

POTENSI SENYAWA SALISILANILIDA DARI MINYAK GANDAPURA SEBAGAI ANTIINFLAMASI DAN ANALGETIK SECARA *IN VIVO*

Dhimas Adhityasmara, Eka Susanti Hanhadyanaputri, Erwin Indriyanti*

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang, Kota Semarang, Indonesia

*Email: erwinindriyanti05@gmail.com

Received:04-08-2024

Accepted: 17-08-2024

Published:20-08-2024

INTISARI

Pemberian obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) merupakan pilihan terapi pertama pada pengobatan nyeri dan peradangan. Beberapa derivat amida yang ada, menunjukkan khasiatnya sebagai antiinflamasi, antidegeneratif, antikanker, antimikroba dan analgetik salah satunya adalah salisilanilida. Prekursor sintesis salisilanilida adalah asam karboksilat, menggunakan metil salisilat alami dari minyak gondopuro dan amina secara sonokimia dengan bantuan pereaksi kopling Desiklokarbodiimida (DCC). Penelitian bertujuan untuk melakukan sintesis derivat amida menggunakan pereaksi kopling DCC dengan metode sonokimia pada waktu 7 jam. Identifikasi senyawa hasil sintesis dengan cara elucidasi spektrum menggunakan spektrofotometri inframerah (FTIR-ATR), Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) dan uji aktivitas antiinflamasi dan analgetik secara *in-vivo*. Campuran disonikasi selama 7 jam dengan suhu $\pm 0^{\circ}\text{C}$, kemudian didiamkan dalam kulkas selama semalam, dievaporasi pada suhu 65°C . Endapan yang terbentuk disaring dengan Buchner, dicuci menggunakan akuades dingin dan dicuci kembali menggunakan metanol. Kristal yang diperoleh kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C sampai kering, kemudian ditentukan % yield senyawa hasil sintesis. Pengujian meliputi uji organoleptis, titik lebur, kelarutan, FTIR, GC-MS Uji aktivitas antiinflamasi dan analgetika secara *in vivo*. Hasil penelitian menunjukkan senyawa salisilanilida dapat disintesis pada waktu 7 jam dengan hasil % yield sebesar 27,55%. Hasil sintesis dapat melebur mulai dari suhu $218\text{-}222^{\circ}\text{C}$ dan dapat larut dalam metanol, etanol, kloroform, dan eter tetapi tidak larut pada akuades. Pengujian FTIR pada senyawa salisilanilida menunjukkan adanya gugus -OH fenolik, C-H aromatik, C=O amida dan C=C aromatik. Senyawa hasil sintesis menghasilkan kelimpahan sebesar 2,43%, Persentase daya antiinflamasi paling tinggi yaitu pada sintesis dosis 3 (7,56 mg/ 200 gram BB Tikus) sebesar 44,46 % dan efek analgesik paling tinggi adalah sintesis dosis 4 (10,08 mg/ 200 gram BB Tikus).

Kata kunci: Analgetik, Antiinflamasi, Minyak Gandopuro, *In vivo*, Salisilanilida

ABSTRACT

Administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is the first therapeutic choice for the treatment of pain and inflammation. Several existing amide derivatives show their properties as anti-inflammatory, antidegenerative, anticancer, antimicrobial and analgesic, one of which is salicylanilide. The precursor for salicylanilide synthesis is carboxylic acid, using natural methyl salicylate from gondopuro oil and amines sonochemically with the help of Decyclocarbodiimide (DCC) coupling reagent. The research aims to carry out the synthesis of amide derivatives using DCC coupling reagent with the sonochemical method in 7 hours. Identification of synthetic compounds by spectrum elucidation using infrared spectrophotometry (FTIR-ATR), GC-MS and in-vivo anti-inflammatory and analgesic activity tests. In this study, the mixture was sonicated for 7

hours at a temperature of $\pm 0^{\circ}\text{C}$, then left in the refrigerator overnight, evaporated at a temperature of 65°C . The precipitate formed was filtered using Buchner, washed using cold distilled water and washed again using methanol. The crystals obtained were then dried in an oven at 40°C until dry, then the % yield of the synthesized compound was determined. Tests include organoleptic tests, melting point, solubility, FTIR, GC-MS In vivo anti-inflammatory and analgesic activity tests. The research results showed that salicylanilide compounds could be synthesized in 7 hours with a % yield of 27.55%. The resulting synthesis can melt from a temperature of $218\text{-}222^{\circ}\text{C}$ and can dissolve in methanol, ethanol, chloroform and ether but does not dissolve in distilled water. FTIR testing on salicylanilide compounds showed the presence of phenolic -OH, aromatic C-H, C=O amide and aromatic C=C groups. The synthesized compound produced an abundance of 2.43%. The highest percentage of anti-inflammatory power was at dose 3 synthesis (7.56 mg/ 200 grams of rat body weight) at 44.46% and the highest analgesic effect was at dose 4 synthesis (10.08 mg/200 grams Rat BW).

