

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan telah banyak terjadi di Indonesia (Riskesdas, 2018). Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Rikesdas) 2018, Indonesia mengalami kenaikan jumlah prevalensi penyakit yang menyebabkan naiknya angka kematian. Pada tahun 2013 sampai 2018, prevalensi penyakit hipertensi naik dari 25,8% menjadi 34,1%, diabetes melitus naik dari 6,9% menjadi 8,5%, stroke naik dari 7% menjadi 10,9%, gagal ginjal kronis naik dari 2% menjadi 3,8%, dan kanker naik dari 1,4% menjadi 1,8%, penyakit tersebut merupakan penyakit yang melibatkan reaksi inflamasi (Riskesdas, 2013). Selain penyakit berat, penyakit ringan seperti diare, migrain, maag, tipes, dan lainnya juga melibatkan reaksi inflamasi (Riskesdas, 2013).

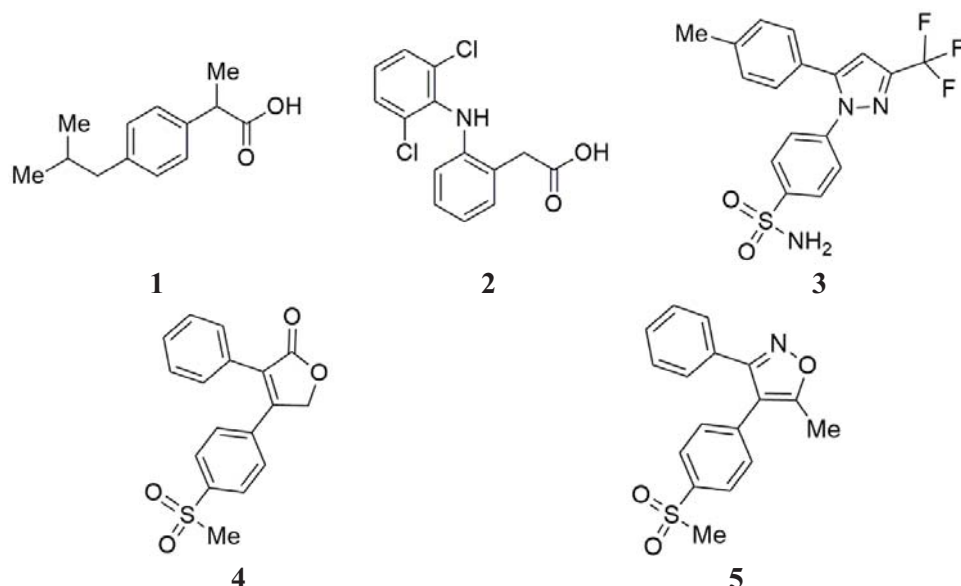
Inflamasi merupakan respon jaringan tubuh terhadap zat asing yang dapat merusak sel (Kumar *et al.*, 2021). Inflamasi menyebabkan munculnya reaksi radang, diantaranya; nyeri, bengkak, panas, dan kerusakan jaringan lainnya apabila inflamasi terjadi secara berkelanjutan (Arimbi dkk., 2015). Obat antiinflamasi digunakan untuk mengurangi penyebab munculnya reaksi inflamasi, sehingga sangat dibutuhkan semua kalangan karena hampir seluruh penyakit melibatkan proses inflamasi dalam mekanismenya. Obat antiinflamasi dibedakan menjadi dua golongan, yaitu turunan steroid atau SAID (*steroidal antiinflammatory drug*) dan bukan turunan steroid atau NSAID (*nonsteroidal antiinflammatory drug*) (Jaturapatporn *et al.*, 2012).

Penggunaan obat antiinflamasi telah diteliti memiliki beberapa efek samping. SAID cenderung memiliki beberapa efek samping yang berbahaya, contohnya osteoporosis, diabetes, dan penimbunan lemak (Gonzalez *et al.*, 2009 dan Deshmukh, 2007). NSAID memiliki keunggulan dibandingkan SAID karena memiliki efek samping yang cenderung lebih ringan, sehingga obat golongan ini lebih banyak dibutuhkan di masyarakat. Hal tersebut menyebabkan banyak peneliti

melakukan penelitian dan pengembangan terkait NSAID (Wongrakpanich *et al.*, 2017). Mekanisme kerja NSAID adalah menghambat enzim siklooksigenase atau *cyclooxygenase* (COX) (Rao and Knaus, 2008). NSAID juga dapat bekerja melalui mekanisme yang lain termasuk menurunkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) (Kim *et al.*, 2006).

COX merupakan enzim yang berperan aktif dalam proses inflamasi yaitu mengkatalisis pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat (Diederich *et al.*, 2009). Menurut Martinez *et al* (2000), pelepasan asam arakidonat dan produksi prostaglandin dipengaruhi oleh adanya ROS, yakni radikal bebas dan superoksida. ROS dapat menyebabkan peradangan, kerusakan DNA atau protein, dan timbulnya berbagai penyakit, seperti jantung, gastritis, dan lainnya (Akhlaghi and Bandy, 2009). Peningkatan ROS dapat ditekan oleh penghambatan regulasi ekspresi prostaglandin yang diaktivasi oleh COX (Kim *et al.*, 2000).

COX memiliki dua isoform yaitu siklooksigenase-1 atau *cyclooxygenase-1* (COX-1) dan siklooksigenase 2 atau *cyclooxygenase-2* (COX-2). COX-1 merupakan enzim yang berperan dalam memelihara homeostasis tubuh, sedangkan COX-2 merupakan enzim yang aktivitasnya meningkat apabila terjadi inflamasi (Jones *et al.*, 1993 dan Smith & Langenbach, 2001). Penghambatan COX oleh NSAID dapat mengurangi dan mengatasi inflamasi. Berdasarkan selektifitasnya, NSAID dibedakan menjadi 2 jenis yaitu nonselektif dan selektif (Rao and Knaus, 2008). NSAID jenis nonselektif bekerja dengan menghambat COX-1 dan COX-2, contohnya seperti ibuprofen (1) dan diklofenak (2) (Singgih *et al.*, 2020), sedangkan mekanisme kerja NSAID jenis selektif hanya menghambat enzim COX-2 seperti selekoksib (3), rofekoksib (4), dan valdekoksib (5) (Micklewright *et al.*, 2002) (**Gambar 1.1**).



Gambar 1.1 Contoh senyawa golongan NSAID (3, 4, 5) selektif dan (1, 2) nonselektif

