

KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur kehadirat Allah SWT, setelah tidak terbit selama 2 tahun karena berbagai sebab, akhirnya Media Farmasi dapat terbit kembali.

Pada edisi ini, Jurnal Media Farmasi menyajikan 11 artikel yang kesemuanya merupakan hasil penelitian. Sembilan artikel dari luar Fakultas Farmasi UAD, (1) membahas preparasi 4-asetamidofenil benzoat dan uji aktifitasnya (2) optimasi kombinasi sukrosa-manitol sebagai pengisi (3) ekstraksi gelatin dari tulang ikan tenggiri (4) pengaruh pemberian susu curcuma dan curcuma emulsi (5) uji aktivitas antikanker ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol herba pacar air (*Impatiens balsamina* linn) (6) studi penggunaan *calcium channel blocker* (ccb)(7) penggunaan obat golongan diuretik pada pasien stroke iskemik (8) kepatuhan pengobatan anti retro viral (9)Analisa penggunaan obat. Dua artikel dari peneliti fakultas farmasi UAD yang membahas tentang: (1) meningkatkan kerja fungsi ginjal dan (2) efek kemopreventif dan antihematotoksik minyak biji jinten hitam

Harapan kami, jurnal ini dapat bermanfaat bagi pembaca atau menjadi referensi peneliti lain. Kritik dan saran membangun, senantiasa kami terima dengan tangan terbuka.

Dewan editor

PREPARASI 4-ASETAMIDOFENIL BENZOAT DAN UJI AKTIFITAS ANALGESIK PADA MENCIT (*Mus musculus*)

PREPARATION 4-ASETAMIDOPHENYL BENZOIC AND ANALGESIC ACTIVITY IN MICE (*Mus musculus*)

M. Artabah Muchlisin¹, Bambang Tri Purwanto², Engrid Juni Astuti¹

Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang¹
Departemen Kimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga²
Email: shinkaoju@gmail.com

ABSTRAK

Untuk mengembangkan senyawa turunan acetaminophen baru, dilakukan preparasi 4-acetamidofenil benzoat senyawa. Senyawa ini disintesis dengan mereaksikan dari acetamidofenil dengan benzoil klorida dengan metode Schotten Baumann. Kemurnian senyawa dibuktikan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan titik lebur. Pada hasil KLT, senyawa yang disintesis memiliki 1 spot dengan tiga eluen yang berbeda dan memiliki rentang titik lebur 171,67-172,67 °C. Sehingga dapat disimpulkan senyawa hasil sintesis murni. Karakterisasi struktur senyawa hasil sintesis dianalisis dengan spektrofotometer UV-VIS, spektrofotometer IR, NMR. Hasil analisis struktural menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah 4 - acetamidofenil benzoat. Uji aktivitas analgesik dilakukan pada tikus menggunakan metode penghambatan nyeri dengan asam asetat glasial 0,6 % sebagai agen penginduksi nyeri. Hasil sintesis 4 - acetamidofenil benzoat memiliki ED50 73,48 mg / kg dan acetaminofen memiliki ED50 68,30 mg / kg. Secara statistik, potensi analgesik 4 - acetamidofenil benzoat sebanding dengan acetaminofen .

Kata Kunci : 4 - acetamidofenil benzoat, acetaminophen, analgesik, mencit

ABSTRACT

To develop a new compound derived acetaminophen, then performed preparation 4-acetamidophenyl benzoat compound. The compound was synthesized by reacting of acetamidophenyl with benzoyl chloride by schotten baumann method. Compound purity is evidence by Thin Layer Chromatography (TLC) and melting point. On TLC test compound synthesized have single spot with three different eluents and have melting point range 171,67-172,67 °C. With these results it can be said that the compound was pure. Identification of the compounds structure were analyzed by uv-vis spectrophotometer, infrared spektrofotomeer ir, proton nuclear magnetic resonance spectrometer. The result of structural analysis indicate that the compund is 4-acetamidophenyl benzoic. Analgesic activity test

performed in mice use writhing test method with glacial acetic acid 0,6% as inductor pain. The result that 4-acetamidophenyl benzoat has ED_{50} 73,48 mg/kg and acetaminophen has ED_{50} 68,30 mg/kg. Statistically, the analgesic potential of 4-acetamidophenyl benzoic was comparable with acetaminophen.