Keywords: Analgetic, Antiinflammatory, In Vivo, Salicylanilide, Gondopuro Oil

Corresponding author:

Nama : Erwin Indriyanti
Institusi : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang
Alamat institusi : Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Plamongansari Pucanggading Semarang
E-mail : erwinindriyanti05@gmail.com

PENDAHULUAN

Nyeri, demam dan peradangan adalah beberapa peristiwa yang dialami dan berhubungan dengan kesehatan manusia, Peradangan juga dapat digambarkan sebagai respon tubuh untuk menonaktifkan atau menghilangkan rangsangan terhadap sesuatu yang dapat menyebabkan iritasi (Robb et al., 2020). Salah satu cara mengobati adalah dengan pemberian obat-obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) yang merupakan pilihan pertama pada pengobatan nyeri, degeneratif, peradangan dan gangguan rematik (Mehta et al., 2010). Pengobatan nyeri dan peradangan banyak tersedia di pasaran, namun penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti ulserasi, perdarahan gastrointestinal, jantung dan stroke (Sondhi et al., 2009)

Beberapa derivat amida menunjukkan antiinflamasi, antidegeneratif, antikanker, antimikroba dan analgesik (Doulgkeris et al., 2006). Penelitian tentang aktivitas biologis dan kegunaan derivat amida sebagai obat sampai saat ini belum dikembangkan. Menurut Suratmo, (2013) salisilamida mempunyai keunggulan tidak mudah terhidrolisis menjadi asam salisilat dengan sifat aktivitas yang sama yaitu sebagai antiinflamasi non steroid yang memberikan efek sebagai analgetik dan antipiretik (Sulistyo et al., 2015).

Prekursor dalam sintesis derivat amida adalah dari golongan karboksilat, dalam hal ini digunakan minyak gondopuro. Minyak gondopura merupakan salah satu golongan minyak atsiri yang telah banyak dikenal oleh masyarakat pada umumnya, komponen utama minyak gondopura adalah metil salisilat sebesar 96-99% (Ma'mun, 2015). Senyawa ini banyak dimanfaatkan untuk industri obat-obatan, bahan pewangi, serta industri makanan dan minuman. Selain itu senyawa metil salisilat memiliki khasiat yang sangat banyak sehingga dapat dimanfaatkan untuk obat di antaranya sebagai antiinflamasi, obat rheumatik akut, untuk meredakan rasa sakit dan melegakan pernafasan, antiinflamasi dan analgetik. (Hendrata, 2014). Metil salisilat juga dapat digunakan sebagai aroma pada permen karet, pasta gigi, minuman non alkohol, dan penyegar mulut (Sulistyo et al., 2015).

Metil salisilat (o-hidroksimetilbenzoat) mempunyai gugus-gugus fungsi yang memungkinkan untuk diubah menjadi senyawa-senyawa lain turunan metil salisilat melalui perubahan gugus fungsi melalui reaksi-reaksi kimia organik. Perubahan gugus fungsi tersebut dapat terjadi melalui reaksi-reaksi kimia antara lain melalui reaksi hidrolisis dapat menghasilkan asam salisilat, melalui reaksi aminolisis menghasilkan salisilamida atau salisilanilida, melalui reaksi transesterifikasi menghasilkan senyawa ester yang lain seperti etil salisilat, isoamil salisilat, fenil salisilat (salol) dan lain sebagainya. Reaksi lain yang dapat mengubah gugus fungsi pada metil salisilat antara lain

alkilasi, reduksi, substitusi elektrofilik pada cincin benzena dan lain-lain (Retnowati & Azzuhro, 2013).

Metode sonokimia digunakan sebagai alternatif pengadukan secara konvensional dengan energi yang rendah dan hasil yang efisien (Draye et al., 2020), (Indriyanti & Prahasiwi, 2020). Metode ini juga efektif untuk mensintesis senyawa dalam waktu yang relatif singkat. Penelitian ini juga menggunakan pereaksi kopling Desiklokarbodiimida (DCC) untuk mempercepat proses penggabungan suatu reaksi (Farshori et al., 2010).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti bermaksud untuk melakukan sintesis derivat amida menggunakan pereaksi kopling DCC dengan metode sonokimia pada waktu 7 jam. Uji kemurnian senyawa hasil sintesis meliputi uji titik lebur, uji kelarutan, uji organoleptik. Identifikasi senyawa hasil sintesis dengan elusidasi spektrum menggunakan spektrofotometri inframerah (FTIR-ATR), GC-MS serta pengujian aktivitas antiinflamasi dan analgetik secara *in-vivo*.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas dalam laboratorium, sonikator, FTIR ATR, *melting point apparatus*, GC-MS, *Vacuum rotary evaporator*, penyaring Buchner, spektrofotometer UV-Vis, lempeng silica gel G60F254, *melting point apparatus* dan pipa kapiler.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak gondopuro, disikloheksilkarbodiimida (DCC), kloroform (*p.a*), NaOH (*p.a*), dietilamin (*p.a*), karagenan,

Tahapan Penelitian

Sintesis Salisilanilida

Sintesis senyawa salisilanilida dilakukan dengan metode sonokimia dengan sedikit modifikasi. Minyak gandapura sebanyak 12 mL (0,0924 mol) yang mengandung metil salisilat, ditambahkan anilin sebanyak 9 mL (0,0986 mol), 60 mL benzena larutan ini disebut sebagai larutan I. Larutan II merupakan campuran DCC sebanyak 309,50 mg dilarutkan dalam 4 mL kloroform pada suhu $\pm 0^{\circ}\text{C}$. Larutan II diteteskan sedikit demi sedikit dalam larutan I kemudian disonikasi selama 2, 3 dan 4 jam dengan kontrol suhu $\pm 0^{\circ}\text{C}$. Campuran didiamkan di dalam kulkas selama semalam, kemudian dilakukan evaporasi dengan suhu 65°C untuk menguapkan pelarutnya. Endapan putih yang terbentuk disaring dengan corong buchner dengan dicuci menggunakan akuades dingin dan dicuci kembali menggunakan metanol. Kristal yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C sampai kering, kemudian serbuk hasil sintesis dihitung rendemennya (Daniel dkk., 2011). Kemudian dilakukan uji kemurnian senyawa hasil reaksi dengan uji organoleptik, kelarutan serta penentuan titik lebur. Elusidasi struktur menggunakan FTIR-ATR dan GCMS.

