

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA (1)-*N*-(*n*-BUTIL)- DAN (1)-*N*-(*t*-BUTIL)-1,10-FENANTROLINIUM SEBAGAI SENYAWA POTENSIAL ANTIMALARIA BARU

Ruslin Hadanu¹, Sabirin Mastjeh², Jumina², Mustafa³, Eti Nurwening Sholikhah³, Mahardika Agus Wijayanti⁴

¹Department of Chemistry, FKIP, Pattimura University, Poka-Ambon
ruslin_hadanu@yahoo.com; Hp. 085796915252/085228447288.

²Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Gadjah Mada University, Sekip Utara, Yogyakarta.

³Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Sekip Utara, Yogyakarta

⁴Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Sekip Utara, Yogyakarta

Diterima 5 Oktober 2010/Disetujui 5 Nopember 2010

Abstract

The synthesis of (1)-*N*-(*n*-butyl)- dan (1)-*N*-(*t*-butyl)-1,10-phenanthroline monohydrate as starting material through two steps has been carried out. The first step of reaction is chlorination and bromination of *n*-butyl-alcohol/*t*-butyl alcohol using HCl and HBr, respectively. The result of reaction is *n*-butyl bromide **2** (colourless liquid, 70.92%) and *t*-butyl chloride **4** (colourless liquid, 92.36%), respectively. The second step of reaction is alkylation of 1,10-phenanthroline **5** using *n*-butyl bromide and *t*-butyl chloride reagents that it was refluxed for 21 and 23 h, respectively. The results of reaction are (1)-*N*-(*n*-butyl)-1,10-phenanthroline bromide **6** and (1)-*n*-(*t*-butyl)-1,10-fenanthroline chloride **7** in yield from 84.70% and 78.16%, respectively. The results of testing in *in vitro* antiplasmodial activity at chloroquine-resistant *P. falciparum* FCR3 strain to (1)-*N*-(*n*-butyl)- and (1)-*N*-(*t*-butyl)-1,10-phenanthroline bromide **6** has higher antimalarial activity (IC₅₀ : 0.03±0.01 μM) than antimalarial activity of (1)-*n*-(*t*-butyl)-1,10-phenanthroline chloride **7** (IC₅₀ : 2.09±0.08 μM). While, the results of testing in *in vitro* antiplasmodial activity at chloroquine-resistant *P. falciparum* D10 strain to (1)-*N*-(*n*-butyl)- and (1)-*N*-(*t*-butyl)-1,10-fenanthroline bromide **6** has higher antimalarial activity (IC₅₀ : 1.40±0.82 μM) than antimalarial activity of (1)-*n*-(*t*-butyl)-1,10-phenanthroline chloride **7** (IC₅₀ : 2.24±0.05 μM).

Keywords: 1,10-phenanthroline, alkylation, antiplasmodial, antimalarial activity.

Abstrak

Telah dilakukan sintesis dan uji aktivitas senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolin dari bahan dasar 1,10-fenantrolin monohidrat melalui 2 tahap reaksi. Tahap pertama adalah reaksi bromasi dan klorinasi terhadap senyawa *n*-butil-alkohol **1** dan *t*-butil alkohol **3** menggunakan berturut-turut reagen HBr dan HCl. Hasil reaksi diperoleh senyawa berturut-turut *n*-butil bromida **2** (cairan putih, 70,92%) dan *t*-butil klorida **4** (cairan putih, 92,36%). Tahap kedua adalah alkilasi terhadap senyawa 1,10-fenantrolin **5** menggunakan reagen

n-butil bromida, dan *t*-butil klorida yang berturut-turut direfluks selama 21 dan 23 jam. Hasil reaksi diperoleh senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida **6** dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida **7** berturut-turut mempunyai rendemen sebesar 84,70% dan 78,16%. Hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada strain FCR3 resisten klorokuin terhadap senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium diperoleh bahwa senyawa **6** mempunyai aktivitas antimalaria (IC_{50} : $0,03 \pm 0,01$ μ M) yang paling tinggi, jika dibandingkan dengan aktivitas antimalaria senyawa **7** (IC_{50} : $2,09 \pm 0,08$ μ M). Sedangkan, hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada strain D10 sensitif klorokuin terhadap senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium diperoleh hasil bahwa senyawa **6** mempunyai aktivitas antimalaria (IC_{50} : $1,40 \pm 0,82$ μ M) yang paling tinggi, jika dibandingkan dengan aktivitas antimalaria senyawa **7** (IC_{50} : $2,24 \pm 0,05$ μ M).