Keywords : 4-acetamidophenyl benzoic, acetaminophen, analgesic activity, mice

PENDAHULUAN

Setiap orang pasti pernah merasakan nyeri. Nyeri bisa berupa rasa terbakar, atau nyeri tumpul seperti terkena tekanan, atau mungkin nyeri tajam seperti teriris pisau. Nyeri dapat merupakan suatu pertanda bahwa ada yang tidak normal di dalam tubuh yang menyebabkan seseorang memerlukan pengatasan dengan obat atau harus berkonsultasi ke dokter (Ikawati, 2011). Saat ini nyeri menjadi gangguan yang universal, menyedot perhatian dan biaya yang besar, dan menjadi tantangan bagi keluarga dan tenaga kesehatan untuk dapat memberikan dukungan terhadap mereka yang menderita nyeri, apalagi nyeri yang kronis seperti nyeri kanker (Ikawati, 2011).

Terapi nyeri dapat dilakukan dengan cara non-obat (non farmakologi) atau dengan obat (farmakologi). Atas dasar kerja farmakologisnya, analgetika dibagi dalam dua kelompok besar, yakni analgetika perifer (non-narkotik) dan analgetika narkotik (Tjay & Rahardja, 2002). Salah satu obat golongan analgesik non narkotik adalah asetaminofen. Asetaminofen

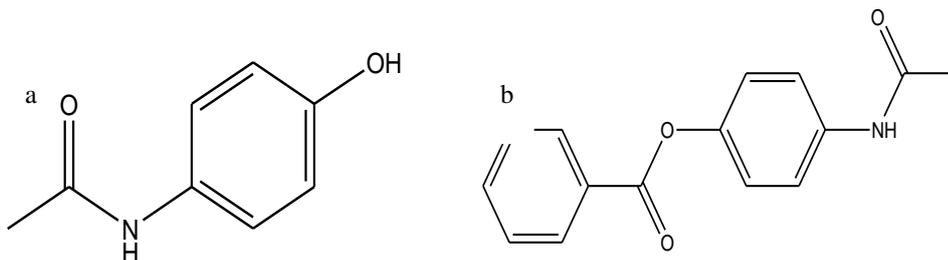
mempunyai aktifitas analgesik-antipiretik sebanding dengan aspirin, tetapi tidak mempunyai efek antiradang dan antirematik (Purwanto & Susilowati, 2000). Menurut data dari Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur tahun 2010 asetaminofen adalah obat dengan kebutuhan paling banyak. Pada tahun 2010 Jawa Timur membutuhkan tablet asetaminofen 500 mg sebanyak 66.520.005 butir tablet. Hal ini menunjukkan bahwa asetaminofen adalah obat yang paling banyak digunakan untuk mengatasi nyeri.

Walaupun merupakan obat paling populer di masyarakat, tetapi asetaminofen memiliki efek samping methemoglobin dan hepatotoksik (Purwanto dan Susilowati, 2000). Untuk meningkatkan efek farmakologis dari asetaminofen dan mengurangi efek samping, maka dibutuhkan modifikasi struktur dari asetaminofen. Modifikasi molekul merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan obat baru dengan aktifitas yang dikehendaki, antara lain yaitu meningkatkan aktifitas obat, menurunkan efek samping atau toksisitas, meningkatkan selektifitas

obat, memperpanjang masa kerja obat, meningkatkan kenyamanan penggunaan obat dan meningkatkan aspek ekonomis obat (Siswandono, 2000).

Secara teoritis penambahan gugus benzoil pada struktur asetaminofen akan meningkatkan parameter lipofilitas dari asetaminofen. Dari hasil perhitungan teoritis menggunakan program komputer ChemDraw Ultra versi

7.0.3, 4-asetamidofenil benzoat mempunyai Log P = 2,4. Sedangkan asetaminofen sendiri mempunyai Log P = 0,28. Data tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan harga Log P 4-asetamidofenil benzoat terhadap asetaminofen yang berarti adanya peningkatan parameter lipofilitas. Peningkatan lipofilitas ini mengakibatkan penembusan membran biologi tubuh yang lebih baik.



