

SKRIPSI

EKA PURWANTI

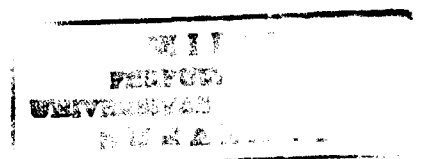
SINTESIS N-(3,4-DIKLOROBENZOIL)TIOUREA DAN UJI AKTIVITAS PENEKAN SISTEM SARAF PUSAT PADA MENCIT (*Mus musculus*)

F3 07/07

Lur
0



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2006



Lembar Pengesahan

**SINTESIS N-(3,4-DIKLOROBENZOIL)TIOUREA 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**

2006

Oleh :

EKA PURWANTI

NIM : 050210156 E

Skripsi ini telah disetujui oleh :

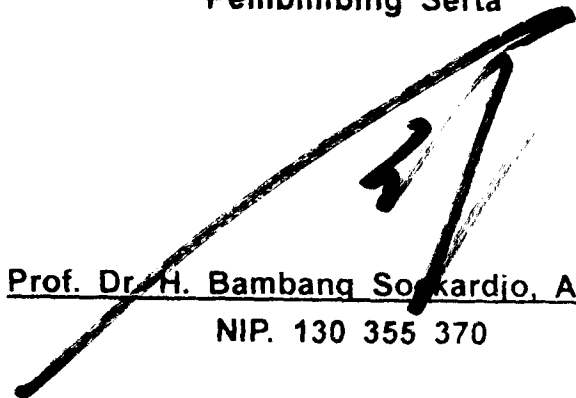
Pembimbing Utama



Drs. Robby Sondakh, Apt., MS.

NIP. 130 877 634

Pembimbing Serta



Prof. Dr. H. Bambang Soekardjo, Apt., SU.

NIP. 130 355 370

Ya Allah, gantikanlah kepedihan ini dengan kesenangan, jadikanlah kesedihan itu awal kebahagiaan, dan sirnakanlah rasa takut ini menjadi rasa Ten tram. Ya Allah, dinginkan panasnya kalbu dengan salju keyakinan, dan padamkan bara jiwa dengan air keimanan.

Wahai Rabb, anugerahkanlah pada mata yang tak dapat terpejam ini rasa kantuk dari-Mu yang menentramkan. Tuangkanlah dalam jiwa yang bergolak ini kedamaian. Dan, ganjarlah dengan kemenangan yang nyata. Wahai Rabb, tunjukkanlah pandangan yang kebingungan ini kepada cahaya-Mu. Bimbinglah sesatnya perjalanan ini ke arah jalan-Mu yang lurus. Dan tuntunlah orang-orang yang menyimpang dari jalan-Mu merapat ke hidayah-Mu.

Ya Allah, sirnakanlah keraguan terhadap fajar yang pasti datang dan memancar terang, dan hancurkan perasaan yang jahat dengan secercah sinar kebenaran. Hempaskan semua tipu daya setan dengan bantuan bala tentara-Mu.

Ya Allah, sirnakanlah dari kami rasa sedih dan duka, dan usirlah kegundahan dari jiwa kami semua. Kami berlindung kepada-Mu dari setiap rasa takut yang mendera. Hanya kepada-Mu kami bersandar dan bertawakal. Hanya kepada-Mu kami memohon, dan hanya dari-Mu lah semua pertolongan. Cukuplah Engkau sebagai pelindung kami, karena Engkaulah sebaik-baiknya pelindung dan penolong.

Seorang penyair mengatakan,
*"ku pejamkan mataku terhadap semua kotoran,
 dan ku kenakan pakaian sabar yang putih bersih,
 kala masalah menghimpitku, aku berdo'a kepada Allah,
 sejurus kemudian masalah itu pun terbuka,
 jalan-jalan itu tersumbat,
 tapi dengan berdo'a ia terbuka dengan sendirinya."*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang atas rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis berhasil menyelesaikan tugas skripsi ini, guna memenuhi syarat dalam mencapai gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya disampaikan kepada :

1. Bapak Drs. Robby Sondakh, Apt., MS dan Bapak Prof. Dr. H. Bambang Soekardjo, Apt., SU selaku dosen pembimbing yang dengan kesungguhan hati dan kesabaran memberikan bimbingan, pengarahan, dorongan, serta nasehat selama penelitian berlangsung dan selama penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. rer. nat. M. Yuwono, MS dan Ibu Dra. Suzana, Apt., M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Liza Pristianty, Apt., M.Si., MS selaku dosen wali yang penuh pengertian memberikan bimbingan dan dorongan selama belajar di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
4. Rektor Universitas Airlangga dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas untuk mengikuti pendidikan Program Sarjana.
5. Seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bekal ilmu yang diberikan selama ini.
6. Kepala Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga beserta staf, yang telah membantu melakukan identifikasi struktur senyawa hasil sintesis.
7. Mamaku tercinta, terima kasih atas segala pengorbanan, doa dan kasih sayang yang secara tulus telah dilimpahkan selama ini dan adikku Dewi yang tersayang, terima kasih atas kasih sayang dan semangatnya selama Aa' menyelesaikan skripsi ini.

8. Keluarga yang ada di Kalimantan Selatan (kai, nini, cica, ciyan, ciyi, dika, dina), terima kasih atas dukungan moril selama menyelesaikan skripsi ini.
 9. Teman-teman kampus Tussie, mba Win, Tia, Irma, Mila, Nadya, Devy, Meme, Widya, Isma dan teman-teman genap dan gasal Non Reg, terima kasih atas dorongan, semangat dan kebersamaan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
 10. Teman-teman seperjuangan yang skripsi di Laboratorium Kimia Medisinal mba Dian, Mia, Free, Iis, Shendy, mas Rendy, anak-anak salisilat, anak-anak kelapa dan anak-anak bakteri, terima kasih atas kerjasama, semangat dan bantuan selama menyelesaikan skripsi ini.
 11. Teman-teman kost Karmen III/16C Pipi, mba Endah, mba Linda, Amie, Dewi, Lely, mba Anies, Ila, Atiek, Idhul, Ratna, Ayoe, Viya dan Ela, terima kasih semangat dan dorongan yang telah diberikan.
 12. Teman-teman angkatan 2002 non reguler dan reguler.
 13. Para laboran Kimia Medisinal pak Tukijo dan pak Tanto yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian ini.
- Semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan rahmat atas segala kebaikan dan bantuan yang diberikan.
- Akhirnya, penulis persembahkan skripsi yang sederhana ini kepadamu Almamater Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, dengan harapan skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu farmasi pada umumnya dan ilmu kimia medisinal pada khususnya.

Surabaya, Agustus 2006

Penyusun

RINGKASAN

Sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*)

Penelitian pengembangan senyawa turunan benzoiltiourea sebagai penekan sistem saraf pusat (SSP), didasarkan pada struktur senyawa yang mengandung gugus ureida asiklik yang merupakan isosterik dari struktur obat penekan SSP pada umumnya. Adanya penggantian atom oksigen pada atom C₂ dari urea (C=O) dengan atom sulfur (C=S) menjadi tiourea menyebabkan awal kerja obat menjadi lebih cepat dan diharapkan aktivitas penekan sistem saraf pusat juga meningkat. Pada penelitian ini dilakukan modifikasi struktur senyawa benzoiltiourea menjadi senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea. Penambahan dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena ini diharapkan akan meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik senyawa sehingga aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat lebih tinggi daripada benzoiltiourea.

Pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea melalui reaksi asilasi antara senyawa tiourea dengan 3,4-diklorobenzoil klorida yang selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat pada mencit (*Mus musculus*) dan membandingkan aktivitasnya dengan senyawa benzoiltiourea.

Metode sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea berdasarkan metode sintesis senyawa benzoiltiourea (Suzana, dkk., 2004) menggunakan piridina dan pelarut tetrahidrofur dan dilakukan pemanasan 40°C selama 2,5 jam untuk menyempurnakan reaksi. Pemurnian senyawa hasil sintesis dilakukan dengan cara rekristalisasi dalam pelarut etanol panas. Persentase hasil yang diperoleh senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea adalah 47,26%. Uji kemurnian hasil sintesis dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis dan penentuan titik lebur. Adanya bercak tunggal pada pelat KLT dan titik lebur yang mempunyai selisih relatif kecil menunjukkan bahwa senyawa-senyawa hasil sintesis murni.

Identifikasi struktur dilakukan dengan Spektrofotometer Ultraviolet (UV), Spektrofotometer Infra Merah (IR) dan Spektrometer Resonansi Magnetik Inti (^1H -RMI). Berdasarkan analisis spektrum UV, IR dan ^1H -RMI, dapat disimpulkan bahwa struktur senyawa hasil sintesis sesuai dengan yang diharapkan.

Uji aktivitas penekan sistem saraf pusat senyawa hasil sintesis berupa uji potensiasi terhadap tiopental, kemudian dianalisis dengan *one way anova* menggunakan komputer program SPSS 11.5 menunjukkan bahwa senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea memberikan perbedaan bermakna dengan senyawa benzoiltiourea, yang berarti senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat yang lebih tinggi dibandingkan senyawa benzoiltiourea.

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa reaksi asilasi antara senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea dapat menghasilkan senyawa murni *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dengan persentase hasil sebesar 47,26%. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi terhadap tiopental lebih tinggi dibanding senyawa benzoiltiourea.

ABSTRACT**Synthesis of *N*-(3,4-dichlorobenzoyl)thiourea and
Central Nervous System Depressant Activity Test in Mice****Eka Purwanti**

This objective study was find new compounds acting on central nervous system, the researched was conclusion structure modification benzoylthiourea (*N*-(3,4-dichlorobenzoyl)thiourea) using the Topliss approach model by acylating the thiourea with derivated benzoyl chloride. These compounds have higher lipophilic and electronic properties compared to the lead compound benzoylthiourea, with the expectation of the increase of the central nervous system depressant. *N*-(3,4-dichlorobenzoyl) thiourea had been made by reacting 3,4-dichlorobenzoyl chloride with thiourea in tetrahydrofuran in the presence of pyridine. The percentage of the result of *N*-(3,4-dichlorobenzoyl)thiourea compound is 47.26%. The purity test of the synthesis product is shown by the single spot on the Thin Layer Chromatogram (TLC) and small difference of melting point. Characterization of the products of the synthesis was based on the analysis with UV and IR spectrophotometries and ¹H-NMR spectrometry. The activity test of the CNS depressant, by potentiation test to thiopental using mice (*Mus musculus*) shows that the *N*-(3,4-dichlorobenzoyl) thiourea have higher activities compared to the lead compound benzoylthiourea after having been analyzed with *one way anova* SPSS at $\alpha=0.05$.

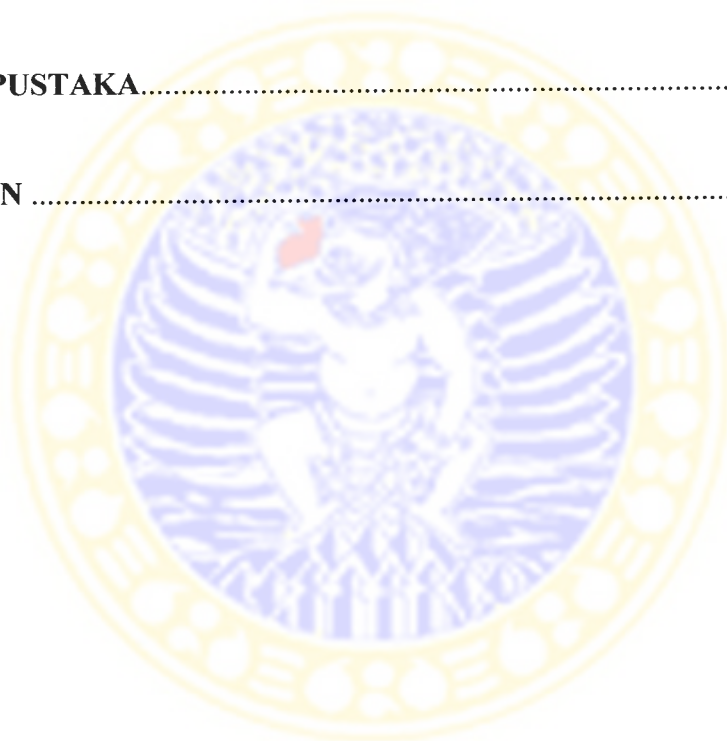
Keyword : *N*-(3,4-dichlorobenzoyl)thiourea, synthesis, CNS depressant activity.