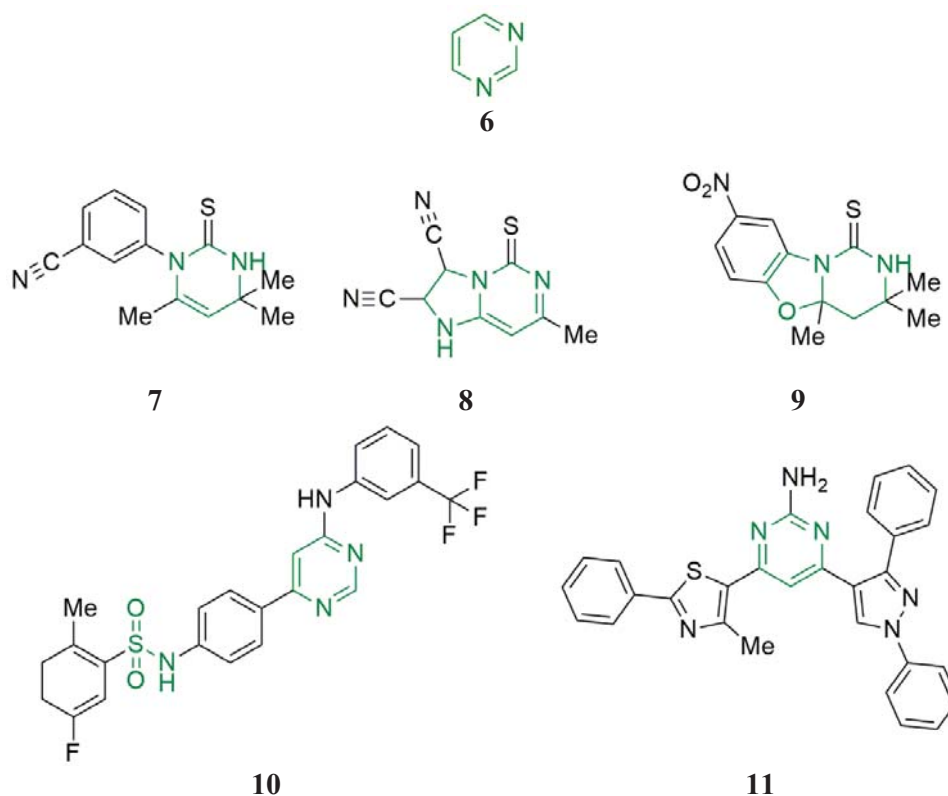
Berdasarkan penelitian lebih lanjut, penghambatan COX oleh NSAID selain dapat mengurangi dan mengatasi inflamasi, ditemukan fakta bahwa penggunaan NSAID juga dapat menimbulkan efek samping yang merugikan (White and Cruz, 2011). Penghambatan COX mengakibatkan produksi prostaglandin menurun yang menyebabkan peningkatan retensi natrium sehingga dapat memicu munculnya beberapa efek samping yang berbahaya (Landefeld *et al.*, 2016 dan Lovell & Ernst, 2017). NSAID nonselektif dalam jangka panjang memiliki resiko pendarahan saluran pencernaan, hipertensi, dan gagal jantung. Hal tersebut didasarkan terhadap selektifitasnya dalam menghambat enzim COX-2 (Marsico *et al.*, 2017). Selain itu, mekanisme kerja NSAID nonselektif dalam menghambat COX-1 juga memiliki efek samping lain seperti gastritis atau iritasi lambung karena pengikisan mukosa lambung (Märginean *et al.*, 2018).

NSAID selektif dianggap lebih aman untuk lambung karena memiliki sifat protektif terhadap mukosa organ pencernaan (Giercksky *et al.*, 2000). Namun setelah diteliti kembali, sebagian besar NSAID selektif dapat memperburuk penyakit jantung bagi penderita yang memiliki gangguan fungsi jantung (White and Cruz, 2011). Selain itu, tidak sedikit NSAID selektif beresiko menyebabkan

hipertensi dan meningkatkan gangguan kardiovaskular pada penggunaan jangka panjang (Marsico *et al.*, 2017). Penelitian lain menunjukkan bahwa penggunaan NSAID selektif dalam jangka pendek juga beresiko tinggi mengalami gangguan kardiovaskular (Nussmeier *et al.*, 2005 dan Lévesque *et al.*, 2006).

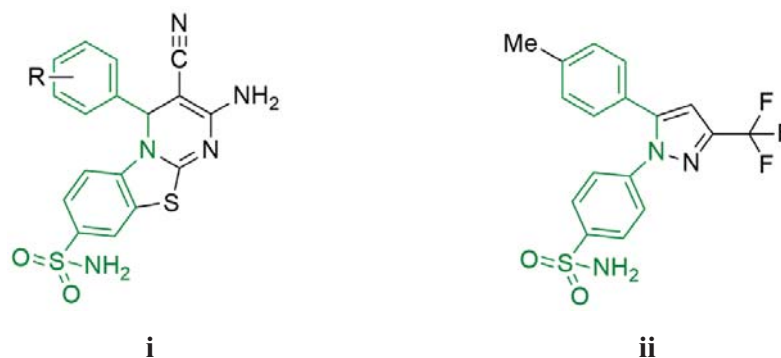
Berdasarkan beberapa efek samping yang ditimbulkan, NSAID selektif seperti rofekoksib dan valdekoksib tidak diberikan izin untuk diedarkan kembali (Sun *et al.*, 2007). Hal ini dikarenakan kejadian penyakit jantung yang terus meningkat. Namun, NSAID selektif seperti selekoksib masih digunakan sampai sekarang karena lebih aman digunakan dibandingkan dengan jenis NSAID selektif lainnya (Howes, 2007). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan modifikasi senyawa obat yang mirip dengan selekoksib yang diharapkan memiliki efek samping yang lebih sedikit dibandingkan NSAID selektif lainnya.

Salah satu contoh senyawa NSAID selektif adalah senyawa turunan pirimidin dengan gugus sulfonamida. Pirimidin (**6**) merupakan suatu senyawa organik heterosiklik cincin 6 dengan dua nitrogen pada posisi 1 dan 3 (Hemming, 2011). Senyawa turunan pirimidin memiliki peran yang penting dalam bidang pengobatan (Yerragunta *et al.*, 2013). Beberapa turunan senyawa pirimidin telah diteliti memiliki aktivitas biologis (**Gambar 1.2**) sebagai senyawa antiinflamasi seperti golongan senyawa monosiklik pirimidin (**7**), bisiklik pirimidin (**8**), dan trisiklik pirimidin (**9**) (Sondhi *et al.*, 2005). Turunan senyawa pirimidin dengan gugus sulfonamida (**10**) juga telah banyak diteliti memiliki aktivitas yang sama (Keché *et al.*, 2012). Selain itu, senyawa turunan pirimidin lainnya juga telah dilaporkan memiliki aktivitas biologis sebagai antiinflamasi dan antioksidan (**11**) (Sirsat *et al.*, 2020).



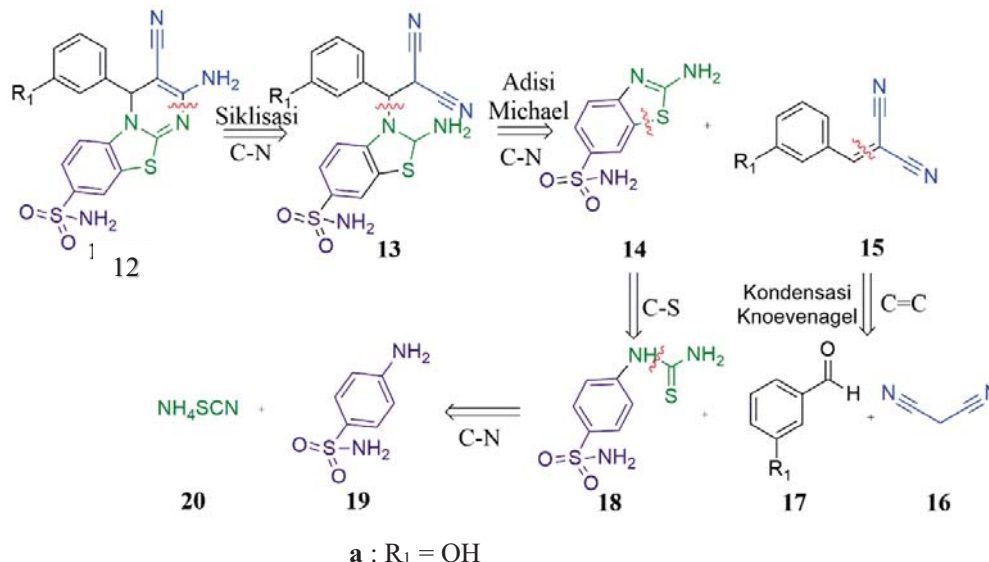
Gambar 1.2 Struktur turunan pirimidin yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan.

Berdasarkan potensi senyawa turunan pirimidin tersebut, maka diharapkan penelitian ini dapat menghasilkan kandidat senyawa target turunan pirimidin yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Senyawa target memiliki topologi struktur yang hampir sama dengan selekoksib. Perbedaan topologi struktur senyawa target dan selekoksib tertera pada **Gambar 1.3**. Modifikasi struktur senyawa target yang mirip dengan struktur selekoksib dilakukan agar mendapatkan senyawa yang lebih berpotensi memiliki aktivitas antiinflamasi, mengurangi efek samping yang ditimbulkan oleh selekoksib, dan memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan guna meredam ROS akibat inflamasi.



