

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian kimia organik bahan alam telah berkembang pesat untuk mendapatkan senyawa-senyawa organik yang berkhasiat sebagai obat. Beberapa senyawa bioaktif yang ditemukan di alam memiliki konsentrasi yang sangat tinggi seperti polifenol yang terdiri dari senyawa fenolik, flavonoid, antosianidin, flavan, tanin dan sebagainya (Sinha & Hader, 2020). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan polifenol yang dapat digunakan sebagai inhibitor untuk sel kanker. Salah satu golongan flavonoid yang banyak diteliti sifat sitotoksiknya adalah senyawa kalkon (Septian *et al.*, 2023)

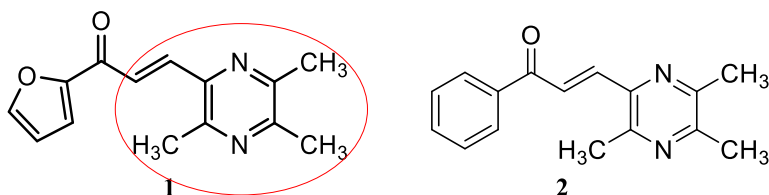
Telah banyak penelitian mengenai turunan kalkon karena memiliki aktivitas biologis dan farmakologis yang bervariasi. Aktivitas biologis turunan kalkon yang diketahui diantaranya sebagai anti kanker, anti inflamasi, anti mikroba, dan anti-aids (Ningrum, 2023). Beberapa analog kalkon memiliki potensi untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dan dikembangkan sebagai obat anti kanker berdasarkan uji sitotoksiknya terhadap sel kanker MCF-7 (kanker payudara pada manusia) yang didapat dengan nilai $IC_{50} < 10 \mu M$. Kalkon baru dikembangkan dan disintesis menggunakan aldehida yang berasal dari ligustrazine dan sejumlah keton. Turunan kalkon yang dihasilkan digunakan sebagai prekursor untuk sintesis oksim dan dievaluasi terhadap berbagai jenis sel kanker, salah satunya sel kanker MCF-7. Pemblokiran mitosis dan kematian sel merupakan akibat dari gangguan dinamika mikrotubulus dengan penghambatan polimerisasi pada tubulin. Penelitian mengenai *ligustrazine-chalcone* ini telah berhasil diteliti dalam menghambat polimerisasi tubulin pada sel kanker yang lebih baik dibanding obat kanker konvensional sehingga dapat dijadikan obat antikanker baru yang lebih efektif (Bukhari, 2022).

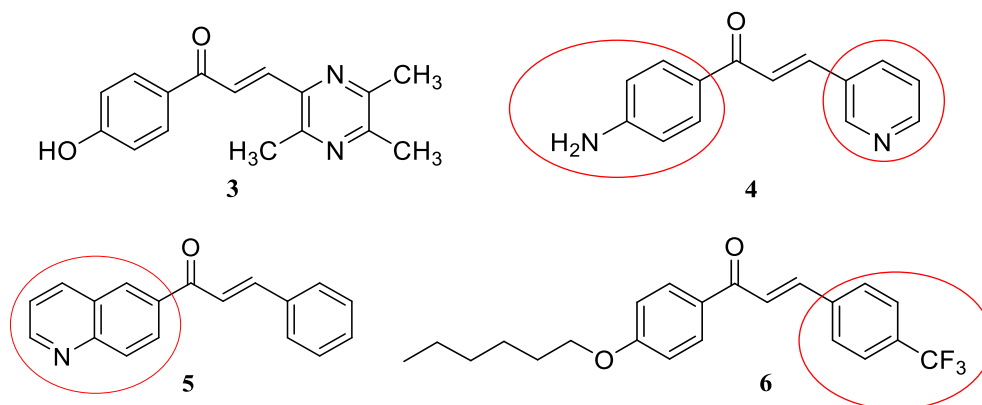
Ligustrazine yang juga dikenal sebagai *Tetramethylpyrazine* (TMP) merupakan senyawa bioaktif yang berasal dari rimpang *Ligusticum chuanxiong Hort*, sebuah tanaman obat tradisional Tiongkok. Senyawa ini menunjukkan potensi antikanker yang menjanjikan dalam berbagai penelitian. TMP telah terbukti menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis melalui berbagai mekanisme. Selain itu, TMP bekerja pada beberapa jalur pensinyalan dalam sel kanker untuk memodulasi perubahan fenotip seperti proliferasi sel, apoptosis, penghentian siklus sel, migrasi, invasi, dan angiogenesis (Yang *et al.*, 2021). Senyawa *ligustrazine-chalcone* dapat disintesis melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen Schmidt*) yang merupakan reaksi kondensasi aldehida aromatik (tanpa α -hidrogen) yang dikatalisis basa dengan aldehida alifatik atau

