

UJI AKTIVITAS ANTAGONISME SENYAWA 1-(2,5-DIHIDROKSIFENIL)-(3-PIRIDIN-2-IL)-PROPENON PADA RESEPTOR ACh-M₃ ILEUM MARMUT TERISOLASI : STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

ANTAGONISM ACTIVITY TEST OF 1-(2,5-DIHYDROXYPHENYL)-(3-PYRIDIN-2-IL)-PROPENONE COMPOUNDS ON ACh-M₃ RECEPTOR ISOLATED GUINEA PIG ILEUM: IN VITRO AND IN SILICO

Annisa Rizky Setiyani

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

annisars402@gmail.com

ABSTRACT

1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone is synthesized from 2,5-dihydroxy acetophenone and pyridine-2-karbaldehid with *microwave* radiation method (K₂CO₃ catalyst). These compound include alkaloids. One of the alkaloids can be used as antispasmodic, anticholinergics, antiasthmatic and midriatic. This research aimed to study the effect of the 1-(2,5-dihydroksifenil)-(3-pyridine-2-yl)-propenon as an anticholinergic.

In this study conducted *in vitro* and *in silico* test (Autodock 4.2). To determine the effect of 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone to the contraction of smooth muscles of guinea pigs isolated ileum induced agonist acetylcholine (ACh), 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone given at a dose of 10 μM and 20 μM. While for agonist provided with a series of 10⁻¹⁰ - 3X10⁻⁴ M. *In vitro* tests have also examined the type of antagonism of the 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone and nature reversibility of the receptor.

The results showed that 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone able to inhibit contractions of guinea pig ileum smooth muscle that induced by acetylcholine. In the ACh-M₃ receptor, 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone at concentration 10 and 20 μM was able to shift pD₂ significantly (p<0,05). The pD₂ value of control group, 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone 10 and 20 μM were 6.66; 6.05; 5.28 respectively. Schild-plot analysis showed that 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone is a competitive antagonist (slope: 0,8712, pA₂: 1,728). In the reversibility study at all receptors, the results showed that 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone have not totally dissociated after washing period. The washing period was done every 5 minutes during 30 minutes. In the *in silico* study, 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone can

bind to ACh-M₃ receptor (*docking* score: -7.35). 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone's binding energy to the ACh-M₃ receptor is also weaker than *native* ligand's (tiotropium, *docking* score: -9.49) binding energy. The conclusion of this research is, 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone has competitive antagonist activity on the ACh-M₃ receptors with doses of 10 μM and 20 μM.

Keywords: 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone, Ach-M₃ receptor, Competitive antagonists, isolated guinea pig ileum.

ABSTRAK

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah hasil sintesis dari 2,5-dihidroksi asetofenon dan piridin-2-karbaldehid dengan metode radiasi *microwave* (katalis K₂CO₃). Senyawa ini termasuk senyawa alkaloid. Salah satu golongan alkaloid dapat digunakan sebagai antispasmodik, antikolinergik, antiasma dan midriatik. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon sebagai antikolinergik.

Pada penelitian ini dilakukan uji *in vitro* dan uji *in silico* (program *Autodock 4.2*). Untuk mengetahui pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi agonis asetilkolin (ACh), senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon diberikan dengan dosis 10 μM dan 20 μM. Sementara agonisnya diberikan dengan seri kadar 10⁻¹⁰ - 3X10⁻⁴ M. Pada uji *in vitro* ini juga akan dipelajari tipe antagonisme dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan sifat reversibilitasnya pada reseptor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon mampu menghambat kontraksi otot polos ileum terisolasi yang diinduksi asetilkolin (ACh). Pada reseptor ACh -M₃ terjadi pergeseran nilai pD₂ yang signifikan (p<0,05) pada kelompok senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 μM. Nilai pD₂ kelompok kontrol, senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 μM berturut-turut adalah 6,66; 6,05; 5,28. Dari hasil analisis Schild-plot diketahui tipe antagonismenya bersifat kompetitif (*slope*: 0,8712, pA₂:1,728). Dari uji reversibilitas, diketahui bahwa dengan pencucian organ ileum menggunakan *buffer tyrode* setiap 5 menit selama 30 menit, ikatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon belum terlepas secara sempurna. Pada uji *in silico* senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon juga diketahui dapat terikat pada reseptor reseptor ACh-M₃ (skor *docking*: -7,35). Ikatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ke reseptor ACh-M₃ tersebut bersifat lebih lemah jika dibandingkan dengan *native* ligannya (tiotropium, skor *docking*: -9,49). Kesimpulan dari penelitian ini adalah senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki aktivitas antagonis kompetitif pada reseptor ACh M₃ dengan dosis 10 μM dan 20 μM.