Gambar 1.3 (i) Struktur senyawa target, (ii) Struktur selekoksisib.

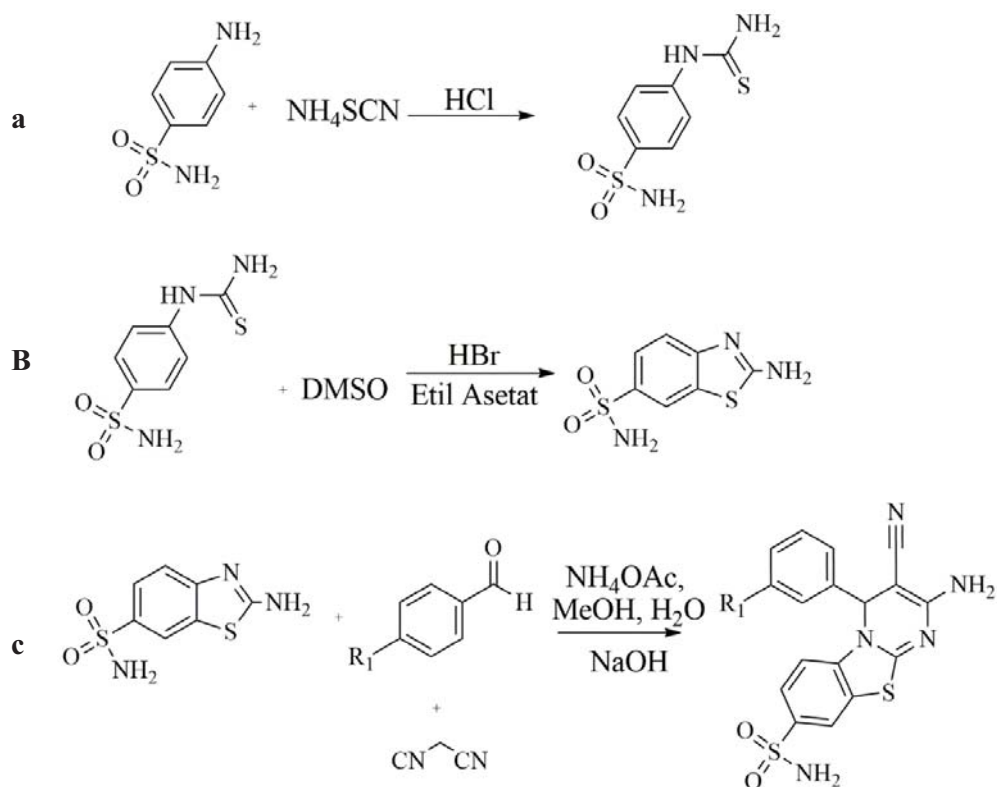
Sintesis senyawa target dilakukan melalui reaksi multikomponen dengan tiga tahap reaksi. Sintesis melalui reaksi ini dipilih karena perlakuan reaksi yang sederhana dengan tidak membutuhkan waktu lama dan mudah dilakukan (Hosseini *et al.*, 2012). Perencanaan awal sintesis senyawa target dilakukan melalui analisis retrosintesis. Analisis retrosintesis bertujuan untuk mengetahui tahapan, jenis reaksi yang digunakan, dan bahan dasar yang diperlukan dalam melakukan sintesis senyawa target. Analisis retrosintesis ditunjukkan pada **Gambar 1.4**.



Gambar 1.4 Analisis retrosintesis senyawa target.

Berdasarkan analisis retrosintesis tersebut, dapat dilihat bahwa dalam sintesis molekul target dibutuhkan beberapa tahap reaksi. Tahap pertama yaitu pembentukan senyawa 4-aminosulfonilfeniltiourea (**18**) yaitu dengan mereaksikan

4-aminobenzensulfonamida (**19**) dengan amonium tiosianat (NH_4SCN) (**25**), dengan asam klorida (HCl) sebagai katalis. Tahap kedua yaitu pembentukan 2-aminobenzotiazol-6-sulfonamida (**14**) dengan mereaksikan produk dari tahap 1 yaitu senyawa **18**, dimetil sulfoksida (DMSO), dan asam bromida (HBr), serta etil asetat sebagai pelarut. Tahap terakhir adalah pembentukan senyawa target (**12**) melalui reaksi Biginelli termodifikasi dengan mereaksikan senyawa dari tahap kedua (**14**) dengan 3-hidroksibenzaldehida (**17**) dan malononitril (**16**), serta NH_4SCN dan NaOH sebagai katalis. Tahap ketiga diawali dengan pembentukan intermediet (**20**) melalui reaksi Knoevenagel, selanjutnya adalah pembentukan molekul target melalui reaksi adisi Michael kemudian diikuti siklisasi intramolekular. Persamaan reaksi dituliskan pada **Gambar 1.5**.



Gambar 1.5 (a) Reaksi tahap 1; (b) Reaksi tahap 2; (c) Reaksi tahap 3.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian yang dilakukan adalah sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi multikomponen dengan modifikasi struktur yaitu substituen pada benzaldehida melalui metode refluks. Modifikasi

tersebut mempengaruhi interaksi dan afinitas ikatan terhadap enzim COX-2. Terdapat satu kandidat senyawa target yang dipilih untuk disintesis, hal tersebut didasarkan terhadap ikatan senyawa target yang memiliki afinitas tertinggi. Untuk mengetahui senyawa target yang akan disintesis tersebut, dilakukan pemodelan dengan *molecular docking* antara kandidat senyawa target dengan enzim COX-2.

Selain digunakan untuk menentukan senyawa target yang akan disintesis, pemodelan dengan *molecular docking* atau investigasi *in silico* juga digunakan untuk memprediksi aktivitas antiinflamasi serta mengetahui kemampuan inhibisi senyawa target terhadap protein COX-2. Investigasi dilakukan dengan bantuan program DOCK6 (Allen *et al.*, 2015). Kode PDB (*Protein Data Bank*) yang digunakan sebagai protein target yaitu 3LN1, protein tersebut membentuk kompleks dengan ligan celecoxib (Wang *et al.*, 2010). Berdasarkan kemiripan kerangka struktur senyawa target dengan ligan celecoxib, diharapkan senyawa target dapat menjadi analog yang dapat menghambat pada sisi aktif protein COX-2

Senyawa target dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dengan tiga sistem eluen yang berbeda dan dilakukan karakterisasi dengan spektrometer UV-Vis, inframerah atau *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan resonansi magnetik inti atau *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR). Senyawa target hasil sintesis juga akan dilakukan uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dengan menggunakan metode uji dekolerasi radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui senyawa target yang berpotensi memiliki sifat antioksidan dalam meredakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat inflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, berikut merupakan rumusan masalah pada penelitian ini:

1. Apakah senyawa target turunan pirimidin dapat disintesis dengan tiga tahap reaksi?
2. Apakah senyawa target turunan pirimidin memiliki potensi sebagai inhibitor COX-2 berdasarkan pendekatan *in silico*?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan dari senyawa turunan pirimidin berdasarkan uji dekolorisasi radikal bebas DPPH?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, berikut merupakan tujuan dari penelitian ini:

1. Menyintesis senyawa target turunan pirimidin melalui 3 tahap reaksi.
2. Mengetahui potensi senyawa target turunan pirimidin sebagai inhibitor COX-2 berdasarkan pendekatan *in silico*.
3. Mengetahui aktivitas antioksidan dari senyawa turunan pirimidin berdasarkan uji dekolorisasi radikal bebas DPPH.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang sintesis senyawa turunan pirimidin. Penelitian ini juga diharapkan dapat mengetahui potensi turunan pirimidin sebagai inhibitor COX-2 berdasarkan pendekatan *in silico*. Selain itu, penelitian ini dapat memberikan informasi lain tentang senyawa turunan pirimidin yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

Inflamasi merupakan respon jaringan tubuh terhadap zat asing, seperti bakteri, jamur, dan virus, dimana dapat merusak jaringan. Proses inflamasi dibutuhkan dalam tubuh karena apabila tidak ada proses inflamasi maka infeksi tidak akan terkendali, sehingga respon inflamasi juga dapat dikatakan sebagai respon protektif (Kumar *et al.*, 2021). Reaksi inflamasi bertujuan untuk membawa leukosit dan protein plasma yang merupakan sel pertahanan ke jaringan yang rusak (Kumar *et al.*, 2021).

