

SKRIPSI

SUHRIYAH

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK
ASAM *p*-METOKSISINAMAT DAN
METIL *p*-METOKSISINAMAT DENGAN METODE
WRITHING TEST PADA MENCIT**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2004**

Lembar Pengesahan

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK ASAM *p*-METOKSISINAMAT
DAN METIL *p*-METOKSISINAMAT DENGAN METODE
WRITHING TEST PADA MENCIT**

SKRIPSI

**“Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga”
2003**

Oleh:

**Suhriyah
NIM : 050012292**

Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

**Dra. Nuzul Wahyuning Diah, M.Si, Apt
NIP. 132 011 698**

**Dra. Juni Ekowati, M.Si, Apt
NIP. 132 009 462**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul **“Uji Aktivitas Analgesik Asam *p*-metoksisinamat dan Metil *p*-metoksisinamat Dengan Metode *Writhing Test* Pada Mencit”** yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, baik berupa dorongan moral ataupun material serta tenaga dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas selama mengikuti kuliah.
2. Bapak ketua Jurusan Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan segenap staf dosen pengajar dan karyawan yang telah memberikan bantuan dan fasilitas yang diperlukan.
3. Ibu Dra. Nuzul Wahyuning Diyah, M.si., selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Juni Ekowati M.si., selaku pembimbing serta yang selalu bersedia memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna dalam menyusun skripsi ini.
4. Ibu Dra. Hj. Sri Poedjiarti, MS dan Ibu Dra. Riesta Primaharinastiti, M.si., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk perbaikan skripsi ini.
5. Ibu Dra. Soemiati, MS, selaku dosen wali atas bimbingan dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis.
6. Bapak, ibu dan saudara-saudaraku tercinta yang telah memberikan dorongan semangat dan do'a restu.

7. Seluruh dosen pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
8. Pak Yanto, Pak sunar dan Pak Zaini di laboratorium Multipurpose II.
9. QUE Project selaku penyandang dana
10. Teman-teman satu proyek yaitu Mbak hani, Ira, Wiwin dan Betty atas kerjasamanya selama ini.
11. Keluarga besar FUPPI 6 yang telah memberikan do'a dan dorongan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
12. Pipin, Etik, Lidya, Lichen, Lis dan Mas Dedi yang telah memberikan bantuan selama ini.
13. Teman-teman seperjuangan angkatan 2000
14. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan mengenai alternatif pengobatan analgesik golongan AINS.

Surabaya, Juli 2004

Penulis

RINGKASAN

Dalam rangka pengembangan calon obat baru dari kelompok obat-obat AINS telah disintesis senyawa APMS dan MPMS yang diduga mempunyai aktivitas analgesik. Oleh karena itu, perlu diketahui apakah senyawa APMS dan MPMS mempunyai aktivitas analgesik dan bagaimanakah perbandingan potensi analgesik senyawa APMS dan MPMS.

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas analgesik senyawa APMS dan MPMS dengan tujuan untuk menentukan ED_{50} aktivitas analgesik senyawa APMS dan MPMS yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit dengan metode *writhing test*, sebagai pembanding digunakan asam asetilsalisilat.

Senyawa uji diberikan secara intraperitoneal pada mencit 30 menit sebelum induksi nyeri oleh larutan asam asetat 0,6 % intraperitoneal. Respon nyeri yang berupa konstriksi abdominal diamati 5 menit setelah induksi nyeri selama 30 menit. Aktivitas analgesik dinyatakan sebagai ED_{50} yang ditentukan berdasarkan hubungan antara log dosis dengan prosentase hambatan nyeri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa APMS hasil sintesis mempunyai ED_{50} hambatan nyeri sebesar 93,65 mg/kg (0,53 mmol/kg), senyawa MPMS mempunyai ED_{50} hambatan nyeri sebesar 92,76 mg/kg (0,48 mmol/kg), sedangkan asam asetilsalisilat sebagai pembanding mempunyai ED_{50} sebesar 83 mg/kg atau 0,46 mmol/kg.

Berdasarkan analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ED_{50} senyawa APMS dan MPMS dengan asam asetilsalisilat sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa APMS dan senyawa MPMS mempunyai aktivitas analgesik. Aktivitas analgesik kelompok senyawa AINS bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase. Aktivitas analgesik senyawa APMS dan MPMS secara molar sebanding dengan aktivitas analgesik asam asetilsalisilat.

Dari penelitian ini disarankan agar dilakukan penelitian mengenai absorpsi dan distribusi senyawa (sifat farmakokinetik) dan kemampuan senyawa dalam menghambat enzim siklooksigenase.

ABSTRAK

An effort to develop the new drug of NSAIDs have been done by synthesizing the *p*-methoxycinnamic acid and methyl *p*-methoxycinnamic. The analgesic activity of the compound was tested with writhing test methods using acetylsalicylic acid, as reference.

Analgesic activity represented by median effective dose (ED_{50}) was calculated by log x regression analysis based on log dose versus pain inhibition percentage curve.

The results showed that *p*-methoxycinnamic acid has ED_{50} 93.65 mg/kg (0.53 mmol/kg), methyl *p*-methoxycinnamic has ED_{50} 92.76 mg/kg (0.48 mmol/kg), while acetylsalicylic acid, as reference, has ED_{50} 82,49 mg/kg (0.46 mmol/kg). The analgesic activity of APMS and MPMS was comparable with acetylsalicylic acid on the molar basis.

Key Word: *p*-methoxycinnamic acid and methyl *p*-methoxycinnamic, analgesic activity, writhing test.

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN	----- ii
KATA PENGANTAR	----- iii
RINGKASAN	----- v
ABSTRACT	----- vi
DAFTAR ISI	----- vii
DAFTAR TABEL	----- ix
DAFTAR GAMBAR	----- x
DAFTAR LAMPIRAN	----- xi

BAB I PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang Masalah	----- 1
1.2	Rumusan Masalah	----- 4
1.3	Hipotesis	----- 4
1.4	Tujuan Penelitian	----- 4
1.5	Manfaat Penelitian	----- 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1	Tinjauan Tentang Nyeri	----- 5
2.2	Tinjauan Tentang Analgetika	----- 6
2.3	Tinjauan Tentang Mekanisme kerja Obat Analgesik- Antiinflamasi Non Steroid	----- 8
2.4	Tinjauan Tentang Senyawa Turunan Asam Sinamat	----- 11
2.5	Tinjauan Tentang Metode Pengujian aktivitas Analgesik	----- 12

	2.5.1 Metode Stimulasi panas -----	12
	2.5.2 Metode Stimulasi Listrik -----	13
	2.5.3 Metode Stimulasi Tekanan -----	14
	2.5.4 Metode Stimulasi Kimiawi -----	14
	2.6 Penentuan ED ₅₀ -----	15
BAB III	KERANGKA KONSEPTUAL -----	17
BAB IV	BAHAN, ALAT DAN MERODE PENELITIAN	
	4.1 Bahan -----	19
	4.1.1 Bahan Kimia -----	19
	4.1.2 Hewan Coba -----	19
	4.2 Alat - Alat -----	20
	4.3 Prosedur -----	20
	4.3.1 Analisis Kualitatif -----	20
	4.3.2 Pembuatan larutan asam asetat 0.6% -----	20
	4.3.3 Pembuatan sediaan uji -----	21
	4.3.4 Persiapan hewan coba -----	21
	4.3.5 Pelaksanaan uji aktivitas -----	21
	4.3.6 Penentuan ED ₅₀ -----	22
BAB V	HASIL PENELITIAN	
	5.1 Identifikasi Senyawa Secara Kualitatif -----	24
	5.1.1 Identifikasi Senyawa APMS -----	24
	5.1.2 Identifikasi Senyawa MPMS -----	25
	5.2 Uji Aktivitas Analgesik -----	26
	5.2.1 Penentuan Aktivitas Penghambat Nyeri -----	26
	5.2.2 Perhitungan Prosentase Hambatan Nyeri -----	29
	5.3 Penentuan ED ₅₀ -----	29
BAB VI	PEMBAHASAN -----	33
BAB VII	KESIMPULAN DAN SARAN -----	37
	DAFTAR PUSTAKA -----	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
V.1	Jarak Lebur Senyawa APMS ----- 24
V.2	Jarak Lebur Senyawa MPMS ----- 25
V.3	Respon Nyeri Pada Kelompok Dosis Senyawa Uji APMS Dan Kelompok Kontrol ----- 26
V.4	Respon Nyeri Pada Kelompok Dosis Senyawa Uji MPMS Dan Kelompok Kontrol ----- 27
V.5	Respon Nyeri Pada Kelompok Dosis Senyawa Uji Asam asetilsalisilat Dan Kelompok Kontrol ----- 28
V.6	Hasil Perhitungan Prosentase hambatan Nyeri Pada Kelompok Yang Diberi Senyawa Uji APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat ----- 29
V.7	ED ₅₀ Hambatan Nyeri Terinduksi APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat ----- 30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1	Biosintesis Prostaglandin ----- 10
2.2	Struktur Asam <i>p</i> -metoksisinamat, Metil <i>p</i> -metoksisinamat dan Asam asetilsalisilat ----- 11
3.1	Skema Kerangka Konseptual ----- 17
4.1	Bagan Rancangan Uji Aktivitas Analgesik ----- 23
5.1	Spektrum Senyawa APMS dengan Spektrofotometri UV-Vis ----- 24
5.2	Spektrum Senyawa MPMS dengan Spektrofotometri UV-Vis ----- 25
5.3	Histogram Bahan Uji vs Frekuensi Konstriksi Abdominal 31
5.4	Histogram Bahan Uji vs % Hambatan ----- 31
5.5	Mencit sebelum diberi perlakuan ----- 32
5.6	Mencit setelah diberi perlakuan ----- 32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1	Perhitungan Prosentase Hambatan Nyeri ----- 42
2	Hasil Uji Anova Respon Konstriksi Abdominal Antar Kelompok Perlakuan Dosis ----- 43
3	Hasil Uji Anova % Hambatan Senyawa APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat Berdasarkan Prosentase Hambatan Nyeri----- 44
4	Hasil Penentuan ED ₅₀ Senyawa APMS Dengan Analisis Regresi log x ----- 46
5	Hasil penentuan ED ₅₀ Senyawa MPMS Dengan Analisis Regresi log x ----- 47
6	Hasil Penentuan ED ₅₀ Senyawa Asam asetilsalisilat Dengan Analisis Regresi log x ----- 48
7	Cara Penyuntikan Secara Intraperitoneal ----- 49
8	Tabel F ----- 50
9	Tabel r ----- 51
10	Spektrum IR MPMS ----- 52
11	Spektrum ¹ H-NMR MPMS ----- 53
12	Spektrum IR APMS ----- 54
13	Spektrum ¹ H-NMR APMS ----- 55

BAB I

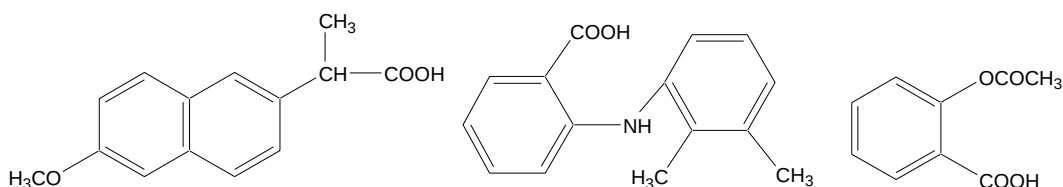
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Analgetika adalah zat-zat yang memiliki efek mengurangi atau melenyapkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Rasa nyeri dalam kebanyakan hal hanya merupakan suatu gejala, yang fungsinya adalah melindungi dan memberikan tanda bahaya tentang adanya gangguan-gangguan di dalam tubuh seperti peradangan (rematik, encok), infeksi-infeksi kuman atau kejang-kejang otot. Sebab-sebab rasa nyeri adalah rangsangan mekanis atau kimiawis (kalor atau listrik), yang dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan pada jaringan dan melepaskan zat-zat tertentu yang disebut mediator-mediator nyeri (perantara) seperti histamin, serotonin, bradikinin dan prostaglandin (Tjay dan Raharja, 1978). Masalah timbul bila nyeri menjadi berkepanjangan dan merugikan penderita. Oleh karena itu, berbagai upaya telah dilakukan oleh manusia untuk menekan atau meringankan rasa nyeri tersebut bahkan sampai hari ini pengaruh nyeri atau rasa sakit ini adalah penyebab utama pasien menemui dokternya untuk meminta pengobatan (Ekasari, 1998). Berdasarkan mekanisme kerja pada tingkat molekul, analgetika dibagi menjadi dua golongan yaitu analgetika narkotika dan analgetika non narkotika. Analgetika narkotika digunakan untuk mengurangi rasa sakit yang sedang sampai berat dan analgetika non narkotika digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri yang ringan sampai sedang (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Analgetika non narkotika lebih banyak digunakan daripada analgetika narkotika karena mudah didapat tanpa resep dari dokter dan pada umumnya masyarakat menderita rasa nyeri yang ringan. Analgetika non narkotika yang sering disebut sebagai analgetika-antipiretik dan antiinflamasi non steroid (AINS) telah digunakan secara meluas.

Struktur kimia obat-obat golongan AINS mempunyai ciri-ciri umum yaitu: adanya 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 siklo alkana yang

dapat disubstitusi dengan alkil atau radikal apolar lainnya. Pada beberapa senyawa bagian ini dapat berupa rantai hidrokarbon. Cincin kedua adalah aromatik atau heterosiklik dan mempunyai gugus anionik yang umumnya adalah gugus karboksilat (Diyah *et al*, 2002).



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

Senyawa analgetika yang berasal dari alam antara lain adalah etil *para* metoksisinamat (EPMS). EPMS merupakan metabolit sekunder terbesar dari rimpang kencur segar atau kering. Selain diperoleh dari alam, turunan asam sinamat dapat diperoleh dengan menggunakan sintesis kimia melalui reaksi Knoevenagel antara asam malonat dan benzaldehida tersubstitusi, reaksi Perkin antara aldehyd aromatik dengan asam anhidrida dan kondensasi aldol Claisen antara aldehyd aromatik dengan ester $R-CH_2COOC_2H_5$ (Vogel, 1968).

Menurut Triwindono *et al.*, (1994) EPMS mempunyai aktivitas analgesik *in vivo*. Pada penelitian dengan sel hepatosit tikus, EPMS mengalami hidrolisis menjadi asamnya yaitu asam *p*-metoksisinamat (APMS). Hal ini analog dengan asam asetilsalisilat yang berubah menjadi asam salisilat pada pemakaian per oral (Mulja, 1997). Dalam darah kelinci EPMS berubah menjadi bentuk asamnya yaitu APMS (Sadono, 2001). Sedangkan menurut penelitian Haniastuti *et al.*, (2002) secara invitro EPMS juga mempunyai aktivitas dalam menghambat prostaglandin E_2 , merupakan salah satu mediator inflamasi.

