

## Sintesis of N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea and CNS Depressant Activity Test in Mice

Sovia Aprina Basuki \*

### Abstract

*The synthesis of N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea had been done by using the method of benzoylthiourea's synthesis. N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea had been made by reacting 2,4-dichlorobenzoyl chloride with thiourea in acetone in the presence of pyridine. The yield of N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea was 61.54%. The purity of the compound was determined by thin layer chromatography and melting point test. Characterization of compound was based on the analysis with ultraviolet and infrared spectrophotometries, and <sup>1</sup>H NMR spectrometry. The activity of the compound was tested for CNS depressant in mice and expressed as the potentiation activity to thiopental. It was showed that the compound had potentiation activity represented by prolonged sleeping time of mice. The result showed that N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea had potentiation activity on the dose 100 mg/kg body weight but there was no significant increase in activity compared to the lead compound, benzoylthiourea.*

*Keyword: N-(2,4-dichlorobenzoyl)thiourea, synthesis, CNS depressant activity.*

### PENDAHULUAN

Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga tahun 1995 oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan prevalensi gangguan mental emosional pada anggota rumah tangga dewasa (di atas 15 tahun) 140 orang per 1.000 penduduk. Tahun 1998 menunjukkan adanya peningkatan menjadi 264 orang per 1.000 penduduk. Jumlah penderita stress dan gangguan jiwa di Indonesia tersebut akan cenderung meningkat karena semakin kompleksnya permasalahan.

Pada umumnya penyakit stress dan gangguan jiwa dapat diobati dengan obat-obat penekan sistem saraf pusat. Obat-obat ini bekerja terhadap sistem saraf pusat dengan mempengaruhi fungsi-fungsi psikus dan proses-proses mental misalnya obat antipsikotik dan antidepresan (Tjay dan Rahardja, 2002). Penggunaan obat-obat tersebut kadang menimbulkan efek samping yang serius dengan aktivitas yang belum tentu optimal.

Oleh karena itu, perlu adanya usaha pengembangan obat baru yang lebih aktif dan lebih selektif dengan efek samping dan toksisitas yang seminimal mungkin (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Metode pengembangan obat dapat melalui modifikasi molekul dengan optimasi senyawa penuntun (lead compound) dan rancangan obat yang rasional (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Variasi struktur mengakibatkan

perubahan sifat fisika dan reaktivitas yang dapat menimbulkan perubahan distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa tersebut (Reksohadiprojo, 1988). Struktur kimia fisika berhubungan dengan aktivitas biologis yang dapat dinyatakan dengan parameter-parameter yang menggambarkan perubahan sifat kimia fisika, yaitu parameter lipofilik, elektronik, dan sterik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

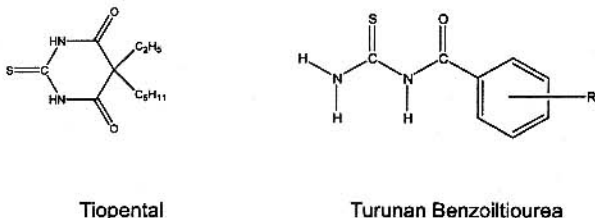
Modifikasi struktur urea telah dilakukan melalui reaksi asilasi isovalerilklorida pada salah satu gugus amino dari urea menghasilkan isovalerilurea yang menunjukkan aktivitas penekan sistem saraf pusat seperempat dari aktivitas bromisoval (Reksohadiprojo, 1988). Diduga karena isovalerilurea memiliki kemiripan struktur dengan bromisoval yaitu mengandung ureida asiklik. Bromisoval (Bromural) digunakan untuk pengobatan kecemasan dan ketegangan saraf apabila turunan barbiturat sudah tidak efektif. Penggunaan jangka panjang tidak dianjurkan karena bromisoval dalam tubuh akan melepaskan bromida dan menyebabkan hiperbromida (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

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

\* Staf Akademik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang

Aktivitas penekan sistem saraf pusat dipengaruhi oleh sifat lipofilik, elektronik, dan sterik. Sifat lipofilik terutama mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik terutama mempengaruhi proses interaksi obat-reseptor selain juga meningkatkan penembusan senyawa ke dalam membran biologis, sedangkan sifat sterik menentukan keserasian interaksi senyawa dengan reseptor dalam sel. Peningkatan sifat lipofilik dapat dilakukan dengan memasukkan gugus atau substituen nonpolar, sedangkan peningkatan sifat elektronik dilakukan dengan memasukkan substituen yang bersifat elektronegatif, seperti halogen, ke dalam cincin aromatik (Siswandono, 1999). Kekuatan maksimum golongan sedatif-hipnotik terjadi pada koefisien partisi antara fase lipid dan air (oktanol-air) mendekati 100 ( $\log P = 2$ ). (Daniels and Jogersen, 1992).

