

**SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SENYAWA 1-ALIL-3-(4-KLOROBENZOIL)TIOUREA SECARA *IN VIVO* TERHADAP TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI DENGAN KARAGENAN**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**Oleh :**

**Made Prissila Prindani**

**155070501111006**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2019**

## DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan .....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Gambar .....	xi
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
<b>BAB 1.PENDAHULUAN .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.1 Latar Belakang .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.2 Rumusan Masalah.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3 Tujuan .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3.1 Tujuan Umum .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3.2 Tujuan Khusus.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4 Manfaat .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4.1 Manfaat Akademik .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4.2 Manfaat Praktis.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>



- 2.1 Inflamasi .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.2 Obat Anti Inflamasi .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.3 Natrium Diklofenak .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.4 Tiourea .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.5 Benzoiltiourea .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.6 Hubungan Kuantitatif Struktur Dan Aktivitas Obat (HKSA) ..... **Error!**  
**Bookmark not defined.**
- 2.7 Uji Kemurnian .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.8 Uji Konfirmasi Struktur Obat.....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.8.1 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)..... **Error!**  
**Bookmark not defined.**
- 2.8.2 Spektrofotometri  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ **Error! Bookmark not defined.**
- 2.8.3 Spektroskopi Massa .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.9 Substitusi Nukleofilik .....**Error! Bookmark not defined.**
- 2.10 Sintesis Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea **Error! Bookmark not defined.**
- 2.11 Uji Efek Antiinflamasi dengan Diinduksi Karagenan**Error! Bookmark not defined.**
- 2.12 Pengujian efek antiinflamasi .....**Error! Bookmark not defined.**

**BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN****Error! Bookmark not defined.**

- 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
- 3.2 Hipotesis penelitian .....**Error! Bookmark not defined.**

**BAB 4. METODE PENELITIAN**..... **Error! Bookmark not defined.**

- 4.1 Rancangan Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.2 Subjek Penelitian .....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.3. Variabel Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.4 Lokasi dan waktu penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.5 Bahan dan Alat.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.5.1 Bahan.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.5.2 Alat.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6 Prosedur Penelitian .....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6.1 Studi pendahuluan *in silico* ....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6.2 Sintesis senyawa .....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6.3 Uji Kemurnian .....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6.4 Uji Konfirmasi Struktur.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.6.4 Uji Antiinflamasi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**Error!**  
**Bookmark not defined.**
- 4.7 Analisis Data.....**Error! Bookmark not defined.**

## **BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA****Error! Bookmark not defined.**

- 5.1 Hasil Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
- 5.1.1 Uji Insilico .....**Error! Bookmark not defined.**
- 5.1.2 Sintesis Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea..... **Error!**  
**Bookmark not defined.**
- 5.1.3 Hasil Uji Kemurnian Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea  
Menggunakan KLT .....**Error! Bookmark not defined.**
- 5.1.4 Hasil Uji Konfirmasi Struktur Senyawa 1-alil-3-(4-  
klorobenzoil)tiourea .....**Error! Bookmark not defined.**

5.1.5 Uji Antiinflamasi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea **Error!**

**Bookmark not defined.**

5.2 Analisis Data.....**Error! Bookmark not defined.**

**BAB 6. PEMBAHASAN** ..... Error! Bookmark not defined.

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian .....**Error! Bookmark not defined.**

6.2 Implikasi terhadap Bidang Kefarmasian**Error! Bookmark not defined.**

6.3 Keterbatasan Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**

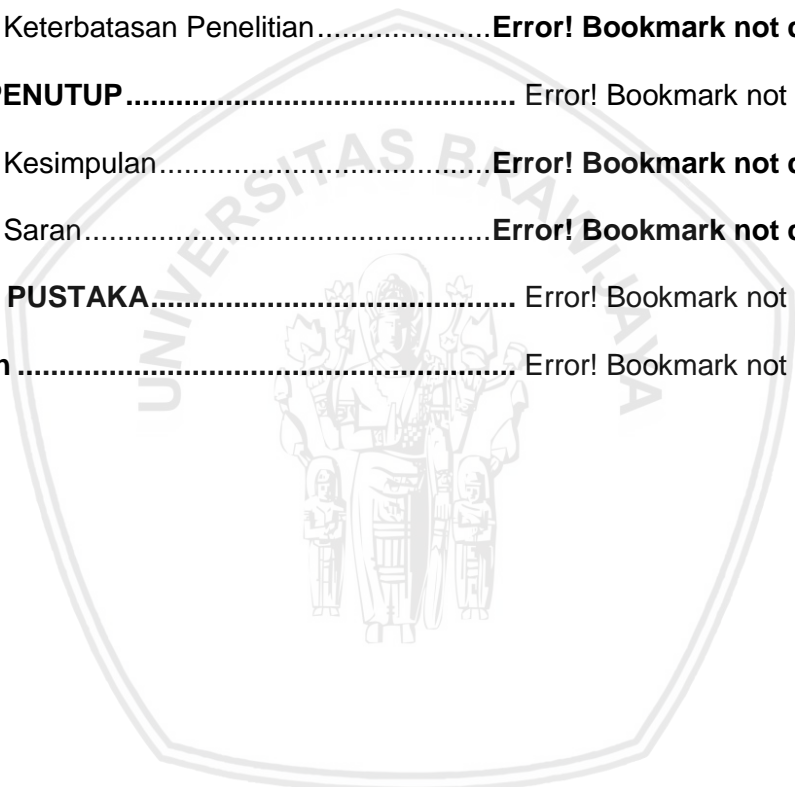
**BAB 7. PENUTUP**..... Error! Bookmark not defined.

7.1 Kesimpulan.....**Error! Bookmark not defined.**

7.2 Saran.....**Error! Bookmark not defined.**

**DAFTAR PUSTAKA**..... Error! Bookmark not defined.

**Lampiran** ..... Error! Bookmark not defined.



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	12
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	16
4.1 Prosedur Penelitian.....	21
4.2 Studi Pendahuluan <i>In silico</i> .....	21
4.3 Sintesis Senyawa .....	22
4.4 Uji Kemurnian dengan KLT .....	23
4.5 Uji Konfirmasi Struktur Dengan Spektrofotometri IR.....	23
4.6 Uji Konfirmasi Struktur Dengan Spektrofotometri <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR .....	24
4.7 Uji Konfirmasi Struktur Dengan Spektrometri Massa.....	24
4.8 Uji Antiinflamasi Senyawa 1-alil-3-benzoilthiourea .....	24
5.1 Ligand Map Interaksi Senyawa Benzoilthiourea dengan Reseptor 1PXX.....	28
5.2 Ligand Map Interaksi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)thiourea dengan Reseptor 1PXX .....	29
5.3 Hasil Kemurnian dengan KLT .....	30
5.4 Spektra Inframerah Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)thiourea.....	31
5.5 Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti <sup>1</sup> H-NMR senyawa 1-alil-3- (4-klorobenzoil)thiourea .....	32
5.6 Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti <sup>13</sup> C-NMR senyawa 1-alil-3- (4-klorobenzoil)thiourea .....	33
5.7 Spektra MS Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)thiourea.....	35
5.8 Grafik Perbandingan Persentasi Inhibisi 1-alil-3-(4-klorobenzoil)thiourea.....	37

5.9 Perbandingan Persentase Inhibisi Pada t3 dan t4.....45



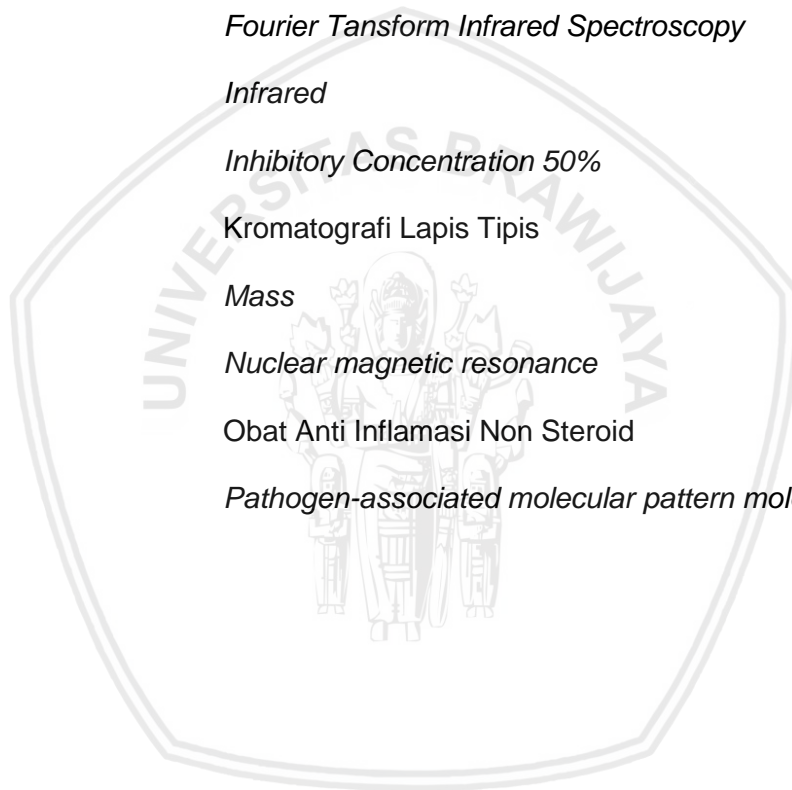
## DAFTAR TABEL

	Halaman
5.1 Hasil Uji Pendahuluan Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea .....	27
5.2 Persen Rendemen dari Senyawa Produk 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea.....	29
5.3 Interpretasi Hasil Spektra Inframerah Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil) tiourea.....	31
5.4 Interpretasi Hasil Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti 1H-NMR senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea .....	33
5.5 Interpretasi Hasil Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti 13C-NMR senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea .....	34
5.6 Analisis Fragmen Massa Hasil Spektra MS Senyawa 1-alil-3-(4- klorobenzoil)tiourea.....	35
5.7 Rata-Rata Persen Inhibisi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea .....	36
5.8 Hasil Analisis Data Uji Antiinflamasi menggunakan SPSS 20 .....	38
5.9 Hasil Analisis Probit menggunakan SPSS 20.....	38



## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i>
COX	<i>Cycloocygenase</i>
DAMP	<i>Damage-associated Molecular Pattern</i>
FTIR	<i>Fourier Tansform Infrared Spectroscopy</i>
IR	<i>Infrared</i>
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
KLT	<i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
MS	<i>Mass</i>
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i>
OAINS	<i>Obat Anti Inflamasi Non Steroid</i>
PAMPs	<i>Pathogen-associated molecular pattern molecules</i>



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Jumlah Bahan untuk Sintesis .....	50
Lampiran 2. Perhitungan Hasil Sintesis .....	51
Lampiran 3. Surat Bukti Kelayakan Etik .....	52
Lampiran 4. Perhitungan Dosis Saat Penyuntikkan Tikus .....	53
Lampiran 5. Dokumentasi Hasil Uji KLT dan Optimasi Eluen .....	54
Lampiran 6. Spektra Hasil Spektrofotometri IR .....	56
Lampiran 7. Spektra Hasil Spektrofotometri <sup>1</sup> H-NMR .....	57
Lampiran 8. Spektra Hasil Spektrofotometri <sup>13</sup> C-NMR .....	58
Lampiran 9. Spektra Hasil Spektroskopi Massa .....	59
Lampiran 10. Data Perhitungan % inhibisi .....	60
Lampiran 11. Hasil Uji Statistika .....	61
Lampiran 12. Hasil Probit ED <sub>50</sub> .....	67
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian .....	73
Lampiran 13. Hasil Prediksi Oleh ACD Labs .....	75

## ABSTRAK

Prindani, Made Prissila.2019. **Sintesis Dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa 1-Alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea Secara *In Vivo* Terhadap Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Dengan Karagenan.**Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Alvan Febrian Shalas,S.Farm., M.Farm, Apt. (2) Rudy Salam,S.Farm., M.Biomed., Apt.

Inflamasi adalah suatu respon perlindungan dari tubuh untuk melindungi dari berbagai gangguan ataupun trauma fisik. Penanganan inflamasi saat ini masih menggunakan obat-obatan terutama OAINS (Obat Anti Inflamasi Non Steroid). Beragai penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat OAINS memiliki efektifitas yang tidak maksimal terhadap inflamasi. Sehingga dibutuhkan pengembangan senyawa penuntun baru yang memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan obat yang telah ada. Penambahan gugus NO dan -Cl pada benzoiltiourea diketahui dapat meningkatkan efek sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan sintesis pada senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dan mengetahui potensi antiinflamasi senyawa tersebut. Sintesis dilakukan dengan menggunakan metode Schotten-Baumann dengan reaksi substitusi asil nukleofilik senyawa aliltiourea terhadap senyawa benzoil klorida serta uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan pemberian senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea terhadap beberapa kelompok perlakuan secara oral dalam suspensi CMC-Na 1% b/v dengan dosis 6,25 mg/kgBB, 12,5 mg/kgBB, dan 25 mg/kgBB pada tikus wistar jantan yang telah diinduksi dengan karagenan 1% secara intraplantar pada telapak kaki. Kelompok kontrol diberikan suspensi CMC-Na 1% b/v dan kelompok pembanding diberikan natrium diklofenak 12,5 mg/kgBB dalam suspensi CMC-Na 1% b/v dengan rute pemberian yang sama. Parameter yang diamati adalah volume edema kaki tikus yang diukur menggunakan pletismometer pada jam ke-1, 2, 3, dan 4. Hasil sintesis didapatkan produk yang murni dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) yang kemudian struktur produk dikonfirmasi menggunakan spektrofotomegter IR,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , dan spektroskopi massa adalah 1-alil-3-benzoiltiourea dengan rumus molekul  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$ . Hasil uji antiinflamasi menunjukkan bahwa senyawa 1-alil-3-benzoiltiourea dalam semua dosis tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara setiap dosis dengan natrium diklofenak dosis 12,5 mg/kgBB, dengan nilai  $\text{ED}_{50}$  2,234 mg/kgBB. Kesimpulan: Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dapat disintesis melalui reaksi substitusi nukleofilik dengan metode Schotten-baumann dan senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki aktifitas antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan Na-diklofenak pada t3 ( $p < 0.05$ ) namun, tidak terlihat perbedaan yang bermakna pada t4 ( $p > 0.05$ ).

Kata Kunci: sintesis, 1-alil-3-benzoiltiourea, antiinflamasi, benzoil klorida, thiourea



## ABSTRACT

Siwi, Habsari Yusrindra.2019. **Synthesis and In Vivo Antiinflammatory Activity Test of 1-allyl-3-benzoylthiourea Against a Wistar Rat (*Rattus norvegicus*) Induced By Carrageenan**. Final Assignment, Pharmacy, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) Alvan Febrian Shalas, M.Farm, Apt. (2) Rudy Salam, M.Biomed., Apt.

Inflammation is a body response to injury or tissue damage. The most common drug used to treat inflammation is NSAIDs (Non-steroidal anti-inflammatory drugs). Abdominal pain, gastric and duodenal ulcers, diarrhea, *pancreatic gastrointestinal hemorrhage*, hepatotoxicity, and impaired renal function are common side effects caused by NSAIDs. In order to overcome that problem, it takes a new approach and development of a new guiding compounds that have better potential with lower side effects. Benzoylthiourea compounds are known to have analgesic and anti-inflammatory activity. Structural modification is carried out in drug development to obtain a better compounds. This study aims to synthesize 1-allyl-3-benzoylthiourea compounds and determine the anti-inflammatory potential of these compounds. The synthesis was carried out using the Schotten-Baumann method with the acyl nucleophilic substitution reaction of allylthiourea compounds on benzoyl chloride compounds and anti-inflammatory activity tests carried out by administering 1-allyl-3-benzoylthiourea compound to the treatment group orally in CMC-Na 1% b/v suspension with dose of 6.25 mg/kg body weight, 12.5 mg/kg body weight, and 25 mg/kg body weight in male wistar rats which have been induced with 1% carrageenan by intraplantar on the soles of the feet. The control group was given a CMC-Na 1% b/v suspension and the comparison group was given 12.5 mg/kgBB sodium diclofenac in the CMC-Na 1% b/v suspension with the same route of administration. The parameters observed were the volume of leg edema measured by using a pletismometer at 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> hours. The pure product were obtained by using thin layer chromatography (TLC), which then the structure confirmed by using IR spectrophotometer, <sup>1</sup>H -NMR, <sup>13</sup>C-NMR, and mass spectroscopy are 1-allyl-3-benzoylthiourea with the molecular formula C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OS. The anti-inflammatory test results showed that the compound 1-allyl-3-benzoylthiourea in all doses showed no significant difference between each dose with diclofenac sodium doses of 12.5 mg/kgBB, with the value ED<sub>50</sub> 2,234 mg/kgBB. Conclusion: 1-allyl-3- (4-chlorobenzoyl) thiourea compounds can be synthesized through nucleophilic substitution reactions with the Schotten-baumann method and compounds 1-allyl-3- (4-chlorobenzoyl) thiourea have better anti-inflammatory activity compared to Na-diclofenac in t3 (p <0.05), however, no significant difference was seen at t4 (p > 0.05).

Keywords: synthesis, 1-allyl-3-benzoylthiourea, anti-inflammatory, benzoyl chloride, thiourea



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu respon perlindungan tubuh terhadap adanya gangguan seperti zat kimia, mikrobiologi, ataupun trauma fisik. Inflamasi berfungsi untuk mengurangi efek (lokalisasi) ataupun menghancurkan suatu agen yang dapat merusak tubuh atau jaringan yang telah rusak. Tanda terjadinya inflamasi dapat berupa panas (*calor*), terasa nyeri (*dolor*), terjadi pembengkakan (*tumor*), dan warna kemerahan (*rubor*) (Agustina, 2015).

Obat antiinflamasi seperti OAINS (Obat Anti Inflamasi Non Steroid) merupakan salah satu pilihan yang digunakan dalam mengatasi rasa nyeri. OAINS merupakan obat dengan peresepan paling luas pada kasus nyeri inflamasi dari ringan hingga sedang. OAINS bekerja dengan menghambat kerja dari enzim siklooksigenase. Enzim ini berperan penting dalam jalur metabolisme asam arakhidonat, yaitu bekerja untuk mengkatalis perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin dan tromboksan (Zahra, 2017). Obat ini dikelompokkan berdasarkan target hambatannya yaitu pada enzim constitutive cyclooxygenase-1 (COX-1) dan inducible cyclooxygenase-2 (COX-2). Walaupun menghasilkan efek antiinflamasi yang cukup baik, namun pemberian obat ini dapat menghasilkan resiko efek samping saluran cerna yang besar, pendarahan pasca bedah, dan gangguan pada fungsi ginjal. Selain itu, dilaporkan adanya efek nefritis interstisial, gagal ginjal, dan sindrom nefrotik pada penggunaan bersama antioagulan. (Fajriani,2008).

OAINS juga merupakan obat-obat yang paling banyak digunakan sebagai antiinflamasi secara global dan merupakan 5-10% dari obat yang diresepkan setiap tahunnya (Wongrakpanich,2018). Untuk mengetahui efikasi dari masing-masing OAINS yang beredar maka *The Oxford pain group* melaksanakan suatu penelitian untuk perbandingan efikasi terhadap berbagai macam jenis OAINS dengan mengukur persentase pasien yang mengalami minimal 50% penurunan rasa sakit yang dinamai *Oxford League Table*. Pada penelitian tersebut ditemukan bahwa obat-obatan OAINS seperti natrium diklofenak, ibuprofen, dan aspirin hanya memiliki efikasi sebesar 60-67% (Ong,2007). Oleh karena efikasi OAINS yang kurang baik serta memiliki resiko efek samping berupa osteoarthritis, gangguan kardiovaskuler, gout, dan gangguan pencernaan lainnya, maka dibutuhkan suatu antiinflamasi baru dengan efek yang lebih baik.

Untuk merumuskan suatu obat baru yang memiliki efek lebih baik dari obat yang telah ada, dapat dilakukan modifikasi struktur. Modifikasi struktur dapat mempengaruhi aktivitas biologis dari suatu senyawa. Penambahan alil yang merupakan ikatan tak jenuh diharapkan dapat menghasilkan interaksi yang lebih baik antara senyawa dengan gugus-gugus pada konstituen sel reseptor target. Penambahan gugus penarik elektron seperti halogen diharapkan dapat meningkatkan sifat elektronik sehingga memperkuat ikatan antara senyawa dengan reseptor. Senyawa benzoiltiourea memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi dan sebagai analgesik melalui aktifitas penekanan pada system syaraf pusat. Pada penelitian ini dilakukan substitusi gugus NO dan gugus -Cl dari benzoiltiourea untuk meningkatkan efeknya sebagai antiinflamasi. Penambahan gugus NO pada benzoiltiourea dapat menurunkan lipofilisitasnya namun efek elektroniknya akan semakin besar, sedangkan penambahan gugus -Cl dapat meningkatkan

lipofilisitas namun efek elektroniknya tidak begitu berperan. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan, bahwa hasil sintesis dengan penambahan substituent p-Cl dan p-NO<sub>2</sub> memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi dan analgesik dengan efek yang lebih baik daripada benzoiltiourea. Oleh karena itu dilakukan sintesis dan uji aktivitas analgesik dan antiinflamasi pada senyawa benzoiltiourea yang sudah tersubstitusi (Budiati,2010). Penambahan gugus 4-klorobenzoil yang merupakan turunan dari benzoil klorida juga diharapkan dapat meningkatkan sifat elektroniknya dan memperpanjang durasi aktivitas (Siswandono,1999).