Telah disintesis senyawa APMS melalui reaksi Knoevenagel antara asam malonat dengan *p*-metoksibenzaldehida dengan katalis piridina (Ekowati, 2003). APMS belum diketahui aktivitas analgesiknya sedangkan EPMS sudah diketahui

aktivitas analgesiknya secara *in vivo* dan *in vitro*. Metil *p*-metoksisinamat (MPMS) yang dibuat melalui reaksi metilasi antara *p*-hidroksi sinamat dan dimetil sulfat juga belum diketahui aktivitas analgesiknya.

APMS dan esternya, MPMS mempunyai ciri-ciri umum obat-obat golongan AINS yaitu: adanya pengemban bagian hidrofobik molekul, gugus –OCH₃ pada cincin aromatik dan gugus karboksilat yaitu C₆H₄CH=CHCO₂H. Berdasarkan hal tersebut dan hasil penelitian yang lalu (Triwindono, 1994 dan, Haniastuti, 2002), maka diduga senyawa APMS dan MPMS mempunyai aktivitas analgesik.

Pada umumnya, ester adalah bentuk tidak aktif dari senyawa asam yang ditujukan untuk meningkatkan absorpsi atau distribusi dari obat (Siswandono dan Soekardjo, 1998). Mengingat MPMS adalah bentuk ester dari APMS, diharapkan aktivitas analgesik MPMS akan lebih besar dari APMS berdasarkan peningkatan sifat absorpsi atau distribusi pada tempat kerja akibat adanya gugus –CH₃ yang dapat meningkatkan lipofilisitas senyawa MPMS.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *writhing test* pada hewan mencit karena metode ini dapat untuk menguji aktivitas analgesik senyawa AINS. Disamping itu, metode ini sederhana, mudah pelaksanaan dan pengamatannya. Senyawa yang dapat digunakan sebagai induksi nyeri adalah fenilkinon, bradikinin, larutan KCl 2 %, larutan asam asetat dan histamin (Turner, 1965). Diyah *et al* (2002) menggunakan larutan asam asetat 0,6% dengan volume 0,01 ml/ g bb secara intraperitoneal; Studiawan (1995), Setiawati (1998), Ekasari (1998), Turnip (1998) dan Kresnamurti (2002) menggunakan larutan asam asetat 0.6% dengan volume 10 ml/ kg bb. Pada penelitian ini digunakan larutan asam asetat 0,6 % karena nyeri yang terjadi akibat induksi kimiawi bahan ini berhubungan dengan faktor inflamasi. Respon nyeri yang tampak akibat rangsangan kimiawi adalah menggeliatnya mencit setelah pemberian senyawa penginduksi nyeri. (Diyah *et al.*, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

- (1) Apakah senyawa asam *p*-metoksisinamat dan metil *p*-metoksisinamat mempunyai aktivitas analgesik pada mencit berdasarkan metode *writhing test*
- (2) Bagaimanakah potensi analgesik senyawa metil *p*-metoksisinamat dibandingkan dengan senyawa asam *p*-metoksisinamat.

1.3 Hipotesis

- (1) Senyawa asam *p*-metoksisinamat dan metil *p*-metoksisinamat mempunyai aktivitas analgesik pada mencit.
- (2) Potensi analgesik senyawa metil *p*-metoksisinamat lebih besar dibandingkan dengan senyawa asam *p*-metoksisinamat.

1.4 Tujuan Penelitian

- (1) Menentukan ED₅₀ aktivitas analgesik senyawa asam *p*-metoksisinamat dan metil *p*-metoksisinamat dengan metode *writhing test* menggunakan asam asetilsalisilat sebagai pembanding.
- (2) Membandingkan potensi analgesik dari senyawa metil *p*-metoksisinamat dengan senyawa asam *p*-metoksisinamat.

1.5 Manfaat Penelitian

Dengan diketahuinya aktivitas analgesik senyawa asam *p*-metoksisinamat dan metil *p*-metoksisinamat maka diharapkan: akan dapat diketahui kemungkinan dikembangkannya senyawa APMS dan MPMS sebagai calon obat kelompok analgesik-antiinflamasi non steroid.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Nyeri

Rasa nyeri merupakan suatu gejala, yang fungsinya adalah melindungi dan memberikan tanda bahaya tentang adanya gangguan-gangguan di tubuh seperti peradangan (rematik, encok), infeksi-infeksi kuman atau kejang-kejang otot (Tjay dan Rahardja, 1978).

Sebab-sebab rasa nyeri adalah rangsangan mekanis atau kimiawi (kalor atau listrik), yang dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan pada jaringan dan melepaskan zat-zat tertentu yang disebut mediator-mediator nyeri (perantara). Zat-zat ini lalu merangsang reseptor-reseptor nyeri yang terletak pada ujung-ujung saraf bebas di kulit, selaput lendir dan jaringan-jaringan (organ-organ) lain. Dari tempat ini rangsangan dialirkan melalui saraf-saraf sensoris ke Sistem Saraf Pusat (SSP): melalui sumsum tulang belakang ke thalamus dan kemudian ke pusat nyeri di dalam otak besar, dimana rangsangan dinyatakan sebagai nyeri (Tjay dan Rahardja, 1978).

Mediator-mediator nyeri yang terpenting adalah histamin, serotonin (5-hidroksitriptamin), bradikinin dan prostaglandin juga ion-ion kalium. Zat-zat ini menyebabkan reaksi-reaksi radang dan kejang-kejang dari jaringan otot, yang selanjutnya mengaktifasi reseptor-reseptor nyeri (Tjay dan Rahardja, 1978). Prostaglandin hanya berperan pada nyeri yang berkaitan dengan kerusakan jaringan atau inflamasi. Penelitian telah membuktikan bahwa prostaglandin menyebabkan sensitisasi reseptor nyeri terhadap stimulasi mekanik dan kimiawi. Jadi prostaglandin menimbulkan keadaan hiperalgesia, kemudian mediator kimiawi seperti bradikinin dan histamin merangsangnya dan menimbulkan nyeri yang nyata (Gan, 1999).

Berdasarkan proses terjadinya nyeri tersebut diatas, maka rasa nyeri dapat dilawan dengan beberapa cara, yakni dengan: (Tjay dan Rahardja, 1978)

- (1) Merintangi pembentukan rangsangan dalam reseptor-reseptor nyeri perifer, oleh analgetika perifer.
- (2) Merintangi penyaluran rangsangan nyeri dalam saraf-saraf sensoris, misalnya dengan anestetika lokal.
- (3) Blokade dari pusat nyeri dalam SSP dengan analgetika sentral (narkotika) atau dengan anestetika umum.

Pengobatan rasa nyeri dengan analgetika tergantung dari jenis nyeri, yaitu:

- (1) Nyeri yang ringan, seperti sakit gigi, kepala, otot-otot pada infeksi virus, nyeri selama haid, bila keseleo dan sebagainya. Yang digunakan untuk ini adalah analgetika perifer, misalnya asam asetilsalisilat atau parasetamol.
- (2) Nyeri ringan yang menahun, seperti rematik dan artrosis, digunakan analgetika atau zat-zat lain yang berkhasiat anti radang, antara lain asam asetilsalisilat, ibuprofen, indometasin.
- (3) Nyeri yang hebat, seperti nyeri organ-organ dalam (lambung, usus) antara lain akibat kolik (kejang) pada serangan-serangan penyakit batu ginjal dan batu empedu. Dalam hal ini digunakan analgetika sentral (narkotik).
- (4) Nyeri hebat yang menahun, misalnya kanker, atau kadang-kadang rematik dan neuralgia, digunakan obat-obat yang berkhasiat kuat seperti analgetika narkotik antara lain fentanil, dekstromoramida atau bezitramida (Tjay dan Rahardja, 1998).

2.2 Tinjauan Tentang Analgetika

Analgetika adalah senyawa yang dapat menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif, digunakan untuk menghilangkan rasa sakit tanpa mempengaruhi kesadaran.

Berdasarkan mekanisme kerja pada tingkat molekul, analgetika dibagi menjadi dua golongan yaitu analgetika narkotik dan analgetika non narkotik (analgetik-antipiretik) (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Analgetika non narkotika sering pula disebut analgetik-antipiretik dan antiinflamasi non steroid (AINS). Analgetika non narkotika bekerja pada perifer

dan sistem saraf pusat. Obat golongan ini digunakan untuk mengurangi rasa sakit yang ringan sampai sedang, untuk menurunkan suhu badan pada keadaan panas badan tinggi dan sebagai anti radang untuk pengobatan rematik. Analgetika-antipiretika digunakan untuk pengobatan simptomatik, yaitu hanya meringankan gejala penyakit, tidak menyembuhkan atau menghilangkan penyebab penyakit. (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Struktur kimia obat AINS yang sangat berguna mempunyai ciri-ciri umum yaitu: mempunyai dua cincin yang berhubungan langsung atau melalui “jembatan” atom/gugus pendek. Salah satu cincin bertindak sebagai pengembangan bagian hidrofobik molekul, pada umumnya berupa cincin aromatik atau siklo alkana yang dapat disubstitusi dengan alkil atau radikal apolar lainnya. Pada beberapa senyawa bagian ini dapat berupa rantai hidrokarbon. Cincin kedua adalah aromatik atau heterosiklik dan mempunyai gugus anionik yang umumnya adalah gugus karboksilat (Diyah *et al.*, 2002). Senyawa yang paling dikenal dan banyak digunakan adalah dari turunan salisilat. Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan prototipe analgetika antiinflamasi. Hingga kini obat-obat AINS masih dinilai dengan membandingkannya terhadap aspirin dan aspirin adalah obat pilihan pertama untuk keadaan rematik (Gringauz, 1997).

Analgetika non narkotika menimbulkan efek analgesik dengan cara menghambat secara langsung dan selektif enzim-enzim pada sistem saraf pusat yang mengkatalisis biosintesis prostaglandin, seperti siklooksigenase, sehingga mencegah sensitisasi reseptor rasa sakit (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Aktivitas analgesik jauh lebih lama dibanding golongan analgetika narkotika, tetapi tidak menimbulkan ketagihan dan tidak menimbulkan efek samping sentral yang merugikan (Gan, 1995).

2.3 Tinjauan Tentang Mekanisme Kerja Obat Analgesik-Antiinflamasi Nonsteroid

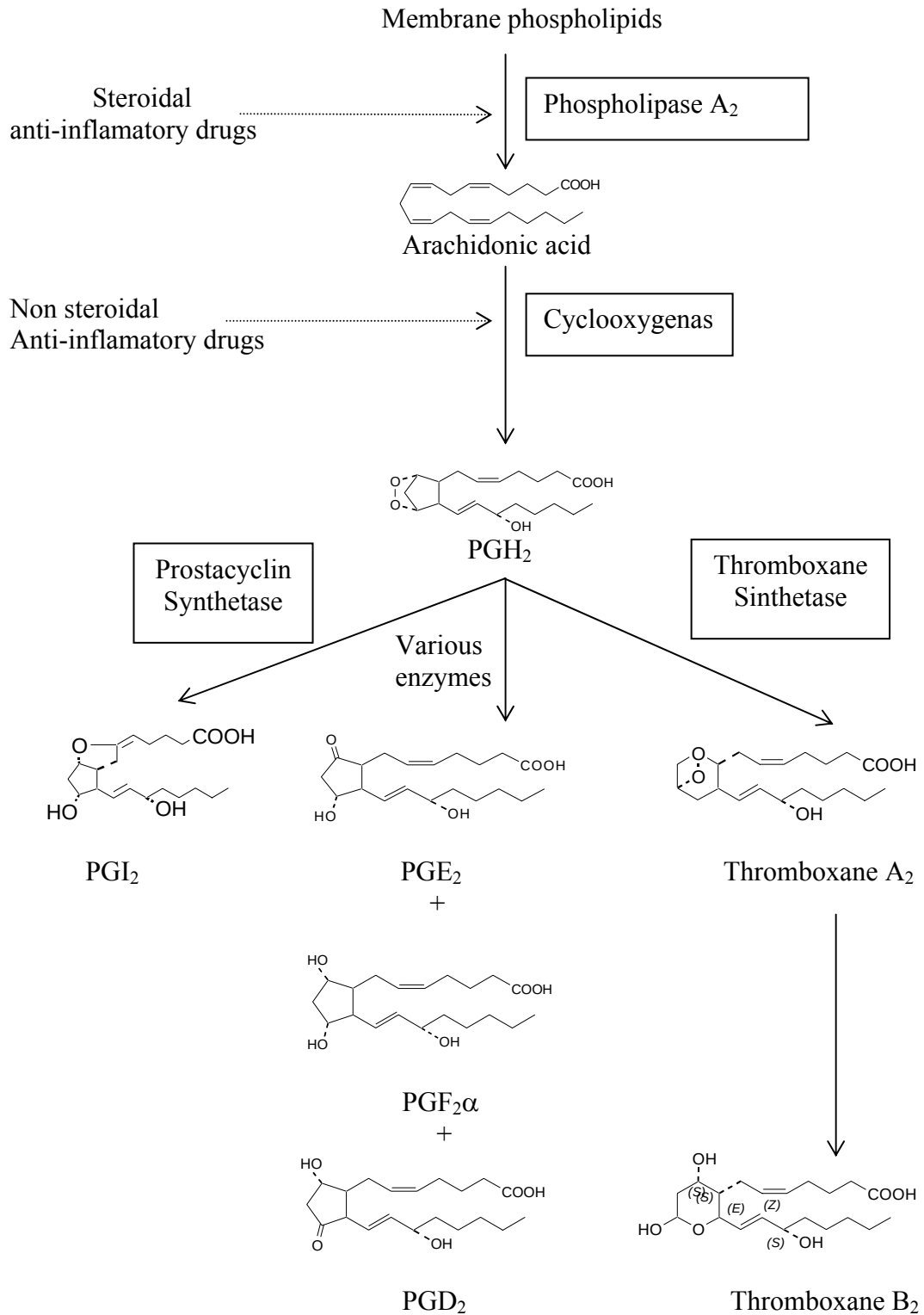
Efek terapi maupun efek samping obat antiinflamasi nonsteroid sebagian besar tergantung dari penghambatan biosintesis prostaglandin. Mekanisme kerja yang berhubungan dengan sistem sintesis prostaglandin ini mulai dilaporkan mulai tahun 1971 oleh Vane dan kawan-kawan yang memperlihatkan secara *in vitro* bahwa dosis rendah aspirin dan indometasin menghambat produksi enzim prostaglandin. Penelitian lanjutan telah membuktikan bahwa prostaglandin akan dilepas bilamana sel mengalami kerusakan. Selain itu obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) secara umum tidak menghambat biosintesis leukotrien, yang diketahui ikut berperan dalam inflamasi (Gan, 1999).

