

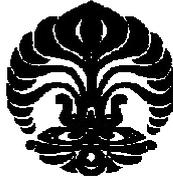
UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS ARTEMETER DENGAN KATALIS
BIFUNGSIONAL DALAM SATU SISTEM REAKSI DAN UJI
AKTIVITAS ANTIKANKER PADA ARTEMETER TERHADAP
SEL LEUKIMIA L1210**

TESIS

**LIA NURLIANA
0806422100**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI ILMU KEFARMASIAN
DEPOK
DESEMBER 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS ARTEMETER DENGAN KATALIS
BIFUNGSIONAL DALAM SATU SISTEM REAKSI DAN UJI
AKTIVITAS ANTIKANKER PADA ARTEMETER TERHADAP
SEL LEUKIMIA L1210**

TESIS

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Magister Sains**

**LIA NURLIANA
0806422100**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI ILMU KEFARMASIAN
DEPOK
DESEMBER 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah
saya nyatakan dengan benar.



Nama : Lia Nurliana
NPM : 0806422100
Tanda Tangan : 
Tanggal : 23 Desember 2010

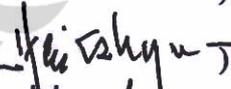
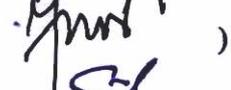
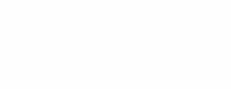
HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Lia Nurliana
NPM : 0806422100
Program Studi : Ilmu Kefarmasian
Judul Tesis : Sintesis Artemeter Dengan Katalis Bifungsional
Dalam Satu Sistem Reaksi Dan Uji Aktivitas
Antikanker Artemeter Terhadap Sel Leukimia
L1210

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kefarmasian, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Harmita, Apt ()
Pembimbing : Prof. Dr.L.Broto.S.Kardono, Apt ()
Penguji : Drs. Umar Mansyur, M.Sc., Apt ()
Penguji : Dr. Herry Cahyana ()
Penguji : Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt ()
Penguji : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 23 Desember 2010

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, karena atas berkah dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan Tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar magister sains Departemen Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Harmita, Apt selaku dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
2. Prof. Dr. L.Broto. S. Kardono, Apt selaku dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
3. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
4. Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt selaku Ketua Program Pascasarjana Farmasi FMIPA UI;
5. Dr. Silvester Tursiloadi. M.Eng selaku Kepala Bidang Katalis, Pusat Penelitian Kimia LIPI;
6. Dr. M. Hanafi selaku Kepala Bidang Bahan Alam, Pangandan Farmasi, Pusat penelitian Kimia LIPI;
7. Bapak dan Ibu dosen di Departemen Farmasi FMIPA UI
8. Bapak dan Ibu di Pusat LIPI Serpong
9. Pihak BATAN yang telah membantu dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan.
10. Orang tua dan keluarga yang saya sayangi karena telah memberikan bantuan dukungan material, moral, doa; dan
11. Sahabat saya Tina Wikara, Fristy lita, Bitu FSP, Dewi Sarfika, Vina NAR, Elachan, Risyelli, Marissa, Dona, Andini, Sofa, Yogi dan lainnya.

Saya menyadari penelitian dan penyusunan tesis ini masih banyak kekurangan dan perlu penelitian lebih lanjut. Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lia Nurliana
NPM : 0806422100
Program Studi : Ilmu Kefarmasian
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Sintesis Artemeter Dengan Katalis Bifungsional Dalam satu Sistem Reaksi Dan Uji Aktivitas Antikanker Artemeter Terhadap Sel Leukimia L1210

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Desember 2010
Yang menyatakan



(Lia Nurliana)

ABSTRAK

Nama : Lia Nurliana
Program Studi : Farmasi
Judul : Sintesis Artemeter Dengan Katalis Bifungsional Dalam Satu Sistem Reaksi Dan Uji Aktivitas Antikanker Pada Artemeter Terhadap Sel Leukimia L1210.

