

SKRIPSI

HERLINA IKAWATI ABDULLAH

**SINTESIS 2-KLOROBENZOILUREA DAN
UJI AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2006**

Lembar Pengesahan

**SINTESIS 2-KLOROBENZOILUREA DAN UJI
AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

Dibuat untuk memenuhi syarat gelar Sarjana Farmasi
pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2006

Oleh :

HERLINA IKAWATI ABDULLAH
050110062 E

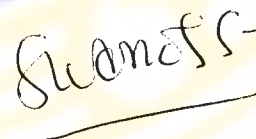
Skripsi ini telah disetujui
tanggal 17 Februari 2006
Oleh:

Pembimbing Utama

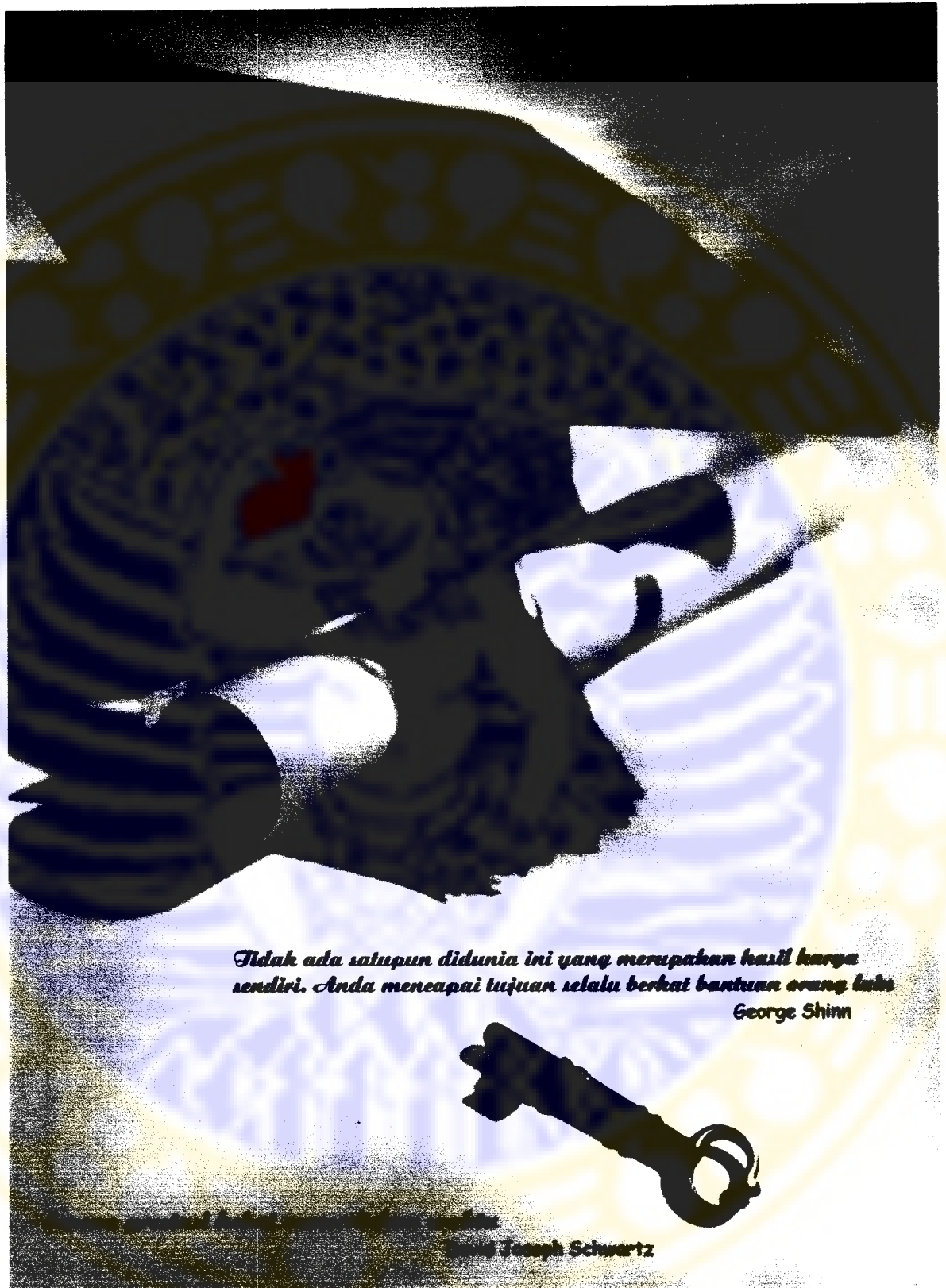
Pembimbing Serta



Ir. Hj. Rully Susilowati, MS.
NIP. 131569381



Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt.
NIP. 130809079



KATA PENGANTAR

ALHAMDULILLAHIROBBIL'ALAMIN. Segala puji bagi ALLAH SWT, pencipta dan pengatur segala sesuatu didunia ini, dan apapun yang terjadi didunia ini telah diatur dan dan semua merupakan rahasia-NYA. Berkat pertolongan serta restu dari ALLAH SWT, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Sintesis 2-klorobenzoilurea Dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat Pada Mencit (*Mus musculus*)** yang diajukan sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan dukungan dan bantuan baik moral maupun material dari banyak pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Ir. Hj. Rully Susilowati, MS selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Prof. Dr. Siswandono, MS, Apt selaku dosen pembimbing serta atas segala bimbingan, masukan, perhatian, semangat dan kesabaran selama penulis menyelesaikan tugas skripsi ini.
2. Ibu Dra. Juni Ekowati, Msi dan Bapak Drs. A. Toto Poernomo, Msi, Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan untuk kesempurnaan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. H. Achmad Syahrani, MS selaku dosen wali yang telah banyak memberikan kesabaran, masukan, bimbingan, perhatian, kemudahan dalam menghadapi urusan kampus selama penulis menyelesaikan studi.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bimbingan yang telah diberikan selama penulis menyelesaikan studi.
5. Papa dan Mama tercinta yang tidak pernah berhenti memberikan perhatian, semangat, pengorbanan, kepercayaan yang senantiasa menyertai langkah penulis.
6. Adekku tersayang yang selalu membantu penulis dalam pengeditan naskah skripsi penulis, memberi semangat, perhatian, kesabaran pada penulis.
7. Mas Fanny FKG 02 tersayang yang tak henti-hentinya memberi semangat, perhatian, pengertian dan bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

8. Pak Tukijo dan mas Tanto di lab. Kimia Medisinal, pak Yanto di lab Sintesis dan pak Pardi di lab Hewan.
9. Teman-teman senasib dan seperjuangan Yani, Dita, Rury, Eva, Wenny. Terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.
10. Ucie, Ridha, Agnes, Epik terima kasih doa dan semangat yang diberikan.
11. Teman-Teman angkatan 2001 ekstension.. Tetap berjuang.
12. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu

Kesempurnaan hanya milik ALLAH SWT dan segala kebenaran berada pada Nya. Semua ini atas restu dan petunjuk ALLAH SWT. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, khususnya pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Surabaya,

Penulis.

RINGKASAN

SINTESIS 2-KLOROBENZOILUREA DAN UJI AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Herlina Ikawati Abdullah

Siswandono (1998) telah mensintesis benzoilurea dan dari hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa senyawa mempunyai efek penekan sistem saraf pusat (uji potensiasi dengan tiopental).

Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi terhadap senyawa urea dengan 2-klorobenzoil klorida melalui reaksi asilasi sehingga dihasilkan senyawa 2-klorobenzoilurea. Metode sintesis yang digunakan adalah gabungan antara metode *Schotten-Baumann* dengan metode pencampuran kering. Modifikasi dilakukan dengan menambah gugus kloro yang memiliki sifat lipofilik dan elektronik yang besar. Penambahan gugus ini diharapkan dapat menambah kemampuan suatu obat untuk menembus lapisan membran biologis dan berikatan dengan reseptor, sehingga dapat meningkatkan aktivitas senyawa dibandingkan dengan senyawa induknya (benzoilurea). Pada sintesis senyawa 2-klorobenzoilurea dilakukan rekristalisasi menggunakan etanol panas. Hasil rekristalisasi senyawa 2-klorobenzoilurea berupa serbuk, putih, berbau khas dan tidak berasa. Hasil rendemen dari sintesis senyawa 2-klorobenzoilurea yaitu 24%.

Kemurnian dari senyawa hasil sintesis diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis dan penentuan titik lebur. Pada Kromatografi Lapis Tipis digunakan tiga macam fase gerak dan hasil uji menunjukkan noda tunggal. Pada uji kemurnian bahan dilakukan penentuan jarak titik lebur yang hasilnya yaitu 190-191°C.

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis, Spektrofotometer FT-IR dan Spektrometer ¹H-NMR. Dari analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, panjang gelombang maksimum pada 221,2 nm; 280 nm. Berdasarkan analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR didapatkan gugus fungsi -NH₂, -NH-, -C=O (amida), -C=C- (aromatis). Dan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah 2-klorobenzoilurea.

Uji aktivitas penekan sistem saraf pusat digunakan uji potensiasi dengan tiopental. Uji potensiasi dilakukan dengan menyuntikkan senyawa hasil sintesis dengan dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB secara intraperitoneal dan pada saat mencapai waktu kadar puncak disuntikkan tiopental dengan dosis 60 mg/kg BB. Diamati waktu lama tidurnya. Waktu tidur mencit paling lama merupakan waktu aktivitas puncak. Dalam penelitian ini, waktu puncak pada menit ke 60. Hasil replikasi 10 kali pada masing-masing senyawa, didapatkan hasil rata-rata waktu tidur untuk senyawa 2-klorobenzoilurea dosis 25 mg/kgBB yaitu 180,8 menit, dosis 50 mg/kgBB yaitu 251,4. Sedangkan rata-rata waktu tidur untuk benzoilurea (senyawa induk) dosis 25 mg/kgBB yaitu 173,8 menit, dosis 50 mg/kgBB yaitu 232,2 menit. Dari data hasil uji potensiasi menunjukkan bahwa 2-klorobenzoilurea memiliki aktivitas sebagai obat penekan susunan saraf pusat berupa efek potensiasi dengan tiopental dan aktivitasnya lebih besar dibanding senyawa induknya yaitu benzoilurea.

ABSTRACT

Synthesis of 2-chlorobenzoylurea and CNS depressant activity test in mice

Synthesis of 2-chlorobenzoylurea was accomplished by reacting 2-chlorobenzoyl chloride with urea. The procedure of acylation used in this research was combination of *Schotten-Baumann* and dry interference method. The yield of 2-chlorobenzoylurea was 24 %. The purity of compound was analyzed by Thin Layer Chromatography and melting point test. According to the UV-Vis, FT-IR, ¹H-NMR analysis, it showed that 2-chlorobenzoylurea was successfully synthesized. 2-Chlorobenzoylurea was tested for CNS depressant activity with potentiation activity to thiopental method by measuring sleeping time and it was more active than benzoylurea as a lead compound.

Keywords : 2-Chlorobenzoylurea, Synthesis, CNS depressant activity

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Hipotesis	4
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Tentang Anatomi dan Fisiologi Sistem Saraf Pusat	5
2.2. Tinjauan Tentang Mekanisme Tidur.....	5
2.2.1. Fisiologi Tidur	5
2.2.2. Jenis-Jenis Tidur	6
2.2.3. Siklus Antara Keadaan Tidur dan Keadaan Waspada.....	6
2.3. Tinjauan Tentang Obat Penekan Sistem Saraf Pusat.....	7
2.3.1. Anestesi Sistemik	7
2.3.2. Sedatif – Hipnotika	7
2.3.3. Relaksan Pusat.....	8
2.3.4. Obat Antipsikotik	8
2.3.5. Obat Antikejang.....	9
2.4. Tinjauan Tentang Benzoilurea.....	9

2.4. Tinjauan Tentang Benzoilurea	9
2.5. Tinjauan Tentang 2-klorobenzoilurea	10
2.6. Tinjauan Tentang Rx Asilasi.....	10
2.7. Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis	12
2.8. Tinjauan Tentang Titik Lebur	13
2.9. Tinjauan Tentang Identifikasi Struktur	14
2.9.1. Tinjauan Tentang Spektrofotometer UV – Vis	14
2.9.2. Tinjauan Tentang Spektrofotometer IR	14
2.9.3. Tinjauan Tentang Spektrometer Resonansi Magnet Inti ($^1\text{H} - \text{NMR}$)	15
2.10. Tinjauan Tentang Metode Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	15
2.10.1. Metode Potensiasi	15
2.10.2. Metode Kandang Aktivitas	16
2.10.3. Metode Batang Putar	16
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	17
3.1. Uraian Kerangka Konseptual	17
3.2. Bagan Alur Berfikir	18
BAB IV BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN	19
4.1. Bahan Penelitian.....	19
4.1.1. Bahan Kimia	19
4.1.2. Hewan Coba	19
4.2. Alat Penelitian	19
4.3. Metode Penelitian	20
4.3.1. Prosedur Sintesis Senyawa 2-klorobenzoilurea	20
4.3.2. Analisis Kualitatif	20
4.3.2.1. Pemeriksaan Organoleptis	20
4.3.2.2. Pemeriksaan Kemurnian Bahan	21
4.3.3. Analisis Senyawa 2-klorobenzoilurea	21
4.3.3.1. Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis	21
4.3.3.2. Identifikasi Struktur Senyawa 2-klorobenzoilurea	21

