

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri merupakan salah satu permasalahan kesehatan utama yang sangat mengganggu. *International Association of Study of Pain* (IASP, 2020) mendefinisikan nyeri sebagai pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang dikaitkan dengan kerusakan jaringan aktual dan potensial. Nyeri dan khususnya nyeri kronis, sulit untuk dinilai dan diukur karena sifatnya yang subjektif dan multidimensi (Malhotra dan Mackey, 2012). Nyeri kronis menjadi salah satu penyebab umum orang dewasa mencari perawatan medis (Schappert dan Burt, 2001). *Consumer Healthcare Product Association* (CHPA, 2019) mengemukakan bahwa analgesik merupakan salah satu obat OTC dengan pembelian terbesar kedua di Amerika Serikat. Diperkirakan sebanyak 20,4% (50,0 juta) orang dewasa AS menderita nyeri kronis dan 8,0% orang dewasa AS (19,6 juta) mengalami dampak tinggi nyeri kronis (Dahlhamer *et al.*, 2018). Kecacatan yang terkait dengan *low back pain* (nyeri punggung bawah) meningkat pada semua kelompok umur antara tahun 1990 dan 2019 dan terbesar dalam kelompok usia 50-54 pada tahun 2019 (GHDx, 2019).

Nyeri berdasarkan mekanisme patofisiologisnya menjadi dua yakni nyeri neuropatik dan nyeri nosiseptif (Abd-Elseyed dan Deer, 2019). Nyeri neuropati disebabkan oleh kerusakan sel saraf pada sistem saraf tepi maupun pusat (Haanpaa dan Treede, 2010). Nyeri nosiseptif berkembang karena adanya kerusakan jaringan yang merangsang reseptor nyeri yang disebut nosiseptor (Abd-Elseyed, 2019). Nosiseptor disebut juga dengan ujung saraf, yang merupakan neuron sensorik utama yang mentransmisikan nyeri ke sistem saraf pusat. Nosiseptor ditemukan pada sebagian besar jaringan lunak dengan jumlah yang beragam, termasuk kulit, sendi, otot, dan organ-organ. Sebagai respon terhadap tekanan mekanis, kimia, atau suhu yang dapat menyebabkan kerusakan tubuh, nosiseptor mengirim sinyal ke sistem saraf pusat yang diinterpretasikan otak sebagai nyeri (Lowe dan Chaitow, 2009).

Sebagai respon terhadap kerusakan jaringan, tubuh memulai sinyal kimia yang merangsang respon yang ditujukan untuk penyembuhan jaringan yang terpengaruh. Sinyal ini mengaktifkan kemotaksis leukosit dari sirkulasi ke lokasi kerusakan. Hal ini mengaktifkan leukosit untuk menghasilkan sitokin yang menginduksi respon inflamasi (Jabbour *et al.*, 2009). Berdasarkan pengamatan visual, orang dahulu mencirikan peradangan dengan lima tanda utama, yaitu kemerahan (*rubor*), pembengkakan (*tumor*), panas (*kalor*), nyeri (*dolor*) dan hilangnya fungsi (*functio laesa*) (Punchard *et al.*, 2004).

Analgetika adalah senyawa yang dapat menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif, digunakan untuk mengurangi rasa sakit tanpa mempengaruhi kesadaran. Analgetika bekerja dengan meningkatkan nilai ambang persepsi rasa sakit (Siswandono dan Widiandani, 2016). Obat analgesik diklasifikasikan menjadi tiga golongan yakni analgesik opioid, analgesik non opioid, dan adjuvan analgesik (Portenoy, 2000). Berdasarkan struktur kimianya analgetika non opioid dibagi menjadi dua kelompok yaitu analgetik-antipiretika dan obat antiradang bukan steroid (*Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* = NSAID). NSAID adalah obat yang mempunyai efek mengurangi rasa nyeri (analgesik), mengurangi peradangan pada jaringan (antiradang), menurunkan demam (antipiretik), dan dapat menghambat agregasi platelet (antiplatelet) (Siswandono and Widiandani, 2016). Mekanisme kerja NSAID utamanya adalah hambatan pada enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase diperlukan pada proses pengubahan asam arakidonat menjadi tromboksan, prostaglandin, dan prostasiklin. Prostaglandin sebagai mediator inflamasi, mekanisme aksinya adalah meningkatkan aliran darah lokal dan permeabilitas vaskular, menyebabkan edema, menurunkan ambang stimulasi nosiseptor, yang menyebabkan sensitisasi nosiseptor sehingga bermanifestasi pada peningkatan sensitivitas terhadap rangsangan nyeri (Tomić *et al.*, 2017). Ketika enzim siklooksigenase dihambat maka produksi prostaglandin akan menurun yang berakibat pada berkurangnya rasa nyeri.

Berdasarkan struktur kimianya NSAID dibagi menjadi 8 kelompok yaitu turunan salisilat, turunan 5-pirazolidindion, turunan asam *N*-antranilat, turunan asam arilasetat, turunan heteroarilasetat, turunan oksikam, senyawa penghambat selektif enzim siklooksigenase-2 (COX-2) dan turunan lain-lain (Siswandono dan

Widiandani, 2016). Asam salisilat merupakan obat golongan anti inflamasi paling awal dan menunjukkan efek analgesik dan antipiretik (Curry *et al.*, 2005). Turunan salisilat adalah sekelompok senyawa terkait yang berasal dari asam salisilat, mempunyai efek farmakologis yang sama seperti aspirin. Asam salisilat memiliki beberapa efek fisiologis yang menguntungkan, antara lain dapat menghambat sintesis prostaglandin, mengurangi aktivitas inflamasi, dan menurunkan demam dan nyeri (Lowe dan Chaitow, 2009). Turunan asam salisilat digunakan untuk menghilangkan nyeri ringan sampai sedang, demam ringan, dan untuk pengobatan penyakit inflamasi akut dan kronis seperti osteoarthritis, arthritis reumatoid, arthritis idiopatik, dan *ankylosing spondylitis*. Beberapa turunan salisilat digunakan dalam preparat *rubefacient* untuk menghilangkan nyeri otot dan rematik (Sweetman, 2009). Aspirin merupakan salah satu turunan salisilat yang paling dikenal dan paling umum digunakan (Diyah *et al.*, 2020). Pada tahun 2010 diperkirakan sebanyak 19,0% (43,6 juta) orang dewasa di Amerika Serikat mengonsumsi aspirin setidaknya tiga kali dalam satu minggu selama minimal 3 bulan (Zhou *et al.*, 2014).

Penggunaan turunan asam salisilat sebagai antipiretik pada beberapa negara berkembang kerap menimbulkan efek samping iritasi lambung dan keracunan (Fadeyi *et al.*, 2004; Siswandono dan Widiandani, 2016). Hal tersebut disebabkan oleh kurangnya selektifitas turunan asam salisilat dalam menghambat enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase-1 (COX-1) berfungsi sebagai *housekeeping* karena terlibat dalam homeostasis jaringan, sedang COX-2 berperan dalam produksi prostaglandin pada proses inflamasi (Tomić *et al.*, 2017). Hambatan terhadap COX-1 menghasilkan hilangnya fungsi sitoprotektif dari PGE₂ pada mukosa lambung (Awtry dan Loscalzo, 2000). Prostaglandin penting dalam mempertahankan pertahanan mukosa lambung yang memadai dengan menurunkan produksi asam dan mempertahankan sekresi lendir, penghambatan prostaglandin menyebabkan ulserasi lambung (Holton, 2013). Gugus karboksilat yang bersifat asam dihubungkan dengan penyebab iritasi lambung akut, sedangkan hambatan terhadap COX-1 menyebabkan iritasi kronik (Siswandono dan Widiandani, 2016). Potensi iritasi lambung yang muncul akibat penggunaan turunan asam salisilat mendorong perlunya dilakukan modifikasi molekul

senyawa yang telah ada. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik, efek samping minimal, lebih selektif, masa kerja lebih panjang, dan lebih nyaman digunakan (Siswandono dan Widiandani, 2016).

Telah banyak dilakukan studi *in silico* dalam mengembangkan obat salah satunya adalah analisis *in silico* dan HKPA (Hubungan Kuantitatif Properti-Aktivitas) turunan pinostrobin dengan target ErbB4 kinase sebagai obat antikanker payudara. Beberapa keuntungan dari studi *in silico* yakni mengoptimalkan aktivitas sebelum senyawa disintesis secara eksperimental. Hal ini dapat mengurangi langkah sintesis suatu senyawa yang membutuhkan waktu dan biaya yang mahal, namun senyawa yang dihasilkan tidak memiliki aktivitas seperti yang diharapkan (Praditapuspa *et al.*, 2021). Purwanto (2021) telah melakukan penelitian secara *in silico* turunan *N*-(4-*tert*-butylphenylcarbamoyl)benzamide dalam upaya pengembangan senyawa antikanker terhadap sel HeLa. Uji yang dilakukan antara lain prediksi ADMET menggunakan program pkCSM *online*, serta prediksi aktivitas dan interaksi obat dengan reseptor kinase-1 (kode PDB: 2YWP) menggunakan program Autodock (Purwanto *et al.*, 2021). Penelitian serupa juga telah dilakukan oleh Pratiwi (2021) dalam mengembangkan turunan sulfonilurea sebagai senyawa antidiabetes. Prediksi parameter fisikokimia dilakukan melalui program komputer *ChemOffice*, prediksi nilai farmakokinetika dan toksisitasnya melalui program pkCSM *online*, prediksi aktivitas antidiabetesnya terhadap reseptor enzim sulfonilurea-1 atau SUR-1 (kode PDB: 6PZA) melalui *docking* menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD), dan analisis HKSA menggunakan program SPSS (Pratiwi, 2021).

Pengembangan obat baru dapat dilakukan melalui dua jalur yakni *Ligand Based Drug Design* (LBDD) atau Rancangan Obat Berbasis Ligan dan *Structure Based Drug Design* (SBDD) atau Rancangan Obat Berbasis Struktur. Pada penelitian ini rancangan obat dilakukan melalui jalur LBDD dengan memilih serangkaian molekul yang telah menunjukkan aktivitas yang baik dan mengikat target biologis yang diinginkan. Melalui program komputer dapat dicari gugus-gugus yang bertanggungjawab terhadap aktivitas (farmakofor) dan gugus yang dapat menurunkan aktivitas, serta sifat-sifat hidrofobik, elektronik, dan sterik dari

gugus (Siswandono, 2016). Modifikasi molekul dilakukan berdasarkan tiga parameter fisikokimia utama yang mempengaruhi aktivitas biologis suatu senyawa yakni sifat hidrofobik, elektronik, dan sterik (Block, 2012). Sifat hidrofobik berhubungan dengan kemampuan senyawa untuk diabsorpsi dan didistribusikan ke seluruh tubuh (Roy *et al.*, 2015). Sifat elektronik berhubungan dengan kekuatan ikatan obat-reseptor dan ionisasi obat dalam cairan tubuh (Siswandono, 2016), sedangkan sifat sterik menentukan keserasian interaksi obat-reseptor (Purwanto dan Widiandani, 2016). Contoh parameter sifat hidrofobik antara lain adalah logP, ClogP, π Hansch, tPSA, kelarutan, sedangkan parameter sifat elektronik antara lain adalah pKa, σ Hammett, E_{tot} , E_{HOMO} , dan E_{LUMO} , dan parameter sifat sterik diantaranya MR, CMR, BM, Es dari Taft, dan B1 Verloop (Siswandono dan Widiandani, 2016).

Pada penemuan obat baru pemahaman mengenai hubungan antara struktur kimia dan aktivitas biologis merupakan hal yang penting dan krusial, melalui kimia komputasi hubungan struktur-aktivitas dapat dideskripsikan secara kuantitatif melalui model HKSA atau Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (Gedeck *et al.*, 2010). HKSA adalah model matematika sederhana yang mengkorelasikan senyawa kimia dengan sifat-sifat (fisikokimia/biologis/toksikologi) molekul menggunakan sistem komputasi atau eksperimental yang diturunkan menjadi parameter kuantitatif yang disebut deskriptor (Roy *et al.*, 2015). HKSA memegang peranan penting dalam pengembangan obat (Siswandono dan Widiandani, 2016; Tandon *et al.*, 2019). Melalui HKSA penggunaan waktu dan biaya dapat ditekan dan meminimalisir faktor coba-coba (Siswandono dan Widiandani, 2016). Model yang dikembangkan memberikan interpretasi yang signifikan terhadap persyaratan struktur penting dari molekul obat, sehingga memungkinkan untuk mengidentifikasi gugus yang berkontribusi terhadap aktivitas/properti/toksisitas biologis (Guha dan Willighagen, 2012).

Hubungan struktur-aktivitas turunan asam salisilat menyatakan bahwa sebagai gugus farmakofor untuk menimbulkan efek anagesik adalah gugus karboksilat dan gugus hidroksil yang letaknya harus berdekatan dengan gugus karboksilat tersebut (Siswandono dan Widiandani, 2016). Dalam penelitian ini dilakukan studi *in silico* dari turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat, yang dapat

disintesis dari asam 5-metilsalisilat dengan turunan benzoil klorida melalui reaksi substitusi asil nukleofilik. Asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan turunannya merupakan sebuah ester, dimana salah satu sifatnya yaitu mudah mengalami reaksi hidrolisis di dalam maupun di luar tubuh menjadi asam karboksilat dan alkohol (Chang, 2010; McMurry *et al.*, 2012). Reaksi hidrolisis dapat terjadi dengan adanya asam mineral kuat atau basa (Krammer dan Vogel, 2000). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis diantaranya yaitu pH, suhu dan konsentrasi katalis (Azura *et al.*, 2015). Reaksi hidrolisis ini akan mempengaruhi stabilitas ester, sehingga dapat menjadi pertimbangan ketika senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat disintesis.

Modifikasi molekul dari senyawa penuntun dilakukan berdasarkan pendekatan Topliss pada struktur cincin aromatik (Siswandono dan Widiandani, 2016). Yakni dengan memasukkan gugus-gugus yang mempunyai sifat hidrofobik, elektronik, dan sterik tertentu pada posisi tertentu, sehingga dihasilkan 14 senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan parameter sifat fisikokimia yang berbeda. Substituen-substituen tersebut adalah: 2-kloro, 3-kloro, 4-kloro, 2,4-dikloro, 3,4-dikloro, 4-bromo, 4-metil, 4-metoksi, 3-triflorometil, 4-triflorometil, 3-nitro, 4-nitro, 4-floro, dan 4-*t*-butil. Perbedaan sifat fisikokimia (hidrofobik, elektronik, sterik) dari masing-masing substituen akan menyebabkan perbedaan aktivitas biologis dari masing-masing senyawa turunan yang diteliti.

