

BAB I

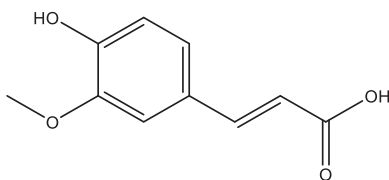
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

COVID-19 merupakan penyakit menular dan tantangan besar bagi kesehatan secara global. WHO merekomendasikan langkah-langkah perlindungan seperti mencuci tangan, menghindari menyentuh mata, hidung, atau mulut, dan menjaga jarak setidaknya 1 meter dengan orang lain untuk membantu mencegah penyebaran penyakit (Dhar Chowdhury and Oommen, 2020). WHO telah menyatakan wabah COVID-19 sebagai *pandemic global* pada 11 Maret 2020 (Cucinotta and Vanelli, 2020). Berdasarkan data dari WHO, COVID-19 telah mencapai 254 juta kasus secara global dan 4 juta kasus di Indonesia terhitung hingga November 2021 (WHO, 2021).

Tingkat keparahan penyakit ini sangat bervariasi. Beberapa orang menunjukkan gejala asimtomatik dan tampak ringan, seperti flu, demam, batuk kering, kelelahan, atau nyeri otot. Namun, pasien yang terinfeksi dapat berkembang menjadi sakit kritis dan bahkan mengakibatkan kematian. *Acute respiratory distress syndrome* (ARDS) diyakini sebagai manifestasi klinis dari perkembangan COVID-19 (Ye *et al.*, 2020). Diketahui bahwa sitokin memiliki peran penting dalam respon imun, misalnya sebagai mekanisme pertahanan terhadap infeksi virus. Namun, peningkatan infeksi SARS-CoV-2 menyebabkan terjadinya pelepasan sitokin yang berlebihan disebut sebagai badai sitokin (Azmi *et al.*, 2020). Pasien yang terinfeksi COVID-19 melepaskan banyak sitokin dan marker inflamasi salah satunya adalah IL-6 (Parasher, 2020).

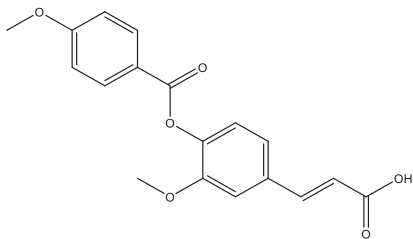
Obat golongan kortikosteroid merupakan salah satu terapi yang digunakan pada pasien COVID-19, seperti deksametason, prednison, prednisolon, dan metil prednisolon. Kortikosteroid merupakan hormon steroid yang diperlukan untuk berbagai fungsi fisiologis salah satunya adalah kontrol inflamasi. Namun, penggunaan kortikosteroid dapat meningkatkan risiko terjadinya *osteonecrosis femoral head* (ONFH) (Patel *et al.*, 2021). Oleh karena itu, peneliti akan melakukan pengembangan obat yang memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi yang lebih efektif dan memiliki toksisitas lebih rendah.



Gambar 1. 1 Struktur Asam Ferulat

Asam ferulat atau asam 3-metoksi-4-hidroksi sinamat termasuk dalam golongan asam fenolat sub kelompok asam hidroksisinamat. Asam hidroksisinamat memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi. Turunan asam hidroksisinamat memiliki mekanisme yang berbeda dalam aktivitasnya sebagai anti inflamasi (Contardi *et al.*, 2021). Berdasarkan studi *in vivo*, asam ferulat bekerja dengan menurunkan ekspresi sitokin, salah satunya adalah IL-6 (Zhou *et al.*, 2020). Namun, asam ferulat memiliki kekurangan yaitu sulit untuk menembus membran biologis lipid bilayer (Zhang *et al.*, 2015). Modifikasi struktur dapat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas biologis senyawa (Siswandono, 2016). Dilakukan modifikasi struktur asam ferulat dengan penambahan gugus aromatis. Gugus aromatis mampu meningkatkan sifat lipofilitas dari asam ferulat dikarenakan adanya penambahan sifat non polar. Peningkat sifat lipofilitas diharapkan mampu meningkatkan kemampuan dalam menembus membran biologis lipid bilayer (Ruswanto *et al.*, 2015). Oleh karena itu, peneliti akan melakukan modifikasi struktur pada asam ferulat dengan harapan turunan asam ferulat dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai anti-inflamasi.

Asam ferulat (**Gambar 1.1**) terdiri dari satu cincin aromatis, satu ikatan rangkap ($-C=C-$), satu gugus karboksilat ($-COOH$), satu gugus hidroksi fenol ($-OH$), dan satu gugus metoksi ($-OCH_3$). Dilakukan modifikasi gugus $-OH$ fenolik pada asam ferulat menjadi karbonil ester dengan mengikat metoksi pada posisi para cincin aromatis sehingga terbentuk turunan asam ferulat, yaitu asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat (**Gambar 1.2**).



