

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

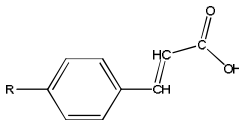
Banyak faktor yang menyebabkan warna kulit manusia berbeda-beda dari faktor genetik, usia, cahaya matahari dan lingkungan. Semua itu berhubungan dengan melanosom yang ada dalam kulit. Faktor-faktor tersebut dapat membuat melanosit yang terdapat dalam melanosom semakin bertambah sehingga menjadikan kulit berwarna gelap. Kulit gelap bukanlah hal yang harus dihindari karena pigmen pada kulit gelap berfungsi sebagai pelindung dari radiasi UV. Faktor-faktor genetik, usia, dan lingkungan yang ekstrem-lah yang harus diwaspadai karena dapat menyebabkan melasma (flek-flek pada kulit) sehingga menimbulkan masalah kulit. Untuk itu berbagai produk pemutih diproduksi dengan berbagai mekanisme kerja, salah satunya dengan menghambat enzim tirosinase yang merupakan pengatur biosintesis melanin. Pembentukan melanin dihambat dengan cara menekan pembentukan enzim tirosinase, menghambat aktivitas enzim tirosinase, menurunkan transfer tirosinase, atau menghambat produksi melanin secara langsung (Avanti, 2002).

Tirosinase yang juga dikenal sebagai *monoxygenase monophenol* adalah enzim yang mengkatalis oksidasi fenol (seperti tirosin) dan tersebar luas pada tanaman dan hewan. Tirosinase adalah enzim yang mengandung tembaga  $\text{Cu}^{2+}$  terdapat dalam jaringan tanaman dan hewan yang mengkatalis produksi melanin dan pigmen lainnya dari tirosin oleh oksidase, seperti dalam pencoklatan kentang setelah dikupas atau diiris terkontaminasi udara disebut juga '*browning*'. Hal ini ditemukan dalam melanosome. Pada manusia enzim tirosinase dikodekan oleh gen *Tyr* (Kumar *et al.*, 2011). Enzim *mushroom tyrosinase* berbentuk tetramer

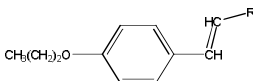
dengan empat atom  $\text{Cu}^{2+}$ . Terdapat dua tipe ikatan terhadap substrat, yang pertama untuk struktur fenolik dan satu lagi untuk molekul dioksigen (Boyer, 2003).

Substrat tirosinase pada jalur reaksi pembentukan melanin adalah tirosin atau L-DOPA. Asam sinamat dan turunannya memiliki struktur mirip dengan L-tirosin, sehingga dapat menghambat aktivitasnya secara kompetitif, sehingga dapat digunakan sebagai pemutih kulit (Avanti, 2002) serta insektisida (Sakuma *et al.*, 1999; Kubo *et al.*, 1994). Asam sinamat adalah senyawa bahan alam yang terdapat dalam berbagai tanaman, misalnya kemenyan (*Styrax sp.*), berwujud kristal putih, sedikit larut dalam air. Senyawa ini termasuk turunan fenol yang dihasilkan dari jalur asam sikimat, dengan bahan dasar yaitu fenilalanin dan tirosin. Contoh turunan asam sinamat yang digunakan sebagai pencerah kulit dengan bentuk sediaan tabir surya adalah oktil *para*-metoksisinamat (etil heksil *para*-metoksisinamat), oktokrilen (2-etilheksil  $\alpha$ -siano- $\beta$  fenilsinamat) dan sinoksate (2-etoksi etil *para*-metoksisinamat) (Reynolds, 1982).

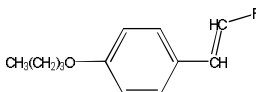
Hartanti *et al.*, (2008) telah mensintesis beberapa turunan senyawa asam sinamat yaitu (i) asam 4-butoksisinamat, (ii) asam 4-*n*-butilsinamat, (iii) asam-4-*t*-butilsinamat, (iv) asam 4-fenilsinamat serta turunan asam 4-butoksisinamat yaitu (v) metil-*p*-butoksisinamat, (vi) propil-*p*-butoksisinamat, (vii) etil-*p*-butoksisinamat dan (viii) isopropil-*p*-butoksisinamat, yang strukturnya dapat dilihat pada gambar 1.1.



