

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SECARA *IN-VIVO* PADA SENYAWA N-FENIL-P-METOKSISINAMAMIDA

In-Vivo Anti-Inflammatory Activity Of The Compound N-Phenyl-p-Methoxycinnamamide

Erwin Indriyanti, Ariani Hesti Wulan, A. Barry Anggoro*

Program Studi S1 Farmasi, Stifar Yayasan Farmasi Semarang Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo KM 1,
Plamongan Sari

E-mail : barryanggoro@stifar.ac.id

ABSTRACT

Steroid anti-inflammatory drugs have several main side effects such as gastrointestinal irritation and ulceration, while some non-steroidal anti-inflammatory drugs with amine group substitution can increase anti-inflammatory, gastroprotective, and analgesic activity, but that does not mean they have no side effects. Modified cinnamic acid derivatives have several more potent active compounds with minimal side effects. The compound *N*-phenyl *p*-methoxycinnamamide (NPPMC) is a modified compound of *p*-methoxy cinnamic acid (PMCA) through an amidase reaction with phenylamine through a diethylamine catalyst using the intermediate reagent dicyclohexylcarbodiimide (DCC). The sonochemical method is an alternative for green chemistry in the modification of the synthesis of this compound, with several advantages such as being more efficient, easy to perform, high yield, short time, and environmentally friendly. Crystals synthesized from PMCA and NPPMC were tested for melting point, TLC, FTIR, and NMR. The result of NPPMC synthesis yielded % yield of 89.82%, while the NPPMC is 193-195°C. The TLC test has an *R_f* value of 0.9 (NPPMC). The results of the FT-IR overlay of the two compounds showed differences in the typical absorption patterns of the -OH carboxylate group (only in PMCA) and the amide group (NPPMC). NPPMC compounds can have an anti-inflammatory effect in male rats induced by carrageenin with an effective dose of 400 mg/KgBW

Key words: Anti-inflammatory, *In vivo*, *N*-phenyl *p*-methoxy cinnamamide (NPPMC), Sonochemical.

ABSTRAK

Obat antiinflamasi steroid memiliki beberapa efek samping utama seperti iritasi dan ulserasi saluran cerna, sedangkan beberapa obat antiinflamasi nonsteroid dengan substitusi gugus amina dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi, gastroprotektif, dan analgesik, namun bukan berarti tidak memiliki efek samping. Turunan asam sinamat termodifikasi memiliki beberapa senyawa aktif yang lebih kuat dengan efek samping yang minimal. Senyawa *N*-fenil *p*-metoksisinamamida (NFPMS) merupakan senyawa termodifikasi asam *p*-metoksi sinamat (APMS) melalui reaksi amidase dengan fenilamina melalui katalis dietilamina menggunakan pereaksi antara Desikloheksilkarbodiimida (DCC). Metode sonokimia merupakan salah satu alternatif *green chemistry* dalam modifikasi sintesis senyawa ini, dengan beberapa keunggulan seperti lebih efisien, mudah dilakukan, rendemen tinggi, waktu singkat, dan ramah lingkungan. Kristal hasil sintesis NFPMS diuji titik leleh, KLT, FTIR, dan NMR. Hasil sintesis NFPMS menghasilkan % rendemen sebesar 89,82%, sedangkan NFPMS 193-195°C. Uji KLT mempunyai nilai *R_f* sebesar 0,9 (NFPMS). Hasil overlay FT-IR kedua senyawa menunjukkan perbedaan pola serapan khas gugus -OH karboksilat (hanya pada APMS) dan gugus amino (NFPMS). Senyawa NFPMS dapat memberikan efek antiinflamasi pada tikus jantan yang diinduksi karagenin dengan dosis efektif 400 mg/KgBB

Kata kunci : Antiinflamasi, *In-vivo*, *N*-fenil-*p*-metoksinamamida (NFPMS), Sonokimia



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon alami tubuh, dengan cara melepas mediator kimiawi guna proses perbaikan jaringan tubuh yang mengalami cedera ataupun infeksi (Oronsky *et al.*, 2022). Sebagaimana diketahui sebelumnya telah dilakukan sintesis Asam para-metoksisinamamida (APMS) (Indriyanti *et al.*, 2022) untuk memodifikasi obat Antiinflamasi NonSteroid (NSAID) yang telah ada sebelumnya dengan

tujuan mengurangi efek samping terutama aktivitas ulcersinya terhadap lambung (Robb *et al.*, 2020) dimana untuk sintesis APMS dengan menggunakan kondensasi Knoevenagel (Masduqi *et al.*, 2021).

Pengembangan obat antiinflamasi tidak hanya sebatas untuk mengurangi efek sampingnya saja, namun perlu dikembangkan untuk meningkatkan potensi aktivitasnya sebagai antiinflamasi, gastroprotektif, dan efek analgesiknya. Penambahan gugus amina tersubsitusi pada benzena yang direaksikan dengan gugus karboksilat dari struktur para-metoksi sinamat (Guzman, 2014) diharapkan akan memberikan dampak tersebut. Oleh karena itu, desain modifikasi senyawa anti-inflamasi dikembangkan dengan mereaksikan asam karboksilat dengan substitusi gugus amina (Alwash *et al.*, 2018; Nedeljković *et al.*, 2023). Beberapa penelitian menyatakan bahwa pengembangan obat antiinflamasi nonsteroid dengan substitusi gugus amina dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi, gastroprotektif, dan analgesik (Mehta *et al.*, 2010).

