

1. ANALGESICS

2. SALICYLIC IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KKB

KK-2B

G15.783

Diy

u



LAPORAN PENELITIAN
DOSEN MUDA TAHUN ANGGARAN 2002

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK SENYAWA
ASAM O-(4-BUTILBENZOIL)SALISILAT
HASIL SINTESIS PADA MENCIT**



017003141

Oleh:

Dra. NUZUL WAHYUNING DIYAH, M.Si
Drs. BAMBANG TRI PURWANTO, MS.
Ir. RULLY SUSILOWATI, MS.

3000170033141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia

DIP Nomor : 003/XXIII/1/--/2002 Tanggal 1 Januari 2002

Kontrak Nomor : 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002

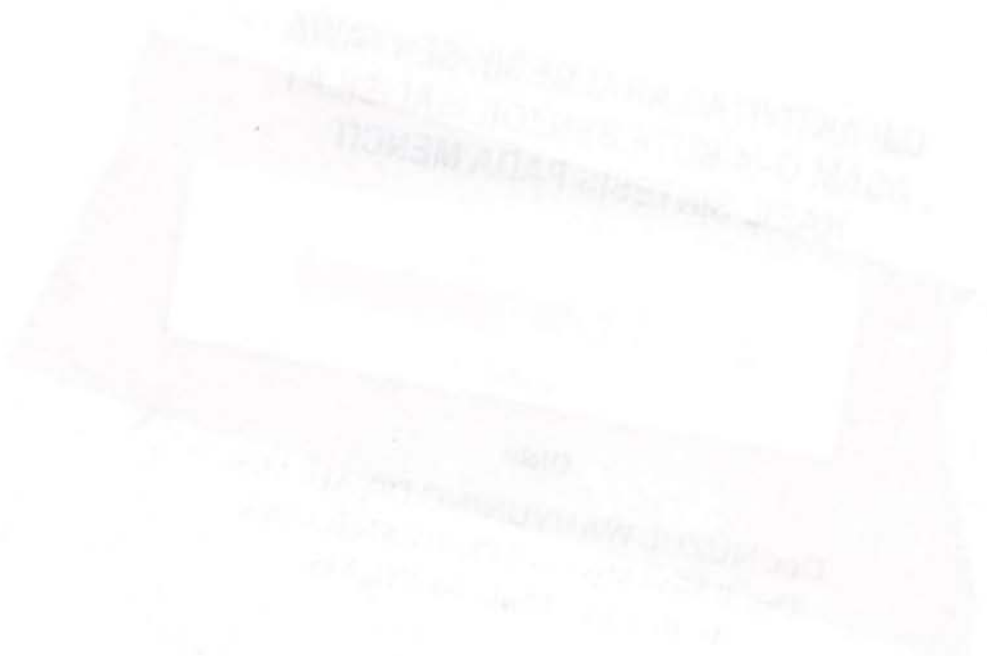
Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 19

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

September, 2002



**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**



1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN
DOSEN MUDA

3000170033141

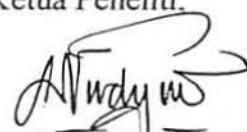
1. a. Judul Penelitian : UJI AKTIVITAS ANALGESIK SENYAWA ASAM
O-(4-BUTILBENZOIL) SALISILAT HASIL SINTESIS
PADA MENCIT
- b. Macam Penelitian : Terapan
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dra. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat /Golongan dan NIP : Penata / III c, 132011698
- d. Jabatan sekarang : --
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Farmasi
- f. Univ/Inst./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu yang diteliti : Kimia Farmasi/ Medisinal
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Jl. Dharmawangsa Dalam Surabaya
5. Kerjasama dengan Instansi lain
- a. Nama Instansi : --
- b. Alamat : --
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) Bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 6.000.000,- (enam juta rupiah)

Surabaya, 30 Oktober 2002

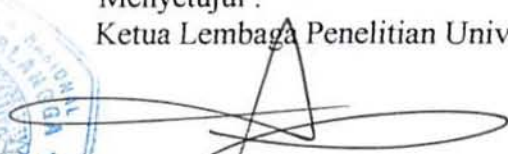
Mengetahui
Dekan Fakultas Farmasi :

Ketua Peneliti,


Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini
NIP. 130355372


Dra. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si.
NIP. 132011698

Menyetujui :
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga,


Prof. Dr. H. Sarmanu, MS
NIP. 130701125

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

RINGKASAN**UJI AKTIVITAS ANALGESIK SENYAWA ASAM O-(4-BUTILBENZOIL) SALISILAT HASIL SINTESIS PADA MENCIT**

(N.W. Diah, B. Tri Purwanto, R. Susilowati; 2002. 40 halaman).

Dalam rangka pengembangan calon obat baru dari kelompok NSAIDs telah disintesis senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan diuji aktivitas anti-inflamasinya. Analog benzoil senyawa asam asetilsalisilat (aspirin) ini menunjukkan aktivitas antiinflamasi lebih tinggi daripada aspirin. Beberapa senyawa NSAIDs yang lebih lipofilik daripada asam asetilsalisilat dan mempunyai aktivitas antiinflamasi lebih tinggi, aktivitas analgesiknya lebih rendah. Oleh karena itu perlu diketahui apakah senyawa asam O-(4-butylbenzoilsalisilat) yang mempunyai sifat lipofilik tinggi juga mempunyai aktivitas analgesik yang tinggi dan bagaimana potensi analgesiknya jika dibandingkan dengan senyawa pembanding asam asetilsalisilat.

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas analgesik senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat hasil sintesis dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas analgesiknya sehubungan dengan sifat lipofiliknya yang tinggi.

Senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat disintesis berdasarkan metode *Schotten-Baumann* dengan modifikasi pelarut. Hasil sintesis dianalisis dengan uji titik lebur, KLT, dan spektrometri ultraviolet, inframerah, serta resonansi magnet inti (NMR ^1H). Aktivitas analgesik senyawa ditetapkan dengan metode penghambatan nyeri terinduksi pada mencit (*writhing test*). Senyawa uji diberikan secara intraperitoneal 20 menit sebelum induksi nyeri oleh larutan asam asetat 0,6% i.p. Respon nyeri yang berupa konstiksi abdominal diamati 5 menit setelah induksi nyeri selama 30 menit. Aktivitas analgesik dinyatakan sebagai ED_{50} yang ditentukan berdasarkan hubungan antara dosis dengan prosentase hambatan nyeri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat hasil sintesis mempunyai ED_{50} hambatan nyeri sebesar 154 mg/kg (0,51 mmol/kg), sedangkan asam asetilsalisilat sebagai pembanding mempunyai ED_{50} sebesar 101 mg/kg (0,57 mmol/kg).

Dapat disimpulkan bahwa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat mempunyai aktivitas analgesik yang bermakna, dan aktivitas ini sebanding secara molar dengan asam asetilsalisilat. Saran yang dapat disampaikan adalah perlunya diteliti lebih lanjut toksisitas akut senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat, sifat farmakokinetik, dan kemampuan senyawa menghambat enzim siklooksigenase.

(L.P. Universitas Airlangga. Kontrak No. 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002
tanggal 9 April 2002)

SUMMARY

ANALGESIC ACTIVITY TEST OF O-(4-BUTYLBENZOYL) SALICYLIC ACID IN MICE

Nuzul W. Diyah, Bambang Tri Purwanto, R. Susilowati
Department of Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmacy, Airlangga University

An effort to develop the salicylate derivative as one of the important NSAIDs have been done by synthesize the O-(4-butylbenzoyl)salicylic acid and test the antiinflammatory activity of the compound. This benzoyl analog of acetylsalicylic acid (aspirin) exhibited antiinflammatory activity higher than acetylsalicylic acid. Some of the NSAIDs more lipophilic than acetylsalicylic acid show higher antiinflammatory activities but their analgesic activities are lower. Therefore, it is important to investigate the analgesic activity of this lipophilic O-(4-butylbenzoyl) salicylic acid. It is also interesting to find out the analgesic potency of the compound compared to acetylsalicylic acid.

The aim of this study is to determine the analgesic activity of O-(4-butylbenzoyl) salicylic acid which related to its higher lipophilicity.

The O-(4-butylbenzoyl)salicylic acid was synthesized by solvent-modified Schotten-Baumann method. The purity was analyzed by melting point test and thin layer chromatography. The structure elucidation of the compound was based on the spectrometric data of ultraviolet, infrared, nuclear magnetic resonance (^1H NMR), and mass spectrometry. Analgesic activity was tested in mice using pain-induced writhing method. Ten mice per group were administered 0,6% acetic acid via i.p injection. The test compound was administered i.p as CMC suspension 20 minutes before acetic acid administration. The response of drug-treated animals measured 5 minutes after injection of acetic acid for 30 minutes periods. The results are exhibited and expressed as median effective dose (ED_{50}) based on dose versus pain-inhibition percentage curve as calculated by probit regression analysis.

The O-(4-butylbenzoyl) salicylic acid was exhibited pain inhibitory activity represented by ED_{50} 154 mg/kg (0,51 mmol/kg), while acetylsalicylic acid, as reference, has ED_{50} 101 mg/kg (0,57 mmol/kg). The analgesic activity of O-(4-butylbenzoylsalicylic acid was comparable with acetylsalicylic acid on the molar basis.

(L.P. Universitas Airlangga. Kontrak No. 023/LIT/BPPK-SDM/IV/2002
tanggal 9 April 2002)

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Pengasih, Penyayang, dan berkuasa atas segala sesuatu. Hanya dengan kehendakNya-lah maka penelitian yang kami laporkan ini dapat diselesaikan. Dalam laporan ini kami uraikan hasil uji analgesik senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat, yang pernah disintesis pada tahun 1998 dan diuji aktivitas antiinflamasinya. Penelitian ini termasuk bidang kimia medisinal, khususnya pengembangan obat, yang dilakukan dalam usaha menjajagi kemungkinan bahwa senyawa hasil sintesis tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai calon obat baru.

Hambatan dan rintangan dalam melakukan setiap kegiatan selalu ada, demikian pula dalam pelaksanaan penelitian ini. Hanya dengan ridla Illahi semata serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, semua masalah dapat diatasi. Oleh karena itu pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terimakasih yang tulus kepada :

- a. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga beserta staf atas kesempatan dan kemudahan yang diberikan untuk melakukan penelitian.
- b. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas izin dan fasilitas yang diberikan untuk pelaksanaan penelitian.
- c. Prof. Dr. Bambang Soekardjo, SU selaku Kepala Laboratorium Kimia Medisinal tempat pelaksanaan penelitian dan secara pribadi atas saran, dukungan, serta bantuannya dalam melaksanakan penelitian.
- d. Dr. Siswandono, MS atas bantuan beberapa bahan penelitian, Drs. Robby Sondakh, MS atas bantuan teknis yang diberikan, serta Drs. Suko Hardjono, MS.
- e. Dra. Juni Ekowati, MS. atas dukungan serta saran yang diberikan.
- f. Bapak Tukidjo dan Saudara Sutanto atas bantuannya dalam teknis pelaksanaan penelitian.

Kepada anggota peneliti, Drs. Bambang Tri Purwanto dan Ir. Rully Susilowati, MS, kami sampaikan pula terimakasih sebanyak-banyaknya atas kerjasama yang baik disertai harapan semoga kita akan dapat terus melakukan dan meningkatkan kerjasama seperti ini di masa yang akan datang.

Semoga hasil penelitian kami dapat memberikan sumbangan yang berarti dalam bidang ilmu terkait, meskipun di sana-sini masih ditemukan kekurangan. Kalau ada kebaikan dan manfaat dalam penelitian ini, maka datangnya adalah dari Sang Pemilik Ilmu, sedangkan apabila terdapat kekurangan itulah hasil pekerjaan kami.