Gambar 1. Struktur Senyawa Asetaminofen (a) dan 4-Asetamidofenil Benzoat (b)

Untuk mendapatkan 4-asetamidofenil benzoat dilakukan reaksi esterifikasi dengan cara menempelkan gugus asil ke gugus hidroksi pada asetaminofen dengan menggunakan reaksi *Schotten-Baumann* yang dimodifikasi.

Uji kemurnian dari senyawa hasil preparasi dilakukan dengan penentuan titik lebur dan kromatografi lapis tipis, sedangkan identifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet (UV-Vis) dan spektrofotometer infra merah (IR) serta spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$). Untuk menguji aktifitas analgesik senyawa 4-asetamidofenil benzoat, dapat dilakukan dengan metode yang

menggunakan zat kimia sebagai penginduksi nyeri (metode *Writhing Test*). Pemilihan metode pengujian aktifitas analgesik ini tidak hanya pengukuran intensitas, tetapi juga lama kerja obat untuk menghindari kerusakan permanen suatu jaringan akibat observasi berulang. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus Musculus*) karena mudah diperoleh, relatif murah, mempunyai sistem syaraf yang mirip dengan syaraf manusia dan sering digunakan untuk uji analgesik suatu senyawa (Thompson, 1990).

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan senyawa 4-asetamidofenil benzoat yang

memiliki efek analgesik lebih besar dari asetaminofen.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini asetaminofen, benzoil klorida, natrium bikarbonat, aseton, piridin, etanol, metanol, etil asetat, n-heksana, kloroform, asam asetat glasial 0,6 %, aqua pro injection, silika gel 60 GF₂₅₄, mencit putih (*Mus musculus*) Swiss-Webster jantan galur BALB'C' dengan berat badan 20-30 gram.

Alat yang digunakan Neraca analitik (Ohaus), *Hot plate-magnetic stirrer*, Chamber Kromatografi Lapis Tipis, Lampu UV₂₅₄, *Melting Apparatus* (Fisher John), Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), Spektrofotometer FT-IR (Shimadzu), Spektrometer resonansi magnet inti (¹H-NMR) (Jeoul Resonance), Timbangan mencit, *Stop watch*, *Injection disposable syringe*.

Preparasi Senyawa 4-asetamidofenil Benzoat dilakukan dengan melarutkan asetaminofen dalam aseton dan ditambah piridin. Benzoil klorida dilarutkan kedalam aseton kemudian diteteskan secara konstan ke dalam larutan asetaminofen. Reaksi ini harus dijaga tetap pada suhu 0-5 °C. Kemudian dilanjutkan dengan merefluks larutan dengan suhu 60-70° C selama 5-6 jam. Larutan dievaporasi untuk menghilangkan pelarut, kemudian ditambah dengan larutan NaHCO₃

jenuh, dibiarkan semalam. Endapan disaring dan dicuci dengan aquadest. Padatan kemudian direkristalasi.

Uji kemurnian senyawa dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan titik lebur. KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam lempeng silika gel 60 GF₂₅₄ dan tiga macam eluen yaitu N-Hekasana : Etil Asetat (3 : 7), Etil Asetat : Aseton (2 : 1), Kloroform : Etil Asetat (3 : 7) serta penampak noda lampu UV 254 nm. Identifikasi Struktur Senyawa dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-340, spektrofotometer inframerah, H-NMR.

Uji aktifitas analgesik menggunakan metode penghambatan nyeri terinduksi secara kimiawi (*Writhing Test*) yang dilakukan pada hewan mencit (*Mus Musculus*). Sebagai penginduksi nyeri digunakan larutan asam asetat glasial 0,6 %. Sejumlah mencit berbobot 20-30 gram dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu 3 kelompok uji 4-asetamidofenil benzoat dengan dosis masing-masing 100, 50, dan 25 mg/kg BB, 3 kelompok pembanding asetaminofen dengan dosis masing-masing 100, 50, dan 25 mg/kg BB, dan 1 kelompok kontrol. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit.