R= (i)  $-O-C_4H_9$ , (ii)  $n-(C_4H_9)$ , (iii)  $C_3(CH_3)$ , (iv)  $C_6H_5$



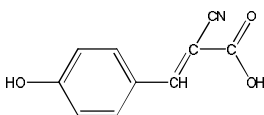
R= (v)  $-COOCH_3$ , (vi)  $-COO(CH_2)_2CH_3$



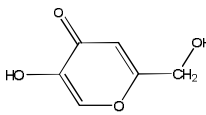
R= (vii)  $-COOCH_2CH_3$ , (viii)  $-COOCH(CH_3)_2$

**Gambar 1.1.** Struktur turunan asam sinamat

Kedelapan turunan asam sinamat ini kemudian dibandingkan aktivitasnya dengan asam  $\alpha$ -siano-4-hidroksisinamat yang telah diteliti dapat menghambat aktivitas *mushroom tyrosinase* (Qiu *et al.*, 2009) dan asam kojat (Gambar 1.2) yang juga telah terbukti aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase (Matoba *et al.*, 2009). Dipilih asam  $\alpha$ -siano-4-hidroksisinamat sebagai senyawa pembanding didasarkan pada kemiripan strukturnya dengan asam sinamat.



(a)

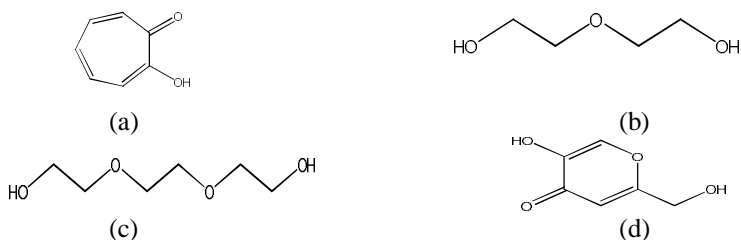


(b)

**Gambar.1.2** Struktur senyawa asam  $\alpha$ -siano-4-hidroksisinamat (a), dan asam kojat (b).

Kelemahan delapan turunan asam sinamat ini yaitu mempunyai daya hambat terhadap tirosinase yang lebih rendah dibanding asam kojat. Pada

pengembangan obat baru ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk desain obat baru, yang terkini adalah pengembangan senyawa obat dengan pemodelan molekuler dengan cara *molecular docking*. *Molecular docking* sering digunakan untuk justifikasi ilmiah, untuk memprediksi aktivitas biologis suatu senyawa berdasarkan interaksinya dengan protein reseptor secara *in silico*. Walaupun *molecular docking* sering digunakan sebagai metode untuk mendisain obat baru namun metode ini membutuhkan struktur kristalografi dari reseptor yang akan diuji. Ada beberapa reseptor enzim tirosinase antara lain adalah 2Y9X, 2Y9W, 3NQ1. Pemilihan reseptor didasarkan atas kemiripan struktur ligan kompleks dan kesamaan mekanisme kerja dalam menghambat tirosinase (gambar 1.3). Protein dengan kode 2Y9X memiliki ligan kompleks tropolon, atom holmium, dan ion  $\text{Cu}^{2+}$ , protein 2Y9W memiliki ligan kompleks dihidroksietil eter, trietilen eter, atom holmium, dan ion  $\text{Cu}^{2+}$ , serta protein 3NQ1 memiliki ligan kompleks 5-hidroksi-2-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (asam kojat), ion  $\text{Zn}^{2+}$ , dan ion  $\text{Cu}^{2+}$  (gambar 1.3). Oleh karena itu dari tiga reseptor di atas dipilih reseptor dengan kode PDB 3NQ1 berdasarkan kemiripan struktur ligan asam kojat senyawa turunan asam sinamat.



**Gambar 1.3.** Gambar ligan kompleks protein terpilih tropolon (a), dihidroksietil eter (b), trietilen eter (c), 5-hidroksi-2-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (asam kojat) (d).