DAFTAR ISI

Sampul depan	i
Sampul dalam	ii
Lembar pengesahan	iii
Kata Pengantar	iv
Ringkasan	vi
Abstract	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
 BAB I. PENDAHULUAN.....	 1
1.1. Latar Belakang Permasalahan.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Hipotesis Penelitian.....	6
1.5. Manfaat penelitian.....	6
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1. Tinjauan tentang Sistem Saraf Pusat.....	7
2.1.1. Mekanisme Penghantaran Rangsangan.....	7
2.1.2. Fisiologi Tidur.....	7
2.1.3. Gangguan Tidur.....	8
2.2. Tinjauan tentang Efek Penekan Sistem Saraf Pusat	9
2.3. Tinjauan tentang Obat Penekan Sistem Saraf Pusat.....	10
2.3.1. Macam-macam Obat Penekan Sistem Saraf Pusat.....	11
2.3.1.1. Turunan Barbiturat.....	11
2.3.1.2. Turunan Benzodiazepin.....	12
2.3.1.3. Turunan Ureida Asiklik.....	13
2.3.1.4. Turunan Alkohol.....	13
2.3.1.5. Turunan Piperidindion dan Kuinazolon.....	14
2.3.1.6. Turunan Aldehida.....	14
2.4. Tinjauan tentang Reaksi Asilasi.....	14
2.5. Tinjauan tentang Sintesis Senyawa Benzoilthiourea.....	17
2.6. Tinjauan tentang Identifikasi Struktur.....	17
2.6.1. Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Ultraviolet.....	17
2.6.2. Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Infrared.....	17

2.6.3. Identifikasi Struktur dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti.....	17
2.7. Tinjauan tentang Metode Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat dan Uji Potensi.....	18
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL.....	21
3.1. Kerangka Konseptual Penelitian.....	21
3.2. Bagan Alur Berfikir.....	23
BAB IV. BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN.....	24
4.1. Bahan.....	24
4.1.1. Bahan Kimia.....	24
4.1.2. Hewan Coba.....	24
4.2. Alat-alat.....	25
4.3. Metode Penelitian.....	25
4.3.1. Sintesis <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea.....	25
4.3.2. Identifikasi Senyawa Hasil Sintesis.....	26
4.3.2.1. Pemeriksaan Organoleptis.....	26
4.3.2.2. Uji Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	26
4.3.2.3. Uji Kemurnian dengan Pemeriksaan Titik Lebur.....	26
4.3.2.4. Identifikasi Struktur.....	26
4.3.3. Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat.....	27
4.3.3.1. Pembuatan Sediaan Benzoiltiourea.....	27
4.3.3.2. Pembuatan Sediaan <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea.....	27
4.3.3.3. Pembuatan Sediaan Tiopental.....	27
4.3.3.4. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak.....	28
4.3.3.5. Uji Aktivitas Potensi.....	28
4.3.4. Analisis Data.....	29
BAB V. HASIL PENELITIAN	30
5.1. Hasil Sintesis Senyawa <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	30
5.2. Identifikasi Hasil Sintesis Senyawa <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	30
5.2.1. Pemeriksaan Organoleptis	30
5.2.2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis	31
5.2.3. Penentuan Titik Lebur	31
5.2.4. Identifikasi Struktur	32
5.2.4.1. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Ultraviolet	32
5.2.4.2. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Infrared	32

5.2.4.3. Pemeriksaan dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti (RMI)	34
5.2.5. Hasil Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat	36
5.2.5.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak	36
5.2.5.2. Hasil Uji Aktivitas Potensiasi	37
5.2.6. Analisis Data Aktivitas Potensiasi	38
BAB VI. PEMBAHASAN	39
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	45
7.1. Kesimpulan	45
7.2. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1.	Struktur turunan Barbiturat, Bromisovalum dan Benzoilurea.....	2
Gambar 2.1.	Mekanisme Reaksi Asilasi antara Tiourea dan Senyawa Turunan Benzoil Klorida.....	15
Gambar 2.2.	Reaksi Asilasi antara Tiourea dan Senyawa 3,4-Diklorobenzoil Klorida.....	15
Gambar 2.2.	Reaksi hidrolisis kelebihan benzoilklorida.....	16
Gambar 3.1.	Bagan alur berfikir.....	23
Gambar 5.1.	Spektrum Ultraviolet <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea dalam pelarut Etanol	32
Gambar 5.2.	Spektrum Infrared <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea dalam pelet KBr	33
Gambar 5.3.	Spektrum ¹ H RMI Senyawa <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	35

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil Pemeriksaan Organoleptis <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	30
Tabel 5.2	Hasil Kromatografi Lapis Tipis Benzoiltiourea dan <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	31
Tabel 5.3	Hasil Penentuan Titik Lebur <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	31
Tabel 5.4	Karakteristik Spektrum Infrared <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)Tiourea	34
Tabel 5.5	Karakteristik Spektrum ¹ H RMI Senyawa <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	34
Tabel 5.6	Hasil Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea	36
Tabel 5.7	Hasil Penentuan Waktu Aktivitas Puncak <i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea	36
Tabel 5.8	Hasil Pengamatan Waktu Tidur pada Uji Potensiasi	37
Tabel 5.9	Harga Selisih Waktu Tidur Rata-rata Antar Perlakuan	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Gambar Mencit Setelah Pemberian Senyawa Uji dan Tiopental	49
Lampiran 2	Perhitungan Simpangan Baku dan Tes Kehomogenan Data	50
Lampiran 3	Uji Kemaknaan Senyawa Hasil Sintesis	51
Lampiran 4	Harga F_{tabel}	52



BAB I

PENDAHULUAN

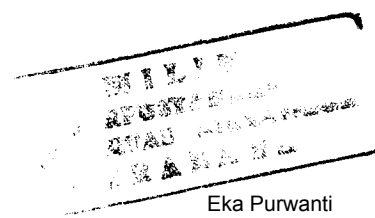
1.1. Latar Belakang

Di Negara yang sedang mengalami perkembangan pesat, seperti Indonesia menuntut manusia untuk menyesuaikan diri. Adakalanya tuntutan penyesuaian diri mengalami halangan dan kesukaran karena semakin kompleksnya permasalahan yang ada menimbulkan stres dan gangguan jiwa.

Salah satu cara untuk mengatasi stres dan gangguan jiwa adalah terapi dengan obat penekan sistem saraf pusat. Obat ini bekerja terhadap sistem saraf pusat dengan mempengaruhi fungsi-fungsi psikis dan proses-proses mental misalnya obat antipsikotik dan antidepresan (Tjay dan Rahardja, 2002).

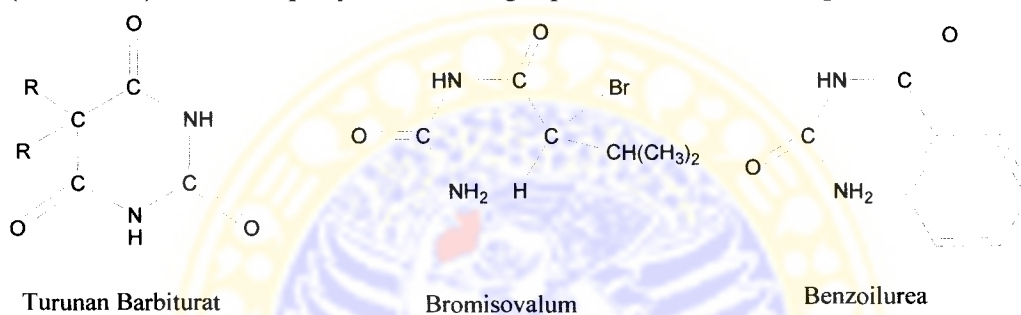
Penderita stres dan gangguan jiwa biasanya diobati dengan obat-obat penekan sistem saraf pusat yang bersifat menghambat aktivitas sistem saraf pusat misalnya golongan sedatif-hipnotik. Penggunaan obat-obat tersebut kadang menimbulkan efek samping yang tidak ringan dengan aktivitas yang belum tentu optimal. Kelebihan dosis dapat menimbulkan koma dan kematian karena terjadi depresi pusat medulla yang sangat penting di otak dan penggunaan jangka panjang menyebabkan toleransi dan ketergantungan fisik. Oleh karena itu, perlu adanya usaha mengembangkan obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektifitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping yang seminimal mungkin dan kenyamanan yang lebih baik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Metode pengembangan obat dewasa ini yang banyak dikembangkan adalah modifikasi molekul dengan optimasi senyawa penuntun (*lead compound*) yaitu senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas farmakologi terapi rendah, toksisitas tinggi atau kurang spesifik; dan rancangan obat yang rasional (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Variasi struktur mengakibatkan perubahan sifat fisika dan reaktivitas yang dapat menimbulkan perubahan distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa tersebut (Reksohadiprojo, 1988). Struktur kimia fisika berhubungan dengan aktivitas biologis yang dapat dinyatakan dengan



parameter-parameter yang menggambarkan perubahan sifat kimia fisika, yaitu parameter lipofilik, elektronik, dan sterik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Dalam usaha untuk mendapatkan senyawa bioaktif dengan aktivitas yang optimal sebagai penekan sistem saraf pusat telah dilakukan modifikasi struktur urea. Modifikasi struktur urea telah dilakukan melalui reaksi asilasi isovalerilklorida pada salah satu gugus amino dari urea menghasilkan isovalerilurea yang menunjukkan aktivitas penekan sistem saraf pusat seperempat dari aktivitas bromisoval (Reksohadiprodjo, 1988). Diduga karena isovalerilurea memiliki kemiripan struktur dengan bromisoval yaitu mengandung ureida siklik (Gambar 1), dan mempunyai efek sebagai penekan sistem saraf pusat.



Gambar 1.1. Struktur turunan Barbiturat, Bromisovalum dan Benzoilurea

Bromisoval (Bromural) adalah obat penekan sistem saraf pusat yang digunakan sebagai antistres apabila turunan barbiturat tidak efektif lagi. Bromisoval tidak dianjurkan untuk pengobatan jangka panjang karena secara *in vivo* bromisoval akan melepaskan bromida dan menyebabkan hiperbromida (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Untuk menghindari efek samping hiperbromida yang ditimbulkan oleh bromisoval dilakukan penelitian lebih lanjut, oleh Siswandono (1998) melalui reaksi asilasi senyawa urea dengan benzoil klorida menjadi benzoilurea. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa benzoilurea bekerja pada sistem saraf pusat, menyebabkan efek hipnotik yang lemah, memberikan efek potensiasi dengan tiopental, menyebabkan gangguan koordinasi gerak, dan menunjukkan efek antikejang pada mencit. Hal tersebut membuktikan bahwa gugus ureida asiklik pada senyawa benzoilurea merupakan gugus fungsi untuk aktivitas pada sistem saraf pusat, seperti pada senyawa bromisoval.

Modifikasi struktur senyawa penuntun yang berdasarkan pada pemilihan gugus atau substituen secara rasional, bertujuan untuk mendapatkan senyawa dengan aktivitas yang lebih tinggi dan mengurangi faktor coba-coba seminimal mungkin (Siswandono dan Soekardjo, 1998). Oleh karena itu, usaha untuk mendapatkan senyawa baru yang bekerja pada sistem saraf pusat dilakukan dengan modifikasi senyawa benzoilurea. Modifikasi struktur benzoilurea telah dilakukan melalui sintesis beberapa senyawa turunan benzoilurea dengan memasukkan gugus-gugus pada cincin benzena melalui model pendekatan Topliss. Senyawa-senyawa turunan benzoilurea ini selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua mempunyai efek pada sistem saraf pusat berupa gangguan koordinasi gerak. Sedangkan efek hipnotiknya menurun secara drastis dibanding senyawa induk benzoilurea. Penurunan ini diduga adanya halangan ruang oleh penambahan gugus-gugus pada cincin benzena senyawa induk benzoilurea. Fenomena ini menunjukkan bahwa cincin aromatik dan ureida asiklik merupakan gugus fungsi untuk aktivitas penekan sistem saraf pusat (Siswandono, 1999).

Aktivitas biologis suatu senyawa dipengaruhi oleh sifat kimia fisika, yang dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu sifat lipofilik, elektronik dan sterik. Sifat lipofilik terutama mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik terutama mempengaruhi proses interaksi obat reseptor dan juga mempengaruhi penembusan biologis, sedangkan sifat sterik terutama menentukan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor dalam sel (Purcell *et al*, 1972; Block, 1991). Peningkatan sifat lipofilik dapat dilakukan dengan memasukkan gugus atau substituen nonpolar, sedangkan peningkatan sifat elektronik dilakukan dengan memasukkan substituen yang bersifat elektronegatif, seperti halogen, ke dalam cincin aromatik (Siswandono, 1999). Kekuatan maksimum golongan sedatif-hipnotik terjadi pada koefisien partisi antara fase lipid dan air (oktanol-air) mendekati 100 ($\log P = 2$) (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Hal ini membuktikan bahwa aktivitas penekan sistem saraf pusat dipengaruhi oleh sifat lipofilik, elektronik dan sterik.

Modifikasi struktur *N,N'*-dibenzoilurea telah dilakukan oleh Suhud (2002), antara lain *N*-(3,4-diklorobenzoil)-*N'*-benzoilurea. Pemasukan dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena tersebut untuk meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik senyawa sehingga aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusatnya lebih tinggi daripada senyawa induknya.

Pada obat sedatif-hipnotik golongan barbiturat terdapat senyawa tiopental yang mengandung atom sulfur menggantikan oksigen pada atom C₂ dari strukturnya (C=O) dengan atom sulfur (C=S). Hal ini menyebabkan awal kerja obat menjadi lebih cepat (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Analog terhadap senyawa tiopental dilakukan pada senyawa benzoilurea yaitu dengan penggantian atom oksigen pada C₂ senyawa urea dengan atom sulfur yang terdapat pada tiourea [H₂N-(C=S)-HN₂]. Modifikasi benzoilurea menjadi benzoiltiourea tersebut dilakukan oleh Suzana dkk (2004) melalui sintesis turunan tiourea dengan reaksi asilasi. Reaksi asilasi pada sintesis turunan tiourea asiklik merupakan reaksi substitusi nukleofilik pada gugus karbonil yang dipengaruhi oleh kebiasaan dari nukleofil.

Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi struktur senyawa benzoiltiourea melalui pembentukan senyawa turunan benzoiltiourea yaitu *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea. Adanya dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena ini diharapkan akan meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik senyawa sehingga aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat lebih tinggi daripada induknya. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea akan meningkatkan nilai Log P senyawa induk benzoiltiourea sehingga lebih mendekati nilai optimum. Dimana nilai optimum yang dimaksud adalah kekuatan maksimum golongan sedatif-hipnotik yang terjadi pada koefisien partisi antara fase lipid dan air (oktanol-air) mendekati 100 (log P = 2) (Daniels and Jogersen, 1992). Dengan bantuan program komputer ChemOffice telah dihitung bahwa nilai Log P senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea adalah 2,24; sedangkan Log P senyawa induk benzoiltiourea adalah 1,12.

Senyawa yang mengandung gugus amina primer dapat disintesis melalui reaksi asilasi dengan turunan asil klorida atau benzoil klorida menggunakan metode *Schotten-Baumann* (Mc Murry, 1984). Substitusi suatu gugus asil pada

cincin aromatik diantaranya juga dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi suatu halida asam dan katalisator AlCl_3 disertai dengan pemanasan pada suhu 80°C . Reaksi ini seringkali merupakan metode terpilih untuk membuat aril keton (Fessenden, 1999).

Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan uji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat. Rancangan sintesis dalam penelitian ini adalah melakukan reaksi asilasi antara tiourea dengan 3,4-diklorobenzoil klorida. Ada beberapa metode reaksi asilasi antara lain metode pencampuran fisik (Reksohadiprojo, 1988), dan metode *Schotten-Baumann*. Reaksi asilasi antara tiourea dengan 3,4-diklorobenzoil klorida dilakukan dengan menggunakan metode *Schotten-Baumann* dengan menggunakan pelarut tertentu yang dapat melarutkan reaktan.