Uji Analgetik (Metode Tail Flick)

Metode *Tail Flick* Test menggunakan panas sebagai penginduksi nyeri. Sebelum perlakuan hewan uji diuji dengan alat tail flick analgesy-meter terlebih dahulu, dicatat waktunya sebagai T0. Tikus diberikan perlakuan sesuai kelompoknya secara peroral. 30 menit kemudian tikus diuji menggunakan tail flick analgesy-meter. Kemudian dicatat waktu tikus mulai menarik atau menjentikkan ekornya. Pengujian dilakukan pada tikus ke 0, 30, 60, 90, dan 120 menit. Hewan dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol yang diberi suspensi CMC Na, kelompok 2 sebagai kelompok pembanding yang diberi Na-Diklofenak Natrium Diklofenak dosis 1,26 mg/200 gram BB Tikus, kelompok 3, 4, 5 dan 6 sebagai kelompok uji I, II, III, dan IV yang diberi senyawa hasil sintesis dengan dosis 2,52 mg/200 gram, 5,04 mg/200 gram, 7,56 mg/200 gram dan 10,08 mg/200 gram BB tikus.

Uji Antiinflamasi

Uji aktivitas anti-inflamasi mengikuti Sutrisna dkk., (2010), hewan uji yang digunakan untuk pengujian sebanyak 30 ekor tikus putih jantan galur wistar dengan berat 200 g dibagi dalam 6 kelompok perlakuan yang tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Satu jam sebelum pengujian pemberian, kelompok kontrol positif (Natrium Diklofenak 1,26 mg/200 gram BB Tikus) dan kontrol negatif (CMC Na 1%), masing-masing tikus diinduksi karagenan 1% sebanyak 0,5 ml pada salah satu kaki secara

subplantar. Perlakuan pada tikus putih jantan dilakukan secara peroral sesuai berat badan tikus dengan menggunakan jarum sonde. Kelompok I: diberi CMC Na 1% (kontrol negatif) dalam 100 mL Aquades, Kelompok II: Natrium diklofenak (kontrol positif), Kelompok III: dosis senyawa salisilanilida 2,52 mg/200 gram BB Tikus, Kelompok IV: dosis senyawa salisilanilida 5,04mg/200 gram BB Tikus, Kelompok V: dosis senyawa salisilanilida 7,56mg/200 gram BB Tikus, Kelompok VI: Diberi dosis senyawa salisilanilida 10,08mg/200 gram BB Tikus. Volume udem kaki tikus diukur selama 6 jam dengan interval waktu pengukuran setiap 1 jam menggunakan alat pengukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

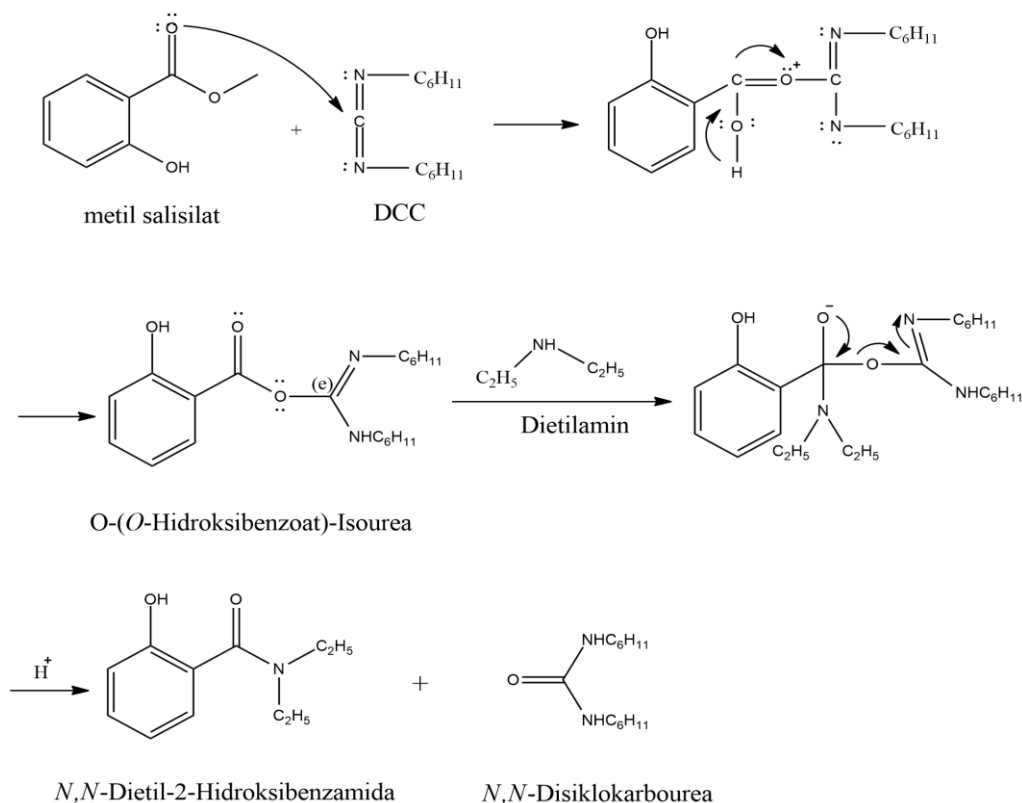
Senyawa salisilanilida pada penelitian ini dilakukan berdasarkan metode penelitian oleh Suratmo dkk. (2013) dengan sedikit modifikasi menggunakan pereaksi kopling *Dicyclohexylcarbodiimide* (DCC) dan metode sonokimia. Pembuatan senyawa ini menggunakan minyak gondopuro dari Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Minyak gondopuro ditentukan sifat fisiknya dan dibandingkan dengan standar dari *material safety data sheet* (MSDS) untuk wintergreen oil ditampilkan dalam tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisik Minyak Gondopuro