4.3.5. Prosedur Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	22
4.3.5.1. Pembuatan Sediaan Suspensi 2-klorobenzoilurea	22
4.3.5.2. Pembuatan Sediaan Suspensi Benzoilurea	23
4.3.5.3. Pembuatan Sediaan Suspensi Tiopental	23
4.3.5.4. Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	23
4.4. Analisis Data	27
BAB V HASIL PENELITIAN	28
5.1. Hasil Analisis Sintesis 2-klorobenzoilurea	28
5.1.1. Hasil sintesis 2-klorobenzoilurea.....	28
5.1.2. Pemeriksaan Organoleptis	28
5.1.3. Pemeriksaan Titik Lebur Senyawa Hasil Sintesis	28
5.1.4. Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis.....	29
5.2. Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis.....	30
5.2.1. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer UV-Vis	30
5.2.2. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer FT-IR.....	31
5.2.3. Pemeriksaan dengan Spektrometer ¹ H-NMR	32
5.3. Penentuan Aktivitas Potensiasi.....	33
5.3.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak.....	33
5.3.1.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Senyawa Benzoilurea	33
5.3.1.2. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Senyawa 2- klorobenzoilurea	34
5.3.2. Hasil Penentuan Aktivitas Potensiasi.....	35
BAB VI PEMBAHASAN	38
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	43
7.1. Kesimpulan.....	43
7.2. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1. Struktur Kimia Benzoilurea, Bromisovalum, Turunan Barbiturat, 2-klorobenzoilurea.....	2
Gambar 2.1. Struktur Senyawa Benzoilurea.....	9
Gambar 2.2. Struktur Senyawa 2-klorobenzoilurea.....	10
Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Asilasi.....	10
Gambar 2.4. Mekanisme Reaksi Asilasi Senyawa 2-klorobenzoilurea.....	11
Gambar 3.1. Bagan Alur Berfikir.....	18
Gambar 4.1. Bagan Kerja Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat.....	26
Gambar 5.1. Spektrum Ultraviolet Dari Senyawa 2-klorobenzoilurea Dalam Pelarut Etanol.....	30
Gambar 5.2. Spektrum Inframerah Senyawa 2-klorobenzoilurea.....	31
Gambar 5.3. Spektrum ¹ H-NMR Senyawa 2-klorobenzoilurea Dalam Pelarut CDCl ₃	32
Gambar 5.4. Kurva hubungan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa Benzoilurea.....	34
Gambar 5.5. Kurva hubungan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa 2-klorobenzoilurea.....	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Senyawa 2-klorobenzoilurea	26
Tabel 5.2. Hasil Pengamatan Titik Lebur Senyawa 2-klorobenzoilurea	27
Tabel 5.3. Harga Rf Senyawa Benzoilurea dan 2-klorobenzoilurea	27
Tabel 5.4. Karakteristik Spektrum InfraMerah Senyawa 2-klorobenzoilurea..	32
Tabel 5.5. Karakteristik Spektrum ¹ H-NMR Senyawa 2-klorobenzoilurea	33
Tabel 5.6. Data Hasil Pengamatan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa Benzoilurea.....	33
Tabel 5.7. Data Hasil Pengamatan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa 2-klorobenzoilurea.....	35
Tabel 5.8. Hasil Pengamatan Waktu Tidur Pada Uji Potensiasi	36
Tabel 5.9. Harga Selisih Waktu Tidur Rata-Rata Antar Perlakuan	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Pemeriksaan Senyawa Benzoilurea	47
Lampiran 2 Analisis Statistik Uji F Satu Arah Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	48
Lampiran 3 Perhitungan Hasil Rendemen	50
Lampiran 4 Perhitungan Harga LSD	51
Lampiran 5 Tabel Harga F	52
Lampiran 6 Tabel Harga T	53
Lampiran 7 Gambar Mencit	54
Lampiran 8 Sertifikasi Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>)	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

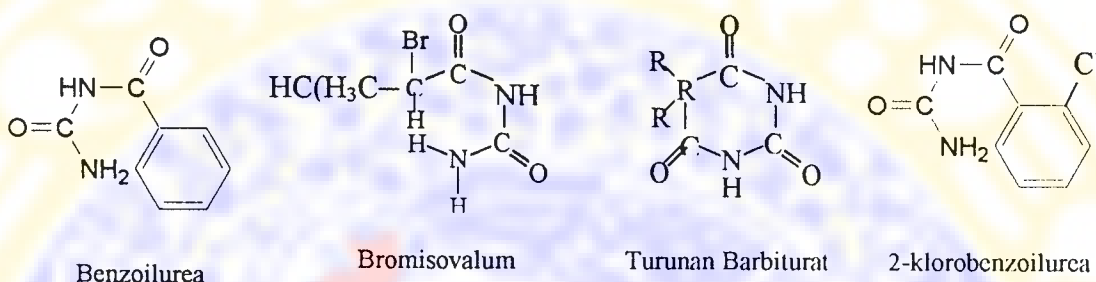
Di era globalisasi ini, manusia dituntut untuk mampu memenuhi kebutuhan hidupnya sendiri. Tuntutan tersebut kadangkala mengalami kendala dan tidak jarang mengakibatkan manusia menjadi stres. Stres sendiri dapat timbul karena frustrasi, konflik, tekanan atau krisis.

Daya tahan stress pada setiap orang berbeda-beda tergantung pada keadaan somato-psikologikalnya. Bila daya tahan stres di atas nilai ambang frustrasi dilampaui, maka akan terjadi ketidakseimbangan atau kekacauan dalam pribadi yang bersangkutan baik rohani, jasmani maupun keadaan sosial masyarakat. Pemberian obat psikotropik merupakan salah satu bentuk pengobatan dalam Ilmu Kedokteran Jiwa. Obat tersebut memberikan efek terapan langsung pada otak. Pada umumnya penderita stres dan gangguan jiwa diobati dengan obat-obat penekan saraf pusat yang bersifat menghambat aktivitas sistem penekan saraf pusat. Selain itu penggunaan obat-obat tersebut kadang menimbulkan efek samping yang tidak ringan aktivitasnya yang belum optimal. Oleh karena itu perlu ada usaha mengembangkan obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping yang sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar.

Variasi struktur mengakibatkan perubahan sifat fisika dan reaktivitas kimia yang mungkin dapat menimbulkan perubahan metabolisme dan ekskresi senyawa tersebut (Reksohadiprodjo, 1988). Aktivitas biologis berhubungan dengan struktur kimia yang dijelaskan melalui parameter yang menggambarkan perubahan sifat fisika kimia yaitu parameter lipofilik, elektronik dan sterik. Sifat lipofilik mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik terutama mempengaruhi proses interaksi obat-reseptor dan juga mempengaruhi penembusan membran biologis, sedang sifat sterik menentukan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor dalam sel (Purcell dkk, 1972; Hyde, 1975).

Dalam usaha untuk mendapatkan senyawa bioaktif dengan aktivitas yang optimal sebagai penekan sistem saraf pusat telah dilakukan modifikasi struktur urea.

Siswandono (1998) telah melakukan sintesis senyawa benzoilurea melalui reaksi asilasi antara salah satu gugus amina primer urea dengan turunan benzoil klorida. Benzoilurea memiliki gugus farmakofor yang sama dengan bromisovalum yaitu gugus ureida asiklik dan mirip dengan barbiturat yang mengandung gugus ureida asiklik sehingga diharapkan mempunyai efek penekan saraf pusat.



Gambar 1.1. Struktur kimia benzoilurea, bromisovalum, turunan barbiturat, 2-klorobenzoilurea

Hasil uji aktivitas benzoilurea menunjukkan bahwa senyawa mempunyai aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi dengan tiopental dan mempunyai efek hipnotik lemah pada mencit sehingga dapat dijadikan sebagai senyawa penuntun untuk dikembangkan lebih lanjut aktivitasnya. Dalam penelitian ini dilakukan sintesis senyawa 2-klorobenzoilurea dengan mereaksikan antara 2-klorobenzoil klorida dan urea. Adanya gugus kloro akan mengubah sifat fisika kimia senyawa yaitu sifat lipofilik, elektronik dan sterik. Dari hasil perhitungan log P secara teoritis dengan program Chemoffice 7.0 didapatkan bahwa nilai log P benzoilurea = 0,56, MR = 42,36 cm³/mol, sedang log P dari 2-klorobenzoil urea = 1,12, MR = 46,96 cm³/mol dan nilai σ dari gugus Cl pada posisi *orto* = 0. Peningkatan sifat lipofilik akan meningkatkan penembusan senyawa ke dalam membran biologis, jumlah senyawa yang akan berinteraksi dengan reseptor meningkat sehingga diharapkan aktivitas biologisnya juga meningkat. Peningkatan sifat sterik dapat meningkatkan aktivitas biologis karena dapat memperkuat ikatan obat dengan reseptor, tetapi dapat pula menurunkan aktivitas apabila memberikan halangan ruang pada proses interaksi obat-reseptor (letak gugus berada di dekat gugus farmakofor).

Rancangan sintesis dalam penelitian ini adalah melakukan asilasi salah satu gugus amin dari urea dengan 2-klorobenzoil klorida. Sintesis senyawa 2-klorobenzoilurea juga dipengaruhi oleh adanya gugus kloro yang bersifat penarik elektron dan letaknya pada posisi orto yang dapat memberikan pengaruh halangan ruang. Hal ini akan mempengaruhi proses reaksi asilasi dalam mensintesis 2-klorobenzoilurea. Ada beberapa metode reaksi asilasi, antara lain metode pencampuran kering (Reksohadiprodjo, 1981; Tjiptasurasa, 1991), dan metode *Schotten-Baumann* dengan menggunakan pelarut tertentu, seperti piridina atau tetrahidrofuran (Mc Murry, 1984; Soekardjo, 1989). Presentase hasil sintesis dengan metode pencampuran fisik relatif kecil sedang dengan metode *Schotten-Baumann* semua bahan reaksi harus terlarut dalam pelarut yang digunakan (Soekardjo, 1989; Mc Murry, 1984). Mengingat bahwa urea tidak larut dalam pelarut yang digunakan (Tetrahidrofuran), maka dalam modifikasi struktur benzoilurea ini digunakan gabungan kedua metode di atas.

Senyawa hasil sintesis diuji kemurniannya dengan menggunakan penentuan titik lebur dan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan tiga fase gerak. Identifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV dan inframerah (IR), serta spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$), (Silverstein dkk, 1981; Creswell dkk, 1982; Pavia dkk, 1996).

Pada penelitian ini uji aktivitas penekan sistem saraf pusat dari senyawa 2-klorobenzoilurea dilakukan dengan uji potensiasi berupa pengukuran waktu mulai tidur dan lama tidur. Uji potensiasi dipilih karena merupakan uji farmakologis yang sering digunakan untuk mengetahui apakah senyawa bekerja sebagai penekan sistem saraf pusat. Uji potensiasi dilakukan dengan memberikan senyawa uji bersama dengan obat penekan sistem saraf pusat turunan barbiturat yaitu tiopental. Sebagai senyawa pembanding digunakan senyawa induk yaitu benzoilurea.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur BALB'C' karena mudah didapat, relatif murah, mempunyai sistem saraf yang mirip dengan saraf manusia dan sering digunakan untuk uji aktivitas obat-obat penekan sistem saraf pusat (Thompson, 1990).

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa 2-klorobenzoilurea dapat disintesis dengan cara reaksi asilasi antara senyawa urea dengan 2-klorobenzoil klorida dan berapa persentase hasilnya?
2. Apakah senyawa 2-klorobenzoilurea mempunyai aktivitas berupa efek potensiasi pada mencit (*Mus musculus*) dan aktivitasnya lebih besar dibandingkan senyawa induk (benzoilurea) ?

1.3. Hipotesis

1. Senyawa 2-klorobenzoilurea dapat disintesis dengan cara reaksi asilasi antara senyawa urea dengan 2-klorobenzoil klorida.
2. Senyawa 2-klorobenzoilurea mempunyai aktivitas sebagai penekan saraf pusat (efek potensiasi) pada mencit (*Mus musculus*) dan memiliki aktivitas lebih besar dibanding senyawa induk benzoilurea.

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan 2-klorobenzoilurea sebagai senyawa baru turunan benzoilurea dari reaksi asilasi dan mendapatkan persentase hasilnya.
2. Mengetahui efek penekan sistem saraf pusat (potensiasi dengan tiopental) senyawa 2-klorobenzoilurea dan membandingkan dengan senyawa induk yaitu benzoilurea.

1.5. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan senyawa baru hasil sintesis turunan benzoilurea mempunyai aktivitas sebagai sistem saraf pusat yang lebih baik dari senyawa induknya dan juga dapat dimanfaatkan serta dikembangkan lebih lanjut dalam rangka mendapatkan senyawa dengan aktivitas penekan susunan saraf pusat yang besar dengan efek samping yang lebih kecil.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Anatomi dan Fisiologi Sistem Saraf Pusat

Unit dasar dari sistem saraf pusat adalah neuron atau disebut dengan sel saraf. Setiap neuron merupakan kesatuan sel saraf tersendiri dan terdiri dari inti sel, badan sel, akson dan dendrit. Neuron diselubungi oleh membran permukaan. Membran tersebut terdiri atas lapisan lipoprotein yang bersifat semipermeable. Badan sel tersusun dari larutan lipoprotein koloidal seperti agar yang mengandung banyak air dan didalamnya terlarut glukosa, garam, oksigen, karbon dioksida, dan lain – lain (Vida, 1995).

Sel saraf merupakan sel yang peka yaitu mampu menghantarkan impuls elektrokimia sepanjang membrannya. Pada umumnya anion lebih banyak tertimbun tepat pada sebelah dalam dari permukaan membran, sedangkan kation tepat pada sebelah luar dari membran. Efek dari keadaan ini akan menimbulkan potensial listrik pada membran sel yang disebut sebagai potensial membran. Hal yang menyebabkan terjadinya potensial membran adalah transport aktif ion-ion melalui membran, sehingga menimbulkan ketidakseimbangan muatan positif dan negatif pada kedua sisi membran. Hal lain yang menyebabkan timbulnya potensial membran adalah difusi ion-ion melalui membran sebagai akibat selisih konsentrasi antara kedua sisi membran.

2.2. Tinjauan Tentang Mekanisme Tidur

2.2.1. Fisiologi Tidur

Tidur dahulu pernah dianggap proses pasif penemuan revolusioner tentang sistem pengaktifan menarik oleh Morruzi dan Magoun mengubah teori ini. Sekarang keadaan tidur dianggap proses aktif, yang diatur oleh sistem pengaktifan retikular. Peningkatan aktivitas menyebabkan keadaan bangun, dan pengurangan aktivitas menghasilkan dua keadaan tidur. Teori ini diperkuat oleh penemuan bahwa hewan coba yang tidur dapat dibangunkan melalui rangsangan elektroda yang ditanamkan dalam bentuk retikular otak tengah (*mecen cepalon*) (Vida, 1995)

Pada keadaan normal, orang dewasa normal pada malam hari menunjukkan pola tidur yang teratur 20%-25% adalah tidur REM dan 75%-80% tidur NREM. NREM selalu mendahului tidur REM. Setelah seseorang menjalani kira-kira 90 menit tidur NREM terjadilah tidur REM pertama, yang lama rata-ratanya kira-kira 20 menit kemudian, masa REM terjadi secara mendaur dengan jarak waktu kira-kira 90 menit selama semalam, terjadi 4 atau 5 masa bermimpi (tidur REM), yang merupakan kira-kira 20% dari waktu tidur total (Vida, 1995)

2.2.2. Jenis-Jenis Tidur

Berdasarkan pengukuran neurofisiologik, khususnya elektroensefalografi, dapat ditemukan berbagai jenis tidur yaitu tidur NREM (*Non Rapid Eye Movement*) dan tidur REM (*Rapid Eye movement*). Tidur NREM terbagi lagi menjadi beberapa fase tidur yaitu stadium memasuki tidur (stadium I), stadium ringan (stadium II), stadium tidur cukup dalam (stadium III), dan stadium tidur dalam (stadium IV). Tahap tidur ini begitu tenang dan dapat dihubungkan dengan penurunan tonus pembuluh darah perifer dan fungsi fungsi vegetatif tubuh lainnya. Selain itu tekanan darah, frekuensi pernafasan, dan kecepatan metabolisme basal akan berkurang 10 % sampai 30 %. Tidur REM berlangsung selama 5 sampai 30 menit dan biasanya muncul rata-rata setiap 90 menit, dimana tidur REM yang pertama terjadi dalam waktu 80 sampai 100 menit sesudah orang itu tidur. Tidur ini ditandai dengan aktivitas listrik kuat, fase terjadinya mimpi, tonus otot menurun, otak menjadi sangat aktif dan metabolisme diseluruh otak meningkat sebanyak 20 % (Vida, 1995)