Berkaitan dengan hal tersebut, bukan berarti obat NSAID tidak mempunyai efek samping. Efek samping utama yang ditimbulkan oleh penggunaan NSAID adalah iritasi dan ulserasi pada saluran cerna. Oleh karena itu, perlu dikembangkan obat anti inflamasi baru yang lebih potensial dan memiliki efek samping yang minimal (Alam Ripa *et al.*, 2015; Borul & Agarkar, 2014).

Senyawa N-fenil p-metoksisinamamida merupakan senyawa yang disintesis dari APMS yang dimodifikasi melalui reaksi dengan fenilamin melalui katalis dietilamina dengan pereaksi DCC (Dicyclohexylcarbodiimide) (Ernawati, *et al.*, 2017) sebagai pereaksi kopling (Hanhadyanaputri, *et al.*, 2022). Reaksi ini bertujuan untuk mengubah gugus ester menjadi gugus amino dengan penambahan amina primer. Hingga saat ini, belum ada penelitian mengenai aktivitas biologis N-fenil-p-metoksisinamamida dan penggunaannya sebagai obat belum banyak diketahui. Namun dari struktur kimianya yang tidak banyak berubah, N-fenil-p-metoksisinamamida diperkirakan mempunyai aktivitas yang hampir sama dengan turunan lainnya.

Beberapa metode yang digunakan untuk mensintesis senyawa ini antara lain refluks (Borul & Agarkar, 2014), iradiasi gelombang mikro. Sintesis dengan metode ini memerlukan waktu reaksi yang lama dan suhu yang tinggi serta memerlukan tekanan yang tinggi. Telah dilakukan sintesis turunan sinamamida dengan metode refluks dengan waktu refluks 6 -10 jam (Nurmeilis *et al.*, 2016). Sintesis N-fenil p-metoksisinamamida dengan metode iradiasi gelombang mikro dengan daya 600 watt (Indriyanti *et al.*, 2022). Lamanya waktu, suhu, dan tekanan yang tinggi menjadi kelemahan metode konvensional, sehingga perlu adanya metode alternatif dalam sintesis sinamamida dan turunannya yang dapat mengatasi kekurangan metode konvensional yaitu metode sonokimia (Babu *et al.*, 2013) (Patel, *et al.*, 2014).

Penggunaan metode sonokimia telah menjadi salah satu alternatif penggunaan *green chemistry* pada abad ini, hal ini dikarenakan metode ini sangat mudah dilakukan, efisien, rendemen yang tinggi, waktu yang singkat, dan ramah lingkungan (Babu *et al.*, 2013), serta dapat mencegah penggunaan metode sonokimia. pelarut yang mudah menguap dan beracun dengan menggunakan bahan kimia yang tidak berbahaya. Metode ini sangat penting dalam sintesis senyawa organik dan industri farmasi. Metode sonokimia dapat digunakan dalam berbagai reaksi kimia, antara lain amida (Sharma *et al.*, 2017), ester (Gawas & Rathod, 2020), kondensasi aldol (Suma *et al.*, 2019), reaksi perkin, kondensasi Knoevenagel (Indriyanti *et al.*, 2022). Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini bertujuan untuk mensintesis N-fenil p-metoksisinamamida dengan bantuan gelombang ultrasonik dan mengetahui aktivitas antiinflamasi senyawa N-fenil p-metoksisinamamida secara *in vivo* pada perlakuan normal, positif, dan negatif. kelompok, dengan variasi dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB dengan metode musim dingin (induksi karagenin) masing-masing kelompok berisi 5 ekor tikus.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Stifar Yayasan Pharmasi Semarang pada bulan Mei 2024

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah APMS (asam p-metoksisinamat) NaHCO₃ (pa, Merck), aquadest, asam klorida (pa, Merck), dietil eter (pa, Merck), etanol (pa), anilin, dietilamina, DCC (*dicyclohexylcarbodiimide*), kloroform, Karagenin, dan Natrium diklofenak.

Reaktor untuk sintesis menggunakan Branson Ultrasonic Bath seri CPX1800H 40 KHz. Evaporator, alat titik leleh. Spektrum inframerah diukur menggunakan ATR-FTIR menggunakan Teknologi Agilent carry 630 di Sekolah Tinggi Farmasi Semarang, 1H-NMR, 13C-NMR, pengujian dilakukan di Institut Teknologi Bandung dengan 1H-NMR (Agilent Technology; 500MHz); 13C-NMR (Teknologi Agilent; 125MHz).

Sintesis N-fenil-p-metoksi sinamida (NFPMS)

Sintesis N-fenil p-metoksisinamamida dilakukan berdasarkan metode penelitian (Wulandari, 2005) yang dimodifikasi dengan metode penelitian (Widyatmoko, 2005). Sebanyak 3 mmol DCC dilarutkan dalam 4 mL kloroform hingga larut (larutan I) dan didinginkan pada suhu 0°C. Sebanyak 3 mmol APMS, 3 mmol anilin, dan 3 mmol dietilamina dilarutkan dalam 4 mL kloroform (larutan II). Kemudian larutan I ditambahkan ke larutan II secara perlahan sambil disonikasi pada suhu 0°C dan campuran disonikasi selama 4 jam. Setelah sonikasi, campuran dibiarkan di lemari es semalaman. Campuran diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya. Endapan putih yang terbentuk disaring menggunakan corong Buchner dan dicuci dengan aquades dingin lalu dicuci kembali dengan etanol. Kristal yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C.

Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

Endapan yang diperoleh diuji titik lelehnya menggunakan alat titik leleh dan dipantau dengan KLT menggunakan eluen kloroform dan aseton (10:1). Struktur hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan FT-IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR

Aktivitas Anti-Inflamasi Secara *In-Vivo*

Uji aktivitas anti inflamasi menggunakan 20 ekor tikus yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (kelompok yang diinduksi karagenin), kelompok kontrol positif (kelompok diklofenak Na), dan kelompok uji (NFPMS dosis 200 mg/ KgBB dan NPPMC dosis 400 mg/KgBB). Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Sebelum diberi perlakuan, seluruh tikus dipuasakan selama 10-12 jam. Masing-masing hewan ditimbang dan diberi tanda pada kaki kanannya, kemudian kaki kanan tikus dimasukkan ke dalam alat pengukur volume edema dan dicatat volume awal (V₀) kaki tikus. Selanjutnya hewan uji diberi larutan uji dengan volume 1-2 mL. Setelah satu jam, setiap kaki tikus disuntik secara subkutan dengan larutan lambda karagenan 1% (b/v). Setelah 30 menit, volume cairan yang terjadi dicatat sebagai volume telapak kaki tikus (V_t). Pengukuran dilakukan setiap 60 menit selama 360 menit. Volume peradangan merupakan selisih volume telapak kaki tikus setelah dan sebelum penyuntikan karagenan.

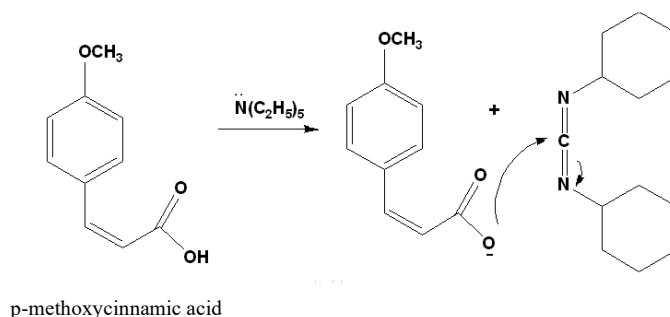
Pengolahan Data dan Analisis Data

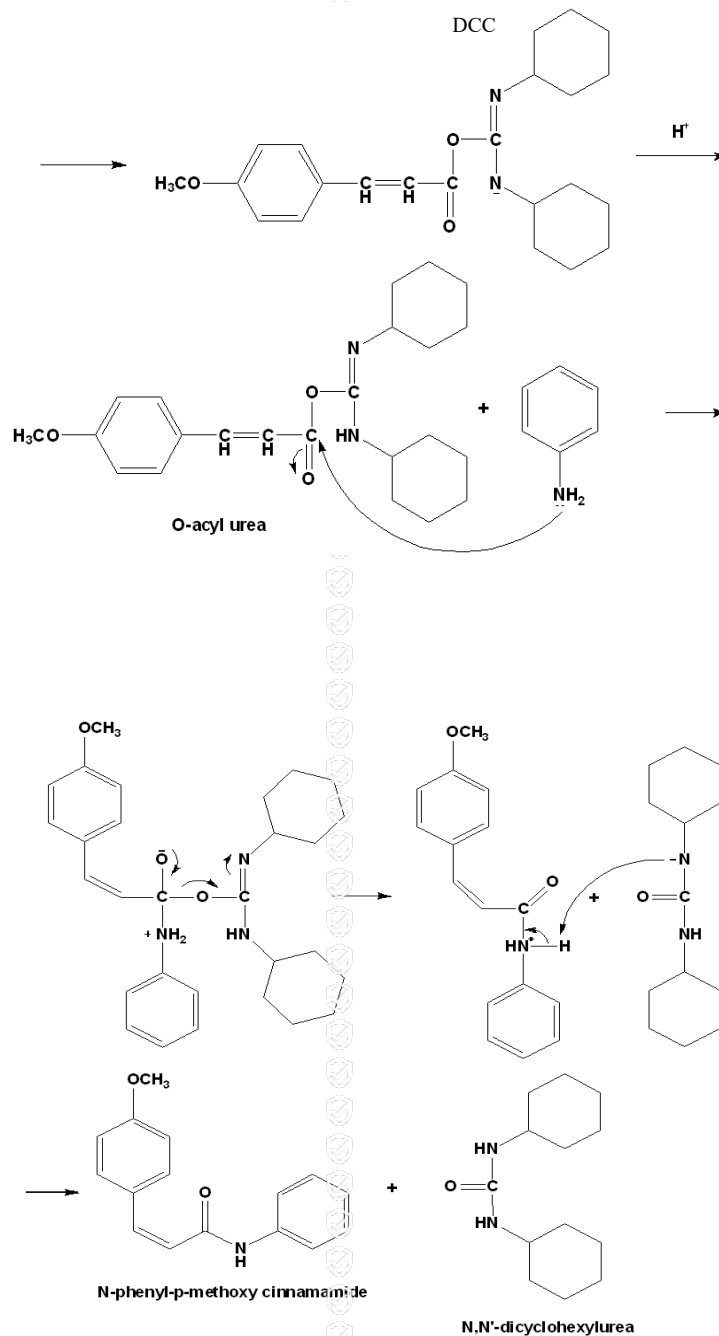
Data penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *one way* ANOVA menggunakan program SPSS, dengan hipotesis statistik sebagai berikut p-value < 0,05 sehingga H₀ ditolak dan H₁ diterima. H₀ : tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai persentase penghambatan inflamasi minimum 1 pasang kelompok uji per satuan waktu. H₁: terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai persentase penghambatan peradangan, minimal 1 pasang kelompok uji per satuan waktu.