Parameter Sifat Fisik	Minyak Gondopuro	Standar wintergreen oil (MSDS)
Wujud	Cair	Cair
Warna	Kuning Pucat	Tidak berwarna sampai kekuningan
Bau	Tajam	-
Berat Jenis	1,185 g/mL	1,18 g/mL

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa wujud, warna, dan berat jenis minyak gondopuro yang digunakan dalam penelitian ini mendekati dengan data standar yang terdapat pada *material safety data sheet* (MSDS) untuk *wintergreen oil*. Salisilanilida dapat disintesis secara langsung dengan mereaksikan metil salisilat yang diperoleh dari minyak gondopuro dengan pelarut anilin. Anilin merupakan suatu nukleofil sehingga atom N pada anilin dapat menyerang atom C karbonil yang berikatan rangkap dengan atom O pada metil salisilat. Proses tersebut menyebabkan keterikatan transisi antara anilin dengan metil salisilat, yang mana atom N: akan mengalami keterikatan dengan atom C pada metil salisilat dan gugus $-OCH$ akan mengalami pemutusan ikatan dari metil salisilat. Proses tersebut kemudian dilanjutkan dengan pelepasan atom H yang terikat pada atom N pada anilin sebagai amina primer dan membentuk gugus amida, sehingga diperoleh senyawa salisilanilida. Sintesis *salisilanilida* dilakukan melalui reaksi substitusi nukleofilik dengan metode sonikasi menggunakan pereaksi kopling DCC.

Sintesis *salisilanilida* pada penelitian ini menggunakan pereaksi kopling (DCC) karena pelaksanaan pengaktifan dan pengkoplingan secara cepat dalam satu reaksi pada suhu 0 °C. Laju yang cepat terjadi pada adisi metil salisilat ke salah satu ikatan rangkap DCC sehingga terbentuk senyawa antara yang reaktif. Gugus $N=C$ pada senyawa antara mengakibatkan pengaktifan yang kuat sehingga terjadi pengkoplingan dengan suatu gugus fenil amin/ anilin dan membentuk senyawa salisilanilida.



Gambar 1. Mekanisme Sintesis Salisilanilida

Proses sintesis terjadi pada temperatur rendah yaitu $\pm 0^{\circ}\text{C}$ untuk menghindari terjadinya penguapan yang berlebihan, karena sifat dari bahan dasar sintesis yang mudah menguap dan untuk mengurangi terbentuknya hasil samping reaksi yaitu disiklokarbourea (DCU). Jika terjadi aktivasi yang berlebih pada senyawa antara yang sangat reaktif akan menyebabkan terjadinya reaksi intramolekuler dalam senyawa antara itu sendiri (Syarifudin, 2005).

Proses sonikasi yang dilakukan dalam penelitian sintesis ini dimaksudkan untuk mempersingkat waktu sintesis dimana radiasi gelombang ultrasonik dapat mempercepat reaksi. Gelombang ultrasonik apabila dalam medium cair akan dapat menimbulkan kavitasi akustik, selama proses kavitasi akan terjadi *bubble collapse* (ketidakstabilan gelembung) yaitu pecahnya gelembung kecil akibat suara (Johnson, 2011). Campuran yang telah disonikasi didiamkan di dalam kulkas selama semalam, pendiaman ini bertujuan untuk mengoptimalkan reaksi yang terjadi. Evaporasi dilakukan untuk menguapkan pelarutnya dan endapan putih yang terbentuk disaring dengan corong buchner dengan dicuci menggunakan akuades dingin dan dicuci kembali menggunakan eter.

Tabel II. Karakteristik Senyawa Hasil Sintesis

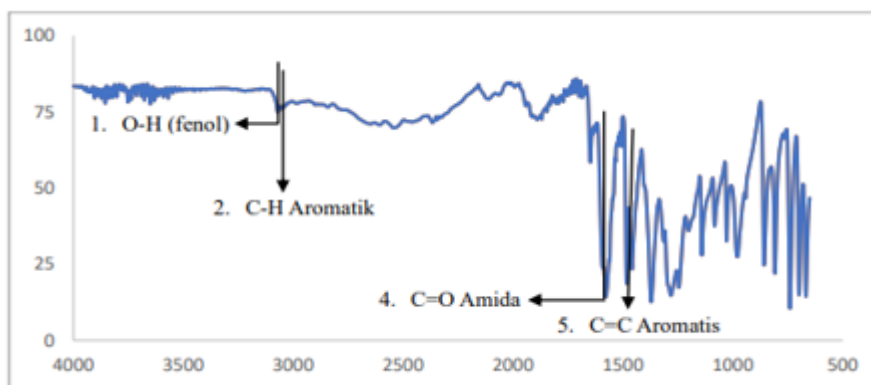
Pengujian	Senyawa Hasil Sintesis (7 jam)	Chemical Book
Bau	Tajam	Tajam
Bentuk	cairan	
Warna	Kekuningan	

Tujuan pencucian Hasil sintesis menggunakan akuades dingin yaitu untuk menghilangkan produk samping DCU, sedangkan pencucian menggunakan eter berfungsi untuk menghilangkan sisa minyak gondopuro dan anilin. cairan yang diperoleh kemudian diuapkan pada suhu 40°C .

