

BAB I

PENDAHULUAN

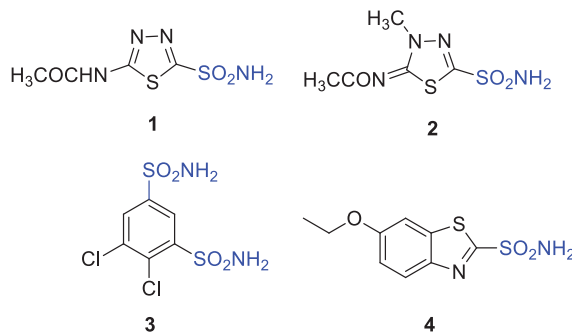
1.1 Latar Belakang

Human Carbonic Anhydrase II (hCA II) merupakan metaloenzim yang berperan sebagai katalis dalam reaksi konversi bolak-balik hidrasi karbon dioksida menjadi ion bikarbonat (Aggarwal *et al.*, 2013). Enzim ini memiliki 15 *hCA* yaitu *hCA* I-IV, VA-VB, VI-VII, IX, dan XII-XIV, VIII, X, dan XI (Taslimi *et al.*, 2016). Enzim *hCA II* memiliki aktivitas paling tinggi dibanding isoform lainnya. Selain itu, enzim ini juga terdistribusi secara luas di berbagai organ atau jaringan dalam tubuh (Alterio *et al.*, 2012; Ghorai *et al.*, 2020). *hCA II* berperan dalam berbagai proses fisiologis diantaranya dalam proses pertukaran gas, transportasi ion, pengasaman urin, sekresi cairan serebrospinal, dan produksi *humor aqueous* (cairan mata). Dalam tubuh, peran terpenting enzim ini ada pada proses respirasi dan proses transportasi karbon dioksida (Hassan *et al.*, 2013). Dari berbagai peran dan keberadaan enzim *hCA II* dalam tubuh, ketidaknormalan aktivitas enzim ini dapat mengakibatkan berbagai penyakit salah satunya yaitu glaukoma (Ghorai *et al.*, 2020).

Glaukoma merupakan gangguan saraf mata yang mengakibatkan melemahnya penglihatan pada mata. Glaukoma adalah penyebab utama kebutaan nomor kedua setelah katarak (Ghorai *et al.*, 2020). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), sebanyak 7,7 juta orang mengalami kebutaan mata akibat penyakit glaukoma. Penyakit ini ditandai dengan meningkatnya tekanan dalam bola mata (Scozzafava dan Supuran, 2014). Peningkatan tekanan bola mata berefek pada rusaknya sel ganglion retina di saraf optik. Kerusakan ini yang memicu kebutaan pada mata secara irreversible (Ghorai *et al.*, 2020). Tekanan bola mata pada kondisi normal berkisar 10-20 mmHg sedangkan penderita glaukoma memiliki tekanan mata yang dapat mencapai 50-60 mmHg dalam kondisi akut (Kemenkes RI, 2015). Meningkatnya tekanan bola mata tersebut dipengaruhi oleh produksi cairan Humor Akuos (HA) yang berlebih atau terhambatnya aliran keluar cairan humos akuos (Kalsom, 2012). Oleh karena itu, dengan mengurangi kadar cairan

humor akuos dapat mencegah munculnya penyakit ini. Cairan humor akuos sendiri dapat dikurangi dengan menghambat aktivitas enzim *hCA* II (Ghorai *et al.*, 2020). Selain itu, menurut Tezel *et al.*, (2007) adanya peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam bola mata juga menjadi salah satu penyebab penyakit glaukoma. Kedua hal tersebut menjadi alasan dalam mendesain struktur senyawa target yang diharapkan dapat menghambat *hCA* II dan memiliki aktivitas antioksidan.