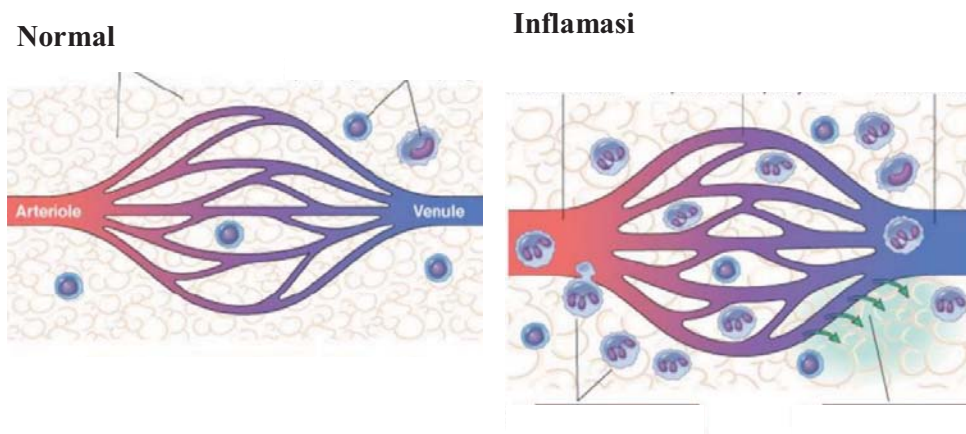
Inflamasi yang terjadi secara berkelanjutan dapat menyebabkan kerusakan jaringan karena selain dapat menyebabkan kehancuran dan menghilangkan jaringan inflamasi, reaksi inflamasi juga dapat menyakiti jaringan normal di sekitarnya (Abbas *et al.*, 2010). Inflamasi yang terjadi secara berkelanjutan disebut dengan inflamasi kronis. Inflamasi kronis ditandai dengan beberapa hal, seperti terjadinya proliferasi oleh pembuluh darah, infiltrasi sel radang kronis, penumpukan atau edema leukosit, pelebaran pembuluh darah, dan lepasnya protein plasma (Kumar *et al.*, 2021).

2.1.1 Mekanisme inflamasi

Mekanisme inflamasi dibantu oleh sitokin dan mediator inflamasi seperti bradikinin, histamin, serotonin, dan prostaglandin (Kumar *et al.*, 2021). Mediator inflamasi dihasilkan oleh sel yang mengalami peradangan, biasanya disintesis oleh hati (Kumar *et al.*, 2021). Mediator inflamasi yang diaktifkan di intraseluler dan diekskresikan pada seluler seperti histamin dalam sel mast sebagai respon prostaglandin dan sitokin yang diproduksi oleh sel darah putih (Kumar *et al.*, 2021). Histamin berperan sebagai penyebab awal vasodilatasi pada arteriol yang didahului dengan vasokonstriksi dan perubahan permeabilitas kapiler (Corwin, 2008). Mula-mula sel imun masuk ke radang pada bagian tubuh, contohnya sel makrofag. Sel makrofag akan mengaktifkan mediator proinflamasi yang memiliki tugas mengatur

berjalannya proses inflamasi dan menyebabkan lepasnya mediator inflamasi (Katzung, 2004).

Lepasnya mediator inflamasi menyebabkan pembuluh darah melebar dan permeabilitas dinding kapiler meningkat (Katzung, 2004). Akibatnya, protein lisosom dan asam arakidonat yang dikeluarkan oleh fagosit (sel darah putih) akan berpindah dengan cepat ke tubuh yang mengalami inflamasi (Katzung, 2004). Lisosom dan asam arakidonat mengadakan metabolisme sehingga membentuk prostaglandin yang berakibat pada pembuluh darah dan sel saraf (Katzung, 2004). Semakin meningkat pelebaran pembuluh darah maka akan meningkatkan pula prostaglandin untuk lepas (Kumar *et al.*, 2021). Hal tersebut akan menyebabkan munculnya reaksi radang, diantaranya; nyeri, bengkak, panas, dan kerusakan jaringan lainnya apabila inflamasi terjadi secara berkelanjutan (Abbas *et al.*, 2010). Perbedaan vaskular dan selular pada keadaan normal dan inflamasi digambarkan sebagai berikut (**Gambar 2.1**).



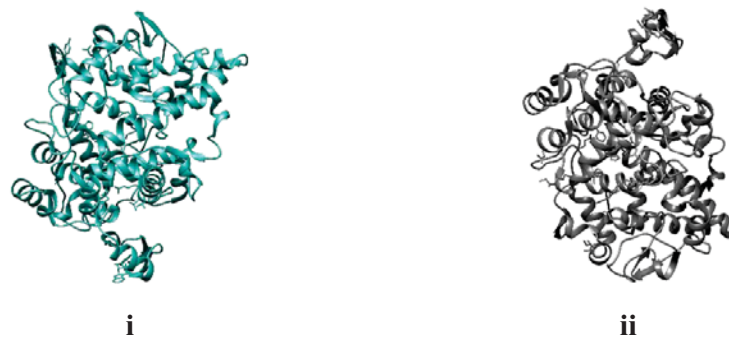
Gambar 2.1 Perbedaan vaskular dan selular pada keadaan normal dan inflamasi kronis. (Sumber : McGavin & Zachary, 2007).

2.1.2 Enzim siklooksigenase atau *cyclooxygenase* (COX)

Enzim siklooksigenase atau *cyclooxygenase* (COX) merupakan enzim dari golongan mieloperoksidase yang berada pada sisi lumina dari retikulum endoplasma dan membran nuklear (Diederich *et al.*, 2009). COX mengkatalisis pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat (Diederich *et al.*, 2009). COX berperan dalam mengkatalisis dua tahap terbentuknya prostanoid yakni

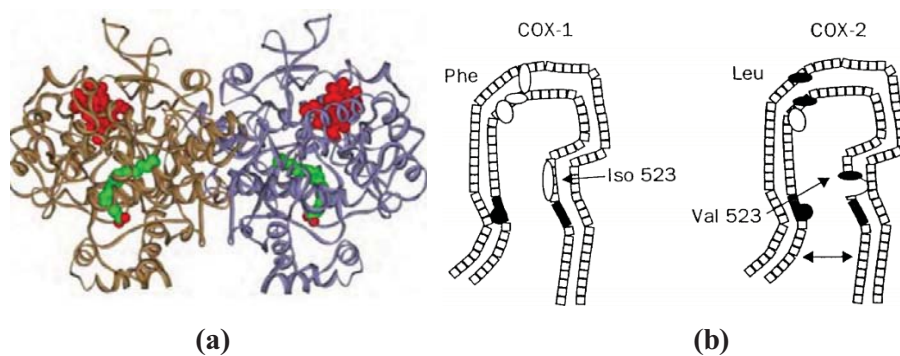
siklooksigenase dan peroksidasi (Charlier and Michaux, 2003). Tahap siklooksigenase merupakan tahap siklisisasi dan penambahan molekul oksigen ke asam arakhidonat yang digunakan untuk sintesis prostaglandin G_2 (PGG_2) (Charlier and Michaux, 2003). Sedangkan tahap peroksidasi merupakan tahap pembentukan prostaglandin H_2 (PGH_2) melalui reduksi PGG_2 . PGH_2 diubah menjadi tromboksan A_2 (TxA_2) yang merupakan agonis trombosit poten, dengan bantuan enzim tromboksan sintetase (Charlier and Michaux, 2003). Prostanoid berperan dalam fungsi fisiologi, proteksi lambung, dan inflamasi (Diederich *et al.*, 2009).