Artemisinin dikenal sebagai obat herbal dari Cina yang diisolasi dari tanaman *Artemisia annua*. Awalnya artemisinin dikenal sebagai obat demam dan antimalaria, selain itu artemisinin dan turunannya juga berpotensi sebagai antikanker. Hal ini dikarenakan artemisinin merupakan senyawa seskuiterpen lakton dengan gugus unik peroksida. Penelitian ini bertujuan memodifikasi struktur artemisinin menjadi artemeter menggunakan katalis padat Ni/TiO₂-SO₄ melalui proses hidrogenasi dan metilasi alkohol dalam satu wadah reaksi dan mengkaji aktivitasnya sebagai antikanker terhadap sel leukemia L1210 secara *in vitro*. Katalis padat yang digunakan pada penelitian ini tersusun dari logam Ni sebagai pusat aktif, TiO₂ sebagai penyangga katalis dan sulfat sebagai promotor. Artemeter yang dihasilkan berupa kristal putih dengan rendemen yang diperoleh sebesar 1,29% sebagai minor produk dan masih terdapat senyawa intermediet yaitu dihidroartemisinin dengan rendemen sebesar 19%. Artemeter hasil sintesis mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ 3,07 µg/mL, sehingga artemeter hasil sintesis berpotensi terhadap senyawa antikanker.

Kata Kunci : Artemisinin, Artemeter, Katalis padat Ni/TiO₂-SO₄, Satu wadah reaksi, Antikanker.
xiv+78 halaman : 35 gambar; 10 tabel
Daftar Pustaka : 47 (1951-2009)

ABSTRACT

Name : Lia Nurliana
Program Study : Pharmacy
Title : Synthesis Of Artemether By Bifungsional Catalyst In One Pot System Reaction And Anticancer Activity Test Of Artemether Against L1210 Leukemia Cells.

Artemisinin has known as herbal medicine from China, was isolated from the plant *Artemisia annua*. Artemisinin was originally known as fever and antimalarial drugs. Artemisinin and its derivatives also have potential as anticancer, due to their sesquiterpene lactone and a unique group peroxide. This study aimed to modify the structure of artemisinin into artemether using solid catalyst Ni/TiO₂-SO₄ through the process of hydrogenation and methylation of alcohol in one pot system reaction. The study also assess the test as an anticancer activity against L1210 leukemia cells. The solid catalyst used in this study was composed of metallic Ni as the active center, TiO₂ as a catalyst support and sulphate as promoter. The modification of artemisinin produced the white crystals with a yield of 1,29% artemether as a minor product and 19% dihydroartemisinin as an intermediate compound. The synthesized artemether showed an anticancer activity against L1210 leukimia cells by IC₅₀ 3,07 µg / mL. The result suggest that the synthesized artemether have a potential as anticancer.

Key Words : Artemisinin, Artemether, Catalyst Ni/TiO₂-SO₄, One pot system, Anticancer activity
xiv+78 pages : 35 pictures; 10 tables
Bibliography : 47 (1951-2009)

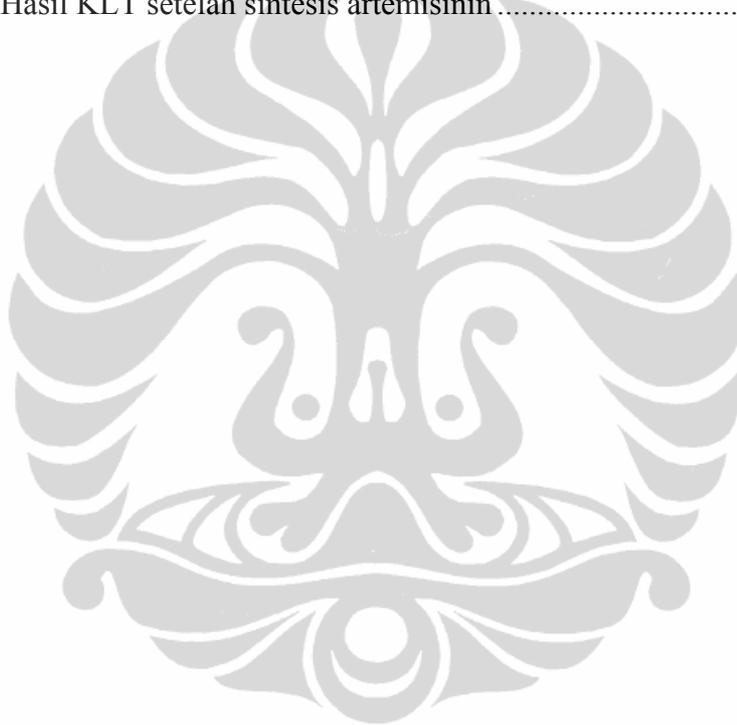
DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSUTUJUAN PUBLIKASI	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	5
1.3 Tujuan penelitian.....	5
2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kanker	6
2.1.1. Jenis jenis kanker	8
2.1.2. Golongan obat antikanker	9
2.1.3 Uji aktivitas antikanker	9
2.1.3.1 Uji Toksisitas BSLT (Brine shrimp lethality Test)...	9
2.1.3.2 Uji Toksisitas terhadap sel leukimia L1210.....	10
2.2. Artemisinin	11
2.2.1. Monografi	11
2.2.2. Struktur, sifat fisik dan kimia artemisinin.....	11
2.2.3. Farmakologi	12
2.2.4. Sintesis senyawa turunan artemisinin	13
2.2.5. Penelitian yang berkaitan dengan artemisinin dan turunan..	14
2.3. Artemeter	17
2.4. Katalis	18
2.4.1. Pengertian Katalis	18
2.4.2 Jenis Jenis Katalis	19
2.4.3 Logam Nikel Sebagai Katalis	22
2.4.4 Penyangga Katalis.....	23
2.4.5 Preparasi Katalis	
2.4.5.1 Impregnasi.....	24
2.4.5.2 Presipitasi	25
2.4.5.3 Penukar ion	25
2.4.6 Perlakuan Katalis	
2.4.6.1 Pengeringan	26
2.4.6.2 Kalsinasi	27
2.4.6.3 Reduksi	27
2.5. Identifikasi	
2.5.1. Kromatografi lapis tipis	28
2.5.2. Spektrofotometri	
2.5.2.1. Spektrofotometri resonansi magnetik inti	29
2.5.2.2. Spektrofotometri infra merah.....	30

