

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit malaria mempunyai dampak yang signifikan terhadap dunia, terutama di negara-negara berkembang di Afrika yang infeksiya telah menyebar pada jutaan orang. Sekitar 207 juta kasus malaria dan diperkirakan 627.000 orang meninggal akibat malaria. Selain itu, malaria membawa dampak kerusakan ekonomi yang signifikan di negara dengan tingkat penyakit malaria tinggi yakni menurunkan PDB (Produk Domestik Bruto) sebesar 1,3%. Apabila berkelanjutan, kerugian tahunan tersebut menyebabkan perbedaan substansial pada PDB di antara negara-negara dengan dan tanpa adanya malaria (terutama di wilayah Afrika). Penyakit ini juga termasuk dalam penyebab signifikan dari angka morbiditas dan mortalitas (WHO, 2010).

Berbagai obat antimalaria telah banyak digunakan, terutama klorokuin, meflokuin, kuinin, dan artemisinin. Di beberapa negara, telah terjadi kasus resistensi terhadap obat malaria tersebut khususnya terhadap *Plasmodium falciparum* (Mita *et al.*, 2009). Pertama kali terjadi kasus resistensi parasit malaria terhadap klorokuin di Thailand pada tahun 1961 dan di Amerika Serikat pada tahun 1962. Dari kedua peristiwa ini, resistensi diketahui meluas ke seluruh dunia. Di Indonesia, pertama kali ditemukan resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin di daerah Kalimantan Timur pada tahun 1974 dan resistensi ini terus meluas. Pada tahun 1996, kasus-kasus malaria tidak hanya resisten terhadap

klorokuin saja, tetapi juga terjadi resistensi terhadap sulfadoksin-primetamin, kina, amodiakuin, meflokuin, dan halofantrin (Harijanto, 2009; DEPKES, 1995). Penyebab utama resistensi adalah terdapat mutasi pada gen-gen dari *Plasmodium* (Wellems *et al.*, 2001).

Dihidofolat reduktase (DHFR) adalah enzim penting dalam pertumbuhan sel karena tanpa enzim ini pertumbuhan sel akan terhambat. Enzim DHFR digunakan sebagai enzim target karena merupakan prekursor penting dalam perkembangan penyakit yang melibatkan pertumbuhan sel seperti malaria, HIV, kanker, dan lain – lain. Asam folat direduksi menjadi asam tetrahidrofolat oleh enzim DHFR. Inhibitor DHFR bekerja menghambat sintesis asam tetrahidrofolat sehingga menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* (Syamsudin, 2005). Oleh karena itu, inhibitor enzim DHFR digunakan untuk senyawa antimalaria, antikanker, dan antibakteri (Alam, 2011). Akan tetapi, enzim DHFR dianggap kurang selektif karena terdapat pada sel manusia dan pada *Plasmodium* yang mengakibatkan senyawa antimalaria yang dihasilkan dapat menyerang dan merusak sel normal pada manusia yakni sel yang tidak terinfeksi *Plasmodium*. Selain itu, ditemukan resistensi terhadap inhibitor DHFR yang dihasilkan dari mutasi spesifik dari gen *dhfr* dalam DHFR. Parasit malaria yang terus mengembangkan resistensi terhadap obat baru yang dikembangkan menyebabkan keprihatinan yang besar dan memaksa peneliti untuk menemukan terapi serta obat baru yang sesuai.

Pada *Plasmodium falciparum* terdapat jalur respirasi pada apikoplas yang sangat penting bagi kelangsungan hidup parasit tersebut. Pada umumnya,

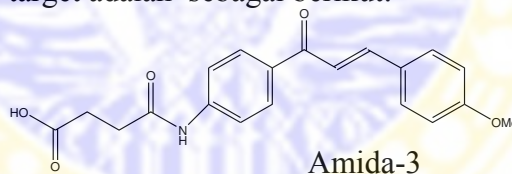
apikoplas mengandung feredoksin (Fd) dan enzim feredoksin NADP<sup>+</sup> reduktase (FNR). Pada proses respirasi, terjadi transfer elektron dari *PfFNR* menuju Fd. Interaksi *PfFNR-PfFd* adalah interaksi intermolekular elektrostatik antara residu basa pada asam amino *PfFNR* dan residu asam pada asam amino *PfFd*. Hal ini telah dianggap sebagai sasaran potensial untuk pengembangan obat antimalaria baru (Mario *et al.*, 2007). Oleh karena itu, dibutuhkan *small molecule* yang berfungsi sebagai inhibitor *PfFNR*. Inhibisi terhadap interaksi *PfFNR-PfFd* menggunakan *small molecule* diharapkan menjadi alternatif pengembangan obat antimalaria baru. Selain itu, inhibisi ini dianggap lebih selektif dibandingkan inhibisi enzim DHFR sebagai obat malaria sebelumnya. Hal ini disebabkan kompleks *PfFNR-PfFd* ini hanya terdapat pada apikoplas dari apikompleksan parasitnya saja yakni *Plasmodium falciparum* (Balconi *et al.*, 2009) sehingga sel inang yang tidak terinfeksi tidak terkena dampak proses inhibisi ini. Belum ditemukan adanya penelitian mengenai struktur dan sintesis senyawa antimalaria yang digunakan dalam proses inhibisi *PfFNR-PfFd* menjadi hal yang menarik dalam penelitian ini.