Semua obat golongan AINS 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). Setiap obat menghambat siklooksigenase dengan cara yang berbeda. Khusus parasetamol hambatan prostaglandin terjadi bila lingkungannya rendah kadar peroksid seperti di hipotalamus. Lokasi inflamasi biasanya mengandung banyak peroksid yang dihasilkan oleh leukosit. Ini menjelaskan mengapa efek antiinflamasi parasetamol tidak ada. Aspirin sendiri menghambat dengan mengasetilasi gugus aktif serin dari enzim ini. Trombosit sangat rentan terhadap penghambatan ini karena karena sel ini tidak mampu mengadakan regenerasi enzimnya sehingga dosis aspirin 40 mg sehari telah cukup untuk menghambat siklooksigenase trombosit manusia selama masa hidup trombosit yaitu 8-11 hari (Gan, 1999).

Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Selama berlangsungnya fenomena inflamasi banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), faktor kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin. Obat mirip aspirin tidak berefek terhadap mediator-mediator kimiawi tersebut kecuali prostaglandin. Prostaglandin hanya berperan pada nyeri yang berkaitan dengan kerusakan jaringan atau inflamasi.

Penelitian menunjukkan bahwa prostaglandin menyebabkan sensitisasi reseptor nyeri terhadap stimulasi mekanik dan kimiawi. Jadi prostaglandin menimbulkan keadaan hiperalgesia, kemudian mediator kimiawi seperti bradikinin dan histamin merangsangnya dan menimbulkan nyeri yang nyata. Obat mirip aspirin tidak mempengaruhi hiperalgesia atau nyeri yang ditimbulkan oleh efek langsung prostaglandin. Ini menunjukkan bahwa sintesis prostaglandin yang dihambat oleh golongan obat ini dan bukannya blokade langsung.

Pada keadaan demam, keseimbangan antara produksi dan hilangnya panas terganggu tetapi dapat dikembalikan oleh obat mirip aspirin. Ada bukti bahwa peningkatan suhu tubuh pada keadaan patologik diawali oleh pelepasan suatu zat pirogen endogen atau sitokin seperti interleukin-1 (IL-1) yang memacu pelepasan prostaglandin yang berlebihan di daerah preoptik hipotalamus. Obat mirip aspirin menekan efek zat pirogen endogen dengan menghambat sintesis prostaglandin. Tetapi demam yang timbul akibat pemberian prostaglandin tidak dipengaruhi, demikian pula peningkatan suhu oleh sebab lain seperti latihan fisik (Gan, 1999).

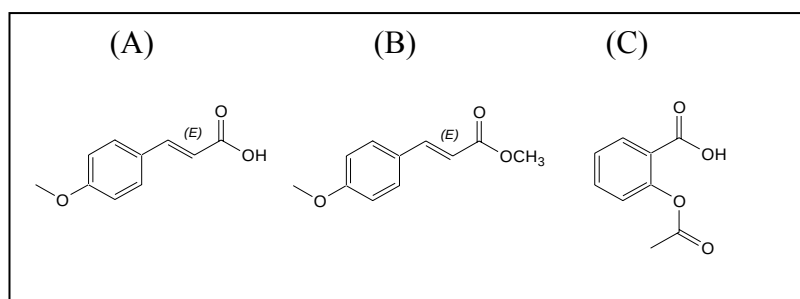


Gambar 2.1 Biosintesis Prostaglandin.

2.4 Tinjauan Tentang Senyawa Turunan Asam Sinamat

Turunan asam sinamat dapat diisolasi dari serbuk rimpang kencur dengan pengestraksi etanol melalui proses maserasi-perkolasi. Beberapa turunan asam sinamat yang telah disintesis antara lain: oktil *p*-metoksisinamat (Erawati, 2001), 2-etil heksil *p*-metoksisinamat (Wijayanti, 2001), isoamil *p*-metoksisinamat (Mariana, 2001), asam *p*-hidroksi-3-metoksisinamat (Ramdan, 2003) sebagai senyawa tabir surya dan asam *o*-metoksisinamat dan asam *p*-metoksisinamat (Ekowati, 2003).

Asam *p*-metoksisinamat disintesis berdasarkan metode Knoevenagel antara asam malonat dengan *p*-metoksibenzaldehida dengan menggunakan katalis piridina (Ekowati, 2003). Asam *p*-metoksisinamat, $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$, mempunyai bobot molekul 178.19. Senyawa ini berbentuk kristal jarum, warna putih, titik leleh 173.5°C dan dengan kemurnian 99% (Aldrich, 2003-2004), tidak larut dalam air tetapi larut dalam etanol. Sedangkan metil *p*-metoksisinamat, $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{CH}_3$, mempunyai bobot molekul 192.19, tidak larut dalam air tetapi larut dalam etanol.



Gambar 2.2 Struktur asam *p*-metoksisinamat (A), metil *p*-metoksisinamat (B) dan asam asetilsalisilat (C)

2.5 Tinjauan Tentang Metode Pengujian aktivitas Analgesik

Metode-metode pengujian aktivitas analgesik dilakukan dengan menilai kemampuan zat uji untuk menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi pada hewan coba (mencit, tikus, marmot), yang meliputi induksi secara mekanik, teknik, elektrik dan secara kimia. Pada umumnya daya kerja analgesik pada hewan dinilai dengan :

- (1) Mengukur besarnya peningkatan stimulus nyeri yang harus diberikan sampai ada respon nyeri
- (2) Jangka waktu ketahanan hewan terhadap stimulus nyeri
- (3) Peranan frekuensi respon nyeri.

2.5.1 Metode Stimulasi Panas

Penggunaan stimulasi rangsangan panas diberikan secara radiasi dengan intensitas tetap. Metode ini dikenal dengan *tail flick* dari D'amour-Smith. Sebagai sumber radiasi digunakan tegangan 6-8 volt yang dilengkapi satu refraktor untuk memfokuskan radiasi panas lampu melalui suatu lensa menuju ujung ekor tikus yang terletak 6 inci dibawah lampu.

Jenis uji yang lain yang mirip dengan prinsip diatas adalah metode yang digunakan oleh Bass dan Van Der brook dengan perbedaan yaitu lampu yang digunakan 100 watt, lama penyinaran direkam secara otomatis pada pencatat waktu. Metode ini lebih memudahkan pengamatan respon hewan dengan pemakaian stop watch dibandingkan dengan panas radiasi pada *tail flick* dari D'amour-Smith yang sangat melelahkan mata.

Stimulus panas dapat juga diberikan secara konduksi, dikenal sebagai metode *Hot Plate Test* dari Wolf dan Mc.Donald. Hewan percobaan (mencit) diamati waktu reaksinya setelah diletakkan diatas *Hot Plate*. Pada temperature dibawah 50° C mencit memberikan reaksi yang tidak teratur. Pada suhu 55° C waktu reaksinya 30 detik, dan pada suhu 60° C waktu reaksinya 20 detik. Reaksi atau respon yang ditunjukkan antara lain: menjilat kaki, mengangkat kaki, menendang kaki atau meloncat keluar dari silinder. Mencit akan menunjukkan reaksi-reaksi tersebut jika dikenakan pada kondisi-kondisi yang tidak menyenangkan (Domer, 1971).

Keuntungan:

- (1) rangsangannya alami
- (2) mudah dikontrol
- (3) tidak menyebabkan kerusakan jaringan walaupun rangsangan untuk menimbulkan rasa sakit dilakukan berkali-kali
- (4) dapat digunakan pada subyek yang bergerak ataupun tidak bergerak (Lineberry, 1981).

2.5.2 Metode Stimulasi Listrik.

Stimulasi listrik dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain:

- (1) melalui jaringan listrik pada lantai
- (2) dengan elektrode yang ditempelkan pada kulit
- (3) dengan elektrode yang ditanam pada ganglia sensoris atau pada tempat susunan saraf pusat (Lineberry, 1981).

Pada metode ini digunakan binatang besar seperti kera *Macaca mulata*. Elektroda aliran listrik dipasang di *ganglion gaseri* atau telinga. Kemudian kera dilatih dengan memberi arus tertentu. Apabila kera merasa kesakitan dan dapat menyentuh level tertentu yang tersedia maka arus akan turun satu tingkat secara otomatis. Dengan demikian akan dapat diukur ambang rasa sakitnya. Kemudian setelah perlakuan, percobaan diulang kembali. Bila ambang rasa sakit meningkat setelah perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa obat tersebut memiliki efek analgetika. Metode ini memerlukan perlengkapan khusus yang rumit.

Metode yang lain adalah metode pulpa gigi, tetapi hal ini sulit dilakukan karena memerlukan ketrampilan yang tinggi (Domer, 1971).

Keuntungan:

- (1) dapat dikontrol dengan mudah dengan menggunakan stimulator arus listrik yang dipertahankan konstan walaupun terjadi fluktuasi daya tahan subyek
- (2) dapat digunakan dan diukur dengan mudah
- (3) dapat menghasilkan tingkatan-tingkatan sakit yang tinggi tanpa merusak jaringan
- (4) dapat diulang dengan interval yang sangat pendek

- (5) onsetnya cepat
- (6) dapat digunakan pada segala macam spesies (Lineberry, 1981).

2.5.3 Metode Stimulasi dengan Tekanan.

Tekanan diberikan pada ekor tikus menggunakan suatu alat syringe yang merupakan suatu rangkaian tertutup yang terdiri dari suatu minyak mineral yang dihubungkan melalui pipa T dengan syringe lain. Peningkatan besar tekanan akan menyebabkan tikus berontak berusaha melepaskan diri atau mencicit. Hasil percobaan ini akan bernilai kualitatif saja dan tidak dapat diulang-ulang karena ekor tikus menjadi cedera akibat penekanan sehingga mempengaruhi hasil percobaan selanjutnya (Domer, 1971).

Keuntungan:

- (1) rangsangannya alami
- (2) dapat digunakan dengan mudah tanpa peralatan mekanik atau elektronik yang mahal.

Kendala penggunaan metode ini antara lain:

- (1) meskipun stimulasi tekanan adalah stimulasi alami yang digunakan, kontrol dan ukuran parameter stimulus yang baik sulit dicapai tanpa peralatan mekanik dan elektronik yang mahal
- (2) metode ini hanya dapat digunakan jika hewan coba telah dibius karena akan terjadi kesulitan pada kontrol dan pengukuran jika digunakan pada hewan coba yang bergerak

2.5.4 Metode Stimulus Kimiawi.

Stimulasi kimiawi yang diterapkan pada hewan kecil berupa *Mus musculus* adalah berupa penyuntikan secara intraperitoneal bahan-bahan yang dapat menimbulkan respon karakteristik seperti menggeliat, meregang, atau kontraksi otot-otot abdomen. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Siegmund *et al.*, menggunakan fenilkinon 0,02 % sebanyak 0,25 ml. Nickander *et al.*, berhasil menggunakan larutan asetat 0,6 % sebanyak 10 ml/kg BB yang diinjeksikan secara intraperitoneal. Koster *et al.*, menggunakan 16 mg/kg BB.

Bahan kimia yang digunakan sebagai bahan penginduksi nyeri yang lain yaitu bradikinin, larutan KCl 2 % dan histamin (Turner, 1965).

Pemilihan metode pengujian aktivitas analgesik tidak hanya pengukuran intensitas, tetapi juga lama kerja obat untuk menghindari kerusakan permanen suatu jaringan akibat observasi berulang. Metode uji aktivitas yang memberikan hubungan bertingkat antara intensitas rangsangan nyeri dan dosis analgetika yang dibutuhkan untuk menahan rangsangan rasa nyeri. Cara ini lebih disukai karena dapat diperoleh perkiraan kuantitas aktivitas analgetika.

Sebagai catatan efektivitas analgetika tidak dapat dinilai dengan menggunakan obyek sehat. Eksperimen menggunakan obyek sehat berguna untuk penilaian ada tidaknya efek serta potensi analgetika suatu bahan. Sedangkan pengukuran pada subyek sakit berguna untuk menentukan efektivitas bahan pada keadaan yang paling sesuai untuk keadaan klinis (Turner, 1965).

Pada metode ini aktivitas analgesik ditentukan dengan mengamati frekuensi konstiksi abdominal (geliat) 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” (Diyah *et al*, 2002).

2.6 Penentuan ED₅₀ Dengan Analisis Regresi Log x

Variasi biologis dalam aktivitas obat merupakan alasan penting mengapa pengobatan harus individualistik dan perlu diatur sesuai kebutuhan individu pasien. Hal ini juga menjelaskan bahwa tidak ada generalisasi tentang keefektifan dan keamanan obat yang dapat disimpulkan atas dasar uji coba klinik dengan sejumlah sampel yang kecil.

ED₅₀ adalah dosis yang menimbulkan efek hambatan 50 % berdasarkan kurva hubungan antara dosis dengan % hambatan / aktivitas. Dosis yang digunakan pada umumnya merupakan kelipatan dua (misal 50, 100, 200 mg / Kg BB dst). Nilai ED₅₀ berbeda-beda untuk setiap cara pemberian. Bila respon adalah

kematian maka ED_{50} menjadi LD_{50} (Median Letal Dose) atau dosis kematian untuk 50 % hewan coba.

Nilai ED_{50} dan LD_{50} dapat dihitung dengan menggunakan metode grafik. Kurva hubungan dosis dengan respon biologis pada umumnya memberikan gambaran yang sigmoid, sehingga agar menjadi garis lurus perlu dilakukan analisis regresi dengan menjadikan nilai x logaritmik / probit. Litchfield dan Fertig (1941) telah memperkenalkan cara grafik untuk menggambarkan kurva-dosis efek yang kemudian disederhanakan dan digunakan oleh Miller dan Trainor (1944) untuk menghitung perkiraan nilai ED_{50} atau LD_{50} dengan menggunakan kertas grafik log probit. Efek transformasi grafik adalah meregangkan akhir kurva sigmoid yang diperoleh dengan memplot respon terhadap logaritma dosis sehingga menjadi garis lurus. Untuk menghitung ED_{50} dapat digunakan komputer program SPSS (Lien, 1978).