Pada obat sedatif-hipnotik golongan barbiturat terdapat senyawa tiopental yang mengandung atom sulfur menggantikan oksigen pada atom C<sub>2</sub> dari strukturnya (C=O) dengan atom sulfur (C=S). Hal ini menyebabkan awal kerja obat menjadi lebih cepat (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Analogi terhadap senyawa tiopental dilakukan pada senyawa benzoiurea yaitu dengan penggantian atom oksigen pada C<sub>2</sub> senyawa urea dengan atom sulfur yang terdapat pada tiourea [H<sub>2</sub>N-(C=S)-HN<sub>2</sub>]. Modifikasi benzoiurea menjadi benzoiltiourea tersebut dilakukan oleh Suzana dkk. (2004) melalui sintesis turunan tiourea dengan reaksi asilasi. Uji aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat benzoiltiourea menunjukkan adanya aktivitas berupa efek tidur pada mencit (*Mus musculus*).



Gambar 1. Struktur Tiopental dan Turunan Benzoiltiourea

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

Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dibuat melalui serangkaian proses sintesis kemudian uji aktivitas penekan sistem saraf pusatnya dengan uji potensiasi turunan barbiturat yaitu tiopental karena tiopental mempunyai waktu aksi yang sangat pendek sehingga mempermudah pengamatan (Levine, 1983). Senyawa pembanding yang digunakan yaitu benzoiltiourea Uji aktivitas dilakukan dengan mengamati waktu mulai tidur sampai waktu bangun (lama tidur). Hewan coba yang digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*) galur BLAB/C. Diharapkan dari penelitian ini akan didapatkan senyawa baru yang dihasilkan memiliki aktivitas yang lebih poten.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan Kimia

Tiourea (Aldrich); 2,4-diklorobenzoil klorida dan Benzoiltiourea (Produk Sintesis Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Unair); Etanol p.a., Natrium Bikarbonat p.a., Kloroform p.a., Aseton p.a., Metanol p.a., Heksana p.a., dan Lempeng KLT silika gel 60 GF 254 (E Merck); Tiopental (P.T. Abbott Australia); dan Aquadest

### Hewan Coba

Mencit (*Mus musculus*) galur BLAB/C, jantan, dewasa berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram, sehat, dan tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuh. Mencit diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

### Metode

#### Sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Metode sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea yang akan dilakukan berdasarkan metode sintesis benzoiltiourea yang telah dilakukan oleh Suzana, dkk. (2004) dengan beberapa modifikasi. Pada gelas piala 200 ml, dilarutkan 0,1 mol tiourea dalam aseton 50 ml. Ditambahkan 3 tetes piridina sambil diaduk. Pada suhu kamar, diteteskan larutan 2,4-diklorobenzoil klorida 0,05 mol dalam 20 ml aseton sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan menggunakan stirer. Setelah larutan 2,4-diklorobenzoil klorida habis, campuran tetap diaduk selama 2,5 jam agar reaksi berjalan sempurna. Hasil reaksi dituang dalam 100 ml aquades sambil diaduk-aduk kemudian disaring dengan corong Buchner. Padatan dituang dalam 50 ml aquades kemudian ditambah larutan NaHCO<sub>3</sub> jenuh, diaduk sampai tidak keluar buih, saring dengan corong Buchner. Endapan dicuci dengan aquades 50 ml dua kali, kemudian direkristalisasi dengan pelarut etanol.

#### Identifikasi Senyawa Hasil Sintesis Pemeriksaan Organoleptis

Meliputi pemeriksaan bentuk, warna, dan rasa.

### Uji Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis

Uji Kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan melarutkan sedikit senyawa hasil sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea dalam aseton. Larutan tersebut ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler ke lempeng kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel 60 GF 254. Kemudian lempeng kromatografi lapis tipis dimasukkan ke dalam bejana yang sudah dijenuhkan dengan larutan yang berfungsi sebagai fase gerak. Adapun fase gerak yang digunakan terdiri dari tiga macam yaitu kloroform:etanol = 1:6, kloroform:metanol = 3:2, dan kloroform:etanol:etil asetat = 1:1:1. Penampakan noda yang digunakan lampu UV 254 nm.

### Uji Kemurnian dengan Pemeriksaan Titik Lebur

Kemurnian senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea diuji dengan pemeriksaan titik leburnya menggunakan alat Fisher John.

### Identifikasi Struktur (Creswell, 1982; Silverstein, 1981)

- Analisis dengan Spektrofotometer Ultraviolet  
Sedikit sampel dilarutkan dalam etanol, kemudian diamati serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm.
- Analisis dengan Spektrofotometer Infrared  
Sedikit sampel (0,1-2%) dibuat pellet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva % transmisi terhadap bilangan gelombang ( $\nu$ ) pada 400-4600  $\text{cm}^{-1}$ . Selanjutnya diidentifikasi pita absorpsi yang khas dari gugus-gugus fungsi pada spektrum infrared yang terjadi.
- Analisis dengan Spektrometer  $^1\text{H}$  RMI  
Sedikit sampel dilarutkan dalam aseton deuteried (aseton- $\text{D}_6$ ) yang sudah mengandung tetrametilsilan (TMS). Kemudian dibuat spektrum resonansi proton senyawa pada daerah geseran kimia 0-10 ppm. Selanjutnya diidentifikasi intensitas, jumlah, dan posisi pada daerah geseran kimia dari puncak-puncak proton ( $^1\text{H}$  RMI) pada spektrum resonansi magnet inti yang terjadi.

### Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat (Thompson, 1990)

- Pembuatan Sediaan Benzoiltiourea  
Senyawa benzoiltiourea diberikan pada mencit dengan dosis 50 dan 100 mg/kg BB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram maka dosis yang diberikan adalah 3 dan 6 mg dalam volume 0,3 ml.  
Untuk pembuatan sediaan uji dengan dosis 3 mg, ditimbang seksama 100,0 mg senyawa uji, dibuat

suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga jumlah senyawa uji yang diinjeksikan adalah 3 mg/0,3 ml. Dengan cara yang sama dibuat sediaan uji dengan dosis 6 mg.

- Pembuatan Sediaan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea  
Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea diberikan pada mencit dengan dosis 50 dan 100 mg/kg BB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram maka dosis yang diberikan adalah 3 dan 6 mg dalam volume 0,3 ml.  
Untuk pembuatan sediaan uji dengan dosis 3 mg, ditimbang seksama 100,0 mg senyawa uji, dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga jumlah senyawa uji yang diinjeksikan adalah 3 mg/0,3 ml. Dengan cara yang sama dibuat sediaan uji dengan dosis 6 mg.
- Pembuatan Sediaan Tiopental  
Dosis yang digunakan untuk tiopental adalah 60 mg/kgBB. Jika berat badan mencit rata-rata 30 gram, maka dosis yang diberikan adalah 1,8 mg dalam volume 0,3 ml. Adapun pembuatannya sebagai berikut: ditimbang seksama 60,0 mg tiopental, dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5 % b/v sampai 10,0 ml. Dari sediaan ini, diambil 0,3 ml dan diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit, sehingga konsentrasi tiopental yang diinjeksikan adalah 1,8 mg/0,3 ml.
- Penentuan Waktu Aktivitas Puncak  
Penentuan waktu aktivitas puncak senyawa uji pada mencit dilakukan dengan cara menyuntik 7 ekor mencit masing-masing dengan sampel senyawa uji dosis 100 mg/kgBB. Kemudian masing-masing mencit disuntik dengan tiopental dosis 60 mg/kgBB dengan selang waktu yang berbeda-beda, yaitu 15, 30, 45, 60, 75, 90, dan 120 menit. Selanjutnya masing-masing diamati waktu tidurnya. Waktu dimana mencit tertidur paling lama merupakan waktu aktivitas puncak (Turner, 1965).
- Uji Aktivitas Potensiasi  
Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok A, B, C, dan D. Kelompok A dan B masing-masing dibagi menjadi 2 subkelompok, A1 dan A2, B1 dan B2. Masing-masing subkelompok terdiri dari 10 ekor mencit, sedangkan kelompok C dan D masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit.

Adapun tahapan penelitian yang akan dilakukan sebagai berikut:

- Mencit dipuasakan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan.

2. a. Kelompok A yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan uji N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea. Kelompok A1 dengan dosis 50 mg/kgBB dan kelompok A2 dengan dosis 100 mg/kgBB.
- b. Masing-masing dosis diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.
- c. Pada waktu aktivitas puncak, masing-masing kelompok diinjeksi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml (untuk mencit berat 30 g).
3. a. Kelompok B yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan uji benzoiltiourea. Kelompok B1 dengan dosis 50 mg/kgBB dan kelompok B2 dengan dosis 100 mg/kgBB.
- b. Masing-masing dosis diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.
- c. Pada waktu aktivitas puncak, masing-masing kelompok diinjeksi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml (untuk mencit berat 30 g).
4. a. Kelompok C yaitu kelompok mencit yang diberi sediaan tiopental dengan dosis 60 mg/kgBB.
- b. Tiopental diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan volume 0,3 ml untuk mencit berat 30 g dan diamati efek yang terjadi.
5. Dibuat kelompok D yaitu kelompok mencit yang diinjeksi secara intraperitoneal dengan larutan CMC Na 0,5 % dengan volume 0,3 ml (untuk berat mencit 30 g).
6. Masing-masing kelompok diamati dan dibandingkan lama waktu tidur kelompok perlakuan dan kelompok tiopental.

## ANALISIS DATA

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

H<sub>0</sub>: Tidak ada perbedaan yang bermakna pada aktivitas penekan sistem saraf pusat (efek potensiasi) antara kelompok senyawa hasil sintesis (A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub>), kelompok pembanding (B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub>) dengan kelompok tiopental.

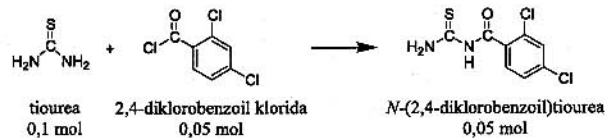
H<sub>1</sub>: Ada perbedaan yang bermakna pada aktivitas penekan sistem saraf pusat (efek potensiasi) antara kelompok senyawa hasil sintesis (A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub>), kelompok pembanding (B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub>) dengan kelompok tiopental.

Harga F dihitung dengan menggunakan komputer program SPSS 11.0 (analisis satu arah). Apabila harga F

hitung lebih besar daripada F tabel pada  $\alpha = 0,05$  dengan  $V_1 = K-1$ ;  $V_2 = N-K$ , maka H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima. Selanjutnya untuk mengetahui mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan uji LSD.