Kata kunci: 1,10-fenantrolin, alkilasi, antiplasmodial, aktivitas antimalaria.

PENDAHULUAN

Dewasa ini malaria masih merupakan masalah kesehatan utama di dunia, baik di negara berkembang maupun negara maju. Pemberantasan telah lama dicanangkan oleh Badan Kesehatan Dunia (WHO) sejak tahun 1959, namun hingga saat ini belum memberikan hasil yang memuaskan. Bahkan sampai saat ini malaria masih merupakan salah satu penyakit yang mengancam kembali (*reemergency diseases*) penduduk di seluruh dunia, disamping penyakit tuberkulosis (Zein, 2005).

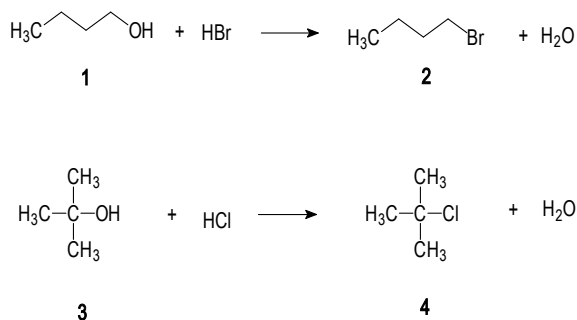
Badan Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 1997, melaporkan bahwa sekitar 41% penduduk dunia atau 1-3 miliar orang tinggal di daerah endemis malaria dan terancam infeksi parasit malaria. Tiga tahun kemudian (tahun 2000) WHO juga melaporkan bahwa malaria diperkirakan menjangkiti lebih dari 100 negara, bahkan mengancam hampir 40% populasi penduduk dunia dan menginfeksi secara akut 300 juta penduduk setiap tahun. Bahkan menurut Sach dan Malaney (2002) mengatakan bahwa setiap 40 detik terdapat satu orang anak penduduk dunia yang meninggal akibat penyakit malaria. Lebih jauh lagi dilaporkan oleh WHO bahwa antara 300-500 juta penduduk terinfeksi malaria setiap tahun, dan diperkirakan antara 1,5-2,7 juta meninggal per tahun (setiap 12-21 detik terdapat satu orang meninggal dunia), terutama balita dan ibu hamil (Tatu dkk., 2005 dan Mahmoudi dkk., 2006).

Pada tahun 2004, WHO kembali melaporkan bahwa lebih dari 40% penduduk dunia terancam dan berisiko tinggi terinfeksi malaria, dan diperkirakan bahwa lebih kurang 3 juta orang pada setiap tahunnya meninggal dunia akibat terinfeksi parasit malaria (Ashley dkk., 2006, dan Zarranz dkk., 2006).

Salah satu faktor utama penyebab terjadinya kegagalan dalam pemberantasan malaria adalah timbulnya vektor malaria (nyamuk *Anopheles*) yang resisten terhadap insektisida dan parasit malaria (*Plasmodium*) yang resisten terhadap antimalaria yang tersedia, utamanya antimalaria pilihan yaitu klorokuin. Terjadinya resistensi parasit malaria, utamanya *Plasmodium falciparum*, pertama kali dilaporkan oleh Mabeti dan Harinasuta sekitar tahun 1960 yang terjadi di Venezuela, diikuti oleh Kamboja dan Thailand (Payne, 1987). Kemudian resistensi ini mulai menyebar dengan cepat di kawasan negara-negara Asia Tenggara, termasuk di Indonesia, Amerika Selatan antara tahun 60-70an (Wernsdorfer & Payne, 1991). Di akhir tahun 70-an resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin juga telah dilaporkan terjadi di kawasan Afrika Tengah dan Barat (Basco dkk., 1994). Saat ini hanya beberapa daerah tertentu di dunia belum pernah dilaporkan terjadi resistensi *P. falciparum* terhadap antimalaria yaitu kawasan Amerika Tengah dan El Faiyum Mesir (WHO, 1997). Masalah resistensi