Senyawa hasil sintesis kemudian diuji kemurniannya dengan penentuan titik lebur dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Untuk mengidentifikasi struktur dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan Inframerah (IR), serta Spektrometer Massa dan Resonansi Magnet Inti (^1H NMR) kemudian diuji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat.

Uji aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat diantaranya dapat dilakukan dengan uji lama tidur (*sleeping time*), uji potensiasi dengan turunan barbiturat, uji rotarod (batang putar), kandang aktivitas, dan uji dengan penghitung foto sel. *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea akan diuji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat melalui uji potensiasi turunan barbiturat yaitu tiopental karena tiopental mempunyai waktu aksi yang sangat pendek sehingga mempermudah pengamatan (Levine, 1983). Senyawa pembanding yang digunakan yaitu benzoiltiourea, uji aktivitas dilakukan dengan mengamati waktu mulai tidur sampai waktu bangun (lama tidur). Hewan coba yang digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*) galur BLAB/C.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara tiourea dengan 3,4-diklorobenzoyl klorida dan berapakah persentase hasil sintesis yang didapat?
2. Apakah senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea mempunyai aktivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan senyawa benzoiltiourea?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mensintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dari tiourea dengan 3,4-diklorobenzoyl klorida.
2. Menguji efek penekan saraf pusat senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea pada mencit (*Mus musculus*) dan membandingkan aktivitasnya dengan senyawa benzoiltiourea.

1.4. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

1. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara tiourea dengan 3,4-diklorobenzoyl klorida.
2. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea mempunyai aktivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan senyawa benzoiltiourea.

1.5. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dihasilkan senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea yang mempunyai aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat yang lebih baik, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif calon obat penekan sistem saraf pusat setelah melalui uji-uji lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang Sistem Saraf Pusat

2.1.1. Mekanisme Penghantaran Rangsangan

Sistem saraf pada manusia khususnya otak mempunyai kemampuan dan fungsi yang jauh lebih berkembang daripada sistem saraf makhluk hidup lainnya. Sistem saraf berfungsi sebagai berikut :

- a. menerima rangsang dari lingkungan maupun yang terjadi dalam tubuh
- b. mengubah rangsang, menghantarkan, dan memprosesnya
- c. mengkoordinasi dan mengatur fungsi tubuh melalui impuls yang dilepaskan dari pusat ke perifer.

Unit dasar sistem saraf adalah neuron (sel saraf), termasuk akson dan dendrit yang terlingkup oleh membran yang terdiri atas lapisan lipoprotein yang bersifat semipermeabel. Dalam keadaan diam, masing-masing neuron yang mempunyai potensial diam dapat memberi respon terhadap rangsangan luar melalui perubahan aktivitas listrik sehingga terjadi potensial kerja (Foye, 1995).

Penghantaran rangsang dan sinaptik terjadi antara neuron prasinaptik dan neuron pascasinaptik yang melewati ruang sinaptik. Apabila gelombang depolarisasi mengenai sepanjang badan akson, maka akan dilepaskannya sejumlah transmitter kimia dari ujung saraf prasinaptik yang akan berdifusi ke celah sinaptik dan terikat oleh reseptor pada membran pascasinaptik (Guyton, 1987).

2.1.2. Fisiologi Tidur

Dahulu, tidur pernah dianggap merupakan proses pasif dimana sesudah melakukan suatu periode siaga sehari, sistem aktivasi retikular dan bagian otak lain akan lelah dan menjadi inaktif (Guyton, 1987). Namun, penemuan revolusioner Moruzzi dan Magoun telah mengubah teori tersebut. Mereka menyatakan bahwa tidur merupakan proses aktif yang diatur melalui pengaturan sistem pengaktifan retikular. Peningkatan aktivitas menyebabkan keadaan bangun dan pengurangan aktivitas menghasilkan keadaan tidur (Foye, 1995).

Menurut Mutschler (1991), berdasarkan pengukuran neurofisiologik dapat ditemukan berbagai jenis tidur, yaitu :

1. Tidur ortodoks atau NREM (*Non Rapid Eye Movement*)

Menurut Dement dan Kleitman (Mutschler, 1991), tidur ortodoks dibagi dalam empat fase tidur, yaitu :

- a. Stadium I, dimulai kantuk pertama dan ditandai oleh pelepasan tonus otot dan asilasi bola mata yang lambat pada elektrookulogram (EOG) atau disebut stadium memasuki tidur.
- b. Stadium II, merupakan tidur sungguh-sungguh yang ringan. Dari masa tidur total, 45-50% dijalani pada tidur stadium ini.
- c. Stadium III, atau stadium dimana tidur cukup dalam. Saat ini, voltase elektroensefalografi (EEG) terus meningkat dan frekuensi terus menurun.
- d. Stadium IV, atau stadium tidur dalam bercirikan gelombang delta (gelombang lambat beramplitudo) yang mungkin ditimbulkan secara intrinsik oleh korteks.

Pada tidur ortodoks ini terjadi pengurangan tekanan darah, frekuensi pernapasan, dan kecepatan metabolisme basal 10 sampai 30%.

2. Tidur paradoks atau REM (*Rapid Eye Movement*)

Tidur ini terjadi setelah tidur NREM (stadium I sampai IV) selesai, dimana terjadi pemutusan gelombang delta dengan terjadinya gejolak aktivitas secara tiba-tiba yang ditandai oleh gerakan mata cepat dan pola elektroensefalografi (EEG) dengan aneka frekuensi.

Karakteristik pada tidur REM, antara lain timbulnya mimpi yang sangat aktif, tonus otot seluruh tubuh sangat berkurang, kecepatan denyut jantung dan pernapasan menjadi irregular.

2.1.3. Gangguan Tidur

Gangguan tidur selalu terjadi apabila sistem yang mengaktifkan retikular menaik distimulasi dengan kuat. Stimulasi ini dapat terjadi baik dari perifer (misalnya oleh nyeri) atau oleh impuls pusat (misalnya oleh ketegangan).

Penyebab tidur diantaranya adalah (Mutschler, 1991) :

- a. Gangguan organik. Misalnya tumor otak, rangsang gatal dan insufisiensi jantung dengan kesulitan pernapasan.

- b. Beban kejiwaan dan psikis. Hal ini disebabkan oleh semakin meningkatnya tuntutan antara lain karena pekerjaan, masalah keluarga dan kasus kematian.
- c. Cara hidup yang tidak sehat. Misalnya akibat perubahan ritme tidur, obat atau bahan yang merangsang saraf pusat, kurangnya kegiatan jasmani, dan makan terlalu banyak pada malam hari.
- d. Rangsang yang berlebih-lebihan antara lain terlalu lama menonton televisi atau akibat kebisingan lalu lintas.

2.2. Tinjauan tentang Efek Penekan Sistem Saraf Pusat

Berdasarkan efek farmakologinya obat penekan sistem saraf pusat dibagi dalam lima golongan yaitu anestetik umum, sedatif-hipnotik, relaksan otot rangka, obat antipsikosis dan obat antikejang (Siswandono dan Purwanto, 2000).

Anestetik umum adalah senyawa yang dapat menekan aktivitas fungsional sistem saraf pusat sehingga menyebabkan hilangnya kesadaran, menimbulkan efek analgesik dan relaksasi otot serta menurunkan aktivitas motorik. Mekanisme kerjanya tidak selektif dan aktivitas lebih ditentukan oleh sifat kimia fisika senyawa daripada oleh interaksinya dengan reseptor (Siswandono dan Purwanto, 2000).

Sedatif-hipnotik adalah senyawa yang mempunyai aktivitas menekan sistem saraf pusat. Senyawa ini umumnya menimbulkan efek sedasi, yaitu suatu keadaan terjadinya penurunan kepekaan terhadap rangsangan dari luar karena ada penekanan sistem saraf pusat yang ringan. Sedatif digunakan untuk menekan kecemasan yang diakibatkan oleh ketegangan emosi dan tekanan kronik yang disebabkan oleh penyakit atau faktor sosiologi untuk menunjang pengobatan hipertensi, untuk mengontrol kejang dan untuk menunjang efek anestesi sistemik. Dalam dosis besar, sedatif berfungsi sebagai hipnotik, senyawa ini dapat menyebabkan tidur pulas. Hipnotik digunakan untuk pengobatan gangguan tidur, seperti insomnia (Siswandono dan Purwanto, 2000).

Anestetik umum dan sedatif-hipnotik bekerja pada fungsi sistem saraf pusat (Doerge, 1982). Pada dosis terapi obat sedatif menekan aktivitas, menurunkan respon terhadap rangsangan emosi dan menenangkan (Ganiswara, 1995). Obat hipnotik dapat menyebabkan kantuk dan mempermudah tidur yang

menyerupai tidur fisiologi. Secara umum golongan sedatif-hipnotik bekerja dengan mempengaruhi fungsi pengaktifan retikula, rangsangan pusat tidur dan menghambat fungsi pusat bangun (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Pada pemakaian klinis perbedaan sedatif dan hipnotik terutama terletak pada waktu yang diperlukan untuk permulaan depresi dan lamanya obat tersebut bekerja. Tingkat depresi tergantung pada kekuatan obat yang dipilih, dosis yang digunakan dan cara pemberiannya. Semua obat sedatif-hipnotik mampu menimbulkan depresi dengan jarak dari sedasi ringan, suatu kondisi dimana penderita masih terjaga tetapi sifat kegairahannya menurun, sampai tertidur.

Relaksan pusat adalah senyawa yang dapat menekan fungsi saraf pusat dan menimbulkan relaksasi otot rangka. Golongan ini digunakan untuk meningkatkan relaksasi otot rangka, pada keadaan kekejangan atau spasme. Juga berguna untuk membantu menurunkan ketegangan atau menangani stres, patah tulang dan mengurangi berbagai keluhan akibat kekejangan otot rangka (Siswandono dan Purwanto, 2000).

Relaksan pusat pada tingkat terapeutik menunjukkan kesamaan dengan efek sedasi yang dihasilkan oleh sedatif-hipnotik. Relaksan otot rangka bekerja secara sentral pada otak dan saraf tulang belakang (Siswandono dan Purwanto, 2000; Doerge, 1982).

2.3. Tinjauan tentang Obat Penekan Sistem Saraf Pusat

Obat-obat penekan sistem saraf pusat menimbulkan efeknya dengan mendepresi secara tidak selektif struktur sinaptik, termasuk jaringan prasinaptik dan pascasinaptik. Obat-obat ini menstabilkan membran neuron dengan mendepresi struktur pascasinaptik, disertai dengan pengurangan jumlah transmitter kimia yang dilepaskan oleh neuron prasinaptik (Vida, 1995).

Obat dapat menimbulkan efeknya pada sel saraf pascasinaptik dengan mengganggu pembentukan potensial pascasambungan. Ini biasanya dilakukan dengan mendepolarisasi sel pascasinaptik, yang disebabkan oleh peningkatan permeabilitas membran sel saraf pascasinaptik. Akibatnya, pelepasan zat transmitter tidak akan menimbulkan depolarisasi. Ambang pascasinaptik yang

lebih tinggi dapat disebabkan oleh penurunan permeabilitas membran sel pascasinaptik (Vida, 1995).

Obat-obat sedatif-hipnotik bekerja pada aksis serebrospinal, pada pemakaian klinis perbedaannya terletak pada waktu yang diperlukan untuk permulaan depresi dan lamanya obat tersebut bekerja. Tingkat depresi tergantung pada kekuatan obat yang dipilih, dosis yang digunakan dan cara pemberiannya. Obat-obat mampu menimbulkan depresi dengan jarak dari sedasi ringan, suatu kondisi dimana penderita masih terjaga tetapi sifat kegairahannya menurun, sampai tidur. Pada dosis cukup tinggi, diteruskan depresi sistem saraf pusat, dan pada banyak obat sedatif-hipnotik menimbulkan anestesi bedah. Tahap selanjutnya adalah timbul perasaan gelisah disebabkan depresi lebih tinggi pada pusat kortikal, menghasilkan anestesi bedah dengan dua aksi sedatif-hipnotik dan anestesi.

Sedatif-hipnotik dengan durasi aksi pendek sampai menengah berguna dalam menghilangkan insomnia individual. Sedangkan pada gangguan eksternal atau kelainan psikik sering terjaga selama tidur digunakan obat sedatif-hipnotik dengan aksi panjang.

2.3.1. Macam-macam Obat Penekan Sistem Saraf Pusat

Obat-obat sedatif-hipnotik umumnya tidak memiliki struktur umum yang khas, tetapi bermacam-macam senyawa kimia telah digunakan dalam terapi klinik. Penggolongannya berdasarkan pada struktur kimia senyawa.

2.3.1.1. Turunan Barbiturat

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 pemberian, barbiturat dapat menimbulkan berbagai tingkat depresi, sedasi, hipnotik atau anestesi (Vida, 1995).

Aksi hipnotik turunan barbiturat adalah dengan 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.

Mekanisme hipnotik yang menghasilkan depresi selektif belum diketahui secara pasti, tetapi barbiturat dinyatakan beraksi pada batang otak formasi

retikular dengan menurunkan jumlah impuls saraf yang naik ke korteks serebral, sehingga korteks serebrum menjadi terdeaktivasi (Vida, 1995). Barbiturat bekerja dengan cara mengubah mekanisme hantaran sinaptik. Dalam kadar cukup, obat ini menurunkan atau menghambat sel pascasinaptik untuk dapat dieksitasi dengan mengubah permeabilitas membran sel. Hantaran sinaptik yang mengeksitasi ditekan oleh barbiturat, sedangkan hantaran sinaptik yang menghambat biasanya tidak terpengaruh (Vida, 1995). Barbiturat adalah zat antidepolarisasi penghalang, karena zat ini mencegah pembentukan potensial pascasinaptik yang mengeksitasi.

Penghambatan oleh barbiturat hanya terjadi pada sinaps GABA-nergik. Walaupun demikian efek yang terjadi mungkin tidak semuanya melalui GABA sebagai mediator.