Dalam penelitian ini dilakukan studi *in silico* dari turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan memprediksi sifat fisikokimia melalui program *ChemOffice*, prediksi ADMET menggunakan program *pkCSM online*, prediksi aktivitas dan interaksi obat-reseptor menggunakan program *Molegro Virtual Docker*, serta analisis hubungan kuantitatif struktur-aktivitas menggunakan program SPSS. Dalam penelitian ini digunakan program MVD karena mempunyai nilai akurasi *docking* sebesar 87%, dan nilai tersebut lebih tinggi dari program *docking* lain yakni Glide: 82%, Surflex: 75%, FlexX: 58% (Thomsen dan Christensen, 2006). Prediksi aktivitas dapat diketahui melalui nilai *Rerank Score* (RS) yang menggambarkan besar energi yang terlibat dalam ikatan obat-reseptor (CLCbio, 2011). Nilai *rerank score* yang paling rendah menunjukkan interaksi obat-reseptor yang paling stabil dan diprediksi mempunyai aktivitas biologis yang

paling tinggi diantara turunan tersebut (Siswandono, 2016). Reseptor yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim siklooksigenase-2 (COX-2) dengan *native ligand* selekoksib (kode PDB: 3LN1), turunan NSAID yang telah digunakan sebagai obat analgesik dan selektif terhadap COX-2.

Tahap selanjutnya adalah analisis hubungan kuantitatif struktur, perubahan sifat fisikokimia senyawa (hidrofobik, elektronik, dan sterik) serta sifat farmakokinetika absorpsi terhadap prediksi aktivitas analgesik dari asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya yang diteliti. Analisis yang sering digunakan dalam HKSA adalah regresi linier maupun non linier yang diolah menggunakan program SPSS (Siswandono dan Widiandani, 2016). Dalam HKSA, parameter fisikokimia yang digunakan adalah parameter hidrofobik (CLog P), elektronik (E_{total}), dan parameter sterik (CMR: *Calculated Molar Refractivity*). Persamaan HKSA yang terbaik kemudian dievaluasi untuk mendesain senyawa analog lain, dalam usaha pengembangan dan penyempurnaan hubungan tersebut. Hubungan atau korelasi yang baik digunakan untuk menunjang model interaksi obat-reseptor dan meramalkan jalur sintesis obat yang menguntungkan. Dari proses tersebut didapatkan senyawa terbaik sebagai calon obat, yang kemudian dapat dilanjutkan pada proses sintesis, uji preklinis dan uji klinis (Siswandono, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi sifat farmakokinetika (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi) yang lebih baik dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) secara *in silico*?
2. Apakah senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi toksisitas (LD_{50} , *Ames Toxicity*, dan *Hepatotoxicity*) yang lebih rendah dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) secara *in silico*?
3. Apakah senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi aktivitas analgesik sebagai penghambat enzim COX-2

yang lebih besar dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) dan selekoksib secara *in silico*?

4. Apakah ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat fisikokimia senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan prediksi aktivitas analgesik sebagai penghambat enzim COX-2?
5. Apakah ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat fisikokimia senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan prediksi sifat absorpsi (*human intestinal absorption* = *HIA*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengembangkan senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat sebagai calon obat analgesik terhadap reseptor COX-2 secara *in silico*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi sifat farmakokinetika (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi) yang lebih baik dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) secara *in silico*.
2. Membuktikan bahwa senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi toksisitas (LD_{50} , *Ames Toxicity*, dan *Hepatotoxicity*) yang lebih rendah dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) secara *in silico*.
3. Membuktikan bahwa senyawa asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dan 14 turunannya memiliki prediksi aktivitas analgesik sebagai penghambat enzim COX-2 yang lebih besar dibanding senyawa induk (asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat) dan selekoksib secara *in silico*.
4. Membuktikan bahwa ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat fisikokimia senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan prediksi aktivitas analgesik sebagai penghambat enzim COX-2.
5. Membuktikan bahwa ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat fisikokimia senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat dengan prediksi sifat absorpsi (*Human Intestinal Absorption* = *HIA*).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai hubungan struktur-aktivitas analgesik senyawa turunan asam *O*-benzoil-5-metilsalisilat secara *in silico* sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai calon obat analgesik.