HASIL

Sintesis NFPMS ini menggunakan bahan dasar APMS yang disintesis di Laboratorium Kimia Farmasi Stifar Yayasan Pharmasi Semarang, dimana dalam penelitian ini sintesis dilakukan dengan mereaksikan asam p-metoksisinamat dan anilin.

Mekanisme terbentuknya N-fenil-p-metoksi sinamida dapat dilihat pada Gambar 1.



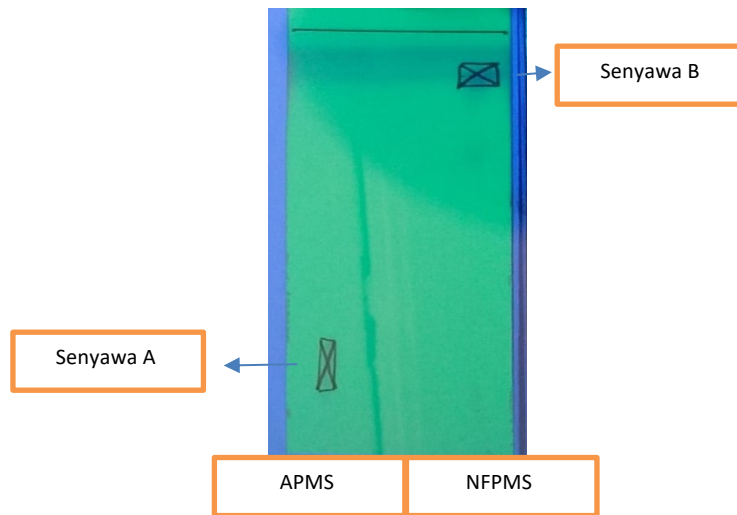


Gambar 1. Mekanisme Reaksi NFPMS

Sintesis ini menghasilkan % rendemen sebesar 89,82%. Hasil uji organoleptik senyawa n fenil p-metoksisinamamida berupa kristal halus, berwarna putih dan tidak berbau. Uji titik leleh menunjukkan bahwa senyawa N-fenil-p-metoksisinamida mempunyai titik leleh 192^oC-195^oC.

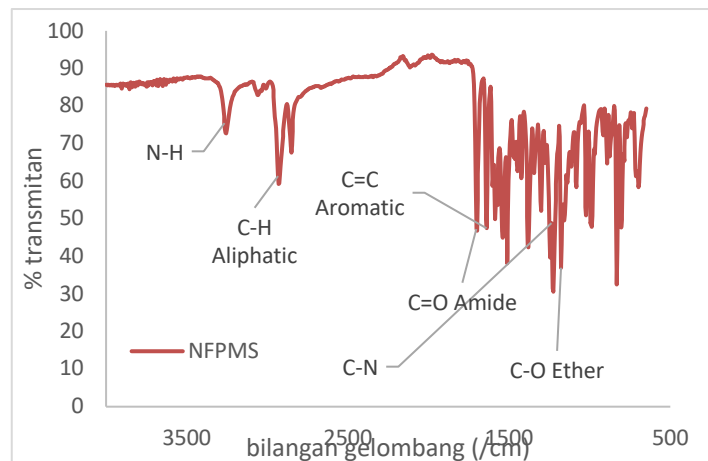
Pengamatan senyawa hasil sintesis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₀ dan menggunakan fase gerak berupa campuran eluen kloroform : aseton (10:1). KLT merupakan identifikasi awal untuk mendeteksi hasil sintesis dibandingkan baku atau bahan awal yang akan disintesis. Bahan yang ditotolkan pada lempeng kromatografi berupa senyawa APMS dan NFPMS. Pemisahan akan terjadi seiring afinitas senyawa terhadap fase gerak dan fase diamnya dengan hasil berupa noda totolan yang dilihat pada sinar uv dengan panjang gelombang 256nm. Noda yang tidak berekor dan jelas merupakan hasil yang dikehendaki, sehingga dapat dihitung harga/nilai dari faktor retensinya (Rf).

Gambar 2 dibawah, memperlihatkan noda nilai Rf, didapatkan hasil nilai Rf senyawa APMS sebesar 0,225 dan senyawa NFPMS sebesar 0,9. Perbedaan harga Rf dari kedua senyawa, membuktikan senyawa hasil sintesis telah terbentuk.

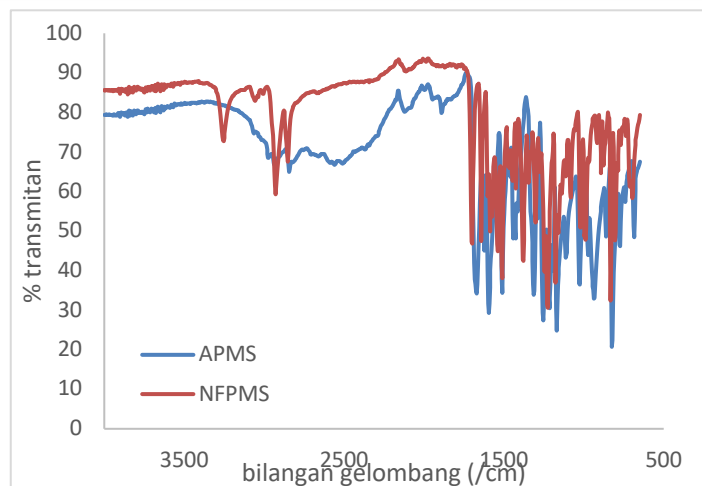


Gambar 2. Hasil KLT Senyawa APMS dan NFPMS

Berdasarkan Gambar 3, spektrum ATR-FTIR senyawa NFPMS menunjukkan beberapa serapan yang menunjukkan gugus fungsi tertentu pada senyawa NFPMS, sedangkan gambar 4. Menunjukkan overlay senyawa APMS dan NFPMS