## HASIL

### Hasil Sintesis Senyawa N-(2,4- diklorobenzoil)tiourea



Perhitungan persentase senyawa hasil sintesis sebagai berikut:

- BM N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea = 249,1198
- Berat N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea:  
Perhitungan hasil teoritis 0,05 mol = 0,05 x 249,1198  
= 12,4559 gram
- Hasil sintesis = 7,6660 gram
- Persentase hasil =  $\frac{7,6660g}{12,4559g} \times 100\% = 61,54\%$

### Identifikasi Hasil Sintesis Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

#### Pemeriksaan Organoleptis

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
Bentuk	Kristal jarum
Warna	Putih kekuningan
Rasa	Tidak berasa

#### Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Benzoiltiourea dan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Eluen	Rf Benzoiltiourea	Rf N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea
CHCl <sub>3</sub> : etanol (1 : 6)	0,81	0,91
CHCl <sub>3</sub> : metanol (3 : 2)	0,75	0,83
CHCl <sub>3</sub> : etanol : etil asetat (1 : 1 : 1)	0,84	0,89

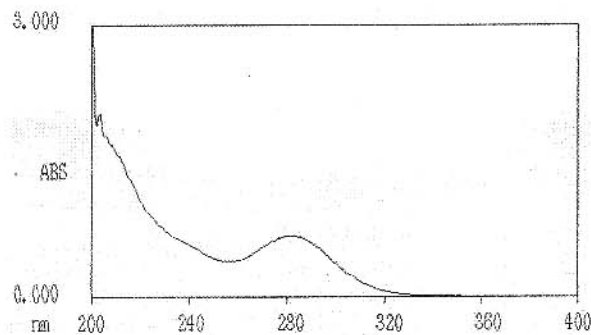
**Pemeriksaan Titik Lebur**

Tabel 3. Hasil Pengamatan Titik Lebur N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Replikasi	Titik Lebur	Rata-rata
1	159 °C	160 °C ± 1 °C
2	161 °C	
3	160 °C	

**Identifikasi Struktur**

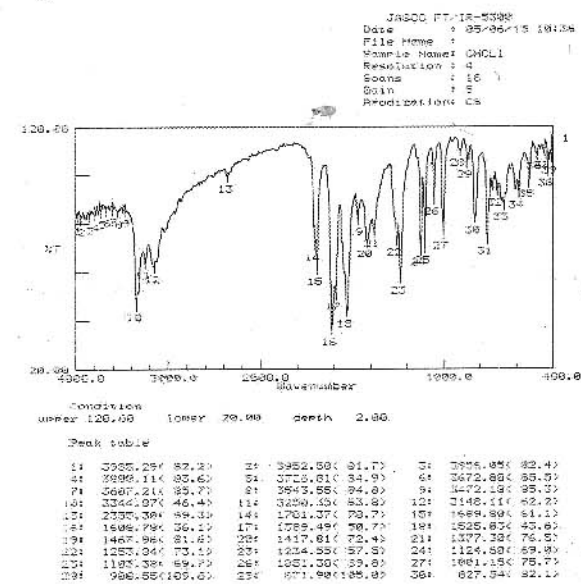
**Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Ultraviolet**



Gambar 2. Spektrum Ultraviolet N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dalam Pelarut Etanol

**Pemeriksaan dengan Spektrofotometer Infrared**

Spektrum infrared senyawa hasil sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Spektrum Infrared N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dalam Pelet KBr

Gugus fungsi spesifik yang terdapat pada spektrum infrared senyawa hasil sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik Spektrum Infrared N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

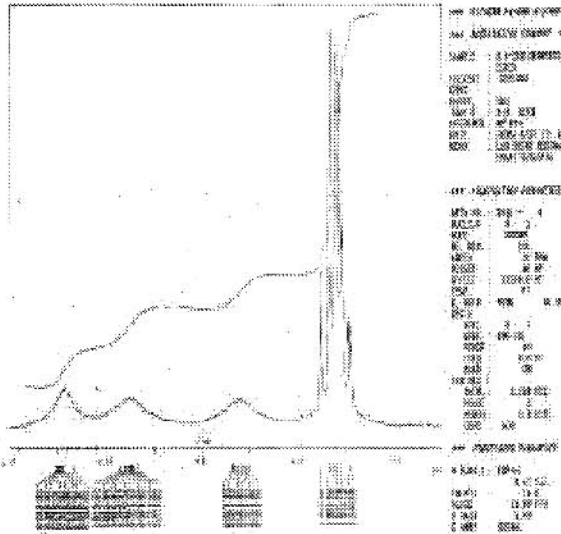
Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Gugus Fungsi
3344	-NH
3250	-NH
1467	-C=C- aromatis
1417	-C=C- aromatis
871	-C=C- aromatis, lentur, luar bidang
827	-C=C- aromatis, lentur, luar bidang
1701	-C=O
1689	-C=O
1124	-C=S
1103	-C=S
1051	-C=S
1124	-C-Cl aromatis
1103	-C-Cl aromatis

**Pemeriksaan dengan Spektrometer Resonansi Magnet Inti (RMI)**

Puncak-puncak resonansi senyawa hasil sintesis N-(2,4-diklorobenzoil) tiourea dengan nilai d dapat dilihat pada tabel 5 dan gambar 4.

