

SKRIPSI

DWI INDRA PRAMITASARI

SINTESIS 4-METILBENZOILTIOUREA DAN UJI AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)

F^o 132/06

11a

S



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2005**

Lembar Pengesahan

**SINTESIS 4-METILBENZOILTIOUREA DAN UJI
AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT PADA
MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga


2005

Oleh :

DWI INDRA PRAMITASARI
NIM. 050110068 E

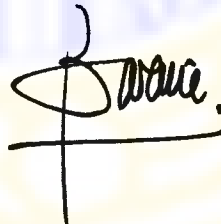
**Skripsi ini telah disetujui
tanggal 6 September 2005 oleh :**

Pembimbing Utama



Prof. Dr. SISWANDONO, MS., Apt.
NIP. 130 809 079

Pembimbing Serta



Drs. BAMBANG TRI PURWANTO, MS., Apt.
NIP. 131 470 996

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillahirobbil`aalamin. Segala puji hanya bagi Allah SWT, Rabb semesta alam atas segala limpahan karunia nikmat, ridho dan pertolongan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Sintesis 4-metil benzoiltiourea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat Pada Mencit (*Mus musculus*)** yang diajukan sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, baik berupa dorongan moral maupun material serta tenaga dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya kepada:

1. Bapak Dr. Siswandono MS., Apt selaku pembimbing utama dan bapak Drs. Bambang Tri Purwanto MS., Apt selaku pembimbing serta atas segala perhatian, bimbingan dan masukan selama penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Drs. Soebahagiono MS., dan ibu Juni Ekowati MS., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan untuk perbaikan skripsi ini.
3. Bapak Ketua Jurusan Kimia Farmasi dan bapak Kepala Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam penelitian
4. Bapak Drs. Suko Hardjono, MS, selaku dosen wali atas bimbingan dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis.
5. Bapak dan Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bimbingan yang telah diberikan selama penulis melaksanakan studi.
6. Ibu tercinta atas doa, limpahan kasih sayang, dorongan semangat perhatian dan pengorbanan yang senantiasa menyertai langkah penulis.
7. Saudara-saudaraku tercinta, Mas Yane, dan Mbak Wayan, semoga kita selalu bersama menggapai cahaya-Nya.

8. Mas Dedi tercinta atas doa, limpahan kasih sayang, dorongan semangat perhatian dan pengorbanan yang senantiasa menyertai langkah penulis.
9. Pak Tukijo, dan mas Tanto di Lab. Kimia Medisinal, pak Yanto di Lab. Sintesis dan pak Pardi di Lab. Hewan.
10. Teman-teman seperjuangan Adek, Dian, Ranti, Agnes, Susi, dan Erna, terima kasih atas kerjasama, dorongan dan semangat yang diberikan.
11. Ridha, dan Kakak, terima kasih atas doa, dorongan dan semangat yang diberikan.
12. Mas Rush, mas Jazk, dan mbak Dini terima kasih atas pertolongan yang diberikan.
13. Teman-teman angkatan '01, teruslah berjuang.
14. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

Kesempurnaan ini hanya milik Allah dan kebenaran itupun datang dari-Nya. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, khususnya pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Surabaya,
Penulis

RINGKASAN

SINTESIS 4-METILBENZOILTIOUREA DAN UJI AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Dwi Indra Pramitasari

Siswandono (2000) telah mensintesis 4-metilbenzoilurea dan dari hasil uji aktivitas penekan sistem saraf pusat (uji potensiasi dengan tiopental) ternyata menunjukkan aktivitas yang lebih besar dibanding senyawa induk (benzoilurea).

Studi lebih lanjut dari pengembangan turunan benzoilurea didapatkan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara sifat lipofilik dan elektronik turunan benzoilurea dengan aktivitas penekan sistem saraf pusat (gangguan koordinasi gerak). (Siswandono, 2000).

Pada hubungan struktur aktivitas senyawa penekan sistem saraf pusat turunan barbiturat, penggantian atom O dengan atom S menyebabkan peningkatan aktivitas, awal kerja lebih cepat dan masa kerja yang lebih singkat. (Siswandono, 2000).

Suzana (2004) telah mensintesis benzoiltiourea dan menguji aktivitas hipnotiknya pada mencit (*Mus musculus*). Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa benzoiltiourea mempunyai aktivitas yang lebih besar dibanding benzoilurea.

Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi lebih lanjut terhadap senyawa benzoiltiourea melalui reaksi asilasi antara salah satu gugus amin pada tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida sehingga didapatkan senyawa 4-metilbenzoiltiourea. Metode yang digunakan adalah metode gabungan antara metode Schotten-Baumann dengan metode pencampuran kering dengan menggunakan pelarut tetrahidrofur. Modifikasi molekul telah dilakukan dengan menambah gugus metil yang memiliki sifat lipofilik yang cukup besar. Penambahan gugus diharapkan dapat menambah kemampuan senyawa dalam penembusan ke dalam membran biologis terutama penembusan pada barrier otak dan meningkatkan interaksi obat dengan reseptor, sehingga dapat meningkatkan aktivitas senyawa dibandingkan dengan senyawa induknya. Pada sintesis senyawa 4-metilbenzoiltiourea dilakukan rekristalisasi dengan menggunakan aseton panas agar didapatkan senyawa yang murni. Hasil rekristalisasi senyawa 4-metilbenzoiltiourea berupa kristal jarum, lempeng tipis, mengkilat, tidak berbau dan berasa pahit. Persentase hasil sintesis yang diperoleh dari penelitian ini adalah 50,26 %.

Kemurnian senyawa 4-metilbenzoiltiourea hasil sintesis diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis dan penentuan titik lebur. Hasil uji menunjukkan adanya noda tunggal dengan tiga macam fase gerak pada lempeng Kromatografi Lapis Tipis, dan selisih titik lebur yang rendah (1°C) yaitu antara $181-182^{\circ}\text{C}$. Hal ini berarti bahwa senyawa hasil sintesis relatif murni.

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet (UV-Vis), spektrofotometer infra merah (FT-IR) dan spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$). Dari ketiga spektrum yang dihasilkan oleh ketiga alat tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah 4-metilbenzoiltiourea

ABSTRACT

Synthesis of 4-methylbenzoylthiourea and test CNS depressant activity in mice

The synthesis of 4-methylbenzoylthiourea had been done by reacting 4-methyl chloride with thiourea in tetrahydrofurane. The procedure used combination method of Schotten-Baumann and dry interference. This procedure yield 50,26 %. The purity was analyzed by melting point test and thin layer chromatography. The structure was determined by ¹H-NMR.

This compound was tested for CNS depressant activity in mice with sleeping time method (potentiation activity to thiopental). It is showed potentiation activity represented by the increase of sleeping time to thiopental. The 4-methylbenzoylthiourea has potentiation activity to thiopental that bigger than the control compound benzoylthiourea

Keyword : 4-Metylbenzoylthiourea, synthesis, CNS depressant activity.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Efek Penekan Sistem Saraf Pusat	6
2.2 Tinjauan Tentang Obat Penekan Sistem Saraf Pusat	8
2.2.1 Turunan Barbiturat	9
2.2.2 Turunan Benzodiazepin	10
2.2.3 Turunan Ureida Asiklik	10
2.2.4 Turunan Alkohol	10
2.2.5 Turunan Piperidindion dan Kuinazolon	10
2.2.6 Turunan Aldehid	11
2.3 Tinjauan Tentang Reaksi Asilasi	11
2.4 Tinjauan Tentang Sintesis Turunan Benzoiltiourea	12
2.5 Tinjauan Tentang Metode Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	13

2.5.1 Pengukuran Waktu Mulai Tidur dan Lama Tidur.....	13
2.5.2 Dengan Kandang Aktivitas	13
2.5.3 Efek Potensiasi dengan Obat Penekan Sistem Saraf Pusat	14
2.5.4 Metode Batang Putar	14
2.6 Tinjauan Tentang Identifikasi Struktur	14
2.6.1 Identifikasi Analit dan Spektrofotometer UV-Vis	14
2.6.2 Identifikasi dan Karakterisasi Struktur dengan FT-IR	15
2.6.3 Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Resonansi Magnet Inti	15
2.6.3.1 Spektroskopi ¹ H-Resonansi Magnet Inti	15
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	16
3.2 Bagan Alur Berfikir	18
BAB IV BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan Penelitian	19
4.1.1 Bahan Kimia	19
4.1.2 Hewan Coba.....	19
4.2 Alat Penelitian.....	19
4.3 Metode Penelitian	20
4.3.1 Analisis Kualitatif	20
4.3.1.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	20
4.3.1.2 Pemeriksaan Kemurnian Bahan.....	20
4.3.2 Prosedur Sintesis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea.....	20
4.3.3 Analisis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea	21
4.3.3.1 Analisis Dengan Kromatografi Lapis Tipis	21
4.3.3.2 Identifikasi Struktur Senyawa 4-metilbenzoiltiourea	21
1. Analisis Dengan Spektrofotometer UV	21
2. Analisis Dengan Spektrofotometer IR	22

3.	Analisis Dengan Spektrometer Resonansi	
	Magnet Inti	22
4.3.4	Penentuan Waktu Aktivitas Puncak	22
4.3.5	Prosedur Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	22
	4.3.5.1 Pembuatan Sediaan Suspensi	
	4-metilbenzoiltiourea.....	22
	4.3.5.2 Pembuatan Sediaan Suspensi Benzoiltiourea ..	23
	4.3.5.3 Pembuatan Sediaan Tiopental.....	23
	4.3.5.4 Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	24
4.4	Analisis Data	25
	4.4.1 Penentuan Aktivitas Potensiasi	25
BAB V HASIL PENELITIAN		
5.1	Hasil Sintesis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea.....	27
5.2	Analisis Kualitatif 4-metilbenzoiltiourea.....	27
	5.2.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	27
	5.2.2 Penentuan Titik Lebur.....	28
	5.2.3 Analisis Secara Kromatografi Lapis Tipis	28
5.3	Hasil Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis.....	29
	5.3.1 Identifikasi Dengan Spektrofotometer UV-Vis	29
	5.3.2 Identifikasi Dengan Metode Struktur	
	Spektrofotometer FT-IR.....	30
	5.3.3 Identifikasi Dengan Spektrometer ¹ H-NMR.....	31
5.4	Penentuan Waktu Aktivitas Puncak	32
	5.4.1 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea.....	32
	5.4.2 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak	
	4-metilbenzoiltiourea	33
5.5	Uji Potensiasi	35
5.6	Analisis Data	36

BAB VI PEMBAHASAN.....	39
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	43
7.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
Lampiran 1	47
Lampiran 2	48
Lampiran 3	49
Lampiran 4	50
Lampiran 5	51
Lampiran 6	52
Lampiran 7	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
V.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea.....	27
V.2 Hasil Pengamatan Titik Lebur Senyawa 4-metilbenzoiltiourea	28
V.3 Nilai Rf Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dan Senyawa pembanding Benzoiltiourea dalam Berbagai Macam Fase gerak	28
V.4 Karakteristik Spektrum Infra Merah Senyawa 4-metilbenzoiltiourea ...	31
V.5 Karakteristik Spektrum ¹ H-NMR Senyawa 4-metilbenzoiltiourea.....	32
V.6 Hasil Pengamatan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea	32
V.7 Hasil Pengamatan Waktu Aktivitas Puncak 4-metilbenzoiltiourea	33
V.8 Hasil Pengamatan Uji Potensiasi 4-metilbenzoiltiourea Dosis 50 mg/kg BB Dan Dosis 100 mg/kg BB.....	35
V.9 Harga Selisih Waktu Rata-Rata Antar Perlakuan	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.1 Struktur Kimia Turunan Barbiturat, Turunan Ureida Asiklik, Bromisovalum, dan Benzoiltiourea, 4-metilbenzoiltiourea	2
3.1 Bagan Alur Berfikir	18
5.1 Spektrum Ultraviolet Senyawa 4-metilbenzoiltiourea	29
5.2 Spektrum Infra merah Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dalam Pelet KBr	30
5.3 Spektrum ¹ H-NMR Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dalam Pelarut Aseton	31
5.4 Kurva Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea	34
5.5 Kurva Waktu Aktivitas Puncak 4-metilbenzoiltiourea	34
5.6 Mencit dalam keadaan normal (posisi tegak).....	38
5.7 Mencit dalm keadaan tidur setelah diberi perlakuan.....	38

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Indonesia, sebagai negara berkembang yang sekarang ini sedang dilanda krisis ekonomi, penyakit stres dan gangguan jiwa semakin meningkat karena semakin kompleksnya permasalahan yang harus dihadapi oleh seluruh masyarakat. Pada umumnya penderita stres dan gangguan jiwa diobati dengan obat-obat penekan sistem saraf pusat (SSP), yaitu obat yang dapat menghambat aktivitas sistem saraf pusat. Oleh karena itu, perlu diusahakan dan dikembangkan suatu obat penekan sistem saraf pusat baru untuk mengatasi masalah tersebut.