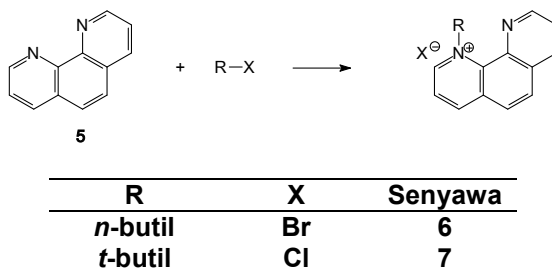
tersebut telah menjadi masalah yang serius karena mengakibatkan banyak kegagalan dalam pengobatan bahkan sampai menyebabkan kematian.

Senyawa-senyawa hasil pemodelan yang mempunyai aktivitas antimalaria yang tinggi secara teoritis (komputasi) menggunakan metode semiempiris PM3 adalah diantaranya senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium. Senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium yang diprediksi mempunyai aktifitas antiplasmodial sebagai obat antimalaria baru adalah senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida **6** dan senyawa (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida **7**. Sintesis dua senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium dilakukan melalui dua tahap reaksi. Tahap pertama adalah sintesis senyawa *n*-butil bromida **2** dan *t*-butil klorida **4** dari senyawa *n*-butil-alkohol **1** dan *t*-butil-alkohol **3** berturut-turut menggunakan reagen HBr dan HCl dengan katalis H₂SO₄ yang secara lengkap dapat dilihat pada skema reaksi (Gambar 1) berikut.



Gambar 1. Sintesis senyawa *n*-butil bromida dan *t*-butil klorida

Tahap kedua adalah sintesis senyawa **6** dan senyawa **7** dari senyawa 1,10-fenantrolin **5** menggunakan pereaksi berturut-turut senyawa **2** dan senyawa **4** yang disajikan secara lengkap pada skema reaksi (Gambar 2) berikut.



Gambar 2. Sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida **6** dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida **7**

METODE PENELITIAN

Bahan Kimia

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: aseton p.a. (Merck), 1,10-fenantrolin monohidrat p.a. (Merck), HCl p.a. (Merck), HBr p.a. (Merck), H₂SO₄ p.a. (Merck), Na₂CO₃ p.a. (Merck), kertas saring, akuades, (seri larutan NaCl 0,90%; 1,60%; 12,00%), dekstrosa 0,20%; *P. falciparum* strain FCR-3 (resisten terhadap klorokuin) dan D10 (sensitif terhadap klorokuin) dari Laboratorium Eijkman Jakarta, serum manusia dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi serta Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM, medium *Rosswell Park Memmorial Institute* (RPMI) 1430, pewarna *Giemsa* dan lain-lain.

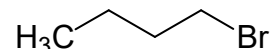
Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: satu set alat refluks, seperangkat alat destilasi, alat-alat gelas laboratoium, lampu UV (CAMAG UV-CABINET II; $\lambda=366-254$ nm) Spektroskopi IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), Spektrofotometri H-NMR (JOEL JNM MYGO), inkubator CO₂, Saringan Milipore (*Millex*), water-bath (*Laboratory Equipment Sydney*), *candle jar* (desikator), inkubator (*NUAIRE*), *laminary flow cabinet* (*NUAIRE*), *culture flask* (*Nalge Nunc International*, Denmark), mikroplate dengan 96 sumuran, mikroskop (*Zeiss*), tabung *ependorf*, *blue tip*, *yellow tip*, gelas obyek, dan alat-alat gelas steril.