Surabaya, 30 Oktober 2002

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	
1. Tinjauan tentang analgesik-antiinflamasi	4
2. Tinjauan tentang obat antiinflamasi nonsteroid (NSAIDs)	5
3. Tinjauan tentang mekanisme aksi analgesik-antiinflamasi	6
4. Tinjauan tentang senyawa turunan salisilat	7
5. Tinjauan tentang senyawa turunan asam benzoilsalisilat	11
6. Tinjauan tentang uji aktivitas analgesik	12
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	15
IV. METODE PENELITIAN	
1. Bahan penelitian	16
2. Alat yang dipakai	16
3. Cara kerja	17
3.1. Pembuatan senyawa asam O-(4-butilbenzoil)salisilat	17
3.2. Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis	17
3.3. Uji aktivitas analgesik	18
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
1. Hasil sintesis dan analisis senyawa asam O-(4-butilbenzoil) salisilat	21
2. Uji aktivitas analgesik	25
2.1. Penentuan waktu optimum	25
2.2. Penentuan aktivitas penghambatan nyeri	26
2.3. Penentuan ED ₅₀	28
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur asam O-(4-butylbenzoyl)salisilat (A) dan asam asetilsalisilat	12
Gambar 2. Spektra ultraviolet larutan senyawa asam O-(4-butylbenzoyl) salisilat hasil sintesis dalam metanol	22
Gambar 3. Spektra inframerah senyawa asam O-(4-butylbenzoyl)salisilat sebagai pelet KBr.....	22
Gambar 4. Spektra NMR ¹ H senyawa asam O-(4-butylbenzoyl)salisilat dalam DMSO-d ₆	23

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil uji kualitatif senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat hasil sintesis	21
Tabel 2. Respon konstiksi abdominal mencit pada 3 kelompok waktu penyuntikan asam asetat 0,6% setelah pemberian asam asetilsalisilat dan kelompok kontrol	25
Tabel 3. Respon konstiksi abdominal pada kelompok dosis senyawa uji asam O-(4-butylbenzoi)salisilat dan kelompok kontrol	26
Tabel 4. Respon konstiksi abdominal pada kelompok dosis senyawa uji Asam asetilsalisilat dan kelompok kontrol	27
Tabel 5. Hasil perhitungan prosentase hambatan nyeri terinduksi pada kelompok yang diberi senyawa uji asam O-(4-butylbenzoi)salisilat dan asam asetilsalisilat	27
Tabel 6. ED₅₀ hambatan nyeri terinduksi asam asetat senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat dan asam asetilsalisilat	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji Anova respon konstiksi abdominal antar kelompok perlakuan	35
Lampiran 2. Hasil uji T antara kelompok senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan asam asetilsalisilat	36
Lampiran 3. Hasil penentuan ED ₅₀ aktivitas analgesik asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dengan analisis probit	37
Lampiran 4. Hasil penentuan ED ₅₀ aktivitas analgesik asam asetilsalisilat dengan analisis probit	39

BAB I**PENDAHULUAN**

Kelompok obat antiinflamasi nonsteroid (*Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs* = NSAIDs) merupakan obat pilihan untuk mengatasi rasa nyeri ringan sampai sedang (analgesik) dan menurunkan demam (antipiretik). Hingga kini belum diperoleh senyawa NSAIDs yang ideal dan berbagai usaha untuk mendapatkannya masih terus dilakukan sejak diperkenalkannya aspirin pada 1899 (Gringauz, 1997).

Aspirin (asam asetilsalisilat) adalah NSAIDs turunan salisilat yang paling banyak digunakan dan merupakan prototip obat analgesik-antiinflamasi. Aspirin merupakan NSAIDs yang mempunyai aktivitas antiinflamasi tinggi dan aktivitas analgesiknya sebanding dengan parasetamol, analgetika non narkotik yang kuat. Sayangnya, seperti NSAIDs pada umumnya, aspirin mempunyai efek yang merugikan antara lain menimbulkan iritasi lambung dan perdarahan.

Sejak tahun 1960-an telah banyak dilakukan sintesis senyawa turunan salisilat dengan tujuan memperoleh obat yang relatif kurang toksik dan lebih tinggi aktivitasnya daripada aspirin. Beberapa cara yang dilakukan adalah melakukan modifikasi pada gugus fenolat asam salisilat (Scherrer dan Whitehouse, 1974). Atom hidrogen gugus ini dapat diganti dengan gugus selain asetil tanpa menghilangkan aktivitasnya, seperti pada senyawa : asam fenasetilsalisilat dan asam (o-difenilasetoksi)benzoat (Adams dan Cobb, 1967), asam n-heksil-O-karboksifenil-karbonat (Misher dkk, 1968), 2-(o-karboksifenoksi)tetrahidropiran (Fife dan Anderson, 1971). Diamond dan Martin (Scherrer dan Whitehouse, 1974) membuat asam O-(4-aminobenzoil)salisilat, tetapi belum diketahui bagaimana aktivitas biologisnya.

Telah disintesis senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat, analog benzoil aspirin, yang menunjukkan aktivitas antiinflamasi lebih tinggi daripada aspirin (N.W. Diah, 1998). Aktivitas antiinflamasi tersebut dinyatakan dalam ED₅₀ hambatan edema terinduksi karagenan. Berdasarkan analisis hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas diketahui bahwa terdapat pengaruh sifat lipofilik dan sterik



substituen pada atom oksigen gugus fenolat terhadap aktivitas antiinflamasi senyawa.

Efek farmakologi turunan salisilat bergantung pada kadar senyawa yang mencapai tempat aksi (Smith dan Smith, 1966) sehingga sifat farmakokinetik dan distribusinya bertanggung jawab atas aktivitasnya (Insel, 1992). Perbedaan aktivitas di antara turunan salisilat disebabkan oleh kemampuannya mencapai tempat aksi (Scherrer dan Whitehouse, 1974). Di antara turunan salisilat hasil modifikasi pada gugus fenolat, yang menunjukkan aktivitas sebanding dengan aspirin hanya n-heksil-O-karboksifenilkarbonat yang mempunyai koefisien partisi tinggi.

Senyawa NSAIDs yang lebih lipofilik mempunyai masa kerja lebih lama, tetapi beberapa senyawa, seperti naproksen dan ketoprofen, aktivitas analgesiknya lebih rendah daripada ibuprofen (Conaway, 1995). Sifat lipofilik yang lebih tinggi pada naproksen dan ketoprofen ini adalah akibat adanya tambahan satu gugus fenil .

Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat mempunyai dua gugus fenil pada strukturnya, dan demikian lipofilisitasnya lebih tinggi daripada aspirin. Meskipun mempunyai sifat lipofilik yang dapat memberikan pengaruh positif terhadap aktivitas antiinflamasinya, belum diketahui bagaimana aktivitas analgesik senyawa ini.

Sebelum suatu senyawa kimia dapat disebut obat, ia harus menjalani terlebih dahulu uji bioaktivitas praklinik dan klinik. Uji bioaktivitas meliputi uji farmakodinamik/farmakologik untuk menentukan efikasi dan uji toksikologik untuk menentukan keamanan. Untuk menguji bioaktivitas suatu senyawa kimia lazim digunakan hewan yang dibuat sakit (*disease model*). Sakit atau keadaan abnormal dapat dibuat secara genetik, kimiawi, atau fisik (L. Hakim, 2001).

Dalam rangka pengembangan asam O-(4-benzoil)salisilat sebagai calon obat baru kelompok NSAIDs, perlu dilakukan uji aktivitas analgesik senyawa hasil sintesis. Untuk mengetahui efek analgesik, dapat digunakan hewan coba mencit atau tikus yang diberi perlakuan secara kimiawi dengan senyawa asam asetat, atau secara fisik dengan pemanasan *hot plate* pada mencit dan dengan radiasi atau tekanan pada ekor tikus.

Berdasarkan uraian tersebut, rumusan permasalahannya adalah apakah senyawa asam O-(4-butilbenzoilsalisilat) yang mempunyai sifat lipofilik tinggi mempunyai aktivitas analgesik yang bermakna. Bagaimana potensi analgesiknya jika dibandingkan dengan senyawa pembanding asam asetilsalisilat ?

Pada penelitian ini uji aktivitas analgesik dilakukan dengan metode penghambatan nyeri akibat rangsangan (induksi) senyawa kimia, yaitu asam asetat, pada hewan mencit. Senyawa lain yang dapat digunakan sebagai penginduksi nyeri adalah fenilkinon dan bradikinin (Lineberry, 1981). Metode yang menggunakan senyawa kimia ini dipilih karena nyeri yang terjadi akibat induksi kimiawi berhubungan dengan faktor inflamasi. Respon nyeri yang tampak akibat rangsangan kimiawi ini adalah menggeliatnya mencit setelah pemberian senyawa penginduksi nyeri (*Writhing test*). Potensi analgesik obat dinilai berdasarkan kemampuannya menghambat timbulnya respon nyeri (Sicardi *et al.*, 1991).

Dengan diketahuinya aktivitas analgesik, yang pada umumnya dimiliki senyawa NSAIDs, dapat diperoleh gambaran yang lebih jelas tentang kemungkinan dikembangkannya senyawa O-(4-butilbenzoil)salisilat sebagai calon obat baru dari kelompok analgesik-antiinflamasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan tentang analgesik-antiinflamasi

Inflamasi dapat didefinisikan sebagai serangkaian respon terlokalisasi pada jaringan terhadap rangsangan asing, yang mungkin bersifat biologis (bakteri, jamur, virus), kimiawi, atau fisik (sinar X, sinar ultraviolet), atau terhadap faktor endogen seperti reaksi autoimun (Adams dan Cobb, 1967). Pada umumnya inflamasi dibedakan menjadi inflamasi akut dan inflamasi kronik. Inflamasi akut adalah proses vaskular yang ditandai oleh adanya eritema, penurunan aliran darah pada pembuluh kecil, peningkatan tekanan darah kapiler, peningkatan permeabilitas vaskular, infiltrasi leukosit menuju daerah terpapar, dan rasa nyeri.

Nyeri dipandang sebagai suatu sindroma dari sensasi yang sangat tidak menyenangkan (Gringauz, 1997). Nyeri merupakan ciri-ciri utama dan paling bermakna dalam penyakit inflamasi. Meskipun demikian, nyeri dapat berasal dari dari proses non inflamasi serta dapat diatasi, tanpa mengetahui asalnya, dengan senyawa-senyawa yang bekerja dengan berbagai cara yang berbeda (Adams dan Cobb, 1967).

Nyeri dapat dikelompokkan sebagai nyeri akut dan kronik. Nyeri akut dihasilkan dari penyakit, kecelakaan, zat kimia, atau rangsangan fisik (seperti panas). Secara klinik, nyeri akut meliputi nyeri gigi akut, nyeri persalinan, dan nyeri pasca bedah. Berdasarkan asalnya, nyeri dibedakan menjadi nyeri viseral dan nyeri somatik. Nyeri viseral adalah nyeri yang berasal dari bagian nonskeletal, contohnya nyeri lambung, kejang usus, dan kolik. Obat analgesik non narkotik atau analgesik-antiinflamasi umumnya tidak efektif pada keadaan seperti ini. Nyeri somatik adalah nyeri yang berasal dari otot dan tulang, meliputi nyeri kepala, nyeri terkilir, atau nyeri artritis, yang dapat dihilangkan dengan menggunakan obat analgesik-antiinflamasi (Gringauz, 1997)

Masih sedikit informasi tentang mekanisme nyeri akibat inflamasi. Akumulasi eksudat dalam abses dapat mengakibatkan nyeri yang akan segera mereda setelah abses diinsisi. Tekanan yang diberikan dari luar tidak cukup untuk

menimbulkan nyeri pada jaringan normal, tetapi dapat menyebabkan nyeri pada daerah inflamasi yang disebut sebagai keadaan hiperalgesik.

Analgetika adalah kelompok obat yang memiliki aktivitas menekan atau mengurangi rasa nyeri, baik akut atau kronik. Analgetika dikelompokkan menjadi dua, yaitu analgetika kuat (analgetika narkotik) dan analgetika lemah (analgetika non narkotik). Analgetika non narkotik terdiri dari analgetika-antipiretik dan analgetika-antiinflamasi atau sering disebut NSAIDs (*Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*).