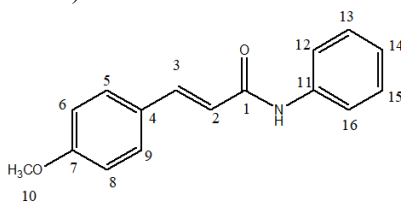


Gambar 3. Spektrum FT-IR NFPMS



Gambar 4. Overlay FT-IR APMS dan NFPMS

Gambar 5. Merupakan struktur dari NFPMS, dari struktur ini dapat memperjelas gugus-gugus yang nantinya dianalisis menggunakan alat FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dari senyawa sebelum (APMS) dan sesudah disintesis (NFPMS).



Gambar 5. Struktur NFPMS

Analisis dengan Spektrofotometer NMR senyawa NFPMS dilakukan dengan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ diukur menggunakan pelarut CDCl_3 dengan frekuensi 500 MHz. Hasil spektrum pada tabel 1.

Tabel 1. Data dari $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ NFPMS

Posisi C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) (ΣH , multiplisitas, J (Hz))
1	167,47	-
2	117,11	6,61 (1H, d, 15)
3	143,44	7,64 (1H, d, 15) trans thd C2
4, 5, 9, 13, 15	129,73	7,42 (2H, d, 8,8) posisi ortho
7	161,37	-
6 dan 8	114,48	6,87 (2H, d, 8,75) posisi ortho
10	55,50	3,76 (3H, s)
12 dan 16	114,48	-
14	127,60	-
11	154,35	-

Pada hasil uji aktivitas antiinflamasi senyawa NFPMS data yang diamati adalah persentase volume edema, nilai Area Under Curve (AUC) yang menggambarkan besarnya edema dan persentase daya antiinflamasi (%DAI). Hasil observasi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata % Volume Edema, Total AUC and % DAI

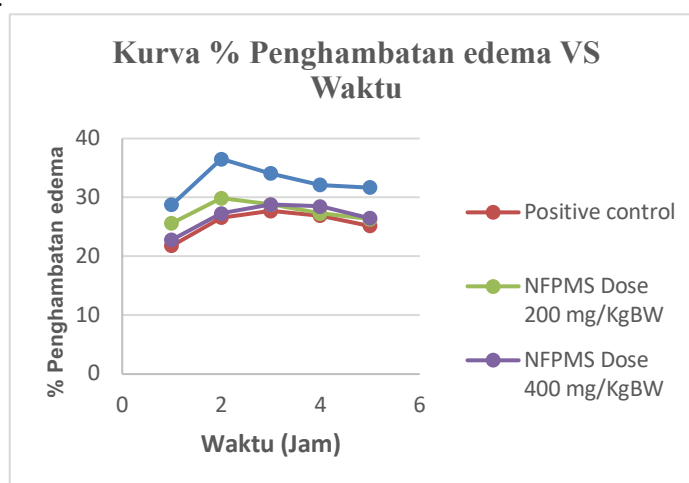
GROUP	AUC	AUC	AUC	AUC	AUC	TOTAL AUC	% DAI
	60	120	180	240	360		
Kontrol negatif	28,74	36,54	34,08	32,10	31,68	815,7±3,1 ^b	0
Kontrol positif	21,78	26,58	27,72	26,88	25,14	128,1±8.8 ^a	58,2±0.36
Dosis NFPMS 200 mg/KgBW	25,62	29,88	28,80	27,30	26,28	137,88±13.1 ^a	83,1±0.02
Dosis NFPMS 400 mg/KgBW	22,80	27,30	28,80	28,50	26,46	133,86±16.3 ^a	83,6±0.02

Keterangan :

a: (p<0.05) kontrol negatif

b: (p>0.05) kontrol positif

%DAI/%penghambatan edema terhadap waktu pada kelompok perlakuan dan kontrol juga ditampilkan dalam grafik pada gambar 6 dibawah, agar lebih terlihat perbedaan antara dua kelompok yang dibandingkan. Kelompok perlakuan ditampilkan senyawa NFPMS dalam dua dosis yang berbeda yaitu 200 dan 400 mg/KgBW.



Gambar 6. Kurva % Penghambatan Edema VS Waktu Terhadap Kelompok Perlakuan dan Kontrol

PEMBAHASAN

Sintesis NFPMS menggunakan bahan dasar asam p-metoksisinamat (APMS) dan anilin. Cara ini menggunakan gugus pengaktif untuk merangsang reaksi, seperti disikloheksilkarbodiimida (DCC). Penggunaan DCC sebagai pereaksi perantara karena DCC bereaksi dengan senyawa asam p-metoksisinamat dan membentuk senyawa antara yang kemudian bereaksi dengan anilin membentuk N-fenil p-metoksisinamamida. Bantuan gelombang ultrasonik pada sonikator digunakan dalam sintesis senyawa NFPMS. Penggunaan iradiasi ultrasonik menghasilkan laju reaksi yang lebih cepat, konservasi energi dan meminimalkan limbah dibandingkan dengan metode konvensional.