Prosedur Penelitian

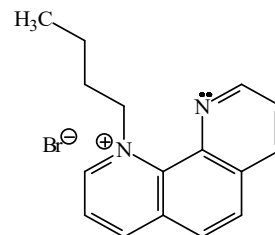
1. Sintesis senyawa *n*-butil bromida (2)

Ke dalam 25,00 g HBr 47% (0,15 mol) yang telah dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang dilengkapi dengan seperangkat alat refluks dan corong tetes ditambahkan 7,50 g H₂SO₄ pekat (4,10 mL). Ke dalam campuran tersebut ditambahkan 8,80 g senyawa **1** (0,12 mol) sambil diikuti dengan penambahan 6,00 g H₂SO₄ pekat (32,50 mL) melalui corong tetes. Selanjutnya campuran direfluks dengan hati-hati selama 3 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnet dan di atas kondensor dipasang pipa penyerap uap asam yang dihubungkan dengan air. Setelah proses refluks selesai, campuran terbentuk menjadi dua lapisan yaitu lapisan senyawa *n*-butil bromida (atas) dan lapisan asam (bawah). Lapisan asam dipisahkan dari lapisan organik. Selanjutnya lapisan organik dicuci berturut-turut dengan larutan HCl, NaHCO₃ 5%, dan 10 mL air. Selanjutnya lapisan organik dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrous dan disaring. Campuran didestilasi untuk memperoleh senyawa **2**. Senyawa **2** yang tidak berwarna diperoleh sebagai fraksi pada suhu 100-103°C sebanyak 11,66 g (70,92%). Analisis IR (*neat*) ν (cm⁻¹): 2962,5 dan 2873,7 (C_{sp3}-H), 1461,9 (CH₂), 1350,9 (CH₃), 740,0, 612,4 dan 563,2 (C-Br).



2. Sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida (6)

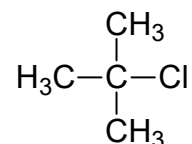
Sebanyak 3,90 g (0,02 mol) senyawa **5** dilarutkan dalam 15 mL aseton kemudian dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang telah dilengkapi seperangkat alat refluks. Selanjutnya ke dalam campuran tersebut dimasukkan senyawa *n*-butil bromida (13,70 g; 0,10 mol). Campuran diaduk pada suhu kamar dan dipanaskan pada suhu refluks selama 21 jam. Padatan produk yang masih bercampur dengan pelarut didinginkan. Kristal yang terbentuk disaring, kemudian dicuci dengan aseton untuk menghasilkan padatan senyawa **6** yang berwarna putih kemerahan sebanyak 5,37 g



(84,70%): t.l. = 190-191°C, **IR (KBr) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹):** 3373,3 (O-H ikatan hidrogen antar molekul), 3088,9 (C_{sp2}-H), 2997,2-2869,9 (C_{sp3}-H), 1627,3 dan 1523,7 (C=C aromatik), 1434,9 (CH₂), dan 1373,2 (CH₃); **¹H-NMR (60 MHz, DMSO-d₆, TMS) δ (ppm):** 9,5-8,1 (8H, *m*, Ar), 4,1 (H₂O), 1,1 (6H, *m*, CH₂), dan 1,0 (3H, *t*, CH₃).

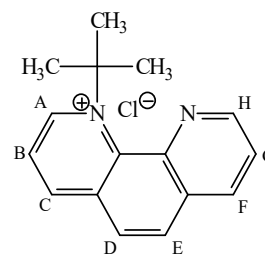
3. Sintesis senyawa *t*-butil klorida (4)

Dalam sebuah corong pisah 250 mL dimasukkan 6,30 g (0,085 mol) senyawa **4** dan 21,25 mL HCl pekat, kemudian campuran dikocok selama 20 menit. Pengocokan campuran disertai dengan selalu membuka tutup corong pisah secara perlahan-lahan. Selanjutnya, campuran dibiarkan selama beberapa menit sampai lapisan benar-benar terpisah. Lapisan asam (lapisan bawah) dipisahkan dari fasa organik. Lapisan senyawa alkil halida (lapisan atas) dicuci dengan 5 mL NaHCO₃ 5% dan kemudian dicuci dengan 10 mL air. Tahap berikutnya campuran dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrous dan disaring. Untuk memurnikan produk dilakukan destilasi fraksinasi. Fraksi produk senyawa *t*-butil klorida **134** ditampung pada suhu 49-51°C. Hasil yang diperoleh berupa cairan berwarna putih bening sebanyak 7,26 g (92,36%), **IR (neat) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹):** 2981,7-2927,7 (C_{sp3}-H), 1369,4 (CH₃), 810,0 dan 579,9 (C-Cl).