Obat analgesik-antipiretik mempunyai kemampuan meredakan nyeri ringan sampai berat dan efektif dalam menurunkan demam ke tingkat normal. Yang termasuk kelompok ini adalah senyawa turunan anilin seperti : asetanilida, fenasetin, dan asetaminofen. Asetaminofen merupakan satu-satunya analgetika-antipiretik turunan anilin yang masih digunakan hingga kini (Gringauz, 1997). Asetaminofen tidak mempunyai aksi antiinflamasi bermakna, tetapi banyak digunakan sebagai obat analgesik ringan jika nyeri tidak mempunyai komponen inflamasi (Neal, 1992). Meskipun tidak mempunyai aktivitas antiinflamasi, manfaat asetaminofen untuk keadaan noninflamasi dan demam hampir sama dengan aspirin. Ia diabsorpsi dengan baik secara oral dan tidak menyebabkan iritasi lambung. Kerugiannya, pada overdosis, dapat terjadi hepatotoksisitas serius.

2. Tinjauan tentang obat antiinflamasi non steroid (NSAIDs)

NSAIDs umumnya digunakan untuk mengurangi rasa nyeri dan mengatasi peradangan akut dan kronik serta peradangan pada rematik. Berdasarkan struktur kimianya, NSAIDs dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok struktur, antara lain : turunan asam salisilat, asam antranilat, asam arilasetat, asam indolasetat, pirazolon, dan sulfonamida siklis (oksikam). Senyawa-senyawa tersebut mempunyai potensi analgesik sangat beragam, tetapi memiliki banyak kesamaan sifat, seperti bersifat asam dan menunjukkan sifat antiinflamasi yang bermanfaat secara klinik.

Sebagian besar NSAIDs adalah asam karboksilat. Flufenisal adalah turunan asam salisilat yang mempunyai masa kerja lebih panjang dan efek

samping lebih kecil daripada aspirin. Asam mefenamat dan flufenamat adalah turunan asam antranilat, sedangkan ibuprofen dan naproksen berturut-turut adalah turunan asam fenilasetat dan asam naftilasetat. Indometasin adalah turunan indol yang digunakan secara luas walaupun efek sampingnya serius (Nogrady, 1985).

Belum ada penelitian langsung tentang keunggulan masing-masing NSAIDs yang berguna ini antara satu dengan yang lain. Beberapa di antara senyawa ini, seperti indoprofen, cukup kuat dan efektif terhadap nyeri berat yang disebabkan oleh keganasan. Efek antiinflamasi dan analgesik senyawa-senyawa NSAIDs ini hanya bersifat simptomatik.

Struktur kimia NSAIDs yang sangat beragam mempunyai ciri-ciri umum, yaitu : mempunyai dua cincin yang berhubungan langsung atau melalui "jembatan" atom/gugus pendek. Salah satu cincin bertindak sebagai pengemban bagian hidrofobik molekul, pada umumnya berupa cincin aromatik atau sikloalkana yang dapat disubstitusi dengan alkil atau radikal apolar lainnya. Pada beberapa senyawa, bagian ini dapat berupa rantai hidrokarbon (Gryglewski, 1974).

Senyawa yang paling dikenal dan banyak digunakan adalah dari turunan salisilat. Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan prototip analgetika-antiinflamasi. Hingga kini, NSAIDs masih dinilai dengan membandingkannya terhadap aspirin dan aspirin adalah obat pilihan pertama untuk pengobatan keadaan rematik (Gringauz, 1997).

3. Tinjauan tentang mekanisme aksi analgesik-antiinflamasi

Respon inflamasi umumnya diikuti tanda-tanda klinik berupa eritema, edema, panas, rasa nyeri, dan hilangnya fungsi. Respon inflamasi terjadi dalam 3 fase, yaitu : peningkatan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan edema, infiltrasi leukosit dan fagositosis, serta proliferasi fibroblas, sintesis jaringan penghubung baru untuk memperbaiki kerusakan (Coyne, 1970). Inflamasi berhubungan dengan peningkatan jumlah leukosit pada jaringan setempat dan pelepasan molekul mediator inflamasi. Mediator inflamasi tersebut antara lain : histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin (Lands, 1985).

Prostaglandin berfungsi sebagai hormon lokal yang mengendalikan atau mempengaruhi hampir tiap jaringan dan fungsi fisiologis, seperti : kontraksi uterus, tekanan darah, kontraksi usus, agregasi trombosit, sekresi mukosa lambung, dan respon inflamasi (Griffith dan Witiak, 1997). Peran prostaglandin dalam inflamasi adalah menghasilkan vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas vaskuler (Neal, 1992).

John Vane (1971) menyatakan bahwa cara aksi utama NSAIDs adalah dengan menghambat biosintesis prostaglandin melalui hambatan pada enzim siklooksigenase (Lands, 1985). NSAIDs menghambat perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin G_2 dan H_2 (PGG_2 dan PGH_2) yang dikatalisis oleh enzim siklooksigenase. PGG_2 dan PGH_2 diketahui dapat menyebabkan nyeri, sedangkan PGE_2 dapat menyebabkan nyeri, edema, eritema, dan demam (Nogrady, 1985).

Telah diketahui ada 2 bentuk enzim siklooksigenase (COX), yaitu yang konstitutif (COX-1) dan yang dapat terinduksi (COX-2). Enzim COX-2 kemungkinan berhubungan dengan proses inflamasi, sedangkan COX-1 terdapat dalam banyak jaringan sehat termasuk saluran cerna (Griffith dan Witiak, 1997).

Semua NSAIDs mempunyai kemampuan menghambat siklooksigenase dan mengakibatkan penghambatan sintesis prostaglandin. Sayangnya, hambatan sintesis prostaglandin dalam mukosa lambung seringkali mengakibatkan kerusakan gastrointestinal. Efek samping yang lebih serius meliputi perdarahan gastrointestinal dan perforasi (Neal, 1992).

Aksi analgesik NSAIDs dapat bersifat perifer dan sentral, tetapi aksi perifer lebih dominan. Aksi analgesik umumnya berhubungan dengan aksi antiinflamasi dan merupakan akibat dari penghambatan sintesis prostaglandin dalam jaringan terinflamasi. Prostaglandin sendiri mengakibatkan sedikit nyeri, tetapi dapat menghasilkan potensiasi nyeri yang disebabkan oleh mediator inflamasi lain (histamin dan bradikinin).

NSAIDs menghambat siklooksigenase dengan berbagai mekanisme. Aspirin berikatan secara kovalen dengan residu serin enzim, menyebabkan hambatan ireversibel. Hal ini akibat dari halangan sterik terhadap pengikatan substrat pada sisi aktif oksigenase. Ibuprofen dan piroksikam adalah inhibitor

siklooksigenase yang kompetitif reversibel. Asetaminofen bekerja dengan mereduksi peroksida sitoplasmik yang penting untuk mengaktifkan enzim haem menjadi bentuk ferri. Pada daerah inflamasi akut, parasetamol tidak terlalu efektif karena neutrofil dan monosit menghasilkan banyak H_2O_2 dan peroksida lipid yang mengakhiri aksi obat ini.

NSAIDs juga menghambat atau mempengaruhi reaksi enzim lainnya dan bereaksi dengan protein non enzim seperti albumin. Ada dua atau lebih tempat ikatan hidrofobik berafinitas tinggi bagi senyawa NSAIDs pada tiap molekul albumin serum. Berdasarkan pengikatan asam flufenamat pada albumin diketahui bahwa bagian aromatik obat masuk ke dalam celah hidrofobik molekul protein, sedangkan gugus karboksilat berinteraksi dengan gugus hidrofilik pada permukaan protein (Gryglewski, 1974). Residu ϵ -amino lisin dalam albumin tampaknya terlibat dalam pengikatan senyawa antiinflamasi yang bersifat asam (Shen, 1981).

Whitehouse mengajukan hipotesis bahwa interaksi NSAIDs dengan gugus hidrofilik ϵ -amino lisin pada permukaan enzim-enzim tertentu mendukung aksi farmakologi dan efek toksik obat ini, terutama pada kelebihan dosis (Gryglewski, 1974; Insel, 1992). Scherrer mengemukakan reseptor hipotetik yang didasarkan pada studi hubungan struktur dan aktivitas satu seri senyawa dan pada asumsi bahwa senyawa-senyawa itu bekerja pada tempat yang sama. Reseptor antiinflamasi mempunyai 2 bagian utama, yaitu suatu sisi kationik dan sebuah celah untuk menerima sistem cincin senyawa antiinflamasi.

4. Tinjauan tentang senyawa turunan salisilat

Asam salisilat dihasilkan dari unsur aktif pohon willow, salisin, yang diisolasi oleh Leroux pada tahun 1829. Piria membuat asam salisilat pada 1838, kemudian Cahours pada tahun 1844 memperoleh asam salisilat dari minyak gandapura yang mengandung metil salisilat. Kolbe dan Lautermann pada 1860 berhasil membuat asam salisilat secara sintetik dari fenol (Insel, 1992).

Struktur dasar salisilat terdiri dari satu cincin benzena yang mengemban satu gugus karboksil dan satu gugus hidroksil yang terletak pada posisi orto satu dengan yang lain. Asam salisilat adalah asam 2-hidroksibenzoat. Asam benzoat

mempunyai aksi mirip asam salisilat, tetapi lebih lemah (Shearn, 1989). Asam 3-hidroksi dan 4-hidroksi benzoat tidak mempunyai aktivitas antiinflamasi (Adams dan Cobb, 1967).

Natrium salisilat, senyawa garamnya, diperkenalkan oleh Buss (Willette, 1991), digunakan pada pengobatan rematik dan sebagai antipiretika pertama kali pada 1985 (Insel, 1992). Asam asetilsalisilat disintesis pertama kali oleh Gerhardt pada tahun 1853 tetapi baru digunakan tahun 1899 setelah Felix Hoffmann menemukan aktivitas farmakologinya dan kemudian Dresser memperkenalkannya dalam bidang kedokteran serta menamakannya aspirin (Willette, 1991).

Asam salisilat tidak lagi digunakan secara oral karena toksik sehingga banyak dilakukan modifikasi molekul dengan tujuan mengurangi efek samping dan juga meningkatkan aktivitasnya. Modifikasi molekul asam salisilat dapat dilakukan melalui 4 cara, yaitu (Korolkovas, 1988) :

- a. Modifikasi gugus karboksil melalui pembentukan garam, ester, atau amida.
- b. Substitusi pada gugus hidroksil (fenolat)
- c. Modifikasi gugus karboksil dan fenolat
- d. Substitusi pada cincin benzena

Tujuan utama modifikasi gugus karboksil atau fenolat adalah memperkecil kontak bentuk aktif obat dengan lambung (Scherrer, 1974). Turunan tipe a dihidrolisis terutama di usus, sedangkan tipe b dapat diabsorpsi secara utuh ke dalam sirkulasi (Willette, 1991).

Aspirin (asam O-asetilsalisilat) merupakan turunan asam salisilat hasil modifikasi pada gugus fenolat (tipe b), yaitu melalui substitusi gugus asetil. Senyawa lainnya adalah asam fenasetilsalisilat yang disintesis oleh Lespagnol dan Thieblot, asam (o-difenilasetoksi)benzoat oleh Weaver dan kawan-kawan, asam n-heksil-O-karboksifenilkarbonat oleh Misher dan kawan-kawan, 2-(o-karboksifenoksi)tetrahidropiran oleh Cross dan kawan-kawan, asam O-(4-aminobenzoil)salisilat oleh Diamond dan Martin, serta beberapa turunan asam O-benzoilsalisilat lainnya (N.W. Diyah, 1998).

Dari berbagai penelitian diketahui bahwa atom hidrogen gugus fenolat dapat diganti dengan gugus selain asetil tanpa menghilangkan aktivitasnya. Asam

fenasetilsalisilat dapat menurunkan permeabilitas membran sinovial pada kelinci seperti halnya natrium salisilat. Asam (o-difenilasetoksi)benzoat mempunyai sifat analgesik lebih kuat daripada aspirin, dan asam n-heksil-O-karboksifenil-karbonat mempunyai aktivitas serupa dengan aspirin bahkan tidak mengiritasi lambung sehingga relatif kurang toksik dibandingkan dengan aspirin.