Pada penelitian ini telah dilakukan uji pendahuluan secara *insilico* untuk mengetahui sifat fisika kimia dari senyawa benzoiltiourea dibandingkan dengan senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea terhadap reseptor COX-2 yang memiliki kode PDB (*Protein Data Bank*) 1 PXX. Studi pendahuuan ini dilaksanakan dengan menggunakan Program Chemdraw Ultra 8.0 dan Chem3D Ultra 8.0 untuk mengetahui nilai dari ClogP (parameter lipofilik), Etotal (parameter elektronik) dan CMR (parameter sterik). Dari studi tersebut didapatkan bahwa nilai CLogP sebesar 2,9596, nilai Etotal sebesar 15320.6 Kcal/mol, dan nilai CMR sebesar 7,138. Ketiga nilai tersebut lebih besar dibandingkan senyawa benzoiltiourea dengan nilai CLogP sebesar 0,566, Etotal sebesar 5,363 Kcal/mol, dan CMR sebesar 5,281. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki nilai parameter kimia, fisika dan interaksi dengan COX-2 (PDB) 1 PXX yang lebih baik dibandingkan benzoiltiourea. Metode sintesis yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode Schotten-Baumann, yaitu penambahan basa untuk dapat menghasilkan pembentukan amida dari asam klorida dan amina (Franz et.al, 2002). Berdasarkan penelitian oleh Siswandono pada 1999, metode ini dilakukan pada sistesis senyawa benzoiltiourea dan

turunannya karena dianggap paling efisien pada reaksi yang hanya berlangsung satu tahap saja. Pada reaksi ini tetrahidrofurane direaksikan dengan aliltiourea dan trietilamin yang selanjutnya ditambahkan dengan 4-klorobenzoil klorida. Selanjutnya, dilakukan reflus dan rekristalisasi sehingga didapatkan kristal hasil sintesis (Shalas,2016). Pada sintesis ini trietilamin digunakan sebagai basa katalis karena pada kondisi Schotten-Baumann seringkali meningkatkan kekuatan klorida untuk dapat membentuk ikatan dengan amina. Selanjutnya pada hasil sintesis dilakukan uji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Setelah hasil kemurnian senyawa hasil sintesis telah terbukti melalui munculnya satu noda pada KLT kemudian dilakukan konfirmasi struktur melalui Spektrometri Massa, Spektrofotometri IR, Spektrofotometri  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ .

Setelah konfirmasi struktur didapatkan, maka dilanjutkan dengan melaksanakan uji aktivitas antiinflamasi secara *in vivo*. Pada uji ini dilakukan dengan menggunakan metode *carragenan induced paw oedema* yang dilakukan pada 5 kelompok tikus wistar jantan. Metode ini dipilih karena karagenan dapat menginduksi pelepasan prostaglandin yang merupakan mediator inflamasi sehingga baik digunakan pada uji obat-obatan yang diduga memiliki aktifitas antiinflamasi yang bekerja dengan menghambat pelepasan prostaglandin (Apriani,2011).

Berdasarkan latar belakang yang disebutkan, maka dirancang penelitian untuk mengembangkan dan melakukan uji aktivitas senyawa turunan tiourea, yaitu 1-alil-3-(4-klorobenzoil)-tiourea sebagai penuntun obat antiinflamasi baru.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dapat disintesis melalui reaksi substitusi asil nukleofilik aliltiourea terhadap benzoil klorida?



2. Apakah senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih baik dibanding natrium diklofenak secara *in vivo* terhadap tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karagenan?

### 1.3 Tujuan

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea sebagai senyawa penuntun obat antiinflamasi baru

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Memperoleh senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan sintesis melalui reaksi substitusi nukleofilik aliltiourea terhadap 4-klorobenzoil klorida
2. Membandingkan aktivitas antiinflamasi antara senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan natrium diklofenak secara *in vivo* terhadap tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karagenan

### 1.4 Manfaat

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini bermanfaat sebagai dasar bagi penelitian-penelitian selanjutnya untuk mendapatkan senyawa antiinflamasi dari senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini bermanfaat sebagai dasar mendapatkan senyawa penuntun obat antiinflamasi yang baru

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Inflamasi

Inflamasi adalah suatu bentuk pertahanan tubuh memiliki respon tidak spesifik terhadap kerusakan jaringan ataupun akibat sistem imun untuk melawan patogen yang berbahaya. Inflamasi juga merupakan suatu tindakan penghancuran jaringan sehingga terjadi migrasi komponen darah seperti protein plasma, cairan, dan leukosit yang kemudian terjadi pelebaran pembuluh darah (vasodilatasi) dan peningkatan aliran darah menuju jaringan tersebut. Fungsi utama inflamasi yaitu dengan secara cepat dapat menghancurkan jaringan yang bermasalah dan mengembalikan homeostasis jaringan. Tanda-tanda inflamasi adalah berupa kemerahan (rubor), panas (kalor), nyeri (dolor), pembengkakan (tumor). (Ashley, 2012).

Langkah pertama pada terjadinya inflamasi adalah ditemukannya infeksi atau kerusakan pada sel. Hal ini dapat terjadi dengan mendeteksi pola molekuler yang berhubungan dengan patogen (PAMPs), yang secara khusus diekspresikan oleh patogen yang sangat berperan penting untuk kelangsungan hidup patogen. Pola molekuler terkait kerusakan (DAMP), adalah molekul endogen yang memberikan sinyal kerusakan atau nekrosis yang dikenali oleh sistem kekebalan tubuh dasar. Tidak seperti kekebalan tubuh adaptif, sistem kekebalan tubuh dasar tidak memiliki kemampuan untuk membedakan antara jenis patogen yang berbeda dan apakah hal tersebut dapat bersifat virulen (berbaha bagi tubuh) (Janeway et al. 2005).

Respons inflamasi terjadi dalam tiga fase dan diperantarai oleh mekanisme yang berbeda :

- a. Fase akut, dengan ciri vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler.
- b. Reaksi lambat, tahap subakut dengan ciri infiltrasi sel leukosit dan fagosit.
- c. Fase proliferaif kronik, dengan ciri terjadinya degenerasi dan fibrosis (Wilmana, 2007).

Respon antiinflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Gejala proses inflamasi yang sudah dikenal ialah:

- a. Kemerahan (rubor) : Terjadinya warna kemerahan ini karena arteri yang mengedarkan darah ke daerah tersebut berdilatasi sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke tempat cedera (Corwin, 2008).
- b. Rasa panas (kalor) : Rasa panas dan warna kemerahan terjadi secara bersamaan. Dimana rasa panas disebabkan karena jumlah darah lebih banyak di tempat radang daripada di daerah lain di sekitar radang. Fenomena panas ini terjadi bila terjadi di permukaan kulit. Sedangkan bila terjadi jauh di dalam tubuh tidak dapat kita lihat dan rasakan (Wilmana, 2007).<sup>11</sup>
- c. Rasa sakit (dolor) : Rasa sakit akibat radang dapat disebabkan beberapa hal: (1) adanya peregangan jaringan akibat adanya edema sehingga terjadi peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa nyeri, (2) adanya pengeluaran zat – zat kimia atau mediator nyeri seperti prostaglandin, histamin, bradikinin yang dapat merangsang

saraf – saraf perifer di sekitar radang sehingga dirasakan nyeri (Wilmana, 2007).

- d. Pembengkakan (tumor) : Gejala paling nyata pada peradangan adalah pembengkakan yang disebabkan oleh terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler, adanya peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang mengalami cedera sehingga protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah ke ruang interstitium (Corwin, 2008).
- e. Fungsi laesa : Fungsi laesa merupakan gangguan fungsi dari jaringan yang terkena inflamasi dan sekitarnya akibat proses inflamasi. (Wilmana, 2007)

## 2.2 Obat Anti Inflamasi

Jenis obat anti inflamasi terbagi menjadi 2 yaitu Steroid dan Non-Steroid atau yang dikenal dengan OAINS (Obat Anti Inflamasi Non Steroid). Pengobatan inflamasi mempunyai dua tujuan utama. Pertama meringankan rasa nyeri yang sering merupakan gejala awal yang terlihat; dan kedua, memperlambat atau membatasi proses perusakan jaringan. Obat-obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) dan kortikosteroid sama-sama memiliki kemampuan untuk menekan tanda-tanda dan gejala-gejala inflamasi, namun sayangnya kedua golongan obat ini yang biasa digunakan dalam pengobatan inflamasi seringkali menimbulkan efek yang merugikan dan berbahaya seperti kerusakan gastrointestinal, nefrotoksik dan hepatotoksik (Katzung, 2002).

Obat anti inflamasi steroid menghambat inflamasi dengan menghambat enzim fosfolipase A2 sehingga tidak terbentuk asam arakhidonat. Tidak adanya asam arakhidonat berarti tidak terbentuknya prostaglandin. Sedangkan, Obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS) bekerja sebagai analgetik, anti-inflamasi, dan anti-

piretik dengan menghambat enzim siklooksigenase. OAINS terbagi menjadi dua berdasarkan selektivitas kerjanya yaitu OAINS konvensional yang menghambat enzim siklooksigenase-1 dan siklooksigenase-2, serta OAINS selektif yang hanya menghambat enzim siklooksigenase-2. Efektivitas dan efek samping yang timbul dari konsumsi OAINS berhubungan dengan sintesis prostaglandin dan tromboksan yang dipengaruhinya. OAINS golongan semiselektif (contohnya diklofenak dan meloksikam) dan non-selektif (contohnya ibuprofen dan naproxen) meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular sehingga dapat berbahaya bagi pasien yang memiliki penyakit kardiovaskular (gagal jantung, hipertensi, penyakit ginjal, dan infark miokard) (Zahra, 2007).

### **2.3 Natrium Diklofenak**

Natrium diklofenak adalah salah satu obat golongan anti inflamasi non steroid (AINS) derivat asam fenil asetat yang biasa digunakan untuk menekan tanda-tanda dan gejala-gejala pada inflamasi. Natrium diklofenak memiliki kemampuan untuk cepat diserap setelah pemberian secara oral. Natrium diklofenak memiliki bioavailabilitas sistemik berkisar antara 30 - 70% sebagai efek metabolisme lintas pertama di hati. Waktu paruh dari natrium diklofenak termasuk pendek yakni hanya berkisar 1 - 2 jam. Natrium diklofenak memiliki efek samping berupa distress gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal, dan munculnya ulserasi pada lambung (Katzung, 2002).

### **2.4 Tiourea**

Senyawa tiourea dilaporkan mempunyai aktivitas analgesik, salah satu contoh gugus yang tiourea yaitu 1-metil-3-(2-metil-4-okso-3H-kuinazolin-3-il)tiourea selain memiliki aktivitas analgesik juga memiliki aktivitas anti-inflamasi. Hal ini dimungkinkan karena perubahan substituent pada gugus -NH<sub>2</sub> dari tiourea

mempengaruhi aktivitas analgesik dan anti-inflamasi. Pada penelitian lain menunjukkan bahwa cincin kuinazolin juga berperan sebagai farmakofor (Budiati, 2010).

## 2.5 Benzoiltiourea

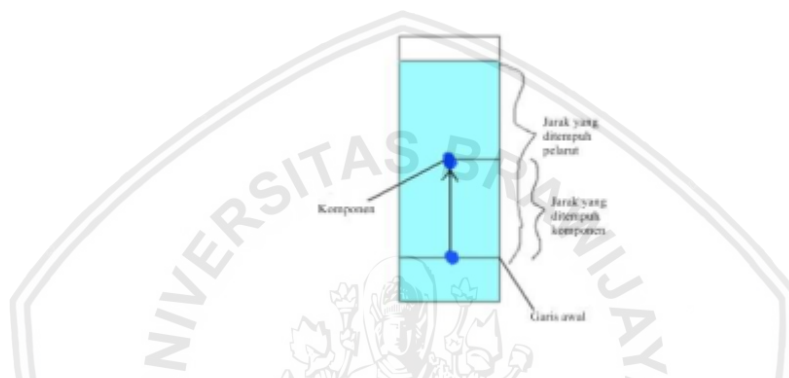
Penelitian lebih lanjut telah dilakukan oleh Suzana et al. (2004) yang memodifikasi struktur benzoilurea dengan mengganti atom O pada urea dengan atom S menjadi benzoiltiourea supaya lipofilisitasnya meningkat telah terbukti berefek pada sistem saraf pusat juga sehingga benzoiltiourea memiliki potensi yang baik. Penelitian oleh Budiati 2010, mengungkapkan penambahan substituent berupa p-Cl dan p-NO<sub>2</sub> dapat meningkatkan aktivitas analgesik serta aktivitas antiinflamasi karena substituent p-Cl lebih besar daripada substituent p-NO<sub>2</sub>. 4-klorobenzoiltiourea menunjukkan aktivitas analgesik dan anti-inflamasi yang baik.

## 2.6 Hubungan Kuantitatif Struktur Dan Aktivitas Obat (HKSA)

Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas biologis obat (HKSA) merupakan suatu bagian yang penting rancangan obat, dalam usaha mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar. Hubungan kuantitatif antara aktivitas biologis dan parameter yang menggambarkan perubahan sifat kimia fisika, yaitu parameter hidrofobik, elektronik dan sterik, pada suatu seri molekul, mulai dikembangkan secara lebih intensif. Hubungan atau korelasi yang baik digunakan untuk menunjang interaksi obat-reseptor dan meramalkan jalur sintesis obat yang lebih menguntungkan.

## 2.7 Uji Kemurnian

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu metode pemisahan komponen dalam sampel berdasarkan perbedaan distribusi diantara fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam berupa plat dengan lapisan bahan adsorben dan fasa gerak umumnya bersifat cair (larutan). Fasa diam pada KLT antara lain silika gel, aluminium oksida (alumina) maupun selulosa (Harborne, 1984).



**Gambar 2.1 Kromatografi Lapis Tipis (Sarkel,2006)**

Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibandingkan dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal didefinisikan sebagai nilai  $R_f$ . Secara matematis dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh komponen}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

Menurut Sarker et al. (2006), ada dua faktor yang mempengaruhi nilai pada kromatografi lapis tipis, yaitu penjerap dan pelarut yang diaplikasikan. Pada kromatografi jerapan dimana penjerapnya adalah silika gel, senyawa kutub akan memiliki afinitas besar terhadap penjerap, dan bermigrasi lambat ke atas tidak seperti halnya pelarut.

## 2.8 Uji Konfirmasi Struktur Obat

### 2.8.1 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Spektroskopi ini bermanfaat untuk menentukan jenis ikatan yang terdapat di dalam molekul (dengan menggunakan daerah gugus fungsi) (Achmadi 2003). Tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi sinar IR pada karakteristik panjang gelombang yang berbeda. Ikatan non polar tidak menyerap radiasi IR karena tidak terdapat perubahan momen ikatan apabila atom-atom saling berosilasi ikatan non polar relatif lemah penyerapannya dan pada ikatan polar menunjukkan penyerapan yang kuat (Pudjaatmaka 1982). Frekuensi IR biasanya dinyatakan dalam bilangan gelombang (wave number) yang didefinisikan sebagai banyaknya gelombang persentimeter. Daerah IR mempunyai jarak pengukuran dari 4000-1400  $\text{cm}^{-1}$  dan 900-625 $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan pita spektrum yang disebabkan adanya vibrasi yang khas dari ikatan kimia gugus fungsi molekul yang ditentukan, sedangkan spektrum IR yang berada pada daerah 1400-900  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan pita spektrum yang disebabkan oleh getaran seluruh molekul dan dikenal dengan nama daerah sidik jari (finger print) (Carey 2000).

### 2.8.2 Spektrofotometri $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) merupakan salah satu metode spektroskopi yang sangat bermanfaat dalam penentuan struktur. Metode ini mengacu pada momen magnet dari inti atom. Inti atom memiliki sifat seolah-olah melakukan perputaran (spin). Bila inti dengan spin diletakkan di antara kutub-kutub magnet yang sangat kuat, inti akan mensejajarkan medan magnetiknya searah (paralel) atau berlawanan (antiparalel) medan magnetik. Inti yang paling penting untuk penentuan struktur senyawa organik yaitu  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ . meskipun  $^{12}\text{C}$  dan  $^{16}\text{O}$  terdapat dalam kebanyakan senyawa organik, unsur-unsur tersebut tidak memiliki spin dan tidak memberikan spektrum NMR (Achmadi, 2003).



Spektroskopi proton memberikan informasi struktural mengenai atom-atom hidrogen dalam molekul organik. Spektra  $^1\text{H}$  NMR dapat membedakan jenis proton dan mengungkapkan berapa banyak jenis proton yang ada dalam suatu molekul. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasikan spektra  $^1\text{H}$  NMR adalah luas puncak (peak area) yang dinyatakan dengan integrasi yang menunjukkan jumlah inti  $^1\text{H}$  pada puncak tersebut, pemecahan puncak (splitting) yang menerangkan lingkungan dari sebuah proton dengan proton tetangganya, serta geseran kimia (chemical shift) yang menunjukkan jenis proton tersebut (Achmadi,2003).

### 2.8.3 Spektroskopi Massa

Spektroskopi massa merupakan instrumen yang digunakan untuk menentukan struktur kimia dari molekul organik berdasarkan perhitungan massa dari molekul tersebut serta pola fragmentasinya. Jika suatu benda yang bergerak lurus mendapatkan tenaga dari luar, maka gerakannya tidak akan berubah karena akan terjadi defleksi atau perubahan arah. Besarnya perubahan arah ini berhubungan dengan massa benda tersebut. Makin besar perubahan arah gerak, makin ringan benda tersebut. Prinsip ini bisa diaplikasikan dalam menentukan massa suatu molekul (Dachriyanus,2004).

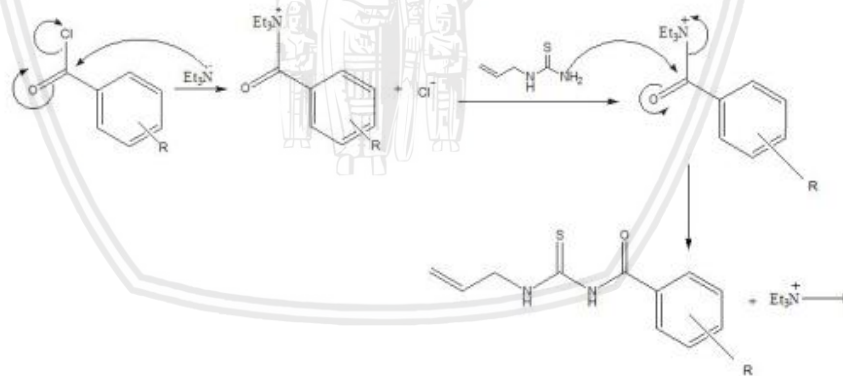
## 2.9 Substitusi Nukleofilik

Reaksi substitusi nukleofilik adalah reaksi dimana terjadi penyerangan secara selektif oleh nukleofil kaya elektron ke muatan positif dari sebuah atom C pada rantai karbon yang mengikat gugus yang pergi (leaving group) sehingga nukleofil akan menggantikan posisi leaving group. Reaksi substitusi nukleofilik dapat

dibedakan menjadi dua yaitu reaksi substitusi unimolekuler (SN-1) atau disebut reaksi orde satu dan reaksi substitusi nukleofilik bimolekuler (SN-2) atau yang disebut sebagai orde dua. Laju reaksi pada SN-1 dipengaruhi oleh substrat sedangkan laju reaksi pada SN-2 dipengaruhi oleh substrat dan nukleofil (Linda,2011).

## 2.10 Sintesis Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

Dari hasil penelitian oleh Budiati (2010),ditemukan bahwa hasil sintesis dengan penambahan substituent p-Cl dan p-NO<sub>2</sub> memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi dan analgesik dengan efek yang lebih baik daripada benzoiltiourea. Pembentukan senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea ini dilakukan reaksi antara 4-klorobenzoil klorida dengan aliltiourea.



**Gambar 2.2 Skema Sintesis Senyawa Turunan 1-Alil-3-Benzoiltiourea (Shalas,2016)**

Pada reaksi pembentukan 1-alil-3(4-klorobenzoil)tiourea ini digunakan tetrahidrofur yang direaksikan dengan aliltiourea dan trietilamin yang selanjutnya ditambahkan dengan 4-klorobenzoil klorida. Selanjutnya, dilakukan refluks dan rekristalisasi sehingga didapatkan kristal hasil sintesis (Shalas,2016).

Pada sintesis ini trietilamin digunakan sebagai basa katalis karena pada kondisi Schotten-Baumann seringkali meningkatkan kekuatan klorida untuk dapat membentuk ikatan dengan amina.