Barbiturat memperlihatkan beberapa efek yang berbeda pada eksitasi dan inhibisi transmisi sinaptik. Kapasitas barbiturat membantu GABA sebagian menyerupai kerja benzodiazepin, namun pada dosis yang lebih tinggi bersifat sebagai agonis GABA-nergik, sehingga pada dosis tinggi barbiturat dapat menimbulkan depresi sistem saraf pusat yang berat.

Pada sistem saraf pusat, barbiturat secara selektif menekan transmisi ganglia otonom dan mereduksi eksitasi nikotinik oleh ester kolin (Ganiswara, 1995).

2.3.1.2. 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 juga mempunyai efek menghilangkan ketegangan (anxiolitik, tranquilizer minor), relaksasi otot dan antikejang. Untuk gangguan tidur, selain digunakan diazepam juga nitrazepam dan flurazepam. Diazepam dan khususnya klonazepam penting sebagai antiepilepsi. Benzodiazepin terikat secara spesifik pada reseptor benzodiazepin yang terdapat di sistem saraf pusat. Dianggap bahwa reseptor ini membentuk satu kesatuan yang fungsional dengan reseptor GABA. Interaksi benzodiazepin dengan reseptor spesifik akan meningkatkan kepekaan reseptor GABA (Schunack *et al*, 1990).

Kerja benzodiazepin merupakan potensiasi inhibisi neuron dengan asam gamma-aminobutirat (GABA) sebagai mediator. GABA dan benzodiazepin yang aktif secara selektif dengan reseptor GABA/benzodiazepin/chlorida ionofor kompleks. Pengikatan ini akan menyebabkan pembukaan kanal Cl^- . Membran sel saraf secara normal tidak permeabel terhadap ion klorida, tetapi bila kanal Cl^- terbuka, memungkinkan masuknya ion klorida. Meningkatkan potensial elektrik sepanjang membran sel dan menyebabkan sel sukar tereksitasi.

Kemungkinan terbukanya kanal klorida sangat ditingkatkan oleh terikatnya GABA pada reseptor kompleks tersebut. Benzodiazepin sendiri tidak dapat membuka kanal klorida dan menghambat neuron. Sehingga benzodiazepin merupakan depresan yang relatif aman (Ganiswara, 1995).

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 Purwanto, 2000).

2.3.1.3. Turunan Ureida Asiklik

Turunan ureida asiklik digunakan untuk pengobatan kecemasan dan ketegangan saraf yang ringan, bila turunan barbiturat sudah tidak efektif (Siswandono dan Purwanto, 2000). Merupakan hasil reaksi antara asam monokarboksilat dan turunannya dengan urea. Asilasi urea menghasilkan ureida, misalnya asetil klorida dan urea membentuk asetilurea.

Contoh senyawa turunan ureida asiklik adalah bromisovalum dan karbromal, kedua senyawa ini dahulu sering digunakan obat penekan sistem saraf pusat karena keamanan pemakaiannya (Vida, 1995). Penggunaan jangka panjang tidak dianjurkan karena pada in vivo senyawa akan melepas bromida dan menyebabkan hiperbromida (Siswandono dan Purwanto, 2000).

2.3.1.4. Turunan Alkohol

Etanol dan homolognya yang berantai lurus menunjukkan kerja hipnotik serta narkotik. Kerja maksimumnya tercapai pada n-Oktanol. Namun hanya senyawa alkohol tersier yang dapat diberikan pada dosis yang lebih rendah (Schunack *et al*, 1990). Pada dosis sedatif-hipnotik, etanol cepat menimbulkan

alkoholisme kronik dan hanya efektif bila digunakan dalam jumlah besar, sehingga penggunaannya sebagai sedatif-hipnotik tidak dianjurkan (Siswandono dan Purwanto, 2000).

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 Purwanto, 2000).

2.3.1.5. Turunan Piperidindion dan Kuinazolon

Dari segi struktur dan sifat farmakologi turunan piperidindion berhubungan dengan senyawa 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 metilprilon, glutetimid dan talidomid (Siswandono dan Purwanto, 2000).

2.3.1.6. Turunan Aldehida

Turunan aldehida mempunyai efek sedatif-hipnotik dengan awal kerja cepat dan waktu paro pendek. Contoh senyawa dari turunan ini adalah paraldehida dan kloralhidrat (Siswandono dan Purwanto, 2000).

Turunan aldehida kurang penting sebagai hipnotik, karena sifat-sifat yang tidak menguntungkan pada penggunaannya. Kedua zat ini mempunyai 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 (Schunack *et al*, 1990; Siswandono dan Purwanto).

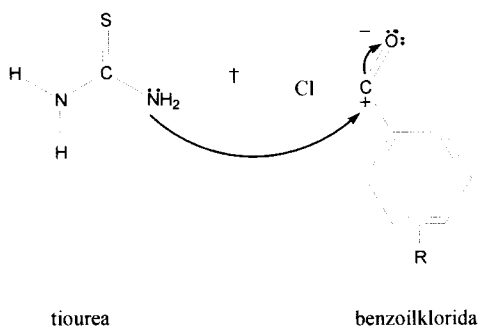
2.4. Tinjauan tentang Reaksi Asilasi

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

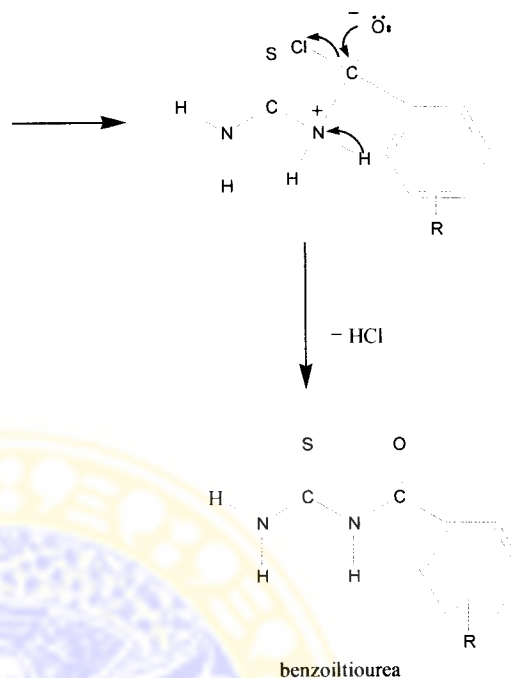
Zat pengasilasi bertindak sebagai elektrofil, sedangkan gugus yang diserang oleh nukleofil adalah atom karbon pada gugus karbonil.

Mekanisme reaksi asilasi terjadi melalui dua tahap, yaitu :

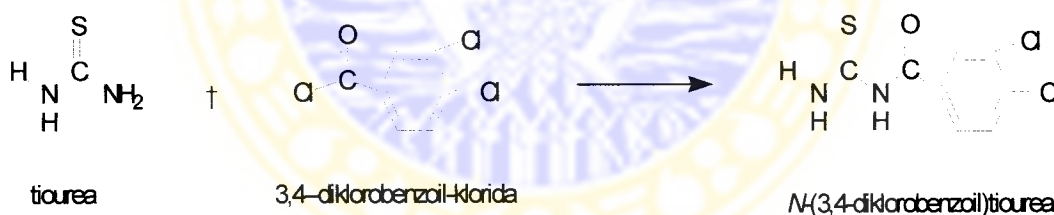
Reaksi tahap I :



Reaksi tahap II :

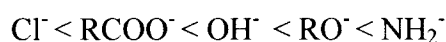


Gambar 2.1. Mekanisme Reaksi Asilasi antara Tiourea dan Senyawa Turunan Benzoil Klorida



Gambar 2.2. Reaksi Asilasi antara Tiourea dan Senyawa 3,4-Diklorobenzoil Klorida

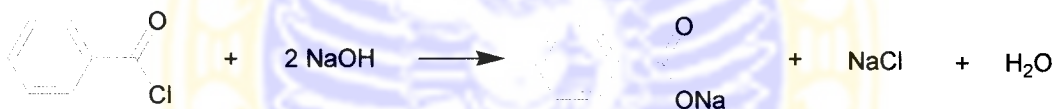
Pada tahap pertama terjadi penyerangan pada gugus karbonil dan pembentukan hasil antara tetrahedral. Tahap kedua adalah penataan kembali elektron-elektron dan diikuti pengusiran gugus pergi yang tergantung pada kebiasaan gugus pergi. Basa yang lemah merupakan suatu gugus pergi yang baik (Fessenden, 1999). Adapun urutan kebiasaan gugus pergi adalah :



Benzoilasi adalah reaksi antara klorida asam aromatik dengan alkohol, fenol atau senyawa amina. Pada reaksi benzoilasi, atom hidrogen dari gugus hidroksi atau gugus amina primer maupun sekunder diganti dengan gugus benzoil.

Senyawa yang mengandung gugus amina primer dapat disintesis melalui reaksi asilasi dengan turunan asil klorida atau benzoil klorida menggunakan metode *Schotten-Baumann*. Dalam metode ini sintesis dilakukan dalam suasana basa. Cara ini dilakukan apabila semua bahan pereaksi terlarut dalam pelarut yang digunakan (Mc Murry, 1984).

Senyawa amina atau garamnya dilarutkan atau disuspensikan ke dalam 8-15% larutan NaOH, kemudian ditambahkan 10-15% benzoil klorida setetes demi setetes dan campuran ini diaduk cepat dengan menggunakan pengaduk magnet selama beberapa menit. Reaksi benzoilasi berlangsung dengan cepat dan senyawa hasil reaksinya memisah membentuk endapan terpisah dan sukar larut. NaOH berfungsi untuk menghidrolisis kelebihan benzoil klorida, menghasilkan natrium benzoat, dan natrium klorida yang larut air.



Gambar 2.2. Reaksi hidrolisis kelebihan benzoil klorida

Selain NaOH, pelarut yang umum digunakan adalah piridina (suatu basa organik). Fungsi basa organik ini tidak hanya untuk menetralkan asam klorida yang dihasilkan tetapi juga untuk mengikat klorida yang dilepas oleh benzoil klorida, terutama piridina yang dapat meningkatkan kemampuan pengasilasi klorida asam (Mc Murry, 1984).

Substitusi suatu gugus asil pada cincin aromatik juga dapat dilakukan dengan metode asilasi Friedel-Crafts. Reaksi asilasi aromatis ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi suatu halida asam dan katalisator AlCl_3 disertai dengan pemanasan pada suhu 80°C . Reaksi ini seringkali merupakan metode terpilih untuk membuat aril keton (Fessenden, 1999).

2.5. Tinjauan tentang Sintesis Senyawa Benzoiltiourea

Sintesis benzoiltiourea dilakukan melalui reaksi asilasi tiourea dengan senyawa benzoilklorida (Suzana, dkk). Benzoilklorida dapat diperoleh dengan mereaksikan asam benzoat dengan tionil klorida (SO_2Cl). Turunan benzoilklorida bersifat sangat reaktif, dengan adanya air dapat berubah kembali menjadi asam karboksilat dan dengan adanya alkohol (ROH) dapat membentuk ester (RCOOR') (Mc Murry, 1984).

Benzoilklorida dapat bereaksi secara cepat dan sempurna dengan senyawa amina primer, sekunder, atau tersier membentuk senyawa amida dengan persentase hasil yang cukup baik. Pada umumnya sebagai pelarut digunakan piridina yang bersifat basa lemah untuk mengikat ion klorida yang dilepaskan oleh senyawa benzoil klorida.

2.6. Tinjauan tentang Identifikasi Struktur

2.6.1. Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Ultraviolet

Identifikasi struktur dengan Spektrofotometer Ultraviolet merupakan identifikasi secara kualitatif dengan melihat intensitas dan panjang gelombang (λ) maksimum dari spektrum senyawa yang terbentuk. Intensitas dan λ maksimum tergantung dari struktur elektronik dari gugus yang terdapat dalam struktur molekul senyawa. Gugus yang dapat menyebabkan terjadinya serapan cahaya pada daerah ultraviolet dan sinar tampak disebut gugus auktokrom (Mulja dan Suharman, 1995).

2.6.2. Identifikasi Struktur dengan Spektrofotometer Infra Merah

Struktur dan gugus fungsi yang terdapat dalam suatu molekul dapat diketahui melalui identifikasi menggunakan Spektrofotometer Infrared dengan mengamati intensitas dan bilangan gelombang pita serapan dari spektrum yang terbentuk. Spektrum Infrared molekul dihasilkan dari transisi antara tingkat energi getaran yang berbeda (Mulja dan Suharman, 1995).

2.6.3. Identifikasi Struktur dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti

Identifikasi struktur dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti digunakan untuk identifikasi struktur senyawa organik. Dari banyak unsur senyawa organik yang dipelajari dalam resonansi magnet inti, yang lebih banyak

digunakan adalah inti hidrogen (^1H). Melalui spektroskopi ^1H -resonansi dapat diketahui lingkungan kimia dari atom hidrogen, jumlah atom hidrogen dalam setiap lingkungan, dan struktur gugus yang berdekatan dengan setiap atom hidrogen (Mulja dan Suharman, 1995).

2.7. Tinjauan tentang Metode Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat dan Uji Potensiasi

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 lazim digunakan adalah mencit dan satu sampai dua spesies yang lebih besar seperti anjing, babi atau kera. Uji aktivitas tersebut dilakukan dengan mengukur induksi obat yang mengubah siklus tidur ketidaksadaran (Ganiswara, 1995).

Uji untuk senyawa sedatif-hipnotik salah satunya adalah dengan menentukan efek potensiasi terhadap senyawa penekan sistem saraf pusat yang lain. Efek ini timbul jika suatu senyawa yang memberikan efek penekan sistem saraf pusat diberikan bersama dengan senyawa yang lain yang juga mempunyai efek yang sama. Kombinasi ini ditujukan untuk meningkatkan persentase efek menekan sistem saraf pusat. Atau dengan kata lain penambahan atau kombinasi dengan senyawa potensiator akan dapat meningkatkan persentase efek (Laurence and Bacharach, 1964).