Para pakar sependapat bahwa aspirin lebih poten sebagai antiinflamasi daripada asam salisilat, dan aktivitas analgesiknya hampir seluruhnya dari aspirin utuh (Scherrer dan Whitehouse, 1974). Cranston pada 1971 menyatakan bahwa hubungan struktur dan aktivitas antipiretik aspirin dengan isomer orto natrium hidroksi benzoat bersifat spesifik. Aspirin lebih kuat 50% daripada natrium salisilat tetapi natrium salisilat kurang mengiritasi lambung (Shearn, 1989).

Salisilamida, turunan hasil modifikasi gugus karboksil, mempunyai aktivitas analgesik sedikit lebih kuat daripada aspirin (Adams dan Cobb, 1968) tetapi aktivitas antiinflamasinya lebih kecil daripada aspirin dan turunan salisilat lainnya (N.W. Diyah, 1998).

Asam 5-(N-pirol)salisilat, turunan hasil substitusi pada cincin benzena, dinyatakan kurang toksis bagi lambung dibandingkan dengan aspirin dan mempunyai indeks terapi lebih lebar daripada aspirin, tetapi tidak mempunyai aktivitas antipiretik (Jones *et al.*, 1978). Turunan lainnya, asam 5-(2,4-difluorofenil)salisilat, lebih aktif daripada aspirin dan mempunyai masa kerja lebih panjang serta indeks terapi lebih lebar (Hannah *et al.*, 1978).

Efek farmakologi turunan salisilat tergantung pada kadar obat yang mencapai tempat aksi (Smith dan Smith, 1966). Efek hambatan oleh aspirin tergantung pada obat yang mencapai enzim siklooksigenase sehingga distribusi dan sifat farmakokinetik obat bertanggung jawab atas aktivitasnya (Insel, 1992). Aktivitas analgesik aspirin yang berbeda dengan asam salisilat mungkin disebabkan oleh perbedaan kemampuannya mencapai tempat aksi pada susunan saraf pusat (Scherrer dan Whitehouse, 1974). Levitan dan Barker menemukan bahwa potensi salisilat tersubstitusi menurunkan permeabilitas membran ganglia bukal moluska mempunyai hubungan linier dengan Log P-nya (Martin, 1978).

Di samping karena aksinya pada biosintesis prostaglandin, efek salisilat pada rematik dan inflamasi juga melibatkan efek pada proses seluler lain serta

imunologi dalam jaringan ikat dan penghubung. Salisilat menginduksi stabilisasi tak spesifik permeabilitas kapiler dan mempengaruhi metabolisme mukopolisakarida jaringan penghubung.

Aspirin menghambat siklooksigenase secara tak reversibel dengan cara mengasetilasi enzim tersebut. Aspirin dan natrium salisilat mempunyai potensi yang sama terhadap COX-1 dan COX-2, tetapi efeknya pada trombosit berbeda dengan efek pada mukosa lambung (Griffith dan Witiak, 1997).

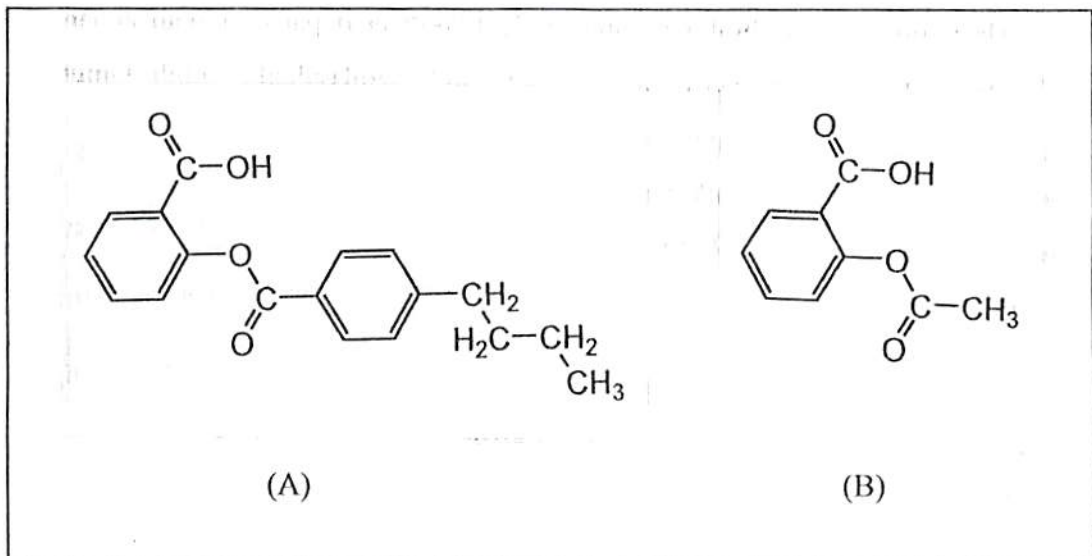
5. Tinjauan tentang senyawa turunan asam benzoilsalisilat

Turunan asam O-benzoilsalisilat merupakan ester fenolat asam salisilat. Atom hidrogen gugus fenolat diganti dengan gugus benzoil tersubstitusi, dengan demikian turunan ini analog dengan aspirin. Beberapa turunan asam O-benzoilsalisilat yang telah dibuat antara lain : asam O-(4-aminobenzoil)salisilat, asam O-(4-bromobenzoil) salisilat dan asam O-(4-butylbenzoil)salisilat (N.W. Diyah, 1998), serta asam O-(3-trifluorometilbenzoil)salisilat (N.W. Diyah dkk., 2001).

Senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dibuat berdasarkan metode Schotten-Baumann dengan modifikasi pelarut, dengan cara mereaksikan benzoil klorida tersubstitusi dengan asam salisilat dalam pelarut tetrahidrofur. Reaksi tersebut adalah substitusi nukleofilik; asam salisilat bertindak sebagai nukleofil, sedangkan benzoil klorida digunakan sebagai turunan karboksilat yang aktif.

Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat, $C_{18}H_{18}O_4$, mempunyai bobot molekul 298. Senyawa ini tidak larut dalam air tetapi larut dalam metanol, etanol, kloroform, dan aseton; larutan dalam metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 239 nm.

Berdasarkan uji aktivitas antiinflamasi dengan metode edema terinduksi karagenan pada kaki tikus diketahui bahwa pada penggunaan secara oral senyawa ini mempunyai aktivitas antiinflamasi lebih tinggi daripada aspirin. ED_{50} aspirin adalah 78 mg/kg (0,43 mmol/kg), sedangkan ED_{50} asam O-(4-butylbenzoil) salisilat adalah 62 mg/kg (0,21 mmol/kg). Keadaan ini diduga karena senyawa bersifat lebih lipofilik daripada aspirin. Lipofilisitas tinggi tersebut adalah akibat adanya tambahan satu cincin fenil dari gugus benzoil.



Gambar 1. Struktur asam O-(4-butylbenzoi)salisilat (A) dan asam asetilsalisilat (B)

6. Tinjauan tentang uji aktivitas analgesik

Metode uji aktivitas analgesik digunakan untuk menilai kemampuan senyawa uji dalam menekan atau menghilangkan rasa "nyeri inflamasi" akibat rangsangan pada hewan coba. Rangsangan yang diberikan dapat berupa rangsangan fisik (tekanan, panas, listrik) atau kimiawi (Gringauz, 1997). Dengan menggunakan hewan coba, ambang nyeri dapat ditentukan secara reproduibel dengan mengukur respon refleksnya terhadap rangsangan syok panas, tekanan, atau listrik.

Rangsangan panas dapat dihasilkan dengan memaparkan benda panas pada kulit hewan coba, seperti metode *hot plate*, atau dengan melalui penyinaran lampu pada kulit. Rangsangan listrik dihasilkan dengan menempelkan elektrode pada kulit atau menanamnya pada ganglia sensorik atau tempat-tempat tertentu dalam susunan saraf pusat (Lineberry, 1981).

Metode uji aktivitas seperti uji *hot plate* pada mencit, uji tekan ekor tikus (*flick test*), dan perlakuan listrik pada pulpa gigi memberikan hasil yang reproduibel. Awal timbulnya rasa nyeri, yang dapat ditunda waktunya dengan pemberian senyawa analgesik sebelum perlakuan, berhubungan dengan efikasi

dan potensi obat (Gringauz, 1997). Meskipun demikian, nyeri yang dihasilkan dengan teknik rangsangan listrik pada gigi dan *flick test* dinyatakan tidak mempunyai komponen inflamasi (Adams dan Cobb, 1967).

Meskipun banyak metode uji analgesik telah digunakan, informasi tentang mekanisme nyeri akibat inflamasi sendiri masih sedikit. Tekanan dari luar yang tidak cukup untuk menimbulkan nyeri pada jaringan normal tetapi dapat menyebabkan nyeri pada daerah inflamasi (keadaan hiperalgesik) digunakan oleh Randall dan Selitto sebagai dasar untuk uji obat analgesik (Adams dan Cobb, 1967).

Metode dengan rangsangan fisik yang berupa pemberian tekanan pada kaki tikus yang mengalami inflamasi akibat suntikan ragi, yang telah dilakukan oleh Randall dan Selitto, merupakan cara yang pertama kali digunakan dalam uji aktivitas analgesik yang menggunakan hewan coba. Obat yang diuji dapat diberikan pada waktu sebelum, bersamaan, atau sesudah penyuntikan ragi saat edema telah berkembang dengan baik. Pemberian obat sesudah induksi edema bertujuan memperkecil efek obat yang terjadi akibat aktivitas antiedemanya (Swingle K, 1974).

Rangsangan kimiawi dilakukan dengan memberikan senyawa kimia tertentu yang dapat menimbulkan rasa nyeri (penginduksi nyeri). Respon nyeri yang timbul setelah suntikan secara intraperitoneal senyawa penginduksi ini adalah konstiksi dan pemanjangan yang menjalar ke sepanjang dinding perut, yang tampak sebagai gerakan menggeliat (*writhing test*). Siegmund dan kawan-kawan (1957) menyebut gerakan ini dengan istilah respon "konstiksi abdominal" (Swingle K, 1974).

Senyawa yang dapat digunakan sebagai penginduksi nyeri adalah fenilkinon, bradikinin, asam asetat, atau asetilkolin. Fenilkinon (2-fenil-1,4-benzokinon) adalah senyawa penginduksi nyeri yang pertamakali digunakan. Penggunaan asetilkolin seringkali menimbulkan hasil positif palsu jika obat yang diuji mempunyai aktivitas antihistamin, antikolinergik, atau simpatomimetik (Swingle K, 1974). Bradikinin merupakan induktor nyeri yang baik, tetapi dapat menimbulkan nyeri yang sangat dalam (Lineberry, 1981).

Uji aktivitas dengan metode rangsangan kimiawi sangat bermanfaat untuk menilai secara cepat potensi sekelompok senyawa yang aktivitas senyawa induknya telah diketahui. Pada metode ini, senyawa uji diberikan selang beberapa waktu sebelum induksi nyeri oleh senyawa kimia. Razzak (1979) memberikan senyawa uji turunan asetamidosalisilat 20 menit sebelum penyuntikan senyawa penginduksi nyeri, demikian pula Sicardi dan kawan-kawan (1991) memberikan senyawa turunan anilin pada 20 menit sebelum penyuntikan asam asetat.

Pada metode ini aktivitas analgesik ditentukan dengan mengamati frekuensi konstiksi abdominal pada kelompok hewan yang diberi senyawa uji dibandingkan dengan frekuensi konstiksi abdominal pada kelompok yang tidak diberi senyawa uji (kontrol). Frekuensi konstiksi yang terjadi selama periode waktu tertentu menunjukkan derajat nyeri yang dirasakan hewan coba. Penurunan frekuensi konstiksi abdominal karena adanya senyawa analgesik menggambarkan kemampuan senyawa meningkatkan "ambang nyeri".

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas analgesik senyawa O-(4-butylbenzoyl)salisilat hasil sintesis. Selanjutnya ingin diketahui bagaimana potensi analgesik tersebut jika dibandingkan dengan asam asetilsalisilat.

