microwave*. Metode radiasi *microwave* merupakan salah satu pengembangan sintesis secara *green chemistry*. Keuntungan dari metode ini adalah waktu reaksi lebih singkat, mudah penanganannya, dan tanpa pelarut (Ravichandran *et al.*, 2011). Katalis  $K_2CO_3$  juga merupakan katalis yang *non-toxic*, tidak mahal, dan mudah penanganannya.

Metode lain yang dapat digunakan untuk mensintesis turunan kalkon adalah metode proteksi gugus hidroksi, tetapi metode tersebut memerlukan pelarut dan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan metode *microwave* (Srivastava, 2006).



**Gambar 1.** Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

## 2. Uterus



**Gambar 2.** Uterus Marmut (Isnaeni, W. 2006)

Uterus merupakan organ reproduksi utama pada sebagian besar mammalia. Fungsi utama uterus adalah untuk fertilisasi ovum yang kemudian akan mengalami implantasi pada endometrium, dan menerima nutrisi dari pembuluh darah (Eurell and Brian, 2006). Tipe uterus tikus, kelinci, marmot dan mamalia kecil lainnya adalah dupleks, dimana uterusnya terdiri dari dua kornu dan saluran serviks yang terpisah dengan ujung membuka ke arah vagina (Bearden *et al.*, 2004)

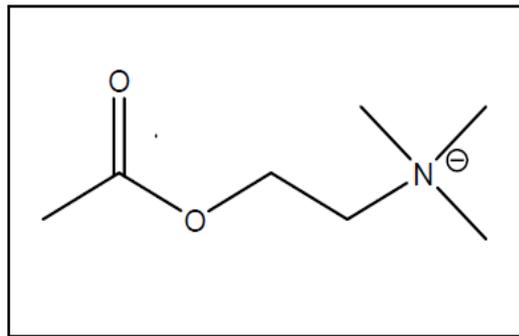
Otot uterus merupakan tipe otot polos unit tunggal. Miometrium merupakan bagian otot uterus yang tersusun oleh otot polos tipe viseral atau unit tunggal. Otot polos bekerja secara tidak sadar. Disebut otot polos unit tunggal karena serat-serat otot yang membentuk jenis otot ini tereksitasi dan berkontraksi sebagai suatu kesatuan, membentuk jaringan yang mengakibatkan potensial aksi dapat tersebar yang kemudian berkontraksi sebagai satu unit terkoordinasi (Tortora and Derrickson, 2006; Sherwood, 1996).

Serangkaian proses kontraksi dan relaksasi yang terjadi pada uterus dapat diringkas sebagai berikut: ikatan antara asetilkolin pada reseptor muskarinik. Peningkatan masuknya *Calcium* ke dalam sel aktivasi *calmodulin-dependent myosin light kinase* (enzim miosin kinase rantai ringan yang tergantung pada kalmodulin). Fosforilasi miosin dan peningkatan aktivitas miosin ATP-ase. Kemudian miosin berikatan dengan aktin, sehingga terjadi kontraksi dan defosforilasi miosin oleh enzim miosin fosfatase rantai ringan. Terjadi relaksasi, atau kontraksi yang berkelanjutan berbuhungan dengan adanya mekanisme *'latch bridge'* (mekanisme ini dapat mempertahankan kontraksi tonik yang lama pada otot polos selama berjam-jam dengan menggunakan sedikit energi dan sedikit sinyal eksitatorik yang berasal dari serat saraf ataupun sumber hormonal) (Ganong, 2005).

### 3. Reseptor Asetilkolin

Asetilkolin adalah neurotransmitter yang dilepaskan oleh ujung akhir syaraf parasimpatis dan merupakan salah satu senyawa endogen yang mengatur fungsi homeostatis saluran pernafasan. Syaraf parasimpatis merupakan syaraf utama yang mengatur sistem pernafasan. Semua aktivitas rangsangan syaraf parasimpatis berawal dari aktivasi reseptor muskarinik yang terletak pada otot polos saluran pernafasan, saluran cerna, kelenjar submukosa, pembuluh darah dan sel syaraf (Eurell, *et al.* 2006).