Tabel 5. Karakteristik Spektrum 1H RMI Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Pergeseran Kimia δ (ppm)	Intensitas Relatif	Multiplisitas	Atom H dari Gugus
7,76 – 7,45	3	multiplet	3 atom H dari gugus benzena
10,44	1	singlet lebar	1 atom H dari gugus -NH
9,76	1	singlet lebar	1 atom H dari gugus -NH <sub>2</sub>
8,59	1	singlet lebar	1 atom H dari gugus -NH <sub>2</sub>



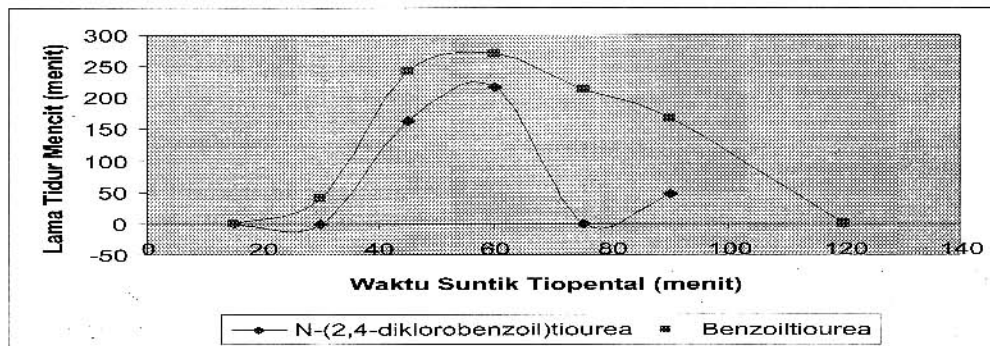
Gambar 4. Spektrum  $^1\text{H}$  RMI Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea  
Alat: Spektrometer 90 MHz Hitachi FT-NMR-R-1900

### Hasil Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat Penentuan Waktu Aktivitas Puncak

Tabel 6. Hasil Penentuan Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea dan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

No	Selang Waktu Pemberian Senyawa dengan Tiopental (menit)	Lama Tidur Rata-rata (menit)	
		Benzoiltiourea	N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea
1	15	124,5	146,5
2	30	41	174,5
3	45	243	163
4	60	270*	218*
5	75	214	192,5
6	90	168	47
7	120	54,5	-

Berdasarkan data pada tabel di atas ditetapkan bahwa waktu aktivitas puncak senyawa benzoiltiourea dan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea masing-masing adalah 60 menit, yaitu selang waktu pemberian yang menyebabkan



Gambar 5. Kurva Waktu Aktivitas Puncak Benzoiltiourea dan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea

Tabel 7. Hasil Pengamatan Lama Tidur pada Uji Potensiasi

No	Lama Tidur Mencit (menit)					
	Benzoiltiourea + Tiopental 60mg/kgBB		N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea + Tiopental 60mg/kgBB		Tiopental 60mg/kg BB	Kontrol (CMC Na 0,5%)
	50mg/kgBB	100mg/kgBB	50mg/kgBB	100mg/kgBB		
1	29	128	38	187	21	0
2	58	211	46	128	8	0
3	59	265	59	145	8	0
4	35	295	62	146	21	0
5	60	92	66	194	16	0
6	111	121	69	256	8	0
7	111	168	38	295	20	0
8	111	217	49	312	3	0
9	90	221	54	385	6	0
10	47	245	56	181	10	0
Mean	58,9	196,5	55,7	222,9	12,1	0
SD	28,8	60,75	10,86	85,23	6,76	0

## Hasil Uji Aktivitas Potensiasi

### Analisis Data Aktivitas Potensiasi

Dari hasil analisis yang dilakukan menggunakan uji F satu arah dengan bantuan komputer program SPSS 11.0 diperoleh harga Fhitung = 39,124 sedangkan harga Ftabel = 2,61. Hasil perhitungan LSD diperoleh harga LSD = 44,4448 dengan harga selisih lama tidur rata-rata antar perlakuan dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Harga Selisih Lama Tidur Rata-rata Antar Perlakuan

Klp	A1	A2	B1	B2	C
A1	-	-	-	-	-
A2	169.2000*	-	142.6000*	-	-
B1	-	-	-	-	-
B2	184.1000*	-	157.5000*	-	-
C	210.8000*	-	184.2000*	-	-

Keterangan:

- A1 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB  
 A2 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB  
 B1 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa benzoiltiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB  
 B2 : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB  
 C : Kelompok perlakuan yang disuntik senyawa tiopental 60mg/kg BB

Jadi ada 6 harga selisih lama tidur rata-rata antar perlakuan yang lebih besar dari harga

LSD, yaitu:

- Kelompok tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB
- Kelompok tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok benzoiltiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB
- Kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB
- Kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB

- Kelompok benzoiltiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB
- Kelompok benzoiltiourea 100 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB dengan kelompok benzoiltiourea 50 mg/kgBB + tiopental 60mg/kgBB

Berdasarkan data di atas dapat diketahui adanya perbedaan bermakna antara:

- Kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dosis 100 mg/kgBB dan kelompok benzoiltiourea dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok tiopental
- Kelompok N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dosis 50 mg/kgBB dengan dosis 100 mg/kgBB
- Kelompok benzoiltiourea dosis 50 mg/kgBB dengan dosis 100 mg/kgBB

## PEMBAHASAN

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

## PEMBAHASAN

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

Berdasarkan model pendekatan Topliss, pemasukan atom Cl pada sintesis senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dilakukan karena gugus ini dapat meningkatkan sifat lipofilik dan elektronik dari senyawa induk. Sehingga diharapkan terjadi peningkatan absorpsi senyawa ke dalam membran biologis dan terjadi peningkatan pada proses interaksi obat-reseptor dari senyawa induk.