2. Manfaat Penelitian

Dengan diketahuinya aktivitas analgesik senyawa maka diharapkan :

- a. akan dapat diketahui kemungkinan dikembangkannya senyawa O-(4-butylbenzoyl)salisilat sebagai calon obat kelompok analgesik-antiinflamasi.
- b. dapat dirancang beberapa senyawa serupa dengan sifat kimia fisika yang mendekati senyawa O-(4-butylbenzoyl)salisilat untuk mendapatkan lebih banyak pilihan senyawa yang akan dikembangkan lebih lanjut sebagai calon obat kelompok analgesik-antiinflamasi.

BAB IV

METODE PENELITIAN

1. Bahan Penelitian

Bahan untuk sintesis meliputi :

- Asam salisilat (E. Merck)
- 4-butylbenzoi klorida (Sigma)
- Natrium hidroksida, NaOH (E. Merck)
- Natrium sulfat, Na₂SO₄ kering (E. Merck)
- pelarut : aseton dan tetrahidrofur, THF (E. Merck).
- Semua bahan tersebut berkualitas p.a.

Bahan untuk analisis meliputi :

- Kieselgel GF₂₅₄
- Etil asetat, kloroform, dan metanol (E. Merck) p.a.
- Dimetil sulfoksida (Sigma) *pro spectroscopy*

Bahan untuk uji aktivitas analgesik meliputi :

- Senyawa hasil sintesis
- Aspirin (Sigma)
- Asam asetat glasial (E. Merck)
- Natrium karboksimetilselulosa (CMC Na)
- Air suling steril, alkohol 70 %, kapas steril
- Mencit jantan (*Mus musculus* L) galur Balb/C bobot 20 – 25 g (Pusvetma, Surabaya) diberi pakan standar, minum *ad libitum*.

2. Alat yang dipakai

Alat-alat untuk sintesis dan analisis meliputi :

- seperangkat alat gelas
- Corning *hot plate – magnetic stirrer*
- bejana kromatografi lapisan tipis (KLT)
- lampu ultraviolet 254 nm

Fisher *electrothermal melting point apparatus*
spektrofotometer UV-Visible Hitachi-557
spektrofotometer JASCO FT/IR-5300
spektrometer Hitachi FT-NMR R-1900
spektrometer massa GC-MS

Alat-alat untuk uji aktivitas meliputi :

alat-alat untuk pembuatan sediaan
disposable syringe dan jarum suntik
timer
wadah mencit beserta tutupnya.

3. Cara Kerja

3.1 Pembuatan senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat

Prosedur sintesis berdasarkan metode Schotten-Baumann dengan modifikasi pelarut (N.W. Diah, 1998) . Asam salisilat 0,06 mol dilarutkan dengan 50 ml THF dalam labu sintesis, kemudian ditambahkan NaOH 10% sampai pH 7. 4-butylbenzoi klorida 0,05 mol dilarutkan dengan THF 50 ml, kemudian segera dimasukkan ke dalam labu sintesis dan diaduk dengan pengaduk magnetik. Campuran diaduk terus menerus selama 2 jam dan pH dijaga sekitar 7 dengan penambahan NaOH 10%. Endapan yang terbentuk dipisahkan dari pelarut kemudian diberi Na₂SO₄ anhidrat kering dan sisa THF diuapkan. Campuran zat padat dilarutkan dalam aseton, residu Na₂SO₄ dibuang dan aseton diuapkan. Senyawa hasil sintesis direkristalisasi dengan aseton-air.

3.2 Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis

Terhadap senyawa hasil sintesis dilakukan analisis yang meliputi :

- a. uji titik leleh menggunakan Fisher *electrothermal melting point apparatus*
- b. uji KLT menggunakan fase gerak beberapa campuran pelarut serta penampak bercak lampu UV 254 nm. Pelarut/campuran pelarut yang digunakan sebagai fase gerak adalah :
kloroform – aseton = 80 : 20

etil asetat

etil asetat – metanol = 85 : 15

- c. uji spektrofotometri UV-Visible dalam pelarut metanol menggunakan alat Hitachi-557.
- d. uji spektrofotometri inframerah dengan metode pelet KBr menggunakan alat spektrofotometer JASCO FT/IR-5300
- e. uji spektrometri resonansi magnet inti (NMR ¹H) dalam pelarut DMSO-d₆ menggunakan alat Hitachi FT-NMR R-1900
- f. uji spektrometri massa dengan cara *electron impact* (EI) menggunakan alat GC-MS

3.3. Uji Aktivitas Analgesik

Aktivitas analgesik ditentukan dengan metode penghambatan nyeri terinduksi secara kimiawi (*Writhing Test*). Sebagai penginduksi nyeri digunakan larutan asam asetat 0,6 % (Sicardi *et al.*, 1991).

Persiapan hewan coba. Sejumlah mencit berbobot 20 – 25 g dibagi dalam beberapa kelompok, yaitu 5 kelompok dosis dan 1 kelompok kontrol, masing-masing terdiri dari 10 ekor. Sebelum percobaan, mencit dipuaskan semalam tetapi tetap diberi minum. Mencit dalam kelompok dosis akan diberi senyawa uji dosis tertentu secara bertingkat (antara 25 – 200 mg), sedangkan mencit dalam kelompok kontrol tidak diberi senyawa uji, hanya diberi larutan CMC Na 0,5%.

Pembuatan larutan asam asetat 0,6 % dan CMC Na 0,5 %. Sejumlah 0,6 ml asam asetat glasial diencerkan dengan air suling steril hingga diperoleh volume 100 ml. Sebanyak 500 mg CMC Na ditaburkan diatas air panas 30 ml dan dibiarkan hingga mengembang selama sekitar 5 menit, kemudian digerus dan diencerkan dengan air suling hingga diperoleh volume 100 ml.

Pembuatan sediaan uji. Sediaan uji yang dibuat meliputi suspensi aspirin dan asam O-(4-butylbenzoil)salisilat. Suspensi senyawa uji dibuat segera sebelum uji aktivitas dilakukan dan tidak dapat disimpan untuk digunakan di

waktu yang lain. 500 mg senyawa uji digerus dan dicampur merata dengan sejumlah tertentu larutan CMC Na, kemudian ditambahkan lagi sedikit demi sedikit larutan CMC Na hingga diperoleh volume 100 ml.

Sesuai prosedur tersebut, 1 ml sediaan uji mengandung 5 mg senyawa obat. Mencit pada masing-masing kelompok dosis (25, 50, 100, 125, 200 mg/kg berat badan) akan diberi suspensi sejumlah volume tertentu sedemikian sehingga jumlah senyawa obat yang diberikan sesuai dengan dosis yang ditetapkan untuk masing-masing kelompok.

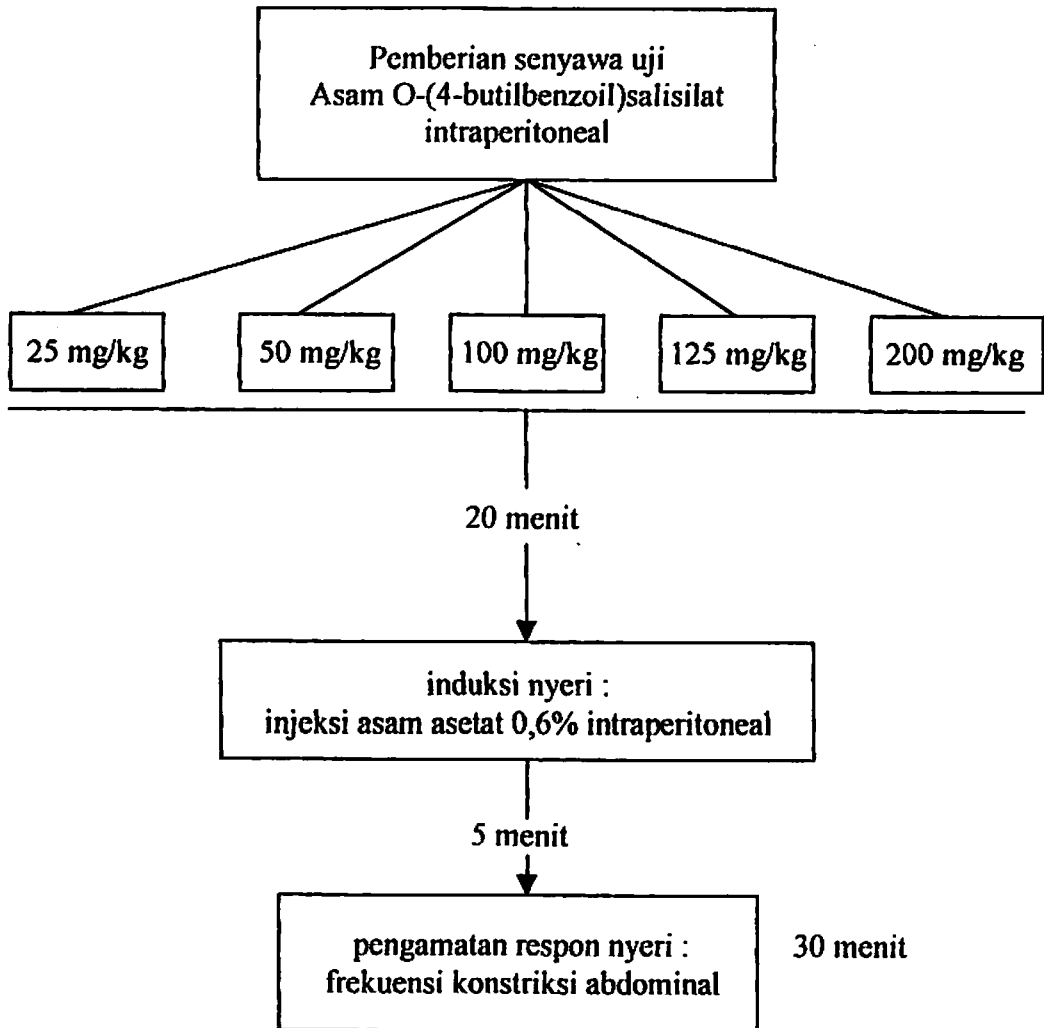
Pelaksanaan uji aktivitas. Mencit dengan bobot tertentu diberi sediaan uji dosis tertentu secara intraperitoneal (i.p). 20 menit setelah pemberian sediaan obat, mencit yang sama disuntik dengan larutan asam asetat 0,6 % volume 0,01 ml/g berat badan secara i.p. 5 menit setelah penyuntikan dengan larutan asam asetat, respon konstiksi abdominal mencit diamati selama 30 menit.

Penentuan ED₅₀. Data pengamatan yang diperoleh adalah frekuensi konstiksi abdominal mencit, dalam masing-masing kelompok dosis dan kelompok kontrol, selama selang waktu 30 menit. Aktivitas senyawa dihitung sebagai prosentase (%) hambatan nyeri dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inh} = 100 - \left(\frac{\Sigma \text{ respon kelompok dosis}}{\Sigma \text{ respon kelompok kontrol}} \times 100 \right)$$

ED₅₀ hambatan nyeri terinduksi asam asetat adalah dosis yang menghasilkan efek hambatan 50 % pada kurva hubungan antara dosis dengan prosentase hambatan nyeri.

Untuk menentukan ED₅₀ aktivitas analgesik, data dianalisis statistik dengan cara regresi probit menggunakan bantuan komputer program SPSS. Sebagai variabel bebas adalah dosis, sedangkan variabel tergantung adalah prosentase hambatan nyeri.