Senyawa hasil reaksi dilakukan uji karakteristik fisik seperti bentuk, bau, warna dan Hasil pengujian karakteristik fisik hasil reaksi dan di bandingkan dengan Chemical book

Berdasarkan hasil pengujian tersebut, dapat disimpulkan bahwa sifat fisika hasil sintesis sama dengan senyawa target yaitu *salisilanilida* dengan rendemen sebesar 27,55%. Hasil reaksi pada Sampel mempunyai kemiripan titik lebur dengan senyawa salisilanilida berdasarkan literatur *Chemical Book* yaitu 136-138 °C. Senyawa hasil reaksi memiliki jarak lebur lebih dari $\pm 2^\circ\text{C}$, sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa hasil reaksi memiliki kemurnian yang kurang tinggi. Hal ini bisa dikarenakan adanya reaksi samping yang mungkin terjadi menyebabkan kemurnian dan jumlah senyawa hasil sintesis yang didapatkan tidak dapat maksimal .

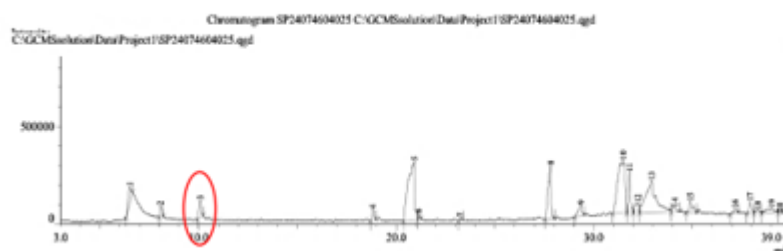
Senyawa hasil reaksi selanjutnya diuji kelarutan dengan beberapa pelarut yaitu dengan pelarut akuades, metanol, etanol, kloroform dan eter. Pengujian kelarutan kristal hasil sintesis dilakukan untuk mengetahui kelarutan senyawa target sehingga dapat digunakan sebagai parameter dalam memilih pelarut yang akan digunakan dalam pengujian selanjutnya. Hasil dari uji kelarutan menunjukkan bahwa senyawa hasil reaksi dengan sonikasi 7 jam memiliki kelarutan yang paling baik yaitu larut dalam semua pelarut yang digunakan kecuali aquades.



Gambar 2. Grafik Spektra FTIR Senyawa Hasil Reaksi

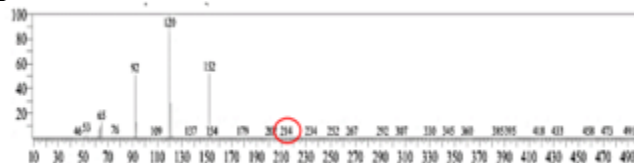
Hasil sintesis pada gambar 2. menunjukkan spektra infra merah dari senyawa salisilanilida dengan metode sonikasi 7 jam menghasilkan 4 gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil sintesis salisilanilida. Gugus fungsi -OH terdapat pada gelombang 3069 cm^{-1} , C-H aromatik pada gelombang 3051 cm^{-1} , C=O amida pada panjang gelombang 1623 cm^{-1} dan C=C aromatik pada panjang gelombang 1457 cm^{-1} . Hasil uji FTIR senyawa hasil reaksi menunjukkan bilangan gelombang senyawa hasil sintesis mendekati bilangan gelombang pada penelitian Suratmo dkk., 2013.

Analisis selanjutnya dilakukan pengujian pada MS atau Spektroskopi massa. Spektroskopi massa digunakan untuk mengetahui struktur kimia dari molekul organik berdasarkan perhitungan massa molekul dan pola fragmentasinya. Pola spektra massa dengan berat molekul g/mol dan *base peak* dengan nilai m/z dengan kelimpahan relatif menunjukkan kemiripan dengan hasil penelitian Suratmo dkk (2013).



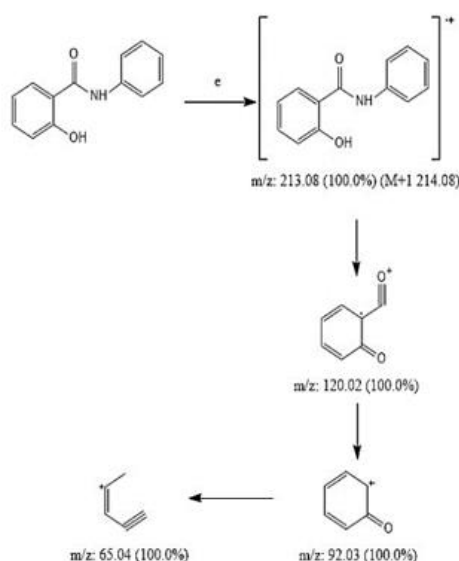
Gambar 3. Hasil Kromatogram Senyawa Hasil Sintesis

Kromatogram senyawa hasil sintesis yang ditunjukkan pada gambar 3. menunjukkan puncak yang lebih dari satu yang menandakan bahwa senyawa yang diperoleh belum murni karena masih banyak senyawa yang masih tercampur. Banyaknya campuran mengakibatkan uji karakteristik titik leleh yang sedikit berbeda dengan literatur. Hasil senyawa sintesis dengan metode sonikasi 7 jam menghasilkan 20 puncak. Senyawa target salisilanilida berada di puncak ketiga dengan waktu retensi 10,084 menit dan % area 2,43%. Berdasarkan % area dengan jumlah yang kecil sebanding dengan jumlah salisilanilida yang terbentuk.