4. Sintesis senyawa target (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida (7)

Senyawa **5** (3,90 g; 0,02 mol), *t*-butil klorida **4** (9,30 g; 0,10 mol) dan 20 mL aseton dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang telah dilengkapi seperangkat alat refluks. Campuran dipanaskan dan sambil diaduk pada suhu refluks selama 23 jam. Padatan produk yang masih bercampur dengan pelarut didinginkan, disaring, dan dicuci beberapa kali dengan aseton untuk menghasilkan senyawa **7** yang berupa padatan putih kecoklatan sebanyak 4,26 g (78,16%): t.l = 189-190°C, **IR (KBr) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹):** 3379,1 (O-H ikatan hidrogen antar molekul), 3100-3000 (C_{sp2}-H), 2900-2800 (C_{sp3}-H), 1596,9 dan 1542,9 (C=C Ar), 1373,2 (CH₃); **¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS) δ (ppm):** 9,32 (1H, *d*, H_A), 9,30 (1H, *d*, H_C), 9,09 (1H, *d*, H_H), 8,95-8,93 (1H, *t*, H_B), 8,81 (1H, *d*, H_F), 8,48 (1H, *d*, H_E), 8,23-8,21 (2H, *d&t*, H_{D&G}), 4,21 (H₂O, *s*), dan 1,30 (9H, *s*, CH₃).



5. Uji aktivitas antiplasmodium secara in vitro

Langkah pertama pembuatan kultur *Plasmodium in vitro*. *P. falciparum strain* yang resisten klorokuin (FCR3) ditumbuhkan dengan metode modifikasi berupa penyimpanan candle jar dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C. Plasmodium dipelihara secara in vitro menggunakan eritrosit golongan O[±] dengan kepadatan/hematokrit 1-5% dalam medium RPMI 1640 yang mengandung 25 mM HEPES, 30 mM NaHCO₃ dan 10% serum manusia (O[±]). Kondisi kultur diamati tiap hari, dan pada saat akan digunakan untuk uji, Plasmodium disinkronisasi dengan sorbitol 5%. Langkah ke dua adalah uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* dilakukan dengan 2 metode yaitu metode mikroskopis dan metode mikroradioaktif yang dikembangkan oleh Desjardins *et al.* (1979). Ke dalam mikrokultur 96 sumuran yang mengandung kultur *Plasmodium* pada fase trophozoit dengan parasitemia 2% (hematokrit 3%), ditambahkan senyawa uji pada berbagai peringkat kadar. Kultur yang mengandung

senyawa uji selanjutnya diinkubasikan selama 24 dan 72 jam. Pada metode mikroskopis, nilai parasitemia dihitung dari sediaan apus yang diwarnai dengan Giemsa. Nilai parasitemia ini selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Pada metode radioaktif, pertumbuhan parasit dihitung berdasarkan pengambilan [³H]-hiposantin oleh parasit. Sebagai kontrol digunakan kultur *Plasmodium* tanpa senyawa uji dan dianggap mempunyai pertumbuhan 100%. Aktivitas antiplasmodium dinyatakan sebagai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*) yaitu kadar yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan parasit hingga 50%.

HASIL PENELITIAN

Berbagai macam jalur sintesis dalam usaha mensintesis turunan senyawa 1,10-fenantrolin 5 yang mempunyai aktivitas tinggi, diantaranya usaha dalam sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium dengan tujuan memperpanjang rantai alkil dan membuat rantai alkil yang mempunyai cabang pada gugus R yang terikat apada atom N, yang pada penelitian sebelumnya telah dilakukan alkilasi dengan DMS dan DES (Hadanu, 2004). Sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium berdasarkan hasil desain molekul HKSA. Data yang diperoleh dari hasil desain molekul senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium mempunyai nilai IC₅₀ rendah atau mempunyai aktivitas antimalaria yang tinggi.