2.5.2.3. Spektrofotometri massa.....	30
2.5.3 Difraksi sinar X.....	31
2.5.4 Metode BET.....	32
3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Bahan.....	35
3.2. Alat.....	35
3.3. Lokasi.....	35
3.4. Cara kerja	
3.4.1. Preparasi katalis.....	36
3.4.2. Sintesis turunan artemisinin.....	36
3.4.3. Analisa kualitatif dengan KLT.....	37
3.4.4. Pemurnian hasil sintesis dengan kromatografi kolom.....	37
3.4.5. Identifikasi zat.....	38
3.4.5.1 Spektroskopi Infra red.....	38
3.4.5.2 Spektrofotometri resonansi magnetik inti.....	38
3.4.5.3 LC MS.....	38
3.4.6 Uji toksisitas senyawa artemeter	
3.4.6.1 Uji toksisitas dengan larva udang (<i>artemia salina</i>)...	38
3.4.6.2 Uji toksisitas terhadap sel leukimia L1210.....	39
4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Pembuatan dan karakterisasi katalis.....	42
4.1.1. Pembuatan katalis.....	42
4.1.2. Karakterisasi katalis.....	43
4.1.2.1. Difraksi sinar-X.....	43
4.1.2.2. BET.....	44
4.1.2.3 FTIR.....	45
4.2. Sintesis turunan artemisinin.....	45
4.3. Pemurnian dengan kromatografi kolom.....	47
4.4. Identifikasi artemeter.....	49
4.4.1. Spektroskopi LC-MS.....	49
4.4.2. Analisis spektrofotometri infra merah (FT-IR).....	49
4.4.3. Data analisa pergeseran kimia dari spektrum RMI.....	50
4.5. Uji Aktivitas Antikanker senyawa artemeter.....	53
4.5.1 Uji Toksisitas BSLT (Brine shrimp lethality Test).....	53
4.5.2 Uji Toksisitas terhadap sel leukimia L1210.....	53
5 KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Pembuatan Modifikasi artemisinin menjadi dihidroartemisinin dan artemeter melalui reaksi reduksi dengan NaBH_4 dan BF_3 atau HCl dalam metanol katalis	4
Gambar 2.1	Struktur artemisinin	11
Gambar 2.2	Struktur stereokimia artemisinin	12
Gambar 2.3	Struktur-struktur turunan artemisinin	14
Gambar 2.4	Struktur artemeter	17
Gambar 2.5	Hubungan antara energi bebas reaksi (G) terhadap jalan reaksi	19
Gambar 2.6	Skema reaksi katalitik dalam rongga katalis	20
Gambar 2.7	Difraksi sinar-X pada suatu Kristal	31
Gambar 4.1	Reaksi hidrogenasi pada permukaan katalis $\text{Ni}/\text{TiO}_2\text{-O}_4$	46
Gambar 4.2	Hasil KLT setelah sintesis artemisinin	47