Gambar 4. Spektra Massa Senyawa hasil Sintesis

Secara teori, senyawa salisilanilida memiliki rumus molekul $C_{13}H_{11}NO_2$ dengan Mr sebesar 213,236 g/mol. Spektra massa pada gambar 23 menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki ion molekul dengan $m/z = 213$ yang serupa dengan gambar dengan $m/z=214$. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa bobot molekul salisilanilida sebesar 213,236 g/mol. Senyawa salisilanilida dari $m/z=214$ mengalami pemutusan C_6H_8N menjadi puncak $m/z=120$, dilanjutkan dengan pemutusan CO radikal sehingga diperoleh puncak $m/z=92$. Pemutusan CO radikal dari puncak $m/z=92$ menjadi puncak $m/z=65$. Hasil analisis dari spektroskopi massa disajikan dalam bentuk pola fragmentasi seperti pada Gambar 4.

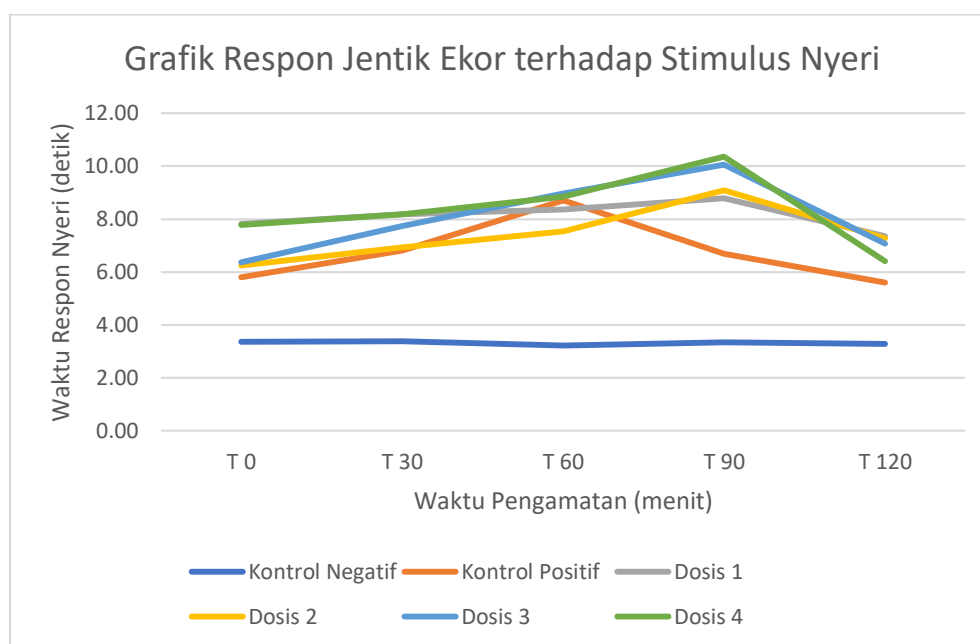


Gambar 5. Pola Fragmentasi Senyawa Salisilanilida

Hasil spektra GC-MS dan IR menunjukkan senyawa target yang terbentuk merupakan senyawa salisilanilida dengan m/z 214 (M+1) dan gugus spesifik yang terbentuk C=O (amida) yang terdapat kisaran panjang gelombang 1680-1630 cm^{-1} . Senyawa target juga memiliki gugus OH-fenol atau dapat dikatakan gugus hidroksi yang berikatan pada cincin benzena dan terletak orto terhadap gugus amida. Gugus hidroksi tersebut berperan sebagai antiinflamasi dan analgetik.

Tabel III. Waktu Respon Nyeri (menit)

No	Kelompok Uji	Waktu Respon Nyeri (menit)				
		T 0	T 30	T 60	T 90	T 120
1	Kontrol Negatif CMC Na	3,37	3,39	3,22	3,35	3,28
2	Kontrol Positif Natrium Diklofenak (1,26 mg/ 200 gram)	5,80	6,82	8,70	6,68	5,60
3	Sintesis Dosis 1 (2,52 mg/ 200 gram)	7,81	8,18	8,36	8,79	7,36
4	Sintesis Dosis 2 (5,04 mg/ 200 gram)	6,25	6,94	7,53	9,09	7,28
5	Sintesis Dosis 3 (7,56 mg/ 200 gram)	6,36	7,74	8,96	10,05	7,08
6	Sintesis Dosis 4 (10,08 mg/ 200 gram)	7,78	8,19	8,84	10,35	6,40



Gambar 6. Grafik Respon Jentik Ekor Terhadap Stimulus Nyeri

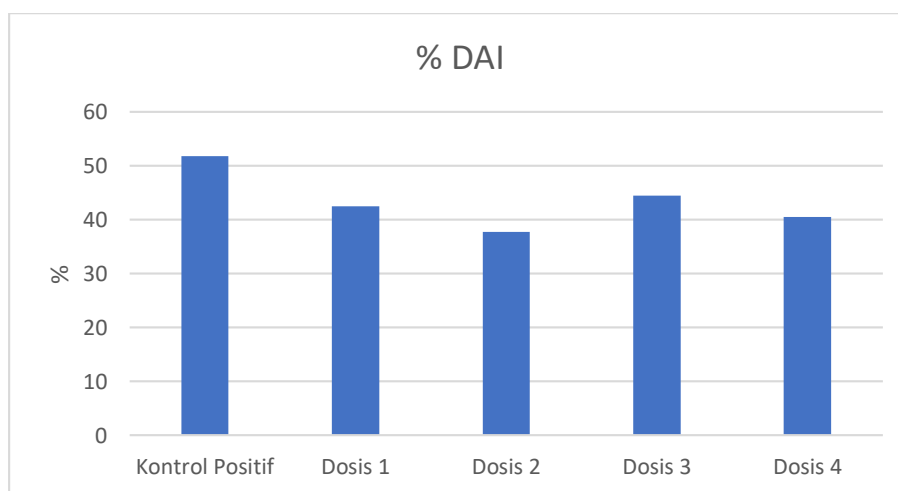
Hasil dari uji analgesik menunjukkan bahwa senyawa salisilanilida dari minyak gandapura mempunyai efek analgesik lebih tinggi di dibanding kontrol negatif yaitu CMC Na. Efek analgesic paling tinggi di tunjukan pada dosis 4. Salisilanilida merupakan obat anti inflamasi yang berfungsi sebagai analgesik atau antipiretik (Siswondo dan Soekardjo, 1995). 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(COX-1) dan siklooksigenase-2(COX-2), serta OAINS selektif yang hanya menghambat enzim siklooksigenase-2 (Carolia, 2017).