Sintesis ini dilakukan pada suhu 0°C selama 4 jam. Reaksi ini dilakukan pada suhu 0°C untuk mengurangi reaktivitas. Bahan yang digunakan dalam sintesis ini dilarutkan dalam kloroform dan ditambahkan dietilamina sebagai katalis basa lemah. Penambahan katalis ini dimaksudkan untuk mempercepat reaksi dan memberikan suasana basa pada reaksi, karena reaksi hanya dapat terjadi pada lingkungan basa. Mekanisme terbentuknya N-fenil-p-metoksi sinamida dapat dilihat pada gambar 1 yang telah tertera pada reaksi hasil sintesis pada bab pembahasan hasil. Sintesis ini menghasilkan % rendemen sebesar 89,82%.

Hasil uji organoleptik senyawa N-fenil p-metoksisinamamida berupa kristal halus, berwarna putih dan tidak berbau. Uji titik leleh menunjukkan 192°C-195°C, lebih tinggi dibandingkan dengan asam p-metoksi sinamat (titik leleh 173,5°C-175,4°C) senyawa awal, sehingga diduga telah terbentuk senyawa hasil sintesis senyawa NFPMS. Pengamatan selanjutnya, senyawa hasil sintesis dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan campuran kloroform : aseton (10:1)

Berdasarkan gambar 2 hasil kromatografi, terlihat terdapat perbedaan nilai Rf, nilai Rf senyawa

APMS sebesar 0,225 dan senyawa NFPMS sebesar 0,9. Nilai Rf senyawa NFPMS lebih tinggi dibandingkan senyawa PMCA. Hal ini disebabkan karena senyawa NFPMS lebih bersifat non polar sehingga tidak terikat pada fasa diam silika gel yang bersifat polar dan mudah terelusi dengan eluen serta menghasilkan nilai Rf yang tinggi. Sedangkan senyawa APMS lebih polar sehingga terikat pada fasa diam dan sulit dielusi dengan eluen sehingga menghasilkan nilai Rf yang lebih kecil. Berdasarkan nilai Rf menunjukkan bahwa senyawa NFPMS lebih bersifat non-polar dibandingkan bahan awal.

Berdasarkan Gambar 3, spektrum ATR-FTIR senyawa NFPMS menunjukkan beberapa serapan yang menunjukkan gugus fungsi tertentu pada senyawa NFPMS. Adanya gugus fungsi C-H alifatik (2932 cm^{-1}). Ikatan C=C aromatik (1640 cm^{-1}). Gugus C-O eter dapat (1117 cm^{-1}), hasil ini berada pada kisaran daerah serapan ulur C-O eter yaitu $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. Adanya gugus N-H sekunder (3261 cm^{-1}), untuk gugus C-N (1226 cm^{-1}). Gugus Amida C=O (1703 cm^{-1}). Substitusi gugus aromatik pada posisi para ditandai dengan munculnya puncak pada bilangan gelombang 831 cm^{-1} . Kisaran serapan substitusi gugus aromatik pada posisi para adalah $800\text{-}860\text{ cm}^{-1}$.

Berdasarkan overlay spektrum (Gambar 4) antara produk hasil sintesis dengan prekursornya, terlihat bahwa produk hasil sintesis menunjukkan profil spektrum yang sedikit berbeda dengan prekursornya. Senyawa yang disintesis NFPMS tidak menunjukkan adanya gugus -OH karboksilat pada bilangan gelombang $3400\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$, namun sudah terdapat gugus baru yaitu gugus Amida. asam amino dari anilin.

Analisis dengan Spektrofotometer NMR senyawa NFPMS dilakukan dengan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ diukur menggunakan pelarut CDCl_3 dengan frekuensi 500 MHz. Hasil spektrum pada tabel 1, $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan adanya serapan proton pada senyawa aromatik dari gugus sinamat dan amina aromatik pada pergeseran kimia 6,5-7,6 ppm. Pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ pada 6,61 ppm (1H, d, J=15) menunjukkan H pada C2, 7,64 ppm (1H, d, J=15) menunjukkan posisi trans terhadap C2, pergeseran kimia pada wilayah 7,42 ppm (2H, d) menunjukkan posisi H pada C4, C5, C9, C13 dan C15 yang merupakan posisi orto satu sama lain yang dibuktikan dengan konstanta kopling sebesar 8.8. Pergeseran kimia pada daerah 6,87 ppm (2H,d) menunjukkan H pada C6 dan C8 berada pada posisi orto yang dibuktikan dengan nilai konstanta Kopling sebesar 8,75. Gugus metoksi ditunjukkan dengan adanya puncak singlet pada pergeseran kimia pada daerah 3,76 ppm (3H,s) pada posisi C10. Sedangkan puncak gugus Amida (NH) tidak ditemukan karena pergeseran kimianya besar dan terkadang tidak terlihat.