keton (yang memiliki α -hidrogen) membentuk aldehida atau keton α,β -tak jenuh (Ahluwalia, 2021).

Mekanisme reaksi kondensasi aldol silang berlangsung dengan penghilangan proton dari karbon- α dari satu molekul keton menggunakan basa (OH^-) menghasilkan pembentukan ion enolat yang distabilkan resonansi, yang bertindak sebagai nukleofil (karbanion) dan menyerang karbonil dari molekul keton. Molekul aldehida menghasilkan anion alkoksida, yang menghilangkan proton dari molekul air. Akhirnya, dehidrasi terjadi dengan mudah karena ikatan rangkap yang terbentuk terkonjugasi dengan gugus karbonil dan dengan cincin benzena, dan dengan demikian sistem terkonjugasi diperluas (Ahluwalia, 2021). Syarat terjadinya reaksi kondensasi aldol silang mengharuskan setidaknya minimal satu reagen harus memiliki proton alfa dan dapat membentuk anion enolat pada deprotonasi. Reaksi ini juga memerlukan basa untuk menghindari partisipasi dalam reaksi substitusi nukleofilik atau adisi nukleofilik dengan karbon yang termasuk dalam gugus fungsi karbonil. Basa ideal untuk reaksi ini adalah natrium alkoksida yang merupakan basa konjugasi alkohol yang akan dibentuk sejak diregenerasi. Syarat lainnya yaitu bagian alkoksi ester harus berperilaku sebagai gugus pergi yang baik, seperti etil dan metil ester (Carey & Sundberg, 2007).

Tingkat aktivitas biologis dari senyawa-senyawa turunan kalkon dipengaruhi oleh jenis substituen. substituen dapat mempengaruhi gugus karbonil α,β -tak jenuh dan substituen yang terikat pada cincin aromatik senyawa turunan kalkon tersebut (Septian *et al.*, 2023). Beberapa senyawa kalkon yang telah diteliti oleh Bukhari (2022) mampu menghambat hingga menyebabkan kematian sel kanker MCF-7 yang disebabkan adanya pengaruh aldehida ligustrazine dan senyawa heterosiklik yang ditambahkan pada struktur senyawa kalkon. Senyawa heterosiklik pada senyawa kalkon memiliki kemampuan beradaptasi sehingga dapat menargetkan berbagai jalur metabolisme sel kanker dan mengganggu proses biologis terkait dengan pertumbuhan kanker. Senyawa heterosiklik yang mengandung nitrogen dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel, menyebabkan stres oksidatif seluler dan kematian sel kanker (Nikam, 2022).