Gangguan mental atau gangguan psikiatrik biasanya diobati dengan obat-obat psikiatrik yang pada banyak kasus menyebabkan ketergantungan psikologis maupun fisik dari obat-obat ini. Sebagai contoh obat psikotropik adalah obat penekan sistem saraf pusat seperti turunan barbiturat dan turunan benzodiazepin (Chetley, 1995). Penggunaan obat-obat tersebut kadang-kadang dapat menimbulkan efek samping yang tidak ringan, misalnya mengantuk, perasaan tidak enak waktu bangun dan kelebihan dosis dapat menimbulkan koma atau kematian serta pengobatan jangka panjang menyebabkan toleransi dan ketergantungan fisik, sedangkan aktivitas yang dimiliki obat tersebut belum optimal (Nuhriawangsa, 1997). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dan pengembangan suatu obat penekan sistem saraf pusat baru yang dapat memberikan aktivitas farmakologi optimal dan efek samping minimal.

Aktivitas biologis suatu senyawa dipengaruhi oleh sifat-sifat kimia fisika, yang dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu sifat lipofilik, elektronik dan sterik. Sifat lipofilik mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik terutama mempengaruhi proses interaksi obat-reseptor dan juga mempengaruhi penembusan membran biologis, sedang sifat sterik menentukan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor dalam sel (Purcell dkk, 1972; Hyde, 1975).

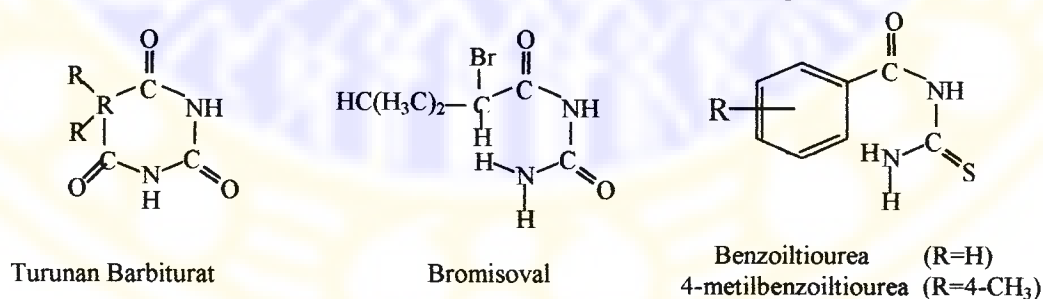
Siswandono (1998) telah melakukan modifikasi struktur urea dengan melakukan sintesis senyawa benzoilurea melalui reaksi asilasi antara salah satu gugus amin primer dari urea dengan gugus benzoil dari turunan benzoilklorida. Senyawa benzoilurea yang dihasilkan merupakan turunan ureida asiklik yang memiliki struktur serupa dengan bromisoval dan turunan barbiturat (ureida siklik) (gambar 1.1). Senyawa ini tidak mengandung brom pada rantai samping alifatis sehingga tidak menimbulkan efek samping bromisme. Dari hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa benzoilurea menunjukkan efek penekan sistem saraf pusat yaitu hipnotik, gangguan koordinasi gerak dan efek potensiasi dengan tiopental (Siswandono, 2003).

Siswandono (2000) juga telah mensintesis 4-metilbenzoilurea dan dari hasil uji aktivitas penekan sistem saraf pusat (uji potensiasi dengan tiopental) ternyata menunjukkan aktivitas yang lebih besar dibanding senyawa induk (benzoilurea).

Studi lebih lanjut dari pengembangan turunan benzoilurea didapatkan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara sifat lipofilik dan elektronik turunan benzoilurea dengan aktivitas penekan sistem saraf pusat (gangguan koordinasi gerak). (Siswandono, 2000).

Pada hubungan struktur aktivitas senyawa penekan sistem saraf pusat turunan barbiturat, penggantian atom O dengan atom S menyebabkan peningkatan aktivitas, awal kerja lebih cepat dan masa kerja yang lebih singkat. (Siswandono, 2000).

Suzana (2004) telah mensintesis benzoiltiourea dan menguji aktivitas hipnotiknya pada mencit (*Mus musculus*). Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa benzoiltiourea mempunyai aktivitas yang lebih besar dibanding benzoilurea.



Gambar 1.1 Struktur Kimia Turunan Barbiturat, Bromisoval, dan Benzoiltiourea, 4-metilbenzoiltiourea

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis 4-metilbenzoiltiourea dengan mereaksikan tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida. Gugus metil merupakan gugus yang mempunyai sifat lipofilik (π^+) cukup besar yang penting untuk meningkatkan penembusan senyawa ke dalam membran biologis terutama dalam penembusan senyawa melalui barier otak menuju sistem saraf pusat, selain itu metil merupakan gugus pendorong elektron dengan sifat elektronik (σ^-) yang sedang, yang dapat mempengaruhi proses sintesis dan interaksi obat-reseptor (Susilowati dan Siswandono, 1998).

Rancangan sintesis dalam penelitian ini adalah melakukan reaksi asilasi salah satu gugus amin pada benzoiltiourea dengan 4-metilbenzoil klorida. Ada beberapa metode reaksi asilasi, antara lain metode pencampuran fisik (Reksohadiprodjo, 1981; Tjiptasurasa, 1991), metode Schotten-Baumann dengan menggunakan pelarut tertentu, seperti piridina atau tetrahidrofuran (Mc Murry, 1984; Soekardjo, 1980)

Persentase hasil sintesis dengan metode pencampuran fisik relatif kecil (9-31%) sedang metode Schotten-Baumann semua bahan reaksi harus terlarut dalam pelarut yang digunakan (Mc Murry, 1984; Tjiptasurasa, 1991). Mengingat bahwa tiourea tidak larut dalam pelarut yang di gunakan (tetrahidrofuran), maka dalam modifikasi struktur ini digunakan gabungan kedua metode di atas.

Senyawa hasil sintesis di uji kemurniannya dengan menggunakan penentuan titik lebur dan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan tiga fasa gerak. Identifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV dan spektrofotometer infra merah (IR), dan spektrometer resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$).

Pada penelitian ini uji aktivitas penekan sistem saraf pusat dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dilakukan uji potensiasi dengan turunan barbiturat (tiopental) berupa pengukuran waktu mulai tidur dan lama tidur. Uji potensiasi dipilih karena merupakan uji farmakologis yang sering digunakan untuk mengetahui apakah senyawa bekerja pada sistem saraf pusat.

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

1.2 Permasalahan

Permasalahan yang timbul dari penelitian ini adalah:

- a) Apakah senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida, berapa persentase hasilnya ?
- b) Apakah senyawa 4-metilbenzoiltiourea mempunyai aktivitas pada sistem saraf pusat berupa efek potensiasi terhadap tiopental yang lebih besar dibanding senyawa induk benzoiltiourea ?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian adalah:

- a) Melakukan sintesis senyawa turunan benzoiltiourea yaitu 4-metilbenzoiltiourea.
- b) Membandingkan aktivitas potensiasi dengan tiopental antara senyawa 4-metilbenzoiltiourea dengan senyawa induk benzoiltiourea

1.4 Hipotesis

Berdasarkan permasalahan di atas hipotesis dari penelitian ini adalah:

- a) Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida.
- b) Senyawa 4-metilbenzoiltiourea mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat yang lebih besar daripada senyawa induk benzoiltiourea.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam memberikan data aktivitas 4-metilbenzoiltiourea sebagai penekan sistem saraf pusat dengan uji potensiasi, untuk kemudian dapat dikembangkan lebih lanjut agar aktivitasnya lebih baik daripada senyawa induknya sehingga nantinya setelah melalui uji-uji lebih lanjut dapat digunakan sebagai calon obat sedatif-hipnotik dalam dunia kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Efek Penekan Saraf Pusat

Berdasarkan efek farmakologinya obat penekan sistem saraf dibagi menjadi lima golongan, yaitu anastesi sistemik, sedatif-hipnotik, relaksan pusat, obat penenang dan obat anti kejang (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Semua zat anastesi umum menghambat sistem saraf pusat secara bertahap, mula-mula fungsi yang kompleks akan dihambat dan paling akhir dihambat medula oblongata dimana terletak pusat vasomotor dan pusat pernafasan yang vital. Anastesi sistemik adalah senyawa yang dapat menekan aktivitas fungsional sistem saraf pusat sehingga menyebabkan hilangnya kesadaran, menimbulkan efek analgesik, dan relaksasi otot serta menurunkan aktivitas refleksi. Efek samping yang ditimbulkan dari pemakaian obat anastesi sistemik antara lain delirium, takikardia (kecuali halotan), aritmia jantung, depresi pernafasan, spasma pada bronki dan laring, hipotensi, mual dan rasa pusing sesudah operasi, kadang-kadang ada yang menimbulkan hepatotoksik, nefrotoksik dan bersifat karsinogenik.

Contoh obat penekan sistem saraf pusat yang termasuk golongan sistemik antara lain: enfluran, eter, kloroform, isofluran, metoksifluran, metoksital Na, timal Na, tiopental Na (Ganiswara, 1995; Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Sedatif-hipnotik merupakan golongan obat penekan sistem saraf pusat yang relatif tidak selektif, mulai dari yang ringan yaitu menyebabkan tenang atau kantuk, menidurkan, hingga yang berat (kecuali benzodiazepin) yaitu hilangnya kesadaran, keadaan anastesi, koma dan mati, tergantung pada dosis (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Perbedaan efek farmakologi dari sedatif dan hipnotik terletak pada dosis. Dosis kecil menyebabkan sedasi, dosis yang lebih besar menyebabkan hipnosis, dan dosis yang lebih besar lagi dapat digunakan untuk anastesi bedah (Vida, 1989). Efek samping yang pada umumnya dimiliki oleh obat penekan sistem saraf pusat golongan sedatif-hipnotik adalah mengantuk dan perasaan tidak enak waktu bangun. Kelebihan dosis dapat menimbulkan koma

atau kematian dan pengobatan jangka panjang menyebabkan toleransi dan ketergantungan fisik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Obat hipnotik yang ideal dapat menyebabkan tidur dan bebas dari nyeri tanpa mempengaruhi proses normal lain, memiliki durasi efek cukup untuk tujuan yang diinginkan, dan tidak menimbulkan reaksi sekunder yang tidak diinginkan (Foye, 1995). Contoh obat penekan sistem saraf pusat dari golongan sedatif-hipnotik antara lain adalah: barbital, alobarbital, bromisoval, paraldehid, kloralhidrat.

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

Obat penenang (antipsikotik) juga dikenal dengan nama neuroleptik, mayor tranquilizer atau ataraktik. Berbeda dengan sedatif-hipnotik, obat penenang dapat menghasilkan efek penekan sistem saraf pusat secara selektif yaitu memberikan efek sedasi kuat tanpa menurunkan kesadaran atau menekan pusat vital, meskipun dalam dosis besar (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Ciri terpenting dari obat penenang adalah:

1. Berefek antipsikosis, yaitu berguna mengatasi agresivitas, hiperaktivitas, dan labilitas emosional pada pasien psikosis.
2. Dosis besar tidak menyebabkan koma yang dalam atau anastesia.
3. Dapat menimbulkan gejala ekstrapiramidal yang reversibel atau ireversibel.
4. Tidak ada kecenderungan untuk menimbulkan ketergantungan fisik dan psikis.

Obat penenang memiliki batas keamanan cukup lebar. Efek samping umumnya merupakan perluasan efek farmakodinamiknya. Gejala idiosinkrasi mungkin timbul berupa ikterus, dermatitis dan leukopenia. Reaksi ini disertai dengan eosinofilia dalam darah perifer (Ganiswara, 1995).

Obat anti kejang bekerja secara selektif menekan sistem saraf pusat dan digunakan untuk mengontrol dan mencegah serangan tiba-tiba dari epilepsi tanpa menimbulkan depresi pernafasan. Obat ini bersifat simpatomatik hanya meringankan gejala saja tetapi tidak menyembuhkan sehingga pengobatan epilepsi diberikan untuk seumur hidup. Efek samping yang ditimbulkan oleh obat anti kejang antara lain: kerusakan sumsum tulang, hati dan ginjal, neuropati, gangguan saluran cerna dan alopesia. Beberapa contoh obat anti kejang adalah fenitoin, diazepam, fenobarbital, dan lain lain (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.2 Tinjauan tentang Obat Golongan Sedatif-Hipnotik

Sedatif-hipnotik sebagai salah satu golongan obat penekan sistem saraf pusat mampu menimbulkan depresi dengan jarak dari sedasi ringan, satu kondisi dimana penderita masih terjaga tetapi sifat kegairahannya menurun, sampai tidur. Sifat khas yang disebabkan oleh semua obat sedatif-hipnotik ialah jenis umum aksi depresan pada aksis serebrospinal. Pada pemakaian klinis perbedaannya terletak terutama pada waktu yang diperlukan untuk permulaan depresi dan lamanya obat itu bekerja. Tingkat depresi sebagian besar tergantung pada kekuatan obat yang dipilih, dan cara pemberiannya (Foye, 1995).