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Beberapa turunan artemisinin yang sudah disintesis	16
Tabel 2.2	Reaksi katalisis dan katalis umum yang biasa digunakan	21
Tabel 4.1	Sampel katalis yang telah diimpregnasi Nikel	44
Tabel 4.2	Nilai Rf dari hasil sintesis artemisinin dengan larutan pengembang Toluena-Etil asetat – Asam format (7:3:1)	48
Tabel 4.3	Perbandingan Bilangan gelombang antara senyawa target dengan artemisinin.....	50
Tabel 4.4	Hasil analisa ¹³ C NMR dari senyawa artemeter	52
Tabel 4.5	Hasil Uji BSLT pada artemeter	53
Tabel 4.6	Hasil Uji sitotoksik terhadap sel leukimia L1210	55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur penelitian	60
Lampiran 2. Prosedur preparasi katalis	61
Lampiran 3. Prosedur sintesiti artemeter	62
Lampiran 4. Alat preparasi katalis dan sintesis katalis	63
Lampiran 5. Kromatogram XRD dari katalis Ni-TiSO ₄	64
Lampiran 6. Hasil analisa FTIR dari katalis Ni-TiSO ₄	65
Lampiran 7. Pola kromatogram artemeter dengan LC-MS.....	66
Lampiran 8. Data hasil pengukuran FTIR.....	67
Lampiran 9. Data hasil analisa ¹³ CNMR artemeter	68
Lampiran10. Data hasil analisa ¹ HNMR.....	69
Lampiran 11. Hasilperhitungan BSLT	72
Lampiran 12. Hasil perhitungan IC ₅₀ artemer terhadap sel leukimia.....	74
Lampiran 13. Data hasil pengamatan sel leukimia pada uji aktivitas antikanker	77
Lampiran 14. Reaksi one pot system pada artemisinin dengan menggunakan katalis Ni/ TiO ₂ -SO ₄	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit kardiovaskular. Kanker di Amerika merupakan penyebab utama kematian terhadap wanita antara 30-54 tahun dan anak – anak antara 3-14 tahun (Syarif et al., 2007). Berkat penyuluhan besar-besaran di dasawarsa lalu mengenai makanan sehat, di beberapa negara barat antara lain Belanda, kanker telah menempatkan urutan nomor satu menggantikan penyakit jantung dan pembuluh (Tjay & Rahardja, 2007).

Salah satu hambatan utama dari terapi kanker dengan sitostatika adalah timbulnya masalah resistensi. Pada berbagai jenis tumor cenderung mengalami resistensi yang disebabkan oleh mutasi genetik dan lebih nyata meningkatnya jumlah sel-sel tumor. Ternyata bahwa sitostatika sendiri dapat meningkatkan kecenderungan resistensi tersebut, sehingga perlu adanya kombinasi obat kanker atau sitostatika. Kombinasi dari tiga atau lebih sitostatika sering kali digunakan lazimnya obat dengan mekanisme dan titik kerja yang berlainan, dengan demikian cara kerjanya saling dipotensiasi dan terjadinya resistensi dapat dihindari atau diperlambat (Tjay & Rahardja, 2007).

Adanya kasus seperti ini, maka diperlukan pengembangan-pengembangan terhadap obat-obat antikanker baru, agar diperoleh senyawa antikanker yang ideal yang bersifat lebih aman dan tidak mengalami resistensi terhadap obat tersebut. Artemisinin dan turunannya selain dikenal sebagai obat demam dan obat antimalaria juga sekarang sudah dikenal sebagai obat antikanker yang sangat baik karena artemisinin dikenal sebagai obat alternatif yang aman, tidak beracun dan murah untuk pasien kanker (Lai & Narendra, 1995).

Pada tahun 1972, para ahli kimia Cina yang tergabung dalam *Qinghao Antimalaria Coordinating Research Group* (QACRG) mengisolasi senyawa aktif pada bagian daun *Artemisia annua L.* Mereka menamakan kristal "*qinghaosu*" pada senyawa tersebut, sedangkan di daerah bagian barat menyebutnya sebagai artemisinin (Klayman, 1984). Pada tahun 1979 struktur artemisinin baru dapat

ditentukan dengan rumus empiris $C_{15}H_{22}O_5$ dan secara sistematis namanya adalah [3R-(3 α ,5 α ,6 β ,8 α ,9 α ,12 β ,12aR*)]-oktahidro-3,6,9-trimetil-3,12-epoksi-12H-pirano [4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10-(3H)-on (The Merck Index, 2001).