Kata kunci: Antagonis kompetitif, ileum marmut terisolasi, reseptor Ach-M₃, senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.

PENDAHULUAN

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah senyawa hasil sintesis dari 2,5-dihidroksi asetofenon dan piridin-2-karbaldehid menggunakan metode radiasi *microwave* menggunakan katalis K_2CO_3 (Wibowo, A.E, 2013). Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon termasuk senyawa alkaloid. Alkaloid terdistribusi secara luas pada tanaman. Diperkirakan sekitar 15-20% tanaman mengandung alkaloid.

Alkaloid digolongkan berdasarkan struktur kimianya. Salah satu golongan alkaloid dapat digunakan sebagai antispasmodik, antikolinergik, antiasma dan midriatik. Penelitian ini akan menguji aktivitas farmakologi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon sebagai antikolinergik.

Kejang otot disebabkan oleh beberapa hal, tergantung pada faktor-faktor predisposisi tertentu dan daerah anatomi keterlibatan. Spasme sering digunakan untuk menunjukkan kontraksi otot yang muncul tiba-tiba dan tanpa sadar. Terdapat tiga jenis otot pada tubuh manusia, yakni otot lurik, otot jantung dan, otot polos. Otot polos terletak di dinding struktur internal berongga dalam tubuh, seperti arteri, usus, kandung kemih, dan iris mata. Otot-otot ini dikendalikan oleh bagian bawah sadar otak kita menggunakan fungsi sistem saraf otonom. Ketika struktur berongga berisi udara atau cairan ditekan oleh kejang otot, nyeri yang signifikan dapat terjadi karena cairan atau udara tidak dapat dikompresi. Contohnya pada otot polos dinding usus dapat menjadi kejang, menyebabkan gelombang rasa sakit yang disebut kolik.

Penelitian ini memfokuskan pada uji farmakodinamik interaksi senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon dengan reseptor ACh-M₃. Uji farmakodinamik bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu senyawa terhadap kontraksi dan relaksasi otot polos ileum, dan selektifitasnya terhadap reseptor ACh-M₃. Penelitian ini menggunakan dua metode, yaitu metode *in vitro* (dengan metode organ ileum terisolasi) dan metode *in silico* (*Autodock 4.2*). Adapun hewan uji yang bisa digunakan sebagai model uji salah satunya adalah marmut. Reseptor ACh-M₃ adalah reseptor yang terlibat dalam mekanisme fisiologis kontraksi dan relaksasi organ ileum. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang aktivitas farmakodinamik senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon pada reseptor ACh-M₃ dengan menggunakan metode ileum terisolasi. Dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan data-data ilmiah, sehingga diperoleh informasi farmakodinamik yang lebih lengkap.

BAHAN DAN CARA

Penelitian dilaksanakan selama satu bulan di Laboratorium Penelitian Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Laboratorium hewan uji Fakultas kedokteran Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Laboratorium teknologi farmasi Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Alat penelitian yang digunakan diantaranya adalah satu set alat untuk preparasi organ; *Vortex*; Pengaduk magnet termostat tipe 1419; *Transduser isotonic*; Rekorder; Dua set organ *bath* volume 20 mL, *bridge amplifier* tipe 336;