BAB III

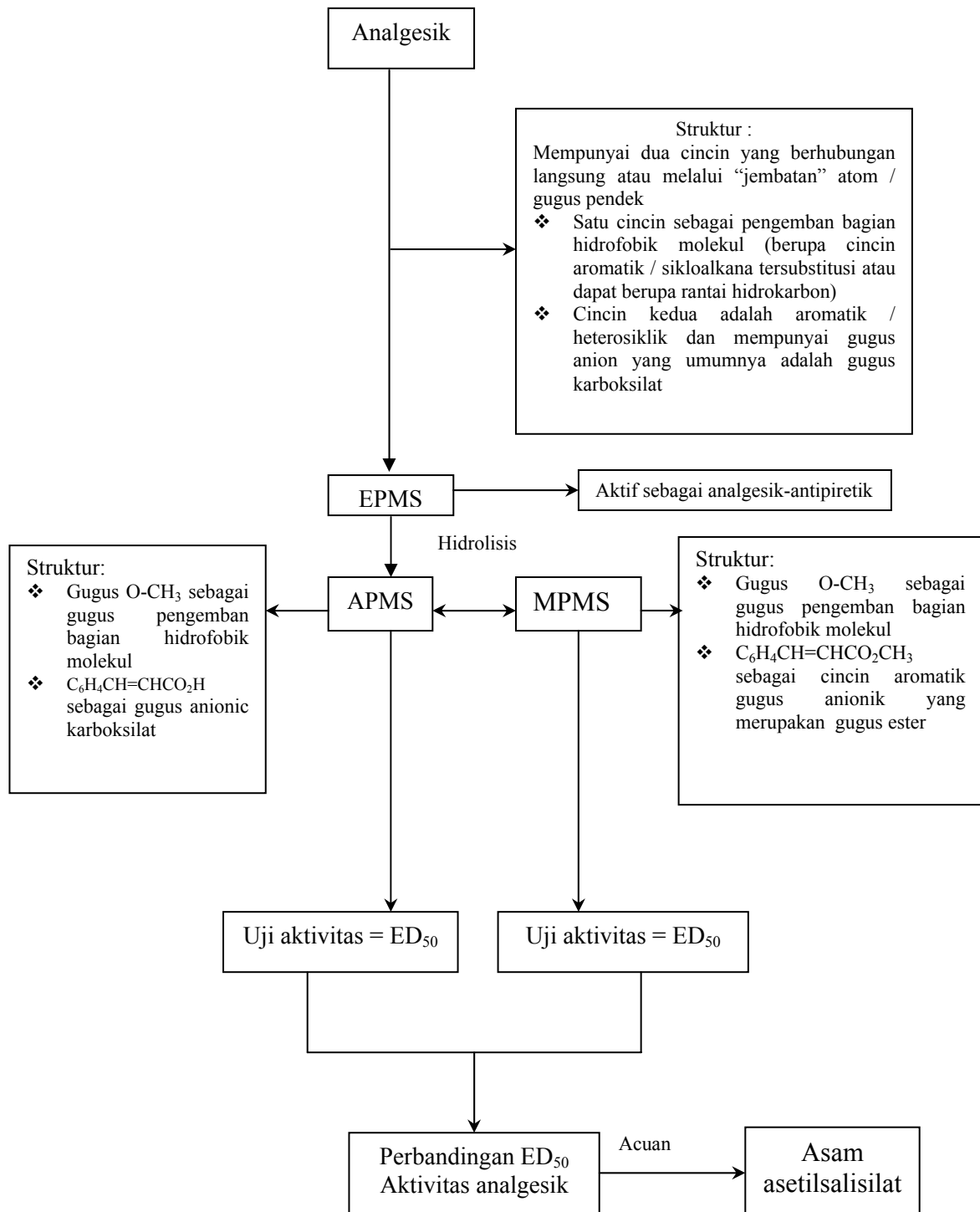
KERANGKA KONSEPTUAL

Analgetika adalah zat-zat yang memiliki efek mengurangi atau melenyapkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Berdasarkan mekanisme kerja pada tingkat molekul, analgetika dibagi menjadi dua golongan yaitu analgetika narkotika dan analgetika non narkotika. Analgetika non narkotika lebih banyak digunakan daripada analgetika narkotika karena mudah didapat tanpa resep dari dokter dan pada umumnya masyarakat menderita rasa nyeri yang ringan. Analgetika non narkotika yang sering disebut sebagai analgetika antiinflamasi non steroid (AINS) telah digunakan secara meluas.

Struktur kimia obat-obat golongan AINS mempunyai ciri-ciri umum yaitu: adanya 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 siklo alkana yang dapat disubstitusi dengan alkil atau radikal apolar lainnya. Pada beberapa senyawa bagian ini dapat berupa rantai hidrokarbon. Cincin kedua adalah aromatik atau heterosiklik dan mempunyai gugus anionik yang umumnya adalah gugus karboksilat (Diyah *et al.*, 2002).

Menurut Triwindono *et al.*, (1994) EPMS mempunyai aktivitas analgesik *in vivo*. Pada penelitian dengan sel hepatosit tikus, EPMS mengalami hidrolisis menjadi asamnya yaitu APMS. Hal ini analog dengan asetosal yang berubah menjadi asam salisilat pada pemakaian per oral (Mulja, 1997). Dalam darah kelinci EPMS berubah menjadi bentuk asamnya yaitu APMS (Sadono, 2001). Sedangkan menurut penelitian Haniastuti *et al.*, (2002) secara *in vitro* EPMS juga mempunyai aktivitas dalam menghambat prostaglandin E₂, merupakan salah satu mediator inflamasi. APMS dan esternya, MPMS mempunyai ciri-ciri umum obat-obat golongan AINS yaitu: adanya pengemban bagian hidrofobik molekul, gugus -OCH₃ pada cincin aromatik dan gugus karboksilat yaitu C₆H₄CH=CHCO₂H. Berdasarkan hal tersebut dan hasil penelitian yang lalu (Sadono, 2001), maka diduga senyawa APMS dan MPMS mempunyai aktivitas analgesik. Aktivitas

analgesik-antiinflamasi tersebut dinyatakan dalam ED_{50} aktivitas analgesik dari senyawa APMS dan MPMS dengan asam asetilsalisilat.



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual

BAB IV

BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

4.1 Bahan-bahan Penelitian

4.1.1 Bahan Kimia

- (1) Asam asetilsalisilat p.a (Sigma)
- (2) Asam *p*-metoksisinamat (Produk Sintesis)
- (3) Metil *p*-metoksisinamat (Produk Sintesis)
- (4) Asam asetat glasial 100 % p.a (Merc)
- (5) Natrium karboksimetilselulose p.a
- (6) Air suling

4.1.2 Hewan Coba

Digunakan mencit putih *Mus musculus* strain Bulb “C” jantan dewasa dengan berat badan 20-25 gram, umur 2-3 bulan, sehat tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuhnya. Mencit dibagi dalam 4 kelompok (3 kelompok dosis, 1 kelompok kontrol) dan masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor untuk satu macam obat. Sebelum diberi perlakuan terhadap mencit dilakukan adaptasi dengan lingkungannya selama 1 minggu dan diberi pakan standar, minum *ad libitum*.

Komposisi pakan yang digunakan :

Air	: Maks 12	%
Protein kasar	: Min 16.5	%
Lemak kasar	: Min 4	%
Serat kasar	: Maks 6	%
Abu	: Maks 15	%
Kalsium	: 3.5 - 3.8	%
Phosphor	: 0.7 – 0.9	%
Antibiotika	: +	

4.2 Alat-alat

- (1) Neraca analitik (Sartorius 2472)
- (2) *Electrothermal melting point apparatus*
- (3) Spektrofotometer Diode array HP 842 A
- (4) Alat gelas
- (5) Jarum suntik dan spuit
- (6) Alat pengukur waktu

4.3 Prosedur

4.3.1 Analisis Kualitatif

4.3.1.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan meliputi bentuk, warna dan bau.

4.3.1.2 Pemeriksaan Jarak Lebur

Sedikit zat digerus halus kemudian dimasukkan kedalam pipa kapiler yang salah satu ujungnya tertutup. Selanjutnya pipa kapiler dimasukkan kedalam alat penentu titik leleh dan diamati suhu saat zat tersebut mulai meleleh dan diamati suhu saat semua zat meleleh. Percobaan diulang tiga kali dan dicatat jarak leburnya.

4.3.1.3 Identifikasi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Kristal senyawa uji dilarutkan dalam pelarut etanol p.a kemudian dimasukkan dalam kuvet, masukkan tempat sample spektrofotometri UV dan diukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

4.3.2 Pembuatan larutan asam asetat 0,6%

Sejumlah 0,6 ml asam asetat glasial diencerkan dengan air suling steril hingga diperoleh volume 100 ml (Diyah *et al.*, 2002).

4.3.3 Pembuatan sediaan uji

Sediaan uji yang dibuat meliputi suspensi APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat. Suspensi senyawa uji dibuat segera sebelum uji aktivitas dilakukan dan tidak dapat disimpan untuk digunakan diwaktu yang lain. Sebanyak 250 mg CMC Na ditaburkan diatas air panas 10 ml dan dibiarkan mengembang selama sekitar 5 menit, kemudian digerus ad terbentuk mucilago. 250, 500, 1000 mg masing-masing senyawa uji digerus dan dicampur merata dengan mucilago CMC Na, kemudian ditambahkan air hingga diperoleh volume 50 ml.

Sesuai prosedur tersebut, 1 ml sediaan uji masing-masing mengandung 5, 10, 20 mg senyawa obat. Untuk 20 g mencit, maka untuk dosis masing-masing 50, 100, 200 mg/ kg bb senyawa uji yang diinjeksikan adalah 0.2 ml. Mencit pada masing-masing kelompok dosis (50, 100, 200 mg/kg berat badan mencit) akan diberi suspensi sejumlah volume tertentu sedemikian sehingga jumlah senyawa obat yang diberikan sesuai dengan dosis yang ditetapkan untuk masing-masing kelompok.

4.3.4 Persiapan hewan coba

- (1) Mencit dipuasakan semalam, tetapi tetap diberi minum *ad libitum*.
- (2) Mencit dibagi dalam beberapa kelompok, yaitu 3 kelompok dosis (50, 100, 200 mg/kg bb) dan 1 kelompok kontrol, masing-masing terdiri dari 10 ekor.
- (3) Mencit ditimbang untuk menentukan jumlah sediaan yang akan diberikan

4.3.5 Pelaksanaan uji aktivitas

- (1) Mencit pada tiap kelompok dosis diberi larutan sediaan uji sesuai bobot badan dan kelompok kontrol hanya diberi larutan CMC Na 0,5% (plasebo) secara intraperitoneal
- (2) 30 menit setelah pemberian obat atau plasebo, mencit disuntik dengan larutan asam asetat 0,6% sebanyak 10 ml/kg bb secara intraperitoneal (Ekasari, 1998)

- (3) 5 menit setelah penyuntikan dengan larutan asam asetat (induksi nyeri) mulai diamati respon nyeri selama 30 menit. Respon yang diamati adalah frekuensi nyeri kelompok dosis dan kelompok kontrol
- (4) Aktivitas hambatan nyeri senyawa uji dapat dihitung dengan menggunakan rumus : (Turner, 1965)

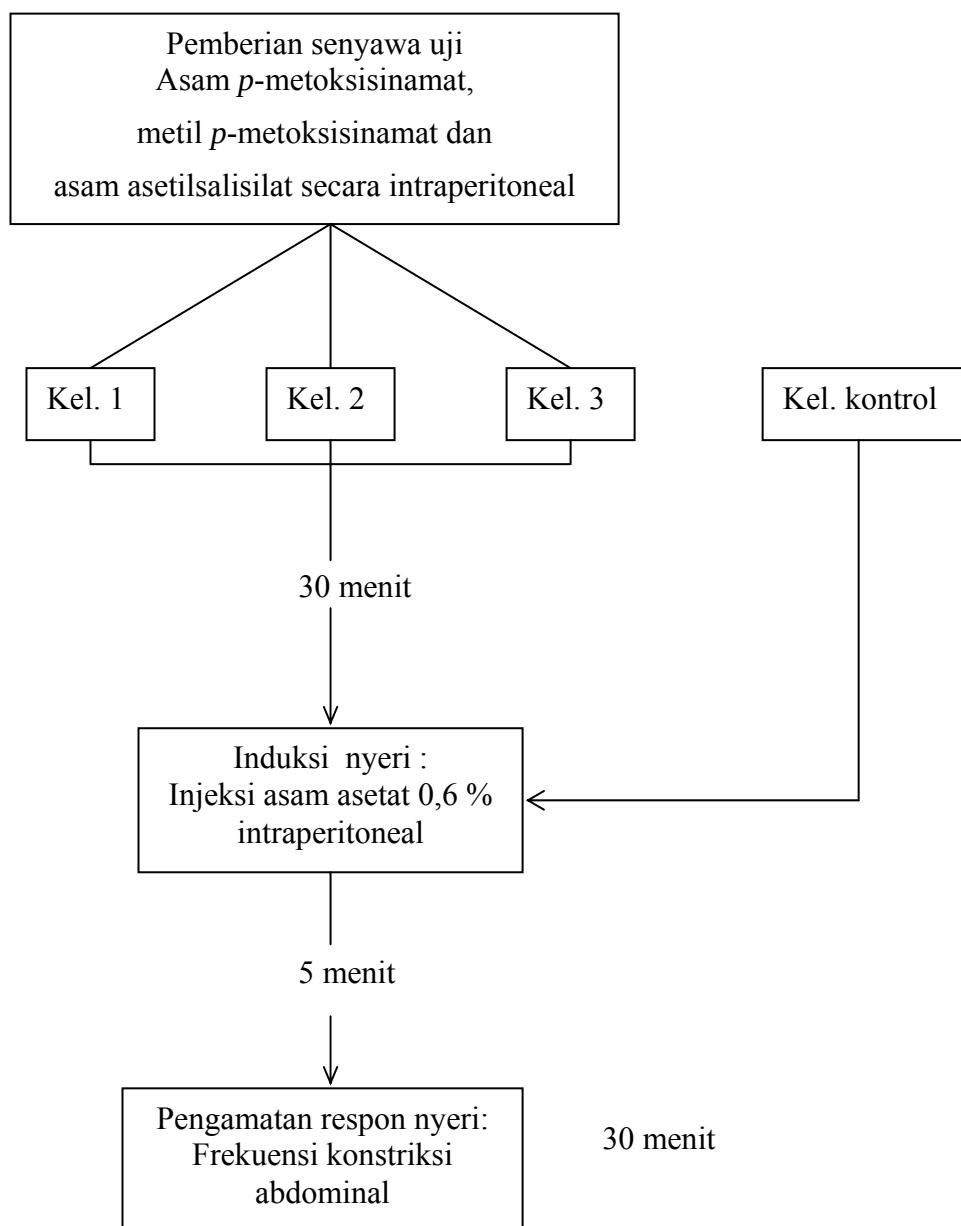
$$\% \text{ hambatan} = 100 - \left\{ \frac{\left(\sum \text{Frek. konst. abdominal kel. dosis} \right)}{\left(\sum \text{Frek. konst. abdominal kel. kontrol} \right)} \times 100 \right\}$$

4.3.6 Penentuan ED₅₀

Data frekuensi konstiksi abdominal tiap kelompok dari masing-masing senyawa uji dianalisis secara statistik dengan ANOVA (Analisis of Varian) pada tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$ %) untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan (kelompok-kelompok dosis dan kontrol) senyawa uji. Jika harga F hitung > F tabel, dapat disimpulkan ada perbedaan bermakna diantara kelompok perlakuan. Selanjutnya data frekuensi konstiksi abdominal diolah menjadi prosentase hambatan nyeri berdasarkan rumus diatas.