Gambar 1. 2 Struktur Asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat

Prediksi parameter sifat farmakokinetika dari senyawa turunan asam ferulat telah dilakukan oleh (Ekowati *et al.*, 2018) menggunakan program pkCSM Online Tool. Hasil dari prediksi menunjukkan bahwa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki sifat absorpsi yang lebih baik dibandingkan asam ferulat ditandai dengan nilai absorpsi intestinal = 94,09% dan log P = 3,02 dimana nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa induk asam ferulat dengan nilai absorpsi intestinal = 93,92% dan log P = 1,42 maka dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan asam ferulat tersebut dapat digunakan dengan rute pemakaian secara peroral. Selain itu, dilakukan pula prediksi toksisitas menggunakan program pkCSM Online Tool dan ProTox-II Online Tool dengan hasil menunjukkan bahwa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat tidak memiliki potensi bersifat hepatotoksik, mutagenik, dan karsinogenik. Turunan asam ferulat memiliki toksisitas lebih rendah dibandingkan asam ferulat yang ditandai dengan tingkat kelas toksisitas pada turunan asam ferulat adalah kelas 5 (LD50 = 3450 mg/kg) dan asam ferulat adalah kelas 4 (LD50 = 2000 mg/kg). Oleh karena itu, turunan asam ferulat aman dan layak untuk disintesis.

Studi *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologis senyawa. Studi *in silico* yang digunakan adalah penambatan molekul atau *molecular docking* (Bao *et al.*, 2014). Semakin rendah energi ikatan menunjukkan semakin rendah jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor sehingga semakin stabil ikatan yang terbentuk. Apabila semakin stabil ikatan maka menunjukkan aktivitas yang semakin kuat (Ekowati *et al.*, 2018). Berdasarkan uji penambatan molekul asam ferulat dan turunannya terhadap reseptor COX-1, dapat diketahui bahwa turunan asam ferulat memiliki nilai MDS lebih rendah dibandingkan senyawa induk sehingga turunan asam ferulat memiliki aktivitas yang lebih kuat. Turunan asam ferulat terbentuk dari modifikasi gugus -OH fenolik pada asam ferulat menjadi ester. Modifikasi gugus -OH fenolik menjadi gugus *p*-metoksibenzoil meningkatkan interaksi dengan reseptor dikarenakan adanya tambahan interaksi ikatan hidrogen yaitu antara CO karbonil dengan asam amino reseptor dan atom O metoksi dengan asam amino reseptor serta tambahan interaksi hidrofobik yaitu antara cincin aromatis dengan asam amino reseptor dan alkil metoksi dengan asam amino reseptor (Ekowati *et al.*, 2018). Oleh karena itu, peneliti akan melakukan uji penambatan molekul turunan asam ferulat terhadap mediator inflamasi yaitu IL-6 (PDB ID : 1ALU) dengan menggunakan aplikasi AutoDock 1.5.7.

Sintesis turunan asam ferulat dapat dilakukan melalui 2 jalur yaitu jalur pertama menggunakan reaksi asilasi asam ferulat dan jalur kedua menggunakan reaksi kondensasi Knoevenagel. Terdapat 2 tahapan pada reaksi kondensasi Knoevenagel yaitu asilasi vanilin dan kondensasi Knoevenagel. Reaksi asilasi pada jalur pertama adalah reaksi antara asam ferulat dengan asil halida, Namun, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Asriningrum, 2019) sintesis turunan asam ferulat menggunakan jalur pertama tidak dapat dilakukan karena terjadi permasalahan pada proses pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Senyawa hasil mengalami hidrolisis dikarenakan terdegradasi akibat kontak yang cukup lama dengan silika gel. Oleh karena itu, dilakukan sintesis melalui jalur kedua yaitu reaksi kondensasi Knoevenagel.

