

BAB I

PENDAHULUAN

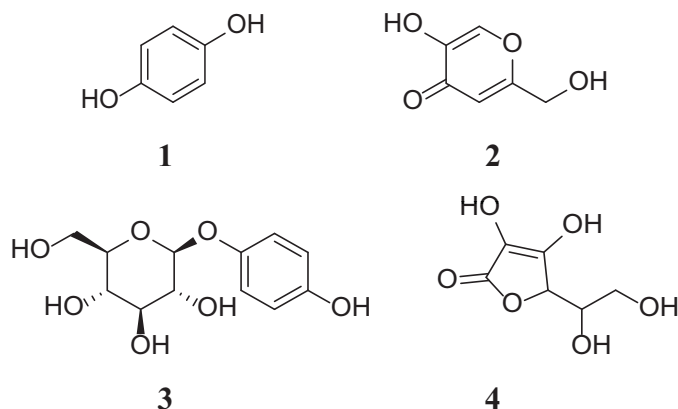
1.1 Latar Belakang

Melanin merupakan pigmen yang berperan dalam pencoklatan kulit, melanin juga memberikan proteksi terhadap radiasi *ultraviolet* (UV) dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Brenner & Hearing, 2008), lebih dari 10% sel kulit komponen penyusun epidermis menghasilkan melanin (Jang *et al.*, 2008). Melanin diproduksi melalui melanogenesis yang terjadi pada sel melanosit (Gillbro & Olsson, 2011). Enzim yang terlibat dalam proses melanogenesis adalah enzim tirosinase. Aktivitas oksidasi substrat L-tirosin dan L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) oleh tirosinase akan menginisiasi melanogenesis, reaksi oksidasi ini di inisiasi oleh oksigen (Ramsden & Riley, 2014) dan radiasi *ultraviolet* (UV) (Gillbro & Olsson, 2011).

Pada manusia, bagian epidermis kulit aktif terpapar radiasi UV. Paparan radiasi UV dapat mengaktifkan tirosinase sehingga bagian kulit yang terpapar radiasi UV dalam jangka panjang akan mengalami hiperpigmentasi (Li *et al.*, 2021). Fenomena hiperpigmentasi dapat menyebabkan berbagai permasalahan kulit. Tidak hanya pada kulit, tirosinase juga menyebabkan pencoklatan pada buah yang terkelupas (Channar *et al.*, 2018) dimana hal ini lumrah terjadi ketika masa panen, akibatnya nilai jual buah menurun karena tidak lagi terlihat segar. Permasalahan hiperpigmentasi pada kulit dan buah cukup menurunkan nilai estetika, sehingga inhibitor tirosinase banyak dikembangkan untuk kepentingan kosmetik, pengobatan, dan industri agrikultur.

Penurunan produksi melanin dapat meningkatkan kadar ROS dalam tubuh, oleh karena itu dalam pengembangannya, inhibitor tirosinase didesain untuk memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini menjadi sebab senyawa fenolik sangat populer sebagai inhibitor tirosinase, senyawa fenolik diketahui sebagai antioksidan dan dapat melakukan khelat dengan Cu^{2+} . Salah satu senyawa fenolik yang secara komersial digunakan sebagai inhibitor tirosinase adalah hidrokuinon (**1**), asam kojat (**2**), arbutin

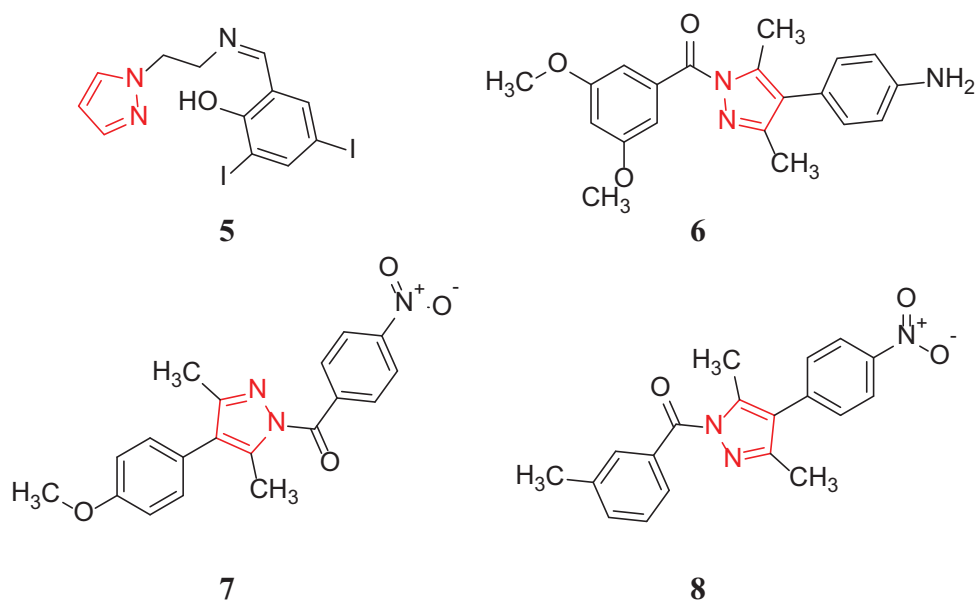
(3), dan asam askorbat (4) (Channar *et al.*, 2018). Namun inhibitor tersebut memiliki efek samping, yaitu senyawa 1 dan 2 merupakan karsinogen (Curto *et al.*, 1999; Fujimoto *et al.*, 1999) dan mengiritasi kulit (Larik *et al.*, 2017; Shi *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2009) sedangkan senyawa 3 diketahui sebagai analog dari hidrokuinon dan memiliki kestabilan rendah sehingga dapat melepas hidrokuinon saat didalam tubuh (Zhou *et al.*, 2009), kemudian senyawa 4 dikenal sensitif terhadap panas dan mudah terdegradasi (Spínola *et al.*, 2013), sehingga perlu dilakukan eksplorasi inhibitor yang lebih aman dan efektif.



Gambar 1.1 Inhibitor tirosinase yang tersedia secara komersial

Salah satu inhibitor tirosinase yang pernah dieksplorasi adalah senyawa turunan pirazol. Pirazol menarik perhatian untuk diteliti sebagai inhibitor tirosinase karena senyawa golongan ini dikenal sebagai agen khelat ion-ion logam yang baik, Mendes *et al.*, (2011) pada penelitiannya menyatakan bahwa *N*-(2-hidroksi-3,5-diiodin-benzil-2-pirazoletil)imin (5) yang merupakan turunan pirazol dapat mengkhelat dengan baik pada logam Cu^{2+} . Aktivitas khelat dengan Cu^{2+} merupakan salah satu karakteristik dari inhibitor tirosinase. Selain itu, pirazol diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik, hasil penelitian oleh Abdu *et al.*, (2011) menyatakan bahwa senyawa sintesis dari 3,5-bis(tersubstitusi)pirazol menunjukkan aktivitas yang baik sebagai antibakteri dan antioksidan. Pada studi Chkirate *et al.*, (2019) kompleks turunan pirazol–asetamida dengan logam kobalt dan tembaga memberikan aktivitas antioksidan yang signifikan.

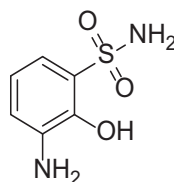
Penelitian yang dilakukan Channar *et al.*, (2018) juga mengklaim bahwa senyawa turunan pirazol (**6**), (**7**), dan (**8**) merupakan inhibitor tirosinase jamur *Agaricus bisporus* (AbTYR) yang sangat baik secara *in silico* dan *in vitro*. Selain potensinya sebagai inhibitor tirosinase, pirazol memiliki aktivitas biologis lain, diantaranya adalah aktivitas antikanker, antimikroba, antivirus, antifungi, antiinflamatori, analgesik, dan insektisida. Namun, masih sedikit studi yang melaporkan aktivitas senyawa turunan pirazol sebagai inhibitor enzim tirosinase. Oleh karena itu, potensi senyawa turunan pirazol sebagai inhibitor tirosinase dapat dipelajari dan dikembangkan lebih lanjut.



Gambar 1.2 Senyawa-senyawa turunan pirazol yang telah diuji aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase

Karakteristik inhibitor tirosinase juga dimiliki oleh senyawa turunan sulfonamida. Studi Li *et al.*, (2021) menyampaikan bahwa senyawa yang mengandung atom sulfur memiliki potensi untuk berinteraksi dengan kofaktor tembaga pada sisi aktif tirosinase. Studi Bodoki *et al.*, (2010) juga telah membuktikan aktivitas khelat dari senyawa golongan sulfonamida pada logam Cu^{2+} .

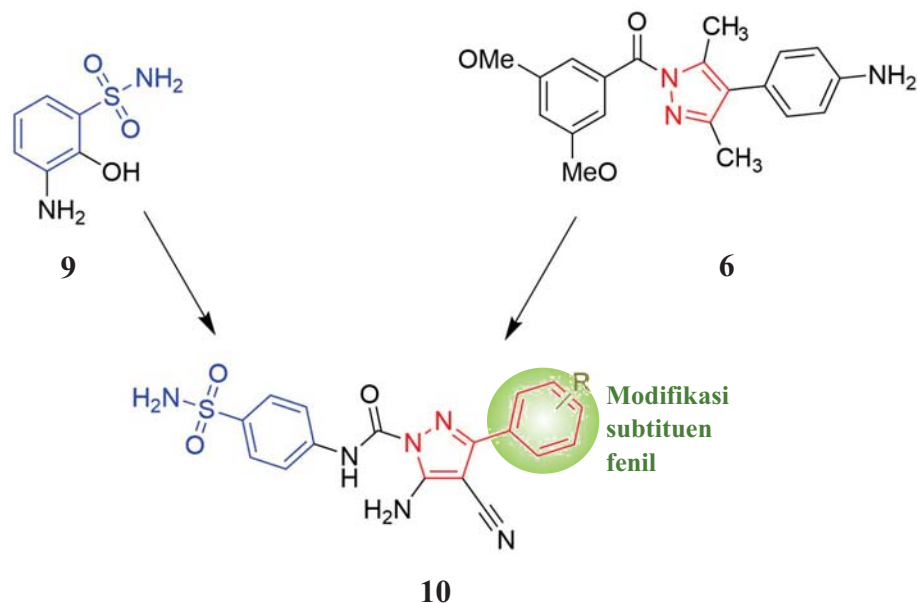
Pada studi yang dilakukan oleh Rescigno *et al.*, (2011) disintesis senyawa turunan sulfonamida, hasil penelitiannya menunjukkan 3-amino-2-hidroksi-benzensulfonamida (**9**) memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase, posisi sulfonamida yang tak tersubstitusi menghasilkan aktivitas inhibisi paling baik dibandingkan yang tersubstitusi.



9

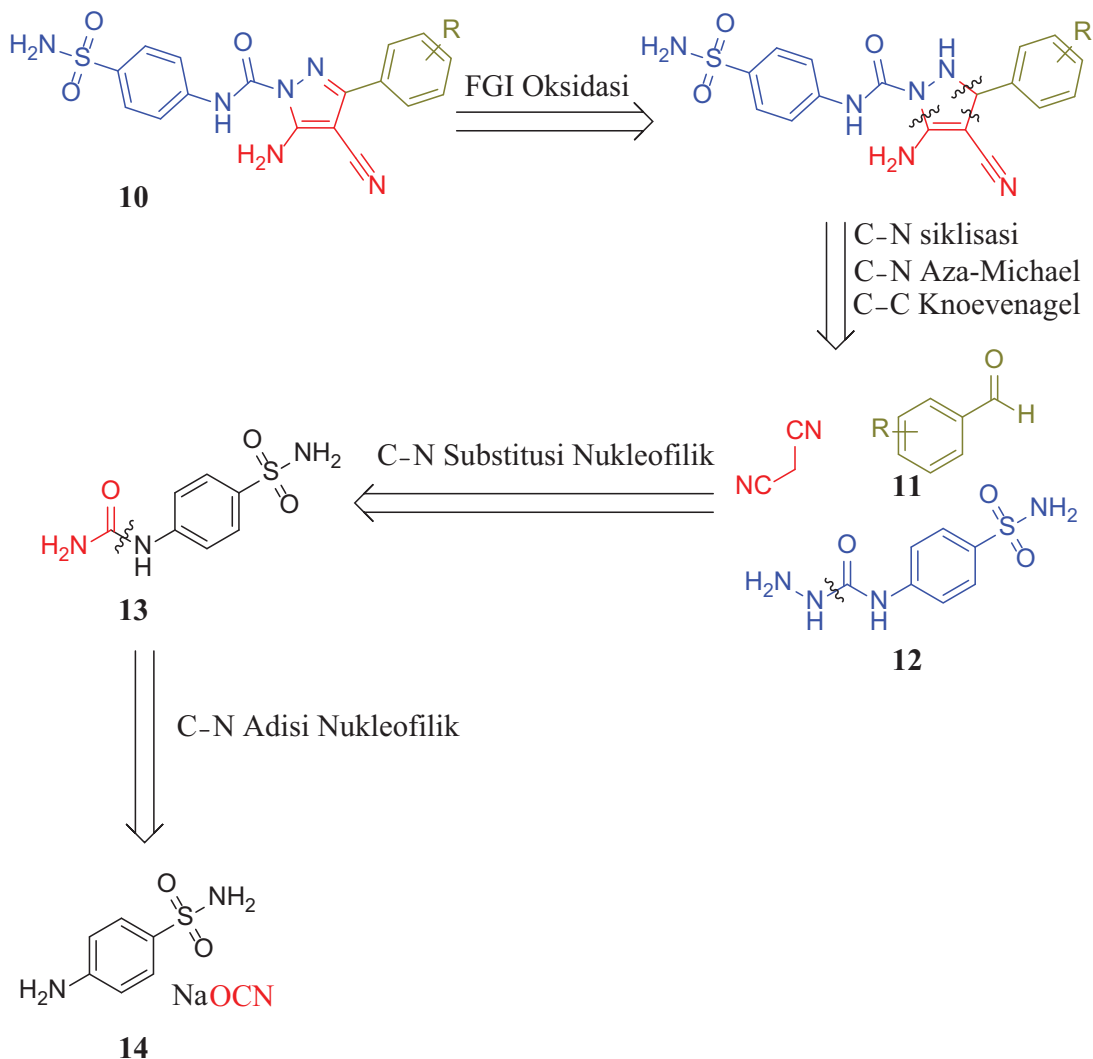
Gambar 1.3 Struktur senyawa 3-amino-2-hidroksi-benzen-sulfonamida **9**.

Mengetahui hal tersebut, senyawa turunan pirazol dan sulfonamida masih dapat dipelajari dan dikembangkan lebih lanjut aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase. Maka dalam penelitian ini akan dilakukan desain, sintesis, dan uji aktivitas senyawa hibrid pirazol sulfonamida (**10**) dengan modifikasi pada substituen R. Pada studi *molecular docking* enzim tirosinase dari jamur *Agaricus bisporus* akan digunakan sebagai reseptor karena homologinya yang tinggi dengan mamalia (Chang, 2009). Hasil molekular *docking* akan diseleksi dan diperoleh senyawa kandidat paling potensial menurut *docking score* dan visualisasi *pose* ligan, kemudian senyawa kandidat akan disintesis dengan reaksi bertahap.



Gambar 1.4 Desain senyawa target **10** turunan sulfonamida **9** turunan pirazol **6**.

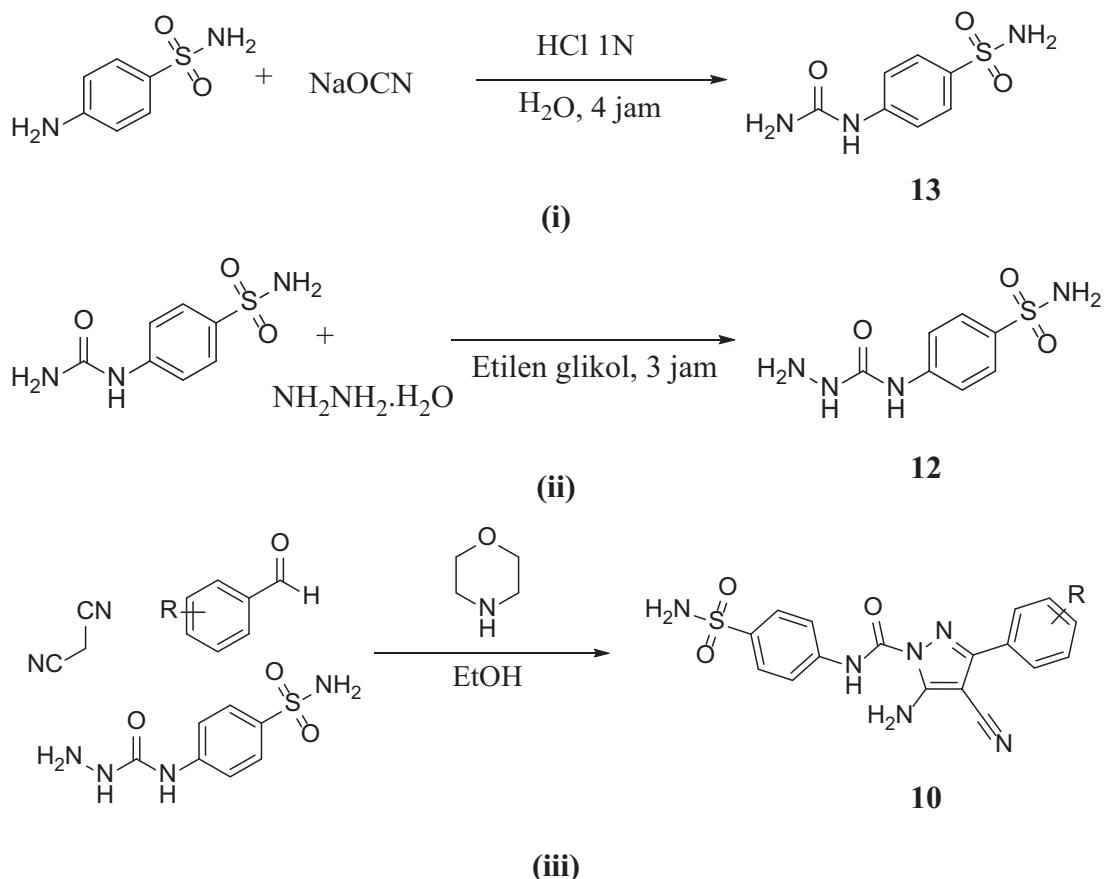
Berdasarkan kerangka utama senyawa kandidat pada **Gambar 1.4**, analisis retrosintesis menunjukkan senyawa **10** disintesis dengan mereaksikan tiga prekursor yakni malononitril, turunan benzaldehida **11**, dan *N*-(4-sulfamoilfenil)hidrazin karboksamida **12**, selanjutnya dilakukan konversi gugus fungsi sehingga mengubah *N*-(4-sulfamoilfenil)hidrazinkarboksamida **12** menjadi 4-ureidobenzensulfonamida **13**. Analisis retrosintesis selanjutnya menunjukkan senyawa **13** diperoleh dengan mereaksikan sulfanilamida **14** dengan natrium sianat.



Gambar 1.5 Analisis retrosintesis senyawa target

Metode sintesis untuk memperoleh senyawa target diilustrasikan pada **Gambar 1.6** dimana disintesis melalui tiga tahap reaksi : (i) sintesis 4-ureidobenzensulfonamida melalui reaksi adisi nukleofilik antara sulfanilamida dengan sodium sianat, kemudian disintesis (ii) *N*-(4-sulfamoylphenyl)hidrazinekarboksamida dari reaktan **13** yang direaksikan dengan hidrazinmonohidrat, reaksi tahap pertama dan kedua merujuk pada metode yang dilakukan oleh Pichake *et al.*, (2014) (iii) kemudian sintesis senyawa target **10** menggunakan metode *multicomponent reaction* dengan 3 prekursor yaitu

malononitril, dengan senyawa **12** dan turunan benzaldehida, sehingga diperoleh tiga senyawa target dari turunan pirazol sulfonamida.



Gambar 1.6 Skema sintesis senyawa target (i) tahap pertama (ii) tahap kedua (iii) tahap ketiga

Molekul target akan diuji kemurniannya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan 3 sistem eluen yang berbeda. Selanjutnya senyawa yang telah murni dilakukan penentuan struktur senyawa target menggunakan instrumen spektrofotometer UV Vis, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), dan spektrometer ^1H dan ^{13}C *Nuclear Magnetic resonance* (NMR) untuk menentukan struktur molekul target.

Senyawa target yang telah murni akan dilakukan uji aktivitas dan kapasitas antioksidan, uji dilakukan secara *in vitro* menggunakan reagen radikal DPPH (2,2-

difenil-1-pikrilhidrazil) yang berbasis kolorimetri. Uji ini dilakukan sebagai uji sederhana untuk memprediksi aktivitas antioksidan senyawa yang diuji.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana struktur senyawa target yang diusulkan berdasarkan uji *in silico*?
2. Apakah senyawa turunan pirazol sulfonamida memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase secara kajian *in silico*?
3. Apakah senyawa target dapat disintesis dari tahap rekasi yang diusulkan ?
4. Bagaimana aktivitas dan kapasitas antioksidan dari senyawa turunan pirazol sulfonamida berdasarkan uji DPPH?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui struktur senyawa target yang diusulkan berdasarkan uji *in silico*.
2. Untuk mengetahui apakah senyawa turunan pirazol sulfonamida memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase secara kajian *in silico*.
3. Untuk mengetahui apakah senyawa turunan pirazol sulfonamida dapat disintesis melalui tahap reaksi yang diusulkan.
4. Untuk mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa turunan pirazol sulfonamida berdasarkan uji *in vitro* DPPH.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan mengenai sintesis senyawa turunan pirazol sulfonamida. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi senyawa turunan pirazol sulfonamida sebagai inhibitor

tirosinase berdasarkan kajian *in silico* dan aktivitas antioksidan yang dimiliki berdasarkan kajian *in vitro* Uji DPPH. Struktur senyawa turunan pirazol sulfonamida dengan variasi substituen yang dikaji pada penelitian ini, diharapkan dapat mendorong pengembangan serta eksplorasi aktivitas biologis dari senyawa turunan pirazol sulfonamida dengan variasi substituen yang berbeda.