Data prosentase hambatan nyeri masing-masing senyawa uji dengan dosis yang sama dianalisis dengan ANOVA untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antar kelompok senyawa uji (APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat).

Aktivitas analgesik untuk tiap senyawa dinyatakan dalam ED₅₀ hambatan nyeri. ED₅₀ hambatan nyeri adalah dosis yang menghasilkan hambatan nyeri sebesar 50 % pada kurva hubungan antara log dosis dan % hambatan nyeri. Kurva tersebut diperoleh dari data log dosis sebagai sumbu X yang merupakan variabel bebas dan % hambatan nyeri sebagai sumbu Y yang merupakan variabel tergantung dengan menggunakan analisis regresi log x.

BAGAN RANCANGAN UJI AKTIVITAS ANALGESIK

Keterangan :

- Kelompok 1 : Kelompok mencit yang diberi dosis I (50 mg/kg bb)
 Kelompok 2 : Kelompok mencit yang diberi dosis II (100 mg/kg bb)
 Kelompok 3 : Kelompok mencit yang diberi dosis III (200 mg/kg bb)
 Kelompok kontrol : Kelompok mencit yang diberi larutan CMC-Na 0,5 % (plasebo)

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 IDENTIFIKASI SENYAWA SECARA KUALITATIF

5.1.1 Identifikasi Senyawa APMS

5.1.1.1 Pemeriksaan Organoleptis

Bentuk : Kristal jarum

Warna : Putih

Bau : Tidak berbau

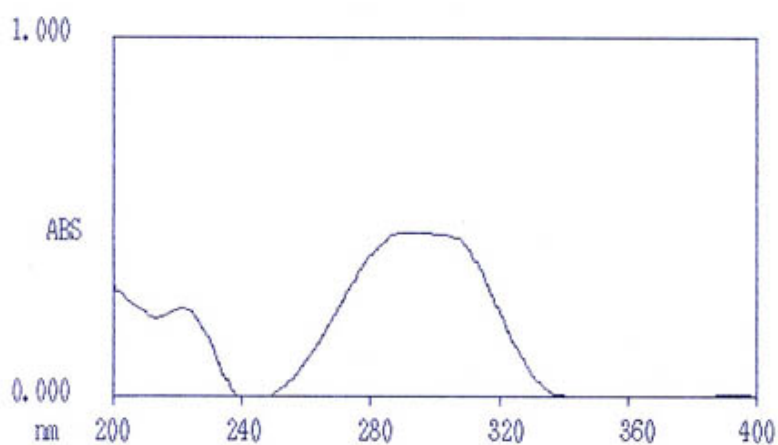
5.1.1.2 Penentuan Jarak Lebur

Tabel V.1 Jarak lebur senyawa APMS

Replikasi	Jarak Lebur ($^{\circ}$ C)	Pustaka
1	168-171	
2	168-170	
3	168-170	
Rata-rata :	168-170	170

5.1.1.3 Identifikasi dengan Spektrofotometri UV-Vis

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa senyawa APMS mempunyai 2 puncak yaitu pada panjang gelombang 221,5 nm dan 295,5 nm. Spektrum senyawa APMS dapat dilihat pada gambar 5.1



Gambar 5.1 Spektrum Senyawa APMS dengan Spektrofotometri UV-Vis.

5.1.2 Identifikasi Senyawa MPMS

5.1.2.1 Pemeriksaan Organoleptis

Bentuk : Kristal jarum

Warna : Putih

Bau : Tidak berbau

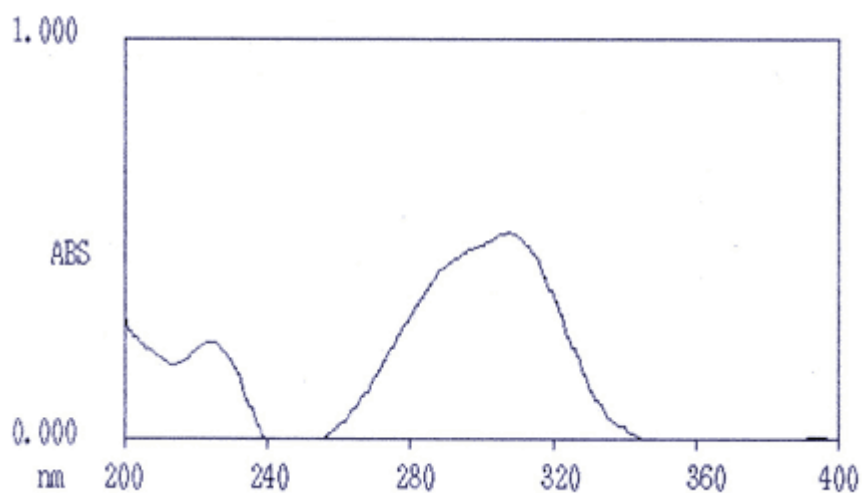
5.1.2.2 Penentuan Jarak Lebur

Tabel V.2 Jarak lebur senyawa MPMS

Replikasi	Jarak Lebur ($^{\circ}\text{C}$)	Pustaka
1	86-88	
2	86-88	
3	86-88	
Rata-rata :	86-88	87

5.1.2.3 Identifikasi dengan Spektrofotometri UV-Vis

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa senyawa MPMS mempunyai 2 puncak yaitu pada panjang gelombang 224 nm dan 307 nm. Spektrum senyawa MPMS dapat dilihat pada gambar 5.2



Gambar 5.2 Spektrum Senyawa MPMS dengan Spektrofotometri UV-Vis

5.2 UJI AKTIVITAS ANALGESIK

Aktivitas obat analgetika ditentukan dengan cara menilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi secara kimia, yaitu dengan cara mengamati respon nyeri (frekuensi konstiksi abdominal) yang ditunjukkan oleh mencit selama 30 menit setelah dilakukan stimulasi kimia, kemudian dihitung prosentase hambatannya.

5.2.1 Penentuan Aktivitas Penghambat Nyeri

Hasil pengamatan respon nyeri yang terjadi akibat induksi larutan asam asetat setelah pemberian senyawa uji dosis (50, 100, 200 mg/kg bb) dan tanpa senyawa uji (kelompok kontrol).

Tabel V.3 Respon Nyeri pada kelompok dosis senyawa uji APMS dan kelompok kontrol.

No.	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok dosis			
	50 mg/kg bb	100 mg/kg bb	200 mg/kg bb	kontrol
1	76	43	28	117
2	78	56	29	117
3	79	57	30	117
4	83	58	30	120
5	84	58	32	121
6	88	59	36	121
7	89	65	43	127
8	92	66	43	138
9	94	69	45	141
10	95	71	49	142
Rata-rata	85,8	60,2	36,5	126,1
SD	6,83	8,07	7,79	10,30

Tabel V.4 Respon Nyeri pada kelompok dosis senyawa uji MPMS dan kelompok kontrol.

No.	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok dosis			
	50 mg/kg bb	100 mg/kg bb	200 mg/kg bb	kontrol
1	59	38	20	84
2	60	40	22	88
3	61	44	25	93
4	67	45	25	98
5	68	46	26	100
6	71	46	27	105
7	79	48	29	108
8	85	48	30	109
9	88	53	30	114
10	90	54	34	120
Rata-rata	72,8	46,2	26,8	101,9
SD	11,87	5,01	4,13	11,46

Tabel V.5 Respon Nyeri pada kelompok dosis senyawa uji asam asetilsalisilat dan kelompok kontrol.

No.	Frekuensi konstiksi abdominal pada tiap kelompok dosis			
	50 mg/kg bb	100 mg/kg bb	200 mg/kg bb	kontrol
1	48	20	18	78
2	49	27	21	81
3	52	28	23	88
4	52	29	24	90
5	53	31	25	91
6	57	40	25	94
7	69	42	26	97
8	70	46	26	98
9	76	58	28	98
10	87	60	30	99
Rata-rata	61,3	38,1	24,6	91,4
SD	13,33	13,51	3,41	7,34

Hasil F hitung dari ANOVA frekuensi konstiksi abdominal antar kelompok dosis senyawa uji adalah sebagai berikut:

Senyawa Uji	F hitung	F tabel	P
APMS	211,54	2,87	0,000
MPMS	135,589	2,87	0,000
Asam asetilsalisilat	80,457	2,87	0,000

Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna antar kelompok dosis senyawa APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat.

5.2.2 Perhitungan Prosentase Hambatan Nyeri

Hasil perhitungan prosentase hambatan nyeri (% hambatan) dapat dilihat pada tabel V.6 dan untuk cara perhitungan prosentase hambatan nyeri masing-masing kelompok senyawa uji dapat dilihat pada lampiran 1.

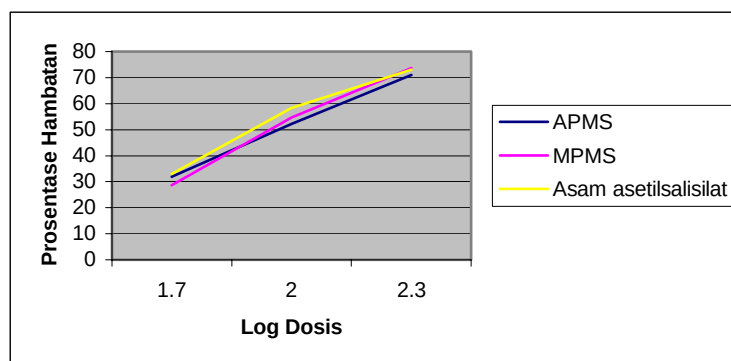
Tabel V.6 Hasil perhitungan prosentase hambatan nyeri pada kelompok yang diberi senyawa uji APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat.

Dosis (mg/kg bb)	Rata-rata frekuensi konstiksi abdominal			% hambatan		
	APMS	MPMS	Asam asetilsalisilat	APMS	MPMS	Asam asetilsalisilat
50	85,8	72,8	61,3	31,96	28,56	32,93
100	60,2	46,2	38,1	52,23	54,66	58,32
200	36,5	26,8	24,6	71,05	73,70	73,09
kontrol	126,1	101,9	91,4	0	0	0

Hasil F hitung dari ANOVA prosentase hambatan nyeri antara 3 senyawa uji (APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat) adalah 1,072 dengan F tabel = 3,74.

Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna diantara senyawa APMS dan MPMS dibanding asam asetilsalisilat.

Profil aktivitas hambatan nyeri senyawa uji (APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat) berdasarkan log dosis dan prosentase hambatan adalah sebagai berikut:



5.3 Penentuan ED₅₀

Berdasarkan data log dosis dan prosentase hambatan (% hambatan) pada tabel V.6, dapat diperoleh persamaan yang dihitung dengan analisis statistik regresi (lampiran 3,4 dan 5) sebagai berikut:

1. Asam asetilsalisilat:

$$\% \text{ hambatan} = 68,6944 \times \log \text{ dosis} - 81,644$$

$$r = 0,8839 \quad (\alpha = 0,05 ; \text{db} = 30-1)$$

2. APMS :

$$\% \text{ hambatan} = 65,4136 \times \log \text{ dosis} - 78,9636$$

$$r = 0,9790 \quad (\alpha = 0,05 ; \text{db} = 30-1)$$

3. MPMS :

$$\% \text{ hambatan} = 74,6495 \times \log \text{ dosis} - 96,864$$

$$r = 0,9868 \quad (\alpha = 0,05 ; \text{db} = 30-1)$$

Perhitungan ED_{50} melalui persamaan yang diperoleh dari analisis regresi linier antara log dosis dengan % hambatan adalah sebagai berikut:

1. Asam asetil salisilat:

$$\% \text{ hambatan} = 68,6944 \times \log \text{ dosis} - 81,644$$

Bila % hambatan = 50, maka $\log \text{ dosis} = 1,9164$

$$ED_{50} = 82,49$$

2. APMS :

$$\% \text{ hambatan} = 65,4136 \times \log \text{ dosis} - 78,9636$$

Bila % hambatan = 50, maka $\log \text{ dosis} = 1,9715$

$$ED_{50} = 93,65$$

3. MPMS :

$$\% \text{ hambatan} = -96,864 \times \log \text{ dosis} + 74,6495$$

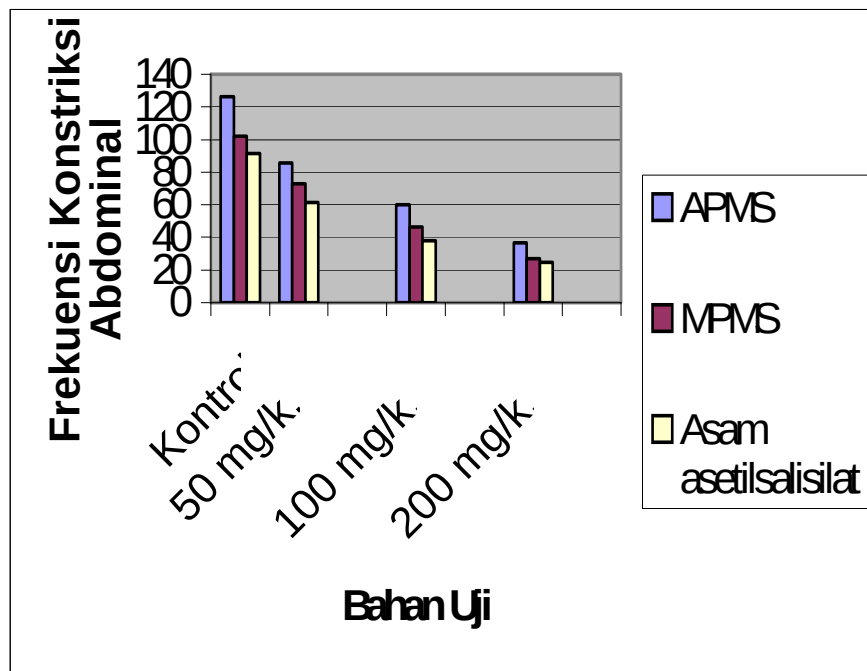
Bila % hambatan = 50, maka $\log \text{ dosis} = 1,9674$

$$ED_{50} = 92,76$$

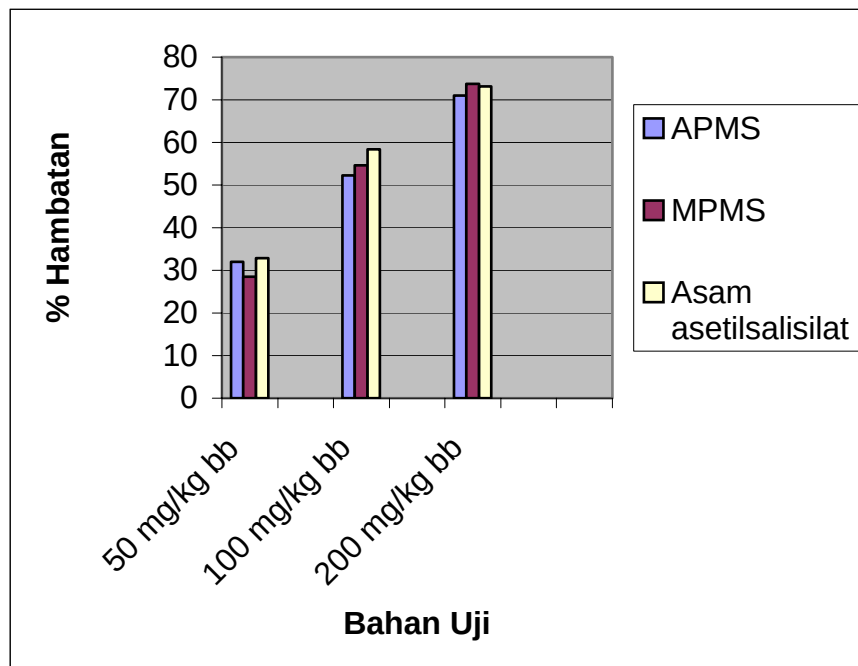
Hasil penentuan ED_{50} aktivitas analgesik dengan metode penghambatan nyeri dapat dilihat pada tabel V.7.

Tabel V.7 ED_{50} hambatan nyeri senyawa APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat.

Senyawa	BM	ED_{50}	
APMS	178,19	93,65 mg/ kg	0,53 mmol/kg
MPMS	192,19	92,76 mg/ kg	0,48 mmol/kg
Asam asetilsalisilat	180	82,49 mg/kg	0,46 mmol/kg



Gambar 5.3 Histogram Bahan Uji vs Frekuensi Konstriksi Abdominal



Gambar 5.4 Histogram Bahan Uji vs % Hambatan



Gambar 5.5 Mencit sebelum diberi perlakuan



Gambar 5.6 Mencit setelah diberi perlakuan

BAB VI

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, senyawa yang diuji aktivitas analgesiknya adalah senyawa turunan asam sinamat yaitu asam *p*-metoksisinamat (APMS) dan metil *p*-metoksisinamat (MPMS). Bahan penelitian ini diduga mempunyai aktivitas analgesik berdasarkan dua hal yaitu : pertama, strukturnya yang mempunyai ciri-ciri umum obat-obat golongan AINS. Kedua, hasil penelitian sebelumnya (Triwindono, 1994 dan Haniastuti, 2002) menyebutkan bahwa senyawa etil *p*-metoksisinamat (EPMS), yaitu ester etil asam *p*-metoksisinamat, mempunyai aktivitas analgesik *in vivo* maupun *in vitro*.

Sebagai langkah awal dalam penelitian ini dilakukan uji kualitatif yang meliputi pengamatan organoleptis, penentuan jarak lebur dan pemeriksaan dengan spektrofotometri UV- Vis terhadap senyawa APMS dan MPMS. Langkah ini dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas senyawa tersebut sehingga dapat digunakan sebagai bahan penelitian lebih lanjut. Berdasarkan uji kualitatif tersebut, senyawa yang diuji identik dengan senyawa APMS dan senyawa MPMS (Ekowati, 2003 dan Ekowati dkk, 2004). Hasil uji kualitatif dengan menggunakan spektrofotometri FT-IR dan spektrometer H-NMR dapat dilihat pada lampiran 10 sampai lampiran 13.

Pada penelitian ini, uji aktivitas analgesik dilakukan dengan cara penghambatan nyeri akibat induksi kimia. Sebagai induktor nyeri digunakan asam asetat yang diberikan pada mencit secara intraperitoneal. Metode ini digunakan untuk uji aktivitas analgesik senyawa antiinflamasi non steroid (AINS) karena nyeri yang timbul akibat induksi oleh asam asetat dianggap berhubungan dengan pelepasan prostaglandin, salah satu mediator dalam peristiwa inflamasi (Diyah *et al*, 2002). Disamping itu, metode ini dipilih karena relatif sederhana dan mudah pelaksanaan serta pengamatannya.

Pada metode uji aktivitas analgesik ini digunakan dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb. Penentuan dosis ini dilakukan berdasarkan nilai ED₅₀ senyawa pembanding, yaitu senyawa asam asetilsalisilat, sebesar 101 mg/kg bb (Diyah *et*

al, 2002). Diambil satu dosis dibawah nilai ED_{50} dan satu dosis diatas nilai ED_{50} senyawa asam asetilsalisilat. Aktivitas hambatan nyeri ditentukan dengan cara menentukan penurunan frekuensi konstiksi abdominal dengan adanya pemberian senyawa analgesik (pada kelompok dosis) dibandingkan dengan frekuensi konstiksi abdominal tanpa adanya senyawa tersebut (kelompok kontrol). Frekuensi konstiksi abdominal pada masing-masing kelompok (dosis dan kontrol) terhitung sejak lima menit setelah induksi asam asetat. Waktu lima menit ini menunjukkan mula kerja asam asetat dalam menimbulkan nyeri. Obat diberikan 30 menit sebelum induksi asam asetat untuk memberikan kesempatan agar pada saat diuji senyawa sudah terabsorpsi dan bekerja pada tempat kerjanya. Pengamatan tersebut dilakukan selama 30 menit karena masa kerja nyeri akibat induksi asam asetat itu adalah 30 menit.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan frekuensi konstiksi abdominal yang bermakna antar kelompok dosis senyawa uji, baik untuk senyawa APMS dan MPMS maka dilakukan uji ANOVA. Hasil perhitungan ANOVA (Lampiran 2) menunjukkan bahwa ada perbedaan frekuensi konstiksi abdominal yang bermakna antar kelompok dosis. Diketahui harga F hitung $> F$ tabel dan harga $P < 0,05$ pada $\alpha = 0.05$. Untuk senyawa APMS diperoleh harga F hitung = 211,154 dan senyawa MPMS mempunyai harga F hitung = 135,589 sedangkan harga F tabel untuk $(36;3) = 2,87$. Sedangkan harga P pada ANOVA kedua senyawa adalah 0,000. Setelah diketahui ada perbedaan yang bermakna maka selanjutnya dapat dihitung prosentase hambatan nyeri untuk setiap kelompok dosis.

Pada tabel V.3, V.4 dan V.5 dapat dilihat bahwa dari dosis 50 mg/kg bb sampai dengan dosis 200 mg/kg bb, senyawa APMS menunjukkan respon nyeri yang lebih besar daripada senyawa MPMS. Sedangkan senyawa MPMS menunjukkan respon nyeri yang lebih besar daripada senyawa asam asetilsalisilat. Sedangkan pada tabel V.6 terlihat bahwa pada dosis 50 mg/kg bb sampai dengan dosis 100 mg/kg bb, urutan senyawa yang memberikan prosentase hambatan nyeri dari yang tertinggi adalah senyawa asam asetilsalisilat, APMS dan MPMS. Sedangkan pada dosis 200 mg/kg bb, urutan senyawa yang memberikan prosentase hambatan nyeri dari yang tertinggi adalah senyawa MPMS, asam asetilsalisilat dan APMS. Hal ini dapat terlihat pada gambar histogram. Pada

profil aktivitas hambatan nyeri nampak bahwa senyawa asam asetilsalisilat lebih aktif dibandingkan senyawa MPMS dan senyawa APMS, tetapi untuk menentukan manakah senyawa yang digunakan sebagai parameter adalah nilai ED_{50} .

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan prosentase hambatan nyeri yang bermakna antara tiga senyawa: APMS, MPMS dan asam asetilsalisilat, maka dilakukan uji ANOVA pada dosis yang sama. Hasil ANOVA prosentase hambatan nyeri dari ketiga senyawa (lampiran 3), menunjukkan bahwa aktivitas analgesik senyawa APMS dan MPMS tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan asam asetilsalisilat.

Setelah diketahui prosentase hambatan nyeri pada berbagai dosis untuk tiap senyawa, selanjutnya dilakukan penentuan ED_{50} hambatan nyeri, yang dihitung berdasarkan data log dosis dan prosentase hambatan pada tabel V.7 dengan analisis regresi log x (lampiran 4, 5, dan 6). Berdasarkan hasil penentuan ED_{50} aktivitas analgesik, senyawa APMS mempunyai ED_{50} sebesar 93,65 mg/kg (0,53 mmol/kg), senyawa MPMS mempunyai ED_{50} sebesar 92,76 mg/kg (0,48 mmol/kg) dan senyawa asam asetilsalisilat mempunyai ED_{50} sebesar 82,49 mg/ kg (0,46 mmol/kg). Aktivitas analgesik senyawa APMS dan MPMS yang ditentukan dengan metode hambatan nyeri terinduksi asam asetat ini secara statistik tidak berbeda secara bermakna dengan asam asetilsalisilat. Berdasarkan hal tersebut, maka kedua senyawa ini dapat dinyatakan aktif sebagai senyawa analgesik sehingga bisa dikembangkan lebih lanjut sebagai calon obat kelompok AINS.

Senyawa MPMS merupakan bentuk ester dari senyawa APMS. Senyawa ester yang digunakan untuk obat pada umumnya ditujukan untuk meningkatkan sifat absorpsi atau distribusi dari obat (Siswandono dan Soekardjo, 1998). Diharapkan aktivitas analgesik senyawa MPMS lebih besar daripada senyawa APMS karena peningkatan sifat absorpsi atau distribusi pada tempat kerja akibat adanya gugus metil yang dapat meningkatkan lipofilisitas senyawa MPMS. Parameter lipofilik merupakan parameter yang berpengaruh pada proses penembusan membran biologis oleh molekul senyawa organik (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Pada umumnya, membran biologis mempunyai struktur lipoprotein yang bertindak sebagai membran semipermeabel. Sifat lipofilik

mempengaruhi laju lintas obat melewati membran (Shargel, 1988). Parameter lipofilik yang biasa digunakan dalam studi hubungan kuantitatif struktur aktivitas yaitu logaritma koefisien partisi ($\log p$), tetapan fragmentasi f , tetapan kromatografi R_m dan tetapan π Hansh (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Berdasarkan harga $\log p$ dari sistem Viswanadhan's fragmentation (1989) senyawa APMS mempunyai mempunyai harga $\log p = 1,90$ dan senyawa MPMS mempunyai harga $\log p = 1,93$ sedangkan senyawa asam asetilsalisilat mempunyai harga $\log p = 1,24$. Berdasarkan harga $\log p$ tersebut, senyawa MPMS bersifat sedikit lebih lipofilik dibandingkan dengan senyawa APMS, sedangkan berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa aktivitas analgesik senyawa MPMS tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan senyawa APMS. Hal ini diduga karena perbedaan harga lipofilisitas kedua senyawa tersebut tidak terlalu besar sehingga pengaruhnya terhadap perbedaan aktivitas analgesiknya kecil. Disamping itu, aktivitas analgesik juga dipengaruhi oleh sifat-sifat lain terutama efek sterik. Aktivitas senyawa analgesik beberapa turunan asam salisilat disamping dipengaruhi oleh sifat lipofilik, juga dipengaruhi oleh sifat steriknya. Pengaruh sterik senyawa terhadap aktivitas terutama yang berhubungan dengan interaksinya dengan reseptor (Sardjoko, 1993) dan dari hasil penelitian setiawati (1998) sifat kimia fisika yang paling berpengaruh terhadap aktivitas analgesik senyawa turunan asam salisilat (salisilamida, diflunisal dan asam asetilsalisilat) adalah sifat sterik.

Senyawa analgesik APMS dan MPMS digunakan karena adanya gugus anionik karboksilat yang terdapat dalam sistem biologis di tempat kerja. Mekanisme kerja senyawa golongan AINS adalah dengan menghambat enzim siklooksigenase (prostaglandin sintetase). Jika reseptor senyawa analgesik yang dimaksud adalah enzim siklooksigenase maka perlu diketahui apakah aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh senyawa uji pada hewan coba berhubungan dengan kemampuannya dalam menghambat enzim siklooksigenase.

Pada penelitian ini, pemberian obat ditentukan 30 menit sebelum induksi nyeri dengan harapan pada saat diuji, senyawa sudah terabsorpsi dan bekerja pada tempat kerjanya. Efek senyawa diamati secara langsung pada tempat kerja. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengaruh waktu terhadap absorpsi atau distribusi

senyawa. Untuk mengetahui pengaruh bentuk ester terhadap kecepatan timbulnya efek, maka perlu dilakukan penelitian tentang farmakokinetik senyawa.

Hasil uji aktivitas biologis yang telah dilakukan dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan senyawa APMS dan MPMS sebagai calon obat kelompok AINS. Namun demikian, masih banyak studi yang masih harus dilakukan untuk memperoleh informasi yang lebih lengkap, baik dari aspek farmakodinamik/ farmakologik dan farmakokinetik senyawa.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

- (1) Berdasarkan metode *writhing test*, senyawa asam *p*-metoksisinamat dan senyawa metil *p*-metoksisinamat mempunyai aktivitas analgesik yang dinyatakan dengan ED₅₀.