### **2.11 Uji Efek Antiinflamasi dengan Diinduksi Karagenan**

Kata karagenan berasal dari “carragin” dalam bahasa islandia yang berarti suatu spesies alga merah dan juga menunjukkan ekstrak mukopolisakarida yang ditemukan oleh seorang farmasi. Edema yang diinduksi dengan karagenan merupakan suatu model yang paling banyak digunakan untuk meneliti suatu molekul dengan potensi sebagai antiinflamasi. Metode ini paling banyak digunakan karena efek antiinflamasi yang dihasilkan berupa inflamasi lokal. Inflamasi yang diinduksi dengan karagenan dapat berkembang secara cepat. Respon inflamasi yang diberikan berlangsung hingga 5 jam setelah penyuntikan serta berupa peningkatan ukuran telapak kaki pada tikus (Christopher,2003).

### **2.12 Pengujian efek antiinflamasi**

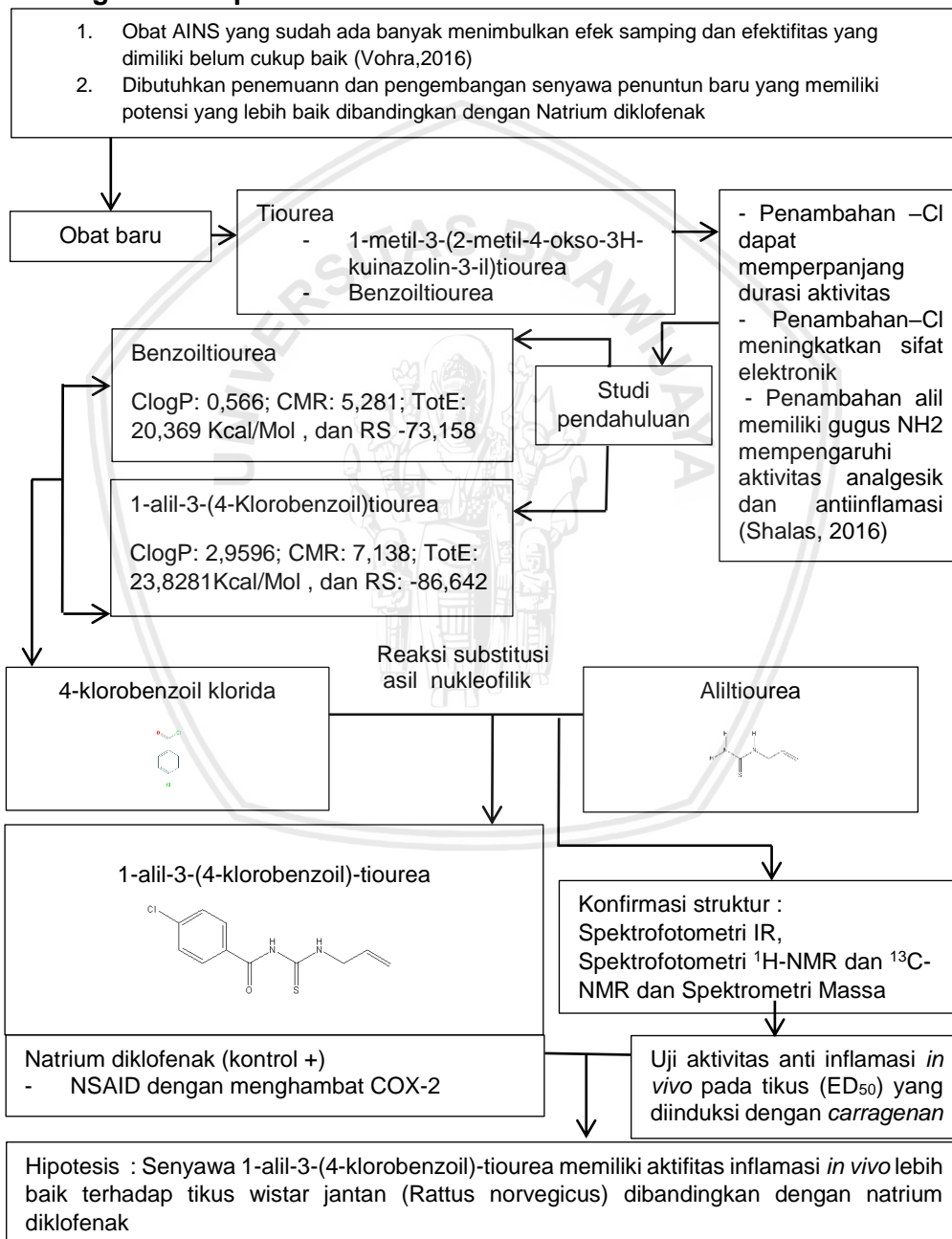
Pengujian efek antiinflamasi dilakukan menggunakan alat pletismometer air raksa dengan prinsip pengukuran uema berdasarkan hukum Archimedes. Induksi radang dilakukan secara kimia menggunakan larutan karagenan yang disuntikkan secara subplantar pada telapak kaki kiri mencit untuk menginduksi edema (Panda et al.,2009).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas, obat-obat antiinflamasi sebelumnya dilaporkan banyak memiliki efek samping. Sehingga dibutuhkan alternative terapi baru yang dapat meminimalkan efek samping dengan target spesifik terhadap reseptor COX2. Dari penelitian oleh Alagarsamy et al tahun 2003 ditemukan bahwa senyawa turunan tiourea yaitu 1-metil-3-(2-metil-4-okso-3H-kuinazolin-3-il)tiourea memiliki aktivitas analgesik dan antiinflamasi. Kemudian penelitian lain oleh Budiati et al pada tahun 2010 turunan dari senyawa tiourea yaitu senyawa benzoiltiourea memiliki sifat kimia fisika yang lebih baik daripada obat antiinflamasi yang sudah ada seperti natrium diklofenak (Shalas, 2016).

Berdasarkan penelitian tersebut maka dirancanglah suatu senyawa yang merupakan turunan dari benzoilklorida yaitu senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea yang telah dilakukan uji pendahuluan dan menghasilkan nilai CLogP sebesar 2,9596, nilai Etotal sebesar 15320.6 Kcal/mol, dan nilai CMR sebesar 7,138. Nilai ketiga parameter tersebut lebih besar dengan yang dimiliki oleh senyawa benzoiltiourea, yaitu CLogP sebesar 0,566, Etotal sebesar 5,363 Kcal/mol, dan CMR sebesar 5,281, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki sifat kimia fisika yang lebih baik dari senyawa benzoilklorida.

Senyawa ini didapatkan dengan cara mereaksikan aliltiourea dengan turunan benzoilklorida yaitu 4-klorobenzoil klorida menggunakan prinsip reaksi substitusi nukleofilik yang telah dimodifikasi yang selanjutnya akan dikonfirmasi strukturnya menggunakan, Spektrofotometri IR, Spektrofotometri  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ , dan Spektrometri Massa.

Setelah didapatkan konfirmasi struktur kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji aktivitas inflamasi secara *in vivo* pada tikus jenis wistar jantan

dengan induksi karagenan pada telapak kaki yang diukur volume uedemnya secara berkala menggunakan pletismometer.

### 3.2 Hipotesis penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

3.2.1 Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki aktifitas antiinflamasi *in vivo* lebih baik terhadap tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dibandingkan dengan natrium diklofenak



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dimana ditentukan variabel bebas yang kemudian diukur efeknya pada variabel terikat. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratoris dengan melakukan sintesis, dan uji aktivitas antiinflamasi senyawa secara *in vivo* pada tikus wistar yang diinduksi dengan karagenan

#### 4.2 Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*) berumur 2-3 bulan dengan berat badan 100-200 gram yang akan dibagi 5 kelompok dengan tiap kelompoknya berisi 5 ekor tikus wistar. Pembagian kelompoknya yaitu :

- Kelompok 1 diberikan 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan dosis 6,25 mg/kgBB yang diberikan secara per oral
- Kelompok 2 diberikan 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan dosis 12,5 mg/kgBB yang diberikan secara per oral
- Kelompok 3 diberikan 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan dosis 25 mg/kgBB yang diberikan secara per oral
- Kelompok kontrol positif diberikan Natrium diklofenak dosis 12,5 mg/kgBB yang diberikan secara per oral



- Kontrol negatif diberikan CMC-Na 0,5% b/v yang diberikan secara per oral

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea yang didapatkan dari hasil sintesis.

### 4.3. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini terdiri dari tiga bagian yaitu :

- Variabel bebas : dosis senyawa uji
- Variabel terikat : volume udem
- Variabel kontrol : jenis tikus, dosis karagenan, kondisi pemeliharaan tikus selama penelitian

### 4.4 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2017 sampai dengan Januari 2018.

### 4.5 Bahan dan Alat

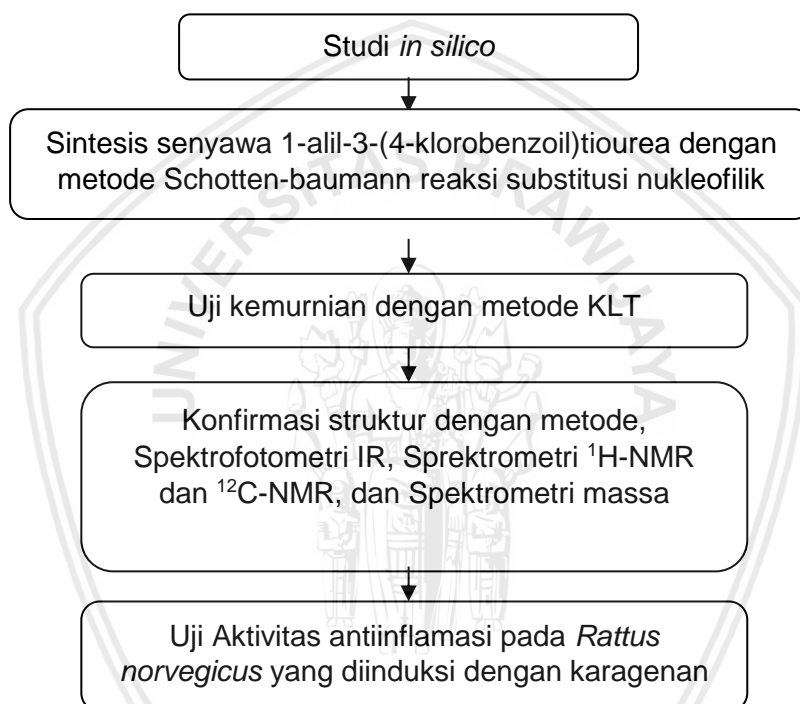
#### 4.5.1 Bahan

Aliltiourea p.s, 4- klorobenzoil klorida p.s, tetrahidrofuran p.a, etil asetat p.a, metanol p.a, *n*-heksana p.a, trietilamin, kloroform p.a, karagenan, natrium diklofenak, CMC Na.

#### 4.5.2 Alat

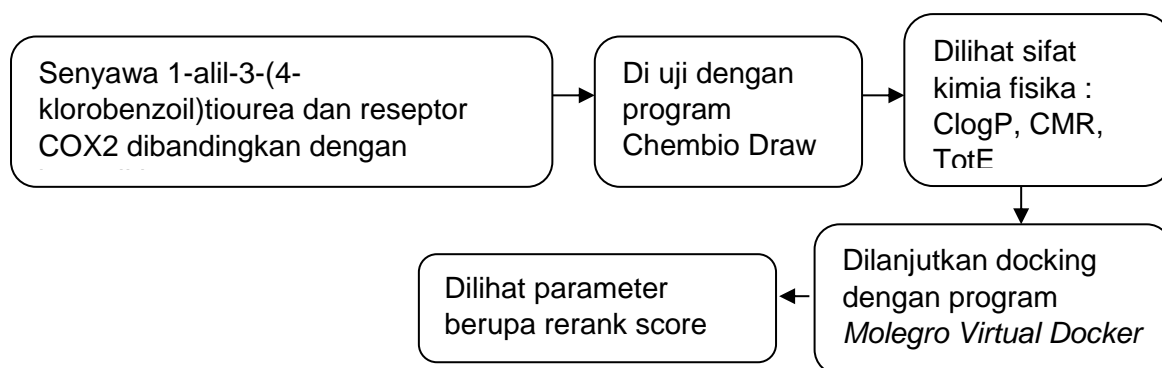
Satu set peralatan *refluks*, timbangan analitik, pengaduk magnetik dengan pemanas, Seperangkat alat KLT, Spektrofotometer *FTIR*, Spektrofotometer *NMR* Spektrometer *GC/MS*, Spuit injeksi 1 ml, alat-alat gelas, plestismometer.

#### 4.6 Prosedur Penelitian



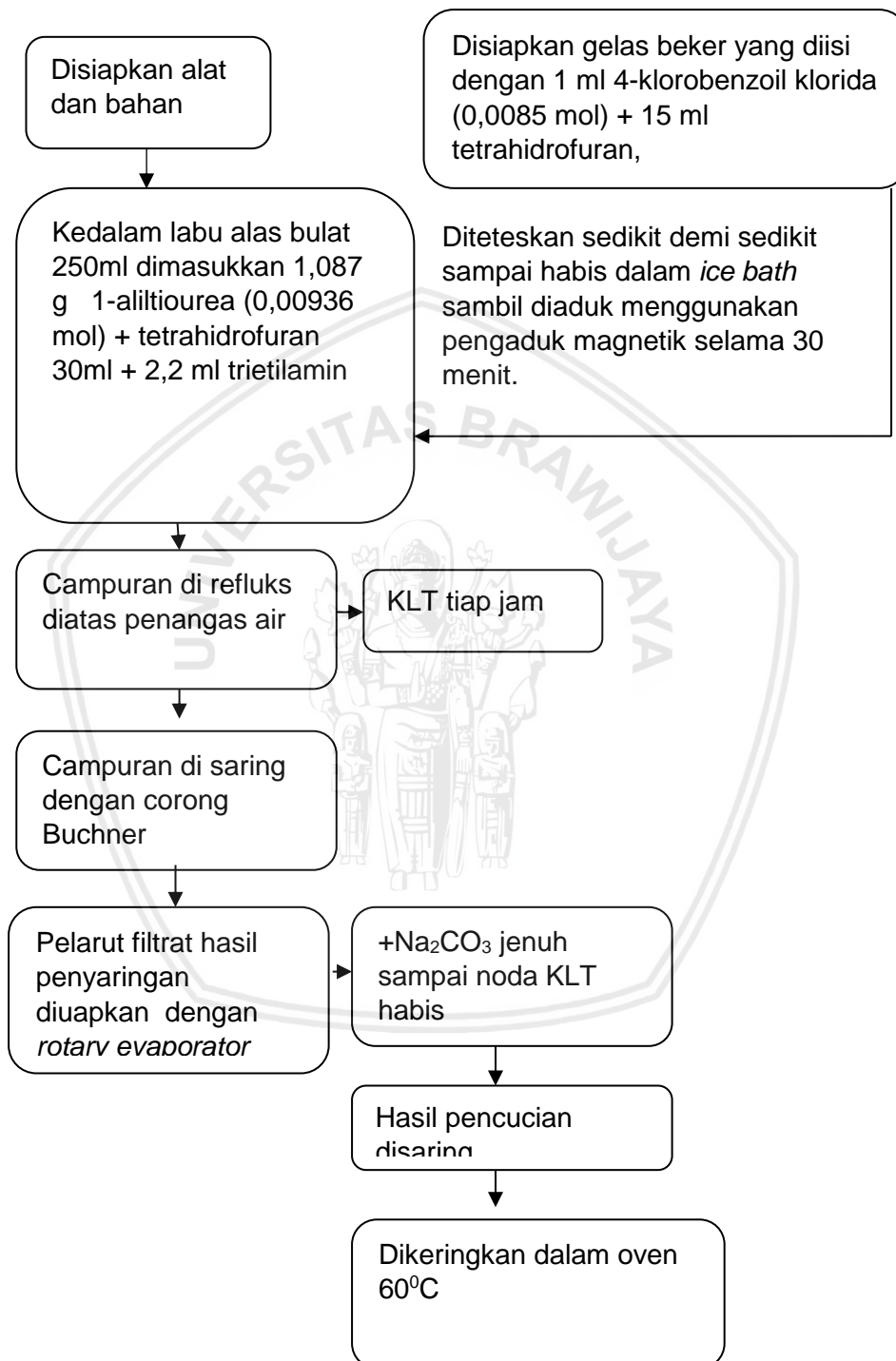
Gambar 4.1 Prosedur Penelitian

##### 4.6.1 Studi pendahuluan *in silico*



Gambar 4.2 Prosedur Studi Pendahuluan *in silico*

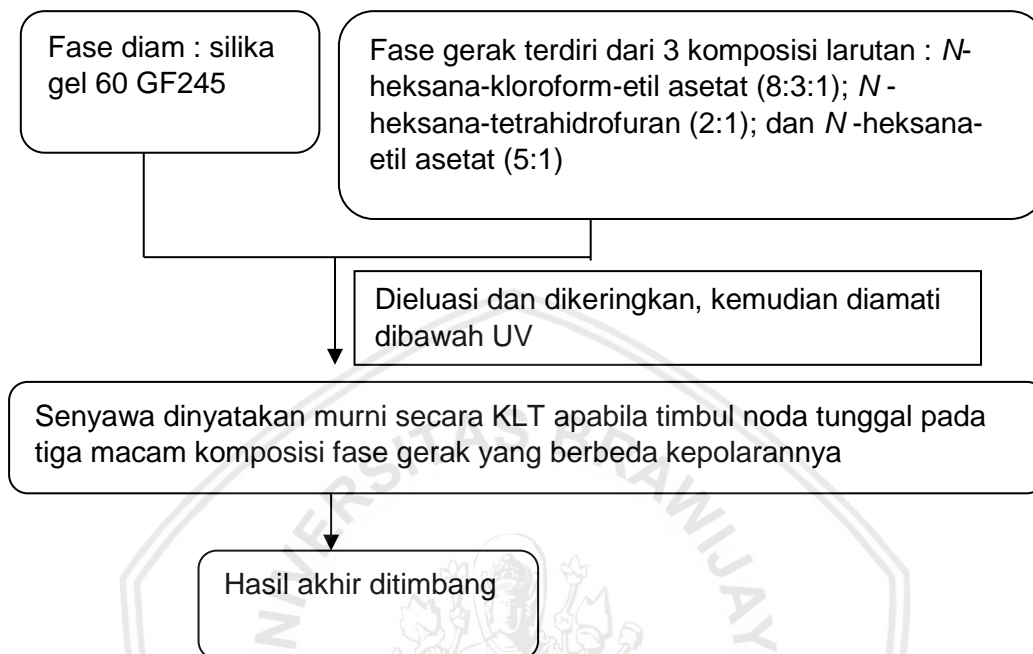
#### 4.6.2 Sintesis senyawa



Gambar 4.3 Prosedur Sintesis Senyawa 1-allyl-3-(4 klorobenzoil)thiourea

### 4.6.3 Uji Kemurnian

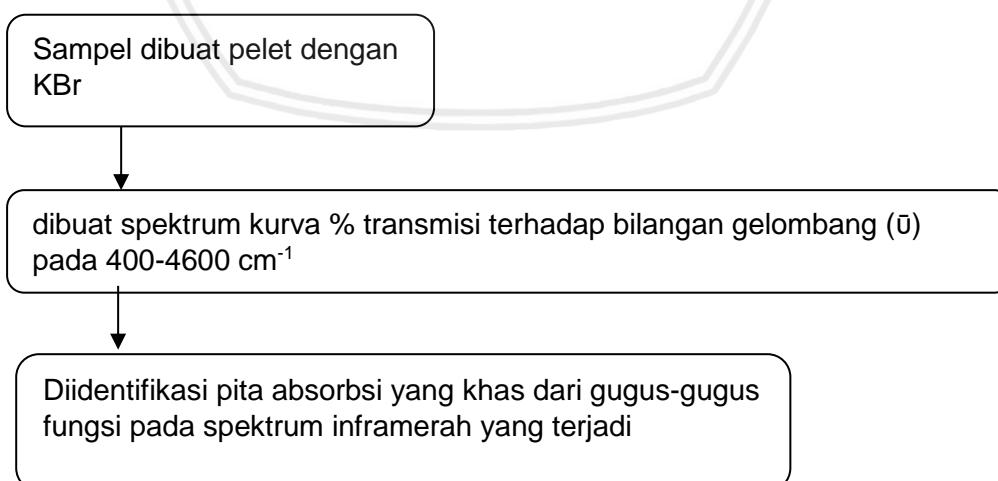
#### 4.6.3.1 Uji KLT



Gambar 4.4 Prosedur Uji Kemurnian dengan KLT

### 4.6.4 Uji Konfirmasi Struktur

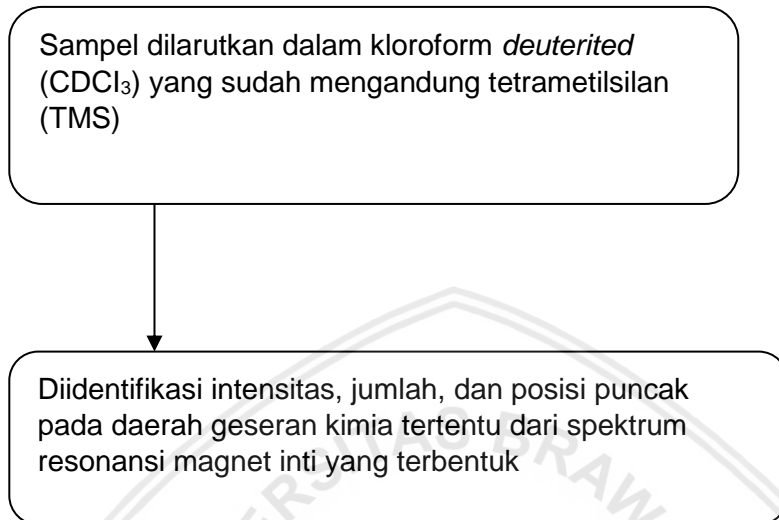
#### 4.6.4.1 Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometer IR