COX memiliki dua jenis isoform yaitu *cyclooxygenase-1* (COX-1) dan *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang dibedakan berdasarkan ekspresi, fungsi, dan bentuk, serta tempat distribusi pada organ dan jaringan. COX-1 berperan dalam mengatur fungsi fisiologis dan ditemukan di sebagian besar jaringan tubuh seperti di ginjal, paru-paru, platelet, dan saluran cerna, sedangkan COX-2 tidak terdapat di jaringan normal, tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang (Rouzer and Marnett, 2003). COX-2 memproduksi prostaglandin yang memiliki peran utama dalam reaksi inflamasi seperti kemerahan, nyeri, edema, demam, dan kehilangannya beberapa fungsi tubuh. COX-2 juga berperan dalam proses patologis pada beberapa poliferai sel kanker (Charlier and Michaux, 2003). Berikut merupakan struktur isoform COX-1 dan COX-2 yang telah dikristalkan (**Gambar 2.2**)



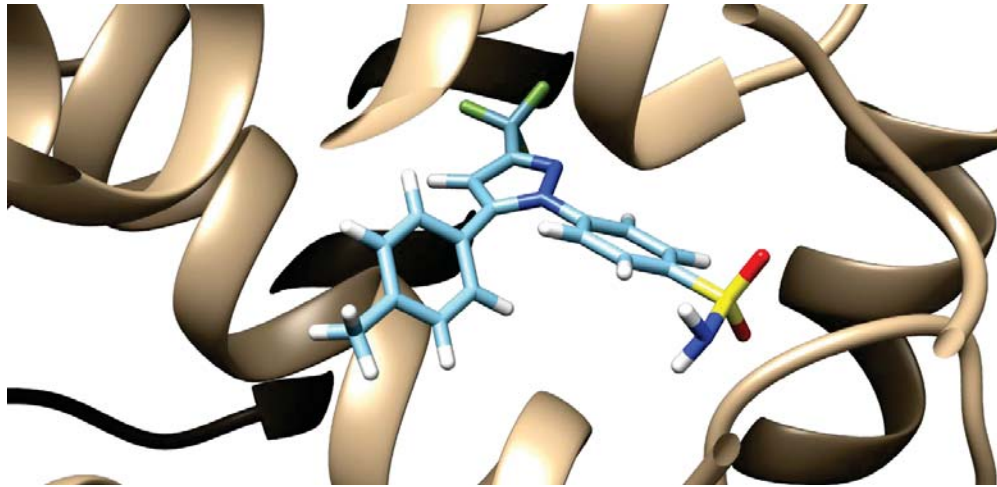
Gambar 2.2 (i) Struktur isoform COX-1 (Kode PDB: 1EQG); (ii) COX-2 (Kode PDB : 3LN1).

COX-1 dan COX-2 memiliki dua tempat aktif yaitu tempat aktif siklooksigenase dan peroksidase (Rouzer and Marnett, 2003) (**Gambar 2.3**). Domain penempelan membran terbentuk area hidrofobik yang merupakan tempat aktif siklooksigenase yang berikatan dengan asam arakidonat (Jones *et al.*, 1993). Pada tempat berlawanan yang menyerupai lembah dengan gugus heme merupakan tempat aktif peroksidase (Smith *et al.*, 2000). Terdapat perbedaan COX-1 dan COX-2 berdasarkan asam aminonya yang tertera pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 (a) Struktur COX (Sudewa, 2017); **(b)** Perbedaan COX-1 dan COX-2 (Laurel *et al.*, 2002) (Keterangan: merah= tempat aktif peroksidase, hijau=tempat aktif siklooksigenase).

Sisi aktif COX terbagi menjadi daerah hidrofobik seperti Val448, Arg180, Leu445, Ile444, dan Tyr504 dan hidrofilik seperti Ser213, Lys216, His388, dan Ala199 (**Gambar 2.4**). COX-1 dan COX-2 memiliki asam amino hampir sama, perbedaan utamanya terletak pada A532 adalah isoleusin pada COX-1 dan valin pada COX-2. Residu isoleusin pada COX-1 memiliki ukuran relatif lebih besar sehingga mengakibatkan adanya halangan sterik yang tinggi. Hal tersebut menyebabkan golongan obat dengan ukuran besar seperti NSAID tidak dapat masuk sehingga tidak ada situs pengikatan NSAID terhadap COX-1. Sebaliknya, Residu valin memiliki ukuran yang relatif lebih kecil sehingga pada COX-2 terbentuk daerah cekungan samping sehingga ada situs pengikatan NSAID terhadap COX-2.



Gambar 2.4 Pose celecoxib pada sisi aktif COX-2 (Kode PDB: 3LN1)

2.1.3 Antiinflamasi

Inflamasi dapat ditangani dengan pemberian golongan obat antiinflamasi yang memiliki aktivitas menekan atau mengurangi inflamasi (Gans *et al.*, 1990). Berdasarkan terapeutiknya, obat antiinflamasi dibedakan menjadi dua golongan, yakni golongan steroid (SAID) dan golongan nonsteroid (NSAID) (Katzung, 2010). Mekanisme kerja kedua obat antiinflamasi tersebut yaitu menghambat pelepasan prostaglandin ke jaringan yang mengalami inflamasi.

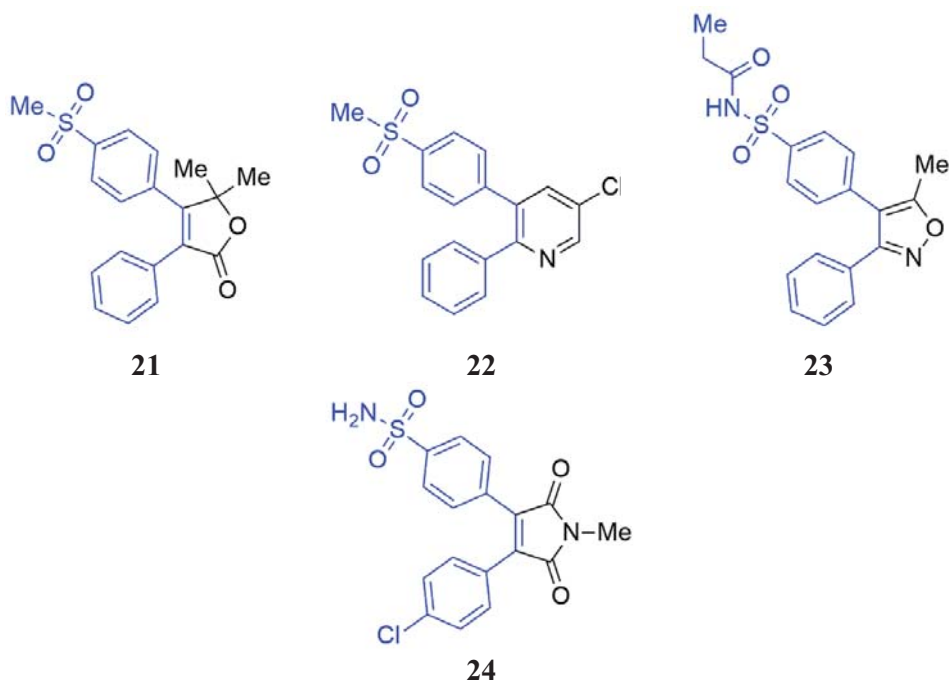
SAID berkerja dalam menghambat enzim fosfolipase A2 sehingga pembentukan asam arakidonat dan lipooksigenase juga terhambat (Katzung, 2014). Penghambatan tersebut dikarenakan fosfolipid yang berada pada membran sel tidak dapat diubah menjadi asam arakidonat, sehingga hal tersebut mempengaruhi pembentukan prostaglandin. Contoh obat antiinflamasi steroid adalah betametason, deksametason, dan hidrokortison. SAID cenderung memiliki efek samping lebih berat daripada NSAID, seperti diabetes (Gonzalez *et al.*, 2009) osteoporosis, katarak, peningkatan kolesterol, penimbunan lemak, menurunkan kekebalan, dan peningkatan kerentanan terhadap infeksi dalam tubuh (Deshmukh, 2007).