Pembuatan senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium diawali dengan pembuatan reagen pengalkilasi yaitu sintesis senyawa *n*-butil bromida **2** dan *t*-butil klorida **4** melalui reaksi brominasi terhadap senyawa *n*-butil alkohol **1** dan klorinasi terhadap senyawa *t*-butil alkohol **3**. Reaksi brominasi senyawa **1** dilakukan melalui refluks selama 3 jam tanpa pelarut menggunakan reagen HBr dan katalis asam sulfat. Untuk menghasilkan senyawa **2** yang mempunyai kemurnian tinggi, maka dilakukan destilasi biasa dimana fraksi senyawa **2** ditampung pada suhu 100-103°C. Reaksi berlangsung cukup efektif dan diperoleh produk berupa cairan tidak berwarna (bening) yang mempunyai rendemen 70,92%. Pada reaksi klorinasi senyawa **3** dilakukan dengan cara dikocok bersama reagen HBr dan katalis asam sulfat dalam corong pisah selama 20 menit tanpa pelarut. Senyawa **2** dimurnikan dengan cara dilakukan destilasi fraksinasi yang ditampung pada suhu 49-51°C. Rendemen reaksi sangat tinggi sekali yaitu sebesar 92,36%, hal ini disebabkan oleh stabilitas karbokation tersier yang lebih stabil jika dibandingkan karbokation yang terbentuk pada proses sintesis senyawa **2**. Produk klorinasi senyawa **3** berupa cairan tidak berwarna (bening) yang mempunyai rendemen 92,36%. Untuk mendapatkan senyawa target yang mengikat gugus alkil dan benzil pada atom N nomor 1 dari senyawa **5**, maka terhadap senyawa **5** dilakukan reaksi alkilasi dengan menggunakan senyawa **2** dan senyawa **3** tersebut.

Yapi dkk., (2006) telah melakukan reaksi *N*-metilasi terhadap senyawa 4-kloro-3-vinil-2-metil-1,10-fenantrolin dengan pereaksi CH₃I dalam pelarut aseton yang menghasilkan senyawa 7-kloro-8-vinil-(1)-*N*-,9-dimetil-1,10-fenantrolinium iodida berupa padatan yang mempunyai titik lebur 226-227°C dan rendemen produk 80%.

Sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida **6** dilakukan sesuai metode Yapi tersebut di atas yaitu melalui reaksi butilasi senyawa **5** dengan menggunakan senyawa **2**. Hasil reaksi butilasi tersebut berupa padatan yang berwarna putih kemerahan dan mempunyai titik lebur 201°C serta mempunyai rendemen sebesar 84,70%. Produk ini tidak larut dalam aseton, sehingga sangat mudah dipisahkan dengan cara penyaringan. Pengukuran titik lebur senyawa **6** dilakukan secara

bersamaan dengan pengukuran titik lebur senyawa bahan baku senyawa **5**. Hal ini dimaksudkan untuk membandingkan titik lebur hasil sintesis dengan bahan baku senyawa **5**. Titik lebur senyawa **6** (190-191°C) jauh lebih tinggi, jika dibandingkan dengan titik lebur senyawa **5** (114-117°C).

Sintesis senyawa senyawa (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida **7** juga dilakukan sesuai metode Yapi tersebut di atas yaitu melalui reaksi *N*-etilasi dari senyawa 5-bromo-1,10-fenantrolin dengan reagen DES. Reaksi alkilasi senyawa **5** dengan *t*-butilklorida berlangsung pada suhu refluks selama selama 23 jam yang menghasilkan senyawa senyawa **7** berupa padatan putih kecoklatan yang mempunyai titik lebur 189-190°C dan rendemen 78,16%. Rendemen reaksi ini relatif lebih kecil dibandingkan dengan rendemen reaksi sintesis senyawa **6**, hal tersebut disebabkan pengaruh efek sterik yang dimiliki oleh reagen pengalkilasi senyawa **4**. Efek sterik senyawa **4** lebih tinggi, jika dibandingkan dengan efek sterik yang dimiliki oleh senyawa **2**.