Mekanisme kerja utama NSAID adalah penghambatan enzim siklooksigenase (COX). Siklooksigenase diperlukan untuk mengubah asam arakidonat menjadi tromboksan, prostaglandin, dan prostasiklin. Efek terapeutik NSAID disebabkan oleh kurangnya eicosanoid (Vane, 1971). Secara khusus, tromboksan berperan dalam adhesi trombosit, prostaglandin menyebabkan vasodilatasi, meningkatkan titik setel suhu di hipotalamus, dan berperan dalam anti-nosisepsi

Terdapat dua isoenzim siklooksigenase, COX-1 dan COX-2. COX-1 diekspresikan secara konstitutif di dalam tubuh, dan berperan dalam mempertahankan lapisan mukosa gastrointestinal, fungsi ginjal, dan agregasi trombosit. COX-2 tidak diekspresikan secara konstitutif di dalam tubuh dan sebagai gantinya maka akan terekspresi secara induksi selama respons inflamasi. Sebagian besar NSAID bersifat nonselektif dan menghambat COX-1 dan COX-2. Namun, NSAID selektif COX-2 hanya menargetkan COX-2. COX-1 adalah mediator utama untuk pembentukan mukosa lambung dan COX-2 terutama terlibat dalam inflamasi, NSAID selektif COX-2 seharusnya memberikan bantuan antiinflamasi tanpa mengorbankan mukosa lambung (Chaiamnuay et al. 2006)

Tabel IV. Hasil Persen Daya Anti Inflamasi (% DAI)

No	Kelompok Uji	% DAI
1	Kontrol Positif Natrium Diklofenak (1,26 mg/ 200 gram)	51,8
2	Sintesis Dosis 1 (2,52 mg/ 200 gram)	42,51
3	Sintesis Dosis 2 (5,04 mg/ 200 gram)	37,79
4	Sintesis Dosis 3 (7,56 mg/ 200 gram)	44,46
5	Sintesis Dosis 4 (10,08 mg/ 200 gram)	40,55



Gambar 7. Grafik Persen Daya Anti Inflamasi

Berdasarkan hasil pengujian antiinflamasi menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis yaitu senyawa Salisilanilida mempunyai efek antiinflamasi yang mendekati kontrol positif yaitu Na-diklofenak. Efek antiinflamasi yang paling tinggi ditunjukkan oleh dosis 3. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Paramashivappa et al, (2013) melaporkan bahwa sintesis dari beberapa turunan amida yang diikat oleh benzothiazole selektif terhadap COX-2 dibandingkan dengan COX -1 (Kumar et al, 2015). Persentase penghambatan yang sebanding dengan karagenan, dengan menginduksi edema kaki tikus dengan natrium diklofenak. Amidasi dari gugus 2-amino benzothiazole dan penggabungan gugus fenilsulphonamido dapat menghasilkan senyawa yang menghambat peradangan hingga

94,45% dalam konsentrasi nanomolar dan sebanding dengan diklofenak yang mencapai 96,54% (Venkatesh dan Pandeya, 2017).

KESIMPULAN

Senyawa hasil sintesis dengan metode sonokimia dengan waktu 7 jam menghasilkan kelimpahan sebesar 2,43%. Persentase daya antiinflamasi paling tinggi pada sintesis dosis 3 (7,56 mg/200 gram BB Tikus) yaitu sebesar 44,46 % dan efek analgesik paling tinggi adalah sintesis Dosis 4 (10,08 mg/ 200 gram).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Stifar Yayasan Pharmasi Semarang yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, M. A., Khurshid, U., Ahmad, S., Ijaz, S., Rashid, F., & Azam, R. (2014). Review on methods used to determine Antioxidant activity. *Jezs*, 1(1), 41–46. <https://www.researchgate.net/publication/313845805>
- Babu, P. N. K., Devi, B. R., & Dubey, P. K. (2013). Ultrasound assisted convenient, rapid and environmentally benign synthesis of N-alkylbenzimidazoles. *Der Chemica Sinica*, 4(1), 105–110.
- Carolia, N. (2017). Obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS): gastroprotektif vs kardiotoxik. *Majority*, 6(3), 153-158.
- Chaiamnuay S, Allison JJ, Curtis JR. (2006) Risiko versus manfaat obat antiinflamasi nonsteroid selektif siklooksigenase-2. *Am J Health Syst Pharm*. 2006 01 Oktober; 63 (19):1837-51.
- Doulgeris, C. M., Galanakis, D., Kourounakis, A. P., Tsiakitzis, K. C., Gavalas, A. M., Eleftheriou, P. T., ... & Kourounakis, P. N. (2006). Synthesis and pharmacochemical study of novel polyfunctional molecules combining anti-inflammatory, antioxidant, and hypocholesterolemic properties. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(4), 825-829
- Draye, M., Chatel, G., & Duwald, R. (2020). Ultrasound for drug synthesis: A green approach. *Pharmaceuticals*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/ph13020023>
- Farshori, N. N., Banday, M. R., Zahoor, Z., & Rauf, A. (2010). DCC/DMAP mediated esterification of hydroxy and non-hydroxy olefinic fatty acids with β -sitosterol: In vitro antimicrobial activity. *Chinese Chemical Letters*, 21(6), 646–650. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2010.01.003>
- Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). In vitro anti-inflammatory properties of selected green leafy vegetables. *Biomedicines*, 6(4), 1–10. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6040107>
- Hendratta, F. D. (2014). *Sintesis Metil 2-Asetoksibenzoat Dari Minyak Gandapura Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antiinflamasi the Synthesis of Methyl 2-Acetoxybenzoate From Wintergreen Oil and the Test As Antiinflammatory*. 1–13.
- Indriyanti, E., & Prahasiwi, M. S. (2020). *Synthesis Of Cinnamic Acid Based On Perkin Reaction Using Sonochemical Method And Its Potential As Photoprotective Agent*. 5(1), 54–61.
- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Kumar, V., Sharma, S., & Husain, A. (2015). Synthesis and in vivo Anti-inflammatory and Analgesic activities of Oxadiazoles clubbed with Benzothiazole nucleus. *International Current Pharmaceutical Journal*, 4(12), 457-461.
- Li, J. T., Zang, H. J., Feng, J. Y., Li, L. J., & Li, T. S. (2001). Synthesis of cinnamic acids catalyzed by expansive graphite under ultrasound. *Synthetic Communications*, 31(5), 653–656. <https://doi.org/10.1081/SCC-100103251>
- Li, Z., Zhuang, T., Dong, J., Wang, L., Xia, J., Wang, H., Cui, X., & Wang, Z. (2021). Sonochemical fabrication of inorganic nanoparticles for applications in catalysis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 71. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105384>