BAGAN RANCANGAN UJI AKTIVITAS ANALGESIK

BAB V**HASIL DAN PEMBAHASAN****1. Hasil sintesis dan analisis senyawa asam O-(4-butilbenzoil)salisilat**

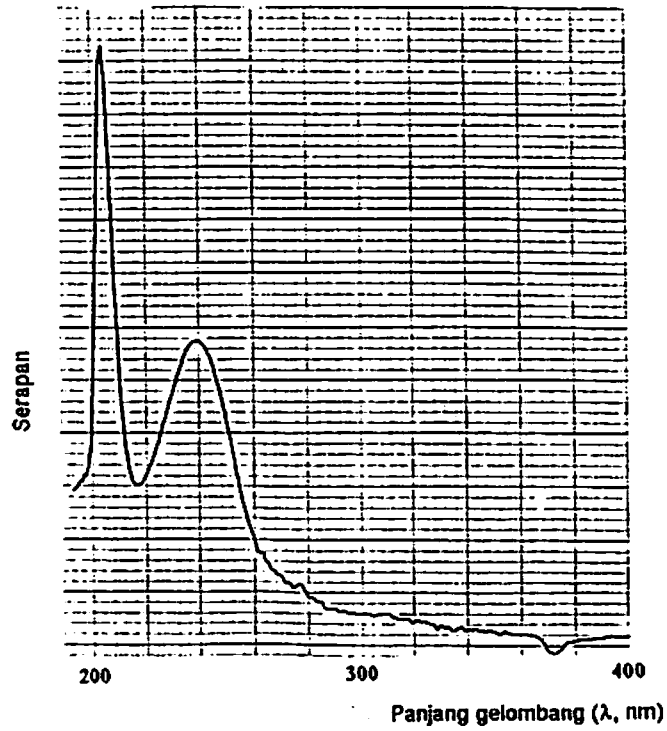
Senyawa asam O-(4-butilbenzoil)salisilat hasil sintesis berupa zat padat berwarna putih yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam metanol, etanol, kloroform, aseton. Hasil beberapa uji kualitatif dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif senyawa O-(4-butilbenzoil)salisilat hasil sintesis

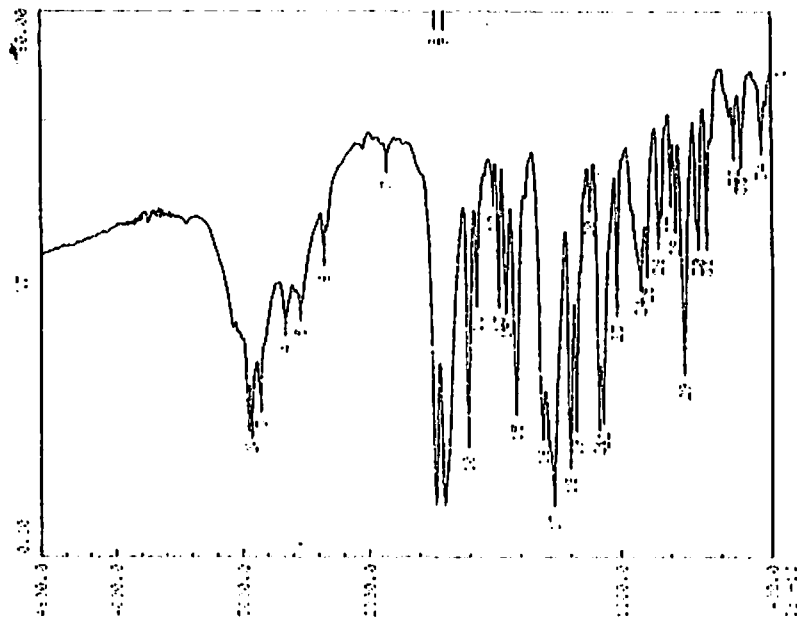
Jenis pemeriksaan	Senyawa hasil sintesis	Asam asetilsalisilat
Jarak lebur	72 – 74 °C	141 – 143 °C
R _f dari KLT dengan sistem pelarut :		
kloroform-aseton 80 : 20	0,34	0,25
etil asetat	0,47	0,29
etil asetat-metanol 85 : 15	0,48	0,35

Hasil pemeriksaan secara kualitatif menunjukkan bahwa jarak lebur senyawa asam O-(4-butilbenzoil)salisilat hasil sintesis lebih rendah daripada asam asetilsalisilat yang menunjukkan bahwa ikatan antar molekul senyawa hasil sintesis tidak terlalu kuat. Secara organoleptis tampak bahwa senyawa lebih "voluminous". Berdasarkan data R_f dari KLT menggunakan 3 sistem pelarut tersebut, senyawa hasil sintesis bersifat lebih non polar daripada asam asetilsalisilat. Hal ini menunjukkan bahwa adanya tambahan satu cincin benzena beserta gugus butil pada posisi para meningkatkan sifat lipofilik senyawa. Data tersebut sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (N.W. Diyah, 1998).

Spektrum ultraviolet larutan senyawa dalam metanol dapat dilihat pada gambar 2. Pada spektra senyawa hasil sintesis terdapat 2 puncak serapan pada λ 204 dan 239 nm yang menunjukkan adanya transisi $\pi - \pi^*$ elektron cincin aromatik.



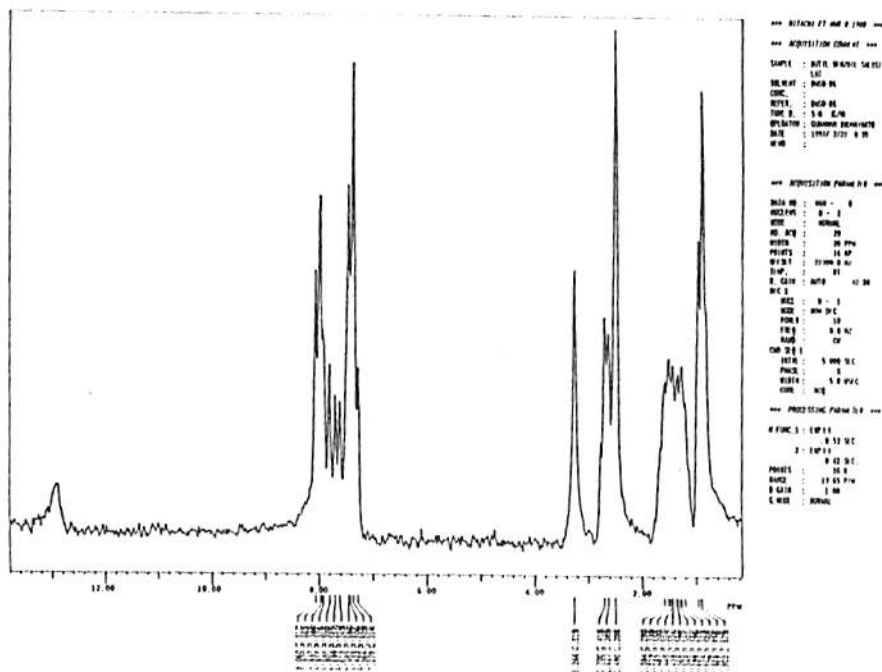
Gambar 2. Spektra ultraviolet larutan senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat hasil sintesis dalam metanol



Gambar 3. Spektra inframerah senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat sebagai pelet KBr.

Spektra inframerah senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada gambar 3. Pita-pita serapan ν (cm^{-1}) beserta gugus-gugus yang ada pada senyawa hasil sintesis adalah sebagai berikut : 2959 (O-H dari karboksil), 2666 (C-H alifatis gugus alkil), 1736 (C=O karbonil), 1608 (C=C aromatik), 1311 (=C-O dari ester).

Senyawa hasil sintesis tidak mempunyai gugus -OH fenolat, yang ditunjukkan oleh puncak pada bilangan gelombang 3000-3750 cm^{-1} (Creswell dkk, 1982), tetapi mempunyai gugus -OH asam yang ditunjukkan oleh adanya pita pada 2959 cm^{-1} . Tidak adanya pita pada 2959 cm^{-1} , yang diperkuat oleh adanya pita pada 1311 cm^{-1} (C-O ester), menunjukkan bahwa senyawa merupakan suatu ester yang masih mempunyai gugus asam seperti halnya asam asetil salisilat.



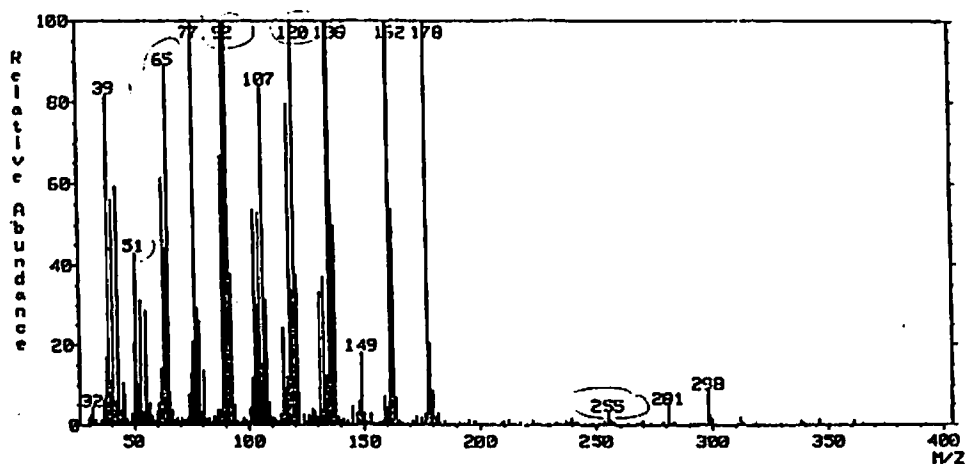
Gambar 4. Spektra NMR ^1H senyawa asam O-(4-butylbenzoyl)salisilat dalam DMSO- d_6

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURA BAYA

Spektra NMR ^1H senyawa dalam pelarut DMSO- d_6 dapat dilihat pada gambar 4. Pada spektra dapat diamati puncak-puncak dengan geseran kimia (δ) sebagai berikut : 0,97 ppm (3H, H pada $-\text{CH}_3$ ujung); 1,21 ppm (2H, H metilen pada $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,44 ppm (2H, H metilen pada $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 2,63 ppm (2H, H pada $-\text{CH}_2-$ yang terikat cincin); 7,28 ppm (8H, H aromatis pada 2 cincin benzena tersubstitusi, C_6H_4); 12,9 ppm (1H, H pada gugus $-\text{COOH}$).

Jumlah 8H pada δ sekitar 7 menunjukkan bahwa ada 2 cincin benzena yang masing-masing tersubstitusi pada 2 kedudukan, satu cincin berasal dari inti asam salisilat dan cincin yang lain berasal dari gugus 4-n-butylbenzoil. Jumlah seluruh proton berdasarkan data NMR ^1H adalah 18.

Spektra massa senyawa hasil sintesis ditunjukkan pada gambar 5. Ion induk (M^+) dengan m/z 298 sesuai dengan bobot molekul senyawa dengan rumus molekul $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4$. Fragmen dengan m/z 162 menunjukkan adanya substituen butylbenzoil, sesuai dengan pola $\text{R}-\text{C}\equiv\text{O}^+$ yang menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai struktur karbonil ester. Fragmen dengan m/z 136, 120, dan 92 berasal dari inti asam salisilat, m/z 136 adalah $\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COO}$, m/z 120 adalah $\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}=\text{O}$. Fragmen dengan m/z 120 dan 92 lazim terdapat pada senyawa terdwisubstitusi orto dan dapat menunjukkan bahwa senyawa yang dianalisis adalah turunan salisilat. m/z 77, 65, 51, 39 menunjukkan adanya inti aromatik dalam suatu senyawa.



Gambar 5. Spektra massa senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat

2. Uji Aktivitas Analgesik

2.1 Penentuan waktu optimum

Waktu optimum yang dimaksud adalah selang waktu setelah pemberian obat yang paling sesuai untuk menyuntikkan larutan asam asetat (penginduksi nyeri) agar respon konstiksi abdominal yang terjadi dapat diamati dengan baik. Waktu optimum dapat digunakan untuk menunjukkan terabsorpsinya obat pada jaringan terpapar sehingga dapat menghasilkan efek yang dikehendaki.

Untuk penentuan waktu optimum ini digunakan senyawa pembanding asam asetilsalisilat dosis 100 mg/kg yang diberikan beberapa menit sebelum penyuntikan larutan asam asetat. Senyawa uji masing-masing diberikan kepada 3 kelompok mencit, yaitu kelompok berdasarkan waktu penyuntikan asam asetat (10, 20, dan 40 menit) setelah pemberian obat. Pada kelompok kontrol, mencit langsung disuntik larutan asam asetat tanpa diberi senyawa uji sebelumnya.