Secara umum golongan sedatif-hipnotik bekerja dengan mempengaruhi fungsi pengaktifan retikula, rangsangan pusat tidur dan menghambat fungsi pusat bangun. Berdasarkan struktur kimianya sedatif-hipnotik dibagi menjadi enam kelompok yaitu turunan barbiturat, turunan benzodiazepin, turunan ureida asiklik, turunan alkohol, turunan piperidindion dan kuinazolin dan turunan aldehid (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.2.1 Turunan Barbiturat

Turunan barbiturat merupakan sedatifa yang banyak digunakan secara luas sebelum diketemukannya turunan benzodiazepin (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Turunan barbiturat menimbulkan efek depresi pada pusat serebrospinal. Obat-obat ini menekan aktivitas saraf maupun aktivitas otot kerangka, otot polos, dan otot jantung.

Tergantung pada senyawa, dosis dan cara pemberiannya, barbiturat dapat menimbulkan berbagai tingkat depresi, sedasi, hipnotik atau anastesi (Vida, 1989).

Aksi hipnotik turunan barbiturat adalah mempengaruhi sel saraf dalam pusat psikik otak dan pada pusat tanggapan nyeri. Barbiturat tidak mempunyai efek pada pengendalian motorik, proses otomatis, seperti pernapasan dan sirkulasi atau pada fungsi kelenjar (Foye, 1995).

Berdasarkan masa kerja turunan barbiturat dibagi menjadi empat kelompok, yaitu:

1. Turunan barbiturat dengan masa kerja panjang (6 jam atau lebih), contoh: barbital, mefobarbital, metabarbital dan fenobarbital.
2. Turunan barbiturat dengan masa kerja sedang (3-6 jam), contoh: alobarbital (Dial), amobarbital, aprobarbital dan butobarbital.
3. Turunan barbiturat dengan masa kerja pendek (0,5-3 jam), contoh: siklobarbital, heptabarbital, heksetal, pentobarbital dan sekobarbital (Seconal).
4. Turunan barbiturat dengan masa kerja sangat pendek (kurang dari 0,5 jam), contoh: tiopental, tiamital dan metohexital.

(Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.2.2 Turunan Benzodiazepin

Turunan benzodiazepin merupakan obat pilihan sebagai sedatif-hipnotik karena mempunyai efikasi dan batas keamanan yang lebih besar dibanding turunan sedatif-hipnotik lain. Selain efek sedatif-hipnotik, turunan benzodiazepin mempunyai efek menghilangkan ketegangan (anxiolitik, tanquillizer minor), relaksasi otot dan antikejang. Untuk sedatif digunakan diazepam, oksazepam, medazepam, klorazepat dipotasium dan lorazepam, sedangkan untuk efek hipnotik digunakan flurazepam, nitrazepam, flunitrazepam. Klonazepam digunakan sebagai antikejang (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Efek samping yang umum dari benzodiazepin adalah mengantuk, kelemahan otot, malas dan kadang-kadang dapat terjadi amnesia, hipotensi, penglihatan kabur dan konstipasi. Penggunaan jangka panjang, terutama dalam dosis tinggi dapat menimbulkan ketergantungan fisik dan mental (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.2.3 Turunan Ureida Asiklik

Ureida asiklik merupakan hasil reaksi antara asam monokarboksilat dan turunannya dengan urea. Asilasi urea menghasilkan ureida. Misalnya asetilklorida dan urea membentuk asetilurea. Turunan ureida asiklik digunakan untuk pengobatan kecemasan dan ketegangan saraf yang ringan, bila turunan barbiturat sudah tidak efektif (Siswandono dan Soekardjo, 2000; Vida, 1989).

Contoh senyawa ureida asiklik adalah bromisovalum dan karbromal, kedua senyawa ini dahulu sering digunakan obat penekan sistem saraf pusat karena keamanan pemakaiannya. Penggunaan jangka panjang tidak dianjurkan karena pada in vivo senyawa akan melepaskan ion bromida sehingga menyebabkan hiperbromida (Vida, 1989).

2.2.4 Turunan Alkohol

Alkohol alifatik disamping mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri juga mempunyai efek hipnotik.

Pada dosis sedatif-hipnotik, etanol lebih cepat menimbulkan alkoholisme kronik dan hanya efektif bila digunakan dalam jumlah besar, sehingga penggunaan sebagai sedatif-hipnotik tidak dianjurkan.

Turunan alkohol yang digunakan sebagai hipnotik hanyalah etklorvinol, walaupun pada dosis yang besar senyawa ini menyebabkan ketergantungan fisik. Metanol tidak digunakan sebagai sedatif-hipnotik karena dapat menimbulkan kebutaan (Siswandono dan Soekardjo, 2000; Korolkovas, 1976).

2.2.5 Turunan Piperidindion dan Kuinazolon

Dari segi struktur dan sifat farmakologi turunan piperidindion berhubungan dengan senyawa turunan barbiturat, walaupun memiliki aktivitas sedatif-hipnotik lebih rendah dibanding turunan benzodiazepin dan barbiturat. Sifat relaksasi otot, analgesik dan tranquilizernya rendah dan efek sampingnya hampir sama dengan turunan barbiturat. Contoh senyawa turunan piperidindion adalah metiprilon, glutetimid dan talidomid (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.2.6 Turunan Aldehid

Turunan aldehid mempunyai efek sedatif-hipnotik dengan awal kerja cepat dan waktu paro yang pendek. Contoh senyawa dari turunan ini adalah paraldehida dan kloralhidrat.

Turunan aldehid kurang penting sebagai hipnotika, karena sifat-sifat yang tidak menguntungkan pada penggunaannya, seperti bau dan rasa yang tidak enak dan menimbulkan iritasi lambung serta perasaan mual sehingga walaupun aktivitasnya besar dan relatif aman untuk pengobatan jangka panjang kurang disukai (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.3 Tinjauan Tentang Reaksi Asilasi

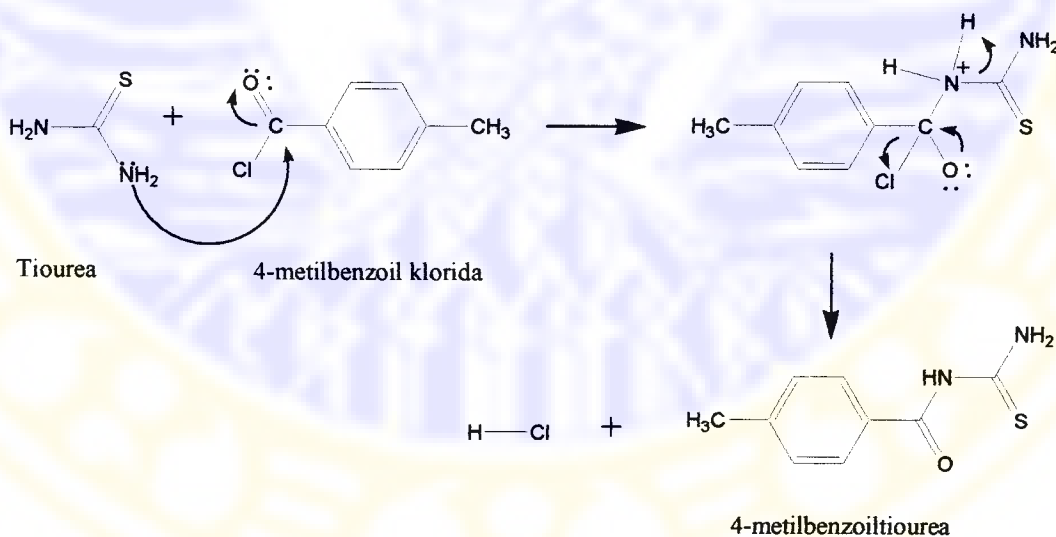
Reaksi asilasi merupakan proses yang menunjukkan pemindahan gugus asil (RCO-) dari satu gugus molekul ke gugus molekul yang lain. Gugus asil yang umum adalah gugus asetil dan gugus benzoil (Solomon, 1996).

Zat pengasilasi bertindak sebagai elektrofil, sedangkan gugus yang diserang adalah atom karbon pada gugus karbonil.

Mekanisme reaksi asilasi terjadi dua tahap :

Reaksi tahap 1

Reaksi tahap 2



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

Tahap kedua adalah penataan kembali elektron-elektron dan diikuti pengusiran gugus pergi yang tergantung pada kebasaan gugus pergi tersebut. Basa yang lemah merupakan gugus pergi yang baik. Adapun urutan kebasaan gugus pergi adalah $\text{Cl}^- < \text{RCOO}^- < \text{OH}^- < \text{RO}^- < \text{NH}_2$

2.4 Tinjauan Tentang Sintesis Turunan Benzoiltiourea

Sintesis turunan benzoiltiourea dilakukan melalui reaksi asilasi antara tiourea dan turunan benzoilklorida yang mengandung substituen-substituen yang mempunyai sifat lipofilik, elektronik, dan sterik yang berbeda-beda, sesuai dengan modifikasi struktur model pendekatan Topliss (Siswandono, 1999). Pada sintesis suatu senyawa, besar gugus dan sifat-sifat gugus, seperti efek halangan ruang dan efek elektronegativitas, dapat mempengaruhi spontanitas reaksi. Hal-hal lain yang dapat mempengaruhi dalam suatu reaksi sintesis adalah kadar dan sifat reaktan, suhu, tekanan, pengadukan dan adanya katalisator (Fessenden dan Fessenden, 1995; Mc Murry, 1984). Turunan benzoilklorida dapat diperoleh dengan mereaksikan turunan asam benzoat dengan tionil klorida (SO_2Cl) atau fosfor triklorida (PCl_3) (Sykes, 1981; Mc Murry, 1984).

Pada umumnya sebagai pelarut digunakan piridina yang bersifat basa, untuk membantu menetralkan HCl yang dibebaskan selama reaksi. Pada reaksi ini jumlah senyawa amin dua kali ekuivalen dari senyawa turunan benzoilklorida. Satu ekuivalen untuk reaksi dengan turunan benzoilklorida sedang satu ekuivalen lagi untuk menetralkan asam klorida (HCl) yang dibebaskan selama reaksi. Cara lain untuk mengatasi masalah diatas untuk menetralkan HCl yang dibebaskan dengan penambahan basa kuat, seperti KOH atau NaOH, dan cara disebut reaksi Schotten-Baumann. Hal tersebut dapat dilakukan bila semua bahan pereaksi terlarut dalam pelarut yang digunakan (Mc Mury, 1984).

Ada beberapa metode reaksi asilasi gugus amin primer dengan turunan benzoilklorida, antara lain metode pencampuran fisik (Reksohadiprodjo, 1981;

Tjiptasurasa, 1991), dan metode Schotten-Baumann dengan menggunakan pelarut tertentu, seperti piridina atau tetrahidrofuran (Mc Murry, 1984; Soekardjo, 1989). Persentase hasil dengan metode pencampuran fisik relatif kecil (9-31%) sedang dengan metode Schoten-Baumann semua bahan pereaksi harus terlarut dalam pelarut yang digunakan (Tjiptasurasa, 1991; Mc Murry, 1984). Mengingat bahwa tiourea tidak larut dalam pelarut yang digunakan (tetrahidrofuran), maka dalam modifikasi struktur benzoiltiourea ini digunakan gabungan kedua metode diatas (Siswandono, 1999).

2.5 Tinjauan Tentang Metode Uji aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

Uji aktivitas penekan sistem saraf pusat biasanya dilakukan pada hewan coba walaupun respon berbagai hewan coba tersebut terhadap uji aktivitas sangat berbeda. Hewan coba yang digunakan harus memberikan aksi obat yang serupa pada manusia, oleh karena itu dipilih hewan coba yang fisiologis timbulnya mendekati manusia. Pada pengujian aktivitas penekan sistem saraf pusat, metode yang biasanya digunakan pada hewan pengerat kecil (mencit atau tikus) meliputi penentuan waktu tidur, hilangnya reflek tegak, penampilan pada mesin rotarod, perilaku pada kandang aktivitas dan potensiasi dari obat penekan sistem saraf pusat yang lain (Wolff, 1996).

2.5.1 Pengukuran Waktu Tidur dan Lama Tidur

Skринing farmakologi untuk efek hipnotik berdasarkan atas adanya efek menidurkan atau hilangnya reflek tegak (*righting reflex*) hewan coba, awal waktu hilangnya reflek tegak disebut waktu mulai tidur. Periode waktu sejak hilangnya reflek tegak sampai saat hewan spontan bangkit/bangun kembali pada posisi tegak seperti semula disebut lama waktu tidur. Dicatat waktu mulai tidur dan waktu lama tidur (Vida, 1989).