Efek farmakologi kebanyakan obat yang diamati berhubungan dengan dosis, dosis kecil menyebabkan sedasi, sedangkan dosis yang lebih besar menyebabkan hipnotik. Pada dosis terapi obat sedatif menekan aktivitas, menurunkan respon terhadap rangsangan emosi dan menenangkan. Obat hipnotik menyebabkan kantuk dan mempermudah tidur serta mempertahankan tidur yang menyerupai tidur fisiologis (Ganiswara, 1995).

Ciri khas efek sedasi adalah menurunnya kesadaran tanpa kehilangan sedikitpun reflek tegak. Kesadaran akan terpulihkan secara cepat, rangsangan panca indera segera menghasilkan kesadaran sepenuhnya dan kesanggupan berdiri tegak. Sedangkan hipnotik mempunyai ciri khas hilangnya kemampuan untuk bangun dari refleks tegak untuk sementara waktu. Suatu senyawa adalah hipnotik

jika menyebabkan tidur pada hewan coba. Waktu tidur dinyatakan sebagai periode waktu hewan kehilangan reflek tegaknya, yaitu bila hewan tersebut tidak mampu menyentuh permukaan diam dengan seluruh cakarnya dan dapat diletakkan pada sisinya atau punggungnya tanpa segera tegak kembali. Akhir periode tidur adalah saat hewan itu tidak lagi rebah pada sisinya atau punggungnya tetapi kembali dengan sendirinya ke posisi tegak yang normal. Waktu induksi dan waktu tidur dicatat kedua-duanya (Vida, 1995).

Uji aktivitas sedatif-hipnotik dapat dilakukan melalui refleks tegak (*the righting reflex*). Pada metode ini hewan coba diletakkan dengan posisi terbalik pada permukaan berombak. Jika dalam periode tertentu hewan coba tetap dalam posisi semula, dikatakan hewan coba telah kehilangan refleks tegaknya (Thompson, 1990).

Selain itu telah diperkenalkan beberapa metode, antara lain (Foye, 1995) :

Obat-obat yang menyebabkan sedasi bekerja dengan menekan sistem saraf pusat. Ada beberapa metode untuk mengukur tingkat sedasi antara lain adalah :

1. Menentukan lama tidur (*sleeping time*) yaitu mengukur tingkat sedasi dengan memberi angka bagi berkurangnya perubahan aktivitas dalam sikap dan lamanya pemicangan mata.
2. Penentuan aktivitas gerak hewan coba (*motor activity*) pada kandang aktivitas. Setiap gerakan kelompok mencit pada kandang aktivitas dicatat secara listrik. Perbedaan gerakan sekelompok mencit yang disedasi dibandingkan dengan mencit pembanding merupakan ukuran tingkat sedasi.
3. Menggunakan batang putar (*rotating rod*). Rangsangan diberikan dalam bentuk putaran batang tempat mencit berpijak dengan kecepatan tertentu. Respon yang ditunjukkan oleh hewan berupa kemampuan untuk bertahan pada batang putar selama periode tertentu, yang merupakan ukuran respon serta efek sedasi obat.
4. Pengasingan kandang hewan coba dari rangsangan luar. Tingkat sedasi diukur dengan waktu yang diperlukan mencit untuk menyebabkan tidur.
5. Uji potensiasi dengan turunan barbiturat. Hewan coba diinjeksi dengan senyawa uji selama periode tertentu sebelum diinjeksi dengan senyawa pembanding yang mempunyai efek penekan sistem saraf pusat. Waktu

tidurnya ditentukan kemudian dibandingkan dengan waktu tidur hewan coba yang hanya diinjeksi senyawa pembanding. Senyawa uji dikatakan mempunyai efek potensiasi terhadap senyawa pembanding apabila waktu tidur hewan coba yang diinjeksi dengan senyawa uji dan pembanding lebih lama dibanding waktu tidur hewan coba yang hanya diinjeksi dengan senyawa pembanding. Adanya efek potensiasi (menguatkan) dari senyawa uji menggambarkan bahwa senyawa uji mempunyai aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat.

Turunan barbiturat yang dapat digunakan diantaranya tiopental. Tiopental mempunyai waktu aktivitas yang sangat pendek (*ultra short acting*). Tiopental mempunyai waktu mula aktivitas yang sangat cepat yaitu 1-2 detik setelah pemberian intravena dan mempunyai kemampuan anestesi selama 15-30 menit.

Uji aktivitas sedatif hipnotik secara potensiasi terhadap tiopental mempunyai keuntungan dan kerugian. Keuntungannya adalah tiopental mempunyai *onset of action* yang cepat sehingga mudah dalam pengamatan. Sedangkan kerugiannya adalah dapat menimbulkan depresi nafas.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Benzoilurea merupakan senyawa hasil reaksi asilasi antara senyawa urea dengan benzoi klorida. Senyawa tersebut merupakan turunan ureida asiklik, yang memiliki struktur serupa dengan bromisoval atau turunan barbiturat, sehingga diharapkan mempunyai efek sebagai penekan sistem saraf pusat (Siswandono, 1999).

Modifikasi struktur benzoilurea telah dilakukan melalui sintesis beberapa senyawa turunan benzoilurea dengan memasukkan gugus-gugus pada cincin benzena melalui model pendekatan Topliss. Senyawa-senyawa turunan benzoilurea ini selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua mempunyai efek pada sistem saraf pusat berupa gangguan koordinasi gerak (Siswandono, 1999).

Pada obat sedatif-hipnotik golongan barbiturat terdapat senyawa tiopental yang mengandung atom sulfur menggantikan oksigen pada atom C₂ dari strukturnya (C=O) dengan atom sulfur (C=S). Hal ini menyebabkan awal kerja obat menjadi lebih cepat (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Analog terhadap senyawa tiopental dilakukan pada senyawa benzoilurea yaitu dengan penggantian atom oksigen pada C₂ senyawa urea dengan atom sulfur yang terdapat pada tiourea [H₂N-(C=S)-HN₂]. Modifikasi benzoilurea menjadi benzoiltiourea tersebut dilakukan oleh Suzana dkk (2004) melalui sintesis turunan tiourea dengan reaksi asilasi. Uji aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat benzoiltiourea menunjukkan adanya aktivitas berupa efek tidur pada mencit (*Mus musculus*).

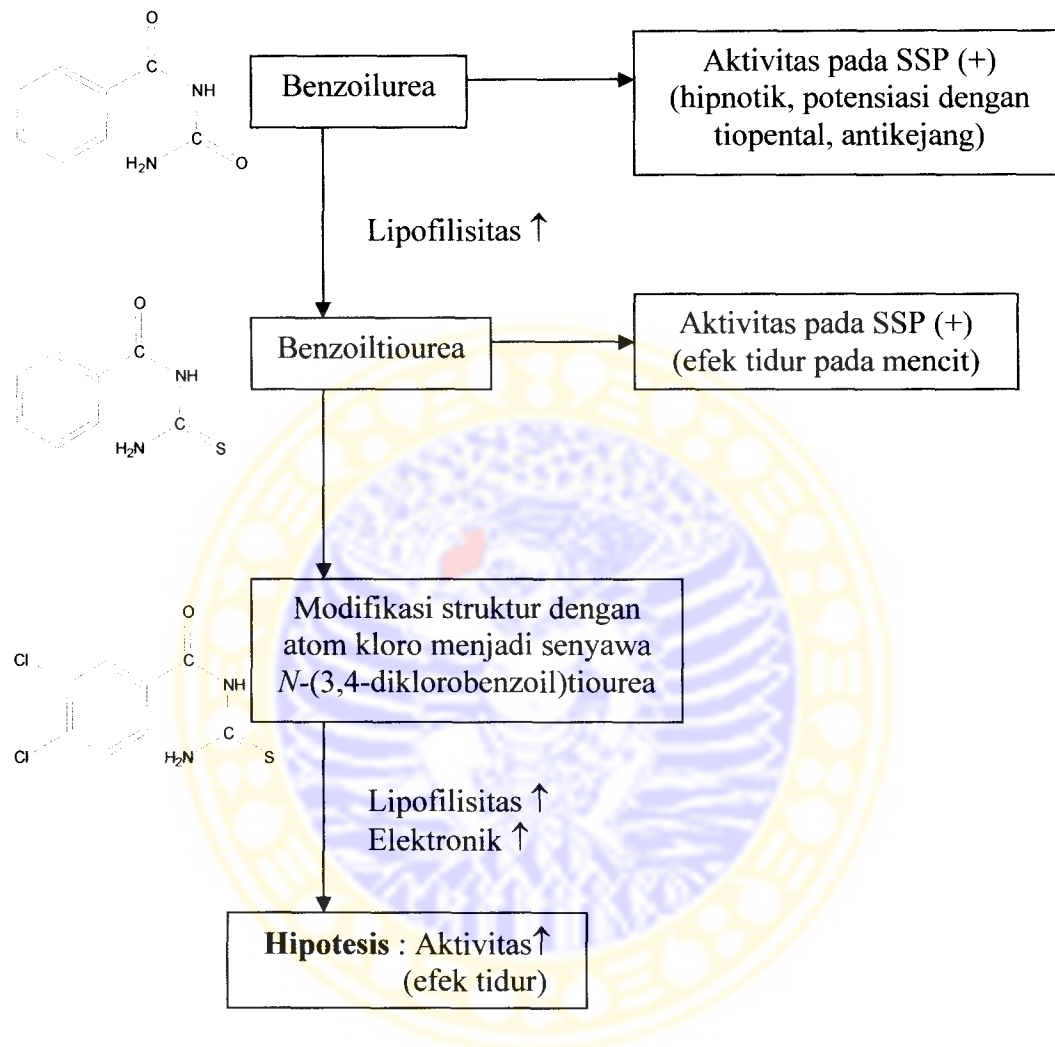
Aktivitas biologis suatu senyawa dipengaruhi oleh sifat kimia fisika, yang dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu sifat lipofilik, elektronik dan sterik. Sifat lipofilik terutama mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik terutama mempengaruhi proses interaksi obat reseptor dan juga mempengaruhi penembusan biologis, sedangkan sifat sterik terutama menentukan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor

dalam sel (Purcell *et al*, 1972; Block, 1991). Peningkatan sifat lipofilik dapat dilakukan dengan memasukkan gugus atau substituen nonpolar, sedangkan peningkatan sifat elektronik dilakukan dengan memasukkan substituen yang bersifat elektronegatif, seperti halogen, ke dalam cincin aromatik (Siswandono, 1999).

Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi struktur senyawa benzoiltiourea melalui pembentukan senyawa turunan benzoiltiourea yaitu *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea. Adanya dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena ini diharapkan akan meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik senyawa sehingga aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat lebih tinggi daripada induknya. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea akan meningkatkan nilai Log P senyawa induk benzoiltiourea sehingga lebih mendekati nilai optimum. Dengan bantuan program komputer ChemOffice telah dihitung bahwa nilai Log P senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea adalah 2,24; sedangkan Log P senyawa induk benzoiltiourea adalah 1,12.

3.2. Bagan Alur Berfikir

Berdasarkan kerangka konseptual di atas maka dapat digambarkan alur pemikiran untuk tujuan penelitian seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 3.1. Bagan alur berfikir

BAB IV

BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

4.1. Bahan

4.1.1. Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang diperlukan dalam penelitian ini sebagai berikut :

- Tiourea (Aldrich)
- 3,4-diklorobenzoil klorida (Aldrich)
- Benzoiltiourea (Produk Sintesis Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Unair)
- Etanol p.a. (E Merck)
- Tetrahidrofuran p.a. (E Merck)
- Natrium Bikarbonat p.a. (E Merck)
- Kloroform p.a. (E Merck)
- Aseton p.a. (E Merck)
- Etil asetat p.a. (E Merck)
- Heksana p.a. (E Merck)
- Lempeng KLT silika gel 60 GF 254 (E Merck)
- Tiopental (P.T. Abott Australia)
- Aquadest

4.1.2. Hewan Coba

Digunakan mencit (*Mus musculus*) galur BLAB/C, jantan, dewasa berumur 2-3 bulan dengan berat 20-35 gram, sehat, dan tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuh. Mencit diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Sebelum diberi perlakuan terhadap mencit dilakukan adaptasi dengan lingkungan selama satu minggu, sebelum percobaan dipuasakan selama 12 jam, dan setiap mencit hanya digunakan sekali. Jumlah mencit terbagi dalam empat kelompok perlakuan, yaitu 1 kelompok *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dengan tiopental, 1 kelompok benzoiltiourea dengan tiopental, 1 kelompok tiopental, dan 1 kelompok kontrol (tanpa perlakuan). Untuk *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan

benzoiltiourea masing-masing terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok dosis 25mg/kg BB dan 50/kg BB. Masing-masing kelompok di atas terdiri dari 10 ekor mencit untuk satu mencit untuk satu macam dosis (Thompson, 1990).

4.2. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- Neraca Analitik Ohaus
- Seperangkat alat sintesis
- Fisher *Electrothermal Melting Point apparatus*
- Alat-alat gelas (Erlenmeyer, beker glass, batang pengaduk, corong)
- Spuit injeksi disposable syringe Terumo 1 ml
- Alat pengukur waktu (*Stop Watch*)
- Bejana Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
- Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu
- Spektrofotometer FT-IR Jasco FT/IR-5300
- Spektrum ^1H -NMR dengan spektrometer resonansi magnet inti (^1H -NMR), spektrometer Hitachi FT-NMR 12-1900

4.3. Metode Penelitian

4.3.1. Sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

Metode sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea yang akan dilakukan berdasarkan metode sintesis benzoiltiourea yang telah dilakukan oleh Suzana, dkk.(2004) dengan beberapa modifikasi.

Pada gelas piala 200 ml, dilarutkan 0,1 mol tiourea dalam tetrahidrofur 50 ml. Ditambahkan $\pm 2,0$ ml piridina sambil diaduk. Pada suhu kamar, ditetaskan larutan 3,4-diklorobenzoil klorida 0,05 mol dalam 20 ml tetrahidrofur sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan menggunakan stirer sambil dilakukan pemanasan pada suhu 40°C. Setelah larutan 3,4-diklorobenzoil klorida habis, campuran tetap diaduk selama 2,5 jam agar reaksi berjalan sempurna. Hasil reaksi dituang dalam 100 ml aquades sambil diaduk-aduk kemudian disaring dengan corong Buchner. Padatan dituang dalam 50 ml aquades kemudian ditambah larutan NaHCO_3 jenuh, diaduk sampai tidak keluar buih, saring dengan corong

Buchner. Endapan dicuci dengan aquades 50 ml dua kali, kemudian direkristalisasi dengan pelarut etanol 70%.