Berdasarkan kajian berbagai pustaka, senyawa artemisinin dan turunannya mampu menghambat pertumbuhan *P.Falciparum* baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Artemisinin dan turunannya mampu memutus rantai siklus hidup parasit dalam sel darah merah, dan juga belum ada laporan kasus malaria yang resisten terhadap artemisinin dan turunannya. Mekanisme aksi artemisinin dalam mengendalikan dan membunuh plasmodium diduga melalui pembentukan radikal bebas artemisinin. Terbentuknya radikal bebas artemisinin oleh ion besi (II) yang terikat kovalen dalam molekul hemoglobin, terbentuknya radikal bebas terdeteksi oleh alat voltmeter yang ditandai adanya pergeseran potensial reduksi artemisinin sebesar 0,6 volt dan dapat dibuktikan juga dengan alat spektroskopi *elektron paramagnetic resonance* (Klayman, 1985)

Aplikasi klinik artemisinin sebagai *therapeutic agent* dibatasi oleh beberapa faktor. Artemisinin mempunyai kecepatan kambuh dalam 8 minggu (*rate of recrudescence*) yang tinggi, aktivitas oralnya rendah pada dosis yang dikehendaki, waktu paruh di plasma rendah dan kelarutannya terbatas baik dalam air maupun dalam minyak, selain itu, artemisinin juga dapat terurai dalam pelarut yang mengandung proton (*protic solvent*). Oleh karena itu, usaha untuk mengatasi masalah terapi dan farmasi ini, antara lain melalui modifikasi struktur kimia artemisinin menjadi senyawa analognya dan diharapkan akan memberikan kelebihan dan beberapa keuntungan dibandingkan senyawa induknya. Salah satu turunan artemisinin yang larut air adalah dihidroartemisinin, sedangkan yang larut minyak adalah kelompok eter yaitu artemeter dan arteeter. Berdasarkan penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa aktivitas dihidroartemisinin dan artemeter secara berturut-turut memiliki aktivitas 5 kali dan 9 kali lebih tinggi dibanding artemisinin (Klayman, 1985; Casteel, 1997).

Berdasarkan mekanisme aksi artemisinin dalam mengendalikan dan membunuh plasmodium dalam darah, telah mengingatkan pada sel kanker yang juga mengalami akumulasi besi dalam darah, maka dilakukan penelitian artemisinin terhadap beberapa *cell line* kanker secara *in vitro*, dan memberikan

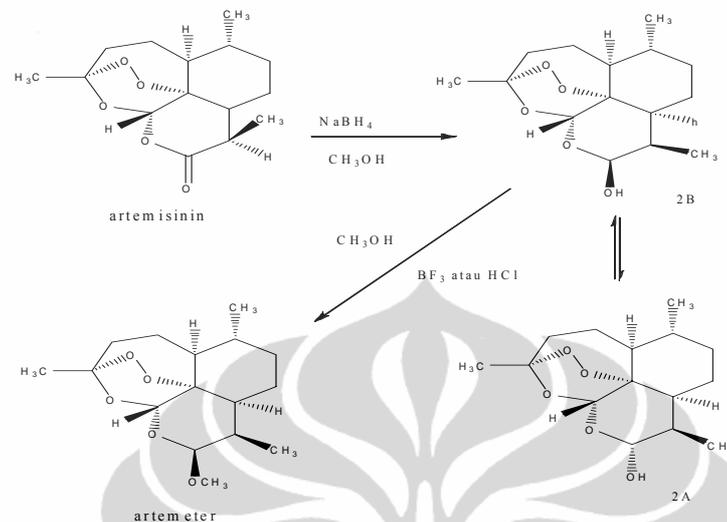
hasil yang memuaskan. Setelah itu artemisinin dikembangkan sebagai obat anti kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo* hingga saat ini (Lai & Narendra, 1995).