Gambar 4.6 Prosedur Studi Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometri IR

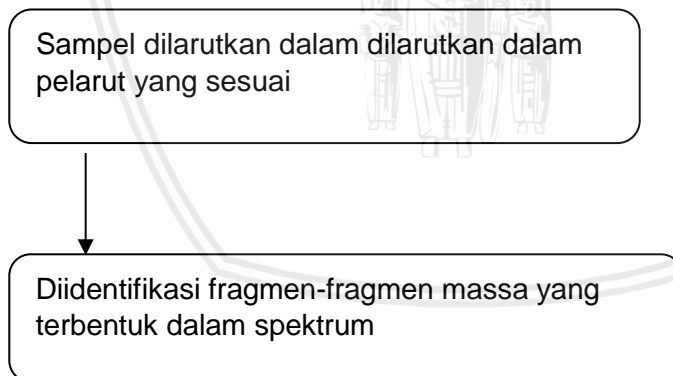
#### 4.6.4.2 Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti

( $^1\text{H}$ - NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR)



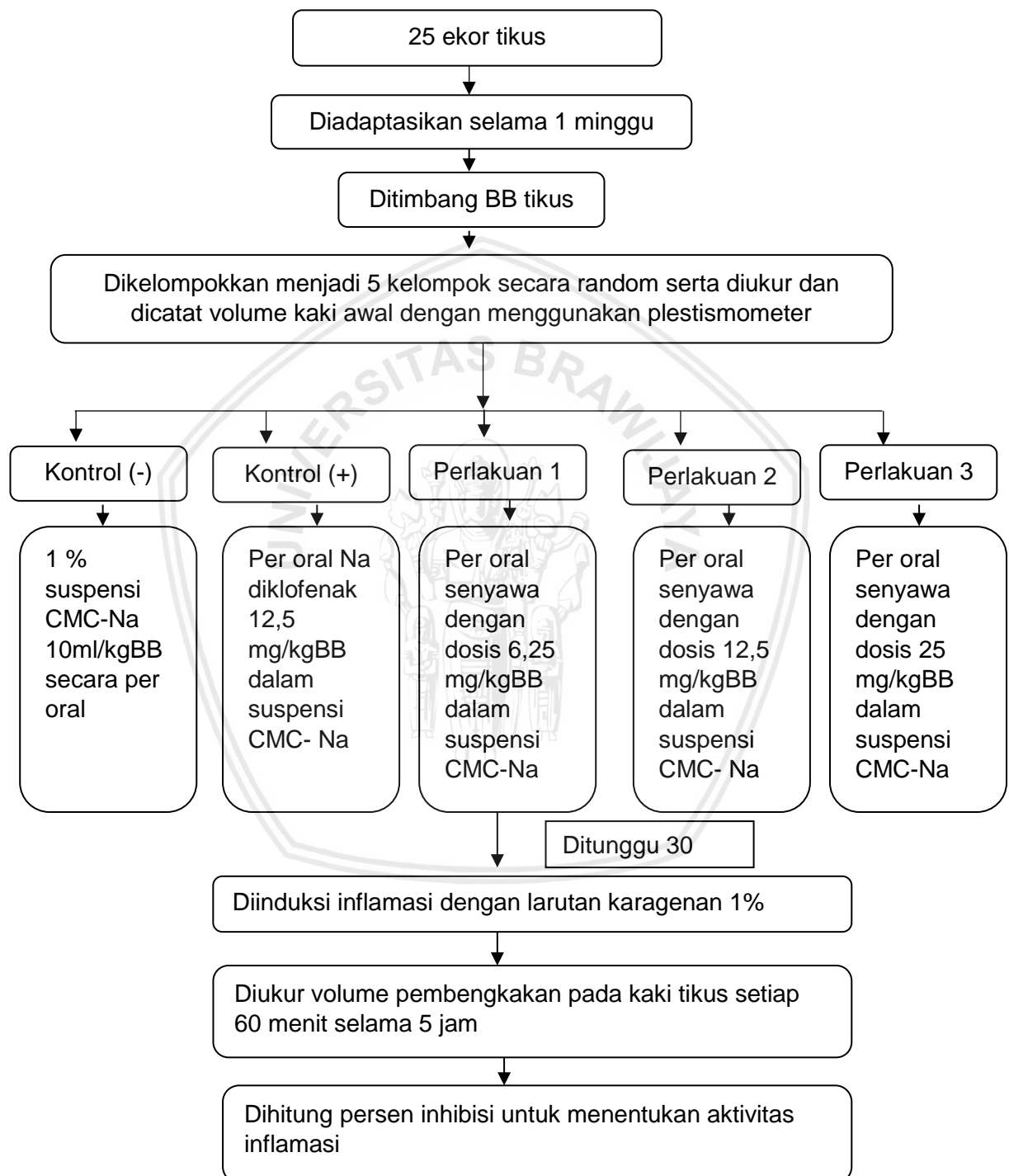
Gambar 4.7 Prosedur Studi Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometri

#### 4.6.4.3 Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrometri Massa



Gambar 4.8 Prosedur Studi Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrometri Massa

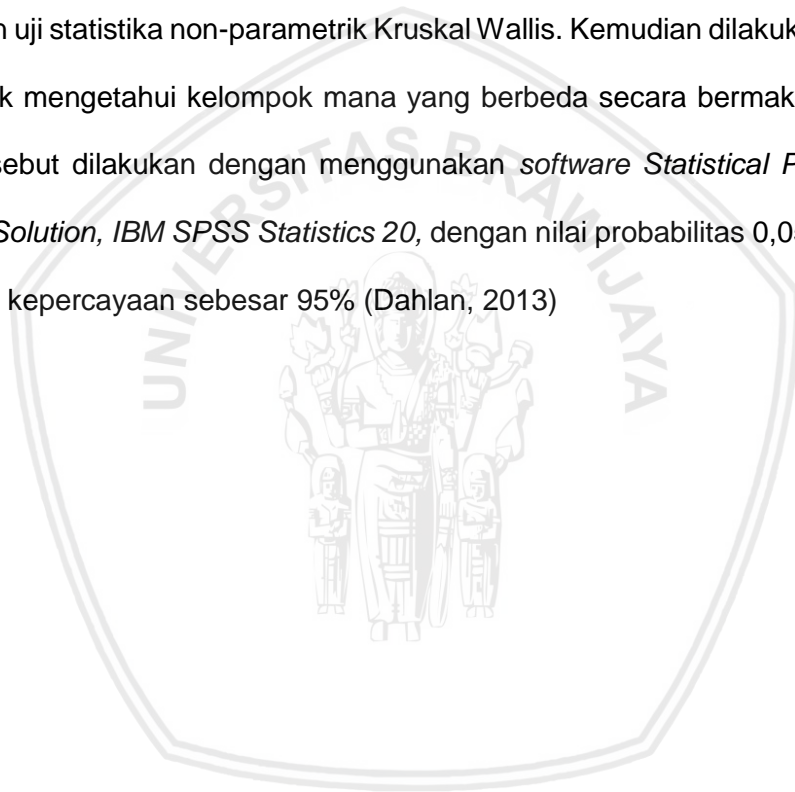
#### 4.6.4 Uji Antiinflamasi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea



**Gambar 4.9** Prosedur Uji Aktivitas Antiinflamasi

#### 4.7 Analisis Data

Pengambilan data dilakukan setelah uji aktivitas antiinflamasi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji hipotesis *Two-Way Analysis of Variance* (ANOVA), dengan syarat distribusi data normal ( $p > 0,05$ ) dan varians data harus homogen ( $p > 0,05$ ). Apabila syarat uji ANOVA tidak terpenuhi maka akan dilakukan uji statistika non-parametrik Kruskal Wallis. Kemudian dilakukan uji Post-hoc untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna. Analisa data tersebut dilakukan dengan menggunakan *software Statistical Product and Service Solution, IBM SPSS Statistics 20*, dengan nilai probabilitas 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan sebesar 95% (Dahlan, 2013)







## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Uji Insilico

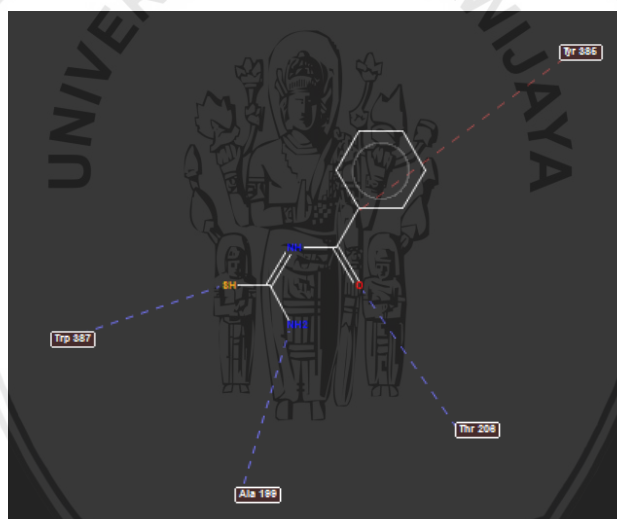
Penelitian dimulai dengan uji *In Silico* senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan menggunakan *Chemdraw Ultra 12.0* dan *Chem3D Pro 12.0* dan dibandingkan dengan senyawa benzoiltiourea sehingga didapatkan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 5.1.

**Tabel 5.1 Hasil Uji Pendahuluan Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

Parameter	1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea	Benzoiltiourea
Lipofilisitas (ClogP)	2,9596	0,566
Elektronik (Etot)	10.6789 Kcal/mol	5.303 Kcal/mol
Sterik (CMR)	7,138	5,2812
Rerank Score	-102.136	-82.6638

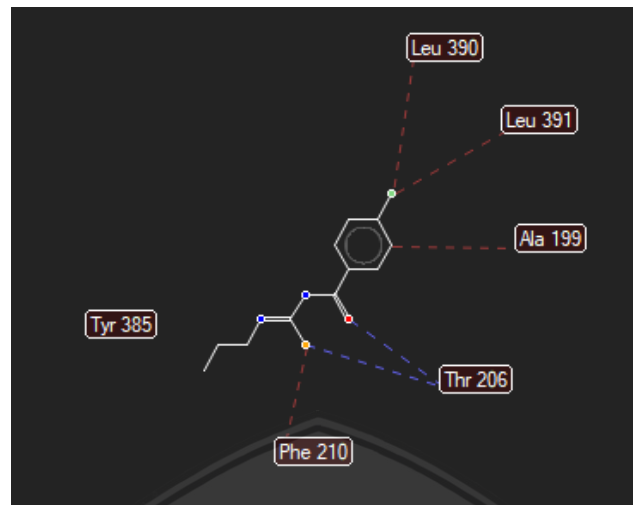
Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan didapatkan bahwa parameter senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea lebih baik dibandingkan dengan benzoiltiourea. Selanjutnya, untuk mengetahui apakah senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki keterikatan yang lebih baik dibandingkan dengan benzoiltiourea, maka dilakukanlah docking dengan menggunakan *molegro virtual docker 5.0*. Hasil docking menunjukkan bahwa senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki nilai rerank score yang lebih besar dibandingkan

dengan benzoiltiourea dengan nilai -86,642 dan untuk benzoiltiourea sebesar -73,158. Disamping itu, didapatkan pula bahwa senyawa benzoiltiourea memiliki ikatan hidrogen dengan *Threonine 206 (Thr 206)*, *Alanine 199 (Ala 199)*, *Tryptophan 287 (Trp 297)*, dan interaksi sterik dengan *Tyrosine 385 (Tyr 385)* yang dapat dilihat pada gambar 5.1. Sedangkan untuk senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki interaksi hidrogen dengan Tyrosine 385 (Tyr 385) dan Threonine 206 (Thr 206), Interaksi sterik dengan Leucine 390 (Leu 390), Leucine 391 (Leu 390), Alanine 199 (Ala 199), dan Phenilalanine 210 (Phe 210) yang dapat dilihat pada gambar 5.2.



**Gambar 5.1 Ligand Map Interaksi Senyawa Benzoiltiourea dengan Reseptor 1PXX**

(a) *Ligand map* interaksi antara Benzoiltiourea dengan reseptor 1PXX dan (b) ikatan hidrogen antara Benzoiltiourea dengan reseptor 1PXX. - - - - : interaksi sterik, - - - - : ikatan hidrogen.



**Gambar 5.2 Ligand Map Interaksi Senyawa 1-*alil*-3-(4-*klorobenzoil*)tiourea dengan Reseptor 1PXX**

(a) Ligand map interaksi antara 1-*alil*-3-(4-*klorobenzoil*)tiourea dengan reseptor 1PXX dan (b) ikatan hidrogen antara 1-*alil*-3-(4-*klorobenzoil*)tiourea dengan reseptor 1PXX. - - - - : interaksi sterik, - - - - : ikatan hidrogen.

### 5.1.2 Sintesis Senyawa 1-*alil*-3-(4-*klorobenzoil*)tiourea

Rendemen produk senyawa 1-*alil*-3-(4-*klorobenzoil*)tiourea dapat dilihat pada Tabel 5.2. Perhitungan rendemen hasil sintesis dihitung dengan rumus :

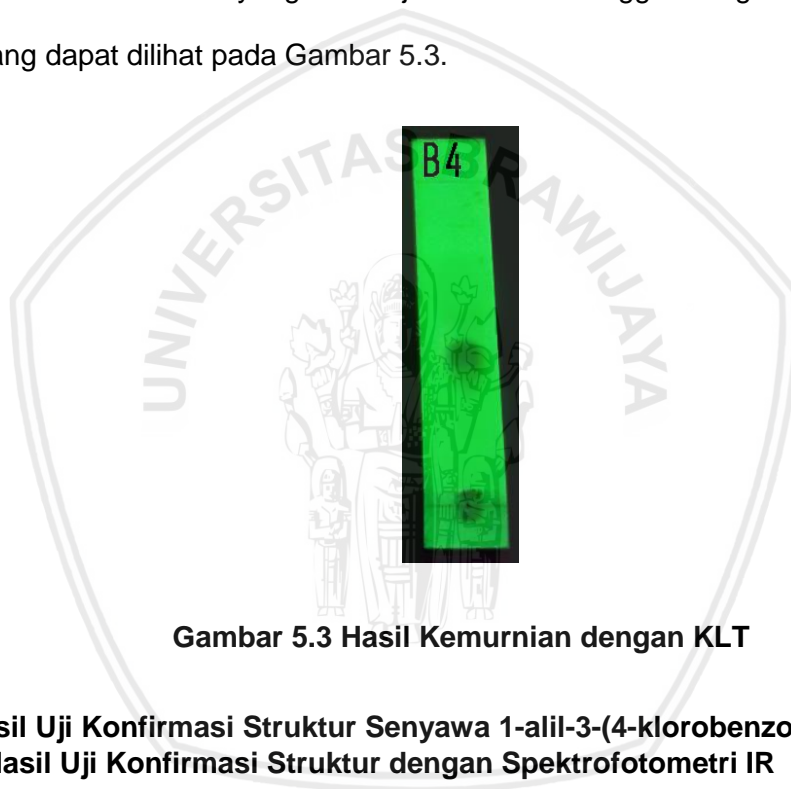
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat nyata}}{\text{Berat teoritis}} \times 100\%.$$

**Tabel 5.2 Persen Rendemen dari Senyawa Produk BATU-4**

Aliltiourea	4- klorobenzoil klorida	Mol Produk	MR Produk	Berat Teoritis	Berat Nyata	Rendemen
0,0093 mol	0,0085 mol	0,0085 mol	254,72g	2,165 g	0,584 g	26,96 %

### 5.1.3 Hasil Uji Kemurnian Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea Menggunakan KLT

Kemurnian senyawa hasil sintesis diuji dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis), dengan fase diam Silica gel 60 GF254 dan fase gerak n-heksana : kloroform : etil asetat (8:3:1). Hasil optimasi eluen dapat dilihat pada lampiran 5 dan hasil KLT yang menunjukkan noda tunggal dengan Rf sebesar 0,475 yang dapat dilihat pada Gambar 5.3.

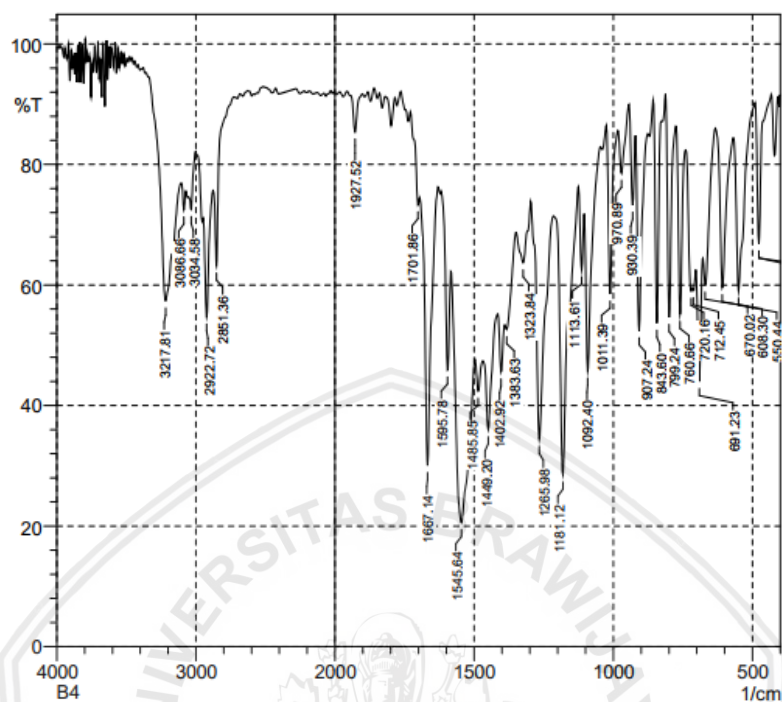


Gambar 5.3 Hasil Kemurnian dengan KLT

### 5.1.4 Hasil Uji Konfirmasi Struktur Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

#### 5.1.4.1 Hasil Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometri IR

Hasil dari uji konfirmasi struktur senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea menggunakan spektroskopi IR dapat dilihat pada sekta yang ditunjukkan pada gambar 5.4.



Gambar 5.4 Spektra Inframerah Senyawa 1-aliil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

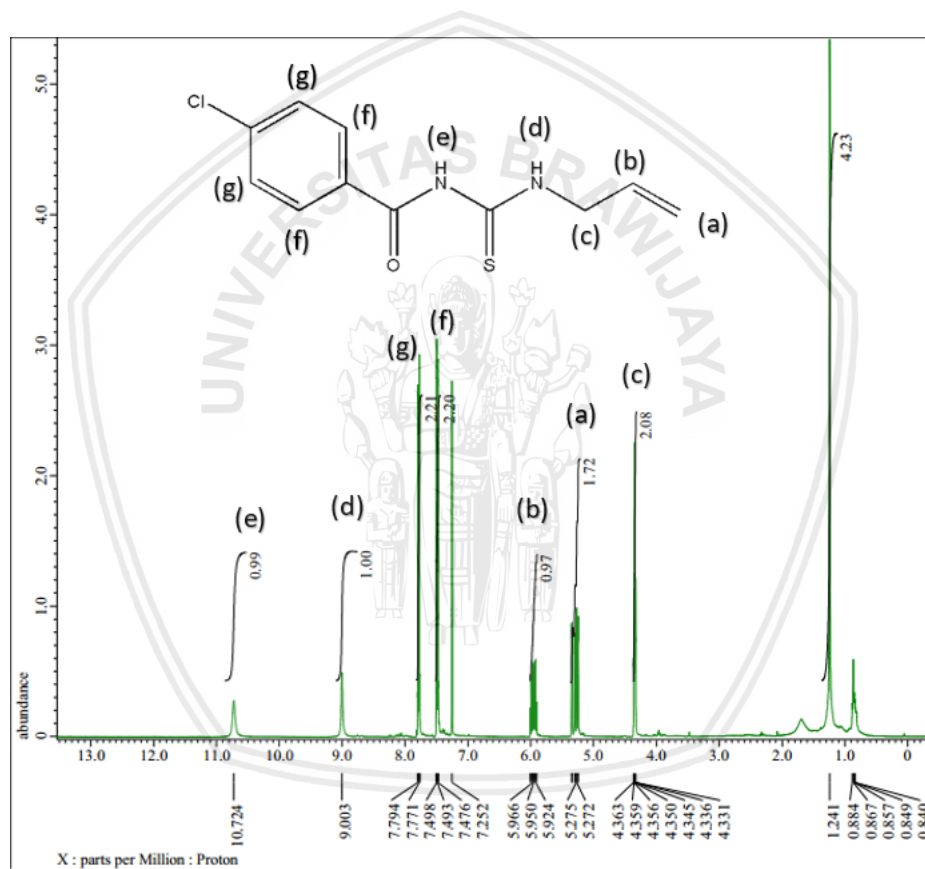
Tabel 5.3 Interpretasi Hasil Spektra Inframerah Senyawa 1-aliil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

Tipe Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm-1)	Literatur
-C=O ulur amida	1667.14	1680
-C=C aromatis	1545.64 – 1595.78	1450 – 1650
C=S	1181.12	1020 - 1250
N-H ulur	3217.81	3330 – 3060
C-N	1265.98	1250-1020
C-Cl	550.44 – 843.6	850-550

Berdasarkan gambar diatas didapatkan bahwa terdapat beberapa gugus penting yaitu -C=O ulur amida pada bilangan gelombang 1667.14  $\text{cm}^{-1}$  ; -C=C aromatis pada bilangan gelombang 1545.64 – 1595.78  $\text{cm}^{-1}$  ; C=S pada bilangan gelombang 1181.12  $\text{cm}^{-1}$  ; N-H ulur pada bilangan gelombang 3217.81  $\text{cm}^{-1}$  ; C-N pada bilangan gelombang 550.44 – 843.6  $\text{cm}^{-1}$  ; C-Cl pada bilangan gelombang 550.44 – 843.6  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.1.4.2 Hasil Uji Konfirmasi Struktur dengan Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti ( $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ )

Hasil uji konfirmasi struktur dengan spektrofotometri  $^1\text{H-NMR}$  dapat dilihat pada Gambar 5.5 dan interpretasi spektra  $^1\text{H-NMR}$  dapat dilihat pada Tabel 5.4. Untuk spektra  $^{13}\text{C-NMR}$  dapat dilihat pada Gambar 5.6 dan interpretasi spektra yang ditunjukkan pada Tabel 5.5.