Asetilkolin (gambar 3)



**Gambar 3.** Struktur Kimia Asetilkolin

Pelepasan asetilkolin dari ujung syaraf parasimpatis diatur oleh reseptor ACh-M<sub>3</sub> (*muscarinic auto-receptor*) yang berada pada membran sel syaraf. Asetilkolin dapat mengaktivasi reseptor muskarinik dan nikotinik. Efek pelepasan asetilkolin adalah terjadinya hiperaktifitas saluran pernafasan, kontraksi otot polos, bronkokonstriksi, peningkatan sintesis dan sekresi mukus selama reaaaksi inflamasi, seperti yang dialami oleh para penderita asmadan COPD (Sanders, K.M., 2001)

Reseptor asetilkolin muskarinik dibagi menjadi lima subtipe (ACh-M<sub>1</sub> – ACh-M<sub>5</sub>). Kelima reseptor M tersebut terdapat dalam neuron, ACh-M<sub>1</sub> – ACh-M<sub>3</sub> merupakan reseptor asetilkolin muskarinik yang memiliki efek langsung terhadap saluran pernafasan, reseptor M<sub>2</sub> dapat ditemukan di dalam otot jantung dan otot polos sedangkan reseptor M<sub>3</sub> dapat ditemukan didalam kelenjar eksokrin dan otot polos salah satunya yaitu pada organ uterus. Pada penelitian ini mengacu pada reseptor asetilkolin ACh-M<sub>3</sub>. Aktivasi reseptor ACh-M<sub>3</sub> oleh asetilkolin akan memicu kontraksi otot polos. Jalur utama dari efek kontraksi otot polos saluran pernafasan oleh asetilkolin terhadap reseptor ACh-M<sub>3</sub> adalah dengan cara aktivasi fosfolipase C (PLC) melalui *intermediate heteridimetric protein G* dan akan merangsang pergerakan ion kalsium (Ehlert, 2003).

#### 4. Uji Organ Terisolasi

Pengujian khusus organ terisolasi dapat menggunakan bagian gastro-intestinal atau potongan spiral dari jaringan vaskuler yang umumnya menggunakan metode *organ bath* pada organ yang terisolasi dan dapat digunakan untuk meneliti efek kontraksi atau penghambatan kontraksi dan efek vasodilatasi (Vlietinck dan Apres, 2001).

Penggunaan organ uterus cukup populer sebagai subyek uji karena reproduibilitas, biaya relatif murah, mudah digunakan, dan mempunyai korelasi yang baik dengan studi secara *in vitro*.

Keuntungan lain menggunakan organ terisolasi adalah :

- a. Konsentrasi obat yang langsung pada jaringan/organ dapat diketahui

- b. Mengurangi kompleksitas hubungan antara respon dan organisme bagian tubuh atau reseptor lain
- c. Memungkinkan untuk mengurangi respon lain sebagai pengganti yang mungkin terjadi dari respon utama
- d. Kemampuan pengujian efek obat dengan intensitas yang lebih besar

Sedangkan kerugiannya adalah:

- a. Hewan uji harus dikorbankan untuk memperoleh jaringan atau organnya
- b. Hilangnya fungsi regulasi fisiologi
- c. Lingkungan yang digunakan merupakan tiruan dari keadaan aslinya.

(Lullman *et al.*, 2000)