2.2.3. Siklus Antara Keadaan Tidur dan Keadaan Waspada

Bila sistem pengaktivasi retikularis diistirahatkan secara lengkap dan pusat tidur tidak diaktivasi, maka pusat keadaan waspada mungkin memulai aktivitas secara spontan. Sebaliknya ini mengeksitasi korteks serebri dan susunan saraf perifer. Kemudian, isyarat umpan balik positif yang datang dari kedua area ini, kembali ke sistem retikularis untuk mengaktifkannya lebih lanjut tetapi setelah otak teraktivasi selama beberapa jam, juga neuron-neuron didalam sistem pengaktivasi mungkin menjadi lelah atau faktor lain mengaktivasi pusat tidur. Akibatnya, siklus umpan balik positif antara sistem pengaktivasi retikularis dengan korteks dan juga antara

sistem pengaktivasi retikularis dengan perifer, akan mulai menghilang, secepat beberapa neuron di dalam sistem pengaktivasi retikularis menjadi tidak aktif ini juga mengeliminasi bagian stimulus umpan balik ke neuron lainnya, sehingga ini juga menjadi tidak aktif. Proses ini cepat menyebar melalui neuron-neuron dan menyebabkan pergantian yang cepat antara keadaan waspada ke keadaan tidur (Vida, 1995)

2.3. Tinjauan Tentang Obat Penekan Sistem Saraf Pusat

Obat Penekan saraf pusat adalah senyawa yang dapat menghambat aktivitas sistem saraf pusat. Berdasarkan efek farmakologinya penekan saraf pusat dibagi menjadi lima golongan, yaitu anastesi sistemik, sedatif-hipnotik, relaksan pusat, anti psikotik, obat anti kejang (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.3.1. Anastesi Sistemik

Zat anastesi umum menghambat sistem saraf pusat secara bertahap, mula-mula fungsi yang dihambat dan paling akhir dihambat medulla oblongata dimana terletak pusat vasomotor dan pusat pernafasan yang vital. Anastesi sistemik adalah senyawa yang dapat menekan aktivitas fungsional sistem saraf pusat sehingga menyebabkan hilangnya kesadaran, menimbulkan efek analgesik dan relaksasi otot serta menurunkan aktivitas refleks. Efek samping yang ditimbulkan dari pemakaian obat anastesi sistemik antara lain delirium, takikardia (kecuali halotan), aritmia jantung, depresi pernafasan, spasme pada bronki dan laring, hipotensi, mual, pusing sesudah operasi, kadang-kadang ada yang menimbulkan hepatotoksik, nefrotoksik dan karsinogenik. Contoh obat penekan saraf pusat golongan anastesi sistemik antara lain Enfluran, eter, kloroform, isofluran, metoksifluran, metoksital Na, tiopental Na (Ganiswarna, 1995; Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.3.2. Sedatif-Hipnotik

Sedatif adalah senyawa yang menimbulkan sedasi, yaitu suatu keadaan terjadinya penurunan kepekaan terhadap rangsangan dari luar karena ada penekanan sistem saraf pusat yang ringan. Senyawa ini digunakan untuk menekan kecemasan yang diakibatkan ketegangan emosi dan tekanan kronik yang disebabkan oleh

penyakit, untuk mengontrol kejang dan untuk menunjang efek anestesi sistemik. **Hipnotik** adalah zat-zat yang diberikan pada malam hari dalam dosis terapi dapat mempertinggi keinginan tidur, mempermudah atau menyebabkan tidur. Hipnotik digunakan untuk pengobatan gangguan tidur atau insomnia. Perbedaan efek farmakologi dari sedatif dan hipnotik terletak pada waktu penggunaan, dosis. Efek sedatif-hipnotik adalah mengantuk dan perasaan tidak enak waktu bangun. Contoh golongan obat sedatif-hipnotik, yaitu turunan alkohol, aldehid, barbiturat dan benzodiazepin. Turunan barbiturat bekerja dengan menekan transmisi sinaptik pada sistem pengaktifan retikula di otak dengan cara mengubah permeabilitas membran sel sehingga mengurangi rangsangan sel postsinaptik. Turunan yang lain adalah ureida asiklik yang merupakan turunan urea dan asam mono karboksilat. Turunan senyawa ini digunakan untuk pengobatan kecemasan dan ketegangan saraf bila turunan barbiturat tidak efektif lagi. Namun penggunaan jangka panjang tidak dianjurkan karena pada *in vivo* senyawa melepaskan bromide dan menyebabkan hiperbromida. Turunan yang lainnya adalah piperindindion dan kuinazolin yang mempunyai struktur berhubungan dengan turunan barbiturat. dengan aktivitas lebih rendah dibanding turunan benzodiazepin dan barbiturate (Siswandono dan Soekardjo, 2000)

2.3.3. Relaksan Pusat

Relaksan pusat adalah senyawa yang dapat menekan fungsi saraf pusat dan menimbulkan relaksasi otot rangka (otot bergaris) pada keadaan kekejangan atau spasma juga dapat digunakan untuk pengobatan tetanus. Efek farmakologi lain yang dimiliki oleh kebanyakan obat relaksan otot adalah sedatif hipnotik, antipsikoti. Obat obat relaksan pusat memiliki efek samping antara lain: mengantuk, lesu, pusing dan penglihatan kabur. Contoh obat relaksan pusat yaitu: klormezanon, klorzoksazon, baklofen, dan mefelsin (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.3.4. Obat Antipsikotik

Obat antipsikotik dapat menghasilkan efek penekan sistem saraf pusat secara selektif yaitu memberikan efek sedasi kuat tanpa menurunkan kesadaran atau

menekan pusat vital, meskipun dalam dosis yang besar. Obat antipsikotik digunakan untuk pengobatan gangguan kejiwaan yang berat seperti skizofrenia dan meringankan gejala akibat penyakit tersebut. Senyawa yang termasuk obat antipsikotik, yaitu turunan fenotiazin yang digunakan untuk pengobatan gangguan mental dan emosi yang cukup sampai berat. Turunan fenotiazin juga memiliki aktivitas antiemetik, simpatolitik, antikolinergik, contohnya klorpromazin (Siswandono dan Soekardjo, 2000)

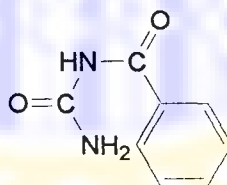
2.3.5. Obat Antikejang

Obat antikejang adalah senyawa yang secara selektif dapat menekan sistem saraf pusat dan digunakan untuk mengontrol dan mencegah serangan tiba-tiba dari epilepsy tanpa menimbulkan depresi penafasan. Obat antikejang bersifat simptomatik yaitu hanya meringankan gejala saja tetapi tidak menyembuhkan, sehingga pengobatan epilepsi diberikan untuk seumur hidup.

Termasuk dalam golongan obat antikejang, yaitu turunan barbiturat seperti fenobarbital terutama untuk mengontrol serangan kejang, Golongan benzodiazepin seperti diazepam (Siswandono dan Soekardjo, 2000)

2.4. Tinjauan Tentang Benzoilurea

Senyawa benzoilurea memiliki bentuk kristal tipis, batang, mengkilap, berwarna putih, tidak berbau, tidak mempunyai rasa dan mempunyai jarak lebur 212-213°C. senyawa ini sukar larut dalam air, agak sukar larut dalam metanol, etanol, Kloroform, larut dalam dimetil sulfoxid (DMSO), etanol panas dan aseton (Siswandono, 1999).



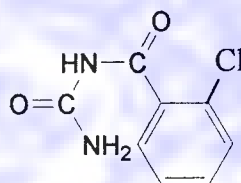
Gambar 2.1 Struktur senyawa benzoilurea

Senyawa benzoilurea termasuk dalam senyawa turunan ureida asiklik juga disintesis melalui reaksi asilasi urea dan benzoilklorida. Senyawa tersebut telah diuji

kemurniannya dari penentuan jarak lebur, kromatografi lapis tipis (KLT) dan diidentifikasi strukturnya dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet (UV) dan infra merah (IR).spektrofotometer magnet inti (^1H NMR dan ^{13}C NMR) dan spektrofotometer massa (MS).

2.5. Tinjauan Tentang 2-Klorobenzoilurea

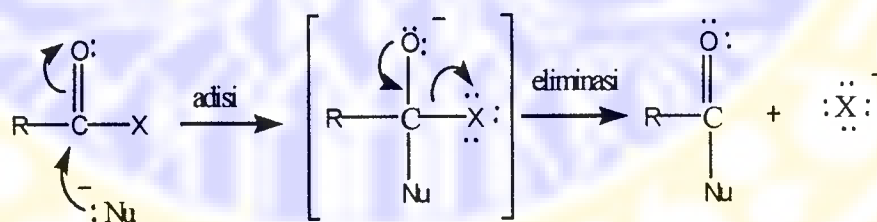
Senyawa 2-klorobenzoilurea berbentuk serbuk putih, berbau khas, tidak berasa dan mempunyai jarak lebur $190\text{-}191^\circ\text{C}$. Larut dalam etanol panas. Sukar larut dalam kloroform.



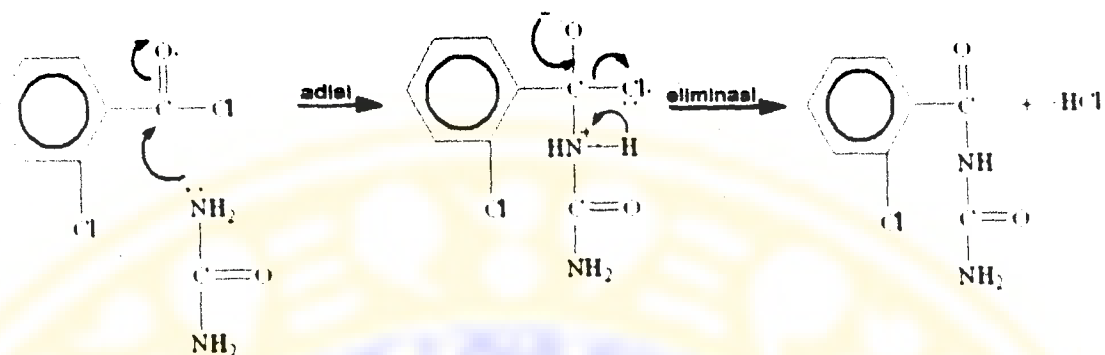
Gambar 2.2 Struktur Senyawa 2-klorobenzoilurea

2.6. Tinjauan Tentang Reaksi Asilasi

Reaksi asilasi merupakan proses pemindahan gugus asil (RCO-) dari satu gugus molekul kegugus molekul lain. Reaksi ini umumnya terjadi pada senyawa klorida asam dengan suatu nukleofil, juga sering disebut dengan reaksi substitusi nukleofilik. Mekanisme reaksi terdiri dari dua tahap, tahap pertama adalah adisi nukleofil pada gugus karbonil dan tahap kedua adalah eliminasi ion halida.



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi asilasi



Gambar 2.4. *Reaksi asilasi 2-klorobenzoilurea*

Tahap pertama terjadi penyerangan pada gugus karbonil dan pembentukan hasil antara tetrahedral yang didukung oleh halangan sterik relatif dari karbonil dan kemampuan atom oksigen untuk menampung sepasang elektron tambahan sehingga mempermudah penyerangan pada karbon.

Tahap kedua adalah penataan kembali elektron – elektron dan diikuti pengusiran gugus pergi (X) yang tergantung pada kebasahan gugus pergi tersebut. Basa yang lemah merupakan suatu gugus pergi yang baik. Adapun urutan kebasahan gugus pergi adalah:



(Fessenden and Fessenden, 1986)

Ada dua macam metode untuk melakukan reaksi asilasi ini:

1. Metode *Schotten-Baumann*

Pada reaksi asilasi dengan metode *Schotten-Baumann*, sintesis dilakukan dalam suasana basa, senyawa yang akan disintesis harus larut dalam pelarut yang digunakan. Senyawa amina atau garamnya dilarutkan atau disuspensikan ke dalam 8 – 15 % larutan NaOH, kemudian ditambahkan 10 – 15 % benzoil klorida setetes demi setetes dan campuran ini diaduk cepat dengan menggunakan pengaduk magnet selama beberapa menit. Reaksi benzoilasi berlangsung dengan cepat dan senyawa hasil reaksinya memisah membentuk endapan terpisah dan sukar larut. NaOH

berfungsi untuk menghidrolisis kelebihan benzoil klorida, menghasilkan Natrium benzoat dan NaCl yang larut dalam air (Marrison and Boyd, 1976; Furniss, 1976).

Selain NaOH, dapat juga digunakan piridina (suatu basa organik). Fungsi basa organik ini tidak hanya untuk menetralkan asam klorida yang dihasilkan tapi juga berfungsi sebagai katalisator, terutama piridina yang dapat meningkatkan kemampuan pengasilasi klorida asam.

2. Cara Pencampuran Kering

Merupakan metode reaksi yang digunakan untuk mereaksikan antara dua senyawa yang berbentuk padat. Keduanya dicampur dan dipanaskan bersama-sama sampai mencair. Cairan hasil reaksi kemudian dimurnikan. Reaksi ini relatif jarang digunakan karena memerlukan banyak pereaksi dan hasil reaksinya belum murni, hasil berupa campuran senyawa. Kekurangan cara ini adalah rendemen hasilnya relatif kecil karena reaksi tidak berjalan sempurna (Furniss, 1978).

Pada sintesis 2-klorobenzoilurea dilakukan kombinasi dari kedua metode di atas, dan sebagai pelarut digunakan tetrahidrofur (Siswandono, 1999).

2.7. Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT adalah teknik pemurnian campuran zat yang didasarkan atas perbedaan kecepatan migrasi dari masing-masing komponennya pada fase diam dibawah fase gerak. Bila dibandingkan dengan cara lain, keuntungan metode ini adalah memerlukan sampel dalam jumlah relatif sedikit dan waktunya lebih singkat, namun memberikan hasil yang cukup baik (Stahl, E., 1985)

Fase diam yang umum banyak dipakai adalah silika gel yang dicampur dengan CaSo₄ untuk menambah daya lengket partikel silika gel pada pelat. Adsorban lain yang banyak dipakai adalah alumina, kieselguhr, selulose, celite, kanji dan sepadex. Keadaan uniform fase diam ini untuk tujuan didapatkannya pemisahan yang baik, laju aliran pelarut pengembang yang cepat dan merata.

Untuk pemisahan komponen sampel non polar atau hidrofobik pada proses pemisahan adsorpsi diusahakan pelarut pengembang yang bersifat non polar.

Sebaliknya pada proses pemisahan partisi sampel yang polar atau hidrofilik dipakai pelarut pengembang yang bersifat polar.

Pengekoran noda kromatogram terjadi apabila proses pemisahan yang terjadi tidak sempurna yang digambarkan dengan noda yang tidak bulat, terlalu tingginya konsentrasi komponen, ketidak jenuhan *chamber* sehingga fase mobil yang mengelusi pelat KLT segera menguap dalam ruang *chamber* KLT. Ketidaktepatan pemilihan fase mobil terhadap jenis fase diam juga merupakan penyebab pengekoran (Stahl, E., 1985).