Langkah awal dari proses uji aktivitas antiplasmodium adalah kultur secara berkelanjutan terhadap kedua strain *P. falciparum* dengan metode *candle jar* (Trager dan Jensen, 1976). Setelah kultur tumbuh secara baik dan tidak terkontaminasi, kemudian dilakukan uji aktivitas antiplasmodium. Besarnya aktivitas penghambatan dari tiap kadar senyawa uji diketahui dengan menghitung persen penghambatan yang diberikan oleh turunan senyawa 5-bromo-1,10-fenantrolin terhadap pertumbuhan *P. falciparum* yaitu dengan cara menghitung selisih persen parasitemia kontrol negatif dengan persen parasitemia senyawa bahan uji, selanjutnya dibandingkan dengan persen parasitemia kontrol negatif.

Persentase parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi dibandingkan dengan jumlah eritrosit total. Jumlah eritrosit total merupakan jumlah eritrosit parasit pada beberapa lapangan pandang yaitu sekitar 1000 eritrosit yang dihitung dengan mikroskop. Selanjutnya dari data persentase parasitemia tersebut dapat dihitung persentase penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*.

Berdasarkan data Tabel 1, senyawa **6** memberikan efek penghambatan yang paling tinggi, jika dibandingkan dengan senyawa **7**, lebih jelasnya efek penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* strain FCR3 dapat disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Persen penghambatan pertumbuhan strain FCR-3 *P. Falciparum* pada masa inkubasi 72 jam setelah pemberian senyawa **6 dan **7****

Kadar (ng/mL)	%Penghambatan (rerata±SD)	
	Senyawa 6	Senyawa 7
50	75,72±2,29	37,33±6,68
100	76,46±4,89	44,90±7,47
200	80,72±3,84	39,76±5,35
400	83,79±4,31	51,80±6,04
800	94,03±1,35	45,40±2,46
1600	98,13±1,66	56,14±4,01
IC ₅₀ (µM)	0,03±0,01	2,09±0,08

Hasil perhitungan nilai IC₅₀ aktivitas antimalaria dari senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium terhadap strain FCR-3 diperoleh hasil bahwa senyawa **6** mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 0,03±0,01 µM, dan senyawa **7** mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 2,09±0,08 µM (Tabel 1). Senyawa **6** mempunyai aktivitas paling tinggi dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin sebagai kontrol positif terhadap strain FCR3 yaitu sebesar 0,01±0,006 µM.

Tabel 2. Persen penghambatan pertumbuhan strain D10 *P. falciparum* pada masa inkubasi 72 jam setelah pemberian senyawa 6 dan 7

Kadar (ng/mL)	%Penghambatan (rerata±SD)	
	Senyawa 6	Senyawa 7
50	15,64±7,37	37,33±6,68
100	20,27±9,32	44,90±7,47
200	52,63±8,99	39,76±5,35
400	45,79±10,78	51,80±6,04
800	61,66±22,36	45,40±2,46
1600	77,64±10,88	56,14±4,01
IC ₅₀ (µM)	1,40±0,82	2,24±0,05