Pelaksanaan uji aktifitas dilakukan dengan menimbang mencit, dicatat bobotnya, dan diberi

tanda dengan nomor, kemudian diberi sediaan dosis tertentu secara intraperitoneal. Duapuluh menit setelah pemberian sediaan, mencit tersebut disuntik dengan larutan asam asetat 0,6% sebanyak 3 ml secara intraperitoneal. Lima menit setelah penyuntikan dengan larutan asam asetat 0,6 %, respon nyeri dari setiap mencit yang berupa frekuensi geliatan diamati selama 30 menit dan dicatat frekuensi geliat untuk kelompok uji, pembanding, dan kontrol. Adanya aktifitas analgetika dinyatakan oleh lebih sedikit terjadi jumlah geliatan nyeri pada mencit sebesar $\geq 50\%$ dari kelompok kontrol.

Tiap-tiap mencit pada masing-masing kelompok dilihat respon geliatannya, kemudian dicatat frekuensi geliatannya. Untuk melihat apakah ada perbedaan aktifitas yang bermakna antara kelompok uji, pembanding dan kontrol, maka dilakukan uji *One Way ANOVA* pada $\alpha = 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan preparasi senyawa 4-Asetamidofenil benzoat melalui reaksi esterifikasi antara senyawa asetaminofen dengan benzoil klorida. Reaksi ini mengikuti kaidah reaksi substitusi nukleofilik 2, yang mana gugus fenolik pada asetaminofen yang bersifat nukleofil kuat akan menyerang gugus karbonil pada benzoil klorida yang bersifat elektrofil. Sehingga nantinya atom Cl pada gugus karbonil akan putus,

karena atom Cl memiliki nukleofilitas yang lebih rendah dari gugus fenol asetaminofen. Senyawa yang dihasilkan berupa serbuk kristal berwarna putih dan tidak berbau.

Uji kemurnian senyawa dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase diam lempeng silika gel 60 GF₂₅₄ dan tiga macam eluen yaitu N-Hekasana : Etil Asetat (3 : 7), Etil Asetat : Aseton (2 : 1), Kloroform : Etil Asetat (3 : 7) serta penampak noda lampu UV 254 nm. Hasil KLT diperoleh Rf untuk asetaminofen adalah 0,33 (Rf₁), 0,59 (Rf₂), dan 0,56 (Rf₃) sedangkan senyawa hasil 0,50 (Rf₁), 0,69 (Rf₂), dan 0,62 (Rf₃). Pada penentuan jarak lebur senyawa hasil didapatkan titik lebur yang berbeda dengan asetaminofen. Jarak lebur senyawa hasil sintesis adalah 171,67 - 172,67 °C. Sedangkan titik lebur asetaminofen adalah 168 - 169 °C, sehingga dapat dinyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan adalah murni dan berbeda dengan senyawa induknya yaitu asetaminofen dan dapat dilanjutkan dengan identifikasi struktur.

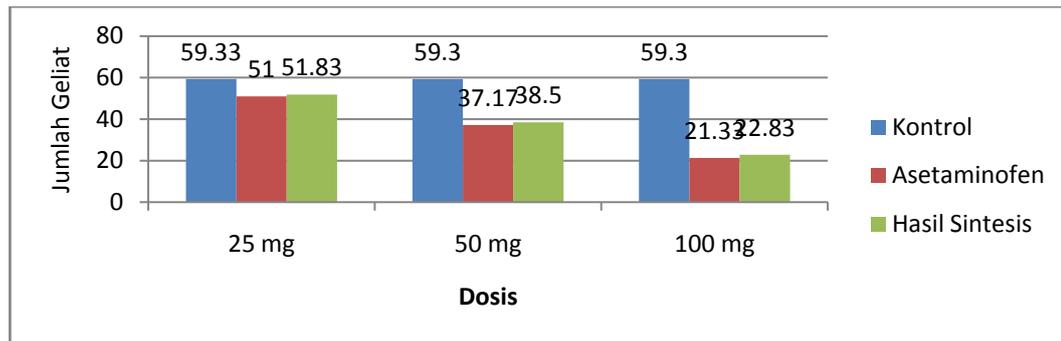
Identifikasi struktur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis senyawa asetaminofen diperoleh spektra yang memberikan serapan dengan panjang gelombang (λ) 249 nm. Sedangkan pada senyawa hasil dihasilkan spektra yang memberikan serapan pada panjang gelombang (λ) 239 nm. Spektrum IR yang dihasilkan senyawa asetaminofen