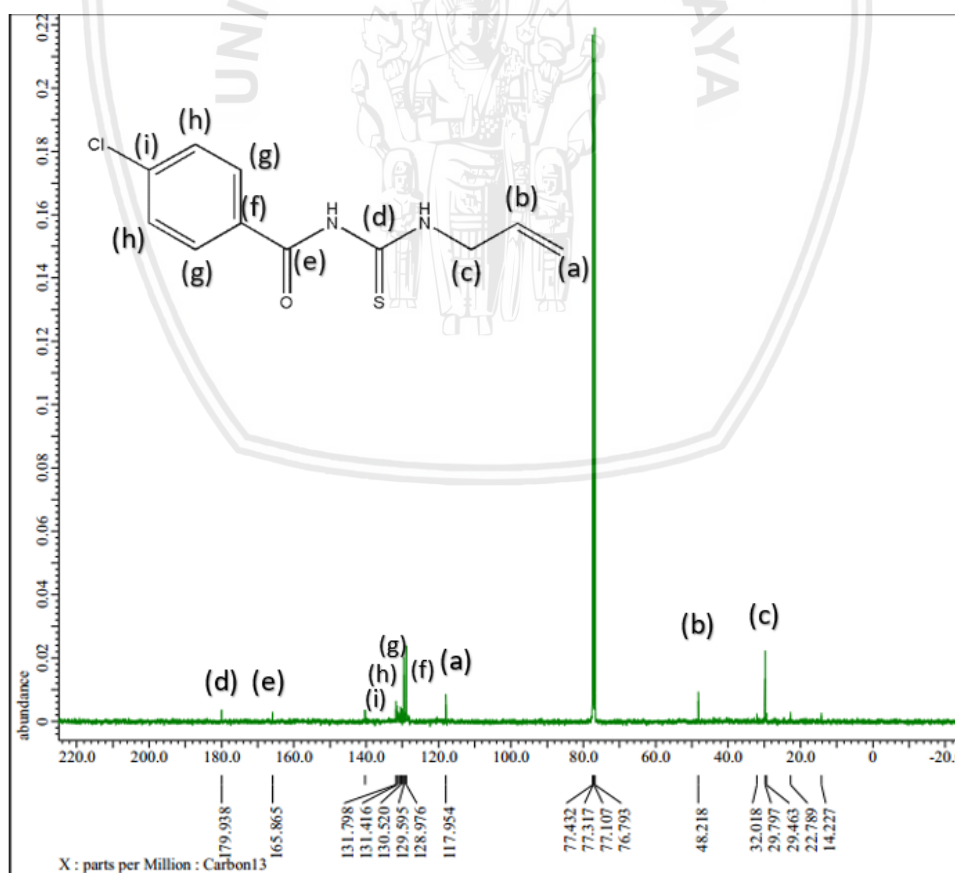


Gambar 5.5 Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti  $^1\text{H-NMR}$  senyawa 1-aliil-3-(4-klorobenzoi)tiourea

**Tabel 5.4 Interpretasi Hasil Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti <sup>1</sup>H-NMR senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

Abjad	Geseran Kimia $\delta$ (ppm)	Perbandingan Integrasi	Multiplikasi	Jenis Proton
(a)	5,272	2	Doublet	2 atom H dari alil
(b)	5,966	1	Triplet	1 atom H dari alil
(c)	4,356	2	Doublet	2 atom H dari alil
(d)	9,003	1	Singlet	1 atom H dari -NH
(e)	10,724	1	Singlet	1 atom H dari -NH
(f)	7,252	2	Doublet	1 atom H dari benzena
(g)	7,771	2	Doublet	1 atom H dari benzena

Dari hasil diatas membuktikan bahwa terdapat 7 jenis proton dalam senyawa produk sintesis.



**Gambar 5.6 Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti <sup>13</sup>C-NMR senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

**Tabel 5.5 Interpretasi Hasil Spektra Spektrofotometri Resonansi Magnet Inti  $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

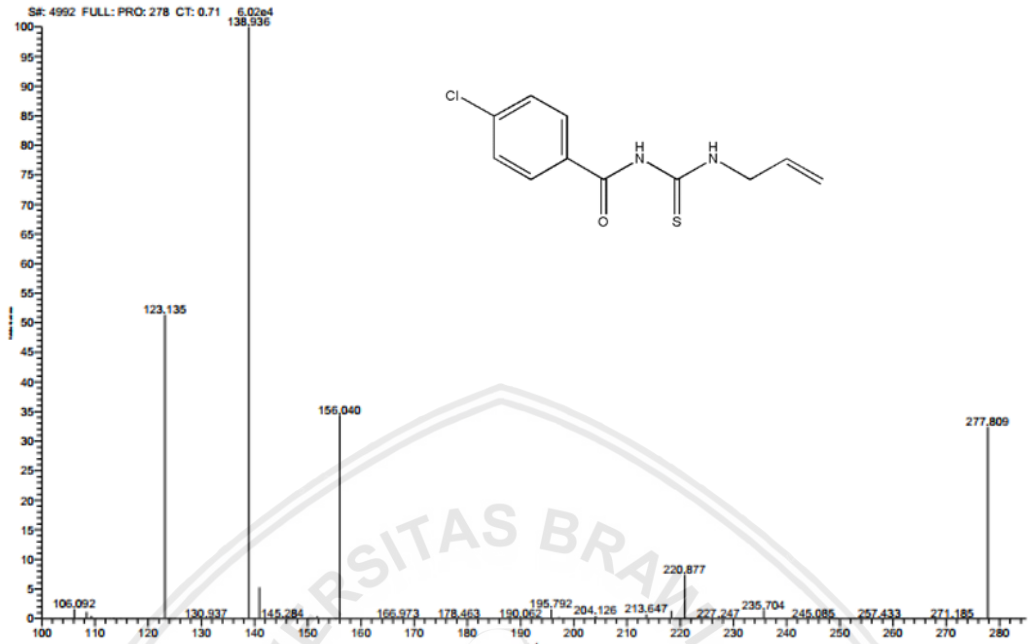
Abjad	Geseran Kimia $\delta$ (ppm)	Jenis Karbon
(a)	117,954	1 atom C dari C=C
(b)	58,218	1 atom C dari -C=C
(c)	29,797	1 atom C dari -C-C=C
(d)	179,938	1 atom C dari C=S
(e)	165,865	1 atom C dari C=O
(f)	128,926	1 atom C dari benzena
(g)	129,595	2 atom C dari benzena
(h)	130,520	2 atom C dari benzena
(i)	131,798	1 atom C dari benzena

Dari hasil diatas membuktikan bahwa terdapat 9 jenis atom karbon dalam senyawa produk sintesis.

#### **5.1.4.3 Hasil Uji Konfirmasi Struktur Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan Spektroskopi Massa**

Hasil uji konfirmasi struktur dengan spektroskopi massa senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada Gambar 5.7 dan analisa fragmen massa dari hasil uji MS dapat dilihat pada Tabel 5.6.

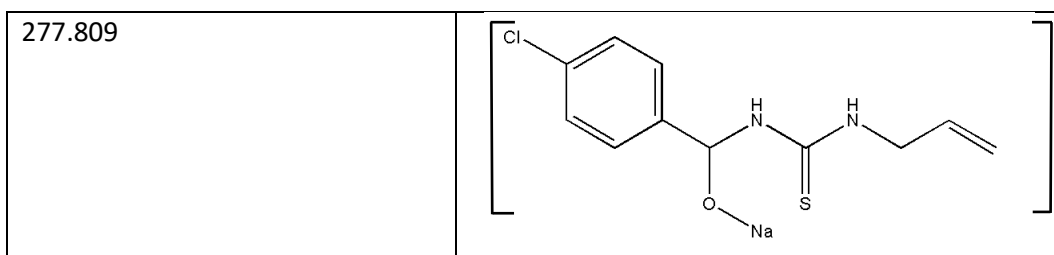




Gambar 5.7 Spektra MS Senyawa 1-aliil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

Tabel 5.6 Analisis Fragmen Massa Hasil Spektra MS Senyawa 1-aliil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

Massa (m/z)	Fragmen
123,135	
138,936	
156,040	



Hasil uji spektrometri massa dari sintesis senyawa Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea adalah terbentuk 4 fragmen massa yaitu 123,135 m/z merupakan fragmen massa dari 1-kloro-4-metilbenzena ; pada massa 138,936 m/z merupakan fragmen massa dari senyawa 4-klorobenzaldehida ; pada massa 156,040m/z merupakan fragmen massa dari senyawa 4-klorobenzamida ; dan yang terakhir pada massa 277.809 m/z merupakan fragmen massa dari senyawa Senyawa sodium (3-allylthioureido)(4-chlorophenyl)methanolate.

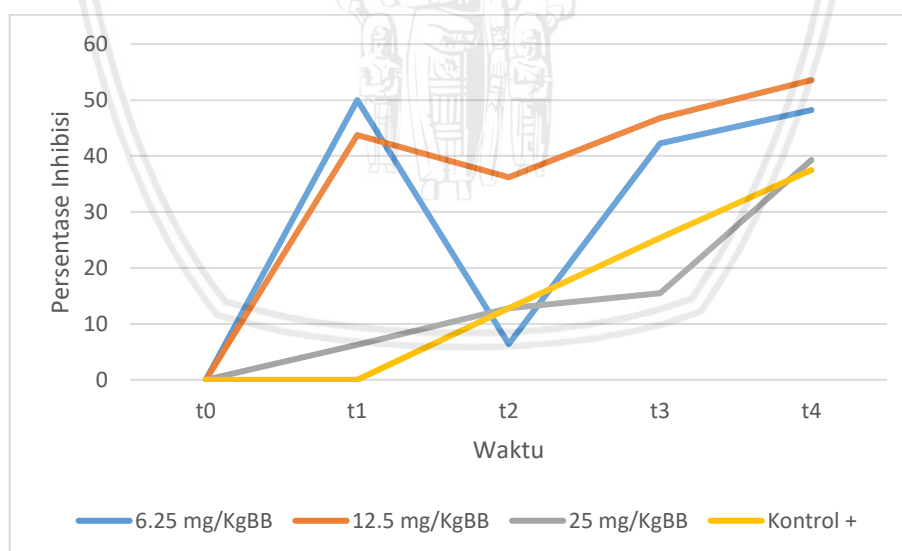
### 5.1.5 Uji Antiinflamasi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea

**Tabel 5.7 Rata-Rata Persen Inhibisi Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

Dosis	Waktu	Rata-rata volume edema	Rata-rata persen inhibisi
6.25 mg/kgBB (n=5)	t0	0.016	0
	t1	0.026	<b>50.000 ± 51.633</b>
	t2	0.033	<b>6.383± 18.426</b>
	t3	0.030	<b>42.254± 4.879</b>
	t4	0.029	<b>48.214± 6.186</b>
12.5 mg/kgBB (n=5)	t0	0.018	0
	t1	0.028	<b>43.750± 33.802</b>
	t2	0.030	<b>36.170± 25.532</b>
	t3	0.030	<b>46.761± 8.237</b>
	t4	0.028	<b>53.571± 8.183</b>
25 mg/kgBB (n=5)	t0	0.015	0
	t1	0.026	<b>6.250 ± 24.804</b>
	t2	0.031	<b>12.766 ± 26.574</b>
	t3	0.034	<b>15.493 ± 7.319</b>

Kontrol positif (n=3)	t4	0.025	<b>39.286 ± 20.282</b>
	t0	0.010	0
	t1	0.021	<b>0.000 ± 5.413</b>
	t2	0.024	<b>12.766 ± 35.155</b>
	t3	0.028	<b>25.352 ± 9.758</b>
Kontrol negatif (n=3)	t4	0.022	<b>37.500 ± 11.152</b>
	t0	0.005	0
	t1	0.015	0
	t2	0.020	0
	t3	0.028	0
	t4	0.023	0

Keterangan: Kontrol (-) = CMC-Na 1%  
 Kontrol (+) = Natrium diklofenak 12.5 mg/kgBB  
 t0 = pengukuran udem kaki pada waktu ke 0  
 t1 = pengukuran udem kaki setelah 1 jam  
 t2 = pengukuran udem kaki setelah 2 jam  
 t3 = pengukuran udem kaki setelah 3 jam  
 t4 = pengukuran udem kaki setelah 4 jam



**Gambar 5.8 Grafik Perbandingan Persentasi Inhibisi 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea**

## 5.2 Analisis Data

### 5.2.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Data dikatakan terdistribusi normal jika nilai  $p > 0,05$ . Hasil uji normalitas data dari keseluruhan data terdapat satu kelompok data yang memiliki distribusi data yang tidak normal dengan nilai  $p < 0,05$  sehingga pengujian dirubah menggunakan uji *Kruskal Wallis Test*.

### 5.2.2 Uji Beda Nyata dengan Kruskal Wallis Test

Berdasarkan hasil uji normalitas data diatas maka uji beda nyata dilakukan menggunakan *Kruskal Wallis Test* dengan hasil disajikan pada Tabel 5.8

**Tabel 5.8 Hasil Analisis Data Uji Antiinflamasi menggunakan SPSS 20**

Signifikansi pada t3	Signifikansi pada t4
0,022	0,343

Berdasarkan hasil dari uji *Kruskal Wallis Test* disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada t3 dengan nilai  $p < 0,05$  dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara persen inhibisi dari senyawa uji dengan kontrol positif pada t4 dengan nilai  $p > 0,05$ .

### 5.2.3 Penentuan ED50 dengan Analisa Probit pada SPSS 20

Dosis obat yang memberikan efek 50% dari efek maksimal obat diberi istilah ED50 (*Efficiency Dose 50*) yang ditentukan menggunakan analisa probit pada perangkat lunak SPSS 20 dengan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 5.9.

**Tabel 5.9 Hasil Analisis Probit menggunakan SPSS 20**

<b>Waktu</b>	<b>ED50 % Inhibisi</b>
t3	0.866
t4	1.210

Berdasarkan hasil analisa probit diatas maka disimpulkan bahwa ED50 untuk senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea pada t3 adalah 0.866 mg/kgBB dan pada t4 adalah 1,210 mg/kgBB.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

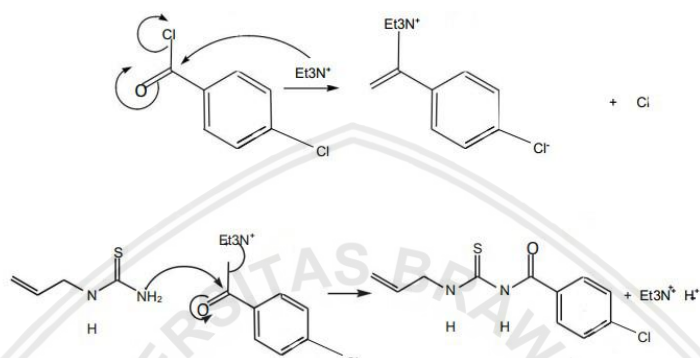
#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini diawali dengan melakukan uji pendahuluan dengan metode *in silico* untuk mengetahui parameter fisika kimia dari senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan parameter senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan benzoiltiourea dan bukan menggunakan pembanding natrium diklofenak seperti pada uji *in vivo* karena antara senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan natrium diklofenak tidak memiliki farmakofor yang sama sehingga tidak dapat dibandingkan secara *in silico*. Dari studi yang telah dilakukan didapatkan hasil yaitu lipofilisitas (ClogP) senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea sebesar 2,959 nilai ini lebih besar dibandingkan ClogP senyawa benzoiltiourea yaitu sebesar 0,566. Hal ini menunjukkan bahwa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki lipofilisitas yang lebih baik yang berkaitan dengan kemampuan penetrasi membran yang lebih dibandingkan benzoiltiourea. Parameter lain yang diuji yaitu Elektronik (Etot), didapatkan nilai Etot pada 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea yaitu sebesar 10.6789 Kcal/mol dan benzoiltiourea sebesar 5.363 Kcal/mol. Parameter elektronik ini menunjukkan kemampuan suatu senyawa untuk terionisasi (Siswandono, 1999), sehingga dapat dilihat bahwa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea merupakan senyawa yang sulit terionisasi karena membutuhkan energi yang lebih besar selain itu parameter ini juga menunjukkan bahwa senyawa memiliki daya ikat terhadap reseptor yang lebih baik dibandingkan senyawa benzoiltiourea (Siswandono, 1999). Selanjutnya, dilakukan uji terhadap



parameter sterik (CMR). Didapatkan nilai CMR pada 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea yaitu sebesar 7,138 nilai ini lebih besar dibandingkan dengan nilai CMR pada benzoiltiourea yaitu sebesar 5,2812. Parameter CMR menunjukkan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor dalam sel (Siswandono,1999) sehingga senyawa 1-alil-3-(4- klorobenzoil)tiourea memiliki keserasian yang lebih baik dibandingkan benzoiltiourea. Selanjutnya, dilakukan pengujian terhadap afinitas senyawa melalui proses docking menggunakan Molegro Virtual Docker 5.0. Docking dilakukan dengan menggunakan proteinPDB: 1PXX (COX-2) sebagai reseptor. Pada penelitian ini digunakan 1PXX (COX-2) dikarenakan Na-Diklofenak sebagai kontrol positif pada penelitian ini juga berikatan dengan baik pada protein 1PXX (Diyah, 2014) . Didapatkan nilai Rerank Score (RS) senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea sebesar -102.136 dan benzoiltiourea sebesar -82.6638. Hal ini menunjukkan bahwa daya afinitas 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea terhadap reseptor COX-2 (1PXX) lebih tinggi.

Setelah melakukan studi pendahuluan, dilakukan sintesis senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dengan metode *Schotten-baumann*. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa dapat dilihat pada Gambar 6.1.



**Gambar 6.1 Reaksi Substitusi Nukleofilik**

Selanjutnya, produk yang telah dihasilkan dilakukan uji untuk mengetahui apakah senyawa yang dihasilkan telah sesuai dan mengetahui kemurnian dari senyawa yang dihasilkan. Uji kemurnian ini dilakukan dengan menggunakan metode yaitu kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji konfirmasi struktur dengan spektrometri IR, spektrometri NMR, dan spektrometri massa. uji KLT menggunakan fase gerak n-heksana:kloroform:etil asetat (8:3:1) dan fase diam berupa silica gel 60 GF254. Fase gerak ini dipilih karena berdasarkan hasil optimasi dari 3 jenis eluen sebelumnya fase ini terbukti menghasilkan noda yang paling optimal. Pada pengujian KLT, didapatkan noda tunggal dengan nilai faktor retensi ( $R_f$ ) sebesar 0,475. Hasil yang didapatkan ini telah memenuhi syarat  $R_f$  yang baik yaitu antara 0,2-0,8 yang merupakan  $R_f$  analisis kuantitatif (Wulandari, 2011). Hasil pengujian KLT dapat dilihat pada Gambar 5.1



Setelah uji KLT, maka pengujian dilanjutkan kepada uji konfirmasi struktur. Pada penelitian ini dilakukan uji konfirmasi menggunakan spektrofotometri inframerah yang berfungsi untuk mengetahui jenis ikatan pada senyawa yang didapatkan (Margono,2006). Uji spektrometri inframerah menunjukkan bahwa terdapat 6 gugus penting yaitu  $\text{-C=O}$  ulur amida pada bilangan gelang 1667.14  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{-C=C}$  aromatis pada bilangan gelombang 1545.64 – 1595.78  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{C=S}$  pada bilangan gelombang 1181.12  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{N-H}$  ulur pada bilangan gelombang 3217.81  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{C-N}$  pada bilangan gelombang 550.44 – 843.6  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{C-Cl}$  pada bilangan gelombang 550.44 – 843.6  $\text{cm}^{-1}$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa yang dihasilkan pada proses sintesis telah didapatkan senyawa yang sesuai dilihat dari spektroskopi infra merah yang dihasilkan.