4.3.2. Identifikasi Senyawa Hasil Sintesis

4.3.2.1. Pemeriksaan Organoleptis

Meliputi pemeriksaan bentuk, warna, dan rasa.

4.3.2.2. Uji Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis

Uji Kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan melarutkan sedikit senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea dengan etanol. Larutan tersebut ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler ke lempeng kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel 60 GF 254. Kemudian lempeng kromatografi lapis tipis dimasukkan ke dalam bejana yang sudah dijenuhkan dengan larutan yang berfungsi sebagai fase gerak. Adapun fase gerak yang digunakan terdiri dari tiga macam yaitu kloroform : etanol = 9 : 1, kloroform : aseton : etanol = 8 : 1 : 1, dan heksana : etil asetat = 5 : 2. Penampak noda yang digunakan lampu UV 254 nm.

4.3.2.3. Uji Kemurnian dengan Pemeriksaan Titik Lebur

Kemurnian senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea diuji dengan pemeriksaan titik leburnya menggunakan alat Fisher John. Cara pengujian : sedikit senyawa hasil sintesis dimasukkan ke celah tempat zat pada alat Fisher John. Tombol ditekan pada posisi *ON*. Amati suhu saat zat meleleh. Pengujian dilakukan tiga kali, kemudian ditentukan titik leburnya.

4.3.2.4. Identifikasi Struktur (Creswell, 1982; Silverstein, 1981)

a. Analisis dengan Spektrofotometer Ultraviolet

Sedikit sampel dilarutkan dalam etanol, kemudian diamati serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm.

b. Analisis dengan Spektrofotometer Infrared

Sedikit sampel (0,1 – 2 %) dibuat pellet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva % transmisi terhadap bilangan gelombang (ν) pada 400-4600 cm^{-1} . Selanjutnya diidentifikasi pita absorpsi yang khas dari gugus-gugus fungsi pada spektrum infrared yang terjadi.

c. Analisis dengan Spektrometer ^1H RMI

Sedikit sampel dilarutkan dalam dimetilsulfoksida *deuterated* (DMSO- d_6) yang sudah mengandung tetrametilsilan (TMS). Kemudian dibuat spektrum resonansi proton senyawa pada daerah geseran kimia 0 – 10 ppm. Selanjutnya diidentifikasi intensitas, jumlah, dan posisi pada daerah geseran kimia dari puncak-puncak proton (^1H -RMI) pada spektrum resonansi magnet inti yang terjadi.

4.3.3. Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat (Thompson, 1990)

4.3.3.1. Pembuatan Sediaan Benzoiltiourea

Senyawa benzoiltiourea diberikan pada mencit dengan dosis 25 dan 50 mg/kg BB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram maka dosis yang diberikan adalah 0,75 mg dan 1,5 mg dalam volume 0,3 ml.

Untuk pembuatan sediaan uji dengan dosis 0,75 mg, ditimbang seksama 125,0 mg senyawa uji, dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 50,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga jumlah senyawa uji yang diinjeksikan adalah 0,75 mg/0,3 ml. Dengan cara yang sama dibuat sediaan uji dengan dosis 1,5 mg.

4.3.3.2. Pembuatan Sediaan *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea

Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea diberikan pada mencit dengan dosis 50 dan 100 mg/kg BB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram maka dosis yang diberikan adalah 0,75 dan 1,5 mg dalam volume 0,3 ml.

Untuk pembuatan sediaan uji dengan dosis 0,75 mg, ditimbang seksama 125,0 mg senyawa uji, dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 50,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga jumlah senyawa uji yang diinjeksikan adalah 0,75 mg/0,3 ml. Dengan cara yang sama dibuat sediaan uji dengan dosis 1,5 mg.

4.3.3.3. Pembuatan Sediaan Tiopental

Dosis yang digunakan untuk tiopental adalah 60 mg/kg BB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diberikan adalah 1,8 mg dalam volume 0,3 ml. Adapun pembuatannya sebagai berikut : ditimbang seksama 60,0

mg tiopental, dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga konsentrasi tiopental yang diinjeksikan adalah 1,8 mg/0,3 ml.

4.3.3.4. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Penentuan waktu aktivitas puncak senyawa uji pada mencit dilakukan dengan cara menyuntik 7 ekor mencit masing-masing dengan sampel senyawa uji dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB. Kemudian masing-masing mencit disuntik dengan tiopental dosis 60 mg/kg BB dengan selang waktu yang berbeda-beda, yaitu 15', 30', 45', 60', 75', 90', dan 120'. Selanjutnya masing-masing diamati waktu tidurnya. Waktu dimana mencit tertidur paling lama merupakan waktu aktivitas puncak (Turner, 1965).

4.3.3.5. Uji Aktivitas Potensi

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok A, B, C, dan D. Kelompok A dan B masing-masing dibagi menjadi 2 subkelompok, A₁ dan A₂, B₁ dan B₂, masing-masing subkelompok terdiri dari 10 ekor mencit, sedangkan kelompok C dan D masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit.

Adapun tahapan penelitian yang akan dilakukan sebagai berikut :

1. Mencit dipuasakan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan.
- 2.a) Kelompok A yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan uji *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea. Kelompok A₁ dengan dosis 25 mg/kg BB dan kelompok A₂ dengan dosis 50 mg/kgBB.
 - b) Masing-masing dosis diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.
 - c) Pada waktu aktivitas puncak, masing-masing kelompok diinjeksi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml (untuk mencit berat 30 g).
- 3.a) Kelompok B yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan uji benzoil tiourea. Kelompok B₁ dengan dosis 25 mg/kgBB dan kelompok B₂ dengan dosis 50 mg/kgBB.
 - b) Masing-masing dosis diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.

- c) Pada waktu aktivitas puncak, masing-masing kelompok diinjeksi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml (untuk mencit berat 30 g).
- 4.a) Kelompok C yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB.
- b) Tiopental diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.
- 5. Dibuat kelompok D yaitu kelompok mencit yang diinjeksikan secara intraperitoneal dengan larutan CMC Na 0,5 % dengan volume 0,3 ml (untuk berat mencit 30 g).
- 6. Masing-masing kelompok diamati dan dibandingkan lama waktu tidur kelompok perlakuan dan kelompok tiopental.

4.3.4. Analisis Data

Adanya perbedaan yang bermakna atau tidak lamanya waktu tidur antara kelompok uji dengan kelompok tiopental dapat dilakukan dengan uji F menggunakan anova satu arah (*one way anova*) pada $\alpha = 0,05$. adapun hipotesisnya sebagai berikut :

- H0 : Tidak ada perbedaan yang bermakna pada aktivitas penekan sistem saraf pusat (efek potensiasi) antara kelompok senyawa hasil sintesis (A_1 dan A_2), kelompok pembanding (B_1 dan B_2) dengan kelompok tiopental.
- H1 : Ada perbedaan yang bermakna pada aktivitas penekan sistem saraf pusat (efek potensiasi) minimal satu pasang antara kelompok senyawa hasil sintesis (A_1 dan A_2), kelompok pembanding (B_1 dan B_2) dengan kelompok tiopental.

Harga F dihitung dengan menggunakan komputer program SPSS 11.5 (analisis satu arah). Apabila harga F hitung lebih besar daripada F tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan $V_1 = K-1$; $V_2 = N-K$, maka H0 ditolak dan H1 diterima.

Selanjutnya untuk mengetahui mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan uji LSD.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Sintesis Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

Senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida direaksikan dengan senyawa tiourea melalui reaksi asilasi menghasilkan senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea.

Perhitungan persentase senyawa hasil sintesis sebagai berikut :

- BM *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea = 249,12

- Berat *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea :

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan hasil teoritis } 0,05 \text{ mol} &= 0,05 \times 249,12 \\ &= 12,46 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\text{Berat senyawa hasil sintesis} = 5,888 \text{ gram}$$

- Persentase hasil
$$= \frac{\text{Berat senyawa hasil sintesis}}{\text{Berat teoritis senyawa}} \times 100\%$$
$$= \frac{5,888 \text{ g}}{12,460 \text{ g}} \times 100\%$$
$$= 47,26\%$$

5.2. Identifikasi Hasil Sintesis Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

5.2.1. Pemeriksaan Organoleptis

Hasil pemeriksaan organoleptis hasil sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada table 5.1.

Tabel 5.1

Hasil Pemeriksaan Organoleptis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
Bentuk	Serbuk
Warna	Putih kekuningan
Rasa	Tidak berasa

5.2.2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Hasil Kromatografi Lapis Tipis senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea dengan penampakan noda lampu UV 254 nm diperoleh satu noda warna ungu. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis dan senyawa induk murni secara kromatografi lapis tipis. Adapun harga-harga R_f senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea seperti tercantum pada tabel 5.2.

Tabel 5.2
Hasil Kromatografi Lapis Tipis Benzoiltiourea dan
***N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea**

Eluen	R_f Benzoiltiourea	R_f <i>N</i> -(3,4- diklorobenzoil)tiourea
CHCl_3 : etanol (9 : 1)	0,54	0,46
CHCl_3 : aseton : etanol (8 : 1 : 1)	0,54	0,31
Heksana : etil asetat (5 : 2)	0,26	0,20

5.2.3. Penentuan Titik Lebur

Dengan alat Fisher Johns Melting Point Apparatus diperoleh titik lebur senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea sebagaimana tercantum dalam tabel 5.3.

Tabel 5.3
Hasil Penentuan Titik Lebur *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

Replikasi	Titik lebur (°C)	Rata-rata
1	159	$160^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
2	160	
3	161	

Hasil penentuan titik lebur menunjukkan bahwa selisih titik lebur dari senyawa hasil sintesis relatif kecil, berkisar satu derajat celcius, berarti senyawa tersebut murni.

5.2.4. Identifikasi Struktur

5.2.4.1. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Ultraviolet

Identifikasi senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea secara spektrofotometri ultraviolet didapatkan hasil seperti tercantum pada gambar 5.1.



Gambar 5.1. Spektrum Ultraviolet *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dalam pelarut Etanol

Analisis karakteristik spektrum ultraviolet senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea diperoleh serapan pada panjang gelombang maksimum 238 nm. Serapan pada satu panjang gelombang maksimum tersebut menunjukkan adanya satu gugus benzena pada senyawa hasil sintesis.

5.2.4.2. Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Infrared

Spektrum infrared senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Spektrum Infrared *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dalam pelet KBr

Gugus fungsi spesifik yang terdapat pada spektrum infrared senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4
Karakteristik Spektrum Infrared *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

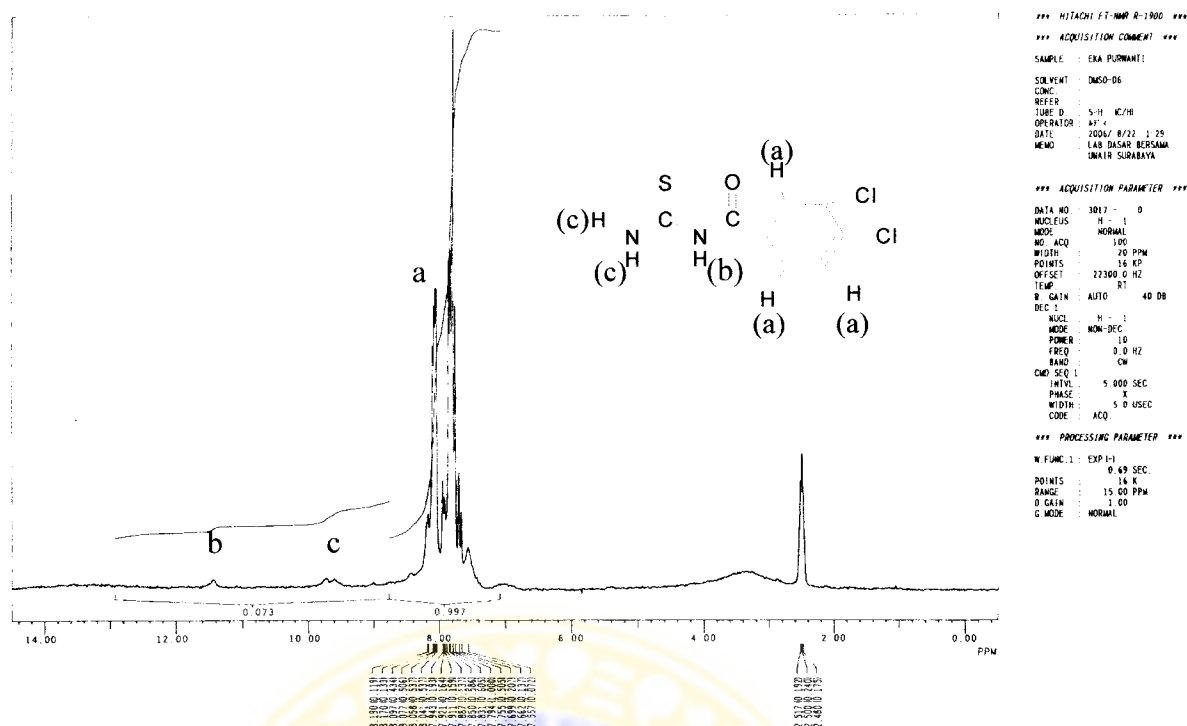
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
3452,3337	Ulur-NH-
1668	Ulur-C=O
1593,1535	Ulur-C=C- (aromatis)
1170,1103,1066	Ulur-C=S
1170,1103	Ulur-C-Cl- (aromatis)
908,866,763,733	Tekuk-C=C- (aromatis, luar bidang)