Pada tehnik ini, sampel berupa larutan yang ditotolkan pada pelat atau lempeng kromatogram kemudian dieluasi dengan eluen yang sesuai sehingga terjadi pemisahan yang baik dari campuran tersebut. KLT dapat digunakan untuk analisis kualitatif, dideteksi dengan membandingkan warna noda dan harga Rf sampel dengan harga Rf pembanding.

Sebagai parameter untuk menentukan letak noda pada KLT adalah harga Rf (Retardation factor) yaitu hasil bagi jarak noda dari titik awal dengan jarak yang ditempuh pelarut dari titik awal :

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen (cm)}}$$

2.8. Tinjauan Tentang Titik Lebur

Titik lebur adalah salah satu parameter yang digunakan untuk menunjukkan kemurnian dari suatu senyawa. Titik lebur merupakan suhu dimana fase padat dari suatu zat berada dalam keseimbangan dengan fase cairnya (Harrwood, 1989).

Umumnya senyawa organik murni mempunyai titik lebur yang tajam dengan rentang lebur tidak lebih 0,5-1°C. Ketajaman titik lebur dipengaruhi oleh ukuran kristal, jumlah sampel, adanya pengotor zat lain, dan kecepatan pemanasan. Adanya pengotor akan menyebabkan titik lebur turun dan memperlebar rentang leburnya (Vogel, 1968).

Dalam penentuan titik lebur senyawa murni perlu adanya pembanding sebagai penunjang untuk membantu mengidentifikasi senyawa murni tersebut. Jika antar

senyawa pembanding dan senyawa murni mempunyai perbedaan titik lebur tidak lebih dari 1°C maka dapat dianggap bahwa senyawa tersebut murni (Vogel, 1968).

2.9. Tinjauan Tentang Identifikasi Struktur

Identifikasi struktur suatu senyawa dapat ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, dan spektrometer resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$).

2.9.1. Tinjauan Tentang Spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi struktur dengan spektrofotometer UV pada umumnya adalah melihat intensitas dan panjang gelombang (λ) maksimum senyawa dari spektrum yang terbentuk. Intensitas dan panjang gelombang (λ) maksimum tersebut tergantung pada struktur elektrolit dari gugus-gugus yang terdapat dalam struktur molekul senyawa. Gugus yang dapat menyebabkan terjadinya serapan pada cahaya pada daerah ultra-violet dan sinar tampak disebut gugus kromofor.

Contoh gugus kromofor : C-O-, -C-N-, -C-Cl, -C-S-, -C=O, -C=C-

Sedang gugus auksokrom adalah gugus jenuh atau heteroatom yang bila terikat pada gugus kromofor dapat mengubah intensitas serapan dan panjang gelombang maksimum. Contoh gugus auksokrom : -OCH₃, -Cl, -OH, -NH₂ (Silverstein, 1981; Creswel, 1982; Pavia, 1996).

2.9.2. Tinjauan Tentang Spektrofotometer IR

Spektrofotometer IR digunakan untuk identifikasi gugus-gugus fungsional dari suatu senyawa. Daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus fungsional adalah daerah antara 1400-4000 cm^{-1} , yang berada pada bagian kiri spektrum infra merah (Fessenden and Fessenden, 1986).

Absorpsi yang disebabkan karena uluran C=C aromatis nampak pada kira-kira 1400-1500 cm^{-1} . Amina menunjukkan absorpsi uluran NH yang jelas pada 3000-3700 cm^{-1} dikiri absorpsi CH. Bila terdapat dua hidrogen pada suatu nitrogen amina (---NH_2), absorpsi NH nampak sebagai peak kembar. Gugus karbonil akan memberikan absorpsi pada daerah 1600-1725 cm^{-1} (Pavia, 1996).

2.9.3. Tinjauan Tentang Spektrometer Resonansi Magnit Inti ($^1\text{H-NMR}$)

Spektroskopi ^1H -Resonansi magnet inti merupakan metode yang penting dalam identifikasi struktur karena dapat memberikan informasi tentang lingkungan kimia dari atom hidrogen, jumlah atom hidrogen dalam setiap lingkungan dan struktur gugus yang berdekatan dengan setiap atom hidrogen dalam molekul. Resonansi magnet inti diakibatkan oleh penyerapan radiasi elektromagnetik oleh proton-proton dalam suatu medan magnet (H_0), yang membalik dari keadaan spin paralel ke antiparalel. Suatu medan magnet molekul imbasan dapat memperisai proton atau meniadakan perisai dan mengakibatkan suatu geseran kimia (δ) dari pita absorpsi. Medan imbasan adalah hasil efek anisotropik dan efek induktif suatu proton yang terperisai akan menyerap diatas medan mendekati TMS rujukan, sedangkan proton yang kurang terperisai akan menyerap dibawah medan. Adanya cincin benzena akan ditunjukkan pada daerah 6-8 ppm, pada daerah 9-10 ppm akan menunjukkan adanya gugus NH (Fessenden and Fessenden, 1992).

2.10. Tinjauan Tentang Metode Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

Efek farmakologi suatu obat penekan sistem saraf pusat berhubungan dengan dosis. Dosis kecil menyebabkan sedasi, dosis yang lebih besar menyebabkan hipnosis dan yang lebih besar lagi menyebabkan anastesi bedah.

Ada beberapa metode uji aktivitas penekan sistem saraf pusat yang digunakan untuk mengetahui apakah senyawa tersebut mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat atau tidak. Metode tersebut antara lain adalah metode potensiasi, metode batang putar, metode kandang aktivitas. Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode potensiasi dengan tiopental (Wolff, 1996).

2.10.1. Metode Potensiasi

Efek potensiasi timbul jika suatu senyawa yang memberikan efek penekan sistem saraf pusat diberikan bersama senyawa lain yang juga punya efek yang sama. Kombinasi ini ditujukan untuk meningkatkan persentase efek menekan sistem saraf pusat. Uji potensiasi didapat dengan menghitung berapa lamanya waktu tidur yang

ditambahkan oleh senyawa uji pada senyawa yang mempunyai efek penekan sistem saraf pusat. Waktu tidur dinyatakan sebagai periode waktu hewan kehilangan reflek gerakannya. Akhir periode tidur adalah saat hewan itu tidak lagi rebah pada sisinya atau punggungnya tetapi kembali dengan sendirinya ke posisi yang normal. Lamanya waktu tidur diketahui dengan menghitung interval antara kedua waktu tersebut (Vida, 1995).

2.10.2. Metode Kandang Aktivitas

Metode ini mencatat setiap gerakan hewan secara listrik. Perbedaan gerakan kelompok mencit yang disedasi dibandingkan dengan mencit pembanding merupakan ukuran tingkat sedasi. Metode kandang yang lain memakai kandang tempat hewan itu diasingkan dari rangsangan luar. Jika senyawa uji menurunkan waktu yang diperlukan untuk menimbulkan tidur, maka senyawa tersebut mempunyai efek sedatif. Tingkat sedatif diukur dengan waktu yang diperlukan untuk menyebabkan tidur (Foye, 1995).

2.10.3. Metode Batang Putar

Metode ini dilaksanakan dengan cara memberikan rangsangan dalam bentuk putaran pada batang tempat mencit berpijak dengan kecepatan tertentu. Ukuran tingkat sedasinya adalah berapa lama kemampuan hewan untuk bertahan pada batang putar selama periode tertentu (Turner, 1995).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Uraian Kerangka Konseptual

Siswandono (1998) telah melakukan modifikasi struktur urea dengan mensintesis senyawa benzoilurea. Benzoilurea merupakan turunan ureida asiklik yang mempunyai gugus fungsi identik dengan bromisovalum, suatu senyawa yang berkhasiat sebagai penekan susunan saraf pusat.

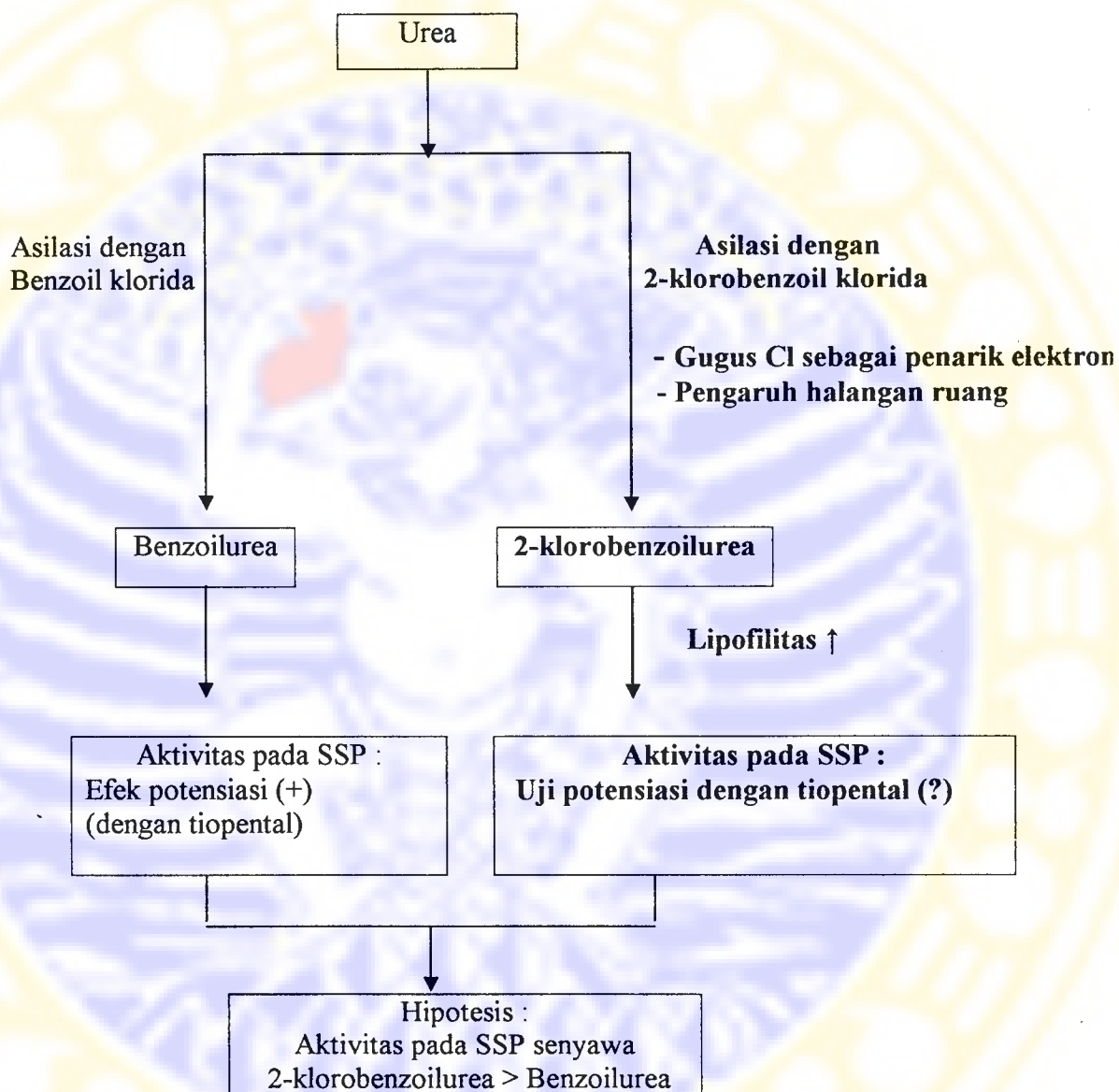
Dari hasil uji aktivitas diketahui bahwa benzoilurea menimbulkan efek hipnotik lemah, depresi dan gangguan koordinasi gerak sehingga dapat dijadikan senyawa induk untuk dikembangkan lebih lanjut aktivitasnya pada sistem saraf pusat melalui modifikasi struktur. Dalam usaha meningkatkan aktivitas benzoilurea dilakukan modifikasi struktur dengan memasukkan gugus kloro pada posisi orto. Adanya gugus kloro dapat mempengaruhi sifat fisika kimia, karena dapat meningkatkan sifat lipofilik (dapat lihat di latar belakang).

Rancangan sintesis pada penelitian ini adalah melakukan reaksi asilasi antara gugus amin primer senyawa urea dan 2-klorobenzoil klorida dengan menggunakan kombinasi metode *Schotten-Baumann* dan metode pencampuran fisik dalam pelarut Tetrahidrofur (THF). Senyawa hasil sintesis kemudian diuji kemurniannya dengan penentuan titik lebur dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada berbagai fase gerak. Identifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet (UV-Vis), inframerah (IR) dan spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$).

Uji aktivitas penekan sistem saraf pusat dari senyawa hasil sintesis dilakukan dengan metode uji aktivitas dengan tiopental menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB'C'. Dan sebagai senyawa pembanding digunakan senyawa induk benzoilurea.

3.2. Bagan Alur Berfikir

Berdasarkan kerangka konseptual diatas maka dapat digambarkan alur pemikiran untuk tujuan penelitian seperti yang terlihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 3.1. Bagan alur berfikir

BAB IV

BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

4.1. Bahan Penelitian

4.1.1. Bahan Kimia

- 2-Klorobenzoil klorida (Sigma)
- Urea pro sintesis (Sigma)
- Benzoilurea (Produk Sintesis Laboratorium Kimia Medisinal)
- Tetrahidrofuran p.a (E. Merck)
- Natrium Hidrogen Karbonat (E. Merck)
- Metanol p.a (E. Merck)
- Etanol p.a (E. Merck)
- Kloroform p.a (E. Merck)
- Etil asetat p.a (E. Merck)
- Natrium karboksi metil selulose (Sigma)
- Tiopental (PT Abbott Australia)

4.1.2. Hewan Coba

Sebagai hewan coba digunakan mencit (*Mus musculus*) galur BALB 'C' jantan, dewasa umur 2-3 bulan, sehat tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuh, dengan berat badan 20-35 gram, sejumlah 60 ekor diambil secara random. Sebelum diberi perlakuan mencit diadaptasi dengan lingkungan selama dua minggu (Thompson, 1990).

4.2. Alat Penelitian

- Neraca analitik Sartorius 2472
- Spektrofotometer UV-Vis, Shimadzu 60
- Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red (FT-IR), Jasco FT/IR-5300
- Spektrofotometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$), R-1900 90 MHz
- Fisher-Johns Melting Point aparatus

- Timbangan mencit, AND HL-100
- *Stop watch*
- Seperangkat alat gelas untuk sintesis

4.3. Metode Penelitian

4.3.1. Prosedur Sintesis Senyawa 2-klorobenzoilurea

Senyawa 2-klorobenzoil klorida direaksikan dengan urea melalui reaksi asilasi. Reaksi asilasi dilakukan pada gugus amina primer dari urea.