- ED₅₀ asam *p*-metoksisinamat = 93,65 mg/kg (0,53 mmol/kg)
- ED₅₀ metil *p*-metoksisinamat = 92,76 mg/kg (0,48 mmol/kg)
- ED₅₀ asam asetilsalisilat = 82,49 mg/kg (0,46 mmol/kg)

Aktivitas analgesik kedua senyawa tersebut secara molar sebanding dengan asam asetilsalisilat.

- (2) Berdasarkan nilai ED₅₀, potensi analgesik senyawa metil *p*-metoksisinamat tidak berbeda bermakna dengan senyawa asam *p*-metoksisinamat.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disarankan:

- (1) Perlu diteliti tentang absorpsi dan distribusi (sifat farmakokinetik) senyawa.
- (2) Perlu diteliti lebih lanjut kemampuan senyawa dalam menghambat enzim siklooksigenase.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldrich, (2003-2004), **Handbook of Fine Chemicals and Laboratory Equipment**, p.130
- Craig, C.R., Stitzel, R.E, (1990). **Modern Pharmacology**, Little, Brown and Company, Boston, p.562
- Diyah, N.W., Purwanto, B.T., Susilowati, R., (2002). Uji Aktivitas Analgesik Senyawa Asam O- (4-Butilbenzoil) salisilat Hasil Sintesis Pada Mencit, **Lembaga Penelitian Universitas Airlangga**, Surabaya.
- Domer, F.R., (1971). **Animal Aldrich, Handbook of Fine Chemicals and Laboratory Equipment**, th 2003-2004, p.130
- Dipalma, J.R., (1971). **Drill's Pharmacology in Medicine**, 4 th edition. Mc. Graw Hill Book Comp. Ablakiston Publication. Hal. 272 – 276.
- Domer, FR. (1971). **Animal Experimental in Pharmacological analysis**. Charles Thomas Publisher. USA. Hal. 275 – 317.
- Ekowati, J., Astika, G.N., Budiati, T., Siswono, H., Wibowo, H., Syahrani, A., Poerrwono, H., Rudyanto, M., Suzana, Purwanto, B.T., Wahyuningdyah, N., 2004, Transformasi Gugus Fungsi Turunan Asam Hidroksisinamat Dalam Usaha Sintesis Senyawa Analgetika Baru, **Laporan Penelitian Project Grant**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ekowati, J., Budiati, T., Suzana, (2003), Pengaruh Gugus Metoksi Pada Sintesis Turunan Sinamat yang Berfungsi Insektisida Melalui Reaksi Konevenagel, **Lembaga Penelitian Universitas Airlangga**.
- Ekasari, W., Prajogo, B., Widyawaruyawanti, A., Rahman, A., Sukardiman., (1998). Uji analgetika Daun Pronojiwo (*Pachystachys coccinea*) Dengan Metode Writhing Test, **Lembaga Penelitian Universitas Airlangga**, Hal. 1-4.
- Gan, S., (1995). **Farmakologi dan Terapi**, Edisi keempat, Bagian Farmakologi fakultas Kedokteran Universitas Inadonesia, Jakarta.
- Gringauz, A., (1997). **Introduction to Medicinal Chemistry How Drugs Act and Why**. Willey-VCH, p. 141-167.

- Haniastuti,T, (2002). Pengaruh Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Terhadap Aktivitas Fagositosis Dan Sintesis Prostaglandin E₂ Sel Makrofag Mencit In Vitro. **Panduan Seminar Nasional Hasil Penelitian Dasar Perguruan Tinggi.**
- Irawati, N., (2001). Sintesis Oktil *p*-Metoksisinamat Sebagai Senyawa Tabir Surya Secara Transesterifikasi Dengan Material awal Etil *p*-Metoksisinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L), **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Kresnamukti A, (2002) Khasiat Analgetika Ekstrak Daun Psidium Guajava L Pada Mencit Dengan Metode Writhing Test, **Jurnal obat Bahan Alam**, Vol. 1, No.1, p. 26-30.
- Lien, E.J., (1978). **SAR : Side Effect and Drug Design**, Marcel Dekker Inc., Newyork, p. 451-452.
- Linneberry, C.G., (1981). **Laboratory Animal in Pain Research**, Academic Press, Inc., U.S.A., p. 243-248.
- Mariana, Y., (2001). Sintesis Isoamil *p*-Metoksisinamat Sebagai Senyawa Tabirsurya Melalui Reaksi Transesterifikasi Dengan Bahan Baku Etil *p*-Metoksisinamat Hasil Isolasi Dari *Kaempferia galanga* L, **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Mulja, H.S., (1997). Metabolisme Metabolit Sekunder Tumbuhan Obat Indonesia Pada Kultur Sel Hepatosit Tikus Terisolasi, **Laporan Penelitian Lemnit Universitas Airlangga.**
- Neal, M.J., (1992). **Medical Pharmacology at Glance**, 2 nd ed., Blackwell Scientific Publications, p. 70.
- Purwanto, B.T., dan Sondakh, R., (1998). **Metabolisme dan Rancangan Obat** dalam Siswandono dan Soekardjo B, (1998). Prinsip-prinsip Rancangan Obat, Airlangga University Press, Surabaya, p. 235-300
- Ramdan, S.R.K., (2003). Pengaruh Perbandingan katalis Piridina-Piperidina Terhadap Persentase Hasil Pada Sintesis Asam 4-hidroksi-3-metoksisinamat melalui Raksi Knoevenagel, **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

- Sadono, (2001). Bioavailabilitas Etil *Para* Metoksisinamat (EPMS) Dalam Perasan impang Kencur Segar Pada Hewan Coba Kelinci, **Tesis**, Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Hal 89.
- Setiawati L, (1998). Studi Hubungan Kuantitatif Sifat Kimia Fisika (Lipofilik, Elektronik, Sterik) dengan Analgetika dari Turunan Asam Salisilat Pada Mencit, **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Siswandono, Soekardjo B, (1995). **Kimia Medisinal**, Airlangga University Press, Surabaya, p. 531-541
- Studiawan H, (1995). Studi Khasiat Analgetika Rimpang Beberapa Tanaman Suku Zingiberaceae Dengan Metode Geliat Dan Profil Kandungannya Secara Densitometri, **Lembaga Penelitian Universitas Airlangga**, Surabaya, p. 44 – 49.
- Tjay TH, Rahardja K, (1978). **Obat – obat Penting**, edisi ketiga, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Hal. 200-203.
- Triwindono, Tjen, K.J., Endang, L., 1994. Uji efek analgesik etil *p*-metoksisinamat yang diisolasi dari rimpang kencur pada mencit dengan metode geliat, **SN VI TOI**, BP, Pokjanas TOI-UNPAD, Hal. 43.
- Turner, RA. (1965). **Screening Method in Pharmacology**. Vol. I. Academic press. New York. p. 100 – 117.
- Turnip, S.U., (1998). Studi Hubungan Antara Nilai Tetapan Kromatografi Rm Dengan Aktivitas Analgesik Dari Turunan Asam N-arilantranilat Pada Mencit Putih (*Mus musculus*), **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Vogel, A.I., (1968), **A text Book of Practical Organic Chemistry Including Qualitative Organic Analysis**, ^{3rd} edition, Longman, London, p. 706-711
- Wijayanti, Y., (2001). Sintesis 2-etil heksil *p*-metoksisinamat Melalui reaksi transesterifikasi Dengan material Awal *Kaempferia galanga* L, **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Lampiran 1

Perhitungan Prosentase Hambatan Nyeri

$$\% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(\sum \text{Respon nyeri kelompok uji})}{(\sum \text{Respon nyeri kelompok kontrol})} \times 100 \right\}$$

Senyawa APMS

$$\text{Dosis 50 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(85,5)}{(126,1)} \times 100 \right\} = 31,96$$

$$\text{Dosis 100 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(60,2)}{(126,1)} \times 100 \right\} = 52,23$$

$$\text{Dosis 200 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(60,2)}{(126,1)} \times 100 \right\} = 71,05$$

Senyawa MPMS

$$\text{Dosis 50 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(72,8)}{(101,9)} \times 100 \right\} = 28,56$$

$$\text{Dosis 100 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(46,2)}{(101,9)} \times 100 \right\} = 54,66$$

$$\text{Dosis 200 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(26,8)}{(101,9)} \times 100 \right\} = 73,70$$

Senyawa Asam asetilsalisilat

$$\text{Dosis 50 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(61,3)}{(91,4)} \times 100 \right\} = 32,93$$

$$\text{Dosis 100 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(38,1)}{(91,4)} \times 100 \right\} = 58,32$$

$$\text{Dosis 200 mg : } \% \text{ Hambatan} = 100 - \left\{ \frac{(24,6)}{(91,4)} \times 100 \right\} = 73,09$$

Lampiran 2

Hasil Uji ANOVA Frekuensi Konstriksi Abdominal antar Kelompok Perlakuan

a. Kelompok Dosis Untuk Senyawa Uji APMS

ANOVA

APMS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44106.500	3	14702.167	211.154	.000
Within Groups	2506.600	36	69.628		
Total	46613.100	39			

b. Kelompok Kelompok Dosis Untuk Senyawa Uji APMS

ANOVA

MPMS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31973.075	3	10657.692	135.589	.000
Within Groups	2829.700	36	78.603		
Total	34802.775	39			

c. Kelompok Dosis Untuk Senyawa Uji Asam asetilsalisilat intraperitoneal.

ANOVA

Asam asetilsalisilat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25691.300	3	8563.767	80.457	.000
Within Groups	3831.800	36	106.439		
Total	29523.100	39			

Lampiran 3

Hasil Uji Anova Senyawa APMS, MPMS dan Asam asetilsalisilat Berdasarkan Prosentase Hambatan Nyeri.

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
DOSIS	50.00		30
	100.00		30
	200.00		30
OBAT	1	apms	30
	2	mpms	30
	3	aspirin	30

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HAMBATAN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28229.844 ^a	8	3528.731	143.207	.000
Intercept	249628.413	1	249628.413	10130.717	.000
DOSIS	27903.865	2	13951.933	566.214	.000
OBAT	52.843	2	26.422	1.072	.347
DOSIS * OBAT	273.136	4	68.284	2.771	.033
Error	1995.900	81	24.641		
Total	279854.158	90			
Corrected Total	30225.745	89			

a. R Squared = .934 (Adjusted R Squared = .927)

Post Hoc Tests

DOSIS

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HAMBATAN

LSD

(I) DOSIS	(J) DOSIS	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50.00	100.00	-25.4590*	1.2817	.000	-28.0092	-22.9088
	200.00	-42.8803*	1.2817	.000	-45.4305	-40.3302
100.00	50.00	25.4590*	1.2817	.000	22.9088	28.0092
	200.00	-17.4213*	1.2817	.000	-19.9715	-14.8712
200.00	50.00	42.8803*	1.2817	.000	40.3302	45.4305
	100.00	17.4213*	1.2817	.000	14.8712	19.9715

Based on observed means.

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

OBAT

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HAMBATAN

LSD

(I) OBAT	(J) OBAT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
apms	mpms	-.5713	1.2817	.657	-3.1215	1.9788
	aspirin	-1.8340	1.2817	.156	-4.3842	.7162
mpms	apms	.5713	1.2817	.657	-1.9788	3.1215
	aspirin	-1.2627	1.2817	.327	-3.8128	1.2875
aspirin	apms	1.8340	1.2817	.156	-.7162	4.3842
	mpms	1.2627	1.2817	.327	-1.2875	3.8128

Based on observed means.

Lampiran 4

Hasil Penentuan ED₅₀ Senyawa APMS Dengan Analisis Regresi Log x

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: Hambatan APMS

Independent variable: Log Dosis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-78.9636	5.18014	-15.2435	0.0000
Slope	65.4136	2.57073	25.4455	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	7753.53	1	7753.53	647.47	0.0000
Residual	335.301	28	11.975		
Total (Corr.)	8088.83	29			

Correlation Coefficient = 0.979054

R-squared = 95.8548 percent

Standard Error of Est. = 3.4605

The StatAdvisor

The output shows the results of fitting a linear model to describe the relationship between Hambatan APMS and Log Dosis. The equation of the fitted model is

$$\text{Hambatan APMS} = -78.9636 + 65.4136 \cdot \text{Log Dosis}$$

Lampiran 5

Hasil Penentuan ED₅₀ Senyawa MPMS Dengan Analisis Regresi Log x

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: Hambatan MPMS

Independent variable: Log Dosis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-96.864	4.65639	-20.8024	0.0000
Slope	74.6495	2.31081	32.3044	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	10097.6	1	10097.6	1043.58	0.0000
Residual	270.926	28	9.67593		
Total (Corr.)	10368.5	29			

Correlation Coefficient = 0.986849

R-squared = 97.387 percent

Standard Error of Est. = 3.11062

The StatAdvisor

The output shows the results of fitting a linear model to describe the relationship between Hambatan MPMS and Log Dosis. The equation of the fitted model is

$$\text{Hambatan MPMS} = -96.864 + 74.6495 \cdot \text{Log Dosis}$$

Lampiran 6

Hasil Penentuan ED₅₀ Senyawa Asam asetilsalisilat Dengan Analisis Regresi Log x

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: Hambatan asp

Independent variable: Log Dosis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-81.644	13.8389	-5.89961	0.0000
Slope	68.6944	6.86779	10.0024	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	8550.77	1	8550.77	100.05	0.0000
Residual	2393.07	28	85.4667		
Total (Corr.)	10943.8	29			

Correlation Coefficient = 0.88393

R-squared = 78.1332 percent

Standard Error of Est. = 9.24482

The StatAdvisor

The output shows the results of fitting a linear model to describe the relationship between Hambatan asp and Log Dosis. The equation of the fitted model is

$$\text{Hambatan asp} = -81.644 + 68.6944 \cdot \text{Log Dosis}$$

Lampiran 7



Gambar : Cara penyuntikan secara intraperitoneal

Lampiran 8

TABEL F

n	$m = 1$	$m = 2$	$m = 3$	$m = 4$	$m = 5$	$m = 6$	$m = 7$	$m = 8$	$m = 9$
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
32	4.15	3.30	2.90	2.67	2.51	2.40	2.31	2.24	2.19
34	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.29	2.23	2.17
36	4.11	3.26	2.87	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15
38	4.10	3.24	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
70	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2.00
90	3.95	3.10	2.71	2.47	2.32	2.20	2.11	2.04	1.99
100	3.94	3.09	2.70	2.46	2.31	2.19	2.10	2.03	1.97
150	3.90	3.06	2.66	2.43	2.27	2.16	2.07	2.00	1.94
200	3.89	3.04	2.65	2.42	2.26	2.14	2.06	1.98	1.93
1000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.11	2.02	1.95	1.89
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

Dikutip dari: Kreyszig, E., 1970, *Introductory Mathematical Statistics principles and Methods*, Joh wiley and Sons, Inc, Newyork.

