

UJI AKTIVITAS ANALGESIK SENYAWA BARU TURUNAN PARASETAMOL PADA MENCIT (*Mus Musculus*) DENGAN METODE *HOT PLATE*

¹TRI WIDIANDANI*, ¹SISWANDONO, ¹SUKO HARDJONO, ²ISTIFADA, ²RISMA ZAHRA

¹Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

²Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Jl. Darmawangsa Dalam, Surabaya 60286 Indonesia.

*Email : triwidiandani@yahoo.com

ABSTRACT

Paracetamol is analgesic drug that is widely used in Indonesia. A modification of paracetamol structure had been conducted which produced two compounds of paracetamol derivatives, that are 4'-acetamidophenyl-2-chlorobenzoate and 4'-acetamidophenyl-3-chlorobenzoate. These compounds are expected to carry bigger activity compared to paracetamol since they have higher lipofility. The purpose of this research was to determine an analgesic activity of new parasetamol derivatives. The analgesic activity test was administered using hot plate method in $55^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ using mouse as an animal test. Analgesic activity was determined by noting down predrug latency and postdrug latency at the 30th, 60th, 90th, and 120th minutes after the assignment of control supply of CMC-Na 0,5%, paracetamol as a comparison (100 mg/kg BB) and compound test 1 and 2 (100 mg/kg BB) to each mouse group. The result of Maximum Possible Effect produced compound 1 MPE of 29,7% and compound 2 MPE of 37,04%. Based on the statistical analysis of ANOVA test, it can be concluded that the difference of activities is meaningful in the 60th minute after drug supply. An analysis on stability, toxicity, physical, chemical and pharmacological nature of the new compounds derivative of paracetamol is also recommended.

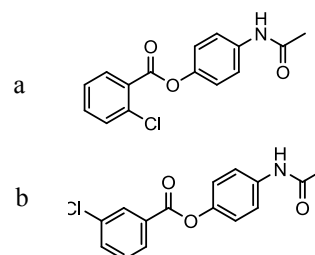
Keywords: paracetamol, analgesic activity, 4'-acetamidophenyl-2-chlorobenzoate and 4'-acetamidophenyl-3-chlorobenzoate, hot plate method

PENDAHULUAN

Parasetamol merupakan senyawa turunan *p*-aminofenol, bekerja menghambat prostaglandin secara lemah pada reseptor siklooksigenase (COX) yaitu COX-1, bersifat selektif terhadap COX-2 pada jaringan sentral dan memiliki efek perifer yang sangat kecil (Furst and Ulrich, 2007). Metabolit toksik parasetamol yaitu N-asetil-p-benzoquinonimie (NAPQI) bersifat reaktif dapat berikatan dengan sel jaringan hati secara *irreversible*. Penggunaan parasetamol dalam dosis besar dan jangka waktu yang lama dapat menimbulkan kerusakan hati (hepatotoksik) (Burke *et al*, 2006).

Modifikasi struktur parasetamol dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang baru dengan aktivitas analgesik yang optimal dan toksisitas yang minimal.

Pada penelitian ini senyawa turunan diuji aktivitas analgesiknya menggunakan metode *hot plate* dengan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan. Data hasil uji aktivitas analgesik parasetamol dan dua senyawa turunan tersebut diolah secara statistik menggunakan uji *one way ANOVA* untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antara aktivitas analgesik senyawa parasetamol dan dua senyawa turunannya.



Gambar 1. Senyawa turunan parasetamol:

- a) 4'-asetamidofenil-2-klorobenzoat
- b) 4'-asetamidofenil-3-klorobenzoat

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Parasetamol ph.g (Brataco), 4-asetamidofenil-3-klorobenzoat, 4-asetamidofenil-2-klorobenzoat, Natrium karboksimetilselulosa ph.g (Interbat), Alkohol 70%.

Hewan Coba

Sebagai hewan coba digunakan mencit (*Mus musculus*) galur BALB C jantan, dewasa berumur 2 – 3 bulan, berat antara 20 – 30 gram sehat, tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuhnya.

Alat Penelitian

Oven Hot Plate-magnetic stirrer, Timbangan mencit AND HL100, Timbangan LIBROR “Direct Reading Micro Balance LM-20”, *Sput injection disposable syringe U-26 Insulin* (Terumo), Stopwatch

Metode Uji Aktivitas Analgesik

Metode uji aktivitas analgesik pada penelitian ini menggunakan metode *hot plate* untuk melihat aktivitas analgesik sentral. Diberikan parasetamol secara intraperitoneal pada mencit dengan dosis 100mg/kg BB sehingga tampak mencit akan mengurangi perilaku menggigit, menggaruk, dan menjilat akibat substansi P atau *N-metil-D-aspartate* (NMDA) (D. Besse, 2000). Suhu dikontrol pada 55-56°C.