Sintesis senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dilakukan melalui reaksi asilasi antara senyawa 2,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea. Pada reaksi substitusi nukleofilik, sebagai nukleofil adalah gugus amina primer (-NH<sub>2</sub>) dari senyawa tiourea. Gugus ini menyerang atom C karbonil dari 2,4-diklorobenzoil klorida yang bersifat elektrofil karena kekurangan elektron. Senyawa tiourea mengandung dua gugus -NH<sub>2</sub> yang dapat bereaksi dengan

2,4-diklorobenzoil klorida. Agar 2,4-diklorobenzoil klorida hanya bereaksi dengan salah satu gugus  $-NH_2$  maka jumlah mol tiourea dibuat berlebih yaitu dua kali jumlah mol 2,4-diklorobenzoil klorida. Penambahan dua ekuivalen senyawa tiourea ini satu ekuivalen tiourea akan bereaksi dengan 2,4-diklorobenzoil klorida. Selama reaksi akan dibebaskan HCl yang dapat mengganggu jalannya reaksi karena dapat memecah gugus amida dari senyawa hasil reaksi (Mc Murry, 1984; Fessenden, 1995). Sehingga digunakan piridina untuk mengikat HCl membentuk piridinium klorida yang larut dalam air.

Turunan benzoil klorida dapat bereaksi secara cepat dan sempurna dengan senyawa amina primer, sekunder, atau tersier membentuk senyawa amida dengan persentase hasil yang cukup baik (Mc Murry, 1984). Sebagai media pelarut digunakan aseton. Pada penelitian ini, pereaksi dilarutkan dalam aseton dan diteteskan perlahan-lahan selama 30 menit ke dalam tiourea yang sudah dilarutkan dalam aseton. Pada saat yang bersamaan perlahan-lahan diteteskan piridina yang sudah diencerkan dengan aseton yang ditujukan untuk mengikat ion Cl yang dilepas oleh 2,4-diklorobenzoil klorida. Reaksi ini dilakukan pada suhu kamar karena pereaksi sangat reaktif. Setelah larutan pereaksi dan piridina habis diteteskan, campuran dibiarkan selama 2,5 jam pada suhu kamar sambil terus diaduk agar reaksi berlangsung lebih sempurna. Setelah reaksi asilasi selesai ditambahkan 100 ml aquadest untuk melarutkan piridinium klorida kemudian disaring dengan corong Buchner. Fase padat yang didapat ditambahkan 50 ml aquadest kemudian ditetesi larutan  $NaHCO_3$  jenuh sampai tidak keluar buih. Hal ini ditujukan untuk menghilangkan hasil samping yang terbentuk yaitu asam benzoat. Penambahan larutan  $NaHCO_3$  jenuh akan membentuk natrium benzoat yang larut air, kemudian disaring dengan corong Buchner dan dicuci dengan aquadest 50 ml dua kali. Rekristalisasi dilakukan dengan pelarut etanol. Dari sintesis yang telah dilakukan, diperoleh persentase hasil sintesis N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea sebesar 61,54 %.

Untuk mengetahui ada tidaknya senyawa pengotor pada senyawa hasil sintesis dilakukan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF 254, sebagai fase gerak digunakan tiga macam komposisi yaitu campuran kloroform:metanol (3:2), kloroform:etanol (1:6), dan kloroform:etanol:etil asetat (1:1:1). Sebagai pembanding digunakan senyawa induk benzoiltiourea. Hasil KLT menunjukkan bahwa pada ke tiga macam fase gerak tersebut baik senyawa hasil sintesis maupun senyawa induk hanya menampilkan satu noda, hal ini berarti senyawa hasil sintesis telah murni secara KLT. Berdasarkan perhitungan nilai  $R_f$  dapat diketahui bahwa senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea bersifat lebih polar daripada senyawa induk benzoiltiourea. Selain itu senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea juga bersifat lebih

lipofilik karena senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea mengandung dua atom Cl pada posisi 2,4 cincin benzena senyawa benzoiltiourea yang dapat meningkatkan lipofilitas N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea (peningkatan nilai p sebesar + 1,42) sehingga diharapkan aktivitasnya sebagai penekan sistem saraf pusat lebih tinggi daripada senyawa induk benzoiltiourea. Selanjutnya uji kemurnian dilakukan dengan penetapan titik lebur diperoleh titik lebur  $160\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ . Tiga kali replikasi penentuan titik lebur tersebut mempunyai presisi relatif kecil, berkisar satu derajat celsius, berarti senyawa tersebut murni.

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan analisis menggunakan spektrofotometer ultraviolet, spektrofotometer infrared, dan spektrometer  $^1\text{H}$  RMI.