- Ma'mun. (2015). Penyulingan Dan Analisis Beberapa Jenis Minyak Gandapura. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 16(2), 82–89.
- Mehta, N., Aggarwal, S., Thareja, S., Malla, P., Misra, M., Bhardwaj, T. R., & Kumar, M. (2010). Synthesis, pharmacological and toxicological evaluation of amide derivatives of ibuprofen. *International Journal of ChemTech Research*, 2(1), 233–238.
- Of, S., Activity, A., Mucuna, O. F., On, E., & Albino, S. (2015). *Study of Analgetik Activity of Mucuna Pruriens*. 4(5), 1124–1132.
- Oleracea, B., & Italica, L. V. A. R. (2015). A Preliminary Report On Antihyperglycemic And Analgetik Properties Of Methanol Extract Of. 4(09), 225–234.
- Patel, B. R., Desai, D. H., Raval, J. P., & Patel, B. R. (2014). Green Efficient Synthesis of Aryl Thioamides Using Ultrasound: A Comparative Study. *Journal of Pharmacy And Applied Sciences*, 1(1), 29–33.
- Priambodo, W. S., Saleh, C., Kimia, J., & Mulawarman, U. (2019). Pembuatan Metil Salisilat Menggunakan Katalis Asam Dengan Metode Tanpa Pelarut. *Atomik*, 04(1), 41–44.
- Retnowati, R., & Azzuhro, D. (2013). Sintesis N , N-dietil-2-hidroksibenzamida Menggunakan Metil Salisilat dari Minyak Gandapura. *Natural B*, 2(1), 94–102.
- Ripa, F. A., Dash, P. R., & Faruk, M. O. (2015). CNS depressant, analgetik and anti-inflammatory activities of methanolic seed extract of Calamus rotang Linn. fruits in rat. *J Pharmacog Phytochem*, 3(5), 121–125.
- Robb, C. T., Goepf, M., Rossi, A. G., & Yao, C. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and COVID-19. *British Journal of Pharmacology*, July, 4899–4920. <https://doi.org/10.1111/bph.15206>
- Ruan, B. F., Ge, W. W., Cheng, H. J., Xu, H. J., Li, Q. S., & Liu, X. H. (2017). Resveratrol-based cinnamic ester hybrids: synthesis, characterization, and anti-inflammatory activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 1282–1290. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1381090>
- Siswandono, dan Soekardjo, Bambang, (1995), Kimia Medisinal, Airlangga University Press, Surabaya
- Sondhi, S. M., Singh, J., Kumar, A., Jamal, H., & Gupta, P. P. (2009). Synthesis of amidine and amide derivatives and their evaluation for anti-inflammatory and analgetik activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(3), 1010–1015. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.06.029>
- Sulistyo, R., Suratmo, & Retnowati, R. (2015). Sintesis salisilanilida dari komponen utama minyak gandapura. *Kimia Student Journal*, 1(1), 805–811.
- Paramashivappa, R., Kumar, P. P., Rao, P. S., & Rao, A. S. (2003). Design, synthesis and biological evaluation of benzimidazole/benzothiazole and benzoxazole derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13(4), 657-660.
- Umar, M. I., Asmawi, M. Z., Sadikun, A., Majid, A. M. S. A., Al-Suede, F. S. R., Hassan, L. E. A., ... & Ahamed, M. B. K. (2014). Ethyl-p-methoxycinnamate isolated from Kaempferia galanga inhibits inflammation by suppressing interleukin-1, tumor necrosis factor- α , and angiogenesis by blocking endothelial functions. *Clinics*, 69(2), 134-144.
- Vane JR. (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*. Jun 23;231(25):232-5. doi: 10.1038/newbio231232a0. PMID: 5284360
- Venkatesh, P., & Pandeya, S. N. (2009). Synthesis, characterisation and anti-inflammatory activity of some 2-amino benzothiazole derivatives. *International Journal of ChemTech Research*, 1(4), 1354-1358.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivatva, S., & Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci*, 9(11), 1328-1331.