Selanjutnya uji dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  untuk mengetahui jenis, jumlah, serta letak atom hidrogen dan karbon pada senyawa produk (Upmanyu,2007). Dari hasil analisa ditemukan bahwa senyawa hasil sintesis semestinya memiliki 7 jenis proton saja, akan tetapi pada spektrum ditemukan 8 jenis proton, hal ini dapat terjadi karena adanya senyawa pengotor pada senyawa sehingga menambah proton yang terdeteksi pada NMR. Sedangkan pada deteksi karbon, ditemukan bahwa senyawa memiliki 9 jenis karbon. Hal ini tidak sesuai dengan jenis senyawa target sintesis yaitu 1- alil3-(4-klorobenzoil)tiourea yang memiliki 7 jenis proton dan 9 jenis karbon. Pada analisis tersebut ditemukan bahwa terdapat residual proton yang berasal dari kloroform-d yang merupakan solvent pada uji NMR. Hal ini didukung oleh Merlic (1997) bahwa beberapa solvent pada NMR memiliki proton residu yang dapat

muncul dan terdeteksi sehingga mengganggu observasi pada senyawa. Dapat dilihat bahwa hasil yang didapatkan telah sesuai dengan teori oleh Merlic dimana terdeteksi Kloroform-d pada 7.48 ppm pada  $^1\text{H}$  NMR dan 77, 32 ppm pada  $^{13}\text{C}$  NMR.

Uji konfirmasi struktur dilanjutkan dengan melakukan uji konfirmasi struktur menggunakan spektroskopi massa yang bertujuan untuk melihat bobot fragmen-fragmen yang dihasilkan (Nauli,2002). Pada penelitian ini bobot massa total yang dihasilkan yaitu sebesar 254 m/z. Hasil uji spektroskopi massa menunjukkan bahwa terbentuk 4 serapan yang menunjukkan adanya 4 fragmen massa. Bobot massa tertinggi ditemukan pada 277,809 m/z yang memiliki perbedaan massa sebesar 23 m/z yang kemungkinan dimiliki oleh natrium. Pada proses ini dimungkinkan terjadi Ion Adduct yang umum terjadi pada MS yaitu Ion yang terbentuk oleh interaksi ion prekursor dengan satu atau lebih atom atau molekul untuk membentuk ion yang mengandung semua atom penyusun ion prekursor serta atom tambahan dari atom atau molekul terkait (Murray,2013). Perkiraan ini juga didukung oleh data yang didapatkan pada pengujian MS dari senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea yang menunjukkan bahwa terdapat penambahan natrium pada senyawa yang diuji sehingga massa awal senyawa sebesar 254,00 berubah menjadi 276,99. Suatu penelitian oleh Lambert (2004), menunjukkan bahwa pada uji MS sangat dimungkinkan terdapat ion adduct yang berasal dari matix biologi ataupun perlengkapan gelas yang digunakan pada uji tersebut. Selain itu, hasil penelitian oleh Lambert tersebut juga menunjukkan bahwa kemungkinan terjadinya ion adduct oleh natrium juga dipengaruhi oleh kandungan

natrium dalam sampel. Hal ini dimungkinkan terjadi karena pada proses sintesis 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea digunakan bahan natrium karbonat. Fragmen lain yang ditemukan yaitu pada massa 156,040m/z yang merupakan fragmen massa dari senyawa 4-klorobenzamida. Selanjutnya didapatkan pula fragmen pada pada massa 138,936 m/z merupakan fragmen massa dari senyawa 4-klorobenzaldehida. Fragmen lain yaitu terdapat pada 123,135 m/z merupakan fragmen massa dari 1-kloro-4-metilbenzena.

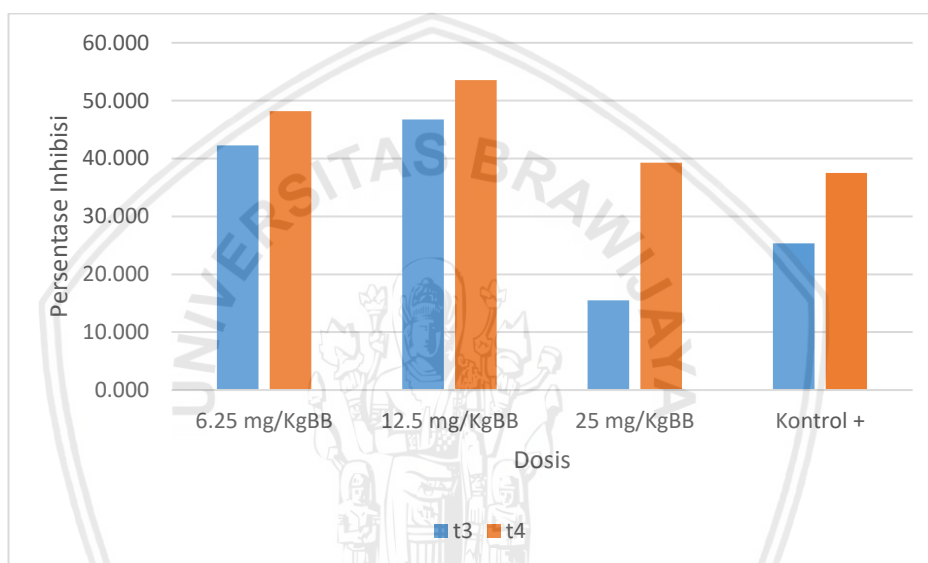
Penelitian ini kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji aktifitas inflamasi senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea secara in vivo terhadap tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karagenan pada telapak kakinya. Penggunaan karagenan ini di lakukan karena karagenan merupakan inflamator yang tidak merusak jaringan yang terpengaruh dan tidak menimbulkan efek sistemik pada tikus. Penelitian efek dilakukan dengan mengukur volume edema dari kaki tikus yang dicelupkan kedalam plestismometer. Pengukuran volume edema dilakukan setiap jam hingga jam ke 4 karena edema yang dihasilkan oleh karagenan memiliki durasi 4-5 jam. Setelah volume udema didapatkan pada setiap dosisnya, maka selanjutnya dilakukan analisis pada waktu t3 dan t4 karena nilai pada t0 hingga t2 memiliki variasi yang tinggi yang kemungkinan disebabkan karena obat yang dimasukkan belum bereaksi secara sempurna.

Pada gambar 6.2, dapat dilihat bahwa persentase inhibisi pada dosis 6,25 mg/KgBB dan 12,5 mg/KgBB lebih besar dibandingkan kontrol positif yaitu natrium diklofenak. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis uji 6,25 mg tersebut sudah

dapat memberikan efek yang baik terhadap inflamasi. Namun dapat dilihat pada grafik, nilai inhibisi pada dosis 25 mg/KgBB terlihat kurang memberikan perbedaan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dapat dimungkinkan karena dosis 25 mg/KgBB merupakan dosis yang terlalu tinggi, sehingga efek antiinflamasi yang dihasilkan tidak maksimal dan justru menyebabkan toksisitas. Kemungkinan ini juga didukung pada beberapa tikus pada dosis 25 mg/KgBB mengalami kematian setelah selesainya perlakuan. Menurut penelitian oleh Sabah (2018), hal ini juga terjadi pada natrium diklofenak dimana pada dosis 150mg/KgBB mengakibatkan munculnya degenerasi hepatosit, dan nekrosis hepatosit sehingga obat tidak dapat dimetabolisme dengan baik. Sehingga perlu dilakukannya pemeriksaan histologi lebih lanjut senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea pada organ yang memiliki kemungkinan mengalami gangguan seperti hepar. Sedangkan jika dilihat dari waktu inhibisi, pada t3 dan t4 masih terlihat peningkatan persentase inhibisi sehingga dapat disimpulkan bahwa durasi efek 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea cukup lama sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui durasi antiinflamasi senyawa ini.

Persen inhibisi kemudian dianalisa dengan menggunakan software SPSS 20. Berdasarkan hasil analisa, data yang didapatkan tidak memiliki distribusi yang normal dengan nilai  $p < 0,05$  sehingga tidak memenuhi syarat untuk melakukan analisa ANOVA sehingga dilanjutkan kepada uji non parametrik Kruskal Wallis Test dengan hasil yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada t3 dengan nilai  $p < 0,05$  dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara persen inhibisi dari senyawa uji dengan kontrol positif pada t4 dengan nilai  $p >$

0,05. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa ini mengalami penurunan efek pada saat jam ke-4. Hasil ini dapat dikaitkan dengan farmakokinetika obat dimana konsentrasi obat sudah mulai menurun dan sudah mulai tereliminasi. Namun hal ini perlu dibuktikan lagi dan memerlukan penelitian lebih lanjut terkait farmakokinetika senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea.



**Gambar 6.2 Perbandingan Persentase Inhibisi Pada t3 dan t4**

Selanjutnya dilakukan analisa probit untuk mengetahui  $ED_{50}$  dari senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea. Berdasarkan hasil analisa, didapatkan  $ED_{50}$  adalah sebesar 0,866 mg/kgBB pada t3 dan 1,210 mg/kgBB pada t4. Menurut hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa senyawa telah memberikan efek antiinflamasi pada 50% populasi pada t3 adalah sebesar 0.866 mg/kgBB dan pada dosis 1,210 mg/kgBB pada t4, nilai ini dapat dinyatakan baik karena pada dosis yang rendah efek inflamasi sudah mulai terjadi.

## 6.2 Implikasi terhadap Bidang Kefarmasian

Implikasi penelitian yang dilakukan terhadap kefarmasian adalah ditemukannya senyawa penuntun baru sebagai antiinflamasi, Penelitian dapat dilanjutkan mengenai perbandingan dengan obat lain beserta efek samping yang mungkin ditimbulkan.

## 6.3 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini didapatkan nilai RSD yang cukup besar pada hasil inhibisi yang didapatkan pada t1 hingga t3 tidak dilakukan pengujian terhadap profil absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi pada rute pemberian oral sehingga belum diketahui faktor-faktor yang berperan penting dalam efek antiinflamasi senyawa tersebut sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea dapat disintesis melalui reaksi substitusi nukleofilik dengan metode *Schotten-baumann*
2. Senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea memiliki aktifitas antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan Na-diklofenak pada t3 ( $p < 0.05$ ) namun, tidak terlihat perbedaan yang bermakna pada t4 ( $p > 0.05$ ).

#### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap turunan benzoil tiourea lainnya untuk mengetahui turunan yang memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling baik.
2. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efek farmakokinetik senyawa 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea serta dapat dilakukan penelitian mengenai rute pemberian obat yang paling efektif.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Achmadi, S. S., 2003. *Prinsip-Prinsip Kimia Modern*, Erlangga, Jakarta.
- Ashley, Noah T., et al, Inflammation : Mechanism, Cost, and Natural Variation, Review in Advance, *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 2012, 43(1), 385-406.
- Apriani D. R, 2011. *Uji Efek Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Air Akar Tanaman Akar Kucing (Acalypha Indica Linn) Dan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (Zingiber Officinale Rose) Terhadap Udem Telapak Kaki Tikus Yang Diinduksi Karagenin*, Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi, Depok.
- Budiati, Tutuk., Suzana, Sardijati, Siti., Sintesis, Uji Aktivitas Analgesik dan Anti Inflamasi Senyawa Benzoiltiourea Tersubstitusi. *Majalah Farmasi Indonesia*, 2010, 21 (1), 68-76.
- Carey, Francis A., 2000, *Organic Chemistry*, Edisi Keempat, McGraw-Hill Companies, Inc., London.
- Corwin, E.J, 2008. *Buku Saku Patofisiologi Corwin Edisi ke 3*, EGC, Jakarta, hal. 279-281.
- Dachriyanus, 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Andalas University Press, Padang, Hal. 39.
- Dahlan, S.M., 2013. *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel*, Salemba Medika, Jakarta.
- Diyah, Nuzul Wahyuning., Siswandono, Docking Molekul Dan Sintesis Turunan Asam Benzoil Salisilat Tersubstitusi Klor Sebagai Penghambat Siklooksigenase-2, *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2014, Vol.3 No.1
- Fajriani, Pemberian Obat-obatan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) pada Anak, *Indonesian Journal of Dentistry*, 2008, 15(3), 200-204.



- Frantz ,Doug E., 2002. Practical Synthesis of Aryl Triflates under Aqueous Conditions. *Department of Process Research, Merck Laboratories, Merck & Co*, 2002, 4, 4717-4718.
- Harborne, J.B. 1984, *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*, Chapman and Hall, London, 19., 37–168.
- Janeway, Charles A., et al, 2005, *Immunobiology : the immune system in health and disease*, Garland Science, New York.
- Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Sari, Linda Puspita.2011. Rekasi Substitusi Nukleofilik Antara Benzil Klorida Dan Kalium Sianida Menggunakan Katalis Cairan Ionik(BMIM)PF6-Silika Gel.Tugas Akhir. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Jakarta.
- Margono,Supardjan A.,et al. Synthesis And Physicochemistry Properties Prediction Of A New Potential Anti-Inflammatory Agent: Diacetyl Pentagamavunon-1,2006,6(1):94-98.
- Merlic,A.C,1997, *Notes on NMR Solvents*, (Online), (<https://webspectra.Ucla.edu/NotesOnSolvents.html>), diakses pada 10 April 2019
- Murray,K.K,*Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013)*, The Scientific Journal of IUPAC,2013 Vol 85, No 7.
- Nauli,Tigor. Memperkirakan rumus kimia senyawa organik dari data spektrometri massa. *Buku prosiding pertemuan ilmiah penelitian dasar ilmu pengetahuan dan teknologi nuklir P3TM-BATAN*.Yogyakarta,27 Juni.2002;0216-2128.
- Ong,C.K.S., et al, An Evidence-Based Update on Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, *Review of Clinical Medicine & Research Marshfield Clinic*, Vol 5, No 1 : 19-34.
- Panda A, Arjona A, Sapey E, Bai F, Fikrig E, Montgomery RR et al., Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age, *Trends Immunol* ,2009, 30, 25–333.

- Pudjaatmaka.1986.*Kimia Untuk Universitas*, Terjemahan dari College Of Chemistry oleh Keenan, Erlangga, Jakarta.
- Sabah,Afya. Biochemical and histological evaluation of diclofenac sodium induced acute hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmaceutical Science and Reseach*,2018,10(4):733-735.
- Sarker SD, Latif Z., Gray Al., 2006. *Natural products isolation* , Humana Press Inc SarkerSD, Latif Z, & Gray AITotowa, New Jersey, 18, hal. 6-10.
- Shalas, Alvan F., Siswandono, Rudyanto, Marcellino., Synthesis and Pain Inhibition Activity of The Analogs of 1-Allyl-3-Benzoylthiourea for New Analgesic Lead Compound Discovery, *J Young Pharmacist*, 2018, 10 (1), 12-15.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. *Kimia Medisinal I dan II*, Airlangga, Surabaya.
- Suzana, Budiati T, Ekowati J, 2004, *Sintesis senyawa turunan benzoiltiourea dan uji aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat pada mencit (Mus musculus)*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Vohra F, Raut A.,Comparative efficacy, safety, and tolerability of diclofenac and aceclofenac in musculoskeletal pain management: A systematic review, *Indian J Pain*, 2016, 30,3-6.
- Wilmana, P.F dan Gan, S.G, 2007. *Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*, EGC, Jakarta, hal. 2-23.
- Wongrakpanich, Supakanya.,et al, A Comprehensive Review of Non-Steroidal Antinflammatory Drug Use in *The Elderly, Aging and Disease*, Department of Medicine, Einstein Medical Center, 2018, Vol 9, No 1:143-150
- Wulandari, Lestyo.2011.*Kromatografi Lapis Tipis*,Jember:PT Kampus Presindo,p 14-33.
- Zahra, Amira Puri.,Carolia,Novita., Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotoksik, *Medical Journal Of Lampung University*,2017,Vol 6, No. 3.



**Lampiran 1.** Perhitungan Jumlah Bahan Untuk Sintesis

Aliltiourea : benzoil klorida : TEA = 1,2 : 1: 2

Bahan	Mr	Densitas	Jumlah mol
Aliltiourea	116,176	1,110 g/ml	0,00936 mol
4 klorobenzoil klorida	161,025	1,365 g/ml	0,0085mol
Trietilamin	101,19	0,726 g/ml	0,0156 mol

Dari hasil diatas maka dilakukan pengambilan bahan sebanyak :

- Aliltiourea = mol x Mr =  $0,00936 \times 116,176 = 1,087$  gram
- 4-klorobenzoil klorida = mol x Mr =  $0,0085 \times 161,025 = 1,368$  gram,  
karena bahan dalam bentuk cair = gram : densitas =  $1,368 \text{ gram} : 1,365 \text{ g/ml} = 1 \text{ ml}$
- Trietilamin = mol x Mr =  $0,0156 \times 101,19 = 1,578$  gram, karena bahan dalam bentuk cair = gram : densitas =  $1,578 \text{ g} : 0,726 \text{ g/ml} = 2,17 \text{ ml}$

**Lampiran 2. Perhitungan Hasil Sintesis**

Berat teoritis produk = mol x Mr = 0,0085 x 254,75 = 2,165 gram

Berat nyata produk = 0,584 gram

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat nyata}}{\text{berat teoritis}} \times 100\% = \frac{0,584 \text{ g}}{2,165 \text{ g}} \times 100\% = 26,97\%$$



## Lampiran 3. Surat Bukti Kelayakan Etik


**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

---

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**  
**No. 407 / EC / KEPK / 12 / 2017**

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN**

**JUDUL** : Sintesis dan Pengembangan Turunan 1-*allil*-3-benzolitiourea sebagai Senyawa Penuntun Antiinflamasi Baru.

**PENELITI UTAMA** : Rudy Salam, S.Farm, M.Biomed.,Apt

**ANGGOTA** : Alvan Febrian Shalas, M.Farm.,Apt  
 Bachtiar Rifa'i Pratita Ihsan, M.Farm.,Apt  
 H.M. Annwary Siregar  
 Nindi Eka Sari  
 Made Prissila Prindani  
 Habsari Yusrindra Siwi

**UNIT / LEMBAGA** : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

**TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

**DINYATAKAN LAIK ETIK.**


 Malang, 07 DEC 2017  
 Ketua,  
  
 Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.  
 NIK. 160746683

**Catatan :**  
 Keterangan Laik Etik Ini Bertaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan  
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)

#### Lampiran 4. Perhitungan Dosis saat Penyuntikkan Tikus

Dosis uji coba ditentukan dari berat badan tiap tikus pada tiap kelompok dengan rumus :

BB tikus x dosis yang ditentukan = X mg

$$\frac{x \text{ mg}}{x \text{ ml}} = \frac{1,875 \text{ mg}}{\text{ml}}$$

$$x \text{ ml} = \frac{1,875 \text{ mg}}{x \text{ mg}}$$

Rumus dihitung dengan catatan berat badan tikus harus dirubah dalam satuan kilogram (kg). Setelah dihitung maka hasil dari dosis tiap tikus adalah sebagai berikut :

Klasifikasi	Nomor	Berat badan	Dosis larutan 1,875 mg/ml	
BATU 4 6.25 mg/kgBB	1	250 gram	1,562 mg	0,83 ml
	2	260 gram	1,625 mg	0,86 ml
	3	240 gram	1,500 mg	0,80 ml
	4	260 gram	1,625 mg	0,86 ml
	5	260 gram	1,625 mg	0,86 ml
BATU 4 12.5 mg/kgBB	1	300 gram	3,750 mg	2,00 ml
	2	280 gram	3,500 mg	1,86 ml
	3	270 gram	3,375 mg	1,80 ml
	4	270 gram	3,375 mg	1,80 ml
	5	260 gram	3,250 mg	1,73 ml
BATU 4 25 mg/kgBB	1	180 gram	4,500 mg	2,40 ml
	2	310 gram	7,750 mg	4,13 ml
	3	280 gram	7,000 mg	3,73 ml
	4	270 gram	6,750 mg	3,60 ml
	5	210 gram	5,250 mg	2,80 ml
Kontrol positif Voltaren 25 mg/ 10 ml	1	230 gram	2,875 mg	1,15 ml
	2	250 gram	3,125 mg	1,25 ml
	3	330 gram	4,125 mg	1,65 ml
Kontrol negatif	1	220 gram	1 ml CMC Na	220 g
	2	250 gram	1 ml CMC Na	250 g
	3	220 gram	1 ml CMC Na	220 g

**Lampiran 5.** Dokumentasi Hasil Uji KLT dan Optimasi Eluen

## 1. Hasil uji KLT optimasi eluen

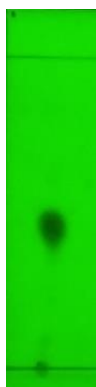
## 1.1 N-heksana : Tetrahidrofuran = 2:1