Analisis struktur senyawa hasil sintesis secara spektrofotometri ultraviolet digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari senyawa. Dari spektrum ultraviolet senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea memberikan serapan pada panjang gelombang maksimum 283 nm, diduga senyawa mengandung sistem aromatik atau gugus kromofor ikatan rangkap terkonjugasi. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis mengandung gugus benzena, hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya satu puncak  $\lambda_{\text{max}}$  yang menunjukkan absorpsi gugus benzena.

Pada spektrum infrared senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea terdapat puncak spesifik pada bilangan gelombang  $3344\text{ cm}^{-1}$  dan  $3250\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus  $-NH$ . Selain itu pada bilangan gelombang  $1124\text{ cm}^{-1}$  dan  $1103\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya C-Cl aromatis. Hal ini berarti reaksi asilasi senyawa 2,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea sudah terjadi.

Spektrum  $^1\text{H}$  RMI senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea menunjukkan adanya puncak multiplet pada pergeseran kimia 7,76-7,45 ppm yang berarti adanya proton pada cincin aromatis. Pita absorpsi juga ditemukan pada daerah 10,44 ppm yang menunjukkan adanya gugus  $-NH$  dan adanya puncak serapan pada daerah 9,76 ppm dan 8,59 ppm menunjukkan adanya gugus  $-NH_2$ . Hal ini memperkuat dugaan bahwa telah terjadi reaksi asilasi senyawa 2,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea.

Berdasarkan identifikasi senyawa hasil sintesis yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dimana senyawa tersebut telah diketahui murni secara kromatografi lapis tipis dan titik lebur. Dari analisis spektrofotometri ultra-



violet diketahui senyawa ini diduga mengandung satu gugus benzena. Hal ini diperkuat dari hasil spektrometri  $^1\text{H}$  RMI yang menunjukkan adanya proton pada cincin aromatis. Selanjutnya dari analisis spektrofotometri infra-red dan spektrometri  $^1\text{H}$  RMI menunjukkan adanya gugus -NH sehingga dapat diketahui bahwa telah terjadi reaksi asilasi senyawa 2,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea menghasilkan N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea.

Uji aktivitas penekan sistem saraf pusat senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dilakukan dengan uji potensiasi terhadap obat penekan sistem saraf pusat. Pada penelitian ini digunakan obat penekan sistem saraf pusat tiopental untuk uji potensiasi. Tiopental digunakan karena mempunyai waktu aktivitas yang sangat pendek (ultra short acting) yaitu mampu menganestesi selama 15-30 menit dan mempunyai waktu mula aktivitas (onset of action) yang sangat cepat, sehingga memudahkan dalam pengamatan. Sebagai senyawa pembanding digunakan senyawa benzoiltiourea.

Sebelum uji potensiasi dilakukan penentuan waktu aktivitas puncak senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea untuk mengetahui waktu selang waktu pemberian yang menyebabkan lama tidur mencit terlama. Waktu aktivitas puncak senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa induk benzoiltiourea dicapai pada menit ke 60. Sehingga tiopental disuntikkan 60 menit setelah pemberian senyawa uji dan diharapkan efek yang akan dicapai oleh senyawa uji akan optimal.

Berdasarkan hasil uji F satu arah dengan  $\alpha = 0,05$  pada  $v_1 = 4$  dan  $v_2 = 45$  bahwa harga  $F_{hitung} = 39,124$  lebih besar daripada harga  $F_{tabel} = 2,61$  menunjukkan ada perbedaan bermakna antar beberapa kelompok perlakuan. Selanjutnya dapat diketahui bahwa lama tidur mencit yang diberi senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dosis 100 mg/kgBB + tiopental dosis 60 mg/kgBB dan senyawa benzoiltiourea dosis 100 mg/kgBB + tiopental dosis 60 mg/kgBB lebih lama secara bermakna daripada mencit yang hanya diberi larutan tiopental dosis 60 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dan senyawa benzoiltiourea pada dosis 100 mg/kgBB mempunyai efek potensiasi terhadap tiopental.

Aktivitas potensiasi terhadap tiopental senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea menunjukkan angka yang meningkat daripada senyawa induk benzoiltiourea tetapi secara statistik tidak memberikan perbedaan yang bermakna. Perbedaan bermakna hanya nampak pada masing-masing kelompok senyawa, pada dosis yang berbeda memberikan efek potensiasi yang berbeda. Dosis yang lebih tinggi mempunyai efek potensiasi terhadap

tiopental yang lebih besar. Jadi dapat disimpulkan ada hubungan antara dosis dengan aktivitas.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa peningkatan sifat lipofilitas dan peningkatan sifat elektronik akibat substitusi dua atom Cl pada posisi 2,4 cincin benzena dari benzoiltiourea telah menunjukkan aktivitas yang tinggi. Peningkatan nilai Log P N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea menuju nilai optimum Log P yaitu 2,24 (Log P optimum = 2) untuk aktivitas penekan sistem saraf pusat dapat memaksimalkan penembusan senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea melewati membran biologis. Selanjutnya peningkatan sifat elektronik akan meningkatkan proses interaksi obat-reseptor. Disamping peningkatan sifat lipofilik dan elektronik, penambahan dua atom Cl pada cincin benzena dari benzoiltiourea ini juga meningkatkan sifat sterik sehingga memperbesar ukuran molekul. Apakah sifat sterik menimbulkan peningkatan atau penurunan aktivitas maka diperlukan studi lebih lanjut.