Senyawa calkon menjadi perhatian para peneliti terutama karena aktivitas biologisnya yang beragam. Calkon dilaporkan memiliki keaktifan biologis sebagai antifungi, antikanker dan antimalaria (Liu *et al.*, 2001). Berdasarkan hal tersebut, senyawa calkon berpotensi sebagai inhibitor *PfFNR*. Senyawa calkon yang diperoleh dari tumbuhan jumlahnya terbatas apabila dibandingkan dengan senyawa flavanoid lain seperti flavon atau flavanol yang banyak ditemukan pada pigmen kuning pada tumbuhan. Selain itu, variasi strukturnya sedikit serta

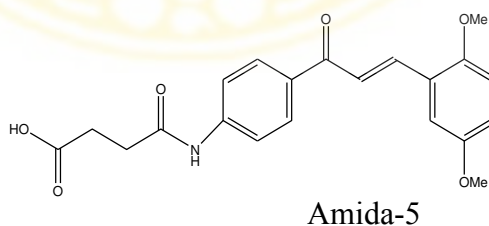
memerlukan biaya yang mahal untuk memperolehnya dari proses isolasi tumbuhan. Oleh karena itu, sintesis senyawa di laboratorium dianggap cara yang tepat dan efisien untuk memperoleh senyawa tersebut. Sintesis senyawa kalkon dapat menggunakan beberapa metode, antara lain kondensasi aldol menggunakan katalis basa. Reaksi ini seringkali digunakan karena dikenal ramah lingkungan, reaksinya yang sederhana serta bahan baku mudah didapatkan (Yuharmen *et al.*, 2011).

Menurut penelitian Suwito *et al* (2014), telah berhasil mensintesis 17 senyawa turunan amina kalkon sebagai molekul target yang semua telah dikarakterisasi secara spektroskopi. Gugus amino sebagai donor elektron yang terdapat dalam molekul target dirancang untuk berinteraksi dengan *PfFd*. Gugus amino yang bersifat basa diasumsikan membentuk interaksi elektrostatik dengan residu asam pada asam amino *PfFd* sehingga menghilangkan interaksi elektrostatik *PfFNR-PfFd*. Nilai inhibisi tertinggi transfer elektron dari *PfFNR* ke *PfFd* sebesar 50 % pada senyawa 1-(4-aminofenil)-3-(4-metoksifenil)-prop-2-en-1-on dianggap kurang efektif. Selain itu, dari hasil analisis *docking* diperoleh asumsi bahwa gugus amino lebih menginhibisi aliran elektron dari *PfFNR*. Gugus tersebut lebih melakukan interaksi elektrostatik dengan gugus karboksil residu asam aktif dari asam amino *PfFNR* bukan pada residu asam dari asam amino *PfFd*. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan modifikasi struktur molekul pada turunan kalkon tersebut sehingga diharapkan dapat menaikkan prosentase inhibisinya. Pada penelitian ini telah disintesis senyawa turunan amida kalkon yang memiliki gugus metoksi dan gugus karboksilat.

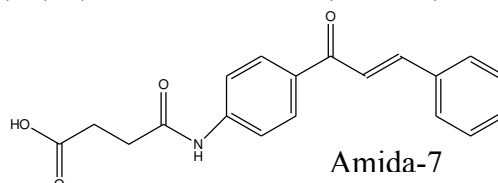
Suksinat anhidrat adalah turunan asam karboksilat yang lebih reaktif daripada asam suksinat dan dapat digunakan untuk mensintesis suatu keton, ester dan amida. Apabila suksinat anhidrat direaksikan dengan suatu amina maka menghasilkan suatu amida dan asam karboksilat. Gugus karboksil ini diharapkan dapat membentuk interaksi elektrostatis dengan residu asam amino basa dari *PfFNR* (Suwito *et al.*, 2014). Selain itu, penambahan suksinat anhidrat menyebabkan perpanjangan rantai pada molekul target. Pada perpanjangan rantai tersebut terdapat dua buah atom karbon yang tidak memiliki ikatan rangkap sehingga tidak membentuk ikatan rangkap terkonjugasi. Hal ini menyebabkan aliran elektron terhenti. Jika molekul target berinteraksi dengan residu asam amino basa *PfFNR*, maka tidak terjadi transfer elektron dari *PfFNR* ke *PfFd* yang menyebabkan proses respirasi terhenti sehingga *Plasmodium falciparum* akan mati. Struktur molekul target adalah sebagai berikut:



Gambar 1.1 asam 4-(4-(3-(4-metoksi-fenil)akriloil)amino-fenil)-4-oksobutanoat

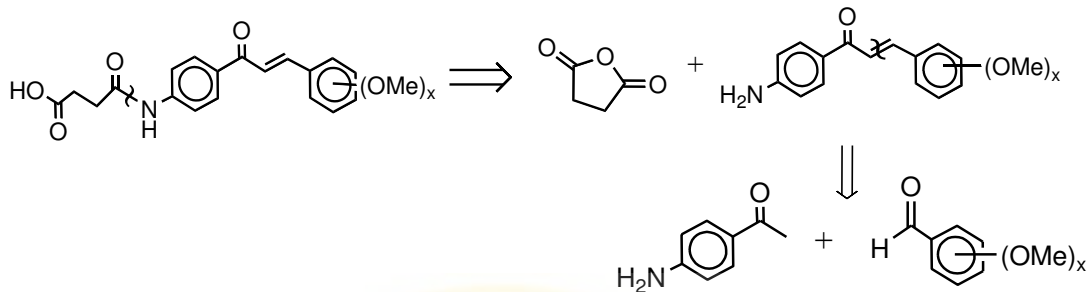


Gambar 1.2 asam 4-(4-(3-(2,5-dimetoksi-fenil)akriloil)fenil-amino)-4-oksobutanoat



Gambar 1.3 asam 4-(4-sinamoil-fenil-amino)-4-oksobutanoat

Untuk mensintesis molekul target tersebut, maka dilakukan analisis retrosintesis sebagai berikut:



Gambar 1.4 Retrosintesis senyawa turunan amida calkon

Pada penelitian ini telah disintesis beberapa senyawa turunan calkon yaitu asam 4-(4-(3-(4-metoksi-fenil)akriloil)amino-fenil)-4-oksobutanoat, asam 4-(4-(3-(2,5-dimetoksi-fenil)akriloil)amino-fenil)-4-oksobutanoat dan asam 4-(4-sinamoil-fenil-amino)-4-oksobutanoat. Belum adanya senyawa turunan amida calkon sebagai inhibitor *PfFNR* menjadi hal yang menarik dalam penelitian ini.

Senyawa turunan amida calkon ini, kemudian diuji aktivitasnya sebagai inhibitor *PfFNR* dengan analisis *docking in silico* menggunakan program *AutoDock4*. *Docking* bertujuan untuk mengetahui interaksi dua struktur molekular atau lebih. Pada penelitian ini, interaksi yang diamati adalah enzim *PfFNR* dan ketiga senyawa target molekular. Metode *docking* yang dilakukan adalah *virtual screening* (penapisan virtual). Tujuannya yakni mengurangi secara signifikan jumlah senyawa kimia yang disintesis sehingga jumlah senyawa untuk diuji aktivitas biologisnya juga akan berkurang. Selain itu, metode ini berguna memberikan pengetahuan awal tentang jenis ikatan senyawa molekular target sebagai ligan dengan makromolekul tertentu (Klebe, 2005).

Selain itu, digunakan pula program lainnya seperti *Autodock Tools* dan *PyMol*. Program – program ini membantu menganalisis interaksi ligan dengan sisi aktif enzim serta menunjukkan nilai energi ikat antara senyawa turunan calkon (sebagai ligan) dan enzim *PfFNR*. Urutan asam amino enzim *PfFNR* yang digunakan dalam *docking* diperoleh dari PDB (*Protein Data Bank*) dengan nomor akses 2OK7. Berdasarkan hasil analisis diperoleh kandidat struktur senyawa turunan amida calkon yang terbaik sebagai inhibitor *PfFNR*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah molekul target senyawa turunan amida calkon dapat disintesis menggunakan reaksi Claisen-Schmidt dan reaksi amidasi?
2. Bagaimanakah interaksi sisi aktif enzim *PfFNR* dengan senyawa yang telah disintesis dengan menggunakan metode *docking in silico*?
3. Struktur senyawa turunan amida calkon mana yang terbaik sebagai inhibitor *PfFNR*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mensistesis molekul target senyawa turunan calkon menggunakan reaksi Claisen-Schmidt dan reaksi amidasi.
2. Mengetahui interaksi sisi aktif enzim *PfFNR* dengan senyawa yang telah disintesis dengan menggunakan metode *docking in silico*.
3. Mengetahui struktur terbaik dari senyawa turunan amida calkon sebagai inhibitor *PfFNR*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Penelitian molekul target senyawa turunan calkon diharapkan dapat memberikan alternatif terhadap pengembangan senyawa sehingga dapat membantu mengatasi masalah resistensi terhadap obat antimalaria yang telah ada sebelumnya.