Pipet mikro 20 μ L, 200 μ L, 100 μ L, dan 1000 μ L. penelitian yang digunakan diantaranya adalah Senyawa 1(2-5 dihidroksifenil)-(3-piridin -2-il)) propenon, marmut jantan, berat badan antara 400 – 500 gram, *Buffer tyrode* , Gas karbogen (95% oksigen dan 5% karbondioksida) , Agonis reseptor fisiologis (Asetilkolin (ACh)), Akuades

Uji pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). Waktu yang tepat untuk melakukan uji pengaruh DMSO adalah setelah pengenalan agonis reseptor. Ileum dicuci selama 45 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima belas menit. Jumlah DMSO yang diberikan adalah sebanyak 100 μ L dan kemudian dilanjutkan dengan pemberian seri konsentrasi agonis. Kemudian dibandingkan antara kurva hubungan konsentrasi agonis terhadap % respon sebelum dan sesudah perlakuan DMSO.

Uji aktivitas atropin terhadap agonis reseptor fisiologis (Asetilkolin). Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah metode yang digunakan *valid*, sesuai dengan teori bahwa dengan metode ini atropin menunjukkan aktivitas sebagai antikolinergik khususnya pada ileum (antispasmodik). Pengukuran kontraksi dilakukan secara bertingkat dengan pemberian seri konsentrasi agonis. Organ *bath* diisi dengan 20,0 mL larutan *buffer tyrode*, kemudian organ direndam dalam organ *bath* tersebut dan dilakukan ekuilibrisasi sampai diperoleh kondisi stabil (30 menit). Selanjutnya, dilakukan pemberian agonis ke dalam organ *bath* dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder (kertas *polygraph*).

Pemberian agonis dilakukan sampai dicapai kontraksi maksimum (100%). Pengukuran kontraksi dilakukan dua kali, dimana antara pengukuran pertama dan

kedua dilakukan pencucian organ selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima menit. Pada kontraksi kedua, setelah dilakukan pencucian organ dan kondisi organ telah stabil, dilakukan pemberian atropin konsentrasi 10 dan 50 μM . Selanjutnya, diberikan agonis ke dalam organ *bath* dengan konsentrasi bertingkat dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder. Kurva hubungan konsentrasi dan % respon kontraksi agonis dengan atau tanpa pengaruh atropin yang terjadi kemudian dibandingkan.

Uji aktivitas senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon terhadap agonis reseptor fisiologis (Asetilkolin). Uji ini dilakukan untuk mengukur kontraksi ileum marmut dengan alat organ terisolasi setelah pengenalan agonis reseptor. Pengukuran kontraksi dilakukan secara bertingkat dengan pemberian seri konsentrasi agonis. Organ *bath* diisi dengan 20,0 mL larutan *buffer tyrode*, kemudian organ direndam dalam organ *bath* tersebut dan dilakukan ekuilibrase sampai diperoleh kondisi stabil (30 menit). Selanjutnya, dilakukan pemberian agonis ke dalam organ *bath* dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder (kertas *polygraph*).

Pemberian agonis dilakukan sampai dicapai kontraksi maksimum (100%). Pengukuran kontraksi dilakukan dua kali, dimana antara pengukuran pertama dan kedua dilakukan pencucian organ selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima menit. Pada kontraksi kedua, setelah dilakukan pencucian organ dan kondisi organ telah stabil, dilakukan pemberian senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon konsentrasi 10 dan 20 μM . Selanjutnya, diberikan agonis ke dalam organ *bath* dengan konsentrasi bertingkat

dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder. Kurva hubungan konsentrasi dan % respon kontraksi agonis dengan atau tanpa pengaruh senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon yang terjadi kemudian dibandingkan.

