

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Inflamasi atau peradangan adalah respon dari sistem kekebalan tubuh terhadap rangsangan berbahaya, seperti patogen, sel yang rusak, senyawa beracun atau iradiasi yang bertindak dengan menghilangkan rangsangan yang merugikan dan memulai proses penyembuhan (Chen *et al.*, 2018). Adanya infeksi patogen atau kerusakan sel di jaringan dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur fosfolipid yang kemudian akan diubah menjadi asam arakidonat dengan bantuan enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat yang dilepas akan masuk ke dalam jalur metabolik yang diinisiasi oleh enzim *cyclooxygenase* (COX) menghasilkan prostaglandin E2 (PGE2) yang disintesis oleh *prostaglandin-E-synthase* (PGSE2) (Kurt *et al.*, 2003). PGE2 adalah mediator utama inflamasi dan pemberian endotoksin bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) dapat menginduksi COX-2 untuk mensintesis PGE2 (Oka *et al.*, 2003). Ada dua macam isoform COX yang terkenal, yaitu COX-1 dan COX-2 yang merupakan isoenzim yang dapat diinduksi oleh sitokin menghasilkan PG yang memediasi rasa sakit dan inflamasi (Silverstein *et al.*, 2000; Minghetti, 2004).

Pengenalan adanya suatu inflamasi oleh patogen juga dilakukan oleh sistem bawaan dan adaptif. Sistem imun bawaan merupakan pertahanan lini pertama yang memberikan sinyal pengenalan dan respon yang dimediasi oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) terhadap infeksi untuk memicu aktivasi pelepasan mediator proinflamasi sedangkan sistem imun adaptif memberikan respon melalui reseptor spesifik antigen.

T-limfosit merupakan salah satu bagian dari sistem imun adaptif (Parkin and Cohen, 2001; Medzhitov, 2007).

OAINS merupakan obat yang telah banyak digunakan dalam pengobatan penyakit radang akut maupun kronis dan memiliki efek analgesik, antipiretik dan anti-inflamasi melalui mekanisme utama seperti penghambatan COX yang bertanggung jawab dalam konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG). Penghambatan ini akan mengurangi rasa sakit, demam dan peradangan (Lee *et al.*, 2011; Silverstein *et al.*, 2000). Contoh dari golongan OAINS adalah obat Asam Asetilsalisilat (AAS) atau Aspirin yang bekerja dengan cara memblokir aktivitas *non selective* enzim COX yang memproduksi PG proinflamasi dari jalur asam arakidonat (Szczeklik, 2006). Namun penghambatan PG dapat menimbulkan efek samping pada saluran cerna karena PG berfungsi dalam perlindungan saluran cerna (Radjelović *et al.*, 2015).

Oleh karena adanya efek samping tersebut, peneliti Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya sebelumnya melakukan sintesis senyawa turunan dari AAS, yaitu senyawa Asam 2-(4-(klorometil)benzoiloksi)benzoat atau (4-CH<sub>2</sub>Cl). Senyawa 4-CH<sub>2</sub>Cl disintesis dengan melakukan modifikasi struktur pada asam salisilat dengan mereaksikan asam 4-klorometilbenzoil klorida melalui reaksi asilasi Schotten-Bauman menghasilkan senyawa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl. Dari hasil uji yang dilakukan didapatkan nilai *Glide Score* (*GScore*) senyawa asam 2-(4-(klorometil)benzoiloksi)benzoat sebesar -7,39 lebih rendah dibandingkan dengan asam asetilsalisilat (*GScore* -5,88). Hal ini menunjukkan bahwa ikatan obat dengan reseptor COX-2 akan semakin stabil sehingga efek farmakologis yang dihasilkan lebih baik. Selain itu senyawa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl memiliki nilai log P sebesar 3,73, lebih tinggi dari log P asam asetilsalisilat yaitu 1,2. Hal ini mengindikasikan bahwa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl mempunyai sifat