Gambar 1. Struktur senyawa **1**, **2**, **3**, **4**, **5** dan **6**

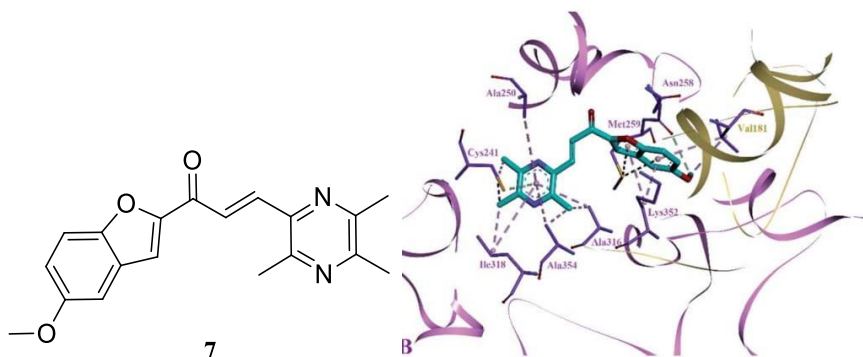
Bukhari (2022) telah melaporkan penelitian mengenai sintesis *ligustrazine-chalcone*, salah satunya yaitu (E)-1-(furan-2-yl)-3-(3,5,6-trimethylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-one (**1**) yang ditemukan memiliki IC_{50} 5,07 μ M dan potensi penghambatan terhadap sel kanker MCF-7 dan lini sel kanker lainnya. Penelitian mengenai sintesis senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* lainnya dilakukan oleh Yingjie & Fang, (2018) yang diuji aktivitas antikankernya terhadap beberapa lini sel kanker termasuk sel MCF-7. Senyawa (E)-1-phenyl-3-(3,5,6-trimethylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-one (**2**) memiliki cincin aromatik mengandung ligustrazine dan cincin benzen tanpa substituen, serta senyawa (E)-1-(4-hydroxyphenyl)-3-(3,5,6-trimethylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-one (**3**) dengan cincin aromatik mengandung ligustrazine dan cincin benzen yang terikat substituen hidroksi (-OH) pada posisi para. Kedua senyawa ini memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC_{50} 8,8 $\pm$ 0,99 μ M (**1**) dan 4,8 $\pm$ 0,55 μ M. Adanya substituen -OH pada posisi para meningkatkan aktivitas sitotoksik senyawa turunan *ligustrazine-chalcone*. Gugus hidroksi termasuk dalam gugus pendorong elektron. Walaupun pengaruh pasangan elektron bebas gugus hidroksi dapat menurunkan reaktivitas senyawa keton terhadap reaksi kondensasi, efek sitotoksiknya meningkat signifikan.

Santos *et al.*, (2019) melaporkan mengenai modifikasi kalkon dengan substituen pendorong elektron gugus amina (NH₂) dan penarik elektron dari gugus piridin. Senyawa (E)-1-(4-aminophenyl)-3-(pyridin-3-yl)-2-en-1-one (**3**) diketahui memiliki nilai IC_{50} 15,7 $\pm$ 5,9 μ M terhadap sel kanker MCF-7. Adanya gugus amina sebagai gugus pendorong elektron pada cincin aromatik berperan dalam peningkatan aktivitas antiproliferasi dan menginduksi apoptosis pada sel MCF-7. Senyawa antiproliferatif dapat menginduksi kematian sel tumor melalui kematian sel karena apoptosis. Sedangkan nitrogen pada struktur piridin memiliki efek negatif terhadap densitas elektron pada cincin aromatik yang

menjadikannya sebagai akseptor elektron yang efektif. Senyawa ini diketahui mampu menginduksi 50,8% terjadinya apoptosis pada sel MCF-7.

Tavares *et al.*, (2011) melaporkan mengenai modifikasi turunan kalkon tersubstitusi gugus quinolin. Quinolin termasuk dalam kategori gugus penarik elektron, dikarenakan oleh sifat elektron penarik dari nitrogen dalam cincin quinolin yang dapat menurunkan kepadatan elektron dalam sistem aromatik. Diketahui senyawa (2E)-1-phenyl-3-(6-quinolinyl)-2-propen-1-one (**3**) memiliki toksisitas yang tinggi yakni dengan IC_{50} $1,10 \pm 0,46 \mu M$ terhadap sel kanker MCF-7. Gugus penarik elektron ini meningkatkan toksisitas senyawa melalui induksi apoptosis seperti perubahan morfologis sel hingga modulasi protein pro-apoptotik.

Khairul *et al.*, (2021) telah mensintesis turunan senyawa alkoksi tersubstitusi kalkon dengan beberapa substituen berbeda. Salah satunya yaitu senyawa (E)-1-(4-trifluoromethylphenyl)-3-(4-(hexyloxy)phenyl)prop-2-en-1-one (**4**) yang tersubstitusi trifluorometil pada cincin aromatik kedua. Senyawa ini memiliki tingkat toksisitas yang paling baik terhadap sel MCF-7 diantara turunan lain yang disintesis pada penelitian ini dengan nilai IC_{50} $13,75 \mu g/mL$. Senyawa kalkon tersubstitusi trifluorometil meningkatkan toksisitas senyawa melalui proses penyusutan sel hingga terjadi pemecahan membran sel MCF-7.