Prosedur :

Pada gelas piala 400 ml, dicampur 0,05 mol urea dengan 50 ml tetrahidrofuran, kemudian ditambah larutan 2-klorobenzoil klorida 0,025 mol dalam 30 ml tetrahidrofuran sedikit demi sedikit yang diteteskan melalui labu kocok sambil diaduk dengan menggunakan *stirer* pada suhu 5-10°C. Setelah larutan 2-klorobenzoil klorida habis, biarkan campuran tetap diatas hot plate selama 2,5 jam sambil terus diaduk agar reaksi berjalan sempurna. Hasil reaksi berupa zat kental berwarna putih kekuningan, kemudian ditambah larutan natrium bikarbonat jenuh sambil diaduk sehingga tidak keluar buih lagi. Residu dicuci dengan 50 ml air, kemudian disaring dengan corong Buchner (Siswandono, 1998)

Rekristalisasi :

Residu berupa zat amorf dipindahkan dalam gelas piala kemudian ditambahkan etanol secukupnya. Gelas piala diletakkan di atas hot plate (suhu diatur 70-80⁰ C) sambil diaduk perlahan-lahan dan ditambahkan pelarut lagi sedikit demi sedikit sampai tepat larut. Setelah itu gelas piala diangkat dan dibiarkan pada suhu kamar sampai dingin hingga terbentuk kristal dan biarkan semalam hingga pembentukan kristal sempurna.

4.3.2. Analisis Kualitatif

4.3.2.1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau.

4.3.2.2. Pemeriksaan Kemurnian Bahan

Pemeriksaan titik lebur 2-klorobenzoilurea ini menggunakan alat Fisher – Johns Melting Point, dengan cara : sedikit bahan digerus halus, kemudian letakkan bahan pada tempat zat (cekungan) dan tutup dengan cover glass, selanjutnya hubungkan alat dengan sumber listrik dan saklar pada posisi on.

Amati suhu saat bahan mulai meleleh. percobaan diulangi tiga kali dan dicatat titik leburnya (Singh.dkk, 1980).

4.3.3. Analisis Senyawa 2-klorobenzoilurea

4.3.3.1. Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis

Analisis secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam lempeng kiesel gel 60 GF 254. Sampel yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi. Sebelum dilakukan analisis, terlebih dahulu dilakukan penjenjuran bejana kromatografi dengan fase gerak. Selanjutnya lempeng kromatografi dimasukkan ke dalam bejana kromatografi dan dilakukan elusi dengan berbagai fase gerak. Fase gerak yang digunakan adalah campuran etanol - kloroform (4 : 6), campuran metanol – kloroform (4 : 6), campuran. Kloroform – aseton (7 : 3) (Siswandono, 1998). Setelah dielusi dikeringkan, diamati nodanya dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm kemudian ditentukan Rf sampel dan dibandingkan Rf pembanding. Noda tunggal yang timbul pada berbagai sistem fase gerak menunjukkan senyawa murni secara KLT.

4.3.3.2. Identifikasi Struktur Senyawa 2-klorobenzoilurea

1. Analisis dengan Spektrofotometer Ultraviolet

Sampel ditambahkan etanol , kemudian dibuat spektrum kurva absorpsi terhadap panjang gelombang (λ) 200-340 nm (Siswandono, 1998). Diidentifikasi puncak-puncak absorpsi pada spektrum UV yang terjadi

2. Analisis dengan Spektrofotometer Inframerah

Sedikit sampel (0,1% - 2%) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau dibuat pelet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva terhadap bilangan gelombang (ν)

pada $400-4600\text{ cm}^{-1}$. Diidentifikasi pita absorpsi yang khas dari gugus-gugus fungsi pada spektrum infra merah yang terjadi (Silverstein dkk, 1981; Creswel, 1982; Palvia, 1996).

3. Analisis dengan Spektrofotometer Resonansi Magnit Inti ($^1\text{H-NMR}$)

Sedikit sampel dilarutkan dalam kloroform. Dibuat spektrum resonansi proton senyawa pada daerah geseran kimia 0-108. Diidentifikasi posisi intensitas, dan jumlah pada daerah geseran kimia dari puncak-puncak proton ($^1\text{H-NMR}$) pada spektrum resonansi magnit inti yang terjadi (Silverstein dkk, 1981; Creswel, 1982; Palvia, 1996).

4.3.4. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Sebelum dilakukan uji potensiasi, terlebih dahulu dilakukan penentuan waktu aktivitas puncak atau kadar puncak yaitu waktu yang dibutuhkan senyawa untuk mencapai konsentrasi maksimum senyawa dalam darah (t_{maks}) sehingga senyawa dapat memberikan aktivitas maksimum. Pada penentuan waktu aktivitas ini digunakan 12 mencit yang terbagi untuk 6 waktu dan 2 dosis.

Waktu aktivitas puncak dapat diketahui dengan mengamati lama tidur mencit setelah penyuntikan tiopental yang diberikan pada mencit ke-15, 30, 45, 60, 90, dan 120 menit setelah penyuntikan senyawa uji. Waktu tidur yang paling lama mencit adalah menunjukkan waktu dimana senyawa mencapai konsentrasi maksimum dalam darah.

4.3.5. Prosedur Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

4.3.5.1. Pembuatan Sediaan Suspensi 2-klorobenzoilurea

Uji potensiasi dilakukan dengan memberikan senyawa 2-klorobenzoilurea dengan dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB dalam suspensi CMC Na 0,5% 20,0 ml dan 10,0 ml. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diberikan adalah 0,75 mg/30 g BB dan 1,5 mg/30 g BB.

Untuk pembuatan suspensi uji dengan dosis 0,75 mg/30 g BB, ditimbang senyawa uji 50,0 mg dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 20,0

ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3 ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

Untuk pembuatan suspensi uji dengan dosis 1,5 mg/30 g BB, ditimbang 50,0 mg senyawa uji dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

4.3.5.2. Pembuatan Sediaan Suspensi Benzoilurea

Dosis yang digunakan untuk senyawa benzoilurea adalah 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB, dalam suspensi CMC Na 0,5% 20,0 ml dan 10,0 ml. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diperlukan adalah 0,75 mg/30 g BB dan 1,5 mg/30 g BB.

Pada pembuatan dosis 0,75 mg/30 g BB, ditimbang 50,0 mg benzoilurea dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 20,0 ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3 ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

Pada pembuatan dosis 1,5 mg/30 g BB, ditimbang 50,0 mg benzoilurea dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3 ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

4.3.5.3. Pembuatan Sediaan Suspensi Tiopental

Sebagai pengontrol untuk uji potensiasi digunakan tiopental Na dengan dosis 60 mg/kg BB. Jika dikonversikan ke dalam berat badan mencit (30 gram), maka dosis yang digunakan adalah 1,8 mg/30 g BB

Untuk mendapatkan dosis 1,8 mg/30 g BB, ditimbang 60,0 mg tiopental kemudian dilarutkan dalam aquabidest sampai 10,0 ml. Dari larutan ini diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit sehingga konsentrasi tiopental yang diinjeksikan adalah 1,8 mg/0,3 ml.

4.3.5.4. Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

Pelaksanaan uji aktivitas penekan sistem saraf pusat dilakukan dengan metode potensiasi menggunakan 60 mencit yang terbagi 2 kelompok perlakuan, 2

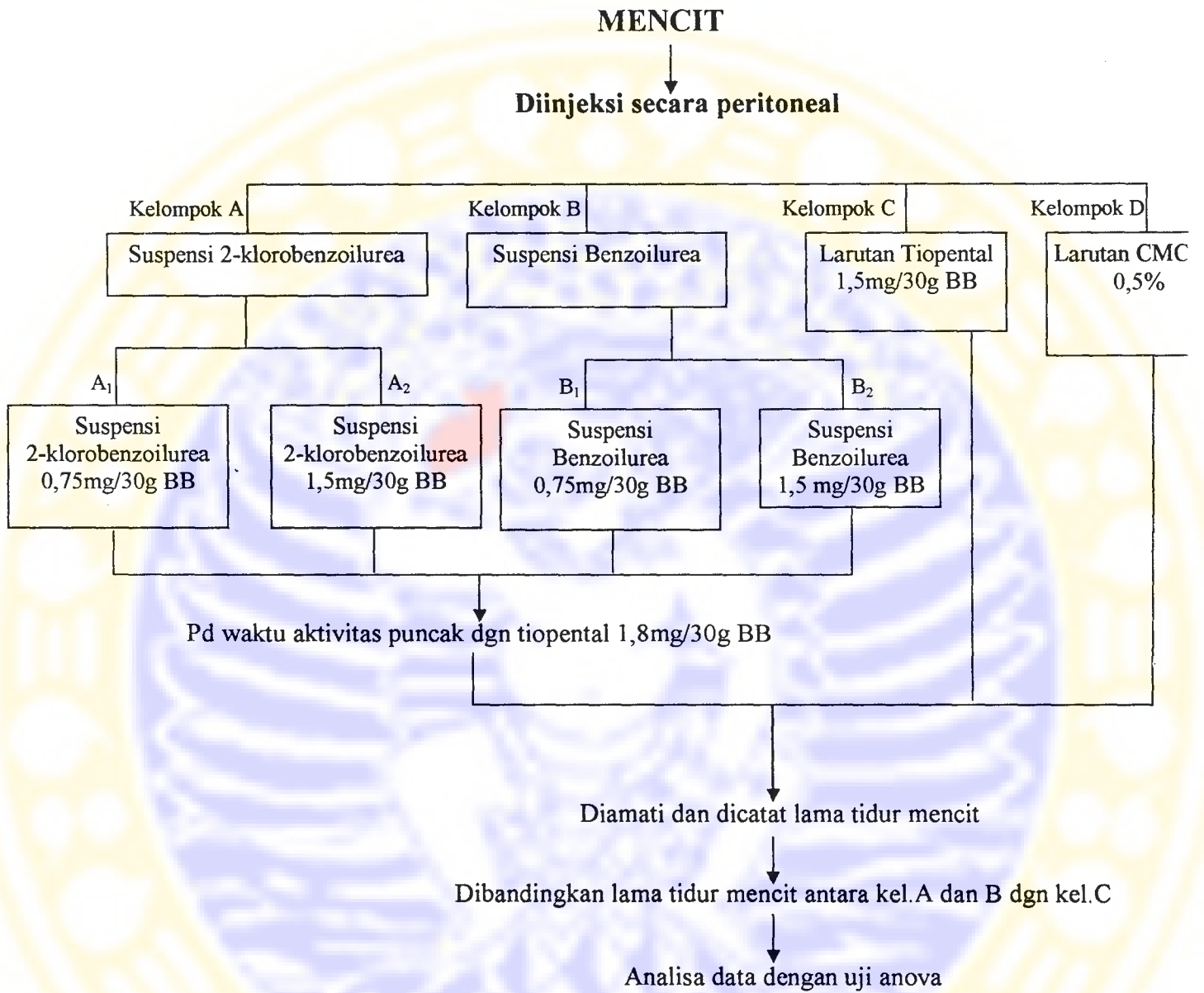
kelompok pembanding, 1 kelompok tiopental dan 1 kelompok kontrol. Masing-masing kelompok terdiri 10 ekor mencit untuk tiap dosis.

1. Kelompok A yaitu kelompok mencit yang diberi suspensi 2-klorobenzoilurea dalam larutan CMC Na 0,5 % dan larutan tiopental dalam aquabidest.
 - Kelompok A₁ : Kelompok mencit yang diberi suspensi 2-klorobenzoilurea dengan dosis 0,75 mg/30 g BB dan larutan tiopental dengan dosis 1,8 mg/30 g BB.
 - Kelompok A₂ : Kelompok mencit yang diberi suspensi 2-klorobenzoilurea dengan dosis 1,5 mg/30 g BB dan larutan tiopental dengan dosis 1,8 mg/30 g BB
2. Kelompok B yaitu kelompok mencit yang diberi suspensi benzoilurea dalam larutan CMC Na 0,5 % dan larutan tiopental dalam aquabidestilata.
 - Kelompok B₁ : Kelompok mencit yang diberi suspensi benzoilurea dengan dosis 0,75 mg/30 g BB dan larutan tiopental dengan dosis 1,8 mg/30 g BB.
 - Kelompok B₂ : Kelompok mencit yang diberi suspensi benzoilurea dengan dosis 1,5 mg/30 g BB dan larutan tiopental dengan dosis 1,8 mg/30 g BB.
3. Kelompok C yaitu kelompok mencit yang diberi larutan tiopental dalam aquabidest dengan dosis 1,8 mg/30 g BB.
4. Kelompok D adalah kelompok kontrol yaitu kelompok mencit yang diberi larutan CMC Na 0,5% dalam air.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Mencit dipuasakan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan.
2. a. Pada kelompok A mencit diinjeksi suspensi 2-klorobenzoilurea dan pada kelompok B diinjeksi dengan suspensi benzoilurea dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal.

- b. Pada waktu kadar puncak, mencit diinjeksi lagi dengan larutan tiopental dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal
 - c. Diamati dan dicatat lamanya waktu tidur mencit.
3.
 - a. Pada kelompok C, mencit diinjeksi larutan tiopental dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal.
 - b. Diamati dan dicatat waktu tidur mencit.
4. Pada kelompok D, mencit diinjeksi dengan larutan CMC Na 0,5% dengan volume 0,3 ml.
5. Waktu tidur mencit kelompok A dan B dibandingkan dengan waktu tidur mencit kelompok C.



Gambar 4.1. *Bagan kerja uji aktivitas penekan sistem saraf pusat*

4.4. Analisis Data

Untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna pada pengukuran waktu tidur antara kelompok yang diberi senyawa uji (dengan dua dosis yang berbeda) dengan kelompok tiopental pada uji potensiasi, maka dilakukan uji F yaitu analisa varians satu arah (*one way anova*) pada $\alpha = 0,05$. Uji F digunakan untuk membandingkan lebih dari dua perlakuan.

Dari data uji aktivitas potensiasi dapat dinyatakan hipotesis sebagai berikut:

H_0 = Tidak ada perbedaan bermakna antara aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi antara kelompok perlakuan (A1 dan A2), kelompok pembanding (B1 dan B2), dengan kelompok thiopental (C).

H_a = Ada perbedaan bermakna antara aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi antara kelompok perlakuan (A1 dan A2), kelompok pembanding (B1 dan B2), dengan kelompok thiopental (C).

Selanjutnya harga F ditentukan dengan menggunakan komputer program SPSS 10,0 kemudian harga F hitung dapat dibandingkan dengan harga F tabel yang diperoleh dari distribusi F (F tabel) untuk mengambil kesimpulan. Apabila harga F hitung $>$ F tabel maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Kemudian untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda dilakukan uji LSD dengan rumus :

$$LSD = (t_{\frac{\alpha}{2}, N - K}) \sqrt{\frac{2MSE}{n}}$$

Keterangan :

N = Jumlah sampel (mencit)

K = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah mencit tiap perlakuan

MSE = Mean Square

$t_{\frac{\alpha}{2}}$ = Data yang diperoleh dari tabel t

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Analisis Senyawa 2-klorobenzoilurea

5.1.1. Hasil Sintesis Senyawa 2-klorobenzoilurea

2-Klorobenzoilurea disintesis dengan mereaksikan 2-klorobenzoil klorida dan urea. Jumlah persentase yang didapatkan yaitu 24 %. Perhitungan hasil jumlah presentase terlampir pada lampiran 3.