Namun, dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$, puncak pergeseran kimia lainnya ditemukan di wilayah 1-2 ppm. Kemungkinan besar disebabkan oleh adanya pengotor yang sebelumnya tidak terdeteksi. Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan beberapa spektrum yang menunjukkan adanya gugus metoksi CH_3O pada C10 pada pergeseran kimia 55,50 ppm, pergeseran kimia pada C6 dan C8 pada daerah 114,48 ppm menunjukkan adanya atom C yang terikat pada gugus metoksi. pergeseran kimia pada daerah 167,47 ppm menunjukkan adanya gugus karbonil C=O (C1) yang terikat pada amino. Pergeseran kimia C4, C5, C9, C11, C12, C13, C14, C16 pada wilayah 129,73; 114,48; 127,60; 154,35 ppm mewakili atom karbon dalam cincin aromatik.

Strategi penelitian di bidang farmasi adalah merancang kandidat obat baru dengan sifat terapeutik yang lebih baik. Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) merupakan obat pilihan pertama dalam penatalaksanaan nyeri. Semua NSAID, apapun struktur kimianya, menghambat enzim COX dan produksi prostaglandin $_4$. Proses inflamasi dimulai dari suatu rangsangan yang akan menyebabkan kerusakan sel, sebagai reaksi terhadap kerusakan sel, sel tersebut akan melepaskan beberapa fosfolipid termasuk asam arakidonat. Setelah asam arakidonat bebas, maka akan diaktifkan oleh beberapa enzim, antara lain siklooksigenase dan lipoksigenase. Enzim ini mengubah asam arakidonat menjadi bentuk tidak stabil (hidroperoksida dan endoperoksida) yang selanjutnya dimetabolisme menjadi leukotrien, prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan. Prostaglandin dan leukotrien bertanggung jawab atas gejala peradangan.

Uji antiinflamasi senyawa NFPMS pada penelitian ini dilakukan secara *in vivo*, dengan metode pengukuran edema kaki tikus yang diinduksi karagenin. Penggunaan metode ini didasarkan pada pengobatan yang sederhana, mudah dilakukan, dan lebih aman karena karagenin dapat merangsang terjadinya edema tanpa menimbulkan luka atau kerusakan jaringan pada telapak kaki tikus 1,27. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan strain Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 200-250 gram. Pembentukan edema dimulai 1 jam setelah pemberian karagenin dan pembentukan edema maksimal terjadi 3 jam setelah pemberian karagenin. Data yang diamati adalah persentase volume edema, nilai Area Under Curve (AUC) yang menggambarkan besarnya edema dan persentase daya antiinflamasi (%DAI). Hasil observasi dapat dilihat pada tabel 1 hasil penelitian.

Berdasarkan tabel 2 dan gambar 5, puncak terjadinya edema akibat induksi karagenin adalah pada menit ke 120. Selanjutnya pemberian senyawa NPPMC dengan dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan natrium diklofenak menunjukkan persentase penurunan edema. peradangan. Hal ini menunjukkan bahwa

senyawa NFPMS dapat menurunkan volume edema atau dapat digunakan sebagai anti inflamasi. Jika dibandingkan dengan kontrol negatif (induksi karagenin) mengalami peningkatan.

Volume edema digunakan untuk menghitung nilai AUC untuk mengukur besarnya respon inflamasi yang ditimbulkan. Total AUC pada kelompok kontrol bernilai positif (128,1±8,8) sedangkan pada kelompok NFPMS dosis 200 mg/Kg menunjukkan nilai (137,88±13,1), pada kelompok NPPMC dosis 400 mg/Kg menunjukkan nilai (133,86±16,3) dan pada kelompok negatif dengan nilai (815,7±3,1) berdasarkan hasil SPSS dengan signifikansi nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan makna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan Gambar 11 menunjukkan bahwa total AUC pada kelompok perlakuan kelompok NPPMC dengan dosis 400 mg/Kg mendekati kontrol positif yaitu natrium diklofenak yang berarti berpotensi memberikan efek inflamasi atau volume edemanya kecil. Sedangkan kelompok kontrol negatif yang diberikan induksi karagenin dan kelompok NFPMS dengan dosis 200 mg/Kg memberikan nilai tertinggi artinya berpotensi menimbulkan efek inflamasi atau edema besar.

Senyawa NFPMS mempunyai efek % penghambatan edema seperti terlihat dalam gambar 6, hal ini menunjukkan bahwa senyawa NFPMS mempunyai efek antiinflamasi. Hasil % DAI pada kelompok kontrol positif (58,2±0,36), kelompok NFPMS dosis 200 mg/Kg (83,1±0,02) dan dosis 400mg/Kg (83,6±0,02). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok uji. baik kontrol positif maupun senyawa NFPMS, artinya kelompok dosis terkecil sekalipun memiliki efek antiinflamasi.

Senyawa NFPMS dapat digunakan sebagai anti inflamasi karena mempunyai cincin fenil dan urea yang dihubungkan oleh olefin. Modifikasi pada tiga region sinamamida (fenil, linker, dan amida) yang mempunyai aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, analgesik, dan antidepresan. Adanya gugus fungsi metoksi pada senyawa sinamamida dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium diklofenak, pada klasifikasi penghambatan COX termasuk kelompok penghambat COX-2 preferensial. Penyerapan obat ini melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Ini adalah 99% terikat pada protein plasma dan memiliki efek metabolisme lintas pertama sebesar 40-50%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa N-fenil p-metoksisinamamida dapat disintesis dari asam p-metoksisinamat dan anilin dengan katalis dietilamina dan menggunakan pereaksi DCC (*dicyclohexylcarbodiimide*) dengan gelombang ultrasonik dalam waktu 4 jam. dan % rendemen sebesar 89,82%. Sonokimia memberikan hasil yang baik dalam waktu reaksi yang singkat untuk sintesis N-fenil-p-metoksisinamamida. Dosis terbaik berdasarkan total AUC dalam menurunkan efek inflamasi adalah kelompok kontrol positif (128,1±8,8) dan NFPMS dosis 400mg/KgBB (133,86±16,3).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian dengan metode sintesis selain menggunakan metode sonokimia dengan konsentrasi/dosis sampel yang lebih bervariasi sehingga dapat diketahui kekuatan aktivitas antiinflamasinya dengan lebih jelas