lipofilik yang lebih besar dibandingkan asam asetilsalisilat sehingga penembusan membran senyawa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl lebih optimal dan jumlah senyawa yang berinteraksi dengan reseptor akan lebih banyak (Tamayanti dkk., 2016). Penelitian dilakukan Javeed *et al.* (2009), menunjukkan pemberian senyawa AAS dengan dosis 60 mg/KgBB pada mencit yang sebelumnya diinduksi LPS 1 mg/KgBB dapat menghambat ekspresi COX-2. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Duan *et al.* (2014) menunjukkan bahwa pemberian senyawa AAS menunjukkan adanya penurunan ekspresi sel COX-2 yang tidak signifikan sebagai akibat dari mekanismenya yang mampu menghambat aktivasi NFκB. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.* (1999) pemberian AAS menunjukkan pengurangan tingkat kekuatan ekspresi COX-2 sebesar 32-22%. Selain itu, pada penelitian Kaltschmidt *et al.* (2002) menunjukkan bahwa pemberian AAS dapat menghambat NFκB sehingga transkripsi dari COX-2 terhambat dan menurunkan ekspresi dari COX-2. Senyawa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl diketahui menunjukkan potensi sebagai obat analgesik dan anti-inflamasi namun hingga saat ini belum ditemukan adanya pengaruh terhadap jumlah sel splenosit yang mengekspresikan COX-2 dan kekuatan ekspresi COX-2.

AAS sebagai turunan salisilat yang memiliki keuntungan sebagai anti-inflamasi namun juga memiliki kerugian yang dapat menyebabkan ulserasi saluran cerna, maka dari penelitian ini diharapkan senyawa asam 4-CH<sub>2</sub>Cl memiliki potensi dalam menghambat ekspresi COX-2 dengan efek samping yang minimum. Pada penelitian ini menggunakan hewan coba mencit jantan dengan galur *Swiss Webster* berusia seragam. Mencit diberikan induksi dengan LPS 1 mg/KgBB secara intraperitoneal yang selanjutnya diberikan senyawa obat uji dengan sonde secara peroral selama 2 hari. Pada penelitian ini menggunakan metode *fluorescence-activated cell sorting* (FACS) untuk melihat populasi sel yang telah dipreparasi dan diberi

pewarnaan antibodi sehingga hasil yang didapatkan berupa populasi sel yang berfluoresensi. Selanjutnya pengecekan dilakukan menggunakan alat BD FACS Calibur (BD Biosciences, San Jose, US) dan data diolah dengan menggunakan program *Flowing Software 2TM*. Populasi sel yang dapat dilihat pada alat ini sebanyak 10.000 sel akan dialirkan menggunakan cairan dan dideteksi dalam waktu kurang dari 1 menit (Holmes *et al.*, 2001).

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat terhadap jumlah sel splenosit yang mengekspresikan COX-2 dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi) benzoat terhadap kekuatan ekspresi COX-2 pada sel splenosit dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya masing-masing diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui pengaruh pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat terhadap jumlah sel splenosit yang mengekspresikan COX-2 dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*.

2. Mengetahui pengaruh pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat terhadap kekuatan ekspresi COX-2 dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya masing-masing diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*.

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

1. Pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat dapat menurunkan jumlah sel splenosit yang mengekspresikan COX-2 dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*.
2. Pemberian Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat dapat menurunkan kekuatan ekspresi COX-2 pada sel splenosit dibandingkan dengan pemberian Asam Asetilsalisilat yang sebelumnya masing-masing diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) pada mencit putih (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian ini, diharapkan senyawa Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat dapat dijadikan calon obat baru dan sebagai salah satu aspek yang menjelaskan mekanisme anti-inflamasi dalam menurunkan jumlah sel splenosit yang mengekspresikan COX-2 dan kekuatan ekspresi COX-2 sehingga hasil temuan ini, diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu yang menjelaskan mekanisme aksi dari Asam 2-(4-(klorometil)benzoioksi)benzoat secara

molekuler sehingga dapat dijelaskan kegunaan senyawa Asam 2-(4-(klorometil)benzoiloksi)benzoat sebagai upaya pengembangan obat baru.