5.1.2 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, bau dan rasa dari senyawa hasil sintesis. Hasil pemeriksaan organoleptis senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Tabel 5.1

Tabel 5.1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Senyawa 2-Klorobenzoilurea

Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
Bentuk	Serbuk
Warna	Putih
Bau	Berbau khas
Rasa	Tidak berasa

5.1.3. Pemeriksaan Titik Lebur Senyawa Hasil Sintesis

Untuk melihat kemurnian senyawa hasil sintesis dilakukan penentuan titik lebur dengan menggunakan *melting point apparatus* (Fischer-Johns). Hasil penentuan titik lebur senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Pengamatan Titik Lebur Senyawa 2-Klorobenzoilurea

Replikasi	Titik Lebur (°C)	Rentang Titik Lebur (°C)
1	190	190-191
2	191	
3	190	

Dari hasil titik lebur senyawa hasil sintesis (tabel 5.2) terlihat bahwa rentang titik lebur senyawa 2-klorobenzoilurea adalah $\pm 1^\circ\text{C}$ yang menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis murni secara titik lebur.

5.1.4. Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis

Untuk melihat ada tidaknya pengotoran dari hasil samping reaksi sintesis, dilakukan analisis Kromatografi Lapis Tipis. Hasil perhitungan nilai Rf dari kromatografi lapis tipis senyawa hasil sintesis dengan tiga macam fase gerak dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Harga Rf Senyawa Benzoilurea dan Senyawa 2-klorobenzoilurea

Fase Gerak	Nilai Rf 2-klorobenzoilurea	Nilai Rf benzoilurea
1	0,78	0,50
2	0,51	0,45
3	0,57	0,51

Keterangan :

Fase gerak 1 : Kloroform : Aseton (7:3)

Fase gerak 2 : Kloroform : Metanol (6:4)

Fase gerak 3 : Kloroform : Etanol (6:4)

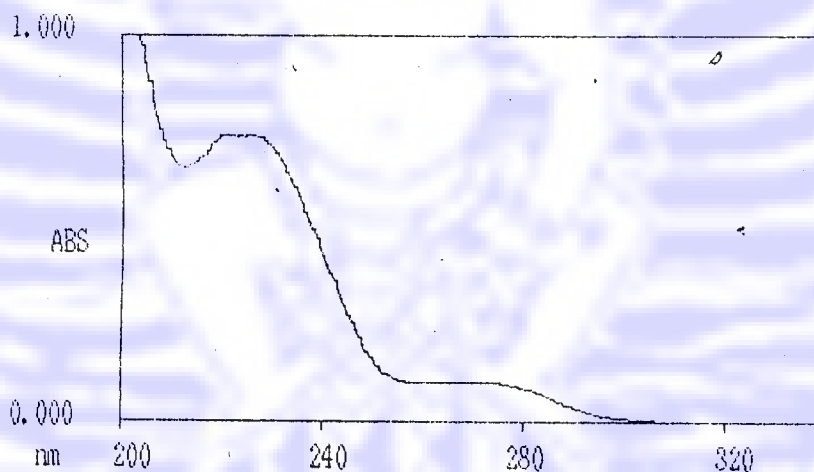
Dari hasil kromatografi lapis tipis senyawa hasil sintesis (Tabel 5.3) terlihat bahwa dengan tiga fase gerak yang digunakan, hanya terdapat satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis tersebut murni secara KLT.

5.2. Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Ultra-Violet (UV), Spektrofotometer Infra Merah (IR) serta Spektrometer $^1\text{H-NMR}$.

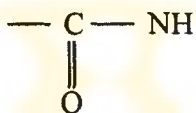
5.2.1. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil pemeriksaan dengan spektrofotometri ultra-violet digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari suatu senyawa yang dapat menunjukkan adanya gugus-gugus kromofor dalam struktur senyawa. Spektrum ultraviolet dari senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Gambar 5.1.



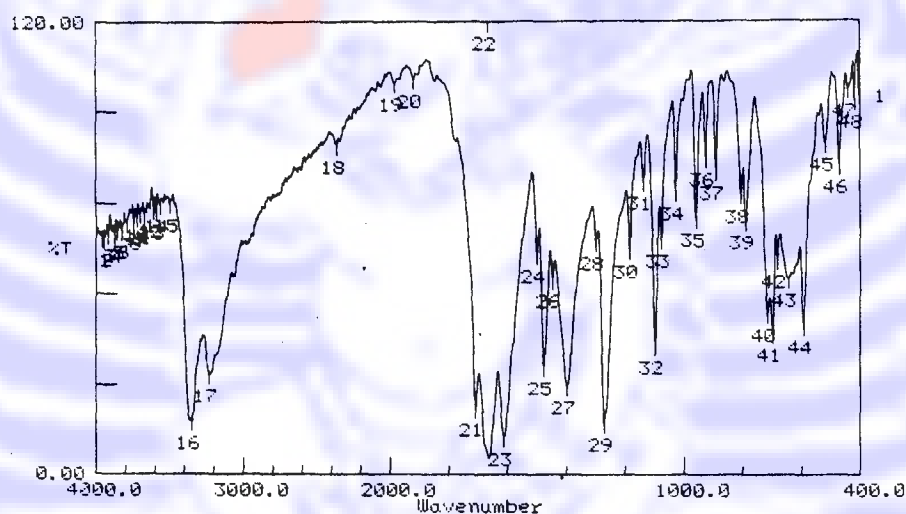
Gambar 5.1. *Spektrum ultraviolet dari senyawa 2-klorobenzoilurea dalam pelarut etanol*

Spektrum 2-klorobenzoilurea pada gambar memberikan puncak serapan pada panjang gelombang 221,2 nm;280 nm. Puncak serapan tersebut merupakan absorpsi dari gugus kromofor dari 2-klorobenzoilurea yaitu gugus C = C (aromatis) dari struktur inti benzena dan gugus



5.2.2. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer FT-IR

Hasil pemeriksaan dengan spektrofotometri infra merah berguna untuk mengetahui adanya gugus-gugus fungsi dari suatu senyawa. Spektrum inframerah dari senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2. Spektrum inframerah senyawa 2-klorobenzoilurea

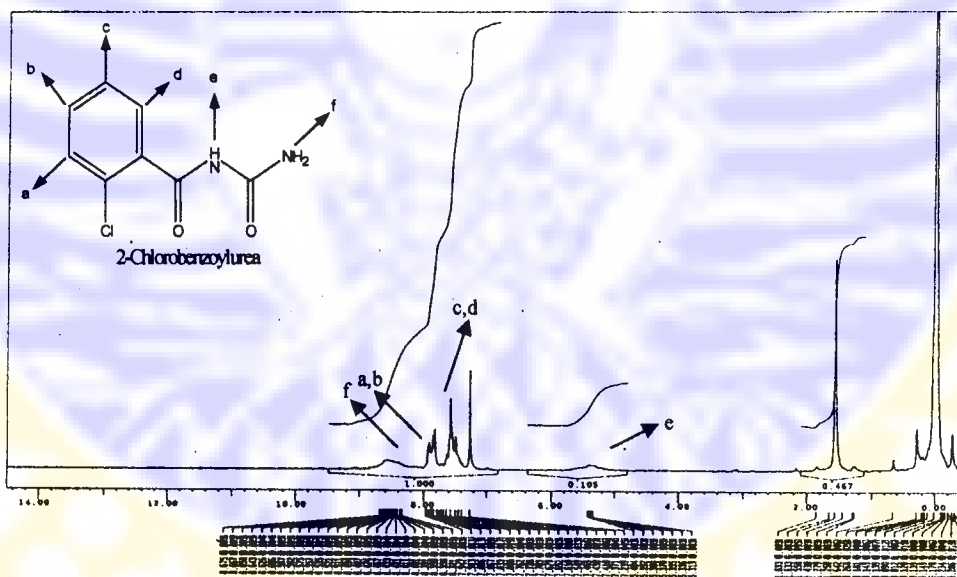
Karakteristik spektrum inframerah dari senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Tabel 5.4

**Tabel 5.4. Karakteristik Spektrum Infra Merah
Senyawa 2-klorobenzoilurea**

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi	Pustaka (Pavia, 1996)
3348	-NH ₂	3000-3700
3232	-NH-	3000-3700
1664 ; 1612	-C=O (amida)	1600-1725
1498 ; 1475 ; 1446	-C=C- (aromatis)	1400-1500

5.2.3. Pemeriksaan dengan Spektrometer ¹H-NMR

Spektrum ¹H-NMR dari senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Gambar 5.3



Gambar 5.3. Spektrum ¹H-NMR senyawa 2-klorobenzoilurea dalam pelarut CDCl₃

Karakteristik spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa hasil sintesis dilihat pada tabel 5.5

**Tabel 5.5. Karakteristik Spektrum $^1\text{H-NMR}$
Senyawa 2-klorobenzoilurea**

δ (ppm)	Multisiplitas	Jumlah Proton	Atom H dari gugus
7,9 – 7,7	(a,d) Duplet	2	Gugus benzena yang dekat dengan $\begin{array}{c} \text{C} \\ \\ \text{---CH=C---Cl} \end{array}$
7,6 – 7,4	(b,c) Triplet	2	Gugus benzena yang dekat dengan ---C---CH=C---
5,3	(e) Singlet	1	-NH
8,5	(f) Duplet	2	-NH ₂

5.3. Penentuan Aktivitas Potensiasi

5.3.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

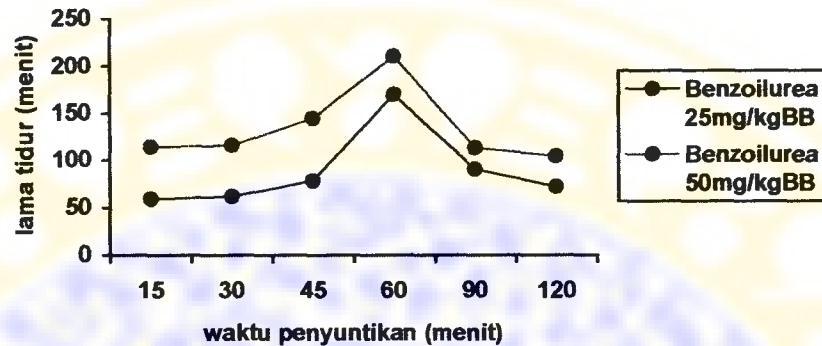
5.3.1.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Senyawa Benzoilurea

Waktu aktivitas puncak senyawa benzoilurea ditentukan berdasarkan data lama tidur mencit setelah pemberian tiopental dosis 60 mg/kg BB. Pemberian tiopental dilakukan setelah pemberian senyawa benzoilurea dosis 50 mg/kg BB dan dosis 25 mg/kg BB secara intraperitoneal pada interval waktu 15, 30, 45, 60, 90, 120 menit. Hasil pengamatan waktu aktivitas puncak senyawa benzoilurea dapat dilihat pada Tabel 5.6

Tabel 5.6. Data Hasil Pengamatan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa Benzoilurea

Interval Waktu Pemberian (menit)	Lama Tidur (menit)	
	Dosis 25 mg/kgBB	Dosis 50mg/kgBB
15	59	114
30	62	116
45	78	144
60	169	210
90	90	113
120	72	104

Berdasarkan data pada tabel di atas diperoleh bahwa waktu aktivitas puncak senyawa benzoilurea adalah 60 menit setelah penyuntikan senyawa.



Gambar 5.4. Kurva hubungan lama tidur terhadap waktu penyuntikan

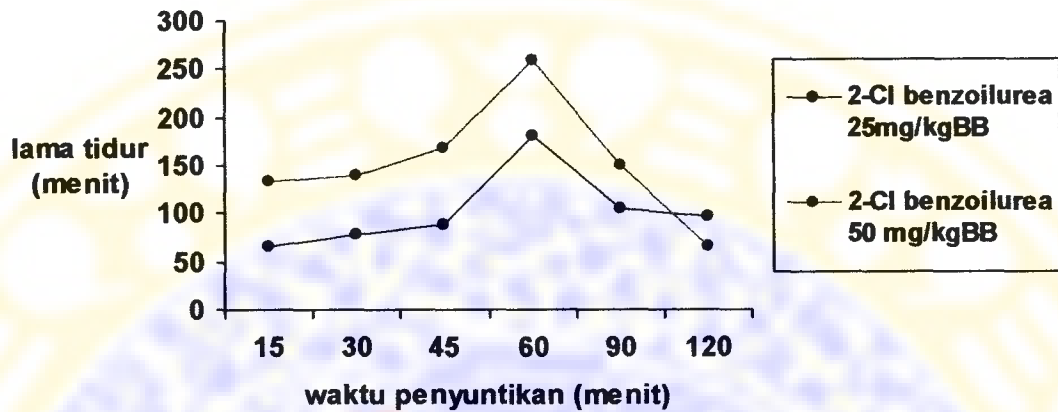
5.3.1.2. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Senyawa 2-klorobenzoilurea

Waktu aktivitas puncak senyawa hasil sintesis ditentukan berdasarkan data lama tidur mencit setelah pemberian tiopental dosis 60 mg/kg BB. Pemberian tiopental dilakukan setelah pemberian senyawa 2-klorobenzoilurea dosis 50 mg/kg BB dan dosis 25 mg/kgBB secara intraperitoneal pada interval waktu 5, 10, 15, 30, 45, 120 menit. Hasil pengamatan waktu aktivitas puncak senyawa 2-klorobenzoilurea dapat dilihat pada Tabel 5.6

Tabel 5.7. Data Hasil Pengamatan Lama Tidur Terhadap Waktu Penyuntikan Senyawa 2-klorobenzoilurea

Interval Waktu Pemberian (menit)	Lama Tidur (menit)	
	Dosis 25mg/kgBB	Dosis 50mg/kgBB
15	66	134
30	78	139
45	89	169
60	180	259
90	104	150
120	96	66

Berdasarkan data pada tabel di atas diperoleh bahwa waktu aktivitas puncak senyawa 2-klorobenzoilurea adalah 60 menit setelah penyuntikan senyawa



Gambar 5.5. Kurva hubungan lama tidur terhadap waktu penyuntikan

5.3.2. Hasil Penentuan Aktivitas Potensiasi

Penentuan aktivitas potensiasi terhadap tiopental dilakukan dengan menyuntikkan suspensi tiopental secara intraperitoneal setelah senyawa menghasilkan efek puncak (waktu aktifitas puncak). Untuk senyawa 2-klorobenzoilurea pemberian tiopental dilakukan 60 menit setelah pemberian senyawa 2-klorobenzoilurea, untuk senyawa benzoilurea pemberian tiopental dilakukan 60 menit setelah pemberian senyawa benzoilurea.