## 5. Uji *in silico* dengan *Docking*

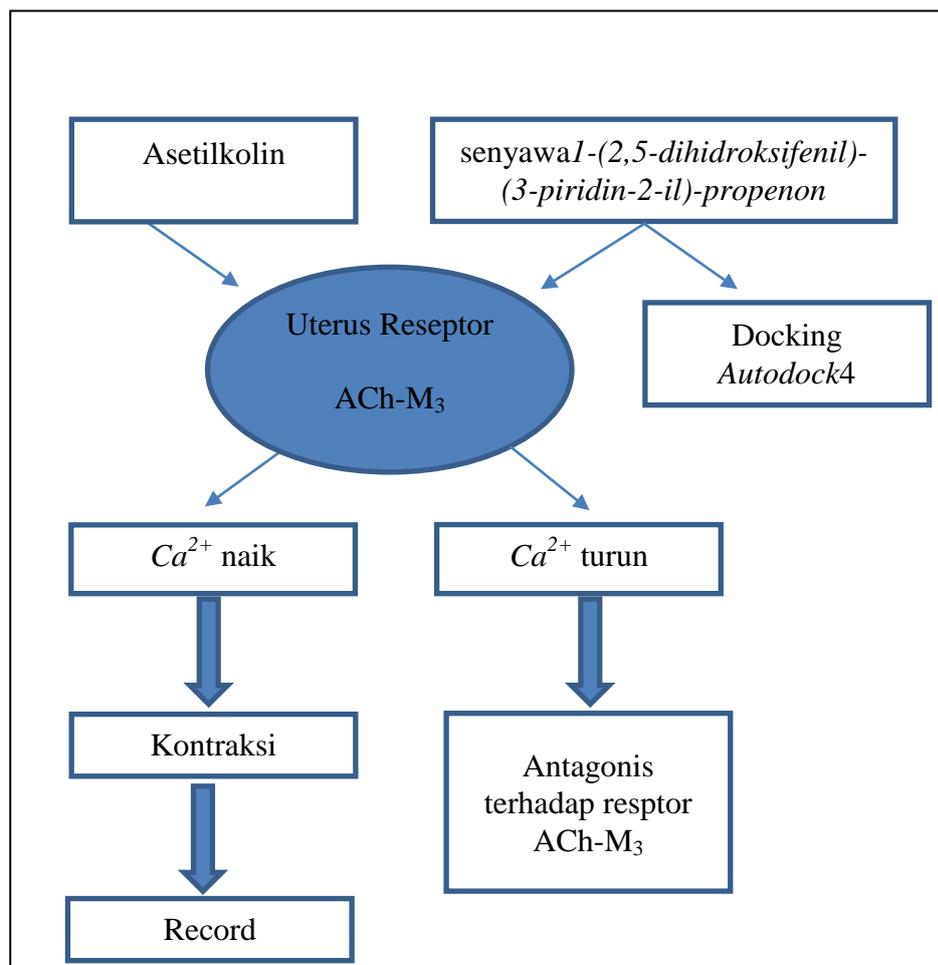
Uji *in silico* dikenal sebagai penapisan virtual. Untuk melakukan penapisan senyawa biologis terhadap milyaran senyawa masih sangat sulit, oleh karena itu pendekatan secara virtual menjadi alternatif (shoichet, 2004).

*Molecular docking* merupakan suatu metode komputasi yang digunakan untuk menggambarkan interaksi antara suatu molekul sebagai ligan suatu reseptor atau protein. *Molecular docking* sebagai salah satu metodologi dalam *structure-based virtual screening*, dimulai pada awal tahun 1980-an. Tujuan dari studi *docking* ini ialah untuk membuat pemodelan struktur yang akurat dan prediksi aktivitas yang tepat (Kitchen, 2004).

Terdapat dua aspek dalam *molecular docking*, yaitu fungsi *scoring* dan penggunaan algoritma. Algoritma *docking* berfungsi untuk mengidentifikasi energi yang dihasilkan dari konformasi molekular dan kemudian mencari konformasi yang memiliki energi bebas paling rendah dalam sistem.

*Autodock* merupakan salah satu *software* untuk *docking* ligan baik rigid ataupun fleksibel yang menggunakan *grid-based force field* untuk mengevaluasi interaksi suatu kompleks (Krane dan Raymer, 2003).

## B. Kerangka Konsep



**Gambar 4.** Kerangka Berfikir

### C. Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep di atas dihipotesiskan bahwa :

1. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dapat menjadi antagonis reseptor ACh-M<sub>3</sub> pada otot polos uterus marmut terisolasi.
2. Dengan dosis 10  $\mu$ M dan 20  $\mu$ M senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon mampu memberikan efek antagonisme terhadap reseptor ACh-M<sub>3</sub> uterus marmut terisolasi.
3. Skor *docking* Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dapat menunjukan ikatan kuat terhadap reseptor ACh-M<sub>3</sub>.