2.5.2 Dengan Kandang Aktivitas

Uji efek sedasi dapat dilakukan dengan menggunakan kandang aktivitas (*activity cage*) dimana gerak hewan dicatat secara elektronik. Selisih gerak hewan coba yang mengalami perlakuan dengan hewan coba kontrol adalah ukuran efek sedasinya (Foye, 1995).

2.5.3 Efek Potensiasi dengan Obat Penekan Sistem Saraf Pusat Yang Lain

Senyawa dapat memperkuat efek obat penekan sistem saraf pusat, seperti heksobarbital pada dosis subhipnotik, sehingga menyebabkan efek tidur. Metode ini untuk mendeteksi efek hipnotik yang ringan tetapi juga memberikan hasil yang positif terhadap senyawa penekan sistem saraf pusat yang lain, seperti antikejang, analgesik, dan ataratik (Vida, 1989).

2.5.4 Metode batang putar (*rotarod*)

Rangsangan diberikan dalam bentuk putaran batang tempat mencit berpijak, dengan kecepatan putaran tertentu. Respon yang ditunjukkan oleh hewan berupa kemampuan untuk tetap bertahan di batang putar selama periode tertentu, yang merupakan ukuran respons serta efek relatif penekan sistem saraf pusat dari senyawa. Respons yang positif berarti ada gangguan pada koordinasi gerak (Turner, 1965).

2.6 Tinjauan Tentang Identifikasi Struktur

2.6.1 Identifikasi Analit dan spektrofotometer UV-Vis Sebagai Data Pendukung

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

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

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

2.6.2 Identifikasi dan Karakterisasi Struktur dengan FT-IR

Spektrofotometer inframerah merupakan metode yang penting dalam identifikasi struktur karena dapat memberikan informasi tentang gugus-gugus yang terdapat dalam suatu molekul. Identifikasi struktur dengan spektrofotometer inframerah pada umumnya adalah dengan melihat intensitas dan bilangan gelombang (ν) pita serapan dari spektrum yang terbentuk. Spektrum inframerah molekul dihasilkan dari transisi antara tingkat energi getaran yang berlainan. Identifikasi daerah atau kedudukan pita serapan yang khas dari berbagai gugus fungsi dari molekul merupakan dasar penafsiran dari spektrum inframerah (silverstein, 1981; Creswel, 1982; Pavia, 1996).

2.6.3 Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Resonansi Magnet Inti

Resonansi magnet inti adalah metode spektroskopi yang sering kali lebih penting daripada spektroskopi IR untuk identifikasi struktur senyawa organik. Dari banyak unsur yang dipelajari dalam resonansi magnet inti, yang lebih banyak digunakan adalah inti hidrogen (^1H) dan karbon (^{13}C).

2.6.3.1 Spektroskopi ^1H -Resonansi Magnet Inti (^1H -NMR)

Spektroskopi ^1H -Resonansi magnet inti merupakan metode yang penting dalam identifikasi struktur karena dapat memberikan informasi tentang lingkungan kimia dari atom hidrogen, jumlah atom hidrogen dalam setiap lingkungan dan struktur gugus yang berdekatan dengan setiap atom hidrogen dalam molekul. Resonansi magnet inti diakibatkan oleh penyerapan radiasi elektromagnetik oleh proton-proton dalam suatu medan magnet (H_0), yang membalik dari keadaan spin paralel ke antiparalel. Suatu medan magnet molekul imbasan dapat memperisai proton atau meniadakan perisai dan mengakibatkan suatu geseran kimia (δ) dari pita absorpsi. Medan imbasan adalah hasil efek anisotropik dan efek induktif suatu proton yang terperisai akan menyerap diatas medan mendekati TMS rujukan, sedangkan proton yang kurang terperisai akan menyerap dibawah medan (Fessenden and Fessenden, 1986)

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Tuntutan masyarakat akan kebutuhan obat yang bekerja lebih selektif, aman dengan aktivitas yang lebih besar serta toksisitas yang sekecil mungkin semakin besar. Hal ini mendorong penelitian lebih lanjut untuk menemukan, merancang serta mengembangkan obat baru. Usaha pengembangan obat baru yang saat ini banyak dilakukan adalah mengembangkan obat yang telah ada dan sudah diketahui struktur molekul serta aktivitas biologisnya (senyawa penuntun), kemudian dilakukan modifikasi struktur dan menguji aktivitas biologisnya (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Dalam rangka penelitian dan pengembangan suatu obat baru penekan sistem saraf pusat yang dapat memberikan aktivitas farmakologi optimal dan efek samping minimal. Siswandono (1998) telah melakukan sintesis benzoilurea, melalui reaksi asilasi antara salah satu gugus amina primer urea dengan turunan benzoilklorida. Benzoilurea merupakan ureida asiklik yang juga memiliki struktur serupa dengan bromisovalum atau turunan barbiturat sehingga diharapkan mempunyai efek penekan sistem saraf pusat. Turunan ini tidak mengandung brom pada rantai alifatik sehingga tidak menimbulkan efek bromisme.

Studi lebih lanjut dari pengembangan turunan benzoilurea didapatkan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara sifat lipofilik dan elektronik turunan benzoilurea dengan aktivitas penekan sistem saraf pusat (gangguan koordinasi gerak). (Siswandono, 2000).

Pada hubungan struktur aktivitas senyawa penekan sistem saraf pusat turunan barbiturat, penggantian atom O dengan atom S menyebabkan peningkatan aktivitas, awal kerja lebih cepat dan masa kerja yang lebih singkat. (Siswandono, 2000).

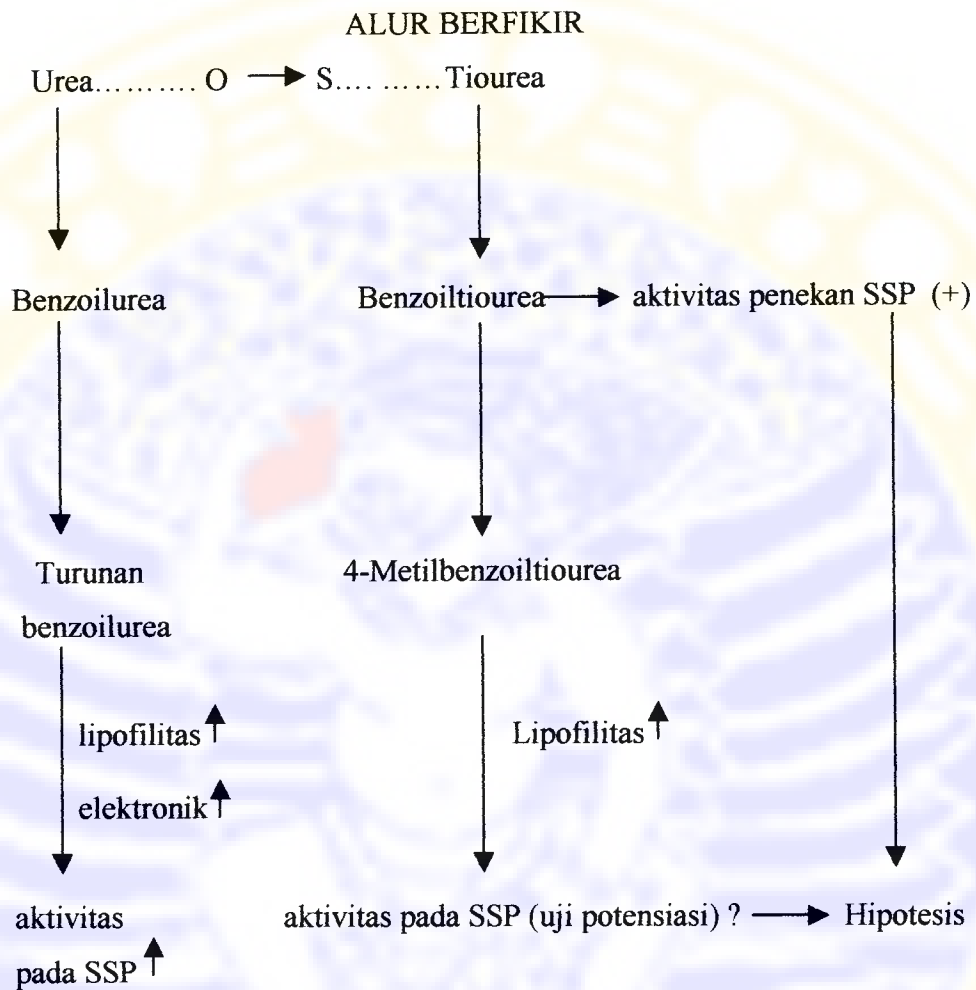
Suzana (2004) telah mensintesis benzoiltiurea dan menguji aktivitas hipnotiknya pada mencit (*Mus musculus*). Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa benzoiltiurea mempunyai aktivitas yang lebih besar dibanding benzoilurea.

Menurut Hansch dan kawan-kawan, aktivitas senyawa penekan sistem saraf pusat dipengaruhi oleh sifat lipofilik dan elektronik, maka usaha untuk mengoptimalkan aktivitas benzoiltiourea dapat dilakukan modifikasi struktur dengan mensintesis turunan benzoiltiourea yang mengandung 4-metil, sehingga diharapkan terjadi peningkatan lipofilitas maka penembusan senyawa ke dalam membran biologis meningkat dan jumlah senyawa yang akan berinteraksi dengan reseptor lebih besar yang akhirnya berpengaruh pada peningkatan aktivitas biologisnya.

Rancangan sintesis dalam penelitian ini adalah melakukan reaksi asilasi antara gugus amina primer senyawa benzoiltiourea dengan 4-metilbenzoyl klorida dengan menggunakan kombinasi Schotten-Baumann dan metode pencampuran fisik dalam pelarut tetrahidrofur (THF). Senyawa hasil sintesis kemudian diuji kemurniannya dengan penentuan titik lebur dan kromatografi lapis tipis pada berbagai fase gerak. Identifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet (UV Vis), spektrofotometer inframerah (FTIR) dan spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$). Untuk uji aktivitas pada sistem saraf pusat dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dilakukan uji potensiasi terhadap tiopental berupa waktu tidur dan lama tidur pada mencit (*Mus musculus*).

3.2 Bagan Alur Berfikir

Berdasarkan kerangka konseptual di atas maka dapat digambarkan alur berpikir untuk mencapai tujuan penelitian seperti pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan Alur Berfikir

BAB IV

BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

4.1.1 Bahan Kimia

- 4-metilbenzoil klorida (Sigma)
- Tuourea (Sigma)
- Benzoiltiourea (Produk Sintesis Laboratorium Kimia Medisinal)
- Tetrahidrofuran p.a (E. Merck)
- Natrium Hidrogen Karbonat (E. Merck)
- Natrium Sulfat Anhidrat (E. Merck)
- Metanol p.a (E. Merck)
- Etanol p.a (E. Merck)
- Kloroform p.a (E. Merck)
- Etil asetat p.a (E. Merck)
- Natrium karboksi metil selulose (Sigma)
- Tiopental (PT Abbott Australia)

4.1.2. Hewan Coba

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

4.2 Alat Penelitian

- Neraca analitik sartorius 2472
- Spektrofotometer Hitachi-557
- Spektrofotometer Fourier Transform Infra Merah (FT-IR), Jasco FT/IR-5300

- Spektrofotometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$), Spectrometer Hitachi FT-NMR R-1990
- *Melting Point Apparatus* (Fisher-Johns)
- Timbangan menciit Ohaus
- *Stop watch Diamond*
- Seperangkat alat gelas

4.3 Metode Penelitian

4.3.1 Analisis Kualitatif

4.3.1.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau.

4.3.1.2 Pemeriksaan Kemurnian bahan

Kemurnian bahan diuji dengan menggunakan titik lebur dengan alat *Melting Point Apparatus* (Fisher-Johns).

Cara : Sedikit bahan digerus halus, kemudian letakkan bahan pada tempat zat (cekungan) dan tutup dengan cover glass. Selanjutnya hubungkan alat dengan sumber listrik dan saklar pada posisi on. Amati suhu sejak bahan tersebut mulai meleleh sampai meleleh semuanya. Percobaan diulangi tiga kali dan dicatat titik leburnya (Singh, dkk, 1980).

4.3.2 Prosedur Sintesis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea

Senyawa 4-metilbenzoil klorida direaksikan dengan benzoiltiourea melalui reaksi asilasi. Reaksi asilasi dilakukan pada gugus amina primer dari benzoiltiourea.

Prosedur :

Pada gelas piala 400 ml, dicampur 0,1 mol tiourea dengan 50 ml tetrahidrofur, kemudian ditambah larutan 4-metilbenzoil klorida 0,05 mol dalam 30 ml tetrahidrofur sedikit demi sedikit yang diteteskan melalui labu kocok sambil diaduk dengan menggunakan *stirrer*. Setelah selesai campuran dipanaskan pada suhu $\pm 80^\circ \text{C}$, sampai tetrahidrofur menguap semua.