NSAID merupakan golongan obat yang bekerja dalam menghambat enzim siklooksigenase. Mekanisme kerja NSAID yaitu menghambat produksi prostaglandin. NSAID merupakan obat yang paling banyak digunakan untuk

mengobati inflamasi (Khalaf *et al.*, 2018). NSAID memiliki efek pengobatan utama, yaitu mengurangi inflamasi (antiinflamasi), rasa nyeri atau sakit (analgesia), dan demam (antipireksia) (Pelletier *et al.*, 2016).

Beberapa efek samping dari NSAID terjadi pada lambung, usus, dan ginjal. NSAID juga dapat menjadi agen toksisitas karena tidak hanya berperan dalam menghambat produksi prostaglandin di sel yang mengalami inflamasi, akan tetapi juga di sel yang lain seperti pada saluran pencernaan, ulserasi, perforasi, dan obstruksi (Chan, 2006 dan Singh *et al.*, 1996). Efek samping yang ditimbulkan beberapa NSAID seperti gangguan pada kardiovaskular, gastrointestinal, dan nefrotoksitas (Wongrakpanich *et al.*, 2017). Berdasarkan selektivitasnya, NSAID dibedakan menjadi NSAID selektif dan nonselektif (Rao and Knaus, 2008). NSAID selektif hanya bekerja pada COX-2, sedangkan NSAID nonselektif bekerja pada COX-1 dan COX-2 (Rao and Knaus, 2008).

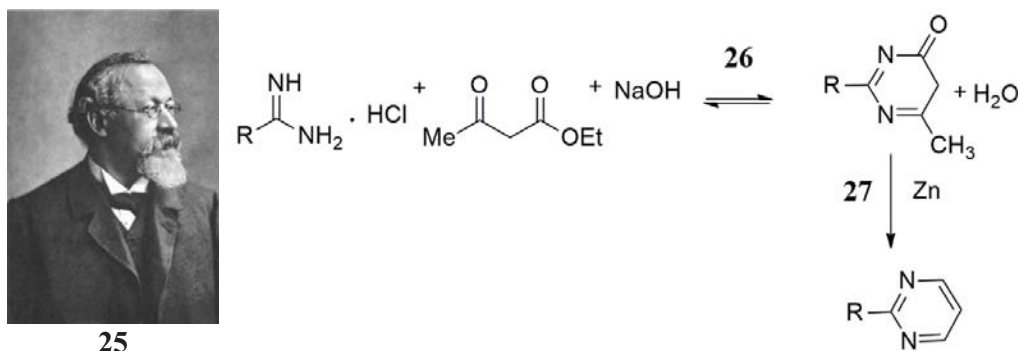
NSAID nonselektif termasuk obat-obatan yang dapat diperoleh tanpa resep dokter, seperti obat-obat golongan salisilat, asam propanoat, dan asam enolat (Singgih *et al.*, 2020). Contoh beberapa obat dari NSAID selektif seperti DFU (*Diabetic Foot Ulcer*) (**21**), etorikoksib (**22**), parekoksib (**23**), dan *myloperoksidase* atau MPO-0029 (**24**) (Micklewright *et al.*, 2002). Obat-obat tersebut sedang dikembangkan karena telah diuji sebagai agen antiinflamasi yang ampuh (Gans *et al.*, 1990). Selekoksisib merupakan senyawa pertama dan satu-satunya tersedia di Amerika Serikat yang berhasil dipasarkan karena sebagai agen antiinflamasi yang bagus dengan efek samping yang paling ringan (Gans *et al.*, 1990). Rofecoxib dan valdecoxib memiliki efek samping yaitu dapat meningkatkan resiko serangan jantung dan stroke apabila digunakan dalam jangka panjang (Dogné *et al.*, 2005; Lanas *et al.*, 2005; Mitchell and Warner, 2006).



Gambar 2.5 Beberapa contoh struktur obat antiinflamasi nonstereoid

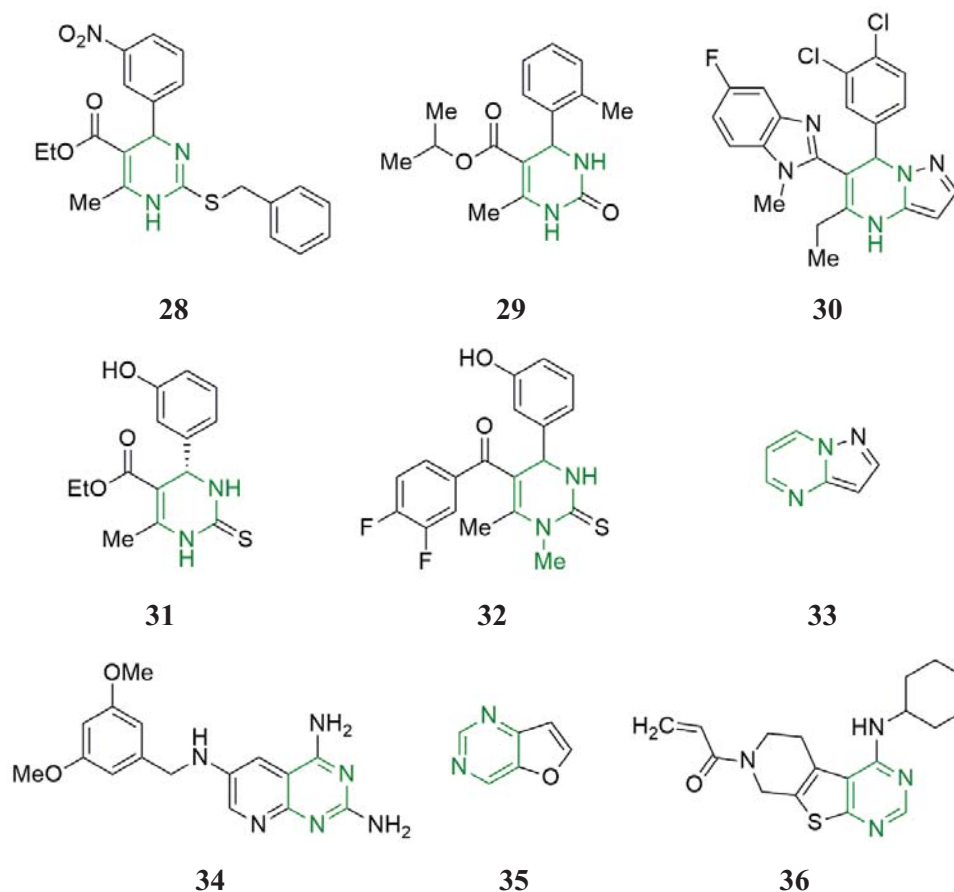
2.2 Senyawa Turunan pirimidin

Pirimidin **1** merupakan suatu senyawa heterosiklis cincin 6 dengan dua unsur nitrogen pada posisi 1 dan 3 (Hemming, 2011). Nama ‘pirimidin’ pertama kali diusulkan oleh kimiawan yang berasal dari Jerman yaitu Adolf Pinner **25** pada tahun 1885. Adolf Pinner berhasil melakukan sintesis pirimidin dengan reaksi kondensasi menggunakan pereaksi etil asetoasetat dan amidin **26**, sedangkan senyawa induknya berhasil disintesis oleh Gabriel & Colman pada tahun 1900 dengan mereduksi asam barbiturat menjadi 2, 4, 6-trikloropirimidin menggunakan seng dalam air panas **27** (**Gambar 2.6**).



Gambar 2.6 Adolf Pinner (25); Sintesis awal pirimidin (26); Sintesis senyawa pirimidin (27).