Lampiran 9

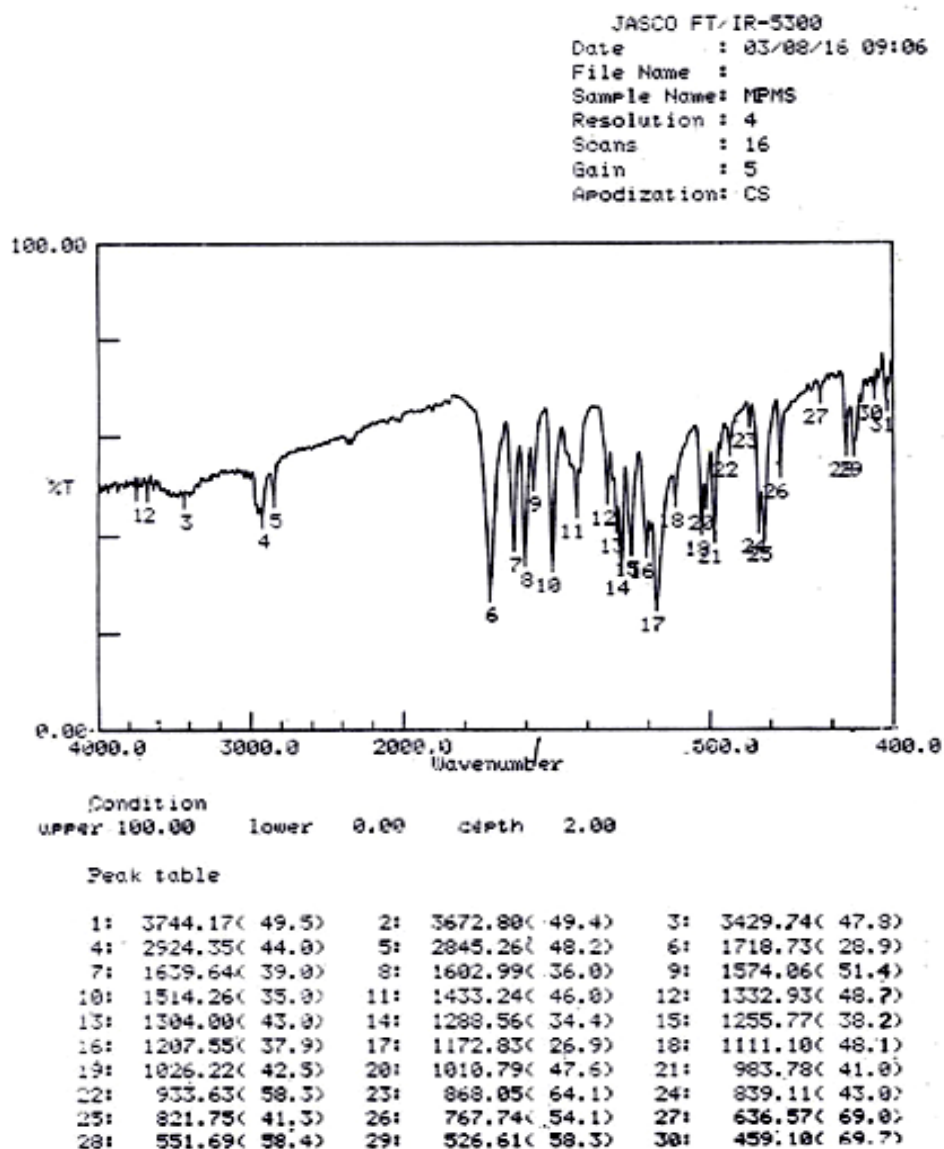
TABEL r

db galat	P	Peubah bebas				db galat	P	Peubah bebas			
		1	2	3	4			1	2	3	4
1	.05 .01	.997 1.000	.999 1.000	.999 1.000	.999 1.000	24	.05 .01	.388 .496	.470 .565	.523 .609	.562 .642
2	.05 .01	.950 .990	.975 .995	.983 .997	.987 .998	25	.05 .01	.381 .487	.462 .555	.514 .600	.553 .633
3	.05 .01	.878 .959	.930 .976	.950 .983	.961 .987	26	.05 .01	.374 .478	.454 .546	.506 .590	.545 .624
4	.05 .01	.811 .917	.881 .949	.912 .962	.930 .970	27	.05 .01	.367 .470	.446 .538	.498 .582	.536 .615
5	.05 .01	.754 .874	.836 .917	.874 .937	.898 .949	28	.05 .01	.361 .463	.439 .530	.490 .573	.529 .606
6	.05 .01	.707 .834	.795 .886	.839 .911	.867 .927	29	.05 .01	.355 .456	.432 .522	.482 .565	.521 .598
7	.05 .01	.666 .798	.758 .855	.807 .885	.838 .904	30	.05 .01	.349 .449	.426 .514	.476 .558	.514 .591
8	.05 .01	.632 .765	.726 .827	.777 .860	.811 .882	35	.05 .01	.325 .418	.397 .481	.445 .523	.482 .556
9	.05 .01	.602 .735	.697 .800	.750 .836	.786 .861	40	.05 .01	.304 .393	.373 .454	.419 .494	.455 .526
10	.05 .01	.576 .708	.671 .776	.726 .814	.763 .840	45	.05 .01	.288 .372	.353 .430	.397 .470	.432 .501
11	.05 .01	.553 .684	.648 .753	.703 .793	.741 .821	50	.05 .01	.273 .354	.336 .410	.379 .449	.412 .479
12	.05 .01	.532 .661	.627 .732	.683 .773	.722 .802	60	.05 .01	.250 .325	.308 .377	.348 .414	.380 .442
13	.05 .01	.514 .641	.608 .712	.664 .755	.703 .785	70	.05 .01	.232 .302	.286 .351	.324 .386	.354 .413
14	.05 .01	.497 .623	.590 .694	.646 .737	.686 .768	80	.05 .01	.217 .283	.269 .330	.304 .362	.332 .389
15	.05 .01	.482 .606	.574 .677	.630 .721	.670 .752	90	.05 .01	.205 .267	.254 .312	.288 .343	.315 .368
16	.05 .01	.468 .590	.559 .662	.615 .706	.655 .738	100	.05 .01	.195 .254	.241 .297	.274 .327	.300 .351
17	.05 .01	.456 .575	.545 .647	.601 .691	.641 .724	125	.05 .01	.174 .228	.216 .266	.246 .294	.269 .316
18	.05 .01	.444 .561	.532 .633	.587 .678	.628 .710	150	.05 .01	.159 .208	.198 .244	.225 .270	.247 .290
19	.05 .01	.433 .549	.520 .620	.575 .665	.615 .698	200	.05 .01	.138 .181	.172 .212	.196 .234	.215 .253
20	.05 .01	.423 .537	.509 .608	.563 .652	.604 .685	300	.05 .01	.113 .148	.141 .174	.160 .192	.176 .208
21	.05 .01	.413 .526	.498 .596	.522 .641	.592 .674	400	.05 .01	.098 .128	.122 .151	.139 .167	.153 .180
22	.05 .01	.404 .515	.488 .585	.542 .630	.582 .663	500	.05 .01	.088 .115	.109 .135	.124 .150	.137 .162
23	.05 .01	.396 .505	.479 .574	.532 .619	.572 .652	1,000	.05 .01	.062 .081	.077 .096	.088 .106	.097 .115

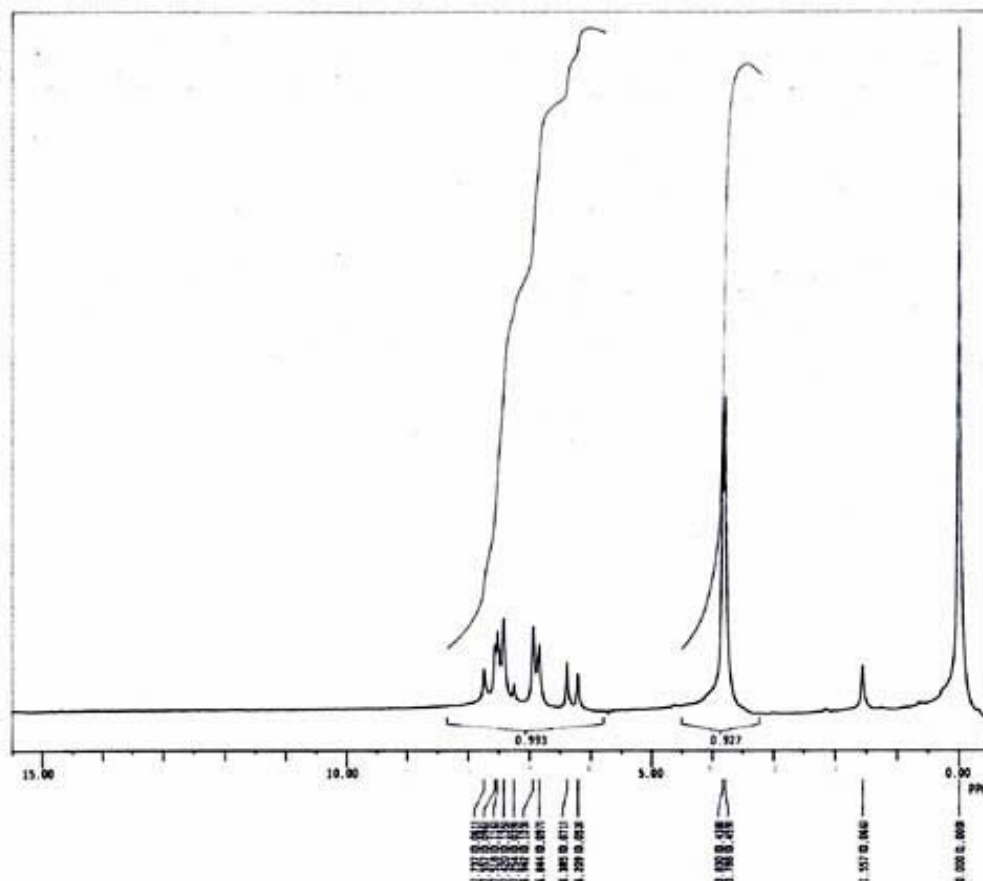
Sumber: Dikutip dari G.W. Snedecor, Statistical Methods, edisi ke-4, The Iowa State College Press, Ames, Iowa, 1946, atas izin pengarang dan penerbit.

Lampiran 10

Spektrum IR Metil *p*-metoksisinamat
Pembawa: pellet KBr kering



*) Ekowati, J., dkk, 2004, Transformasi Gugus Fungsi Turunan Asam Hidroksisinamat Dalam Usaha Sintesis Senyawa Analgetika Baru, *Laporan Penelitian Project Grant*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

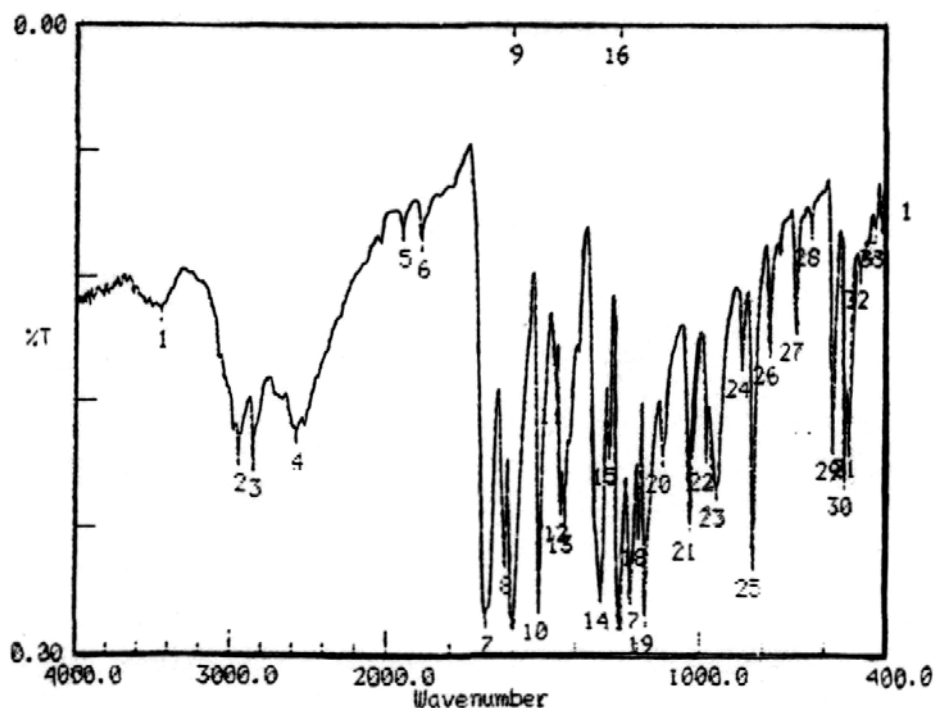
Lampiran 11Spektrum ^1H -NMR Metil *p*-metoksisinamat ^{*)}

^{*)} Ekowati, J, dkk, 2004, Transformasi Gugus Fungsi Turunan Asam Hidroksisinamat Dalam Usaha Sintesis Senyawa Analgetika Baru, *Laporan Penelitian Project Grant*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

Lampiran 12

Spektrum IR Asam *p*-metoksisinamat *)

Pembawa: pellet KBr kering



Condition
upper 100.00 lower 0.00 depth 2.00

Peak table

1: 3441.32(54.6)	2: 2937.85(32.0)	3: 2843.33(31.0)
4: 2567.49(35.4)	5: 1948.28(67.8)	6: 1888.48(66.0)
7: 1685.94(6.2)	8: 1624.21(15.9)	9: 1599.17(7.9)
10: 1512.33(8.5)	11: 1458.32(42.7)	12: 1444.31(24.0)
13: 1429.38(22.4)	14: 1315.57(10.3)	15: 1288.56(33.0)
16: 1255.77(3.6)	17: 1217.19(10.0)	18: 1192.12(20.3)
19: 1172.83(6.5)	20: 1114.96(32.0)	21: 1028.15(21.4)
22: 976.07(32.3)	23: 943.28(26.6)	24: 862.26(47.0)
25: 827.54(15.5)	26: 773.52(49.2)	27: 686.72(53.0)
28: 638.50(68.0)	29: 567.12(34.2)	30: 528.54(28.6)

*) Ekowati, J, 2003, Pengaruh Gugus Metoksi Pada Sintesis Turunan Sinamat Yang Berfungsi Insektisida Melalui Reaksi Knoevenagel, *Lembaga Penelitian Universitas Airlangga*, Surabaya.