Gambar 2. Struktur senyawa (e)-1-(5-methoxybenzofuran-2-yl)-3-(3,5,6-trimethylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-one (**7**) dan interaksi ikatan senyawa terhadap EGFR tirosin kinase (**7**)

Aktivitas sitotoksik suatu senyawa juga dapat diketahui melalui analisis *Molecular Docking*. Melalui *molecular docking* dapat diketahui interaksi mekanisme antara ligan senyawa dengan protein sel kanker. Seperti yang dilaporkan oleh Bukhari, (2022) yang telah mensintesis senyawa turunan *Ligustrazine-chalcone* serta melakukan studi molekular terhadap senyawa hasil sintesisnya. Didapatkan senyawa **7** (Gambar 2) yang memiliki nilai energi pengikat $-9,4$ kkal/mol dengan nilai IC_{50} $1,10 \pm 0,07 \mu M$. Hal ini membuktikan jika nilai energi pengikat yang rendah berbanding lurus dengan semakin

tingginya aktivitas sitotoksik senyawa tersebut. Prediksi pose pengikatan senyawa **7** menunjukkan adanya interaksi cincin pirazin dari gugus mengandung ligustrazin membentuk interaksi hidrofobik yang terdiri dari beberapa jenis ikatan, diantaranya yaitu ikatan alkil-alkil, *p*-alkil, *p*-donor dan *p*-sulfur dengan ALA354, ALA316, ILE318 dan CYS241.

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian sintesis turunan senyawa kalkon dari aldehida ligustrazine dengan variasi substituen keton perlu dilakukan untuk mengetahui sifat sitotoksik yang lebih efektif. Variasi substituen keton yang akan disintesis antara lain 4-aminoasetofenon yang mengandung senyawa para anilin, senyawa heterosiklik yang mengandung nitrogen seperti 3-asetilpiridin, 1-(quinolin-6-yl)ethan-1-one yang mengandung gugus quinolin, 3',5'-Bis(trifluoromethyl)acetophenone yang mengandung gugus trifluorometil. Sintesis ini dilakukan melalui reaksi kondensasi aldol silang dengan menggunakan katalis basa KOH dan amonium asetat yang selanjutnya dilakukan uji sitotoksik menggunakan metode MTT (*Methylthiazol tetrazolium*) assay dan analisis *molecular docking* terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.2 Identifikasi dan Rumusan Masalah

Variasi struktur senyawa kalkon dan turunannya yang luas sulit diperoleh dari bahan alam sehingga perlunya penelitian dan eksplorasi yang ekstensif untuk mengidentifikasi dan mengisolasi senyawa tersebut dari bahan alam. Senyawa kalkon dan turunannya dapat disintesis dengan mereaksikan suatu keton aromatik dan suatu aldehida aromatik dengan katalis basa yang disebut sebagai reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*). Senyawa kalkon yang disintesis dengan aldehida yang berasal dari ligustrazine dan sejumlah keton. Senyawa ligustrazine diketahui memiliki beragam aktivitas biologis, salah satunya sebagai antikanker yang belum banyak diteliti. Maka berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) dapat disintesis melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*)?
2. Bagaimanakah potensi sitotoksitas senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) tersebut terhadap sel kanker payudara MCF-7?
3. Apakah interaksi antara senyawa target dengan sel kanker payudara MCF-7 dapat dianalisis dengan *molecular docking*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mensintesis dan mengkarakterisasi senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* yang mengandung substituen anilina, piridin, quinolin, trifluoro-aromatik, fenil dan fenol (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*).
2. Menguji potensi sitotoksitas senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* hasil sintesis (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) terhadap sel kanker payudara MCF-7.
3. Menganalisis interaksi sisi aktif senyawa turunan *ligustrazine-chalcone* yang paling aktif terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai proses sintesis turunan senyawa kalkon yang mengandung gugus *ligustrazine* (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*).
2. Memberikan informasi mengenai aktivitas sitotoksik turunan senyawa kalkon yang mengandung gugus *ligustrazine* (senyawa **12**, **14**, **16**, **18**, **20** dan **22**) terhadap sel kanker payudara MCF-7.
3. Memberikan informasi mengenai interaksi antara senyawa target dengan sel kanker payudara MCF-7 melalui analisis *molecular docking*.