memiliki karakteristik [bilangan gelombang (cm^{-1}), gugus fungsi] : [3325, -OH fenolat], [3161, N-H], dan [1653, C=O keton]. Sedangkan senyawa hasil memiliki karakteristik : [3440, N-H], [1676, C=O keton], dan [1728, C=O keton]. Karakteristik spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa asetaminofen adalah [s (ppm), multiplisitas, jumlah atom H] : [1,815-2,111, multiplet, 3 atom H gugus CH_3], [6,544-6,667, multiplet, 2 atom H gugus benzena], [7,205-7,307, multiplet, 2 atom H gugus benzena], 9,020-9,122, doublet, 1 atom H gugus OH], dan [9,522-9,624, doublet, 1 atom H gugus NH]. Sedangkan karakteristik spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil adalah : [2,018, singlet, 3 atom H gugus CH_3], [7,156-7,179, doublet, 2 atom H gugus benzena], [7,568-7,618, multiplet, 5 atom H gugus benzena], [8,046-8,124, doublet, 2 atom H gugus benzena], dan [9,976-10,035, singlet, 1 atom H gugus NH]. Dari hasil karakteristik dapat disimpulkan bahawa senyawa hasil adalah 4-asetamidofenil benzoat.

Senyawa-senyawa tersebut kemudian diuji aktifitas analgesiknya terhadap mencit (*Mus musculus*) putih Swiss-Webster jantan galur BALB'C' dengan berat badan 20-30 gram dengan metode *writhing reflect test*, yaitu dengan cara mengamati frekuensi geliat pada mencit yang

telah diinduksi nyeri berupa rangsangan kimiawi. Induktor nyeri yang digunakan adalah larutan asam asetat glasial 0,6 % (Gupta *et al*, 2003). Asam asetat glasial dapat merusak jaringan sehingga merusak membran sel dan fosfolipid yang akan merangsang munculnya mediator nyeri (Katzung. 1998). Mencit dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC-Na), kontrol positif (asetaminofen), dan uji (4-asetamidofenil benzoat). Kelompok kontrol positif dan uji dibagi lagi menjadi tiga kelompok dosis yaitu 25, 50, dan 100 mg/kg BB. Masing-masing kelompok menggunakan 6 ekor mencit.

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, jumlah rata-rata geliat mencit [kontrol negatif; kontrol positif; uji] untuk dosis 25 mg/kg BB [59,33; 51; 51,83], dosis 50 mg/kg BB [59,33; 37,17; 38,5], dan dosis 100 mg/kg BB [59,33; 21,33; 22,83]. Hasil uji aktifitas analgesik terhadap mencit menunjukkan ada perbedaan bermakna antara senyawa asetaminofen dengan kontrol negatif dan senyawa 4-asetamidofenil benzoat dengan kontrol negatif, sedangkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara senyawa asetaminofen dengan senyawa 4-asetamidofenil benzoat.