5.2.4.3. Pemeriksaan dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti (RMI)

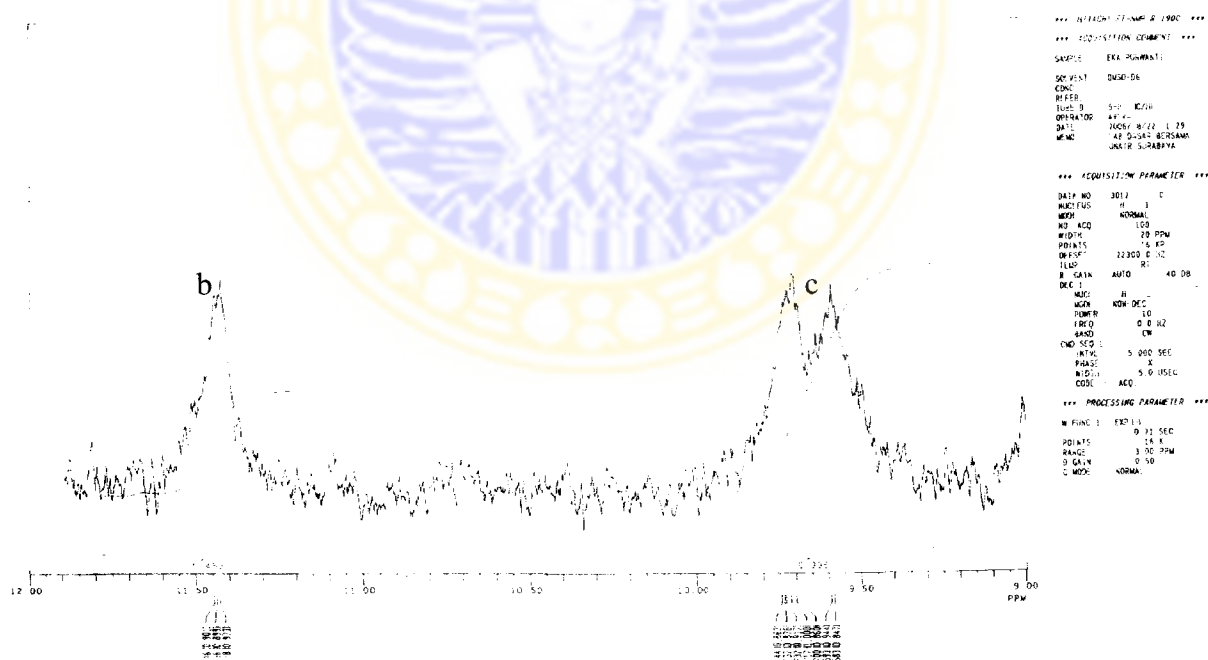
Puncak-puncak resonansi senyawa hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea yang dilarutkan dalam dimetilsulfoksida *deuterated* (DMSO-d₆) yang sudah mengandung tetrametilsilan (TMS) mempunyai nilai δ dapat dilihat pada tabel 5.5 dan gambar 5.3.

Tabel 5.5

Pergeseran kimia δ (ppm)	Perbandingan integrasi	Multiplisitas	Atom H dari Gugus
7,56-7,94	2	doublet	2 atom H dari gugus benzena(a)
8,04-8,19	1	singlet	1 atom H dari gugus benzena (a)
9,58-9,74	2	doublet	2 atom H dari gugus -NH ₂ (c)
11,45	1	singlet lebar	1 atom H dari gugus -NH(b)



Karena pada daerah geseran kimia 9-12 ppm spektrum resonansi proton dari senyawa kurang terlihat maka range daerah geseran diperkecil dari 15 ppm menjadi 3 ppm, sehingga diperoleh spektrum yang dapat dilihat seperti berikut :



Gambar 5.3. Spektrum ^1H RMI Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea

Alat : Spektrometer 90 MHz Hitachi FT-NMR-R-1900

5.2.5. Hasil Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat

5.2.5.1. Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Hasil penentuan waktu aktivitas puncak dari senyawa Benzoiltiourea dan senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada tabel 5.6 dan tabel 5.7.

Tabel 5.6

Hasil Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea

No.	Selang waktu pemberian senyawa dengan Tiopental (menit)	Waktu tidur (menit)	
		Benzoiltiourea 25 mg/kg BB	Benzoiltiourea 50 mg/kg BB
1.	15	75	26
2.	30	117	68
3.	45	91	126
4.	60	126	94
5.	75	130	81
6.	90*	131*	173*
7.	120	82	121

* Keterangan : waktu aktivitas puncak Benzoiltiourea : 90 menit

Tabel 5.7

Hasil Penentuan Waktu Aktivitas Puncak *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea

No.	Selang waktu pemberian senyawa dengan Tiopental (menit)	Waktu tidur (menit)	
		<i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea 25 mg/kg BB	<i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kg BB
1.	15	40	84
2.	30	82	115
3.	45	11	117
4.	60*	171*	374*
5.	75	35	164
6.	90	79	148
7.	120	105	298

* Keterangan : waktu aktivitas puncak *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea : 60 menit

Berdasarkan data pada tabel-tabel di atas ditetapkan bahwa waktu aktivitas puncak senyawa Benzoiltiourea adalah 90 menit dan waktu aktivitas puncak senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea adalah 60 menit. Dimana waktu aktivitas puncak yaitu selang waktu pemberian yang menyebabkan lama tidur mencit terlama.

5.2.5.2. Hasil Uji Aktivitas Potensiasi

Hasil pengamatan waktu tidur mencit kelompok kontrol, kelompok tiopental, dan masing-masing dua kelompok dosis pada senyawa benzoiltiourea dan *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8
Hasil Pengamatan Waktu Tidur pada Uji Potensiasi

No.	Lama tidur mencit (menit)					
	Benzoiltiourea + Tiopental 60mg/kgBB		<i>N</i> -(3,4-diklorobenzoil) tiourea+Tiopental 60mg/kgBB		Tiopental 60mg/kg BB	Kontrol (CMC Na 0.5%)
	25mg/kgBB	50mg/kgBB	25mg/kgBB	50mg/kgBB		
1.	25	56	137	141	7	0
2.	13	67	134	140	10	0
3.	27	47	142	147	8	0
4.	29	32	119	122	14	0
5.	12	39	120	123	13	0
6.	20	45	121	122	8	0
7.	25	54	117	168	11	0
8.	20	59	161	168	16	0
9.	17	42	170	174	12	0
10.	17	55	130	168	17	0
X	20,5	49,6	135,1	147,4	11,6	0
SD	5,85	10,48	18,20	21,13	3,44	0

5.2.6. Analisis Data Aktivitas Potensiasi

Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna pada pengukuran waktu tidur antara kelompok yang diberi senyawa uji (dengan dua dosis yang berbeda) dengan kelompok tiopental pada uji potensiasi, maka dilakukan analisis varians satu arah (*one way anova*). Dari hasil analisis yang dilakukan menggunakan uji F satu arah dengan bantuan komputer program SPSS 11.5 diperoleh harga $F_{hitung} = 220,503$ (lampiran 2) sedangkan harga $F_{tabel} = 2,61$ (lampiran 4). Kemudian untuk melihat mana yang memiliki perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji LSD (lampiran 3) dengan harga selisih waktu tidur rata-rata antar perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9
Harga Selisih Waktu Tidur Rata-rata Antar Perlakuan

Kelompok	A1	A2	B1	B2	C
A1	-	-12,30	114,60*	85,50*	123,50*
A2	12,30	-	126,90*	97,80*	135,80*
B1	-114,60*	-126,90*	-	-29,10*	8,90
B2	-85,50*	-97,90*	29,10*	-	38,00*
C	-123,50*	-135,80*	-8,90	-38,00*	-

* : harga selisih waktu tidur rata-rata berbeda bermakna pada $\alpha = 0,05$

Keterangan :

- A1 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- A2 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- B1 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa Benzoiltiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- B2 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa Benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- C : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa Tiopental 60mg/kgBB

BAB VI

PEMBAHASAN

Modifikasi struktur turunan tiourea dilakukan untuk mendapatkan senyawa baru yang memiliki aktivitas penekan sistem saraf pusat yang lebih poten dengan menggunakan model pendekatan Topliss, yaitu dengan memasukkan gugus-gugus yang memiliki sifat lipofilik, elektronik, dan sterik tertentu pada posisi tertentu struktur senyawa penuntun (Siswandono dan Soekardjo, 1998).

Berdasarkan model pendekatan Topliss, pemasukan atom Cl pada sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dilakukan karena gugus ini dapat meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik dari senyawa induk. Sehingga diharapkan terjadi peningkatan absorpsi senyawa ke dalam membran biologis dan terjadi peningkatan pada proses interaksi obat-reseptor dari senyawa induk. Selain itu senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea juga bersifat lebih lipofilik karena senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea mengandung dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena senyawa benzoiltiourea yang dapat meningkatkan lipofilitas *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea (peningkatan nilai π sebesar + 1,25) sehingga diharapkan aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat lebih tinggi daripada senyawa induk benzoiltiourea.

Sintesis senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dilakukan melalui reaksi asilasi antara senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea. Pada reaksi substitusi nukleofilik, sebagai nukleofil adalah gugus amina primer (-NH_2) dari senyawa tiourea. Gugus ini menyerang atom C karbonil dari 3,4-diklorobenzoil klorida yang bersifat elektrofil karena kekurangan elektron. Senyawa tiourea mengandung dua gugus -NH_2 yang dapat bereaksi dengan 3,4-diklorobenzoil klorida. Agar 3,4-diklorobenzoil klorida hanya bereaksi dengan salah satu gugus -NH_2 maka jumlah mol tiourea dibuat berlebih yaitu dua kali jumlah mol 3,4-diklorobenzoil klorida. Penambahan dua ekivalen senyawa tiourea ini satu ekivalen tiourea akan bereaksi dengan 3,4-diklorobenzoil klorida, sedangkan satu ekivalen lainnya bereaksi dengan HCl yang dibebaskan, dimana

HCl dapat mengganggu jalannya reaksi karena dapat memecah gugus amida dari senyawa hasil reaksi (Mc Murry, 1984; Fessenden, 1995).

Turunan benzoil klorida dapat bereaksi secara cepat dan sempurna dengan senyawa amina primer, sekunder, atau tersier membentuk senyawa amida dengan persentase hasil yang cukup baik (Mc Murry, 1984). Sebagai media pelarut digunakan tetrahidrofur (THF) yang merupakan pelarut polar yang mampu melarutkan senyawa organik dan juga berbagai garam. Pada penelitian ini, pereaksi dilarutkan dalam tetrahidrofur dan diteteskan perlahan-lahan ke dalam tiourea yang sudah dilarutkan dalam tetrahidrofur. Pada saat yang bersamaan perlahan-lahan diteteskan piridina yang ditujukan untuk mengikat ion Cl yang dilepas oleh 3,4-diklorobenzoil klorida, reaksi ini dilakukan pada suhu 100°C. Setelah larutan pereaksi dan piridina habis diteteskan, campuran dibiarkan selama 2,5 jam pada suhu kamar sambil terus diaduk agar reaksi berlangsung lebih sempurna. Setelah reaksi asilasi selesai ditambahkan 100 ml aquadest untuk melarutkan piridinium klorida kemudian disaring dengan corong Buchner. Fase padat yang didapat ditambahkan 50 ml aquadest kemudian ditetesi larutan NaHCO_3 jenuh akan membentuk natrium benzoat yang larut air untuk menetralkan sisa-sisa HCl yang dibebaskan. Kemudian disaring dengan corong Buchner dan dicuci dengan aquadest 50 ml dua kali. Pencucian dengan aquadest dimaksudkan untuk menghilangkan sisa-sisa tiourea.

Rekristalisasi dilakukan dengan pelarut etanol panas, karena senyawa turunan benzoiltiourea bersifat mudah larut dalam etanol panas tetapi tidak larut dalam etanol dingin. Keuntungan lain cara rekristalisasi ini adalah etanol dapat melarutkan turunan benzoil klorida atau hasil hidrolisisnya yaitu turunan asam benzoat, yang kemungkinan masih ada dan bercampur dengan senyawa hasil sintesis. Pada umumnya hasil rekristalisasi dari turunan benzoiltiourea berbentuk amorf dan berwarna kuning muda. Dari sintesis yang telah dilakukan, diperoleh persentase hasil sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea sebesar 47,26%.

Untuk mengetahui ada tidaknya senyawa pengotor pada senyawa hasil sintesis dilakukan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silica gel GF 254, sebagai fase gerak digunakan tiga macam komposisi yaitu campuran kloroform : etanol (9 : 1), kloroform : aseton : etanol (8 : 1 : 1),

dan heksana : etil asetat (5 : 2). Sebagai pembanding digunakan senyawa induk benzoiltiourea. Hasil KLT menunjukkan bahwa pada ke tiga macam fase gerak tersebut baik senyawa hasil sintesis maupun senyawa induk hanya menampilkan satu noda, hal ini berarti senyawa hasil sintesis telah murni secara KLT.

Selanjutnya uji kemurnian dilakukan dengan penentuan titik lebur (tabel 5.1), diperoleh titik lebur $160^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Tiga kali replikasi penentuan titik lebur tersebut mempunyai selisih relatif kecil, yaitu berkisar satu derajat celcius, berarti senyawa tersebut murni (Adam and Johnson, 1949).

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis secara spektrofotometri ultraviolet digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari senyawa. Dari spektrum ultraviolet senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea memberikan serapan pada panjang gelombang maksimum 238 nm (gambar 5.1), diduga senyawa mengandung sistem aromatik atau gugus kromofor ikatan rangkap terkonjugasi. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis mengandung gugus benzena, hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya satu puncak λ_{max} yang menunjukkan absorpsi gugus benzena.

Pada spektrum infrared senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea terdapat puncak spesifik pada bilangan gelombang 3452 cm^{-1} dan 3337 cm^{-1} menunjukkan gugus -NH . Selain itu pada bilangan gelombang 1170 cm^{-1} dan 1103 cm^{-1} menunjukkan adanya -C-Cl aromatis. Hal ini berarti reaksi asilasi senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea sudah terjadi.

Spektrum ^1H RMI senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea menunjukkan adanya puncak doublet pada pergeseran kimia 7,56-8,19 ppm yang berarti adanya proton pada cincin aromatis. Pita absorpsi juga ditemukan pada daerah 11,45 ppm yang menunjukkan adanya gugus -NH dan adanya puncak serapan pada daerah 9,58-9,74 ppm menunjukkan adanya gugus -NH_2 . Hal ini memperkuat dugaan bahwa telah terjadi reaksi asilasi senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea.