Pemanasan ditingkatkan sampai 150°C sehingga campuran menjadi kental, pemanasan dilanjutkan selama 2,5 jam sambil terus diaduk agar reaksi berjalan sempurna. Hasil reaksi berupa zat kental berwarna putih kekuningan, kemudian ditambah larutan natrium bikarbonat jenuh sambil diaduk sehingga tidak keluar buih lagi. Residu dicuci dengan 50 ml air, kemudian disaring dengan corong buchner

Rekristalisasi :

Residu berupa zat amorf dipindahkan dalam gelas piala kemudian ditambahkan etanol secukupnya. Gelas piala diletakkan di atas hot plate (suhu diatur $70-80^{\circ}\text{C}$) sambil diaduk perlahan-lahan dan ditambahkan pelarut lagi sedikit demi sedikit sampai tepat larut. Setelah itu gelas piala diangkat dan dibiarkan pada suhu kamar sampai dingin hingga terbentuk kristal dan biarkan semalam hingga pembentukan kristal sempurna.

4.3.3 Analisis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea

4.3.3.1 Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis

Analisis secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam lempeng kiesel gel 60 GF254. Sampel yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi. Sebelum dilakukan analisis, terlebih dahulu dilakukan penjenjuran bejana kromatografi dengan fase gerak. Selanjutnya palt kromatografi dimasukkan ke dalam bejana kromatografi dan dilakukan elusi dengan berbagai fase gerak. Fase gerak yang digunakan adalah campuran etanol - kloroform (3 : 1), campuran etanol – etil asetat (9 : 1), campuran metanol – etil asetat (3 : 1). Setelah dielusi dikeringkan, dilihat nodanya pada lampu UV pada panjang gelombang 254 nm kemudian ditentukan R_f sampel dan dibandingkan R_f pembanding. Noda tunggal yang timbul pada berbagai sistem fase gerak menunjukkan senyawa murni secara KLT (Silverstein dkk, 1981).

4.3.3.2 Identifikasi Struktur Senyawa 4-metilbenzoiltiourea

1. Analisis dengan Spektrofotometer ultraviolet

Sampel dilarutkan dalam aseton, kemudian ditambahkan etanol sampai kadar tertentu, kemudian dibuat spektrum kurva absorpsi terhadap panjang

gelombang (λ) 200-340 nm. Diidentifikasi puncak-puncak absorpsi pada spektrum UV yang terjadi (Silverstein dkk,1981; Creswel, 1982; Palvia, 1996).

2. Analisis dengan Spektrofotometer Inframerah

Sedikit sampel (0,1% - 2%) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau dibuat pelet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva terhadap bilangan gelombang (ν) pada 400-4600 cm^{-1} . Diidentifikasi pita absorpsi yang khas dari gugus-gugus fungsi pada spektrum infra merah yang terjadi (Silverstein dkk,1981; Creswel, 1982; Palvia, 1996).

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

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

4.3.4 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Sebelum dilakukan uji potensiasi, terlebih dahulu dilakukun penentuan waktu aktivitas puncak atau kadar puncak yaitu waktu yang dibutuhkan senyawa untuk mencapai konsentrasi maksimum senyawa dalam darah (t_{maks}) sehingga senyawa dapat memberikan aktivitas maksimum.

Waktu aktivitas puncak dapat diketahui dengan mengamati lama tidur mencit setelah penyuntikan tiopental yang diberikan pada mencit ke-15, 30, 45, 60, 75, 90, dan 120 menit setelah penyuntikan senyawa uji. Waktu tidur yang paling lama mencit adalah menunjukkan waktu dimana senyawa mencapai konsentrasi maksimum dalam darah.

4.3.5 Prosedur Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

4.3.5.1 Pembuatan Sediaan Suspensi 4-metilbenzoiltiourea

Uji potensiasi dilakukan dengan memberikan senyawa 4-metilbenzoiltiourea dengan dosis 50 mg dan 100 mg/kg BB dalam suspensi

CMC Na 0,5% 10,0 ml. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diberikan adalah 1,5 mg/g BB dan 3 mg/g BB.

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

Untuk pembuatan suspensi uji dengan dosis 3 mg/30 g BB, ditimbang 100,0 mg senyawa uji dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

4.3.4.2 Pembuatan Sediaan Suspensi Benzoiltiourea

Kelompok yang digunakan untuk senyawa benzoiltiourea adalah 50 dan 100 mg/kg BB. Dalam suspensi CMC Na 0,5% 10,0 ml, jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diperlukan adalah 1,5 mg/30 g BB dan 3 mg/30 g BB.

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

Pada pembuatan dosis 3 mg/30 g BB, ditimbang 100,0 mg benzoiltiourea dan disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini diambil 0,01 ml/g BB (0,3ml) dan diberikan secara injeksi intraperitoneal pada mencit.

4.3.4.3 Pembuatan Sediaan Suspensi Tiopental

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

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

4.3.5.4 Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

Pelaksanaan uji aktivitas penekan sistem saraf pusat dilakukan dengan metode potensiasi menggunakan 60 mencit yang terbagi 2 kelompok perlakuan, 2 kelompok pembanding, 1 kelompok tiopental dan 1 kelompok kontrol. Masing-masing kelompok terdiri 10 ekor mencit untuk tiap dosis.

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

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Mencit dipuaskan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan.
2. a. Pada kelompok A mencit diinjeksi suspensi 4-metilbenzoiltiourea dan pada kelompok B diinjeksi dengan suspensi benzoiltiourea dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal.
b. Pada waktu kadar puncak, mencit diinjeksi lagi dengan larutan tiopental dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal.
c. Diamati dan dicatat lamanya waktu tidur mencit.
3. a. Pada kelompok C, mencit diinjeksi larutan tiopental dengan dosis yang sesuai secara intraperitoneal.
b. Diamati dan dicatat waktu tidur mencit.
4. Pada kelompok D, mencit diinjeksi dengan larutan CMC Na 0,5% dengan volume 0,3 ml.
5. Waktu tidur mencit kelompok A dan B dibandingkan dengan waktu tidur mencit kelompok C.

4.4 Analisis Data

4.4.1 Penentuan Aktivitas Potensiasi

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

Dari data uji aktivitas potensiasi dapat dinyatakan hipotesis sebagai berikut:

H_0 = Tidak ada perbedaan bermakna antara aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi antara kelompok perlakuan (A_1 dan A_2), kelompok pembanding (B_1 dan B_2), dengan kelompok tiopental.

H_a = Ada perbedaan bermakna antara aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi antara kelompok perlakuan (A_1 dan A_2), kelompok pembanding (B_1 dan B_2), dengan kelompok tiopental.

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

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

Keterangan :

N = Jumlah sampel (mencit)

K = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah mencit tiap perlakuan

MSE = Mean Square

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

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Sintesis Senyawa 4-metilbenzoiltiourea

Sintesis senyawa 4-metilbenzoiltiourea dilakukan melalui reaksi antara tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida. Hasil sintesis kemudian dihitung persentase hasilnya. Dari hasil sintesis didapatkan persentase hasil 50,26 %

Cara perhitungan persentase hasil :

- BM 4-metilbenzoiltiourea = 194
- Hasil sintesis yang diperoleh secara teoritis = 9,7 gram
- Hasil sintesis yang diperoleh sebenarnya = 4,875 gram
- Persentase hasil = $\frac{4,875 \text{ gram}}{9,7 \text{ gram}} \times 100 \% = 50,26 \%$

5.2 Analisis Kualitatif 4-metilbenzoiltiourea

5.2.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna, bau, dan rasa dari senyawa hasil sintesis.

Hasil pemeriksaan secara organoleptis dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat dilihat pada tabel V.1.

Tabel V.1
Hasil Pemeriksaan Organoleptis Senyawa
4-metilbenzoiltiourea

Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
Bentuk	Kristal jarum, lempeng tipis, mengkilat
Warna	Kuning
Bau	Tidak berbau
Rasa	Pahit

5.2.2 Penentuan Titik Lebur

Hasil uji kemurnian 4-metilbenzoiltiourea dengan penentuan titik lebur menggunakan *Melting Point Apparatus* (Fisher Johns) dapat dilihat pada tabel V.2.

Tabel V.2
Hasil Pengamatan Titik Lebur
Senyawa 4-Metilbenzoiltiourea dan Senyawa Benzoiltiourea

Replikasi	4-Metilbenzoiltiourea	
	Hasil pengamatan (⁰ C)	Rentang Titik Lebur (⁰ C)
1	181	181- 182
2	181	
3	182	

Penentuan titik lebur senyawa hasil sintesis (tabel V.2) melihat bahwa jarak lebur senyawa 4-metilbenzoiltiourea adalah 181-182⁰C. Hal ini berarti senyawa hasil sintesis murni.

5.2.3 Analisis Secara kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil uji kemurnian senyawa 4-metilbenzoiltiourea dan senyawa pembanding benzoiltiourea dengan penentuan nilai *R_f* (*retardation factor*) pada kromatografi lapis tipis dengan tiga macam fase gerak dapat dilihat pada tabel V.3

Tabel V.3
Nilai *R_f* Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dan Senyawa pembanding Benzoiltiourea dalam Berbagai Macam Fase gerak

No	4-metilbenzoiltiourea	Benzoiltiourea	Warna noda
1	0,84	0,83	Ungu
2	0,85	0,83	Ungu
3	0,87	0,84	Ungu

Keterangan nilai $R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen (cm)}}$

Fase gerak 1 = etanol : kloroform (3 : 1)

Fase gerak 2 = etanol : etil asetat (9 : 1)

Fase gerak 3 = metanol : etil asetat (3 : 1)

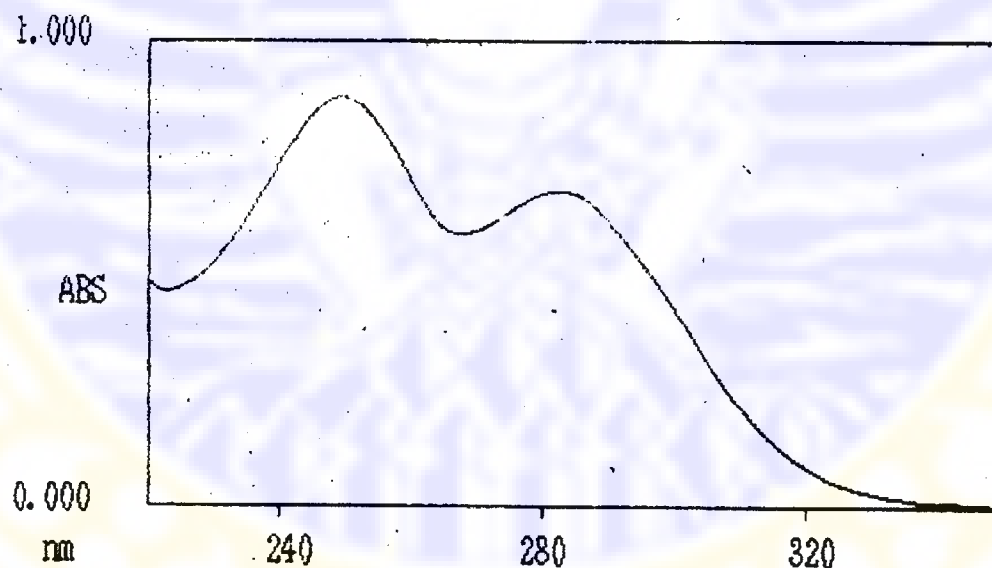
Dari hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan tiga macam fase gerak terlihat bahwa senyawa menunjukkan noda tunggal, sehingga dapat disimpulkan senyawa murni secara KLT.

5.3 Hasil Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, infra merah (FT-IR), dan spektrometer $^1\text{H-NMR}$.

5.3.1 Identifikasi Dengan Spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi struktur senyawa secara spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimal (λ_{max}) dari suatu senyawa. Spektrum UV-Vis dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat dilihat pada gambar 5.1.