Waktu latensi yang diukur adalah interval waktu saat mencit diletakkan diatas *plate* sampai mencit menimbulkan respon mengangkat atau menjilat telapak kaki depan, diukur menggunakan stopwatch pada menit 30, 60, 90 dan 120 menit sebelum dan sesudah perlakuan (Vogel, 2008).

Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu variabel bebas (independen) berupa dosis dan jenis senyawa Serta variabel tergantung (dependen) berupa % hambatan nyeri.

Penentuan % Maximum Possible Effect

Maximum Possible Effect (MPE) merupakan besaran yang digunakan untuk menghitung hambatan nyeri pada uji aktivitas dengan metode *hot plate* dan tail flick. % *Maximum Possible Effect* dihitung dengan rumus berikut (South and Smith, 1998) :

$$\% \text{ MPE} = \frac{(\text{Postdrug latency} - \text{predrug latency})}{(\text{Maximum latency} - \text{predrug latency})} \times 100\%$$

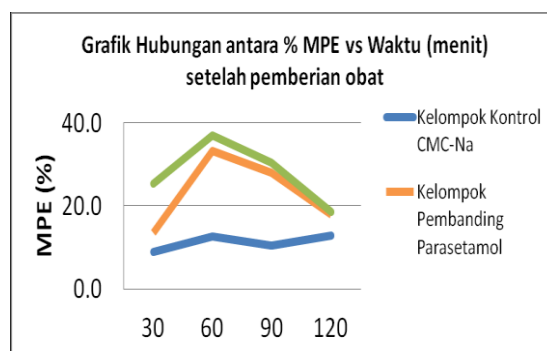
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Aktivitas Analgesik

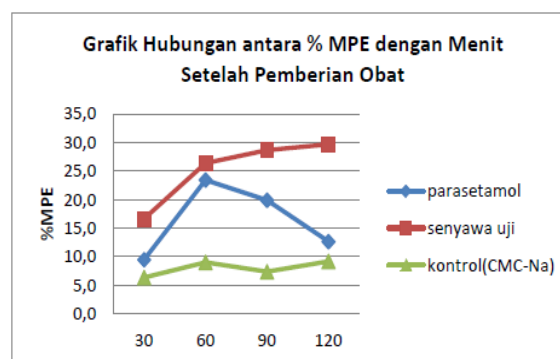
Aktivitas analgesik ditentukan dengan mengamati penurunan respon mencit kelompok senyawa uji 1 dan 2 dibandingkan dengan kelompok kontrol CMC-Na dan kelompok pembanding parasetamol terhadap panas yang diinduksi dengan *hot plate*. Data hasil pengamatan berupa *predrug latency* dan *postdrug latency*, yaitu waktu yang dibutuhkan oleh mencit untuk merespon nyeri yang diakibatkan oleh induksi panas dari *hot plate* sebelum dan sesudah diberikan obat.

Suhu *hot plate* yang digunakan adalah $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$, waktu latensi yang diamati adalah waktu latensi sebelum diberikan sediaan (menit ke-0) atau yang disebut *predrug latency* dan menit ke-30, 60, 90, dan 120 sesudah pemberian senyawa kontrol (CMC-Na 0,5%), pembanding (parasetamol 100 mg/kgBB) dan senyawa (4'-asetamidofenil-2- klorobenzoat dan 4'-asetamidofenil-3- klorobenzoat masing-masing 100 mg/kgBB) atau yang disebut *postdrug latency*. Selanjutnya, *predrug latency* dan *postdrug latency* digunakan untuk menghitung % MPE.

Berikut adalah grafik hubungan % MPE dan waktu setelah pemberian obat seperti yang ditampilkan pada gambar 1 dan 2.



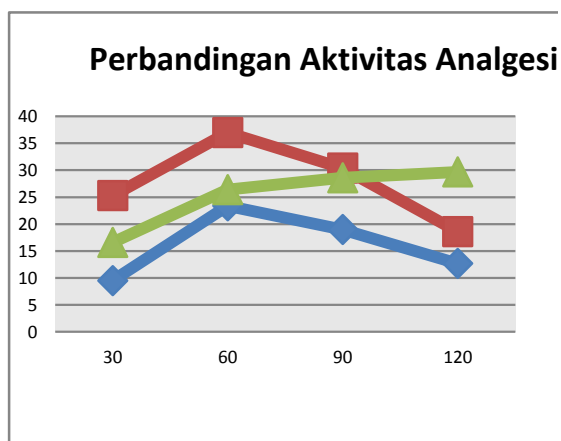
Gambar 2. Grafik hubungan % MPE dan waktu setelah pemberian obat senyawa 1



Gambar 3. Grafik hubungan % MPE dan waktu setelah pemberian obat senyawa 2

Tabel 1. Persentase *Maximum Possible Effect* (% MPE) Rata-Rata Kelompok Pembanding Dan Uji