Berdasarkan identifikasi senyawa hasil sintesis yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dimana senyawa tersebut telah diketahui murni secara kromatografi lapis tipis dan titik lebur. Dari analisis spektrofotometri ultraviolet diketahui senyawa ini diduga

mengandung satu gugus benzena. Hal ini diperkuat dari hasil spektrometri ^1H RMI yang menunjukkan adanya proton pada cincin aromatis. Selanjutnya dari analisis spektrofotometri infrared dan spektrometri ^1H RMI menunjukkan adanya gugus $-\text{NH}$ sehingga dapat diketahui bahwa telah terjadi reaksi asilasi senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea menghasilkan *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea.

Senyawa hasil sintesis selanjutnya diuji aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi terhadap tiopental. Sebagai hewan coba dipilih mencit putih (*Mus musculus*) galur Balb C jenis jantan dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 20-35 g. Alasan pemilihan mencit putih karena mudah untuk diperlakukan dan dapat memberikan gambaran aktivitas penekan sistem saraf pusat pada manusia (Levy et.al, 1989). Sedangkan umur dan berat badan tertentu, untuk meminimalkan variasi biologis.

Pada uji potensiasi dilakukan pengamatan ada tidaknya perpanjangan waktu tidur dari senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea terhadap tiopental, kemudian dibandingkan dengan senyawa benzoiltiourea dengan perlakuan yang sama. Tiopental digunakan karena mempunyai waktu aktivitas yang sangat pendek (*ultra short acting*) yaitu mampu menganestesi selama 15-30 menit dan mempunyai waktu mula aktivitas (*onset of action*) yang sangat cepat, sehingga memudahkan dalam pengamatan. Untuk mengetahui adanya perpanjangan waktu tidur yang bermakna terhadap tiopental dan adanya efek potensiasi yang bermakna dengan senyawa pembanding dilakukan analisis berupa uji anova satu arah (*one way anova*) yang dilanjutkan uji LSD untuk mengetahui mana yang memiliki perbedaan. Senyawa akan memberikan perpanjangan waktu tidur (efek potensiasi) apabila dalam pemberian bersama tiopental mampu meningkatkan efek penekan sistem saraf pusat (waktu tidur) dari tiopental sendiri.

Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea sukar larut dalam air sehingga dibuat dalam bentuk suspensi dengan CMC Na 0,5% dan untuk memudahkan pemberiannya dilakukan secara intraperitoneal yang disesuaikan dengan kapasitas rongga peritonium mencit yaitu maksimal 1 ml.

Sebelum dilakukan uji potensiasi, terlebih dahulu dilakukan penentuan waktu aktivitas puncak atau waktu 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 penyuntikkan tiopental pada menit ke-15, 30, 45, 60, 75, 90 dan 120 menit setelah penyuntikkan senyawa uji. Waktu tidur terlama dari mencit adalah waktu dimana senyawa mencapai konsentrasi maksimum dalam darah. Dari hasil penentuan waktu aktivitas puncak diperoleh data bahwa waktu aktivitas puncak senyawa benzoiltiourea adalah pada menit ke-90 (tabel 5.6) dan senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea pada menit ke-60 (tabel 5.7).

Pada penentuan waktu aktivitas puncak terhadap benzoiltiourea dosis yang digunakan adalah 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB. Pemilihan dosis tersebut berdasarkan hasil penelitian pendahuluan bahwa pada dosis tersebut senyawa telah memberikan efek potensiasi terhadap tiopental. Oleh karena itu pada penelitian selanjutnya untuk senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dosis yang diberikan adalah 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB.

Berdasarkan hasil uji F satu arah dengan $\alpha = 0,05$ pada $v_1 = 4$ dan $v_2 = 45$ bahwa harga $F_{hitung} = 220,503$ lebih besar daripada harga $F_{tabel} = 2,61$ menunjukkan ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

Hasil uji statistika menunjukkan bahwa senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB memberikan perbedaan bermakna dengan tiopental yang artinya pada dosis tersebut ada perpanjangan waktu tidur terhadap tiopental dosis 60 mg/kg BB. Dari hasil uji statistika juga menunjukkan bahwa senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea memberikan perbedaan bermakna pada derajat kepercayaan 0,05 dengan senyawa benzoiltiourea, yang berarti senyawa tersebut mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat yang lebih tinggi dibandingkan senyawa benzoiltiourea.

Pada hasil penelitian ini terlihat bahwa peningkatan sifat lipofilitas dan peningkatan sifat elektronik akibat substitusi dua atom Cl pada posisi 3,4 cincin benzena dari benzoiltiourea telah menunjukkan aktivitas yang tinggi. Peningkatan nilai Log P *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea menuju nilai optimum Log P yaitu 2,24 (Log P optimum = 2) untuk aktivitas penekan sistem saraf pusat dapat memaksimalkan penembusan senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea melewati

membran biologis. Selanjutnya peningkatan sifat elektronik akan meningkatkan proses interaksi obat-reseptor. Di samping peningkatan sifat lipofilik dan elektronik, penambahan dua atom Cl pada cincin benzena dari benzoiltiourea ini juga meningkatkan sifat sterik sehingga memperbesar ukuran molekul. Apakah sifat sterik menimbulkan peningkatan atau penurunan aktivitas maka diperlukan studi lebih lanjut.

Mengingat senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoyl)tiourea mempunyai efek penekan sistem saraf pusat secara potensiasi terhadap tiopental maka perlu diketahui dosis efektifnya melalui penelitian ED_{50} dan kemungkinan dosis yang dapat menimbulkan toksisitas melalui penelitian LD_{50} .



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Melalui reaksi asilasi antara senyawa 3,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea dapat dilakukan sintesis senyawa murni *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dengan persentase 47,26%.
2. Senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat berupa efek potensiasi terhadap tiopental lebih tinggi dibanding senyawa benzoiltiourea.

7.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari senyawa *N*-(3,4-diklorobenzoil) tiourea untuk aktivitas penekan sistem saraf pusat yang lain seperti aktivitas antikejang, antitranquilizer dan relaksasi otot rangka.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, R. and Johnson, J.R., 1949. **Laboratory Experiment in Organic Chemistry**. 4th edition. The MACMILLAN COMPANY : Toronto. pp 55.
- Basuki, S. A., 2005. Sintesis *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). **Skripsi**. Program Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Creswell, J.C., Runquist, O.A., Campbell, M.M., 1982. **Analisis Spektrum Senyawa Organik**. Edisi kedua. Alih bahasa : Padmawinata K. dan Soediro I. Bandung : Penerbit ITB. hal 45-58, 78-93, 181-248, 246-335.
- Daniels, T.C. dan Jogersen, E.C., 1991. Depresan Sistem Saraf Pusat, **Buku Teks Wilson dan Gisvold's Kimia Farmasi dan Medisinal Organik** (Alih bahasa). Edisi kedelapan. Bagian I. Semarang : IKIP Semarang Press. hal 361-369.
- Fessenden, R.J., and Fessenden, J.S., 1992. **Kimia Organik**. Jilid I. Edisi ketiga. Alih bahasa : Pudjaatmaka, A.H. Jakarta : Penerbit Airlangga. hal 166-190, 311-362.
- Foye, W.O., 1995. **Prinsip-Prinsip Dasar Kimia Medisinal**. Alih bahasa : Rasyid Ral. Jilid I. Edisi kedua. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. hal 280-319.
- Ganiswara, S.G., Setiabudy, R., Suyatna, F.D., Purwastyastuti, Nafrialdi, 1995. **Farmakologi dan Terapi**. Edisi keempat. Jakarta : Gaya Baru. hal 124-143, 769.
- Guyton, A.C., 1987. **Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit**. Alih bahasa : Tengadi, K.A., dkk. Edisi ketiga. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hal 471-487.
- Kesuma, Dini., 2005. Modifikasi Struktur Benzoiltiourea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). **Tesis**. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Laurence, Dr., Bacharach, A.I., 1964. **Evaluation of Drug Activities : Pharmacometrics**. Volume I. London, New York : Academic Press. pp 321.
- Levine, R.R., 1983. **Pharmacology : Drug Action and Reaction**. 3rd Edition. United States of America : Litle Brown Company. pp 483-488.
- Mc Murry, J., 1984. **Organic Chemistry**. California : Broke Cole Publishing Company. pp 168-171, 607-609, 678-679, 766-800.

- Mulja, M., dan Suharman, 1995. **Analisis Instrumental**. Surabaya : Airlangga University Press. hal 26-82, 114-138.
- Mutschler, E., 1991. **Dinamika Obat**. Edisi kelima. Alih bahasa : Widiyanto, B. dan Mathilda. Bandung : Institut Teknologi Bandung Press. hal 107-168.
- Reksohadiprojo, M.S., 1988. Synthesis of Isovalerylurea a Sedative-Hipnotic Compound from Isovaleric Acid. Yogyakarta : **Research Report** UGM. pp 134, 145-152.
- Schunack, W., *et al*, 1990. Senyawa Obat, **Buku Pelajaran Kimia Farmasi**. Alih bahasa : Joke, W.R., Sriwulan, S. Edisi kedua. Yogyakarta : Penerbit Gadjah Mada University Press. hal 21.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C., 1981. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 4th Edition. New York : John Wiley and Sons Inc. pp 95, 181-189, 305.
- Siswandono, 1998. Sintesis Benzoilurea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). **Jurnal Biosains Pascasarjana**, Volume 5, Nomor 1.
- Siswandono, 1999. Modifikasi Stuktur dan Hubungan Struktur-Aktivitas Senyawa-senyawa Baru Turunan Benzoilurea. **Disertasi**. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 1998. **Prinsip-Prinsip Rancangan Obat**. Surabaya : Airlangga University Press. hal 167-173.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal I**. Edisi kedua. Surabaya : Airlangga University Press. hal 7, 256.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal II**. Edisi kedua. Surabaya : Airlangga University Press. hal 201, 225, 234, 242.
- Solomon, T.W.G., 1996. **Organic Chemistry**. 6th Edition. Canada : John Willey and Sons Inc. pp 835.
- Suhud, F., 2002. Sintesis Tiga Turunan N-(klorobenzoil)-N'-benzoilurea dan Aktivitas Antikejang Per Oral pada Mencit [N-(4-klorobenzoil)-N'-benzoilurea, N-(2,4-diklorobenzoil)-N'-benzoilurea, N-(3,4-diklorobenzoil)-N'-benzoilurea. **Tesis**. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suzana, Budiati, T., Ekowati, J., 2004. Sintesis Senyawa Benzoil Thiourea dan Uji Aktivitas sebagai Penekan Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). Surabaya : **Laporan Penelitian Dosen Muda**. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.

- Thompson, E.B., 1990. **Drug Bioscreening, Drug Evaluation Techniques in Pharmacology**. New York : VCH Publishers Inc. pp 3-11.
- Tjay, T.H. dan Rahardja, K., 2002. **Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya**. Edisi kelima. Jakarta : PT Elex Media Komputindo. hal 419.
- Turner, R.A., 1965. **Screening Methods in Pharmacology**. New York : Academic Press. pp 69-99.



LAMPIRAN 1

Gambar Mencit Setelah Pemberian Senyawa Uji dan Tiopental



LAMPIRAN 2

Perhitungan Simpangan Baku dan Tes Kehomogenan Data

Oneway

Descriptives

WKT.TDR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	10	135,10	18,199	5,755	122,08	148,12	117	170
2	10	147,40	21,125	6,680	132,29	162,51	122	175
3	10	20,50	5,855	1,851	16,31	24,69	12	29
4	10	49,60	10,480	3,314	42,10	57,10	32	67
5	10	11,60	3,438	1,087	9,14	14,06	7	17
Total	50	72,84	59,428	8,404	55,95	89,73	7	175

Keterangan :

- 1 : N-(3,4-diklorobenzoi)tiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 2 : N-(3,4-diklorobenzoi)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 3 : Benzoiltiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 4 : Benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 5 : Tiopental 60mg/kgBB

Test of Homogeneity of Variances

WKT.TDR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,990	4	45	,000

ANOVA

WKT.TDR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	164654,1	4	41163,530	220,503	,000
Within Groups	8400,600	45	186,680		
Total	173054,7	49			

LAMPIRAN 3

Uji Kemaknaan Senyawa Hasil Sintesis

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: WKT.TDR

LSD

(I) PLAKUAN	(J) PLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-12,30	6,110	,050	-24,61	,01
	3	114,60*	6,110	,000	102,29	126,91
	4	85,50*	6,110	,000	73,19	97,81
	5	123,50*	6,110	,000	111,19	135,81
2	1	12,30	6,110	,050	-,01	24,61
	3	126,90*	6,110	,000	114,59	139,21
	4	97,80*	6,110	,000	85,49	110,11
	5	135,80*	6,110	,000	123,49	148,11
3	1	-114,60*	6,110	,000	-126,91	-102,29
	2	-126,90*	6,110	,000	-139,21	-114,59
	4	-29,10*	6,110	,000	-41,41	-16,79
	5	8,90	6,110	,152	-3,41	21,21
4	1	-85,50*	6,110	,000	-97,81	-73,19
	2	-97,80*	6,110	,000	-110,11	-85,49
	3	29,10*	6,110	,000	16,79	41,41
	5	38,00*	6,110	,000	25,69	50,31
5	1	-123,50*	6,110	,000	-135,81	-111,19
	2	-135,80*	6,110	,000	-148,11	-123,49
	3	-8,90	6,110	,152	-21,21	3,41
	4	-38,00*	6,110	,000	-50,31	-25,69

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

Keterangan :

- 1 : *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 2 : *N*-(3,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 3 : Benzoiltiourea 25 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 4 : Benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60 mg/kgBB
- 5 : Tiopental 60mg/kgBB

LAMPIRAN 4**Harga F_{tabel}** **Tabel F**Derajat kepercayaan (α) 0,05

Denominator Degrees of Freedom (v_2)	Numerator Degrees of Freedom (v_1)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	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
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88