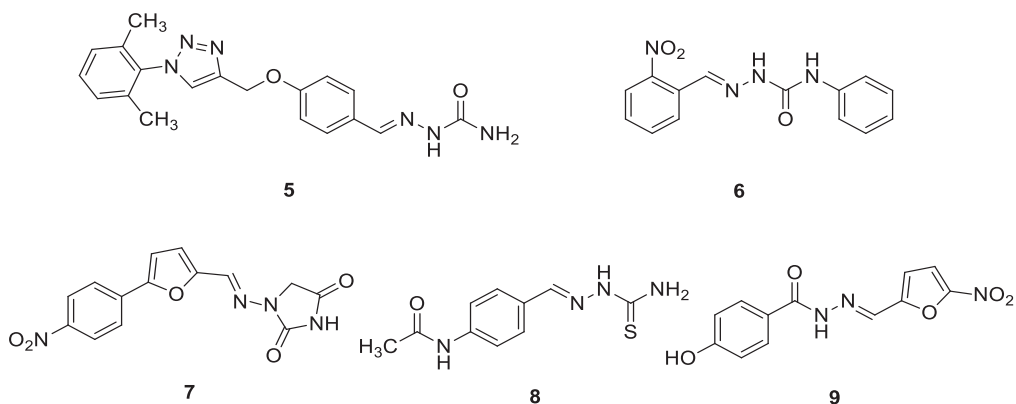
Beberapa senyawa yang telah dilaporkan sebagai inhibitor enzim *hCA* II dalam mengobati penyakit glaukoma adalah asetazolamida (**1**), metazolamid (**2**), diklorfenamida (**3**), dan etokszolamida (**4**) (Ghorai *et al.*, 2020). Keempat obat ini mengandung gugus sulfonamida dalam strukturnya. Menurut Alterio *et al.* (2009), gugus sulfonamida telah banyak diteliti interaksinya dengan enzim *hCA* secara kristalografi. Gugus ini berinteraksi ganda dengan sisi aktif *hCA* II melalui interaksi dengan logam Zn (II) dan residu Thr199 (Alterio *et al.*, 2012). Selain itu, Kołaczek *et al.*, (2014) melaporkan bahwa 30 obat dengan desain sulfonamida digunakan secara klinis. Pendapat ini diperkuat oleh Supuran, (2016) yang melaporkan bahwa telah lebih dari 20 obat dengan gugus sulfonamida berhasil lolos seleksi FDA (*Food and Drug Administration*). Oleh karena itu, gugus sulfonamida menjadi salah satu fragmen dalam desain struktur senyawa sintesis yang akan ditawarkan.



Gambar 1.1 Beberapa struktur inhibitor *hCA* yang mengandung gugus sulfonamida sebagai obat penyakit glaukoma

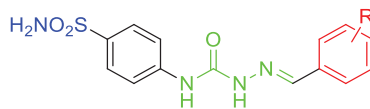
Semikarbazon merupakan senyawa turunan imina yang terbentuk dari reaksi antara keton atau aldehida dengan gugus amina primer pada semikarbazida dalam

suasana asam. Menurut Brahmi *et al.*, (2019), senyawa turunan semikarbazon memiliki aktivitas antioksidan. Pada **Gambar 1.2** turunan semikarbazon (**5**) yang dilaporkan Brahmi *et al.*, (2019) memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibanding standar yang digunakan, yaitu butil hidroksi toluena dan trolox. Singhal *et al.*, (2011) juga melaporkan senyawa (**6**) memiliki kemampuan meredam radikal bebas dengan baik. Senyawa turunan semikarbazon juga memiliki aktivitas biologis yang beragam diantaranya sebagai antikanker (Ali *et al.*, 2012), antijamur (Jafri *et al.*, 2012), dan antiepilepsi (Pandeya, 2012). Selain itu, semikarbazon dalam strukturnya juga mengandung gugus imina yang secara umum juga memiliki aktivitas biologis yang beragam dan telah digunakan sebagai obat-obatan seperti dantrolena (**7**), tiasetazon (**8**), dan nifuroksazid (**9**) yang ditunjukkan pada **Gambar 1.2**. (Hassan *et al.*, 2015).



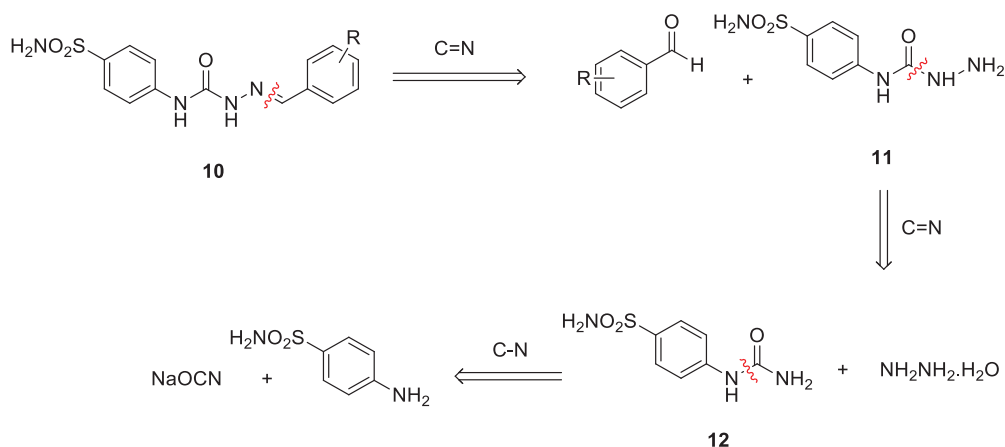
Gambar 1.2 Beberapa senyawa semikarbazon yang memiliki aktivitas antioksidan (5 dan 6) dan yang telah dipasarkan sebagai obat (7, 8, dan 9)

Berdasarkan pertimbangan tersebut, dilakukan desain senyawa target menggunakan struktur dasar semikarbazon sulfanilamida yang mengikat gugus benzena. Gugus sulfanilamida digunakan sebagai bagian yang akan berinteraksi dengan *hCA* II. Semikarbazon digunakan sebagai gugus yang berpotensi meredam radikal bebas. Sementara gugus benzena sebagai gugus yang dapat dimodifikasi dengan harapan dapat meningkatkan kemampuan senyawa target baik dari segi inhibisi enzim maupun aktivitas antioksidan. Ditawarkan kerangka dasar senyawa target pada **Gambar 1.3**.