Mengingat senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea mempunyai efek penekan sistem saraf pusat secara potensiasi terhadap tiopental maka perlu diketahui dosis efektifnya melalui penelitian  $ED_{50}$  dan kemungkinan dosis yang dapat menimbulkan toksisitas melalui penelitian  $LD_{50}$ .

Penelitian ini merupakan skrining awal aktivitas penekan sistem saraf pusat yang bersifat eksploratif sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap prospek turunan benzoiltiourea sebagai calon obat penekan sistem saraf pusat.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

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

1. Melalui reaksi asilasi antara senyawa 2,4-diklorobenzoil klorida dengan senyawa tiourea dapat dihasilkan senyawa murni N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea dengan persentase hasil 61,54 %.
2. Senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea pada dosis 100 mg/kgBB mempunyai aktivitas penekan sistem saraf pusat pada mencit (*Mus musculus*) dengan metode potensiasi terhadap tiopental. Aktivitas penekan sistem saraf pusat senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea tidak lebih tinggi daripada senyawa induk benzoiltiourea.

## Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang penulis berikan:

1. Perlu ditentukan  $ED_{50}$  dari senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea untuk mengetahui dosis efektif sebagai penekan sistem saraf pusat dan  $LD_{50}$  untuk mengetahui adanya kemungkinan terjadi toksisitas.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas sistem saraf pusat yang lebih spesifik terhadap senyawa N-(2,4-diklorobenzoil)tiourea.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 1998. Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Creswell JC, Runquist OA, Campbell MM, 1982. Analisis Spektrum Senyawa Organik. Edisi kedua. Alih bahasa: Padmawinata K dan Soediro I. Bandung: Penerbit ITB. hal 45-58, 78-93, 181-248, 246-335.
- Daniels TC dan Jogersen EC, 1991. Depresan Sistem Saraf Pusat, Buku Teks Wilson dan Gisvold's Kimia Farmasi dan Medisinal Organik (Alih bahasa). Edisi VIII. Bagian I. Semarang: IKIP Semarang Press. hal 361-369.
- Fessenden RJ dan Fessenden JS, 1999. Kimia Organik. Edisi III. Alih bahasa: Pudjaatmaka AH. Jakarta: Penerbit Airlangga. hal 166-190, 311-362.
- Levine RR, 1983. Pharmacology: Drug Action and Reaction. 3rd Edition. United States of America: Litle Brown Company. pp 483-488.
- Mc Murry J, 1984. Organic Chemistry. California: Broke Cole Publishing Company. pp 168-171, 607-609, 678-679, 766-800.
- Mulja M dan Suharman, 1995. Analisis Instrumental. Surabaya: Airlangga University Press. hal 26-71, 114-136.
- Mutschler E, 1991. Dinamika Obat. Edisi 5. Alih bahasa: Widiyanto B dan Mathilda. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press. hal 107-168.
- Reksohadiprojo MS, 1988. Synthesis of Isovalerilurea a Sedative-Hipnotic Compound from Isovaleric Acid. Yogyakarta: Research Report UGM. pp 134, 145-152.
- Stecher PG, 1968. The Merck Index. 8th Edition. New Jersey: Merck & CO., Inc.
- Silverstein RM, Bassler GC, and Morrill TC, 1981. Spectrometric Identification of Organic Compounds, 4th Edition. New York: John Wiley and Sons Inc. pp 95, 181-189, 305.
- Siswandono, 1998. Sintesis Benzoilurea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). Jurnal Biosains Pascasarjana, Volume 5, Nomor 1.
- Siswandono, 1999. Modifikasi Struktur dan Hubungan Struktur-Aktivitas Senyawa-senyawa Baru Turunan Benzoilurea. Surabaya: Disertasi Universitas Airlangga.
- Siswandono dan Soekardjo B, 2000. Kimia Medisinal I. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. hal 7, 256.
- Siswandono dan Soekardjo B, 2000. Kimia Medisinal II. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. hal 201, 225, 234, 242.
- Soedigdo S. dan Soedigdo P, 1977. Pengantar Cara Statistika Kimia. Bandung: Penerbit ITB
- Solomon TWG, 1996. Organic Chemistry. 6th Edition. Canada: John Willey and Sons Inc. p 835.
- Suzana, Budiati T, dan Ekowati J, 2004. Sintesis Senyawa Benzoil Thiourea dan Uji Aktivitas sebagai Penekan Saraf Pusat pada Mencit (*Mus musculus*). Surabaya: Laporan Penelitian Dosen Muda. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Thompson EB, 1990. Drug Bioscreening, Drug Evaluation Techniques in Pharmacology. New York: VCH Publishers Inc. pp 3-11.
- Tjay TH dan Rahardja K, 2002. Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya. Edisi kelima. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. hal 419.
- Turner RA, 1965. Screening Methods in Pharmacology. New York: Academic Press. pp 69-99.