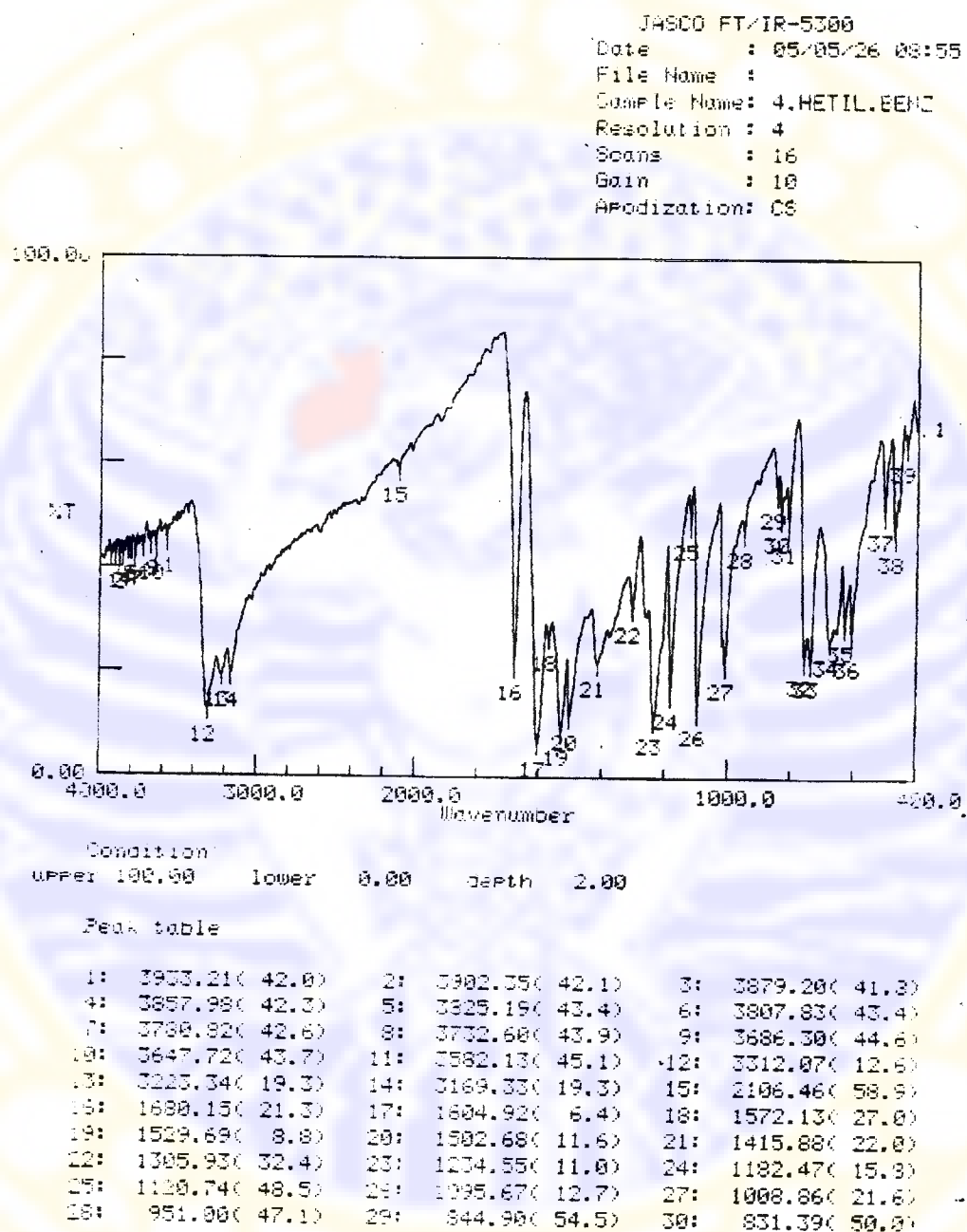


Gambar 5.1 Spektrum ultraviolet senyawa 4-Metilbenzoiltiourea

Spektrum 4-metilbenzoiltiourea pada gambar memberikan dua puncak serapan pada dua panjang gelombang 282,6 nm dan 249 nm.

5.3.2 Identifikasi Dengan Metode Struktur Spektrofotometer Inframerah

Identifikasi struktur senyawa secara spektrofotometer infra merah berguna untuk mengetahui adanya gugus-gugus fungsi dari suatu senyawa. Spektrum infra merah dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Spektrum Infra merah Senyawa 4-Metilbenzoiltiourea dalam pelet KBr

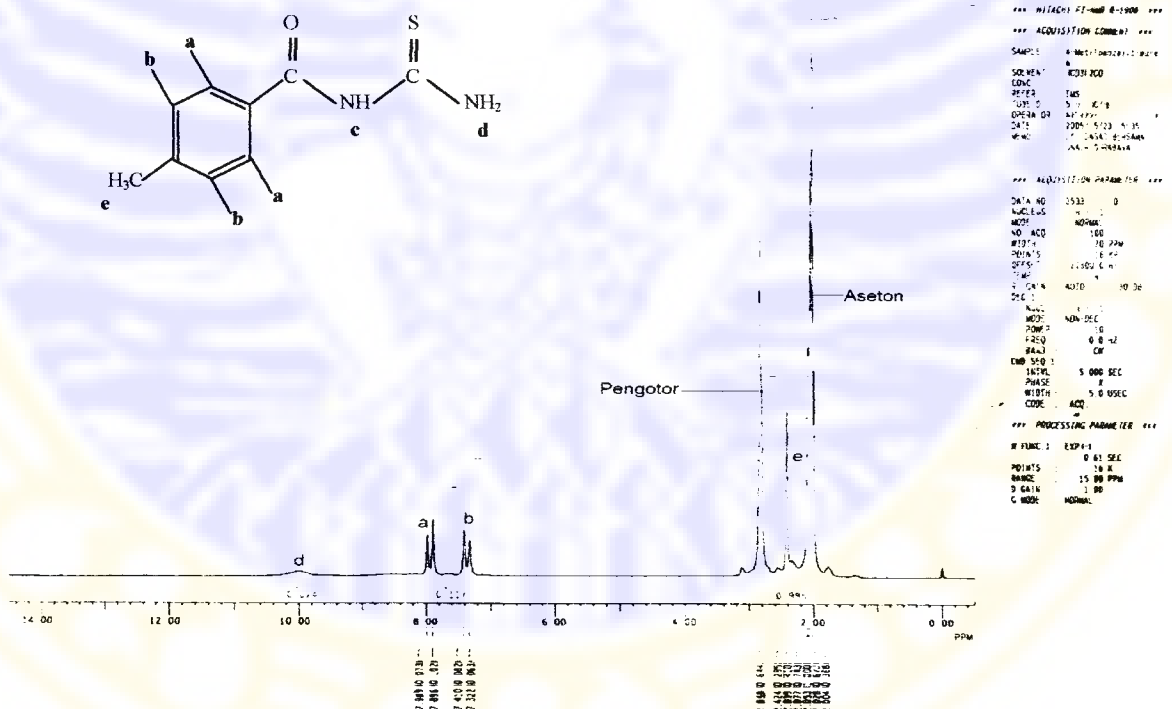
Karakteristik spektrum infra merah dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat dilihat pada tabel V.4.

Tabel V.4
Karakteristik Spektrum Infra Merah Senyawa
4-metilbenzoiltiourea

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
3312	-NH
3223, 3169	-NH ₂
1680	-C=O
1604	-C=S
1529, 1415	-C=C-aromatis

5.3.3 Identifikasi Dengan Spektrometer ¹H-NMR

Spektrum ¹H-NMR dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Spektrum ¹H-NMR dari senyawa 4-Metilbenzoiltiourea dalam pelarut Aseton

Karakteristik spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada tabel V.5.

Tabel V.5
Karakteristik Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari Senyawa
4-metilbenzoiltiourea

δ (ppm)	Multisiplitas	Atom H dari Gugus
10	Singlet	-NH ₂
7,989 – 7,896	Dublet	2 atom H dari gugus benzena yang dekat dengan -C=O
7,410 – 7,322	Dublet	2 atom H dari gugus benzena yang dekat dengan -CH ₃
2,424	Singlet	-CH ₃

5.4 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Penentuan waktu aktivitas puncak senyawa dilakukan dengan mencatat lama tidur mencit setelah pemberian tiopental 60 mg/kg BB pada interval waktu 15, 30, 45, 60, 75, 90, dan 120 menit setelah pemberian senyawa secara intraperitoneal. Waktu aktivitas puncak adalah waktu dimana senyawa mencapai konsentrasi maksimum dalam darah dapat diketahui dengan mengamati lama waktu tidur mencit dan menentukan waktu tidur terlama.

5.4.1 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea

Penentuan waktu aktivitas puncak benzoiltiourea dengan menggunakan dosis 100 mg/kg BB. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel V.6.

Tabel V.6
Hasil Pengamatan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea

Replikasi	Interval Waktu Pemberian Tiopental (menit)						
	15	30	45	60	75	90	120
1	128	68	265	295*	211	28	17
2	121	14	221	245*	217	168	92

Keterangan *: waktu puncak

Apabila dari data tersebut dibuat sebuah penentuan waktu aktivitas puncak benzoiltiourea dengan menghubungkan interval waktu pemberian tiopental dengan lama tidur mencit, kurva dapat dilihat pada gambar 5.4.

Berdasarkan data di atas dapat dilihat waktu aktivitas puncak benzoiltiourea dengan dua kali replikasi adalah 60 menit setelah pemberian benzoiltiourea.

5.4.2 Penentuan Waktu Aktivitas Puncak 4-metilbenzoiltiourea

Hasil pengamatan waktu aktivitas puncak 4-metilbenzoiltiourea menggunakan dosis 100 mg/kg BB dapat dilihat pada tabel V.7.

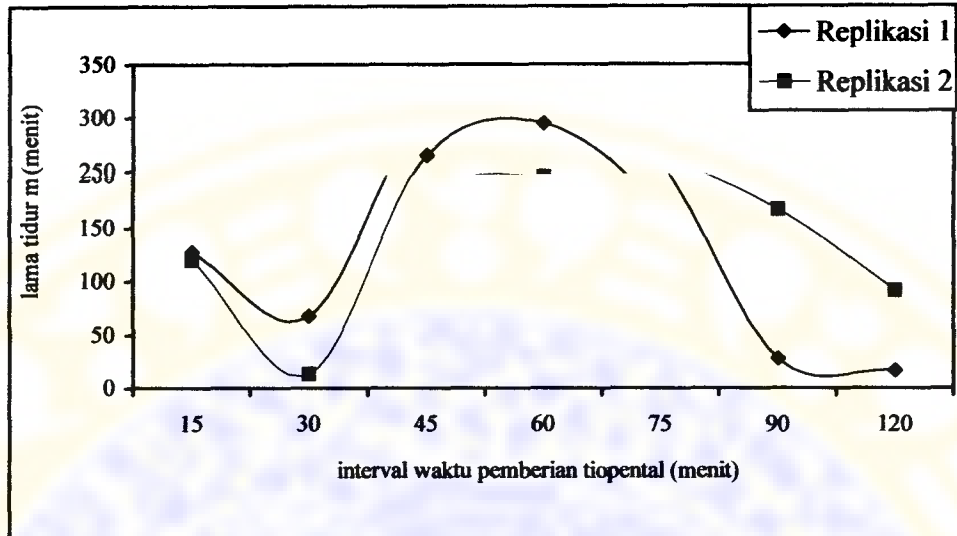
Tabel V.7
Hasil Pengamatan Waktu Aktivitas Puncak 4-metilbenzoiltiourea

Replikasi	Interval Waktu Pemberian Tiopental (menit)						
	15	30	45	60	75	90	120
1	115	158	166*	64	95	23	81
2	135	116	167*	60	70	69	32

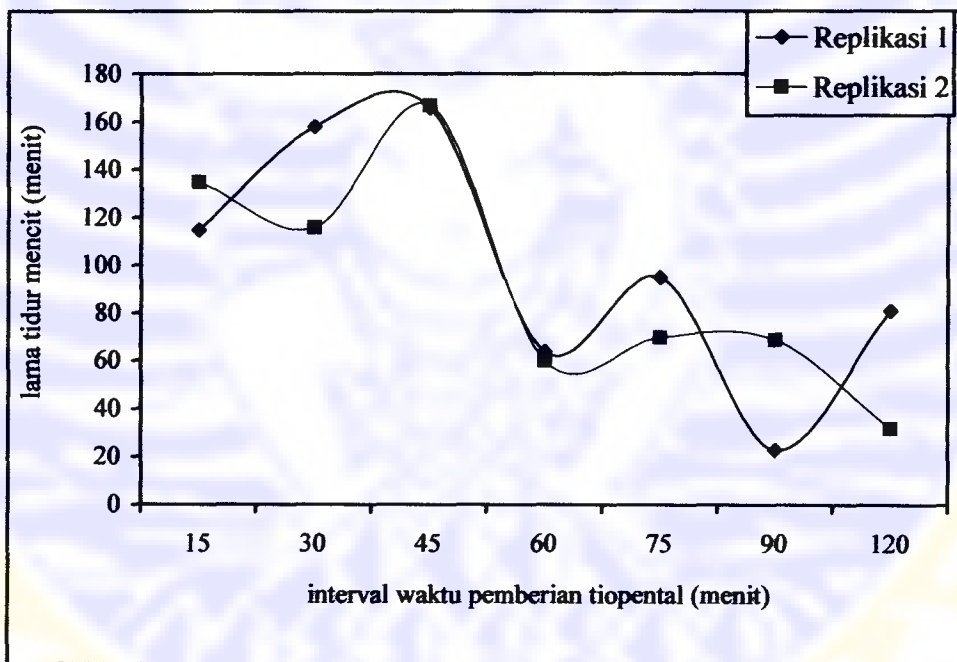
Keterangan * : waktu puncak

Kurva waktu aktivitas puncak 4-metilbenzoiltiourea dengan menghubungkan interval waktu pemberian tiopental dan lama tidur mencit dapat dilihat pada gambar 5.5.