Tabel 2. Respon konstiksi abdominal mencit pada 3 kelompok waktu penyuntikan asam asetat 0,6 % setelah pemberian asam asetilsalisilat dan kelompok kontrol

Kelompok Waktu penyuntikan asam asetat setelah pemberian obat	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok					
	Nomor mencit					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
10 menit	58	27	22	45	42	38,8 ± 14,48
20 menit	10	11	8	14	16	11,8 ± 3,19
40 menit	2	1	3	1	4	2,2 ± 1,30
Kontrol	43	27	20	34	39	32,6 ± 9,24

Berdasarkan data pada tabel 2 ditetapkan waktu 20 menit setelah pemberian senyawa uji sebagai waktu optimum penyuntikan larutan asam asetat. Waktu 20 menit dipilih karena respon diperkirakan akan tetap dapat diamati dengan baik apabila dosis senyawa uji ditingkatkan atau diturunkan. Di samping itu respon yang tampak pada kelompok 20 menit dapat menunjukkan bahwa senyawa obat sudah menimbulkan efek, yaitu frekuensi konstiksi abdominal sebagai respon

nyeri pada kelompok ini lebih kecil daripada frekuensi respon pada kelompok 10 menit atau kelompok kontrol.

Frekuensi respon pada kelompok 10 menit yang tampak lebih besar atau sama dengan kelompok kontrol dapat menggambarkan bahwa obat belum bekerja. Pada kelompok 40 menit efek yang ditimbulkan sangat tinggi, tetapi tidak dipilih karena respon konstiksi abdominal yang sangat kecil atau mungkin tidak adanya respon akan mempersulit pengamatan dan perhitungan.

2.2 Penentuan aktivitas penghambatan nyeri

Hasil pengamatan respon nyeri yang terjadi akibat induksi larutan asam asetat 20 menit setelah pemberian senyawa uji pada kelompok dosis (25 – 200 mg/kg) dan kelompok kontrol serta hasil perhitungan prosentase hambatan nyeri (% Inh) ditampilkan dalam tabel 3 sampai dengan tabel 5.

Tabel 3. Respon konstiksi abdominal pada kelompok dosis senyawa uji asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan kelompok kontrol

No.	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok					
	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	125 mg/kg	200 mg/kg	kontrol
1	35	14	25	26	11	32
2	32	31	26	28	18	42
3	25	26	22	22	14	43
4	32	16	32	23	13	32
5	26	34	13	18	10	25
6	38	15	29	17	10	26
7	33	37	14	10	12	34
8	23	26	22	16	16	34
9	28	30	27	20	11	35
10	27	29	12	23	11	39
Rata-rata	29,9	25,8	22,2	20,3	12,6	34,2
SD	4,82	8,16	7,02	5,27	2,68	6,00

Hasil perhitungan ANOVA (lampiran 1) menunjukkan ada perbedaan respon yang bermakna di antara 6 kelompok, baik untuk senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat maupun asam asetilsalisilat (tabel 3 dan 4), sehingga selanjutnya dapat dihitung prosentase hambatan nyeri untuk setiap kelompok.

Tabel 4. Respon konstiksi abdominal pada kelompok dosis senyawa uji Asam asetilsalisilat dan kelompok kontrol

No.	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok					
	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	125 mg/kg	200 mg/kg	kontrol
1	33	14	6	2	1	43
2	16	21	24	8	2	27
3	26	27	14	12	5	20
4	23	14	10	4	10	26
5	37	18	12	15	2	34
6	32	14	12	10	7	28
7	28	32	4	14	4	21
8	20	33	10	2	6	20
9	25	20	6	7	7	24
10	29	22	4	8	1	37
Rata-rata	26,9	21,5	10,2	8,2	4,5	28,0
SD	6,30	7,12	6,00	4,64	3,03	7,75

Pada tabel 3 dan 4 dapat dilihat bahwa dari dosis 25 mg dengan dosis 200 mg/kg berat badan, senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat menunjukkan respon konstiksi yang tampak lebih besar daripada asam asetilsalisilat. Hal ini dapat berarti efek analgesik asam asetilsalisilat lebih besar daripada asam O-(4-butylbenzoil)salisilat. Untuk memastikannya, lebih lanjut dilakukan perhitungan prosentase hambatan nyeri

Tabel 5. Hasil perhitungan prosentase hambatan nyeri pada kelompok yang diberi senyawa uji asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan asam asetilsalisilat

Dosis (mg/kg)	Rata-rata respon konstiksi abdominal		% hambatan nyeri	
	Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat	Asam asetilsalisilat	Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat	Asam asetilsalisilat
25	29,9	26,9	12,57	3,93
50	25,8	21,5	24,56	23,21
100	22,2	10,2	35,09	63,57
125	20,3	8,2	40,64	70,71
200	12,6	4,5	63,16	83,93
Kontrol	34,0	28,0	0	0

Pada tabel 5 terlihat bahwa prosentase hambatan nyeri terinduksi asam asetat oleh senyawa asam O-(4-butirilbenzoil)salisilat lebih kecil daripada asam asetilsalisilat. Hasil *T Test* terhadap data pada tabel 5, baik antara 2 kelompok frekuensi respon nyeri maupun 2 kelompok prosentase hambatan nyeri dari kedua senyawa (lampiran 2), menunjukkan bahwa perbedaan yang terjadi tidak bermakna secara statistik sehingga dapat dinyatakan bahwa aktivitas analgesik senyawa asam O-(4-butirilbenzoil)salisilat yang ditentukan dengan metode nyeri terinduksi asam asetat tidak berbeda dengan asam asetilsalisilat.

Pada dosis 200 mg/kg i.p. senyawa asam O-(4-butirilbenzoil) salisilat menghasilkan hambatan nyeri sekitar 60 %. Dosis yang lebih tinggi tidak dapat diberikan karena pada dosis sedikit lebih tinggi (250 – 400 mg/kg) hewan coba tampak menunjukkan gejala "toksisitas", yaitu lebih dari 50% mencit tak sadar selama sekitar 24 jam.

2.3 Penentuan ED₅₀

ED₅₀ hambatan nyeri terinduksi asam asetat dihitung berdasarkan data dosis dan prosentase hambatan pada tabel 5 dengan analisis statistik regresi probit (lampiran 3). Hasil penentuan ED₅₀ aktivitas analgesik dengan metode penghambatan nyeri terinduksi asam asetat dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. ED₅₀ hambatan nyeri terinduksi asam asetat senyawa asam O-(4-butirilbenzoil)salisilat dan asam asetilsalisilat

Senyawa	BM	ED ₅₀	
asam O-(4-butirilbenzoil)salisilat	298	154 mg/kg	0,51 mmol/kg
asam asetilsalisilat	180	101 mg/kg	0,57 mmol/kg

Dengan demikian dapat diketahui bahwa senyawa asam O-(4-butirilbenzoil) salisilat mempunyai aktivitas analgesik yang ditunjukkan dengan ED₅₀ sebesar 154 mg/kg atau 0,51 mmol/kg. Aktivitas analgesik senyawa yang ditentukan dengan metode hambatan nyeri terinduksi asam asetat ini tidak berbeda secara bermakna dengan aktivitas analgesik asam asetilsalisilat yang mempunyai ED₅₀ sebesar 101 mg/kg atau 0,57 mmol/kg.

Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat yang mempunyai aktivitas antiinflamasi lebih tinggi daripada asam asetilsalisilat ternyata juga mempunyai aktivitas analgesik yang sebanding dengan asam asetilsalisilat. Sifat lipofilik senyawa yang memberikan pengaruh positif pada aktivitas antiinflamasi juga berpengaruh terhadap aktivitas analgesiknya.

Penjelasan tentang hal ini adalah sebagai berikut : pada uji aktivitas, senyawa uji dan asam asetilsalisilat sama-sama diberikan pada 20 menit sebelum induksi nyeri dengan tujuan agar senyawa dapat terabsorpsi lebih dahulu. Penentuan waktu ini hanya menggunakan asam asetilsalisilat sebagai pembanding sehingga boleh jadi waktu absorpsi senyawa uji tidak sama dengan aspirin. Jika absorpsi senyawa lebih cepat daripada asam asetilsalisilat, mengingat sifat lipofiliknya yang tinggi, sehingga pada saat induksi nyeri kadarnya di tempat aksi bukan lagi kadar puncak, maka efek yang dibandingkan dengan aspirin bukanlah efek optimum. Namun demikian, aktivitasnya masih sebanding dengan asam asetilsalisilat yang sedang bekerja secara optimum.

Senyawa hasil sintesis mempunyai sifat lipofilik, yang dihitung berdasarkan tetapan fragmentasi hidrofobik Rekker (1992), $\Sigma f = 4,838$, sedangkan Σf asam asetilsalisilat adalah 1,370. Sifat lipofilik yang tinggi akan mempercepat absorpsi senyawa obat. Selain atas dasar sifat lipofilik, dugaan bahwa absorpsi senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat lebih cepat juga berdasarkan data penelitian sebelumnya bahwa efek antiinflamasi senyawa ini telah mencapai maksimum setengah jam setelah pemberian secara oral, sedangkan asam asetilsalisilat baru memberikan efek maksimum satu setengah (1,5) jam setelah pemberian oral (N.W. Diyah, 1998). Kiranya perlu dilakukan penelitian tersendiri untuk memperoleh data tentang sifat farmakokinetik senyawa ini.

Di samping pengaruh sifat lipofilik, aktivitas antiinflamasi beberapa turunan asam salisilat juga dipengaruhi sifat steriknya. Pengaruh sterik senyawa terhadap aktivitas terutama sehubungan dengan interaksinya dengan reseptor (Sardjoko, 1993). Jika reseptor senyawa antiinflamasi atau analgesik yang dimaksud adalah enzim siklooksigenase, maka perlu diketahui apakah aktivitas biologis yang ditunjukkan pada hewan coba sebanding dengan kemampuan senyawa menghambat enzim siklooksigenase.

Hasil uji aktivitas biologis yang telah dilakukan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat lebih lanjut sebagai calon obat. Banyak studi yang masih harus dilakukan untuk memperoleh informasi yang memadai, baik yang termasuk dalam aspek farmakodinamik/farmakologik maupun toksikologik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Asam O-(4-butylbenzoil)salisilat mempunyai aktivitas analgesik yang dinyatakan dengan sebesar ED_{50} sebesar 154 mg/kg atau 0,51 mmol/kg. Aktivitas analgesik senyawa yang ditentukan dengan metode hambatan nyeri terinduksi asam asetat ini secara molar sebanding dengan aktivitas analgesik asam asetilsalisilat yang mempunyai ED_{50} sebesar 101 mg/kg atau 0,57 mmol/kg.