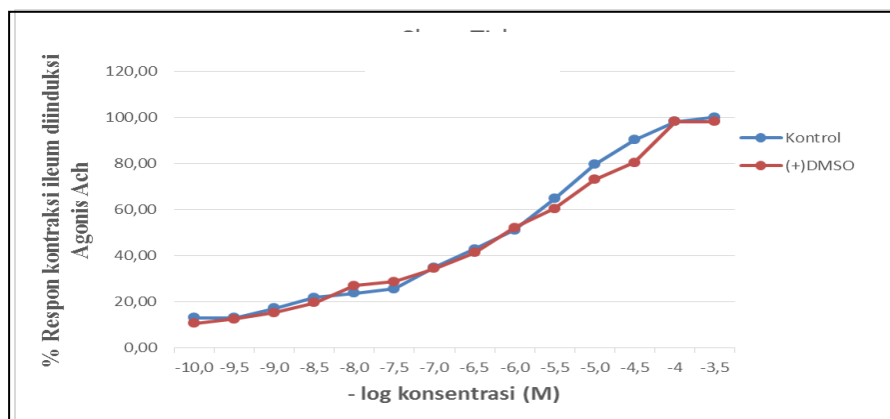
Uji Reversibilitas. Uji reversibilitas dilakukan untuk melihat kemampuan organ untuk kembali pada kondisi semula, atau pada kondisi sebelum dilakukannya pengenalan agonis reseptor. Uji reversibilitas terhadap ileum dilakukan setelah kontraksi dan pencucian organ akibat pemberian agonis dan senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon. Ileum dicuci selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima menit. Setelah ileum mencapai kondisi stabil, dilakukan pengukuran kontraksi kembali karena pemberian agonis reseptor dengan konsentrasi yang sama dengan pengukuran kontraksi pengenalan agonis reseptor. Kurva hubungan konsentrasi agonis reseptor yang dihasilkan kemudian dibandingkan antara pengukuran pertama dan kedua.

Docking molekuler senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon pada reseptor ACh-M₃. Uji komputasi dilakukan dengan tiga tahap. Tahap pertama adalah preparasi protein (reseptor ACh-M₃). Preparasi protein dilakukan menggunakan Autodock 4.2. Pada tahap ini dilakukan eliminasi molekul air dan ligan referens serta penambahan atom hidrogen. Tahap kedua adalah penyiapan ligan(tiotropium, senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon, atropin). Penyiapan ligan dilakukan menggunakan Marvin Sketch. Ligan dibangun secara manual, kemudian diminimalisasi energinya untuk mencari

1 konformasi senyawa terbaik. Tahap ketiga adalah molecular docking. Docking dilakukan dengan menggunakan software Autodock 4.2 Proses docking dilakukan antara Target (protein 4DAJ (reseptor AChM3)) dengan tiotropium, senyawa, atropine Molecular docking dilakukan untuk memprediksi kemampuan ligan untuk berikatan dengan AChM3 dan memprediksi kekuatan ikatan yang terjadi antara ligan dan AChM3. Penghambatan molekul AChM3 oleh senyawa menghasilkan respon biologis berupa Antikolinergik yang dapat diprediksi melalui skor yang didapatkan dari hasil docking. Skor merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan ligan uji terhadap reseptor. Semakin stabil interaksi ligan-protein dicerminkan dengan semakin rendahnya skor (minus). Tahap keempat dilakukan dengan melihat *score docking*

HASIL

Pada uji pembandingan DMSO terjadi sedikit pergeseran kurva hubungan seri konsentrasi asetilkolin (ACh) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum pada pemberian DMSO. Pemberian DMSO juga menurunkan nilai rata-rata pD₂ asetilkolin (ACh) dari 6,12 menjadi 6,09. Walaupun demikian, berdasarkan uji t berpasangan (n=5) penurunan nilai pD₂ asetilkolin (ACh), tersebut tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$), sehingga disimpulkan pelarut DMSO 100 μ L tidak mempengaruhi kontraksi otot polos ileum yang diinduksi oleh asetilkolin (ACh).