Gambar 1.3 Kerangka dasar senyawa target

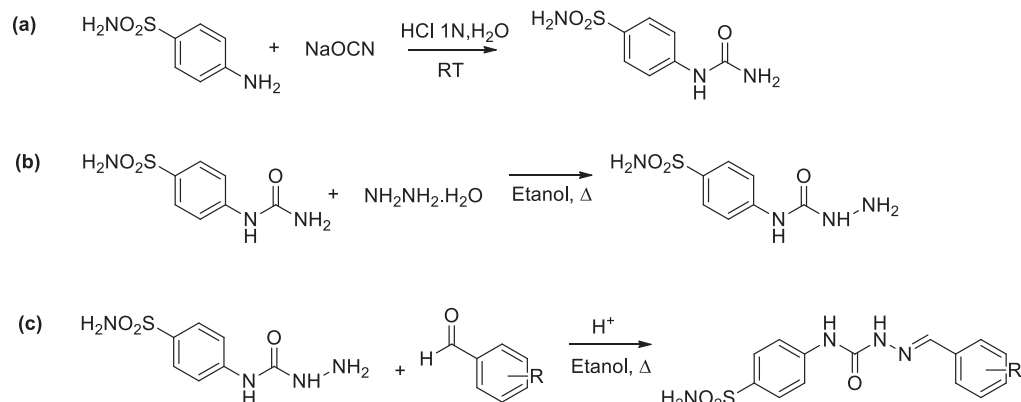
Berdasarkan gambar struktur senyawa target di atas, maka dilakukan analisis retrosintesis untuk mendapatkan prekursor-prekursor yang dibutuhkan ditunjukkan pada **Gambar 1.4**.



Gambar 1.4 Retrosintesis senyawa target

Tahap pertama merupakan diskoneksi ikatan C=N pada senyawa **10** menghasilkan prekursor benzaldehida dan senyawa **11**. Senyawa **11** didiskoneksi kembali pada ikatan C-N menghasilkan senyawa **12** dan hidrazin, kemudian senyawa **12** didiskoneksi pada ikatan C-N menghasilkan sulfanilamida dan natrium sianat. Dari hasil retrosintesis, ditawarkan rute sintesis yang ditunjukkan pada **Gambar 1.5**. Sintesis senyawa target terbagi menjadi 3 tahap, tahap pertama merupakan reaksi adisi nukleofilik (**Gambar 1.5a**) yang merujuk pada metode Tiwari *et al.*, 2018. **Gambar 1.5b** merupakan tahap sintesis kedua yang menggunakan reaksi substitusi asil nukleofilik (Hargunani *et al.*, 2020). dan tahap terakhir merupakan pembentukan semikarbazon melalui reaksi iminasi yang ditunjukkan pada **Gambar 1.5c** (de Oliveira *et al.*, 2008; Brahmi *et al.*, 2019). Perkembangan sintesis dan kemurnian hasil senyawa sintesis dipantau menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Karakterisasi senyawa hasil sintesis menggunakan spektrofotometer UV Vis, Fourier Transform Infrared

(FTIR) dan spektrometer Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Senyawa hasil sintesis juga diuji secara *in silico* melalui program *docking* molekular untuk mengetahui gambaran interaksi senyawa target dengan enzim *hCA II*. Selain itu, senyawa target juga akan diuji menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidannya.



Gambar 1.5 Rute sintesis senyawa target

1.2 Rumusan Masalah

1. Dapatkah senyawa target disintesis melalui 3 tahapan reaksi yang ditawarkan?
2. Bagaimana interaksi yang dimiliki oleh senyawa target dengan enzim *Human Carbonic Anhydrase II* dari kajian secara *in silico*?
3. Bagaimana kemampuan antioksidan dari senyawa target berdasarkan uji antioksidan menggunakan DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui keberhasilan senyawa target disintesis melalui 3 tahapan reaksi yang ditawarkan.
2. Menganalisis dan menjabarkan interaksi yang dimiliki oleh senyawa target dengan enzim *Human Carbonic Anhydrase II* dari kajian *in silico*.
3. Mengetahui dan mengukur kemampuan antioksidan dari senyawa target menggunakan uji DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi mengenai sintesis senyawa turunan semikarbazon dan gambaran terkait potensinya sebagai inhibitor *Human Carbonic Anhydrase II* melalui analisis *docking* molekular secara *in silico*. Selain itu, adanya penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi dalam mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa turunan semikarbazon.