Beberapa saran yang dapat disampaikan sehubungan dengan hasil penelitian adalah:

- a. perlu ditentukan toksisitas akut senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan diteliti tentang sifat farmakokinetik senyawa.
- b. perlu diteliti lebih lanjut kemampuan senyawa menghambat enzim siklo-oksigenase.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, S.S. dan Cobb, R. 1967. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. Dalam G.P. Ellis dan G.B. West (eds.). *Progress in Medicinal Chemistry*. Vol.5. Butterworths, London. 59-80.
- Conaway, D.C. 1995. Using NSAIDs safely in the elderly. *Hosp. Med.* May : 1-9
- Coyne, W.E. 1970. Nonsteroidal Antiinflammatory Agents and Antipyretics. Dalam A. Burger (ed.). *Medicinal Chemistry*. 3rd Ed. Wiley-Interscience, New York. 953-959.
- Creswell, C.J. Runquist, O.A., dan Campbell, M.M. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata. edisi ke-2. Penerbit ITB, Bandung. 28-34, 78-93.
- Fife, T.H. dan Anderson, E. 1971. Intramolecular Carboxyl Group Participation in Acetal Hydrolysis. *J.Am.Chem.Soc.* 93,24 : 6610-6613
- Griffith, R.K. dan Witiak, D.T. 1997. Agents Affecting the Action of Prostaglandins. Dalam M.E. Wolff (ed.) *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 5th Ed. Vol. 5 : Therapeutic Agents. John Wiley and Sons, Inc., New York. 383-387.
- Gringauz, A. 1997. *Introduction to Medicinal Chemistry How Drugs Act and Why*. Wiley-VCH. 141 - 167.
- Gryglewski, R.J. 1974. Structure-Activity Relationships of Some Prostaglandin Synthetase Inhibitors. Dalam H.J. Robinson dan J.R. Vane (eds.). *Prostaglandin Synthetase Inhibitors*. Raven Press, New York. 33-50.
- Hannah, J., Ruyle, W.V., Jones, H., Matzuk, A.R., Kelly, K.W., Witzel, B.E., Holt, W.J., Houser, R.A., Shen, T.Y., Sarett, L.H. 1978. Novel Analgesic-Anti-inflammatory Salicylates., *J.Med.Chem.*, 21,11: 1093-1100.
- Insel, P.A. 1992. Analgesics-Antipyretics and Antiinflammatory Agents; Drug Employed in The Treatment of Rheumatoid Arthritis and Gout. Dalam A.G. Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies, dan P. Taylor (eds.). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th Ed. Vol. 1. Mc Graw-Hill Inc., New York. 87-90.
- Jones, H., Fordice, M.W., Greenwald, R.B., Hannah, J., Jacobs, A., Ruyle, W., Walford, G.L., Shen, T.Y. 1978. Synthesis and Analgesic-Anti-inflammatory Activity of Some 4- and 5-Substituted Heteroarylsalicylic Acids. *J.Med.Chem.* 21,11: 1100-1104.

- Korolkovas, A. 1988. **Essentials of Medicinal Chemistry**. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York. 252-253.
- Lands, W.E.M. 1985. Mechanism of Action of Antiinflammatory Drugs. Dalam B. Testa (ed.). *Advances in Drug Research*, Vol. 14. Academic Press, London. 147-152.
- L. Hakim. 2001. Uji Farmakologi dan Toksikologi Senyawa pada Hewan Coba. *Seminar Nasional Kimia Medisinal II*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Martin, Y.C. 1978. **Quantitative Drug Design**. Marcel Dekker Inc., New York. 87-100.
- Misher, A., Adams, H.J., Fishler, J.J., dan Jones, R.G. 1968. Pharmacology of The Hexylcarbonate of Salicylic Acid. *J.Pharm.Sci.*, 57,7: 1128-1131.
- Neal, M.J. 1992. **Medical Pharmacology at Glance**. 2 nd ed. Blackwell Scientific Publications. 66- 67.
- Nogrady, T. 1985. **Medicinal Chemistry A Biochemical Approach**. Oxford University Press. 280 – 285.
- N.W. Diyah. 1998. Hubungan Struktur dan Aktivitas Antiinflamasi Turunan Asam Salisilat. **Tesis**. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada.
- N.W. Diyah, Sardjoko, L. Hakim. 2001. Sintesis dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa Asam 3-trifluorometilbenzoil salisilat. *Majalah Farmasi Airlangga*. Vol. 1. No. 3. 56 – 67.
- Razzak, K.S.A. 1979. Synthesis of Phenyl-3- and Phenyl-5-acetamidosalicylates as Potential Analgesics. *J. Pharm. Sci.* 68, 7 : 893 – 896.
- Rekker, R.F., Mannhold, R. 1992. **Calculation of Drug Lipophilicity**. VCH, Weinheim. 77-84.
- Sardjoko. 1993. **Rancangan Obat**. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 116-117.
- Scherrer, R.A., dan Whitehouse, M.W. 1974. **Antiinflammatory Agents Chemistry and Pharmacology**. Vol. I. Academic Press, New York. 33-39, 75-83.

- Shearn, M.A. 1989. Obat Antiinflamasi Nonsteroid; Analgesik Nonopiat; Obat yang Digunakan pada Gout. Dalam B.G. Katzung (ed.). **Farmakologi Dasar dan Klinik**. Diterjemahkan oleh P. Adrianto. edisi ke-2. EGC, Jakarta. 474-479.
- Shen, T.Y. 1981. Nonsteroidal Anti-inflammatory Agents. Dalam M.E. Wolff (ed.). **Burger's Medicinal Chemistry**. 4th Ed. John Wiley and Sons, New York. 1205-1271.
- Sicardi, S.M., Martiarena, J.L., Iglesias, M.T. Mutagenic and Analgesic Activities of Aniline Derivatives. *J. Pharm. Sci.* 80,8 : 761-764.
- Smith, M.J.H., dan Smith, P.K. 1966. **The Salicylates a Critical Bibliographic Review**. Interscience Publishers, New York. 1-4, 5-44.
- Swingle, K. 1974. Evaluation for Antiinflammatory Activity. Dalam R.A. Scherrer dan M.W. Whitehouse (eds.). **Antiinflammatory Agents Chemistry and Pharmacology**. Vol.II. Academic Press, New York. 40-43.
- Willette, R.E. 1991. Analgesic Agents. Dalam J.N. Delgado dan W.A. Remers (eds.). **Wilson and Gisvold's Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**. 9th Ed. J.B. Lippincott, Philadelphia. 656-662.

LAMPIRAN 1**Hasil Uji Anova Respon Konstiksi Abdominal antar Kelompok Perlakuan**

- a. Kelompok waktu penyuntikan larutan asam asetat 0,6% setelah pemberian asam asetilsalisilat intraperitoneal 100 mg/kg berat badan.

ANOVA**WAKTU**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4444.950	3	1481.650	19.311	.000
Within Groups	1227.600	16	76.725		
Total	5672.550	19			

- b. Kelompok dosis senyawa uji asam O-(4-butylbenzoil)salisilat

ANOVA**BUTILBENZOIL**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2888.133	5	577.627	16.502	.000
Within Groups	1890.200	54	35.004		
Total	4778.333	59			

- c. Kelompok dosis senyawa pembanding asam asetilsalisilat

ANOVA**ASPIRIN**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5179.750	5	1035.950	28.642	.000
Within Groups	1953.100	54	36.169		
Total	7132.850	59			

LAMPIRAN 2

Hasil Uji T antara kelompok senyawa asam O-(4-butylbenzoil)salisilat dan asam asetilsalisilat

a. Frekuensi respon nyeri**Group Statistics**

KELOMPOK		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
RESPON	1.00	5	22.1600	6.4810	2.8984
	2.00	5	14.2600	9.4954	4.2465

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
RESPON	Equal variances assumed	2.118	.184	1.537	8	.163	7.9000	5.1413
	Equal variances not assumed			1.537	7.062	.168	7.9000	5.1413

b. Prosentase hambatan nyeri**Group Statistics**

KELOMPOK		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
HAMBAT	1.00	5	35.2040	18.9519	8.4755
	2.00	5	49.0700	33.9121	15.1659

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
HAMBAT	Equal variances assumed	4.070	.078	-.798	8	.448	-13.8660	17.3736
	Equal variances not assumed			-.798	6.276	.454	-13.8660	17.3736

LAMPIRAN 3**Hasil Penentuan ED₅₀ Aktivitas Analgesik Asam O-(4-butilbenzoil)salisilat dengan Analisis Probit**

***** PROBIT ANALYSIS *****

Parameter estimates converged after 8 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX) :

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
DOSIS	.00775	.00100	7.75422
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.19182	.12246	9.73213
Pearson Goodness-of-Fit	Chi Square = 1.683	DF = 3	P = .641

***** PROBIT ANALYSIS *****

Observed and Expected Frequencies

DOSIS	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
25.00	100.0	12.6	15.909	-3.339	.15909
50.00	100.0	24.6	21.054	3.506	.21054
100.00	100.0	35.1	33.823	1.267	.33823
125.00	100.0	40.6	41.151	-.511	.41151
200.00	100.0	63.2	63.954	-.794	.63954

Lanjutan LAMPIRAN 3.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective DOSIS

Prob	DOSIS	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-146.48080	-233.95351	-93.58743
.02	-111.28497	-187.13036	-65.21461
.03	-88.95435	157.47160	-47.16395
.04	-72.15589	-135.19510	-33.55051
.05	-58.49164	-117.10313	-22.44878
.06	-46.86121	-101.72884	-12.97465
.07	-36.66361	-88.27141	-4.64488
.08	-27.53287	-76.24353	2.83509
.09	-19.22882	-65.32569	9.65885
.10	-11.58494	-55.29657	15.96091
.15	20.06279	-14.07187	42.35164
.20	45.21540	18.12380	63.89457
.25	66.79410	44.98786	83.13344
.30	86.17244	68.08884	101.43432
.35	104.12936	88.21632	119.67183
.40	121.16872	105.96659	138.32618
.45	137.65449	121.97992	157.53475
.50	153.87890	136.88709	177.29105
.55	170.10330	151.21331	197.62829
.60	186.58908	165.37704	218.68646
.65	203.62844	179.74176	240.72636
.70	221.58536	194.67876	264.15436
.75	240.96370	210.64193	289.59305
.80	262.54240	228.28816	318.04975
.85	287.69501	248.74041	351.33610
.90	319.34273	274.35574	393.33619
.91	326.98662	280.52821	403.49490
.92	335.29066	287.22864	414.53607
.93	344.42140	294.59058	426.68198
.94	354.61901	302.80657	440.25319
.95	366.24943	312.16994	455.73824
.96	379.91368	323.16234	473.93955
.97	396.71214	336.66543	496.32639
.98	419.04277	354.60020	526.10104
.99	454.23860	382.83964	573.05757

LAMPIRAN 4**Hasil Penentuan ED₅₀ Aktivitas Analgesik Asam Asetilsalisilat dengan Analisis Probit**

***** PROBIT ANALYSIS *****

Parameter estimates converged after 11 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
DOSIS	.01432	.00118	12.12181
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.44931	.13263	-10.92713
Pearson Goodness-of-Fit	Chi Square = 27.925	DF = 3	P = .000

***** PROBIT ANALYSIS *****

Observed and Expected Frequencies

DOSIS	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
25.00	100.0	3.9	13.755	-9.825	.15909
50.00	100.0	23.2	23.164	.046	.21054
100.00	100.0	63.6	49.299	14.271	.33823
125.00	100.0	70.7	63.321	7.389	.63321
200.00	100.0	83.9	92.134	-8.204	.92134

Lanjutan LAMPIRAN 4

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective DOSIS

Prob	DOSIS	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-61.25681	-711.46885	17.01029
.02	-42.21708	-616.75406	28.53451
.03	-30.13699	-556.80077	35.98647
.04	-21.04960	-511.79467	41.68671
.05	-13.65771	-475.25964	46.39738
.06	-7.36606	-444.22523	50.46953
.07	-1.84950	-417.06979	54.09567
.08	3.08991	-392.80647	57.39360
.09	7.58211	-370.78808	60.44106
.10	11.71719	-350.56626	63.29239
.15	28.83752	-267.46095	75.71611
.20	42.44421	-202.47479	86.65338
.25	54.11754	-147.99116	97.30530
.30	64.60055	-100.70692	108.51480
.35	74.31462	-59.13167	121.14271
.40	83.53233	-22.78544	136.22998
.45	92.45056	8.22424	154.98282
.50	101.22741	33.71635	178.46424
.55	110.00425	54.02104	207.13310
.60	118.92248	70.12509	240.79156
.65	128.14019	83.27089	279.07926
.70	137.85426	94.56159	321.99173
.75	148.33727	104.86166	370.18539
.80	160.01060	114.88546	425.29713
.85	173.61730	125.37539	490.73064
.90	190.73762	137.46613	574.16892
.91	194.87270	140.26022	594.44799
.92	199.36490	143.25271	616.52135
.93	204.30431	146.49756	640.83774
.94	209.82087	150.07210	668.04479
.95	216.11252	154.09355	699.12990
.96	223.50441	158.75373	735.71543
.97	232.59180	164.40253	780.77296
.98	244.67189	171.79994	840.78080
.99	263.71162	183.26065	935.55910

-1 AUG 2005

J. METAN