Hasil pengamatan waktu tidur mencit kelompok tiopental, kelompok kontrol dan dua kelompok dosis senyawa induk dan senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 5.8

Tabel 5.8. Hasil Pengamatan Waktu Tidur pada Uji Potensiasi

Mencit	Lama tidur (menit)					
	Kelompok benzoilurea + tiopental 60 mg/kg BB		Kelompok 2-klorobenzoilurea + tiopental 60 mg/kg BB		Tiopental 60 mg/kg BB	CMC Na 0,5 %
	Dosis		Dosis			
	25 mg/kg BB	50 mg/kg BB	25 mg/kg BB	50 mg/kg BB		
1	150	275	162	255	14	0
2	175	220	193	256	7	0
3	189	235	141	261	10	0
4	171	254	179	257	13	0
5	192	357	198	249	8	0
6	207	182	197	231	12	0
7	167	161	183	240	16	0
8	153	286	191	251	11	0
9	189	161	170	279	17	0
10	145	192	194	235	8	0
\bar{X}	173.8	232.2	180,8	251,4	11.6	0
SD	20.49	62.54	18,4	13,9	3.43	0

Dari hasil analisis yang dilakukan menggunakan uji F satu arah dengan bantuan komputer program SPSS 10.10 didapatkan harga $F_{hitung} = 91,59$ (lampiran 2) dan harga F_{tabel} pada $\alpha = 0,05$, $df = 4, 45$ adalah 2,61, sehingga harga $F_{hitung} > F_{tabel}$ (lampiran 5). Hal ini berarti ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan atau antar kelompok minimal satu pasang yang berbeda.

Untuk mengetahui perlakuan atau kelompok mana saja yang berbeda dilakukan uji LSD. Harga LSD = 28,21 (lampiran 4) dengan harga selisih waktu tidur rata-rata antar perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.9

Tabel 5.9. Harga Selisih Waktu Tidur Rata-Rata antar Perlakuan

Kelompok	A1	A2	B1	B2	C
A1					
A2	70,6*				
B1	-7,0	-77,6*			
B2	51,5*	-19,1	58,5*		
C	-169,2*	-239,8*	-162,2*	-220,7*	

* : Ada perbedaan bermakna

Keterangan :

A1 : Kelompok 2-Klorobenzoilurea dosis 25 mg/kg BB + Tiopental 60 mg/kg BB

A2 : Kelompok 2-Klorobenzoilurea dosis 50 mg/kg BB + Tiopental 60 mg/kg BB

B1 : Kelompok Benzoilurea 25 mg/kg BB + Tiopental 60 mg/kg BB

B2 : Kelompok Benzoilurea 50 mg/kg BB + Tiopental 60 mg/kg BB

C : Kelompok Tiopental 60 mg/kg BB

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis senyawa 2-klorobenzoilurea melalui reaksi asilasi antara senyawa urea dengan senyawa 2-klorobenzoil klorida. Ada dua macam metode untuk melakukan reaksi asilasi yaitu metode *Schotten-Baumann* dan metode pencampuran kering. Pada reaksi asilasi dengan metode *Schotten-Baumann* harus dilakukan dalam suasana basa dan senyawa yang disintesis harus larut dalam pelarut yang digunakan. Metode pencampuran kering digunakan untuk mereaksikan dua senyawa yang berbentuk padat. Pada penelitian ini reaksi sintesis dilakukan dengan menggabungkan antara metode *Schotten-Baumann* dengan pencampuran kering. Hal ini disebabkan digunakannya pelarut untuk membantu pencampuran dua fase zat yang berbeda dan kemudian dilakukan pemanasan untuk menghilangkan pelarut.

Reaksi dilakukan pada suhu 5-10°C karena 2-klorobenzoil klorida sangat reaktif. Bila reaksi dilakukan pada suhu kamar maka 2-klorobenzoil klorida akan cepat menguap sehingga reaksi senyawa dengan urea tidak optimal. Setelah 2-klorobenzoil klorida bercampur dengan urea, dipanaskan pada suhu 80°C selama kurang lebih 2,5 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnet dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna dan untuk menguapkan THF. Untuk mengetahui apakah reaksi telah sempurna atau belum, maka setiap 1 jam diambil sampel dan di analisis menggunakan kromatografi lapis tipis. Pada saat reaksi telah sempurna maka terlihat noda tunggal, dan nilai Rf nya lebih besar dibandingkan senyawa benzoilurea yang digunakan sebagai pembanding. Hasil reaksi berupa zat kental berwarna putih. Setelah reaksi berjalan sempurna ditambahkan Natrium Hidrogen Karbonat sampai tidak berbuih. Penambahan ini berfungsi untuk menetralkan HCl yang kemungkinan masih ada dalam hasil sintesis membentuk garam NaCl. Selanjutnya ditambahkan air untuk melarutkan sisa urea dan garam (NaCl) yang kemudian dibuang saat penyaringan menggunakan *Buchner*. Rekristalisasi dilakukan dengan melarutkan hasil sintesis dalam etanol panas karena senyawa 2-klorobenzoilurea larut dalam etanol panas dan tidak larut dalam etanol dingin. Setelah senyawa terlarut dilakukan

pendinginan pada suhu kamar. Adanya kemungkinan sisa dari 2-klorobenzoil klorida dapat menyebabkan terbentuknya asam 2-kloro benzoat. Senyawa ini akan terlarut dalam etanol dingin dan terbuang saat penyaringan kristal menggunakan penyaring *Buchner*.

Dari sintesis 2-klorobenzoilurea dengan metode gabungan *Schotten-Baumann* dan pencampuran fisik didapatkan hasil 1,190 gram dengan rendemen 24 %. Hal ini dikarenakan sintesis yang dilakukan yaitu sintesis 2 fase (non polar dan polar) sehingga dimungkinkan adanya kurang sempurnanya seluruh bahan bereaksi. Hal tersebut dapat diatasi dengan menggunakan katalis fase transfer, contohnya adalah PEG 400. Selain itu kecilnya jumlah rendemen juga dikarenakan kemungkinan terbentuknya asam 2 kloro benzoat saat sintesis yang kemudian ikut terlarut saat penambahan Natrium Bicarbonat, saat rekristalisasi. Hasil senyawa 2-klorobenzoilurea yang dihasilkan berbentuk serbuk, berwarna putih, berbau khas, tidak berasa, larut dalam etanol panas dan kloroform. Senyawa hasil sintesis kemudian diperiksa kemurniannya secara kualitatif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan penentuan titik lebur. Pada pemeriksaan kromatografi lapis tipis digunakan silika gel 60 GF-254 dan dieluasi menggunakan tiga macam fase gerak, yaitu campuran etanol – kloroform (4 : 6), campuran metanol – kloroform (4 : 6), campuran kloroform – aseton (7 : 3). Dari hasil pemeriksaan dengan penampak noda lampu UV-254 nm didapatkan noda tunggal dengan nilai R_f yang lebih besar dibanding benzoilurea (tabel 5.3). Hal ini disebabkan karena senyawa hasil sintesis mempunyai sifat lebih nonpolar, dan dari hasil analisis secara kromatografi lapis tipis dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis murni. Pada pemeriksaan titik lebur didapatkan nilai jarak titik lebur 190-191°C (tabel 5.2). Harga titik lebur senyawa 2-klorobenzoilurea dengan tiga kali replikasi menunjukkan perbedaan 1°C. Hal ini menunjukkan senyawa tersebut murni. Senyawa hasil sintesis berbeda dengan senyawa induk yaitu benzoilurea baik titik lebur maupun harga R_f nya sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa tunggal yang sudah berbeda dengan senyawa asal. Pada identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan tiga macam instrumen yaitu Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer FT-IR, Spektrometer Resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$).

Pada identifikasi struktur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pelarut etanol dihasilkan spektrum yang memberikan dua puncak panjang gelombang 221,2 nm dan 280 nm

Analisis struktur dilakukan dengan identifikasi secara spektrofotometri FT-IR yang untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa hasil sintesis. Pada spektrum inframerah (gambar 5.2) terlihat gugus -NH_2 yang ditunjukkan adanya puncak pita pada daerah 3348 cm^{-1} . Hal ini didukung dengan data $^1\text{H-NMR}$ di daerah 8,557 ppm, yang menunjukkan adanya 2 atom H yang berasal dari gugus CONH_2 . Adanya gugus -NH ditunjukkan pada daerah 3232 cm^{-1} pada FT-IR, dan pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ diperlihatkan pada daerah 5,355 ppm. Cincin benzena pada FT-IR ditunjukkan pada daerah 1498 cm^{-1} ; 1475 cm^{-1} dan 1446 cm^{-1} . Hal ini diperkuat pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ yang memperlihatkan pita pada daerah 7,947-7,762 ppm yang menunjukkan adanya 2 atom H dari benzena yang dekat dengan

—CH=C—C(=O)—Cl dan pita pada daerah 7,652-7,371 ppm yang menunjukkan adanya 2 atom H dari benzena yang dekat dengan —C—CH=C— . Dari keseluruhan analisis data spektrum di atas, maka dapat disimpulkan senyawa hasil sintesis adalah 2-klorobenzoilurea.

Dalam penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa benzoilurea mempunyai efek sebagai obat penekan sistem saraf pusat setelah melalui uji potensiasi menggunakan tiopental pada mencit (Siswandono, 1998). Oleh karena itu penelitian ini juga menggunakan metode potensiasi dengan tiopental karena 2-klorobenzoilurea merupakan turunan dari senyawa benzoilurea.

Adanya penambahan gugus kloro pada cincin benzena yang memiliki sifat lipofilik dan elektronik yang besar maka diharapkan senyawa hasil sintesis memiliki aktivitas sebagai obat penekan sistem saraf pusat lebih baik dibanding senyawa induk.

Pada uji potensiasi ini dilakukan pengamatan ada tidaknya perpanjangan waktu tidur dari senyawa 2-klorobenzoilurea terhadap tiopental yang kemudian dibandingkan dengan senyawa induk (benzoilurea) dengan dosis dan perlakuan yang sama. Senyawa akan memberikan perpanjangan waktu tidur apabila dalam

pemberian bersama dengan tiopental mampu meningkatkan efek penekan sistem saraf pusat dari tiopental sendiri.

Senyawa 2-klorobenzoilurea sukar larut dalam air sehingga dibuat dalam bentuk suspensi dengan CMC Na 0,5 % untuk memudahkan pemberiannya yang dilakukan pada mencit secara intraperitoneal dan pada waktu puncak disuntikkan tiopental 60 mg/kgBB. Waktu tidur paling lama merupakan waktu puncak. Pada penelitian ini diperoleh waktu puncak pada menit ke 60 (Tabel 5.6)

Dosis yang digunakan yaitu 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB. Pemilihan dosis tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya pada senyawa benzoilurea menggunakan dosis 100 mg/kgB memberikan efek potensiasi. Untuk mengetahui adanya efek perpanjangan waktu tidur 2-klorobenzoilurea terhadap tiopental yang bermakna dibandingkan benzoilurea terhadap tiopental, dilakukan uji satu arah (*one way anova*) dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda.

Dari hasil uji F, didapat nilai F hitung $>$ F tabel pada derajat kepercayaan $\alpha = 0,05$ dan derajat bebas $df = 4,45$ adalah 2,61 sehingga harga $F_{hitung} > F_{tabel}$ (Lampiran 5). hal ini berarti ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan atau antar kelompok minimal satu pasang yang berbeda.

Dari data statistik pada tabel 5.9 dapat diperoleh ada perbedaan waktu tidur yang bermakna antar kelompok mencit :

1. Kelompok 2-klorobenzoilurea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB dengan kelompok 2-klorobenzoilurea 25 mg/kgBB
2. Kelompok benzoilurea 25 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB dengan kelompok 2-klorobenzoilurea 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB
3. Kelompok 2-klorobenzoilurea 25 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB dengan kelompok benzoilurea 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kgBB
4. Kelompok benzoilurea 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB dengan kelompok benzoilurea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kg BB
5. Kelompok tiopental 60 mg/kgBB dengan kelompok 2-klorobenzoilurea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
6. Kelompok tiopental 60 mg/kgBB dengan 2-klorobenzoilurea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB

7. Kelompok tiopental 60 mg/kgBB dengan kelompok benzoilurea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
8. Kelompok tiopental 60 mg/kgBB dengan kelompok benzoilurea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB

Hasil uji LSD menunjukkan 2-klorobenzoilurea dengan dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB memiliki perbedaan efek perpanjangan waktu tidur yang bermakna terhadap tiopental, perbedaan ini disebabkan karena adanya perbedaan dosis. Dari tabel 5.9 juga terlihat bahwa 2-klorobenzoilurea dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB tidak mempunyai perbedaan aktivitas yang bermakna dengan benzoilurea 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB yang berarti bahwa kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas yang sama. Hal ini disebabkan karena peningkatan aktivitas akibat peningkatan lipofilitas sebanding dengan penurunan aktivitas karena pengaruh halangan ruang pada proses interaksi obat dengan reseptor dari gugus kloro.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa 2-klorobenzoilurea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara senyawa 2-klorobenzoil klorida dan urea serta didapatkan hasil dengan persentase 24 %.
2. 2-Klorobenzoilurea mempunyai aktivitas sebagai penekan saraf pusat berupa efek potensiasi dengan tiopental pada mencit (*Mus musculus*) dan aktivitasnya sama dengan senyawa induk (benzoilurea).

7.2. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disarankan dilakukan optimasi kondisi dari reaksi asilasi 2-klorobenzoilurea dan dilakukan penelitian lebih lanjut dari senyawa 2-klorobenzoilurea tentang aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat yang lain seperti aktivitas antikejang dan transquilizer, relaksan otot pusat.

DAFTAR PUSTAKA

- Burger, A., 1960, Hypnotics and Sedatives, in : Burger, A (ed.), **Medicinal Chemistry**, Second Edition, Interscience Publisher, Inc., New York, p. 359.
- Creswell J. C., Runquist O.A., and Campbell M.M., 1982, **Analisis Spektrum Senyawa Organik**, Edisi Kedua, Alih Bahasa : Padmawinata K. dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, hal 45 – 58, 78 – 93, 181 – 248, 246 –335.
- Eagon Stahl., 1969, **Thin Layer Chromatography**, 2nd Edition, Springer Verlag, New York, p.126-127, 201-203
- Fessenden R.J., and Fessenden J.S., 1992, **Kimia Organik**, Jilid I, Edisi Ketiga, Alih Bahasa: A.H Pudjaatmaka, Penerbit Erlangga, Jakarta, hal.311-358.
- Fessenden R.J., and Fessenden J.S., 1995, **Kimia Organik**, Jilid II, Edisi Ketiga, Alih Bahasa: A.H Pudjaatmaka, Penerbit Erlangga, Jakarta, hal.109 – 113
- Furniss, B.S., Hannaford A.J., Rogers V., Smith P.W.G., and Tatchell A.R.(Revised), 1978, **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry: Including Qualitatif Analisis**, 4th Ed., The English Language Book Society and Longman Group Ltd, London, p.1103.
- Ganiswarna, S.G., 1995, **Farmakologi dan Terapi**, Edisi Keempat, Bagian Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, hal.7, 124.
- Guyton, A.C., 1997, **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran** (Terjemahan) Dr.Ken Ariata Tengadi dkk, Edisi Kesembilan, Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta, hal. 945-946.
- Harrwood., 1989, **Experimental Organic Chemistry Principles and Practice**, Blackwell Scientific Publication, London.
- McMurry, J. M., 1984, **Organic Chemistry**, Broke/Coole Publishing Company, Monterey, California, p.780
- Morrison R.T. and Boyd N.B., **Organic Chemistry**, 3rd Ed., New Delhi, Prentice-Hall of India, p.857-866.
- Mutschler, E., 1991. **Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi**. (Terjemahan) Mathilda B dkk, Edisi Kelima, Penerbit: ITB, Bandung, hal. 164-168.
- Pavia D. L., Lampman G.M and Kriz G.S., 1996, **Introduction to Spectroscopy**, 2nd Ed., Saunders Golden Sunburst Series, Fort Wort, Philadelphia and San Diego.