Senyawa turunan pirimidin merupakan salah satu jenis senyawa yang telah dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang beragam, seperti aktivitas antihipertensi (28) (Hantzsch, 1882), antibakteri (29) (Gregor *et al.*, 1991), antihepatitis B (30) (Barrow *et al.*, 2000), serta senyawa (S)-monastrol (31) (Cox *et al.*, 2004) dan fluorastrol (32) (Kappe *et al.*, 2000) yang memiliki aktivitas antikanker. Senyawa turunan pirimidin juga telah dilaporkan sebagai senyawa yang memiliki aktivitas biologis sebagai inhibitor suatu enzim seperti senyawa 33 sebagai inhibitor enzim CK-2 (*Casein Kinase-2*) (Kramer *et al.*, 1999), senyawa 34 sebagai inhibitor enzim RTK (*Receptor Tyrosine Kinase*) (Petraityte, 2014), senyawa 35 sebagai inhibitor protein dihidrofolat reduktase (DHFR) (Gangjee *et al.*, 2001), dan senyawa 36 sebagai inhibitor enzim epidermal growth faktor reseptor (EGFR) (Coumar *et al.*, 2010).

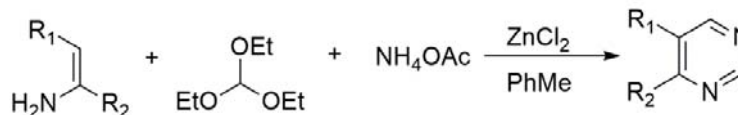


Gambar 2.7 Senyawa turunan pirimidin yang memiliki aktivitas biologis.

2.3 Sintesis turunan senyawa pirimidin

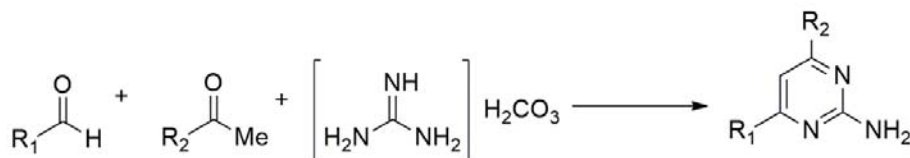
2.3.1 Sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi kondensasi

Takeo Konakahara *et al* telah melaporkan metode sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi kondensasi. Metode ini menggunakan 3 komponen senyawa yaitu enamina, trietil ortoformat, dan amonium asetat, serta katalis yang digunakan pada reaksi ini adalah seng klorida (ZnCl_2). Reaksi dilakukan menggunakan refluks pada suhu 100°C dengan menggunakan pelarut toluena dan produk senyawa yang terbentuk adalah turunan senyawa 4,5-disubstitusi pirimidin (**Gambar 2.8**).



Gambar 2.8 Reaksi sintesis turunan pirimidin melalui reaksi kondensasi.

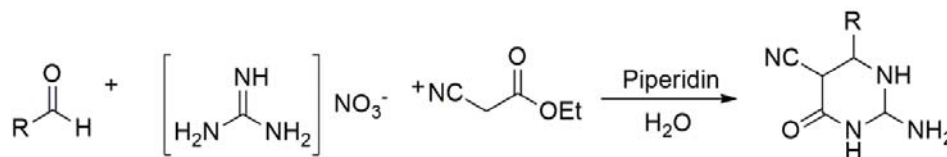
Rong *et al* juga telah melaporkan metode kondensasi lain yang digunakan untuk sintesis senyawa turunan pirimidin yaitu melalui reaksi siklokondensasi. Metode ini menggunakan 3 komponen senyawa yaitu aldehid aromatik, keton, dan guanidin karbonat, serta katalis yang digunakan yaitu natrium hidroksida (NaOH). Reaksi dilakukan menggunakan refluks pada suhu 70°C tanpa menggunakan pelarut dan produk senyawa yang terbentuk adalah turunan senyawa 2-amino-4,6-diarylpirimidin (**Gambar 2.9**). Metode ini bagus untuk digunakan karena reaktan yang digunakan memiliki harga yang murah dan hasil rendemen yang diperoleh baik yaitu diatas 90%.



Gambar 2.9 Reaksi sintesis turunan pirimidin melalui reaksi siklokondensasi.

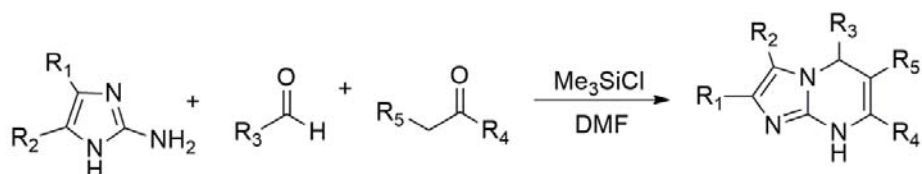
2.3.2 Sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi Biginelli

Rong *et al* dan Jain *et al* melaporkan metode sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi Biginelli. Metode ini menggunakan 3 komponen senyawa yaitu aldehid aromatis, guanidin nitrat, dan amonium asetat, serta katalis yang digunakan pada reaksi ini adalah piperidin (**Gambar 2.10**). Reaksi dilakukan menggunakan refluks pada suhu 60-70°C dengan menggunakan pelarut aquades dan produk senyawa yang terbentuk adalah turunan senyawa nitroamino pirimidin.



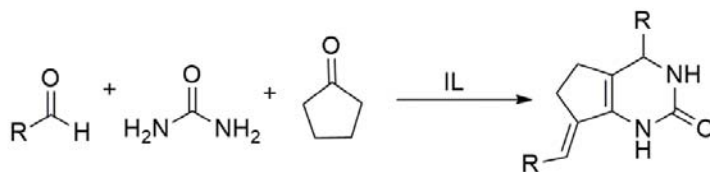
Gambar 2.10 Reaksi sintesis turunan pirimidin melalui reaksi Biginelli.

Ryabukhin *et al* (2011) juga melaporkan metode sintesis senyawa turunan pirimidin melalui reaksi Biginelli yaitu melalui reaksi Biginelli heterosiklis. Metode ini menggunakan 3 komponen senyawa yaitu anaminoheterosiklis, aldehid, dan keton, serta katalis yang digunakan pada reaksi ini adalah clorotrimetilsilan (TMSCl) (**Gambar 2.11**). Reaksi dilakukan menggunakan refluks pada suhu tinggi dengan menggunakan pelarut DMF dan produk senyawa yang terbentuk adalah turunan senyawa imidazopirimidin.



Gambar 2.11 Reaksi sintesis turunan pirimidin melalui reaksi Biginelli heterosiklis.

Reaksi Biginelli lain yang digunakan untuk melakukan sintesis turunan senyawa pirimidin berhasil dilakukan oleh Abdol *et al.* (2011). Reaksi menggunakan 3 jenis komponen reaktan, diantaranya senyawa turunan pirimidion, benzaldehida aromatis, dan urea, serta katalis yang digunakan yaitu N-(4-sulfonicacid)butil tri metil amonium hidrogen sulfat (IL). Reaksi dilakukan dengan menggunakan suhu 100°C dan tanpa pelarut (**Gambar 2.12**).



Gambar 2.12 Reaksi sintesis turunan senyawa pirimidin melalui reaksi Biginelli oleh Abdol *et al* (2011).

2.4 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) merupakan molekul yang tidak stabil dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Robins, 2007). Molekul yang tidak stabil tersebut akan mencari pasangan elektron dari molekul lain. ROS meliputi superoksida,

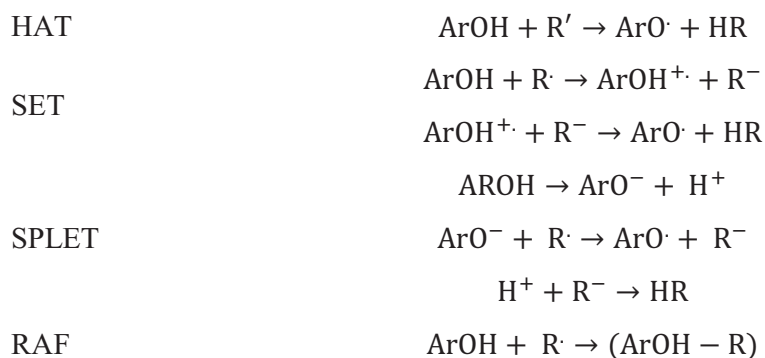
hidroksil, peroksil, hidrogen peroksida, singlet oksigen, dan asam hipoklorit. ROS dapat menyebabkan kerusakan protein, karbohidrat, lemak, dan *deoxyribo nucleic acid* (DNA). Sumber radikal bebas terdiri dari internal dan eksternal. Radikal bebas internal berasal dari metabolisme aerobik dimana produk samping yang terbentuk akan menghasilkan ROS. Metabolisme terjadi karena teroksidasinya makanan menjadi adenosin tripospat dengan bantuan oksigen (Lenhninger, 1982). ROS yang terbentuk pada proses oksidasi tersebut adalah superoksida (Jastroch *et al.*, 2010). Sedangkan sumber radikal bebas eksternal berasal dari polusi udara, alkohol, rokok, dan yang lainnya. Selain itu, minyak goreng yang dipakai berkali-kali dan zat pengawet makanan juga dapat menjaadi sumber radikal dalam tubuh (Ketaren, 2005 dan Nadesul, 2007).