Berdasarkan data di atas dapat dilihat waktu aktivitas puncak 4-metilbenzoiltiourea dengan dua kali replikasi adalah 45 menit setelah pemberian 4-metilbenzoiltiourea



Gambar 5.4 Kurva Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea



Gambar 5.5 Kurva Waktu Aktivitas Puncak 4-metilbenzoiltiourea

5.5 Uji Potensiasi

Hasil pengamatan uji potensiasi 4-metilbenzoiltiourea pada dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB dan senyawa pembanding benzoiltiourea pada dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB, masing-masing dalam pemberian dengan tiopental 60 mg/kg BB serta waktu tidur dari tiopental dan CMC Na 0,5 % dapat dilihat pada tabel V.8.

Tabel V.8

**Hasil Pengamatan Uji Potensiasi 4-metilbenzoiltiourea
Dosis 50 mg/kg BB dan Dosis 100 mg/kg BB**

Mencit	Waktu Tidur (menit)					CMC Na 0,5 %
	Benzoiltiourea		4-metilbenzoiltiourea		Tiopental 60 mg/kg BB	
	50 mg/kg BB	100 mg/kg BB	50 mg/kg BB	100 mg/kg BB		
1	29	74	85	142	14	0
2	58	138	63	75	7	0
3	59	130	55	63	10	0
4	33	62	132	197	13	0
5	60	48	138	135	8	0
6	27	114	110	172	12	0
7	21	54	128	134	16	0
8	30	137	97	115	11	0
9	30	49	105	88	17	0
10	41	103	88	180	8	0
X	38,88	90,9	100,1	130,1	11,6	0
SD	14,8	37,46	28,18	45,27	3,43	0

Hasil pengamatan pada tabel di atas menunjukkan bahwa senyawa uji memberikan efek perpanjangan waktu tidur pada mencit terhadap tiopental pada kedua dosis, demikian juga pada senyawa pembanding memberikan efek perpanjangan waktu tidur terhadap tiopental pada kedua dosis.

5.6 Analisis Data

Analisis data uji aktivitas potensiasi menggunakan bantuan komputer program SPSS 10.0 dengan menggunakan uji F satu arah (*one way anava*), didapat harga F hitung = 25,813 sedangkan harga F tabel pada $\alpha = 0,05$ dan $df = 4,45$ adalah 2,61, sehingga $F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan minimal satu pasang, tetapi belum diketahui kelompok perlakuan mana yang berbeda.

Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda, dilanjutkan dengan uji LSD. Jika harga selisih waktu tidur /*mean difference* lebih besar dari harga LSD maka dinyatakan ada perpanjangan waktu tidur yang bermakna antar kelompok tersebut. Dari hasil perhitungan uji LSD didapat harga LSD = 27,03 dengan harga selisih waktu tidur rata-rata dapat dilihat pada tabel V.9.

Tabel V.9
Harga Selisih Waktu Rata-Rata Antar Perlakuan

Kelompok	A1	A2	B1	B2	C
A1	-	-30,00*	61,30*	-	88,50*
A2	30,00*	-	91,30*	39,20*	118,50*
B1	-61,30*	-91,30*	-	-52,10*	27,20*
B2	-	-39,20*	52,10*	-	79,30*
C	-88,50*	-118,50*	-27,20*	-79,30*	-

* : ada perbedaan bermakna

Keterangan :

A1 : Kelompok 4-metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.

A2 : Kelompok 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.

B1 : Kelompok benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB

B2 : Kelompok benzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB

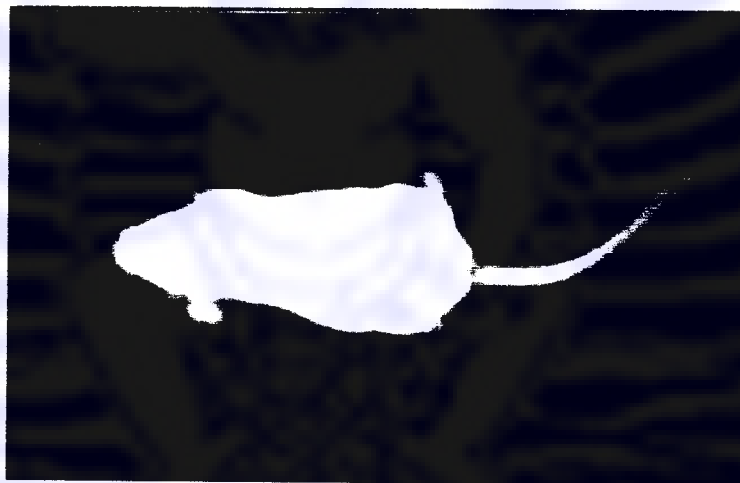
C : Kelompok tiopental dosis 60 mg/kg BB

Dari hasil uji LSD diatas dapat disimpulkan :

- a. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- b. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- c. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- d. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi benzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- e. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- f. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan 4-metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- g. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- h. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan benzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.
- i. Ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas potensiasi benzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental dosis 60 mg/kg BB.



Gambar 5.6 Mencit dalam keadaan normal (posisi tegak)



Gambar 5.7 mencit dalm keadaan tidur setelah diberi perlakuan

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis senyawa 4-metilbenzoiltiourea melalui reaksi asilasi tiourea dengan 4-metilbenzoil klorida. Gugus 4-metil pada sintesis senyawa 4-metilbenzoiltiourea dilakukan karena gugus ini mempunyai sifat lipofilik yang besar sehingga diharapkan terjadi peningkatan pada proses interaksi obat-reseptor dengan senyawa induk.

Metode yang digunakan dalam sintesis ini adalah gabungan antara metode Schotten Baumann dengan metode pencampuran kering. Rekristalisasi 4-metilbenzoiltiourea dengan etanol panas bertujuan untuk memperoleh hasil reaksi yang murni. Hasil rekristalisasi senyawa 4-metilbenzoiltiourea berupa kristal jarum, lempeng tipis, mengkilat, tidak berbau, dan berasa pahit. Persentase hasil sintesis senyawa 4-metilbenzoiltiourea adalah 50,26 %.

Uji kemurnian senyawa hasil sintesis secara fisik dilakukan dengan penentuan Titik Lebur dengan menggunakan alat *Melting Point Apparatus* (Fisher Johns). Berdasarkan hasil penelitian disebutkan bahwa jarak lebur senyawa 4-metilbenzoiltiourea cukup dekat (1°C) yaitu $181-182^{\circ}\text{C}$, dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa senyawa 4-metilbenzoiltiourea relatif murni. Untuk mengetahui ada tidaknya pengotor pada senyawa hasil sintesis telah dilakukan pemeriksaan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel 60 GF254, sebagai fase gerak digunakan tiga macam fase gerak yaitu : fase gerak 1 = etanol : kloroform, fase gerak 2 = etanol : etil asetat, dan fase gerak 3 = metanol : etil asetat, dengan metode penampak noda lampu UV 264 nm. Hasil uji dengan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa noda yang dihasilkan hanya satu, hal ini berarti bahwa senyawa tersebut telah murni secara kromatografi. Selanjutnya senyawa hasil sintesis diidentifikasi strukturnya dengan UV-Vis, FT-IR, $^1\text{H-NMR}$.

Pada identifikasi struktur dengan menggunakan UV-Vis dengan pelarut etanol dihasilkan spektrum yang memberikan dua puncak panjang gelombang 282,6 nm dan 249 nm.

Analisa struktur dilanjutkan dengan identifikasi secara spektrofotometer infra merah. Identifikasi ini berguna untuk mengetahui adanya gugus –gugus

fungsi dari suatu senyawa. Data spektrum infra merah menunjukkan ada perbedaan dengan spektrum senyawa induk benzoiltiourea yaitu adanya penambahan pita serapan pada spektrum senyawa hasil sintesis pada benzoiltiourea.

Analisa struktur dilanjutkan dengan identifikasi secara spektrofotometer infra merah. Identifikasi ini berguna untuk mengetahui adanya gugus fungsi dari suatu senyawa. Dari spektrum inframerah dapat diketahui adanya gugus-gugus yang terdapat dalam senyawa 4-metilbenzoiltiourea antara lain gugus $-C=O$, $-NH$, $-NH_2$, $-C=S$, $-C=C$ -aromatis (Tabel V.4).

Gugus $C=S$ pada spektra IR senyawa hasil sintesis 4-metilbenzoiltiourea mengabsorpsi pada bilangan 1604 cm^{-1} . Analisa data tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi reaksi antara 4-metilbenzoil klorida dan tiourea membentuk senyawa 4-metilbenzoiltiourea.

Pada spektrum infra merah dapat terlihat adanya gugus $-NH_2$ yang ditunjukkan adanya puncak pita yang tajam pada daerah 3223 cm^{-1} dan 3169 cm^{-1} . Hal ini juga diperkuat dengan spektrum (1H -NMR) yang memperlihatkan adanya pita pada daerah 10 ppm. Puncak pita yang menunjukkan gugus benzen diperlihatkan pada daerah 1529 cm^{-1} dan 1415 cm^{-1} pada spektrum IR. Hal ini juga didukung dengan spektrum (1H -NMR) yang memperlihatkan adanya pita tajam pada daerah 7,989 – 7,896 ppm yang menunjukkan adanya 2 atom H dari benzen yang dekat dengan $-C=O$ dan pita tajam pada daerah 7,410 – 7,322 ppm yang berasal dari 2 atom H dari benzen yang dekat dengan $-CH_3$. Selain itu pada spektrum (1H -NMR) juga memperlihatkan pita tajam pada daerah 2,424 ppm yang menunjukkan adanya 3 atom H singlet yang berasal dari gugus $-CH_3$. Dari keseluruhan analisis data spektrum di atas, maka dapat disimpulkan senyawa hasil sintesis yang terbentuk adalah senyawa 4-metilbenzoiltiourea.

Dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas 4-metilbenzoiltiourea sebagai penekan sistem saraf pusat. Uji aktivitas yang dipilih adalah uji potensiasi yaitu uji awal yang digunakan untuk mengetahui apakah senyawa bekerja pada sistem saraf pusat. Uji potensiasi dilakukan dengan menggunakan obat penekan sistem saraf pusat tiopental, suatau turunan barbiturat dengan masa kerja sangat pendek

yang umum digunakan dalam uji potensiasi, kemudian dilihat apakah 4-metilbenzoiltiourea dapat memperpanjang waktu tidur tiopental.

Sebelum dilakukan uji potensiasi, perlu ditentukan waktu aktivitas puncak senyawa uji. Waktu aktivitas puncak adalah waktu yang dibutuhkan untuk mencapai konsentrasi maksimum dalam darah setelah pemberian senyawa, dinyatakan dengan waktu tidur terpanjang yang ditimbulkan setelah pemberian senyawa uji diikuti dengan penyuntikan tiopental pada rentang waktu tertentu. Dari data uji aktivitas puncak, waktu aktivitas puncak 4-metilbenzoiltiourea dicapai pada menit ke-45.

4-Metilbenzoiltiourea merupakan kristal jarum yang sukar larut dalam air, sehingga untuk meningkatkan homogenitas senyawa dalam larutan uji dibutuhkan zat pensuspensi karboksi metil selulose 0,5 %. Senyawa uji disuntikan secara intraperitoneal pada hewan coba kemudian pada waktu aktivitas puncak disuntikkan tiopental secara intraperitoneal dan diamati waktu perpanjangan tidur mencit.

Untuk mengetahui adanya efek perpanjangan waktu tidur 4-metilbenzoiltiourea terhadap tiopental yang bermakna dibandingkan benzoiltiourea terhadap tiopental, dilakukan uji F satu arah (*one way anava*) dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda.

Dari hasil uji F, didapat nilai F hitung $>$ F tabel pada derajat kepercayaan $\alpha = 0,05$ dan derajat bebas $df = 4,45$ (lampiran 5) maka dapat dinyatakan ada perbedaan bermakna pada efek perpanjangan waktu tidur antar kelompok minimal satu pasang, dan uji LSD menunjukkan ada lebih dari satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda secara bermakna.

Hasil uji LSD menunjukkan 4-metilbenzoiltiourea dengan dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB memiliki perbedaan efek perpanjangan waktu tidur yang bermakna terhadap tiopental, hal ini menunjukkan bahwa 4-metilbenzoiltiourea memiliki efek potensiasi terhadap tiopental sehingga dapat memperpanjang waktu tidur tiopental.