Pada reaksi kondensasi Knoevenagel, pereaksi yang digunakan adalah aldehid aromatis dan asam malonat (McMurry, 2015). Aldehid aromatis yang digunakan adalah vanilin. Berdasarkan penelitian oleh (Ekowati *et al.*, 2016) telah dilakukan sintesis asam ferulat dengan senyawa yang direaksikan adalah vanilin dan asam malonat. Sehingga selanjutnya akan dilakukan sintesis turunan asam ferulat melalui reaksi kondensasi Knoevenagel. Reaksi tahap 1 yaitu reaksi asilasi antara vanilin dengan asil halida. Asil halida merupakan suatu turunan asam karboksilat yang paling reaktif dikarenakan gugus halida merupakan suatu basa lemah dan gugus pergi yang baik (Solomons *et al.*, 2016). Asil halida yang digunakan adalah *p*-metoksibenzoil klorida. Gugus metoksi (-OCH₃) pada posisi orto maupun para berpengaruh terhadap reaktivitas cincin aromatis. Gugus metoksi pada posisi para memiliki halangan sterik yang lebih kecil dibandingkan dengan posisi orto sehingga reaksi lebih mudah terjadi. Gugus metoksi mampu menyumbangkan elektron pada cincin aromatis dikarenakan sifatnya sebagai pendorong elektron. Resonansi yang terjadi pada cincin aromatis berpengaruh terhadap dorongan elektron dari metoksi sehingga mampu meningkatkan rapatan elektron cincin aromatis. Cincin aromatis menjadi lebih elektronegatif dan atom C karbonil menjadi lebih elektropositif sehingga atom C karbonil lebih mudah untuk diserang nukleofil (Poerwono and Budiati, 2013). Reaksi tahap 1 telah dilaporkan oleh (Khairunnisa, 2021) bahwa reaksi asilasi vanilin dengan *p*-metoksibenzoil klorida dapat dilakukan dengan senyawa antara yang terbentuk adalah 4-formil-2-metoksifenil 4-metoksibenzoat. Oleh karena itu, selanjutnya akan dilakukan reaksi kondensasi Knoevenagel antara asam malonat dengan senyawa antara yaitu 4-formil-2-metoksifenil 4-metoksibenzoat.

Katalis merupakan suatu senyawa yang dapat mempercepat laju reaksi kimia dengan cara menurunkan energi aktivasi dan tanpa melalui perubahan yang tetap sehingga senyawa katalis tetap utuh pada akhir reaksi (McMurry, 2015). Pada reaksi tahap 1 dibutuhkan katalis basa. Katalis basa yang umumnya digunakan adalah basa lemah seperti piridin. Piridin terdiri dari atom N yang mampu mendonorkan elektron bebasnya sehingga proton H pada -OH fenolik hilang dan membentuk ion O^- yang berperan sebagai nukleofil kuat (Clayden *et al.*, 2012). Selain itu, piridin mampu menghilangkan hasil samping asam pada reaksi tahap pertama dengan cara bereaksi dengan asam sehingga membentuk garam yang larut air (Mumtaza *et al.*, 2020). Pada reaksi tahap 2 yaitu reaksi kondensasi Knoevenagel dibutuhkan katalis basa lemah untuk menarik $H\alpha$ dari asam malonat sehingga membentuk ion enolat yang berperan sebagai nukleofil kuat. Contoh katalis basa lemah yang dapat digunakan adalah piridin, piperidin, morfolin, dan lain-lain (Clayden *et al.*, 2012). Oleh karena itu, katalis yang digunakan pada penelitian ini adalah piridin.

Saat ini, *microwave* banyak digunakan dalam sintesis senyawa organik. *Microwave* memiliki keunggulan, antara lain laju pemanasan lebih cepat sehingga waktu reaksi menjadi lebih singkat, menghasilkan lebih banyak produk, pemanasan seragam, selektif (berdasarkan respon suatu bahan terhadap *microwave*), reproduktibilitas lebih baik, dan ramah lingkungan (Sagitaras *et al.*, 2019). Faktor penentu dari suatu bahan dapat menyerap gelombang mikro adalah adanya gugus polar. Apabila terdapat gugus polar yang diberi iradiasi gelombang mikro maka akan menghasilkan efek pemanasan dielektrik (Yaqin *et al.*, 2021). Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh daya yang digunakan. Semakin besar daya yang digunakan, maka semakin besar pula energi yang dihasilkan oleh *microwave*. Namun, apabila waktu pemanasan yang terlalu lama bisa terjadi kerusakan pada senyawa hasil reaksi (Sagitaras *et al.*, 2019). Oleh karena itu, dilakukan optimasi daya *microwave* untuk mengetahui pengaruhnya terhadap lama reaksi dan presentase hasil reaksi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat diprediksi memiliki aktivitas lebih kuat sebagai penghambat IL-6 dibandingkan asam ferulat melalui penambatan molekul pada PDB ID : 1ALU?
2. Apakah senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat disintesis melalui reaksi kondensasi Knoevenagel menggunakan katalis piridin dengan iradiasi gelombang mikro?
3. Apakah daya *microwave* mempengaruhi lama reaksi dan presentase hasil reaksi sintesis asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Memprediksi senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki aktivitas lebih kuat sebagai penghambat IL-6 dibandingkan asam ferulat melalui penambatan molekul pada PDB ID : 1ALU
2. Memperoleh hasil sintesis yaitu senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat melalui reaksi kondensasi Knoevenagel menggunakan katalis piridin dengan iradiasi gelombang mikro
3. Mengetahui pengaruh daya *microwave* terhadap lama reaksi dan presentase hasil reaksi sintesis senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh senyawa turunan asam ferulat sebagai bahan penelitian lebih lanjut untuk dilakukan pengembangan obat sebagai penghambat IL-6
2. Memberikan wawasan ilmiah dalam bidang sintesis khususnya turunan asam ferulat yaitu asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat