

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*



Disusun oleh

ANNISA RIZKY SETIYANI

20120350039

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

2016

HALAMAN PENGESAHAN
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*

Disusun oleh:
ANNISA RIZKY SETIYANI
20120350039

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing

Puguh Novi Arsito, M.Sc., Apt
NIK: 19861107201310 173 224

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji 2

Indra Putra Taufani, MSc., Apt
NIK: 19830122201504173238

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.
NIK:19870227201210 173 188

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt
NIK:19730223201310173127

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Annisa Rizky Setiyani

NIM : 20120350039

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantum dalam daftar pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan karya tulis ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 28 april 2016
Yang membuat pernyataan

Annisa Rizky Setiyani
NIM: 20120350039

MOTTO

Jadikanlah sabar dan shalatmu sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang bersabar

(Q.S Al-Baqarah: 153)

Barangsiapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhannya itu adalah untuk dirinya sendiri

(Q.S Al-ankabut: 6)

Orang berilmu lebih utama daripada orang yang selalu berpuasa, shalat, dan berjihad. Karena jika mati orang berilmu. Maka terdapat kekosongan dalam islam yang tidak dapat ditutup selain oleh penggantinya yaitu orang berilmu juga

(Umar bin Khattab)

Kebanggaan yang terbesar adalah bukan tidak pernah gagal, tetapi bangkit kembali setiap kali terjatuh

(Muhammad Ali)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk:

Allah SWT, Rabb semesta alam

Panutanku Nabi Muhammad SAW, sholawat dan salam selalu tercurahkan
untuknya

Papa dan Mama tercinta

Listiyono & Nurjanah

Adik-adikku tersayang

Iqbal AS, Osama RS & Salsabila AS

Sahabat-sahabat terbaikku

Yang senantiasa memberikan kasih sayang, motivasi, doa, serta segenap
peengorbanan selama ini

Seluruh keluarga besarku

Dosen dan rekan sejawat

Almamater sebagai identitas dan kebanggaanku

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT karena dengan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal karya ilmiah yang berjudul “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*”. Meskipun banyak hambatan dan revisi yang penulis alami dalam proses pengerjaannya, tapi penulis tetap semangat dan berhasil menyelesaikan proposal karya ilmiah ini tepat pada waktunya. Tidak lupa penulis sampaikan terimakasih kepada dosen pembimbing yang telah membantu dan membimbing dalam mengerjakan proposal karya ilmiah ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang sudah memberi kontribusi baik langsung maupun tidak langsung dalam pembuatan karya ilmiah ini.

Tentunya ada hal-hal yang ingin penulis berikan dalam dunia kesehatan dari hasil karya ilmiah ini nantinya. Oleh karena itu diharapkan semoga proposal karya ilmiah ini dapat menjadi sesuatu yang berguna bagi kita bersama. Penulis pun sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Yogyakarta, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

<u>HALAMAN JUDUL</u>	i
<u>HALAMAN PENGESAHAN</u>	ii
<u>PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN</u>	iii
<u>MOTTO</u>	iv
<u>HALAMAN PERSEMBAHAN</u>	v
<u>KATA PENGANTAR</u>	vi
<u>DAFTAR ISI</u>	vii
<u>DAFTAR GAMBAR</u>	ix
<u>DAFTAR TABEL</u>	x
<u>DAFTAR LAMPIRAN</u>	xi
<u>INTISARI</u>	xii
<u>ABSTRACT</u>	xiii
<u>BAB I PENDAHULUAN</u>	1
<u>A. Latar Belakang</u>	1
<u>B. Perumusan Masalah</u>	3
<u>C. Keaslian Penelitian</u>	4
<u>D. Tujuan Penelitian</u>	4
<u>E. Manfaat Penelitian</u>	5
<u>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</u>	6
<u>A. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon</u>	6
<u>B. Sintesis dengan metode <i>Microwave Assisted organic Synthesis</i></u> <u>(MAOS)</u>	7
<u>C. Spasme Otot</u>	8
<u>D. Ileum</u>	9
<u>E. Reseptor Asetilkolin</u>	10
<u>F. Uji Organ Terisolasi</u>	11
<u>G. Metode <i>In silico</i> menggunakan software <i>Docking Molekuler</i></u>	12
<u>H. Kerangka Konsep</u>	13
<u>I. Hipotesis</u>	15
<u>BAB III METODE PENELITIAN</u>	16
<u>A. Desain Penelitian</u>	16
<u>B. Tempat Dan Waktu</u>	16
<u>C. Populasi Dan Sampel</u>	16
<u>D. Variabel Penelitian</u>	17
<u>1. Variabel bebas</u>	17
<u>2. Variabel perancu</u>	17
<u>3. Variabel tergantung</u>	17
<u>E. Alat Dan Bahan Penelitian</u>	17
<u>1. Bahan Penelitian</u>	17
<u>2. Alat penelitian</u>	18
<u>F. Cara Kerja</u>	18
<u>1. Penyiapan larutan <i>buffer tyrode</i></u>	18

2. <u>Penyiapan larutan 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 µM dan 100 µM</u>	19
3. <u>Penyiapan seri konsentrasi asetilkolin (ACh)</u>	19
4. <u>Preparasi ileum</u>	20
5. <u>Uji aktivitas senyawa 1-(2,5-Dihidroksifenil)-(3-Piridin-2-Il)-Propenon terhadap agonis reseptor fisiologis (Asetilkolin)</u>	20
6. <u>Uji Reversibilitas</u>	21
7. <u>Uji pelarut dimetil sulfoksida (DMSO)</u>	22
8. <u>Docking menggunakan Autodock4</u>	22
G. <u>Skema Langkah Kerja</u>	26
H. <u>Analisis Data</u>	26
1. <u>Data</u>	26
2. <u>Analisis data</u>	27
3. <u>Statistika</u>	28
<u>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</u>	30
A. <u>Hasil Penelitian</u>	30
1. <u>Uji Pelarut DMSO Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum</u>	30
2. <u>Pengaruh Atropin terhadap Reseptor ACh-M₃ Otot Polos Ileum</u> .	32
3. <u>Pengaruh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap Reseptor ACh-M₃ Otot Polos Ileum</u>	36
4. <u>Perbandingan senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dengan atropin</u>	45
B. <u>Pembahasan</u>	47
<u>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</u>	55
A. <u>KESIMPULAN</u>	55
B. <u>SARAN</u>	55
<u>DAFTAR PUSTAKA</u>	56
<u>LAMPIRAN</u>	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	1- (2,5-dihidroksifenil)- (3- piridin- 2- il)-propenon.....	7
Gambar 2.	Ileum (MedlinePlus 2012).....	9
Gambar 3.	Struktur kimia Asetilkolin.....	11
Gambar 4.	Kerangka konsep.....	14
Gambar 5.	Skema langkah kerja.....	26
Gambar 6.	Pengaruh DMSO terhadap respon kontraksi otot polos ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).....	31
Gambar 7.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian atropin 10 dan 50 μ M.	33
Gambar 8.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (ACh) (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi pada uji reversibilitas Atropin 10 dan 50 μ M terhadap reseptor ACh M ₃	35
Gambar 9.	Visualisasi validasi <i>docking</i> molekuler tiotropium (4DAJ) pada reseptor ACh-M ₃	37
Gambar 10.	Stuktur sekunder molekul reseptor ACh M ₃	37
Gambar 11.	Posisi senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ketika terikat ke reseptor ACh M ₃	38
Gambar 12.	Posisi senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon ketika terikat ke reseptor ACh-M ₃	39
Gambar 13.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon 10 dan 20 μ M.....	41
Gambar 14.	Kurva Schild-Plot perhitungan parameter antagonis (pA ₂) senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap reseptor ACh-M ₃	42
Gambar 15.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi pada uji reversibilitas senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon 10 dan 20 μ M terhadap reseptor ACh-M ₃	44
Gambar 16.	Kurva hubungan logaritma konsentrasi asetilkolin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos ileum terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian atropin(10 dan 50 μ M) serta Perbandingan senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon(10 dan 20 μ M).	46

DAFTAR TABEL

<u>Tabel 1. Komposisi <i>buffer tyrode</i></u>	19
Tabel 2. Nilai rata-rata pD2 Asetilkolin (ACh) karena pengaruh DMSO 100µL (n=5, rata-rata ± SEM).....	31
Tabel 3. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) karena pengaruh senyawa atropin 10 dan 50 µM	34
<u>Tabel 4. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) pada uji reversibilitas atropin 10 dan 50 µM terhadap reseptor ACh-M₃.....</u>	35
<u>Tabel 5. Skor <i>docking</i> senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan beberapa antagonis reseptor ACh-M₃.....</u>	38
<u>Tabel 6. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) karena pengaruh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 dan 20 µM.....</u>	41
<u>Tabel 7. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) pada uji reversibilitas senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 dan 20 µM terhadap reseptor ACh-M₃.....</u>	44
<u>Tabel 8. Pergeseran nilai pD2 asetilkolin (ACh) karena pengaruh senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 dan 20 µM.....</u>	46
<u>Tabel 9. Perbandingan nilai pD2 senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon 10 dan 20 µM dengan senyawa marmin 10 dan 100 µM</u>	51

DAFTAR LAMPIRAN

<u>Lampiran 1. Data Pengaruh Pelarut DMSO terhadap Kontraksi Otot Polos ileum</u>	59
<u>Lampiran 2. Data Pengaruh Atropin Terhadap Reseptor Asetilkolin Muskarinik (ACh-M₃) Otot Polos Ileum</u>	61
<u>Lampiran 3. Data Uji Reversibilitas Atropin Terhadap Reseptor Asetilkolin Muskarinik (ACh-M₃) Otot Polos Ileum</u>	64
<u>Lampiran 4. Data Pengaruh Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon Terhadap Reseptor Asetilkolin Muskarinik (ACh-M₃) Otot Polos Ileum</u>	67
<u>Lampiran 5. Data Uji Reversibilitas Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon 10 µM dan 100 µM Terhadap Reseptor Asetilkolin (ACh-M₃) Otot Polos Ileum.</u>	70
<u>Lampiran 6. Perhitungan Parameter Antagonis (pA₂) Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon Terhadap Reseptor ACh M₃ (n = 6)</u>	73
<u>Lampiran 7. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh Pelarut DMSO Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).</u>	74
<u>Lampiran 8. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh Atropin Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).</u>	76
<u>Lampiran 9. Hasil Uji Statistik Pada Uji reversibilitas Atropin Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).</u>	79
<u>Lampiran 10. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon terhadap Kontraksi Otot Polos ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).</u>	82
<u>Lampiran 11. Hasil Uji Statistik Reversibilitas Kontraksi Otot Polos Ileum pada reseptor ACh M₃</u>	85
<u>Lampiran 12. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh Senyawa 1-(2,5- dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)- propenon dan atropin terhadap Kontraksi Otot Polos ileum yang diinduksi asetilkolin (ACh).</u>	88
<u>Lampiran 13 Surat Etika</u>	89

INTISARI

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 K_2CO_3). 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 $10\mu M$ dan $20\mu M$. Sementara agonisnya diberikan dengan seri kadar 10^{-10} - 3×10^{-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, *pA*₂:1,728). 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.

ABSTRACT

1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone is synthesized from 2,5-dihydroxy acetophenone and pyridine-2-karbaldehyd with *microwave* radiation method (K_2CO_3 catalyst). These compound include alkaloids. One of the alkaloids can be used as antispasmodik, anicholinergics, antiasthmatic and midriatik. This research aimed to study the effect of the 1-(2,5-dihidroksifenil) - (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 μ M and 20 μ M. While for agonist provided with a series of 10^{-10} - 3×10^{-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- M_3 receptor, 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone at concentration 10 and 20 μ M 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 μ M 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- M_3 receptor (*docking* score: -7.35). 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone's binding energy to the ACh- M_3 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- M_3 receptors with doses of 10 μ M and 20 μ M.

Keywords: 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl)-propenone, Ach- M_3 receptor, Competitive antagonists, isolated guinea pig ileum.