- Purcell, W.P., 1973, **Strategy of Drugs Design, A Guide to Biological Activity**. John Wiley and Sons Inc., New York, London, Sydney, p. 21-58, 126-142.
- Reksohadiprodjo M.S., 1988, **Synthesis of Isovalerilurea a Sedative-Hipnotic Compound from Isovaleric Acid**. Research Report UGM, Yogyakarta, p. 134, 145-152.
- Robbany, I., 2003. **Sintesis 1-Benzoil, 3-(4'-t-Butilbenzoi)urea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*)**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C., 1981, **Spectrometric Identification Of Organic Compounds**, 4th Ed., John Willey and Sons Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, p. 95, 181-189, 305.
- Siswandono dan Purwanto B.T., 2000, **Hubungan Struktur Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat** dalam (Siswandono dan B. Soekardjo, Ed), **Kimia Medisinal II**, Edisi Kedua, Airlangga University Press, Surabaya, hal. 225-224.
- Siswandono dan Soekardjo B., 2000, **Pengembangan Obat**, dalam **Kimia Medisinal II**, Airlangga University Press, Surabaya, hal . 20.
- Siswandono dan Soekardjo B., 1998, **Prinsip-Prinsip Rancangan Obat**, Airlangga University Press, Surabaya, hal. 167-173.
- Siswandono, Soemadi dan Reksohadiprodjo, M.S., 1999, **Modifikasi Struktur dan Hubungan Struktur-Aktivitas Senyawa-Senyawa Turunan Benzoiurea**, Disertasi Doktor, Tidak Dipublikasikan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Thompson, E.B., 1985. **Drug Bioscreening, Fundamental of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology**, Graceway Publishing Company Inc., New York, p. 21-23.
- Turner, R.A., 1965. **Screening Methods In Pharmacology**, Academic Press, New York, p. 69-99.
- Vida, J.A., 1995, **Depresan Sistem Saraf Pusat: Sedativa-Hipnotika**, dalam (Foye W.O, Ed) **Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal (Terjemahan)** Rasyid, R. dkk, Jilid I, Edisi Kedua, Penerbit Gajah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 280, 293-294, 299-230.
- Vogel, A.I., 1968, **A Text Book of Practical Organic Chemistry Including Qualitative Organic Analysis**, 3rd Edition, Longman, London, p.21-22, 75.

William O Foye., 1981, **Prinsip-prinsip Kimia Medisinal** (Terjemahan), by Lea and Febiger, Philadelphia, p 281-301.

Wolff, M.E., 1996, **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**, Vol.3, Therapeutic Agents, 5thEd., A Willey Interscience Publication, New york, p.108-109.

LAMPIRAN 1
SERTIFIKAT BENZOILUREA
Laporan Hasil Pemeriksaan Senyawa

1. Nama senyawa : Benzoilurea
2. Dibuat oleh : Siswandono
3. Tanggal dibuat : 7 Juli 2005
4. Rendemen : 78%
5. Pemeriksaan :

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1. 2. 3. 4.	Pemerian/Organoleptis Jarak lebur Kelarutan Uji KLT(3 eluen)	Kristal warna putih mengkilat, tidak berbau. 212-213°C. etanol panas, aseton, dimetilsulfoksid. 1 noda.
5.	Spektrum UV: λ maks. (nm) Dalam pelarut etanol	272
6.	Spektrum IR : ν (cm^{-1}) Dalam pelet KBr	3409 & 3366 ($-\text{NH}_2$); 3227 ($-\text{NH}$); 1661 & 1611 ($-\text{C}=\text{O}$); 1499 dan 1478 ($-\text{C}=\text{C}-$ aromatis); 891-698 ($-\text{C}=\text{C}-$ aromatis, lentur, luar bidang)
7.	Spektrum ^1H NMR : δ (ppm) Dalam pelarut DMSO- D_6	10,686 & 10,681, s, ($-\text{CONH}_2$); 7,706-7,545, m, ($-\text{C}_6\text{H}_5$)
8.	Spektrum ^{13}C NMR : δ (ppm) Dalam pelarut DMSO- D_6	167,423 ($-\text{CONH}_2$); 153,550 ($-\text{CONH}-$); 131,994 ($=\text{C}-\text{CO}$ aromatis); 127,786 ($=\text{C}$ -aromatis); 127,482 ($=\text{C}$ -aromatis); 41,775-36,225 (DMSO)
9.	Spektrum massa (m/e)	44 ($\text{O}=\text{C}=\text{NH}_2$) ⁺ ; 77 (C_6H_5) ⁺ ; 105 (M - NHCONH_2) ⁺ ; 136 (M - CO) ⁺ ; 164 (M) ⁺

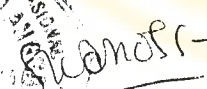
Kesimpulan : Senyawa adalah benzoilurea.

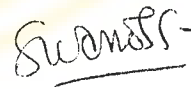
Surabaya, 2 Agustus 2005

Mengetahui:

Kepala Bagian Kimia Farmasi
Fakultas Farmasi Unair

Ketua Tim Peneliti,


Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS
NIP. 130809079


Prof. Dr. Siswandono, MS

LAMPIRAN 2
Analisis Statistik Uji F Satu Arah Aktivitas Penekan
Sistem Saraf Pusat

Oneway

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.0	10	180.800	18.4017	5.8191	167.636	193.964	141.0	198.0
2.0	10	251.400	13.9060	4.3975	241.452	261.348	231.0	279.0
3.0	10	173.800	20.4928	6.4804	159.140	188.460	145.0	207.0
4.0	10	232.300	62.5461	19.7788	187.557	277.043	161.0	357.0
5.0	10	11.600	3.4383	1.0873	9.140	14.060	7.0	17.0
Total	50	169.980	90.4829	12.7962	144.265	195.695	7.0	357.0

ANOVA

tidur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	357288.880	4	89322.220	91.598	.000
Within Groups	43882.100	45	975.158		
Total	401170.980	49			

Keterangan :

- 1 = Kelompok 2-klorobenzoilurea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kg BB
- 2 = kelompok 2-klorobenzoilurea 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB
- 3 = kelompok benzoilurea 25 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB
- 4 = kelompok benzoilurea 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB
- 5 = kelompok tiopental 60 mg/kg BB

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: tidur
LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.0	2.0	-70.6000(*)	13.9654	.000	-98.728	-42.472
	3.0	7.0000	13.9654	.619	-21.128	35.128
	4.0	-51.5000(*)	13.9654	.001	-79.628	-23.372
2.0	5.0	169.2000(*)	13.9654	.000	141.072	197.328
	1.0	70.6000(*)	13.9654	.000	42.472	98.728
	3.0	77.6000(*)	13.9654	.000	49.472	105.728
3.0	4.0	19.1000	13.9654	.178	-9.028	47.228
	5.0	239.8000(*)	13.9654	.000	211.672	267.928
	1.0	-7.0000	13.9654	.619	-35.128	21.128
4.0	2.0	-77.6000(*)	13.9654	.000	-105.728	-49.472
	4.0	-58.5000(*)	13.9654	.000	-86.628	-30.372
	5.0	162.2000(*)	13.9654	.000	134.072	190.328
5.0	1.0	51.5000(*)	13.9654	.001	23.372	79.628
	2.0	-19.1000	13.9654	.178	-47.228	9.028
	3.0	58.5000(*)	13.9654	.000	30.372	86.628
	5.0	220.7000(*)	13.9654	.000	192.572	248.828
	1.0	-169.2000(*)	13.9654	.000	-197.328	-141.072
	2.0	-239.8000(*)	13.9654	.000	-267.928	-211.672
	3.0	-162.2000(*)	13.9654	.000	-190.328	-134.072
	4.0	-220.7000(*)	13.9654	.000	-248.828	-192.572

* The mean difference is significant at the .05 level.

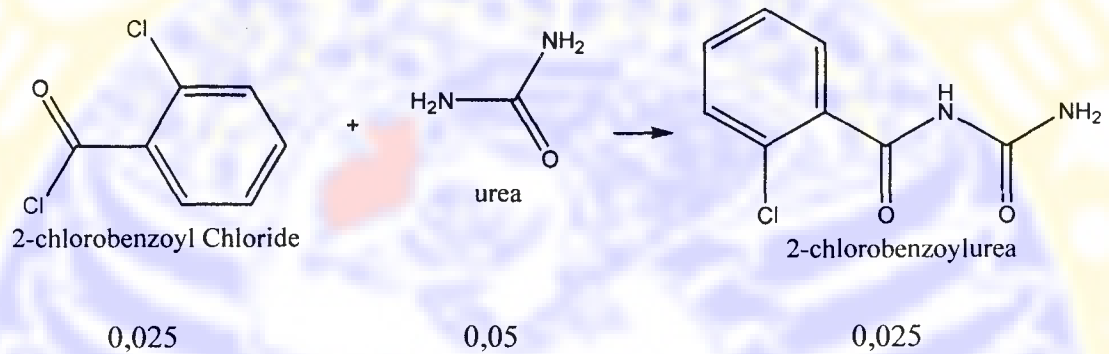
LAMPIRAN 3

Perhitungan Hasil Rendemen

Berat molekul 2-klorobenzoilurea = 198,61

Perhitungan :

Reaksi



Hasil sintesis yang diperoleh secara teoritis = 0,025 X BM senyawa

$$= 0,025 \times 198,61$$

$$= 4,965 \text{ gram}$$

Hasil sintesis yang diperoleh sebenarnya = 1,190 gram

Persentase hasil :

$$\% \text{ hasil} = \frac{\text{Berat senyawa hasil sintesis}}{\text{Berat senyawa teoritis}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,190}{4,965} \times 100\%$$

$$= 23,97\% \sim 24\%$$

LAMPIRAN 4
Perhitungan Harga LSD

Harga MSE : 975,158

n : 10

$$\begin{aligned} \text{LSD} &: \left(t_{\frac{\alpha}{2}, N-k} \right) \sqrt{\frac{2MSE}{n}} \\ &: (t_{0,025, 45}) \sqrt{\frac{2 \times 297,158}{10}} \\ &: 2,02 \sqrt{195,0316} \\ &: 2,02 \times 13,9654 \\ &: 28,21 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 5
Tabel Harga F ($\alpha = 0.05$)

$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37
125	3,92	3,07	2,68	2,44	2,29
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21

Dikutip dari : Ghozali, I., 2002, **Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS**, Universitas Diponegoro, Semarang.

LAMPIRAN 6

Tabel harga t

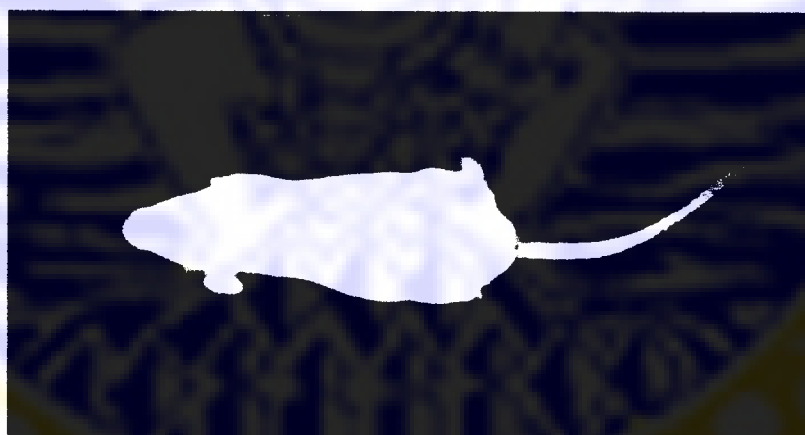
df	α			
	0.10	0.5	0.025	0.01
1	3.078	6.314	12.706	31.821
2	1.886	2.920	4.303	6.965
3	1.638	2.353	3.182	4.541
4	1.533	2.132	2.776	3.747
5	1.476	2.015	2.571	3.365
6	1.440	1.943	2.447	3.143
7	1.415	1.895	2.365	2.998
8	1.397	1.860	2.306	2.896
9	1.383	1.833	2.262	2.821
10	1.372	1.812	2.228	2.764
11	1.363	1.796	2.201	2.718
12	1.356	1.782	2.179	2.681
13	1.350	1.771	2.160	2.650
14	1.345	1.751	2.145	2.624
15	1.341	1.753	2.131	2.602
16	1.337	1.746	2.120	2.583
17	1.333	1.740	2.110	2.567
18	1.330	1.734	2.101	2.552
19	1.328	1.729	2.093	2.539
20	1.325	1.725	2.086	2.528
21	1.323	1.721	2.080	2.518
22	1.321	1.717	2.074	2.508
23	1.319	1.714	2.069	2.500
24	1.318	1.711	2.064	2.492
25	1.316	1.708	2.060	2.485
26	1.315	1.706	2.056	2.479
27	1.314	1.703	2.052	2.473
28	1.313	1.701	2.048	2.467
29	1.311	1.699	2.045	2.462
30	1.310	1.697	2.042	2.457
40	1.3203	1.684	2.021	2.423
60	1.296	1.671	2.000	2.390
120	1.289	1.658	1.980	2.358
~	1.282	1.645	1.960	2.326

Dikutip dari: Montgomery D.C,1991. *Design and Analysis of Experiments*,
Ed.3rd,New York: John Wiley andSons, pp 604

LAMPIRAN 7
GAMBAR MENCIT



Mencit *sebelum* mendapatkan perlakuan



Mencit *setelah* mendapatkan perlakuan

LAMPIRAN 8
Sertifikasi Mencit Putih (*Mus musculus*)

PUSAT VETERINARIA FARMA

JL. A. YANI NO. 68 / 70 SURABAYA

Telepon (031) 8291125
 Fax : (031) 8291183

SURAT KETERANGAN

YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI MENERANGKAN BAHWA

No	JENIS HEWAN	JML (EKOR)	STRAIN	KONDISI	/SAL HEWAN	DIPERUNTUKKAN KEPADA		CATATAN
						NAMA/ALAMAT	PENGGUNAAN	
1.	Mencit	300	BALB/C'	Sehat	Pusat Jl. A. Yani 68/70 Surabaya		Pusat	Keptan Dalk.

SURAT KETERANGAN INI KAMI BUAT UNTUK BISA DIPERGUNAKAN SEBAGAIMANA MESTINYA