## 1.2 N-heksana : etil asetat = 5:1

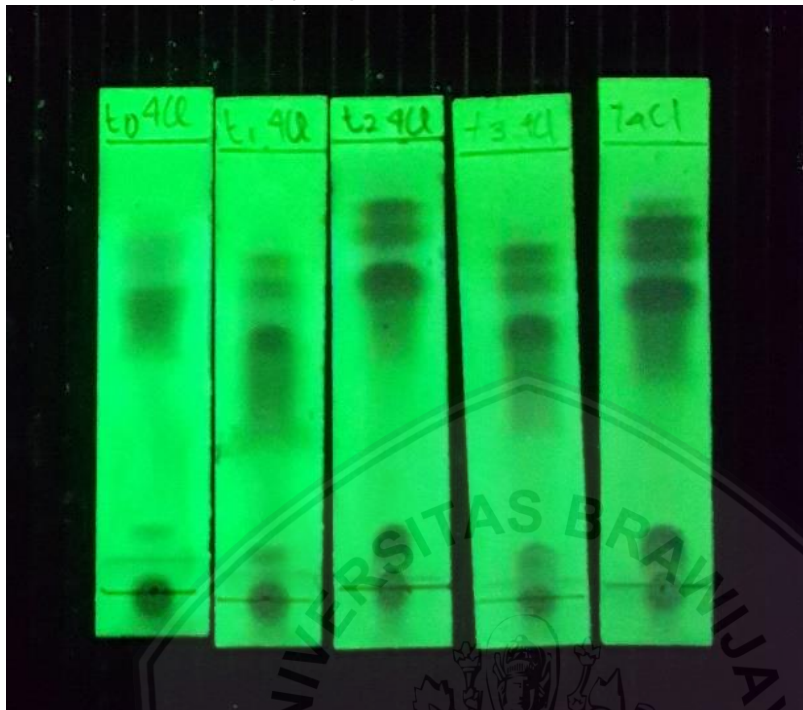


## 1.3 N-heksana : kloroform : etil asetat = 8 :3 :1

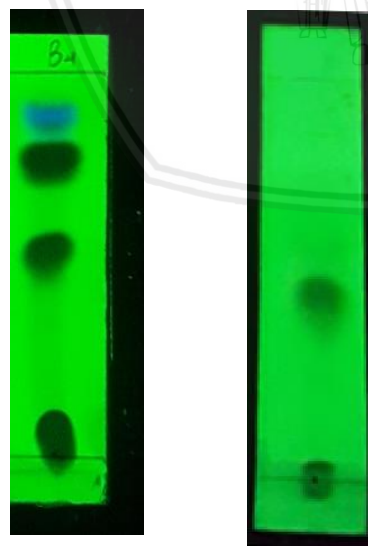




2. Hasil KLT tiap jam pada reflux

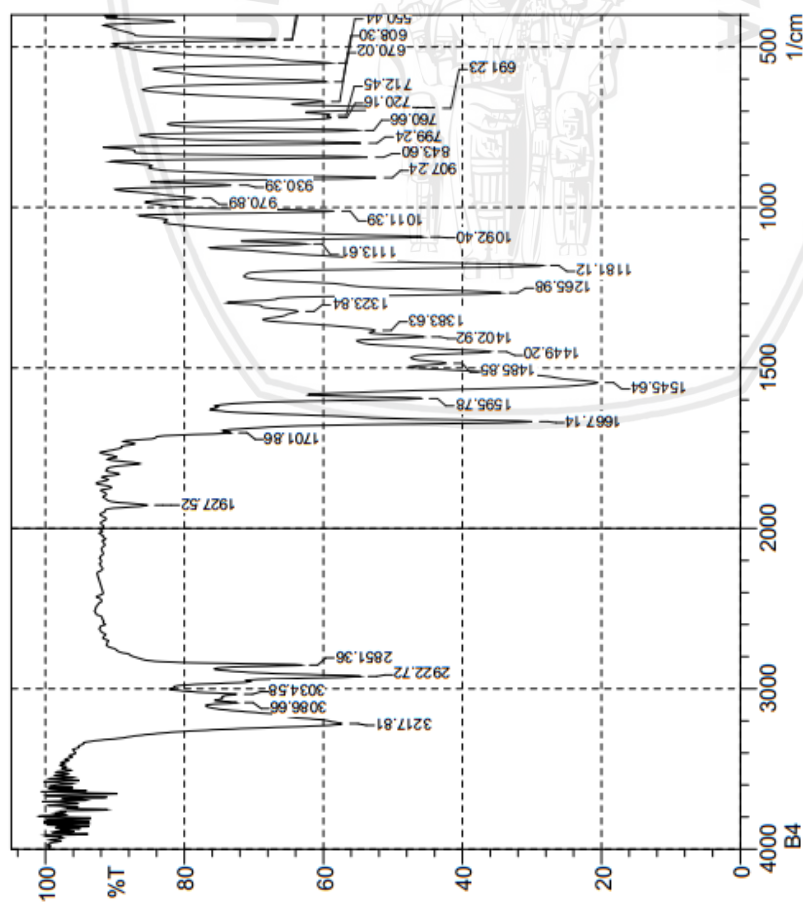


3. Hasil KLT sebelum dan sesudah pencucian menggunakan  $\text{NaCO}_3$

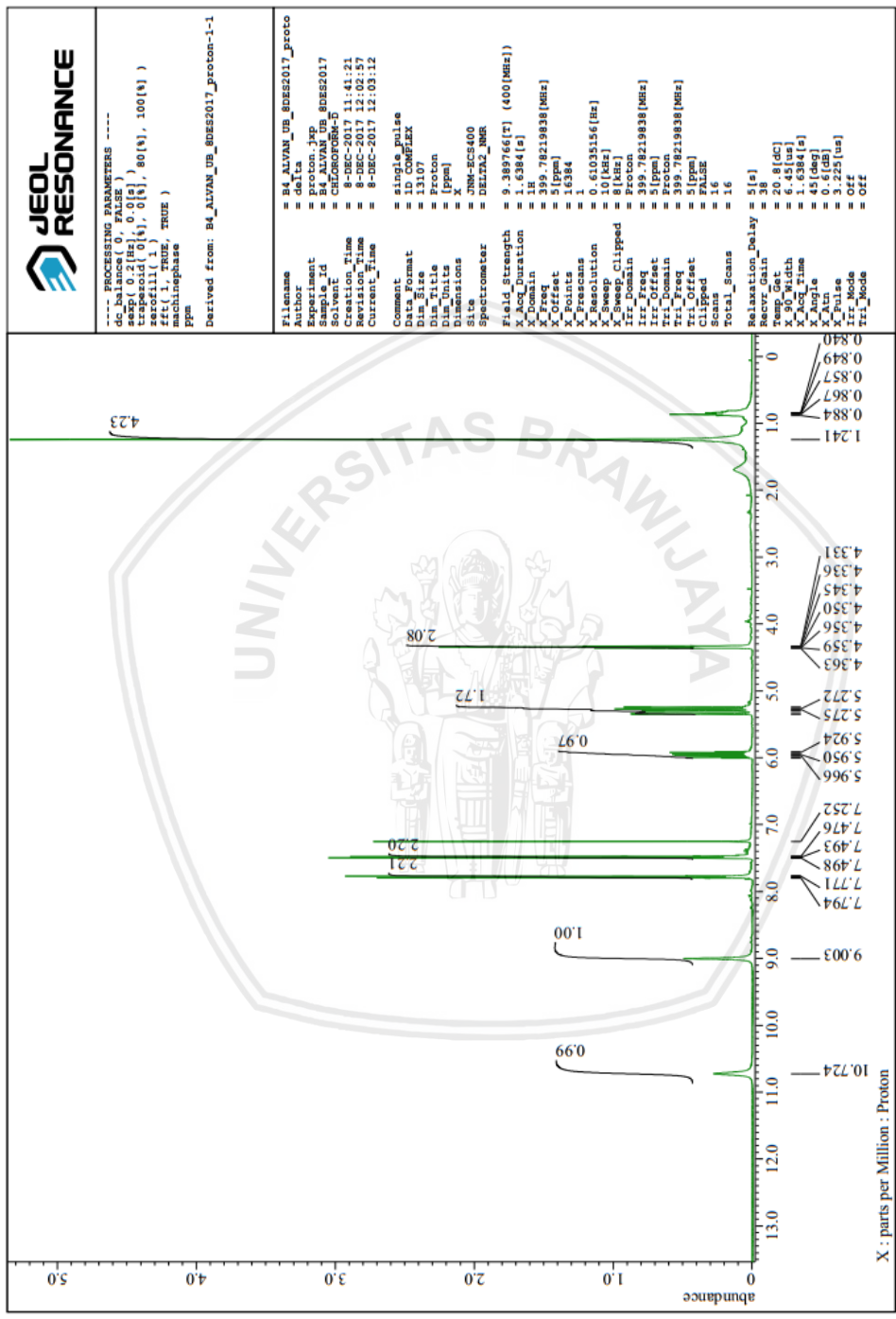


Lampiran 6. Spektra Hasil Spektrofotometri IR

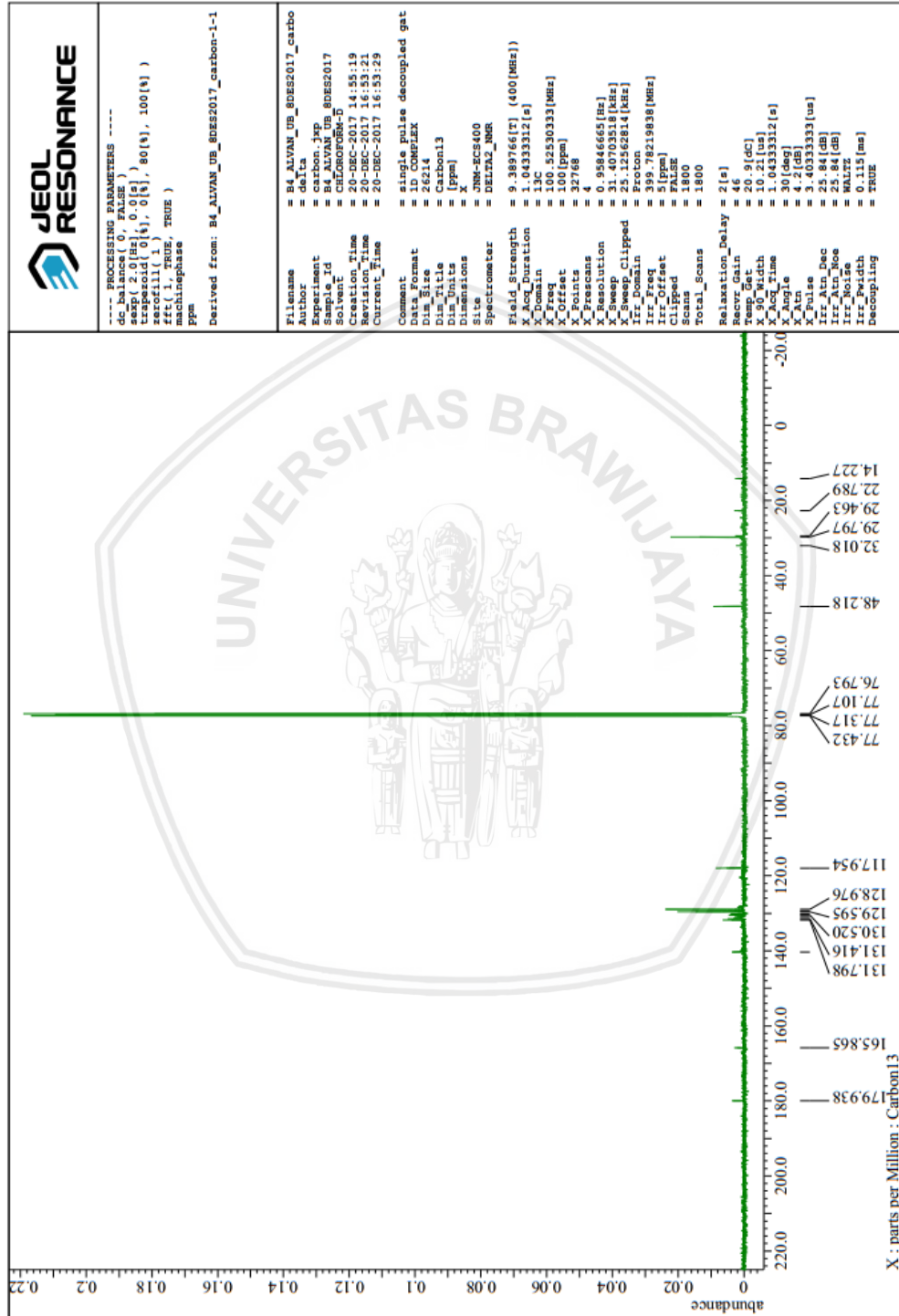
Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Are
1	477.15	66.814	23.738	490.65	432.79	4.407
2	477.15	66.814	23.738	490.65	432.79	4.413
3	550.44	58.988	26.717	567.8	492.58	8.906
4	608.3	59.573	25.796	633.37	568.72	7.906
5	670.02	59.999	8.339	677.73	635.3	6.175
6	691.23	44.008	19.382	702.8	679.66	6.377
7	712.45	59.086	0.935	714.38	704.73	2.115
8	720.16	58.964	4.384	739.45	716.3	4.063
9	760.66	55.123	29.567	774.16	741.38	4.946
10	799.24	54.629	34.557	810.81	776.09	4.693
11	843.6	53.667	35.099	855.17	828.17	4.005
12	907.24	52.408	31.459	918.82	876.38	6.394
13	930.39	73.264	13.689	943.89	920.74	2.231
14	970.89	78.555	8.334	982.46	945.82	2.897
15	1011.39	58.501	27.681	1024.89	984.39	5.065
16	1092.4	45.744	28.31	1103.97	1048.04	10.176
17	1113.61	62.511	11.06	1125.18	1105.9	3.268
18	1181.12	28.492	44.731	1213.9	1127.11	22.368
19	1265.98	34.42	38.265	1294.91	1215.83	20.272
20	1323.84	63.69	7.474	1348.91	1296.84	9.005
21	1383.63	52.614	3.058	1389.41	1350.84	8.82
22	1402.92	45.585	8.689	1414.49	1391.34	7.022
23	1449.2	35.981	14.287	1468.49	1416.42	17.746
24	1485.85	42.403	5.093	1497.42	1470.42	9.351
25	1545.64	20.583	34.941	1582.28	1499.35	40.682
26	1595.78	45.904	20.925	1617	1584.21	7.444
27	1667.14	30.062	45.053	1694.15	1630.5	16.131
28	1701.86	73.343	3.679	1728.86	1696.08	3.101
29	1927.52	85.43	6.106	1942.95	1902.44	1.983
30	2851.36	63.163	15.13	2876.43	2727.92	12.034
31	2922.72	54.689	18.019	2947.79	2876.43	12.97
32	3034.58	72.532	4.89	3053.87	3001.79	6.031
33	3086.66	72.48	3.704	3104.01	3073.15	3.935
34	3217.81	57.358	15.882	3339.31	3171.52	22.31
						4.633



Lampiran 7. Spektra hasil spektrofotometri <sup>1</sup>H-NMR



Lampiran 8. Spektra hasil spektrofotometri <sup>13</sup>C-NMR



Lampiran 9. Spektra hasil dari spektroskopi massa



**Lampiran 10.** Data perhitungan % inhibisi

Data volume udem dihitung dengan menggunakan rumus

$$PI = \frac{(Vt - V0)Kontrol - (Vt - V0)perlakuan}{(Vt - V0)kontrol} \times 100$$

Kemudian diperoleh hasil sebagai berikut :

Nama Senyawa	Dosis	No	t <sub>0</sub>	Inhibisi	t <sub>1</sub>	Inhibisi	t <sub>2</sub>	Inhibisi	t <sub>3</sub>	Inhibisi	t <sub>4</sub>	Inhibisi
Batu 4	6,25 mg/kgBB	1	0.019	0.000	0.019	100.000	0.038		0.028		0.028	51.786
		2	0.012	0.000	0.030		0.030	-14.894	0.032		0.030	
		3	0.017	0.000	0.028	-3.125	0.030	17.021	0.030	45.070	0.028	41.071
		4	0.016	0.000	0.032		0.037		0.031	36.620	0.031	
		5	0.017	0.000	0.022	53.125	0.030	17.021	0.030	45.070	0.026	51.786
<b>Rata-Rata</b>			<b>0.016</b>	<b>0.000</b>	<b>0.026</b>	<b>50.000</b>	<b>0.033</b>	<b>6.383</b>	<b>0.030</b>	<b>42.254</b>	<b>0.029</b>	<b>48.214</b>
<b>SD</b>			<b>0.003</b>	<b>0.000</b>	<b>0.005</b>	<b>51.633</b>	<b>0.004</b>	<b>18.426</b>	<b>0.001</b>	<b>4.879</b>	<b>0.002</b>	<b>6.186</b>
<b>RSD</b>			<b>15.978</b>		<b>20.975</b>	<b>103.267</b>	<b>12.494</b>	<b>288.675</b>	<b>4.911</b>	<b>11.547</b>	<b>6.816</b>	<b>12.830</b>
Nama Senyawa	Dosis	No	t <sub>0</sub>	Inhibisi	t <sub>1</sub>	Inhibisi	t <sub>2</sub>	Inhibisi	t <sub>3</sub>	Inhibisi	t <sub>4</sub>	Inhibisi
Batu 4	12,5 mg/kgBB	1	0.018	0.000	0.032		0.032	10.638	0.030	49.296	0.029	
		2	0.023	0.000	0.030	34.375	0.029	61.702	0.035	49.296	0.032	51.786
		3	0.014	0.000	0.032		0.031		0.026	49.296	0.021	62.500
		4	0.020	0.000	0.022	81.250	0.030	36.170	0.031	53.521	0.030	46.429
		5	0.013	0.000	0.022	15.625	0.029		0.029	32.394	0.029	

Rata-Rata			0.018	0.000	0.028	43.750	0.030	36.170	0.030	46.761	0.028	53.571	
SD			0.004	0.000	0.005	33.802	0.001	25.532	0.003	8.237	0.004	8.183	
RSD			23.633		18.757	77.262	4.317	70.588	10.831	17.615	14.919	15.275	
Nama Senyawa	Dosis	No	to	Inhibisi	t1	Inhibisi	t2	Inhibisi	t3	Inhibisi	t4	Inhibisi	
Batu 4	25 mg/kgBB	1	0.012	0.000	0.024	-12.500	0.021	42.553	0.028		0.019	62.500	
		2	0.020	0.000	0.033		0.040		0.041	11.268	0.020		
		3	0.017	0.000	0.030		0.039		0.039		0.030	30.357	
		4	0.011	0.000	0.022	-3.125	0.028	-8.511	0.032	11.268	0.030		
		5	0.014	0.000	0.021	34.375	0.029	4.255	0.032	23.944	0.028	25.000	
Rata-Rata			0.015	0.000	0.026	6.250	0.031	12.766	0.034	15.493	0.025	39.286	
SD			0.004	0.000	0.005	24.804	0.008	26.574	0.005	7.319	0.005	20.282	
RSD			25.009		20.169	396.863	25.537	208.167	15.735	47.238	21.492	51.626	
Nama Senyawa	Dosis	No	to	Inhibisi	t1	Inhibisi	t2	Inhibisi	t3	Inhibisi	t4	Inhibisi	
	kontrol +	1	0.010	0.000	0.021	-3.125	0.021	29.787	0.029	19.718	0.021	41.071	
		2	0.010	0.000	0.020	6.250	0.020	36.170	0.029	19.718	0.020	46.429	
		3	0.010	0.000	0.021	-3.125	0.030	-27.660	0.025	36.620	0.024	25.000	
Rata-Rata			0.010	0.000	0.021	0.000	0.024	12.766	0.028	25.352	0.022	37.500	
SD			0.000	0.000	0.001	5.413	0.006	35.155	0.002	9.758	0.002	11.152	
RSD			0.000		2.794		23.271	275.379	8.347	38.490	9.608	29.738	
Nama Senyawa	Dosis	No	to	Inhibisi	t1	Inhibisi	t2	Inhibisi	t3	Inhibisi	t4	Inhibisi	
	kontrol -	1.000	0.010	0.000	0.011	90.625	0.020	36.170	0.030	15.493	0.020	46.429	
		2.000	0.002	0.000	0.015	-21.875	0.020	-14.894	0.030	-18.310	0.030	-50.000	

		3.000	0.002	0.000	0.020	-68.750	0.021	-21.277	0.025	2.817	0.020	3.571
<b>Rata-Rata</b>		<b>0.005</b>	<b>0.000</b>	<b>0.015</b>	<b>0.000</b>	<b>0.020</b>	<b>0.000</b>	<b>0.028</b>	<b>0.000</b>	<b>0.023</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>SD</b>		<b>0.005</b>	<b>0.000</b>	<b>0.005</b>	<b>81.908</b>	<b>0.001</b>	<b>31.486</b>	<b>0.003</b>	<b>17.077</b>	<b>0.006</b>	<b>48.313</b>	
<b>RSD</b>		<b>98.974</b>		<b>29.408</b>		<b>2.839</b>		<b>10.189</b>		<b>24.744</b>		





## Lampiran 11. Hasil uji statistika

### A. Hasil uji statistika t3

Descriptives <sup>a</sup>			
	Dosis	Statistic	Std. Error
	Mean	42.25	2.817
	95% Confidence Interval for Lower Bound	30.13	
	Mean Upper Bound	54.37	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	45.07	
	Variance	23.801	
6.25	Std. Deviation	4.879	
	Minimum	37	
	Maximum	45	
	Range	8	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	-1.732	1.225
	Kurtosis	.	.
	Mean	15.49	4.225
Waktu	95% Confidence Interval for Lower Bound	-2.69	
	Mean Upper Bound	33.67	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	11.27	
	Variance	53.560	
25	Std. Deviation	7.318	
	Minimum	11	
	Maximum	24	
	Range	13	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.732	1.225
	Kurtosis	.	.
	Mean	25.35	5.634
Klp +	95% Confidence Interval for Lower Bound	1.11	
	Mean Upper Bound	49.59	

5% Trimmed Mean	.	
Median	19.72	
Variance	95.226	
Std. Deviation	9.758	
Minimum	20	
Maximum	37	
Range	17	
Interquartile Range	.	
Skewness	1.732	1.225
Kurtosis	.	.

a. Waktu is constant when Dosis = 12.5. It has been omitted.