Kelompok	% Maximum Possible Effect rata-rata menit ke-			
	30	60	90	120
Parasetamol	9,5	23,4	19,9	12,7
Senyawa 1	25,3	37,0	30,4	18,6
Senyawa 2	16,6	26,4	28,6	29,7



Gambar 4. Hubungan Aktivitas Analgesik

Analisis Data menggunakan Uji ANOVA

Analisis data menggunakan uji *oneway* ANOVA ditentukan dengan menggunakan program SPSS 17.0 untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna pada aktivitas analgesik yang ditunjukkan oleh senyawa turunan dengan aktivitas analgesik parasetamol dan kontrol CMC-Na 0,5%.

Uji ANOVA satu arah dilakukan menggunakan data % MPE pada menit ke-30, 60, 90 dan 120 setelah pemberian sediaan untuk melihat apakah ada perbedaan % MPE yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol, pembanding, dan uji pada $\alpha = 0.05$.

Hasil uji statistik ANOVA menunjukkan bahwa pada senyawa 1 diperoleh $F_{\text{hit}} 5.192$ ($F_{\text{hit}} > F_{\text{tabel}} = 3.35$) dan $P 0.012$ ($P < \alpha = 0.05$) pada menit ke 60 setelah pemberian. Hal ini menunjukkan perbedaan yang bermakna % MPE antara kelompok kontrol, pembanding dan kelompok uji.

Pada senyawa 2 diperoleh $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}} = 3,35$ pada menit pada menit ke- 60, 90, dan 120 setelah pemberian. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna % MPE antara kelompok kontrol, pembanding dan kelompok uji.

Berdasarkan uji aktivitas analgesik diketahui bahwa senyawa turunan memiliki aktivitas analgesik yang lebih besar dibanding parasetamol bila dilihat dari kurva % MPE kelompok pembanding dan uji (gambar 4).

Kedua senyawa turunan ini memiliki beberapa kelebihan dibanding parasetamol, antara lain memiliki lipofilitas yang lebih tinggi dibanding parasetamol, sehingga kecepatan menembus membran juga lebih besar. Selain itu, kemungkinan memiliki toksisitas yang lebih rendah dibanding parasetamol, karena tidak

dapat membentuk N-acetyl-p-amino-benzoquinoneimine (NAPQI) seperti parasetamol yang disebabkan karena adanya gugus -OH.

Senyawa 4'-asetamidofenil-3-klorobenzoat memiliki duration of action (DOA) lebih panjang dibanding parasetamol, disebabkan karena gugus -OH yang bersifat mudah dimetabolisme telah terganti dengan ester sehingga menyebabkan efek kerja obat yang lebih lama di dalam tubuh.

Sebagai saran dapat dilakukan analisa stabilitas, toksisitas, sifat fisika kimia dan farmakologi dari senyawa baru turunan parasetamol tersebut.

Ucapan terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Hibah Riset Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dana BOPTN tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Bars, D.L., Gozariu, M., Cadden, S.W. 2001. *Animal Models of Nociception*. **Pharmacol Rev** **53**. pp: 597–652.
- Besse, D., Delchambre, C., Hanoun, N., Hamon, M., Eschaliere, A., Caussade, F., Cloarec, A. 2001. *Acetaminophen Distribution In The Rat Central Nervous System*. **Life Sciences** **69**. pp : 1455–1464.
- Bruzda and Gibula, E. 2010. *Animal Models of Nociceptive Pain*. Annales universitatis mariae curie, sklodowska sect. DDD, vol 23 no 4. pp : 75-81.
- Burke, A., Smyte E., Fitz Gerald G. A., 2006. *Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. In: Brunton, L.L (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*. Ed. 11st. New York: McGraw-Hill. Ch. 26.
- Furst, D.E. and Ulrich, R.W., 2007. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, disease-modifying antirheumatic drugs, nonopioid analgesic & drugs used in gout. In: Katzung, B.G., (Eds). Basic and Clinical Pharmacology*. Ed 10th. New York: McGraw-Hill. pp. 573-599.

- Patrick GL. 2009. *An Introduction to medicinal Chemistry*. 4th Ed, Oxford: Oxford University Press, pp: 237-238.
- Siswandono, Dr., Soekardjo B, Prof. Dr. 2008. *Kimia Medisinal 1* cetakan ke-2. Surabaya : Airlangga University Press hal 10.
- South, S.M and Smith, M.T. 1998. Apparent Insensitivity of the Hotplate Latency Test for Detection of Antinociception Following Intraperitoneal, Intravenous or Intracerebroventricular M6G Administration to Rats. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, Vol. 286, No. 3, pp:1326-1332.
- Vogel, G.H. Eds. 2008. *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p 696.