UCAPAN TERIMA KASIH

Direktorat Jenderal Penguatan Penelitian dan Pengembangan Kemenristekdikti yang telah memberikan fasilitas pendanaan Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) dengan perjanjian kontrak nomor: 067/E4.1/AK.04.PT/2021. Selanjutnya saya mengucapkan terima kasih kepada Stifar Yayasan Farmasi Semarang atas bantuannya dalam pembuatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam Ripa, F., Ranjan Dash, P., & Omar Faruk, M. (2015). CNS depressant, analgesic and anti-inflammatory activities of methanolic seed extract of *Calamus rotang* Linn. fruits in rat. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(5), 121–125.
- Alwash, A. H., Mahdi, A. M., & Al-Karagully, H. J. (2018). Synthesis, characterization, and antimicrobial evaluation of new n-phenylcinnamamide derivatives linked to aspirin and ibuprofen. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10), 443–446. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i10.26937>
- 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.
- Borul, S. B., & Agarkar, S. V. (2014). Synthesis and Characterization of Novel Cinnamamide Derivatives



- and Their Antimicrobial Activities. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 7(12), 52–55. <https://doi.org/10.9790/5736-071215255>
- Ernawati, T., Nurhalimah, N., & Minarti, M. (2017). Sintesis N-Oktilsinamamid dan Aktivitasnya terhadap Sitotoksik Sel Kanker Leukemia P388. *Jurnal Kimia VALENSI*, 3(November), 127–133. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.5843>
- Gawas, S. D., & Rathod, V. K. (2020). Ultrasound assisted green synthesis of 2-ethylhexyl stearate: A cosmetic bio-lubricant. *Journal of Oleo Science*, 69(9), 1043–1049. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19322>
- Guzman, J. D. (2014). Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. In *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules191219292>
- Hanhadyanaputri, E. S., Purwaningsih, Y., & Indriyanti, E. (2022). Variasi Konsentrasi Asam Borat pada Reaksi Amidasi Asam Sinamat dan Potensinya Sebagai Antikolesterol. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(1), 23. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i1.37492>
- Indriyanti, E., Suryaning P, M., Purwaningsih, Y., & Sulistiyanto, F. X. (2022). Temperature Optimization Against P-Methoxycinnamic Acid Synthesis Through Ultrasonic Wave-Assisted Knoevenagel Condensation. *Jurnal Kimia*, 16(1), 101. <https://doi.org/10.24843/jchem.2022.v16.i01.p13>
- Masduqi, A. F., Indriyanti, E., & Dinurrosifa, R. S. (2021). Antibacterial Activity Testing on APMS (p-Methoxy Cinnamic Acid) Against Escherichia coli Bacteria. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 155. <https://doi.org/10.35799/jis.v21i2.35684>
- 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.
- Nedeljković, N., Dobričić, V., Bošković, J., Vesović, M., Bradić, J., Anđić, M., Kočović, A., Jeremić, N., Novaković, J., Jakovljević, V., Vujić, Z., & Nikolić, M. (2023). Synthesis and Investigation of Anti-Inflammatory Activity of New Thiourea Derivatives of Naproxen. *Pharmaceuticals*, 16(5). <https://doi.org/10.3390/ph16050666>
- Nurmeilis, Azrifitria, & Fitriani, N. (2016). Pengujian Senyawa Etil p-Metoksi Sinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (*Kampferia galanga*) Dan Derivat Amidasinya Sebagai Obat Penenang (Sedativ-Hipnotik). *Ilmiah*, 14–15.
- Oronsky, B., Caroen, S., & Reid, T. (2022). What Exactly Is Inflammation (and What Is It Not?). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14905. <https://doi.org/10.3390/ijms232314905>
- 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.
- Robb, C. T., Goepf, M., Rossi, A. G., & Yao, C. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and COVID-19. *British Journal of Pharmacology*, 177(21), 4899–4920. <https://doi.org/10.1111/bph.15206>
- Sharma, N., Kumari, P., Sharma, P., Bhagat, N., & Bhagat, S. (2017). Ultrasound-Accelerated Amide Coupling Reactions Directed toward the Synthesis of 1-Acetyl-3-carboxamide-β-carboline Derivatives of Biological Importance. *SynOpen*, 1(1), 8–10. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588167>
- Suma, A. A. T., Wahyuningsih, T. D., & Mustofa. (2019). Efficient synthesis of chloro chalcones under ultrasound irradiation, their anticancer activities and molecular docking studies. *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(2), 502–510. <https://doi.org/10.31788/RJC.2019.1225020>
- Widyatmoko, T. (2005). Sintesis N,N-Dimetil-p-Metoksisinamida dari Asam p-Metoksisinamat Melalui Senyawa Antara-p-Metoksisinamoil Klorida. *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Wulandari, I. (2005). Sintesis N-fenil-p-metoksisinamida dari asam p-metoksisinamat. *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.