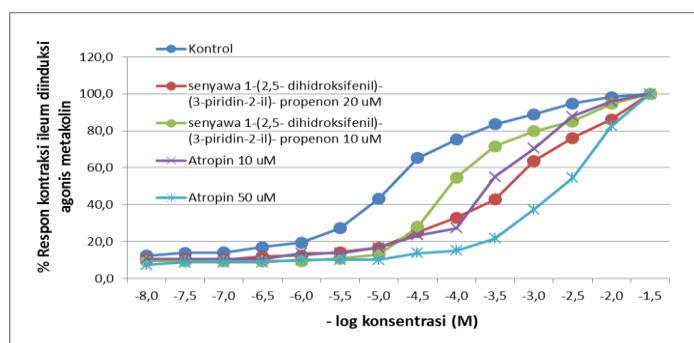
Gambar 1. Pengaruh DMSO terhadap respon kontraksi otot polos ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh). Kurva hubungan konsentrasi asetilkolin (ACh) terhadap respon kontraksi otot polos ileum, dengan atau tanpa pengaruh DMSO 100 μ L (n=5, rata-rata \pm SEM)

Tabel 1. nilai rata-rata pD2 Asetilkolin (ACh) karena pengaruh DMSO 100 μ L (n=5, rata-rata \pm SEM). Berdasarkan uji t berpasangan, tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p > 0,05$) antara pD2 kontrol dan DMSO

No	Kelompok perlakuan	pD2	Emax(%)
1	Kontrol	6,09 \pm 0,03	100 \pm 0,00%
2	DMSO 100 μ L	6,12 \pm 0,03	100 \pm 0,00%

Selanjutnya adalah perbandingan senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon dengan atropin, uji pengaruh atropin (10 dan 50 μ M) serta senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon (10 dan 20 μ M) mampu menggeser kurva hubungan konsentrasi agonis dengan % respon kontraksi ke kanan. Pergeseran kurva hubungan seri konsentrasi asetilkolin (ACh) terhadap rata-rata % respon kontraksi otot polos ileum terangkum pada gambar 2. Berdasarkan uji ANOVA, penurunan nilai pD2 kelompok atropin (10 dan 50 μ M) serta senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon (10 dan 20 μ M) bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Data penurunan nilai pD2 tersebut tersaji pada tabel 2. Penurunan nilai pD2 ini menunjukkan bahwa

atropin (10 dan 50 μM) serta senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon (10 dan 20 μM) memiliki aktivitas antagonisme pada reseptor ACh- M_3 .



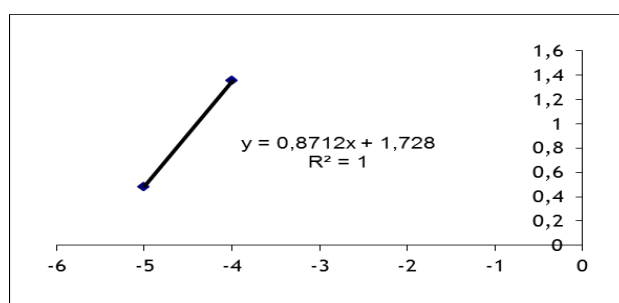
Gambar 2. Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (ACh) (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian atropin(10 dan 50 μM) serta Perbandingan senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon(10 dan 20 μM). Persentase respon kontraksi 100 % diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi asetilkolin (ACh) (kontrol). Persentase respon kontraksi disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM (n = 6 – 12)

Tabel 2. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) karena pengaruh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 dan 20 μM . nilai pD2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM (n = 6 – 12). (*) menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap nilai pD2 asetilkolin (ACh)/kontrol, setelah diuji dengan ANOVA satu jalan, dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf kepercayaan 95 %

No	Kelompok Perlakuan	pD2	Emax (%)
1	Kontrol Asetilkolin	$6,66 \pm 0,16$	$100 \pm 0,00$
2	Atropin 10 μM	$5,56 \pm 0,13^*$	$100 \pm 0,00$
3	Atropin 50 μM	$4,71 \pm 0,15^*$	$100 \pm 0,00$
4	Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon 10 μM	$6,05 \pm 0,17^*$	$100 \pm 0,00$
5	Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon 20 μM	$5,28 \pm 0,21^*$	$100 \pm 0,00$

Penetapan tipe antagonisme senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dapat dilakukan dengan analisis Schild-Plot (gambar 3). Dari analisis ini didapatkan persamaan Schild-Plot $y = 0,8712x + 1,728$. Nilai slope dari persamaan

Schild-Plot (0,8712) nilainya mendekati angka 1,00, sehingga diketahui aktivitas antagonisme senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon pada reseptor ACh-M₃ bersifat kompetitif. Nilai pA₂ senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon sebagai antagonis kompetitif dapat ditentukan dari nilai intersep persamaan Schild-plot, yaitu sebesar 1,728



Gambar 3. Kurva Schild-Plot perhitungan parameter antagonis (pA₂) senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon terhadap reseptor ACh-M₃.

Selanjutnya adalah uji molecular docking. Uji ini bertujuan untuk melihat perbandingan kekuatan ikatan masing-masing ligan terhadap reseptor ACh-M₃ dengan membandingkan skor *docking*.

Tabel 3. Skor *docking* senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon dan beberapa antagonis reseptor ACh-M₃.

No Ligan	Keterangan	Energi ikatan ligan pada reseptor ACh-M ₃
1	Asetilkolin	Agonis ACh-M ₃ -2,44
2	Senyawa 1-(2,5 dihidroksifenil)-(3-piridin 2-il) propenon	Senyawa uji -7,35
3	Tiotropium	<i>Native</i> ligand -9,49
4	Atropin	Antagonis ACh-M ₃ -5,36

DISKUSI

Sebagai uji pendahuluan dilakukan uji pengaruh DMSO terhadap kontraksi otot polos ileum yang diinduksi oleh asetilkolin (ACh). Uji pengaruh DMSO ini bertujuan untuk menjamin bahwa pengaruh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-

2-il)- propenon terhadap kontraksi otot polos ileum hanya disebabkan oleh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon saja. Dari hasil penelitian diketahui pemberian DMSO 100 μ L tidak mempengaruhi kontraksi otot polos ileum yang diinduksi oleh asetilkolin (ACh).

Uji yang kedua adalah uji pembanding. Uji pembanding ini bertujuan untuk mengetahui apakah metode yang digunakan *valid*, sesuai dengan teori bahwa dengan metode ini atropin menunjukkan aktivitas sebagai antikolinergik khususnya pada ileum (antispasmodik). Apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol, Penurunan nilai pD₂ kelompok Atropin 10 μ M dan Atropin 50 μ M bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Penurunan nilai pD₂ ini menunjukkan bahwa atropin memiliki aktivitas antagonisme pada reseptor ACh-M₃ dan metode yang digunakan *valid*.

Selanjutnya adalah uji pengaruh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon terhadap reseptor ACh-M₃ otot polos ileum. Penurunan nilai pD₂ kelompok senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon 10 μ M dan 20 μ M bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Hal ini memperlihatkan bahwa kadar 10 μ M dan 20 μ M merupakan kadar efektif senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon sebagai antagonis Ach-M₃. Dari kedua kadar efektif ini dipilih satu kadar yang memiliki aktivitas paling poten. Semakin kecil nilai EC₅₀ maka semakin poten suatu senyawa. Sehingga dosis optimal yang dipilih adalah 20 μ M.

Penetapan tipe antagonism senyawa uji dapat diketahui dengan analisis Schild-Plot. Nilai *slope* kurva Schild-Plot yang dihasilkan pada penelitian ini mendekati angka satu (0,8712). Dari kurva Schild-Plot ini juga diperoleh nilai pA₂ sebesar 1,728. Hal ini menunjukkan afinitas senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor ACh-M₃ bersifat relatif lemah.

Selanjutnya untuk mengetahui secara lebih dalam mengenai kekuatan ikatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada reseptor ACh-M₃, penelitian ini dilanjutkan dengan *docking* menggunakan program Autodock 4.2. Pada tahapan *docking* senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ke reseptor ACh-M₃ diperoleh skor *docking* sebesar -7,35. Skor *docking* ini berada dibawah skor *native* ligand. Sehingga diketahui ikatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dengan reseptor ACh -M₃ bersifat lebih lemah jika dibandingkan dengan tiotropium.

SIMPULAN

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon memiliki aktivitas sebagai antagonis kompetitif terhadap reseptor ACh-M₃ (pA₂ = 1,728). Dengan dosis optimal 20 µM. Berdasarkan uji *in silico*, senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon diketahui dapat terikat pada reseptor reseptor ACh-M₃ (skor *docking*: -7,35) namun ikatannya lebih lemah dibanding *native* ligannya (tiotropium, skor *docking*: -9,49).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986, Mid Career Training in Pharmacology, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Arsito, P.N, 2013, Pengaruh Marmin (Senyawa Aktif Aegle Marmelos Correa.) Terhadap Beberapa Reseptor Fisiologis Otot Polos Ileum Marmut Terisolasi: Studi *In Vitro* Dan *In Silico*, Universitas Gajah Mada.
- George, F. 2012. *Small Intestine*. Departement of Gastroenterology. San Diego, California
- Jancovic, S., Milovanovic D., Matovic M., Iric-Cupic V. The effect of excitatory amino acids on isolated gut segments of the rat. *Pharmacol. Res.* 1999;39;143-148.
- Jensen, F., 2007, *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Inggris.
- Lullmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. dan Bieger, D., 2000, *Color Atlas of Pharmacology*, Second Edition., Thieme, New York.

- Mak and Barnes., 1990, Autoradiographic Visualization of Muscarinic Receptor Subtype in Human and Guinea-pig Lung, *Am. Rev. Respir. Dis*, **141**(6) : 1559-1568
- Moitessier, N., Englebiene,P., D., Lawandi, J., Corbeil, C.R., 2008. Towards the Development of universal, Fast, and Highly Accurate *Docking/ Scoring* Methods: A Long Way to Go, *Br. J. Pharmacol.*, 153, 7-26.
- Nerya, O., Musa, R., Khatib S., Tamir S. AND Vaya, 2004, Chalcones as potent Typosinase Inhibitors: The Effect of Hydroxyl Positions and Numbers, *Phytochemistry*, 65: 1389-2395
- Patil, S.B., *et al.* 2009. *Review on Phytochemistry and Pharmacological Aspect of Euphorbia hirta Linn.* Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care (JPRHC) Vol.1.
- Quigley EMM Keohane J. Dyspepsia. *Curr Opin Gastroenterol.* 2006; 24:692-7
- Rahman, M.A., 2011, Chalcone: A Valuable Insight into the recent advances and potential pharmacological Activities, *ChemicalScience Journal*, 1-16
- Rosenfeld, R.J., 2003. Automated Docking of Ligands to An Artificial Active Site: Augmenting Crystallographic Analysis with Computer Modeling, *J. Comput. Aided. Mol.*, **17**, 525-536
- Sonar, S. Renz, H., 2009, *Biology of Neurothropins, Neuropeptides, and Muscarinic Receptors in Asthma*, in *Allergy Frontiers: Clasiffication and Pathomecanism*, vol. 2, 469-491, Springer, Tokyo., 2009
- Srivastava, Y.K., 2006, Ecofriendly microwave assisted synthesis of some Chalconses, *Rasyan Journal Chemistry*, 1, 884-886.
- Tafsir An-Nahl ayat-1-13 .(2015). Tafsir Al-Quran Al-Karim. Retrieved 5 19, 2015, from www.tafsir.web.id
- Wessler, I.K. and Kirkpatrick, C.J., 2001, The Non-neuronal Cholinergic System: an Emerging Drug Target in the Airways, *Pulm Pharmacol Ther*, 14(6): 423-434
- Wibowo, A.E, 2013, Sintesis Dan Uji Aktifitas Antiinflamasi Senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon, Universitas Gajah Mada.
- Yamada, Y., Nakatani, N. and Fuwa, H., 1987, Epoxyaurapten and marmin from juice oil in hassaku (citrus hassaku) and the spasmolytic activity of 7 Geranyloxy coumarin-related compounds, *Agric.biol. Chem*, 51(4): 1105-1110.