#### Tests of Normality<sup>b</sup>

	Dosis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Waktu	6.25	.385	3		.750	3	.000
	25	.385	3		.750	3	.000
	Klp +	.385	3		.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

b. Waktu is constant when Dosis = 12.5. It has been omitted.

#### Test of Homogeneity of Variances

Waktu

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.437	3	8	.016

#### Kruskal-Wallis Test

##### Ranks

	Dosis	N	Mean Rank
Waktu	6.25	3	7.83
	12.5	3	11.00
	25	3	2.67

Klp +	3	4.50
Total	12	

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Waktu
Chi-Square	9.668
df	3
Asymp. Sig.	.022

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Dosis

### B. Hasil uji statistika t4

#### Case Processing Summary

	Dosis	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Inhibisi_t4	6.25	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	12.5	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	25	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	Klp +	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%

#### Descriptives

	Dosis	Statistic	Std. Error
Inhibisi_t4	6.25	Mean	48.21433
		95% Confidence Interval for Lower Bound	32.84669
		Mean Upper Bound	63.58197
		5% Trimmed Mean	.
		Median	51.78600
		Variance	38.270
		Std. Deviation	6.186308

	Minimum		41.071	
	Maximum		51.786	
	Range		10.715	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.732	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		53.57167	4.724430
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	33.24409	
	Mean	Upper Bound	73.89925	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		51.78600	
	Variance		66.961	
12.5	Std. Deviation		8.182953	
	Minimum		46.429	
	Maximum		62.500	
	Range		16.071	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.935	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		39.28567	11.709730
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	-11.09723	
	Mean	Upper Bound	89.66857	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		30.35700	
	Variance		411.353	
25	Std. Deviation		20.281847	
	Minimum		25.000	
	Maximum		62.500	
	Range		37.500	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.597	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		37.50000	6.438544
Klp +	95% Confidence Interval for	Lower Bound	9.79718	
	Mean	Upper Bound	65.20282	

5% Trimmed Mean	.	
Median	41.07100	
Variance	124.365	
Std. Deviation	11.151885	
Minimum	25.000	
Maximum	46.429	
Range	21.429	
Interquartile Range	.	
Skewness	-1.293	1.225
Kurtosis	.	.

#### Tests of Normality

	Dosis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Inhibisi_t4	6.25	.385	3	.	.750	3	.000
	12.5	.253	3	.	.964	3	.637
	25	.337	3	.	.855	3	.253
	Klp +	.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Inhibisi\_t4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.059	3	8	.092

#### Kruskal-Wallis Test

##### Ranks

	Dosis	N	Mean Rank
--	-------	---	-----------

	6.25	3	7.50
	12.5	3	9.00
Inhibisi_t4	25	3	5.33
	Klp +	3	4.17
	Total	12	

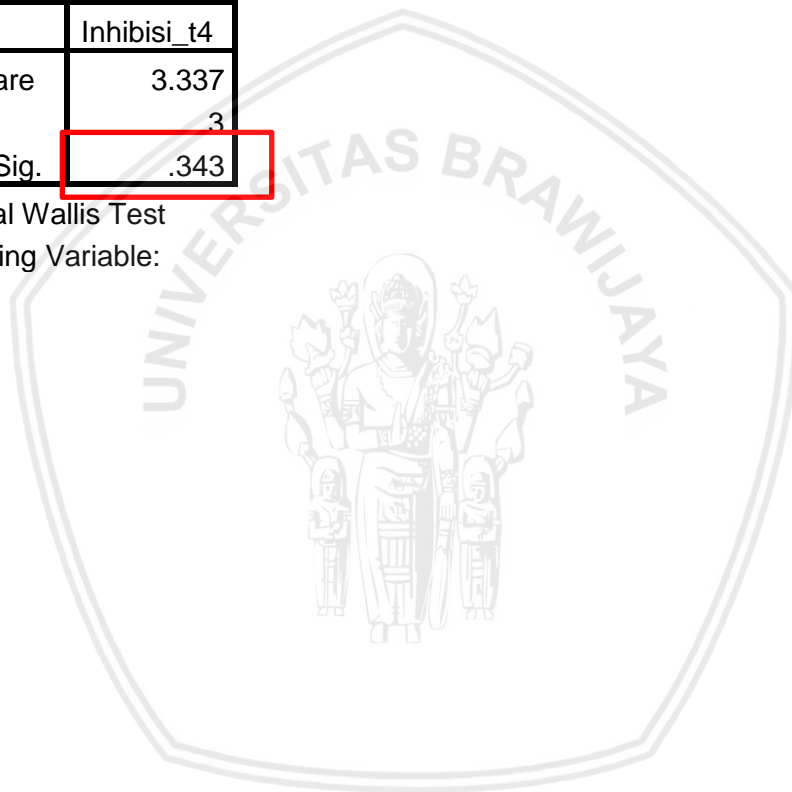
**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Inhibisi_t4
Chi-Square	3.337
df	3
Asymp. Sig.	.343

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Dosis



## Lampiran 12. Hasil Probit ED<sub>50</sub>

### 1. Hasil probit ED<sub>50</sub> % inhibisi t3

#### Data Information

		N of Cases
Valid		12
	Missing	8
	LOG Transform Cannot be Done	0
Rejected		0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

#### Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

#### Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	Dosis	-1.106	.167	-6.637	.000	-1.432	-.779
	Intercept	-.069	.066	-1.039	.299	-.135	-.003

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

#### Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	73.194	10	.000 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis) <sup>p</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
.010	110.036	16.293	10310899558 180840000.00 0	2.042	1.212	19.013
.020	62.372	12.037	21374731060 946184.000	1.795	1.081	16.330
.030	43.508	9.922	42444283748 8240.940	1.639	.997	14.628
.040	33.182	8.574	22270899337 997.633	1.521	.933	13.348
.050	26.618	7.609	20265978162 58.685	1.425	.881	12.307
.060	22.065	6.869	26362760170 9.817	1.344	.837	11.421
.070	18.719	6.277	44114240544. 294	1.272	.798	10.645
.080	16.155	5.787	8904957193.6 32	1.208	.762	9.950
.090	14.130	5.371	2078956648.1 28	1.150	.730	9.318
.100	12.491	5.012	545170919.66 3	1.097	.700	8.737
.150	7.497	3.730	2156618.551	.875	.572	6.334
.200	4.997	2.881	27174.828	.699	.460	4.434
.250	3.528	2.190	672.246	.548	.340	2.828
.300	2.581	1.410	29.440	.412	.149	1.469
.350	1.932	.357	4.263	.286	-.448	.630
.400	1.468	.028	2.391	.167	-1.559	.379
.450	1.125	.002	1.843	.051	-2.765	.266
.500	.866	.000	1.523	-.062	-3.980	.183
.550	.667	.000	1.288	-.176	-5.204	.110
.600	.511	.000	1.099	-.292	-6.454	.041
.650	.388	.000	.938	-.411	-7.748	-.028
.700	.291	.000	.798	-.537	-9.114	-.098
.750	.213	.000	.671	-.672	-10.589	-.173
.800	.150	.000	.555	-.824	-12.232	-.255
.850	.100	.000	.446	-1.000	-14.149	-.350
.900	.060	.000	.340	-1.222	-16.561	-.469
.910	.053	.000	.318	-1.275	-17.144	-.498
.920	.046	.000	.296	-1.333	-17.777	-.529





.930	.040	.000	.274	-1.397	-18.473	-.563
.940	.034	.000	.251	-1.469	-19.251	-.601
.950	.028	.000	.227	-1.550	-20.138	-.644
.960	.023	.000	.202	-1.646	-21.180	-.695
.970	.017	.000	.175	-1.763	-22.461	-.757
.980	.012	.000	.145	-1.920	-24.164	-.840
.990	.007	.000	.107	-2.166	-26.849	-.970

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

	Number	Dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	.000	100	45	47.247	-2.177	.472
	2	.000	100	37	47.247	-10.627	.472
	3	.000	100	45	47.247	-2.177	.472
	4	.301	100	49	34.388	14.908	.344
	5	.301	100	49	34.388	14.908	.344
	6	.301	100	49	34.388	14.908	.344
	7	.477	100	11	27.539	-16.271	.275
	8	.477	100	11	27.539	-16.271	.275
	9	.477	100	24	27.539	-3.595	.275
	10	.602	100	20	23.125	-3.407	.231
	11	.602	100	20	23.125	-3.407	.231
	12	.602	100	37	23.125	13.495	.231

2. Hasil probit  $ED_{50}$  % inhibisi t4

	N of Cases
Valid	12
Missing	8
LOG Transform Cannot be Done	0
Rejected	0
Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group	0

**Convergence Information**

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	7	Yes

**Cell Counts and Residuals**

	Number	Dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
P R O B I T	1	.000	100	52	51.703	.083	.517
	2	.000	100	41	51.703	-10.632	.517
	3	.000	100	52	51.703	.083	.517
	4	.301	100	52	45.507	6.279	.455
	5	.301	100	63	45.507	16.993	.455
	6	.301	100	46	45.507	.922	.455
	7	.477	100	63	41.923	20.577	.419
	8	.477	100	30	41.923	-11.566	.419
	9	.477	100	25	41.923	-16.923	.419
	10	.602	100	41	39.419	1.652	.394
	11	.602	100	46	39.419	7.010	.394
	12	.602	100	25	39.419	-14.419	.394

**Parameter Estimates**

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	Dosis	-.517	.161	-3.212	.001	-.832	-.201
	Intercept	.043	.066	.646	.518	-.023	.109

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

**Chi-Square Tests**

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	63.321	10	.000 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

**Confidence Limits**

	Probability	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis) <sup>b</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
	.010	38416.277	.	.	4.585	.	.
	.020	11402.153	.	.	4.057	.	.
	.030	5275.784	.	.	3.722	.	.
	.040	2954.645	.	.	3.471	.	.
	.050	1843.743	.	.	3.266	.	.
	.060	1234.182	.	.	3.091	.	.
	.070	868.028	.	.	2.939	.	.
	.080	633.401	.	.	2.802	.	.
	.090	475.570	.	.	2.677	.	.
	.100	365.296	.	.	2.563	.	.
	.150	122.545	.	.	2.088	.	.
	.200	51.440	.	.	1.711	.	.
	.250	24.427	.	.	1.388	.	.
	.300	12.515	.	.	1.097	.	.
PROBIT <sup>a</sup>	.350	6.734	.	.	.828	.	.
	.400	3.740	.	.	.573	.	.
	.450	2.117	.	.	.326	.	.
	.500	1.210	.	.	.083	.	.
	.550	.691	.	.	-.161	.	.
	.600	.391	.	.	-.408	.	.
	.650	.217	.	.	-.663	.	.
	.700	.117	.	.	-.932	.	.
	.750	.060	.	.	-1.223	.	.
	.800	.028	.	.	-1.546	.	.
	.850	.012	.	.	-1.923	.	.
	.900	.004	.	.	-2.397	.	.
	.910	.003	.	.	-2.512	.	.
	.920	.002	.	.	-2.636	.	.

.930	.002	.	.	-2.773	.	.
.940	.001	.	.	-2.926	.	.
.950	.001	.	.	-3.100	.	.
.960	.000	.	.	-3.305	.	.
.970	.000	.	.	-3.557	.	.
.980	.000	.	.	-3.892	.	.
.990	.000	.	.	-4.419	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



### Lampiran 13. Dokumentasi penelitian

1. Sintesis 1-alil-3-(4-klorobenzoil)tiourea



2. Hasil rotary evaporator yang dicuci dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh



3. Persiapan bahan-bahan untuk uji antiinflamasi



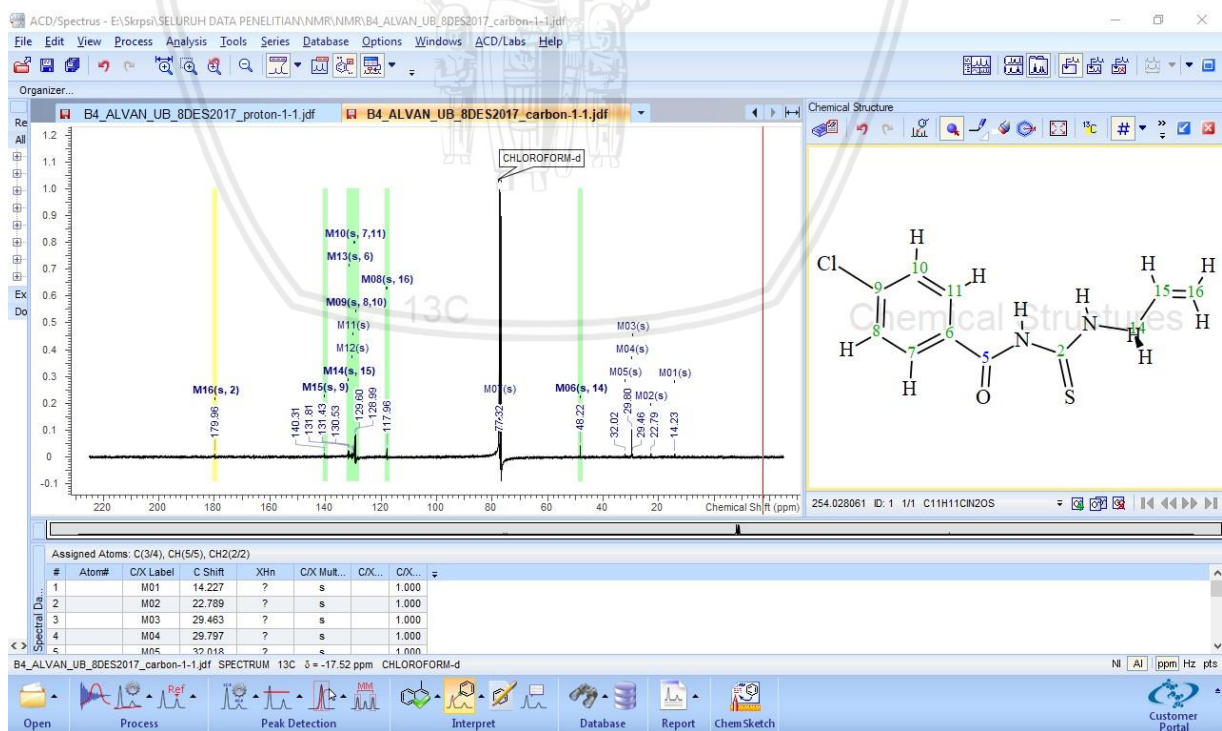
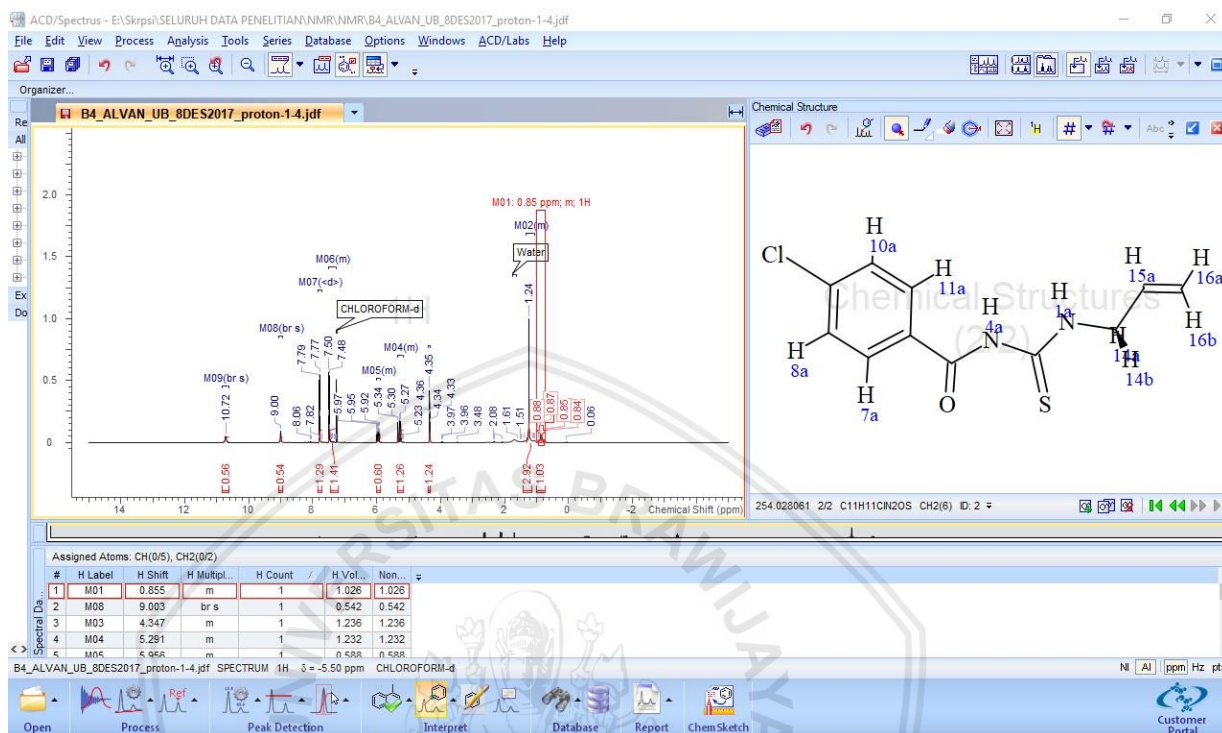
4. Pengukuran volume edema pada tikus



5. Penyuntikkan intraplantar pada tikus



## Lampiran 14. Hasil Prediksi Oleh ACD Labs



Solvent	Formula	<sup>1</sup> H-NMR shift (ppm)	<sup>13</sup> C-NMR shift (ppm)	Multiplet	J <sub>C-D</sub> (Hz)	mp (°C)	bp(°C)	Comments
Chloroform-d	CDCl <sub>3</sub>	7.24	77.0	triplet	32	-64	61	
Acetone-d <sub>6</sub>	CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub>	2.04	29.8	septet	20	-95	56	
			206.3	multiplet	<1			appears as singlet mostly
Benzene-d <sub>6</sub>	C <sub>6</sub> D <sub>6</sub>	7.26	128.0	triplet	24	6	80	carcinogen
Acetonitrile-d <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> CN	1.93	1.3	septet	21	-45	82	
			117.7	multiplet	<1			appears as singlet mostly
Dichloromethane-d <sub>2</sub>	CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	5.32	53.5	quintet	21	-97	40	
Dimethylsulfoxide-d <sub>6</sub>	CD <sub>3</sub> SOCD <sub>3</sub>	2.49	39.7	septet	21	19	189	
Methanol-d <sub>4</sub>	CD <sub>3</sub> OD	3.35, 4.78	49.3	septet	21	-98	64	
Tetrahydrofuran-d <sub>8</sub>	C <sub>4</sub> D <sub>8</sub> O	1.73, 3.58	25.5	quintet	21	-108	66	
			67.7	quintet	22			
Toluene-d <sub>8</sub>	C <sub>7</sub> D <sub>8</sub>	2.30, 7.19				-95	111	
Pyridine-d <sub>5</sub>	C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N	7.19, 7.55, 8.71	123.5	triplet	25	-42	115	
			135.5	triplet	24			
			149.5	triplet	27			
Water-d <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> O	4.65				0	100	
Acetic acid-d <sub>4</sub>	CD <sub>3</sub> COOD	2.03, 11.53	20.0	septet	20	17	118	
			178.4	multiplet	<1			appears as singlet mostly
Trifluoroacetic acid-d	CF <sub>3</sub> COOD	11.5	116.5	quartet	284	-15	72	C-F-coupling
			164.4	quartet	44			C-F-coupling
Dioxane-d <sub>8</sub>	C <sub>4</sub> D <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3.58	66.5	quintet	22	12	102	
Tetramethylsilane (TMS)	Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	0.00	0.00	singlet				internal reference