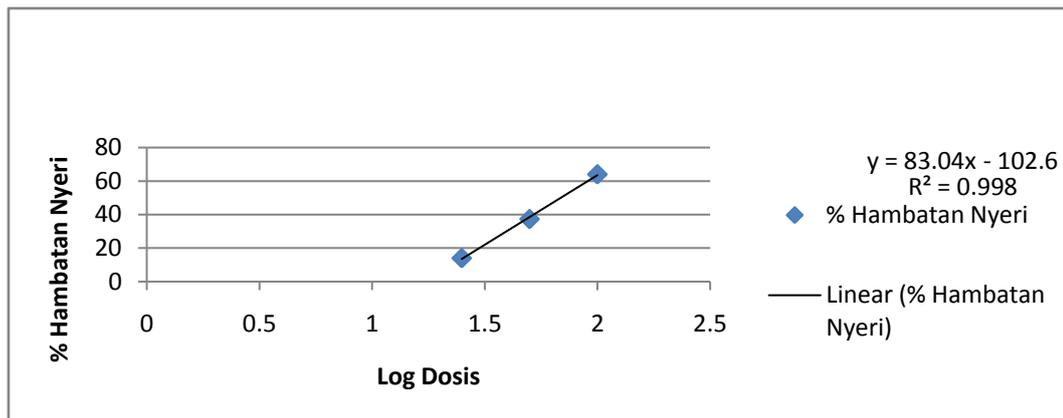


Gambar 2. Perbandingan Jumlah Geliat Kelompok Kontrol, Asetaminofen, dan Senyawa Hasil Sintesis

Untuk menentukan aktifitas analgesic masing-masing senyawa maka dilakukan perhitungan persentase hambatan nyeri dengan menggunakan data frekuensi geliat. maka didapatkan ED_{50} untuk asetaminofen adalah 68,30 mg/kg BB, dan ED_{50} untuk 4-asetamidofenil benzoat adalah 73,48 mg/kg BB. Dari data ED_{50} dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki nilai ED_{50} lebih besar dari asetaminofen, tetapi secara perhitungan statistik tidak ada perbedaan yang bermakna diantara aktifitas kedua senyawa tersebut. Penambahan gugus ester benzoat pada senyawa asetaminofen mengakibatkan meningkatnya sifat lipofilik yang dapat meningkatkan proses penembusan membran

biologis tubuh sehingga jumlah obat yang mencapai reseptor akan semakin meningkat. Tetapi adanya peningkatan sifat lipofilik diduga sebanding dengan meningkatnya halangan ruang antara senyawa obat dengan reseptor sehingga aktifitas yang ditimbulkan antara senyawa asetaminofen dengan 4-asetamidofenil benzoate adalah sama secara statistic.

Hasil uji aktifitas biologis yang telah dilakukan dapat digunakan sebagai dasar pengembangan senyawa 4-asetamidofenil benzoat sebagai calon obat analgesik. Tetapi, masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh informasi yang lebih lengkap, baik dari segi farmakokinetik maupun farmakodinamik senyawa tersebut.



Gambar 3. Kurva Hubungan Antara Log Dosis dengan % Hambatan Nyeri Asetaminofen

KESIMPULAN

Senyawa 4-asetamidofenil benzoat mempunyai aktifitas analgesik pada mencit (*Mus musculus*) yang sama dengan asetaminofen. ED₅₀ 4-asetamidofenil benzoat sebesar 73,48 mg/kg BB dan asetaminofen memiliki ED₅₀ 68,30 mg/kg BB.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2010, *Profil Kesehatan Propinsi Jawa Timur 2010*, Surabaya: Dinkes Propinsi Jawa Timur
- Fessenden, RJ., Fessenden, JS, 1999, *Kimia Organik*, Jilid I, Edisi 3, Jakarta: Binarupa Aksara
- Gupta, S., Khadivar, PV. Mathur, KC, 2003, Topological Modelling of Analgesia. Dalam: Janda, KD, *Bioorganic & Medical Chemistry*, Oxford: Elsvier 11 (8).
- Ikawati, Z., 2011, *Farmakoterapi Penyakit Sistem Syaraf Pusat*, Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Katzung, BG., 1998, *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: EGC.
- Purwanto., Susilowati, R, 2000, Hubungan Struktur-Aktivitas Obat Analgetika. Dalam: Siswandono., Soekardjo, B (Eds.) *Kimia Medisinal Edisi 2*, Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono, 2000, Metode Modifikasi Struktur Molekul Obat Dalam: Siswandono., Soekardjo, B (Eds.), *Kimia Medisinal Edisi 1*, Surabaya: Airlangga University Press.
- Thompson, EB, 1990, *Drug Bioscreening, Drug Evaluation Technique in Pharmacology*. New York: VCH Publisher Inc.
- Tjay, TH., Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya, Edisi Kelima*, Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.