Kelebihan metode pemodelan molekul (*molecular docking*) adalah dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa sebelum dilakukan sintesis sehingga mengurangi penggunaan pelarut dan bahan-bahan kimia yang dapat mencemari lingkungan. Ada beberapa program komputer yang dapat digunakan untuk *molecular docking*. Ada yang berbasis linux seperti Autodock Vina, dan ada yang berbasis windows seperti Autodock, ArgusLab, Lead it, Molegro Virtual Docker (MVD), ChemOffice Ultra, Hypercam, Accelrys, Discovery Studio, Molecular Operating Environment (MOE), Maestro Schrodinger, SYBYL dan lain-lain (O'Donoghue *et al.*, 2005). Dalam penelitian ini digunakan program komputer MVD, yang berbasis windows karena merupakan program yang cukup akurat jika digunakan untuk *men-docking*. Keakuratan MVD dalam *men-docking* ligan yang fleksibel terhadap 77 protein target sebesar 87%, sedangkan pada Glide sebesar 82%, Surfleks 75% (Thomsen *et al.*, 2009). Dalam pemodelan molekuler, data yang diamati pada umumnya adalah total energi yang terlibat pada proses interaksi ligan-reseptor, yang dalam program Molegro dinyatakan dalam nilai *Moldock Score* dan *Rerank Score*, serta ikatan kimia yang terlibat dalam proses interaksi tersebut. Ikatan kimia yang terlibat dalam proses interaksi ligan-reseptor, antara lain ikatan hidrogen, faktor sterik (ikatan van der Waals, ikatan hidrofobik) dan ikatan elektrostatik. Pada ikatan hidrogen, selain energi ikatan, juga diamati asam-asam amino dari reseptor yang terikat dengan ligan melalui ikatan hidrogen dan gugus-gugus yang terlibat.

Pada penelitian sebelumnya telah didapatkan hasil daya hambat ( $IC_{50}$ ) pada delapan turunan asam sinamat (Hartanti *et al.*, 2008). Pada penelitian ini dengan *molecular docking* dilakukan ekstrapolasi relasi antara  $IC_{50}$  senyawa-senyawa turunan asam sinamat terhadap enzim tirosinase hasil percobaan *in vitro* terhadap parameter hasil *docking* secara *in silico*.

Jika ditemukan relasi maka *molecular docking* dapat digunakan sebagai alat prediksi kandidat senyawa aktif yang akurat. Diharapkan dari penelitian ini ditemukan kesamaan sebagai pembuktian hasil interaksi ligan-reseptor *in silico* dan hasil uji aktivitas secara *in vitro* serta dapat menentukan senyawa turunan asam sinamat yang paling potensial sebagai penghambat tirosinase.

## 1.2. Perumusan Masalah Penelitian

Dari uraian latar belakang permasalahan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana prediksi interaksi dari delapan senyawa turunan asam sinamat terhadap reseptor *mushroom tyrosinase* 3NQ1 secara *in silico*?
2. Apakah asam-asam amino dan ikatan yang terlibat dalam interaksi delapan senyawa turunan asam sinamat terhadap reseptor *mushroom tyrosinase* 3NQ1?
3. Apakah ada hubungan antara pola aktivitas inhibisi tirosinase senyawa-senyawa turunan asam sinamat berdasarkan nilai  $IC_{50}$  secara *in vitro* dengan pola aktivitas secara *in silico* ?

## 1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Memprediksi aktivitas interaksi dari delapan senyawa turunan asam sinamat terhadap reseptor *mushroom tyrosinase* 3NQ1 secara *in silico*.
2. Mengetahui asam-asam amino dan ikatan yang terlibat dalam interaksi delapan senyawa turunan asam sinamat terhadap reseptor *mushroom tyrosinase* 3NQ1.

3. Mengetahui hubungan antara pola aktivitas inhibisi tirosinase senyawa-senyawa turunan asam sinamat berdasarkan nilai  $IC_{50}$  secara *in vitro* dengan pola aktivitas secara *in silico*

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Dari penelitian ini diharapkan diperoleh prediksi interaksi turunan asam sinamat secara *in silico* dengan reseptor *mushroom tyrosinase* 3NQ1.