4-Metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB memiliki perbedaan aktivitas potensiasi yang berbeda bermakna dengan senyawa benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan gugus metil pada posisi para dari benzoiltiourea dapat meningkatkan aktivitas potensiasi terhadap tiopental. Hal ini disebabkan karena penambahan gugus metil akan meningkatkan lipofilitas senyawa, penembusan membran menjadi lebih mudah sehingga jumlah senyawa yang akan berinteraksi dengan reseptor lebih besar pula.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil adalah:

1. Senyawa 4-metilbenzoiltiourea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara senyawa tiourea dan 4-metilbenzoil klorida serta didapatkan hasil murni dengan persentase hasil 50,26 %.
2. 4-Metilbenzoiltiourea memiliki efek penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi dengan tiopental pada mencit (*Mus musculus*).
3. 4-Metilbenzoiltiourea memiliki aktivitas potensiasi terhadap tiopental yang lebih besar dari senyawa pembanding benzoiltiourea.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan penelitian ini adalah:

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disarankan : perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari senyawa 4-metilbenzoiltiourea untuk aktivitas penekan sistem, saraf pusat yang lain seperti aktivitas antikejang, tranquilizer dan relaksan otot pusat.

DAFTAR PUSTAKA

- Chetley, A., 1995, ***Problem Drugs***, Zed Books Ltd, London, p.302.
- Cresswell, J. C., Runquist, O.A., and Campbell, M. M., 1982, ***Analisis Spektrum Senyawa Organik***, Edisi Kedua, Alih bahasa : Padmawinata K. dan Soediro I., Bandung : Penerbit ITB, hal. 45-48, 78-93, 246-335.
- Fessenden, R. J., and Fessenden, J. S., 1995, ***Kimia Organik***, Jilid II, Edisi Ketiga, Alih Bahasa : Pudjatmaka, A.H., Jakarta : Penerbit Erlangga, hal. 109-113.
- Foye, W.O., 1995, ***Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal (terjemahan)***, Jilid 1, Edisi Kedua, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 350-352.
- Ganiswara, S.G., 1995, ***Farmakologi dan Terapi***, Edisi Keempat, Bagian Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, hal. 109-162.
- Hyde RM, 1975, ***Relationships between the Biological and Physicochemical Properties of Series Compound***, J. Med Chem., 18;231-233
- Korolkovas, A., 1976, ***Essentials of Medicinal Chemistry***, New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley & Sons, p. 98.
- Me Murry, J. M., 1984, ***Organic Chemistry***, Montrey, California : Broke, Cole Publishing Company, pp. 168-171, 607-609, 678-679, 770-774.
- Nuhriawangsa, 1997, Gangguan Psikiatrik Akibat Efek Samping Obat Jiwa, ***Majalah Psikiatri***, Tahun xxx (4), hal. 417-437.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., and Kriz, G.S., 1996 ***Introduction to Spectroscopy***, 2nd Ed., Fort Worth, Philadelphia, and San Diego : Saunders Golden Sunburst Series.
- Purcell WP, Bass GE, and Clayton JM, 1973, ***Strategy of Drugs Design. A Guide to Biological Activity***, New York, London, Sydney, Toronto; John Wiley and Sons, p 21-58, 126-142.
- Reksohadiprojo, M.S., 1981, Transformation of Fusel Oil from Indonesian Alcohol Factories into Products of Higher Value, ***Unpublished Doctor Dissertation, Gajah Mada University***, pp. 134, 145-152.

- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., and Morrill, T.C., 1981, ***Spectrometric Identification of Organic Compound***, 4th Ed., John Wiley and Sons Inc., New York, pp. 95, 181-189,305.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., and Morrill, T.C., 1981, ***Spectroscopy of Organic Compounds***, 4th Ed., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore : John Wiley & Sons Inc., pp. 3-43, 95-174, 181-248, 305-329.
- Singh, P.R., Gupta, D.S., Bajpay, K.S. 1980, ***Experimental Organic Chemistry***, 1st Ed., Tata Me Graw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, pp. 10-13.
- Siswandono, Soemadi, dan Notowidjojo, S., 1998, ***Sintesis Senyawa Baru Turunan Asil dan Benzoil-N-Urea untuk Optimasi Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat, Laporan Riset Unggulan Terpadu VI (1) Universitas Airlangga, Surabaya: Airlangga University Press***, Hal. 3-22.
- Siswandono, Soekardjo.B., 2000, ***Kimia Medisinal***, Jilid 1, Edisi Kedua, Airlangga University Press, Suabaya, hal. 255-256.
- Siswandono, Soekardjo.B., 2000, ***Kimia Medisinal***, Jilid 2, Edisi Kedua, Airlangga University Press, Suabaya, hal. 20-29.
- Siswandono, Soekardjo.B., 1998, ***Prinsip-prinsip Rancangan Obat***, Airlangga University Press, Surabaya, hal. 1-9.
- Solomon, TW Graham, 1996, ***Organic Chemistry***, 6th Edition, John willey and Sons Inc, Canada, p 835.
- Susilowati, R. dan Siswandono, 1998, Metode Optimalisasi Senyawa Penuntun, dalam: Siswandono dan B. Soekardjo, ***Prinsip-Prinsip Rancangan Obat***, Surabaya: Airlangga University Press, Hal. 169-171.
- Suzana, Budiati, T., Ekowati, J., 2004, Sintesis Senyawa Benzoiltiourea dan Uji Aktivitasnya Sebagai Penekan Saraf Pusat Pada Mencit (*Mus musculus*), ***Laporan Penelitian Dosen Muda, Universitas Airlangga, Surabaya***.
- Sykes, P., 1981, ***A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry***, 5th Ed., London and New York : Longman, pp. 181-182,307-310.
- Thompson, E.B., 1990, ***Drug Bioscreening : Drug Evaluation Techniques in Pharmacology***, VCH, New york, pp. 3-14.

Tjiptasurasa, 1991, *Komponen Minyak Fusel Indonesia, Isolasi dan Oksidasinya, Sintesis dan Evaluasi, Farmakokimia Beberapa Senyawa Turunannya, Desertasi Doktor, Tidak Dipublikasikan, Universitas Gajah M Yogyakarta.*

Vida, J. A., 1989, *Central Nervous System Depressants : Sedative-Hypnotics*, In (Foye W.O. Ed), *Principles of Medicinal Chemistry*, 3rd Ed., Philadelphia, London : Lea & Fiber, pp. 147-156, 163-164.

LAMPIRAN 1

Hasil Pemeriksaan Senyawa Benzoiltiourea

Laporan Hasil Pemeriksaan Senyawa

1. Nama senyawa : Benzoiltiourea
2. Dibuat oleh : Siswandono
3. Tanggal dibuat : 7 Juli 2004
4. Rendemen : 45%
5. Pemeriksaan :

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1. 2. 3. 4.	Pemerian/Organoleptis Jarak lebur Kelarutan Uji KLT(3 eluen)	Amorf, warna putih, tidak berbau. 172-174°C. etanol panas, aseton, dimetilsulfoksid. 1 noda.
5.	Spektrum UV: λ maks. (nm) Dalam pelarut etanol	237, 282
6.	Spektrum IR : ν (cm^{-1}) Dalam pelet KBr	3310 (-NH ₂); 3151 (-NH); 1682 (-C=O); 1539 dan 1478 (-C=C- aromatis); 855-693 (-C=C- aromatis, luar bidang)
7.	Spektrum ¹ H NMR : δ (ppm) Dalam pelarut DMSO-D ₆	9,52-9,84, s, (-CONH ₂); 7,39-7,98, m, (-C ₆ H ₅)
8.	Spektrum massa (m/e)	44 (O=C-NH ₂) ⁺ ; 77 (C ₆ H ₅) ⁺ ; 105 (C ₆ H ₅ -CO) ⁺ ; 121 (C ₆ H ₅ -CONH ₂) ⁺

Kesimpulan : Senyawa adalah benzoiltiourea.

Mengetahui:
Kepala Bagian Kimia Farmasi,

Siswandono

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



Surabaya, 1 Agustus 2005

Ketua Tim Peneliti,

Siswandono

Prof. Dr. Siswandono, MS

LAMPIRAN 2**Perhitungan Simpangan Baku Lamanya Waktu Tidur****Descriptives**

TIDUR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	10	100.1000	28.18372	8.91248	79.9386	120.2614	55.00	138.00
2.00	10	130.1000	45.26576	14.31429	97.7188	162.4812	63.00	197.00
3.00	10	38.8000	14.80090	4.68046	28.2121	49.3879	21.00	60.00
4.00	10	90.9000	37.46243	11.84666	64.1010	117.6990	48.00	138.00
5.00	10	11.6000	3.43835	1.08730	9.1404	14.0596	7.00	17.00
Total	50	74.3000	52.05227	7.36130	59.5069	89.0931	7.00	197.00

Keterangan :

1. Kelompok 4-metilbenzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kg BB.
2. Kelompok 4-metilbenzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental 60mg/kgBB.
3. Kelompok benzoiltiourea dosis 50 mg/kg BB + tiopental 60mg/kgBB.
4. Kelompok benzoiltiourea dosis 100 mg/kg BB + tiopental 60 mg/kgBB
5. Kelompok tiopental dosis 60 mg/kg BB.

LAMPIRAN 3**Analisis Uji F Satu Arah Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat****ONEWAY****ANOVA**

TIDUR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	92463.800	4	23115.950	25.813	.000
Within Groups	40298.700	45	895.527		
Total	132762.5	49			

POST HOC TESTS**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: TIDUR

LSD

(I) DOSIS	(J) DOSIS	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-30.0000*	13.38302	.030	-56.9548	-3.0452
	3.00	61.3000*	13.38302	.000	34.3452	88.2548
	4.00	9.2000	13.38302	.495	-17.7548	36.1548
	5.00	88.5000*	13.38302	.000	61.5452	115.4548
2.00	1.00	30.0000*	13.38302	.030	3.0452	56.9548
	3.00	91.3000*	13.38302	.000	64.3452	118.2548
	4.00	39.2000*	13.38302	.005	12.2452	66.1548
	5.00	118.5000*	13.38302	.000	91.5452	145.4548
3.00	1.00	-61.3000*	13.38302	.000	-88.2548	-34.3452
	2.00	-91.3000*	13.38302	.000	-118.2548	-64.3452
	4.00	-52.1000*	13.38302	.000	-79.0548	-25.1452
	5.00	27.2000*	13.38302	.048	.2452	54.1548
4.00	1.00	-9.2000	13.38302	.495	-36.1548	17.7548
	2.00	-39.2000*	13.38302	.005	-66.1548	-12.2452
	3.00	52.1000*	13.38302	.000	25.1452	79.0548
	5.00	79.3000*	13.38302	.000	52.3452	106.2548
5.00	1.00	-88.5000*	13.38302	.000	-115.4548	-61.5452
	2.00	-118.5000*	13.38302	.000	-145.4548	-91.5452
	3.00	-27.2000*	13.38302	.048	-54.1548	-.2452
	4.00	-79.3000*	13.38302	.000	-106.2548	-52.3452

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

LAMPIRAN 4
Perhitungan Harga LSD

$$\text{Harga MSE} = 895,527$$

$$n = 10$$

$$\begin{aligned} \text{LSD} &= \left(t_{\frac{\alpha}{2}, N-k}\right) \sqrt{\frac{2.MSE}{n}} \\ &= (t_{0,25,45}) \sqrt{\frac{2.895,527}{10}} \\ &= 2,02 \sqrt{179,10} \\ &= 2,02 \times 13,383 \\ &= 27,03 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 5
Tabel harga F ($\alpha=0,05$)

V_2	V_1	1	2	3	4	5
1	1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2
2	2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30
3	3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01
4	4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26
5	5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05
6	6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39
7	7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97
8	8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69
9	9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48
10	10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33
11	11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20
12	12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11
13	13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03
14	14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96
15	15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90
16	16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85
17	17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81
18	18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77
19	19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74
20	20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71
21	21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68
22	22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66
23	23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64
24	24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62
25	25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60
26	26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59
27	27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57
28	28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56
29	29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55
30	30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53
40	40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45
60	60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37
120	120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29
~	~	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21

Dikutip dari: Montgomery D.C,1991. *Design and Analysis of Experiments*, Ed.3rd,New York: John Wiley and Sons, pp 600.

LAMPIRAN 6**Tabel harga t**

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

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

LAMPIRAN 7

Sertifikat Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb 'C'

PUSAT VETERINARIA FARMA

JL. A. YANI NO. 68 / 70 SURABAYA

Telepon : (031) 8291125
Fax : (031) 8291183

SURAT KETERANGAN

YANG PERTANDA TANGAN DIRINYAH INI MENYERANAKAN BAHWA

NO	JENIS HEWAN	JUMLAH (KOR)	JENIS	KONDISI	JUAL HEWAN	DITERIMA OLEH		CATATAN
						NAMA ALAMA	KELOMPOK	
1.	Mencit	500	BALB/C	Sehat	Pusat Jl. A. Yani 68/70		Penelitian	Kondisi Baik.

SURAT KETERANGAN INI KAMI BUAT UNTUK DAPAT DIPERGUNAKAN SEBAGAIMANA MESTINYA