Antioksidan merupakan molekul stabil yang dapat meredam aktivitas radikal bebas (Lobo *et al.*, 2010). Enzim dalam tubuh yang berperan dalam meredam aktivitas radikal bebas sebagai oksidator alami seperti katalase, peroksidase, dan superoksida dismutase (Young, 2001). Adapun antioksidan nonenzimatis yang diperoleh dari makanan seperti vitamin C, vitamin E, dan senyawa fitokimia termasuk golongan flavonoid dan fenolik (Seifried *et al.*, 2017).

2.4.1 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan dibedakan menjadi 4 yaitu transfer atom hidrogen atau *hydrogen atom transfer* (HAT), transfer elektron tunggal atau *single electron transfer* (SET), *sequential proton loss electron transfer* (SPLET), dan pembentukan mekanisme radikal atau *radical adduct formation* (RAF) (Lu *et al.*, 2017). Tahap pertama yaitu HAT merupakan tahap radikal bebas pengambilan satu hidrogen dan satu elektron secara bersamaan dari senyawa antioksidan. Parameter yang digunakan untuk melihat mekanisme kerja dari antioksidan yaitu faktor entalpi pemutusan ikatan atau *bond dissociation energy* (BDE). Mudahnya senyawa antioksidan dalam melakukan aktifasi reaksi radikal bebas diamati berdasarkan rendahnya nilai BDE dari gugus pendorong hidrogen kandidat senyawa antioksidan tersebut (Liang dan Kitts, 2014).

Mekanisme SET merupakan pembentukan radikal kation ($A.H^+$) dari senyawa antioksidan dengan cara transfer elektron ke radikal bebas, selanjutnya yaitu pemindahan proton ke radikal bebas. Kemudian, mekanisme SPLET yang dimulai dengan pemberian proton ke radikal bebas yang selanjutnya disusul dengan pemberian elektron (Zhou *et al.*, 2019). Mekanisme terakhir yaitu RAF yang merupakan pembentukan mekanisme radikal yang dimulai dengan penggabungan antara radikal bebas dengan senyawa antioksidan (Said dan Mekelleche, 2018). Senyawa antoksidan kemungkinan dapat meredam radikal bebas karena memiliki ikatan rangkap (Markovic, 2016). Berikut persamaan reaksi pada setiap mekanismenya (**Gambar 2.13**);

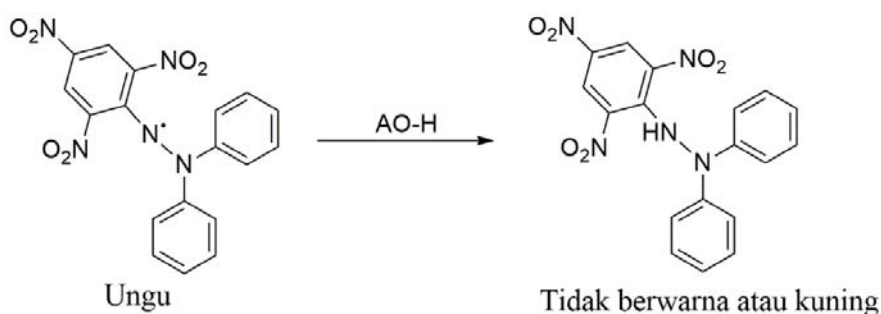


Gambar 2.13 Reaksi mekanisme kerja antioksidan

2.4.2 Metode uji aktivitas antioksidan

Metode uji aktivitas antioksidan yang paing sering digunakan yaitu radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode tersebut dipilih karena dianggap sebagai metode yang sederhana, ekonomis, memiliki mekanisme kerja yang jelas, dan relevansi dengan sumber radikal bebas pada tubuh. Metode ini dikatakan sederhana karena mudah dan cepat dilakukan, DPPH tidak mudah bereaksi ketika disimpan sehingga ketika melakukan preparasi tidak perlu selalu membuat senyawa radikal DPPH (Kedare dan Singh, 2011). Uji DPPH dideteksi secara spektrofotometri dengan panjang gelombang 517 nm (Rahman *et al.*, 2015). Uji DPPH juga dapat diamati secara kualitatif yang ditandai dengan memudarnya warna ungu menjadi tidak berwarna atau kuning pada campuran DPPH dan senyawa antioksidan dengan pelarut metanol (Garcia *et al.*, 2012 dan Rahman *et*

al., 2015). Reaksi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan (AO-H) ditunjukkan pada **Gambar 2.14**.



Gambar 2.14 Reaksi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan (AO-H).

2.5 Inventigasi *in Silico* dengan *Molecular Docking*

Molecular Docking merupakan metode komputasi secara *in silico* yang bertujuan memposisikan ligand ke dalam sisi pengikatan molekul target (Yuriev *et al.*, 2015). Prediksi kali ini bertujuan untuk memprediksi aktivitas senyawa antiinflamasi pada molekul target dengan memodelkan interaksi molekul antara ligand dengan molekul target tersebut. Metode ini sangat sering digunakan dalam menemukan molekul baru beserta afinitasnya terhadap protein targetnya agar membentuk suatu kompleks yang stabil (Archana *et al.*, 2010). Pada penelitian ini menggunakan metode *in silico* secara *molecular docking* karena proses prediksi dapat dilakukan dengan cepat dan murah, serta dapat dengan optimal dalam melakukan analisis aktivitas biologis senyawa baru (Amberg, 2013).

Salah satu program yang digunakan untuk melakukan *molecular docking* adalah DOCK6 (Allen *et al.*, 2015). Interaksi antara ligan dan target dihitung menggunakan metode penilaian yang dilakukan oleh DOCK6 yang didasarkan pada penilaian berbasis medan gaya dengan output dalam bentuk *grid score* (Kramer *et al.*, 1999). Fungsi *scoring* terhadap medan gaya adalah penjumlahan energi potensial interaksi van der Waals dan energi potensial interaksi elektrostatik sebagai nilai yang dapat menjelaskan interaksi antara ligan dan target (Allen *et al.*, 2015)

Energi ikatan didapatkan dari total energi interaksi non-ikatan, yakni energi elektrostatik dan energi Van der Waals (Li *et al.*, 2019; Puratchikody *et al.*, 2019) (1). Energi potensial interaksi elektrostatik ditulis dengan persamaan (2) sebagai jumlah interaksi yang berpasangan dengan N adalah jumlah atom dalam setiap molekul A dan B, sedangkan q adalah muatan masing-masing atom. Energi potensial Van der Waals ditulis dalam persamaan (3) berdasarkan pemodelan fungsi Lennard-Jones, dengan ε merupakan kedalaman sumuran potensial atau ukuran seberapa kuat dua atom i dan j tertarik satu sama lain, sedangkan σ merupakan jarak dimana potensial antarmolekul dua atom i dan j adalah nol (Kitchen *et al.*, 2004).

$$E_{\text{ikatan}} = E_{\text{elektrostatik}} + E_{\text{VDW}} \dots \dots \dots (1)$$