Efek penghambatan seri senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium terhadap strain D10 *P. falciparum* disajikan pada Tabel 2. Senyawa 6 mempunyai efek penghambatan pertumbuhan parasit paling tinggi, walupun pada kadar yang paling rendah (50 ng/mL) baru mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar 15,64±7,73, sedangkan pada kadar yang paling tinggi (1600 ng/mL) senyawa tersebut telah mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar (77,64±10,88 µM). Hasil uji aktivitas antiplasmodium yang ditampilkan pada Tabel 2 terhadap *P. falciparum* strain D10 memberikan hasil yaitu senyawa 6 mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 1,40±0,82 µM, walaupun masih jauh lebih rendah aktivitasnya jika dibandingkan dengan klorokuin sebagai control positif terhadap *P. falciparum* strain D10 yaitu sebesar 0,02±0,002 µM. Aktivitas antiplasmodium senyawa 7 sebesar 2,24±0,05 lebih rendah jika dibandingkan dengan aktivitas antiplasmodium senyawa 6.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Sintesis senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium dari bahan dasar 1,10-fenantrolin monohidrat melalui 2 tahap reaksi yang menghasilkan senyawa target (1)-*N*-(*n*-butil)-1,10-fenantrolinium bromida 6 dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium klorida 7 yang mempunyai rendemen berturut-turut sebesar 84,70% dan 78,16%.
2. Senyawa yang mempunyai aktivitas antiplasmodium paling tinggi pada seri senyawa (1)-*N*-(*n*-butil)- dan (1)-*N*-(*t*-butil)-1,10-fenantrolinium adalah 6 yang mempunyai nilai IC₅₀ = 0,03±0,01 µM terhadap strain FCR-3 dan mempunyai nilai IC₅₀ = 1,40±0,82 µM terhadap strain D10 *P. falciparum* dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin sebagai standar positif sebesar 0,01±0,006 µM untuk strain FCR3 dan 0,02±0,002 µM untuk strain D10.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashley, E., McGready, R., Proux, S., and Nosten, F., 2006, Review, Malaria, *Travel Medicine and Infectious Disease*, 4, 159-173.
- Desjardin, R.E., Canfield, C.J., Haynes, J.D., & Chulay, J.D. 1979. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semi-automated microdulation technique. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16 : 710-718.

- Mahmoudi, N., Ortiz, J.V.J., Ciceron, L., Galvez, J., Mazier, D., Danis, M., Derouin, F., and Domenech R.G., 2006, Identification of New Antimalarial Drugs by Linear Discriminant Analysis and Topological Virtual Screening, *J. of Antimicrobial Chemotherapy*, 57, 489-497.
- Hadanu, R., 2004, *Sintesis Senyawa Antimalaria (1)-N-Alkil-1,10-Fenantrolinium dan 3-(2-Hidroksietil)-2-metil-1,10-fenantrolin-4-ol*, Tesis S2 Psacasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Payne, D. 1987. Spread of chloroquine resistance in *P. falciparum*. *Parasitol. Today.*, 3(8), 241-246.
- Salomon, T.W.G., 1982, *Fundamental of Organic Chemistry*, second edition, John Wiley and Sons, Inc New York.
- Tatu, U., Jain, S., and Priya, P.P., 2005, Whither genome research: Of man, mosquito and malaria, *J. Biosci.* 30 (5), 567-571.
- Trager, W., dan Jensen, J.B., 1976, Human malaria parasite in continuous culture, *Science*, 193, 673-675.
- WHO. 1997. Practical chemotherapy of malaria. Report of a WHO Scientific Group. Technical Report Series no. 805, Geneva. WHO. 1997. The situation of malaria in the world in 1994. *J. Epid. Week.* 72: 269-292.
- Yapi, A. D., Mustofa, M., Valentin, A., Chavignon, O., Teulade, J. C., Mallie, M., Chapat, J. P., and Blache. Y., 2000, New Potensial Antimalarial Agents: Syntesis and Biological Activities of Original Diaza-analogs of Phenanthrene *J. Chem. Pharm. Bull*, 48 (12) 1886 -1889.
- Yapi A. D., Mustofa., Valentin, A., Chezal, J.M., Chavignon, O., Chaillot, B., Teulade, J. C., and Blache. Y., 2006, In *Vitro* and in *Vivo* Antimalarial Activity of Derivatives of 1,10-phenanthroline Framework, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 339, 201-206.
- Zarranz, B., Jaso, A., Lima, L.M., Aldana, I., Monge, A., Maurel, S., and Sauvain, M., 2006, Antiplasmodial activity of 3-trifluoromethyl-2-carbonylquinoxaline-di-N-oxide derivatives, *Brazilian J. of Pharm. Sci.*, 42 (3), 357-361.
- Zein, U., 2005, Penanganan Terkini Malaria falciparum, *e-USU Repsositary*, Universitas Sumatera Utara, Medan.