Pada sel kanker membutuhkan banyak kandungan besi untuk pembelahan selnya yang cepat, sehingga pada permukaan sel kanker akan dilengkapi reseptor transport besi yang jauh lebih banyak dibanding sel normal yang disebut reseptor transferin, ketika artemisinin dimasukkan ke dalamnya maka artemisinin akan membunuh dan menghambat sel kanker tersebut. Sel leukemia memiliki konsentrasi besi terbanyak yakni seribu kali lebih besar daripada sel normal (White, 2002; Lai & Narendra, 1995)

Berdasarkan penelitian sebelumnya artemisinin direduksi dengan menggunakan katalis homogen yakni larutan NaBH_4 dalam metanol pada kisaran $0-5^\circ\text{C}$ dengan hasil rendemen 75% dihidroartemisinin (Lin et al., 1987), dan juga Wu dan Zang (1986) mereaksikan artemisinin dengan menggunakan pereduksi LiAlH_4 dalam sintesis dihidroartemisinin, sedangkan kondensasi dihidroartemisinin dengan alkohol menghasilkan turunan eter dan jenis eter yang dihasilkan tergantung pada alkohol yang digunakan (Lin et al., 1987). Pada penelitian sebelumnya, telah direaksikan dihidroartemisinin dalam alkohol dengan katalis $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ pada suhu kamar menghasilkan beberapa turunan eter dengan kisaran rendemen artemeter dan arteeter yang rendah sekali (Vasanth et al., 1990). Selain itu, penelitian sebelumnya melaporkan bahwa α -Artemeter dapat diperoleh dengan mereaksikan dihidroartemisinin dan logam Iodida dengan katalis Ag_2O dalam diklorometana bebas air pada kondisi suhu kamar dan juga telah dilakukan penelitian melalui reaksi metilasi dengan CH_2N_2 secara *in situ* menghasilkan rendemen yang tinggi dengan hasil samping gas N_2 yang langsung menguap pada saat reaksi berakhir (Vogel, 1951).

Berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, pada penelitian ini artemeter akan disintesis dengan menggunakan katalis padat bifungsional melalui sistem satu-reaktor (*one-pot system*) yang mengandung logam aktif yang bersifat reduktif, berfungsi pada proses hidrogenasi serta penyangga asam TiO_2 dan juga dilengkapi promotor asam (SO_4^{2-}) yang

meningkatkan keasaman dari katalis padat tersebut, sehingga reaksi *one pot system* dapat terjadi.



Gambar 1.1 Modifikasi artemisinin menjadi dihidroartemisinin dan artemeter melalui reaksi reduksi dengan NaBH_4 dan BF_3 atau HCl dalam metanol (Lin et al., 1987)

Penelitian ini menggunakan beberapa tahapan yaitu preparasi katalis padat $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$ yang mempunyai sifat-sifat fisik yang baik yaitu katalis mesopori berorde nano yang berkemampuan hidrogenasi yang mengandung logam aktif yaitu logam nikel. Merujuk kepada penelitian yang dilakukan sebelumnya, bahwa penggunaan katalis padat Ni/TiO_2 telah berhasil untuk mensintesis isopulegol menjadi mentol melalui reaksi hidrogenasi maka pada penelitian ini digunakan katalis tersebut, namun pada penelitian ini diberi sulfat untuk meningkatkan keasaman katalis tersebut. Pada penelitian ini telah digunakan tahapan seperti preparasi katalis padat asam $\text{TiO}_2\text{-SO}_4$ yang kemudian diimpregnasikan dengan Ni dengan metode sol gel. Penyangga dapat mempengaruhi adsorpsi dan aktivitas/selektivitas pada proses hidrogenasi gugus karbonil dari logam nikel (Jenie, 2009)

Senyawa hasil sintesis artemisinin akan diidentifikasi dengan FT-IR, ^1H NMR dan LC-MS yang sebelumnya telah dimurnikan dengan metode kromatografi kolom, lalu diuji aktivitas antikanker artemeter terhadap sel leukemia L1210, dengan disertai uji toksisitas pendahuluan yakni uji BSLT.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penelusuran pustaka diketahui bahwa sintesis turunan artemisinin sebelumnya menggunakan katalis homogen NaBH_4 maupun LiAlH_4 , sedangkan pada penelitian ini menggunakan katalis heterogen $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$ agar memudahkan dalam pemisahan antara katalis dan hasil sintesis. Penggunaan katalis padat dengan Pd/C sebagai katalis dalam sintesis turunan artemisinin membutuhkan waktu reaksi yang lama dan juga terbentuk turunan yang kehilangan gugus peroksidanya sedangkan senyawa target adalah artemeter yang masih memiliki gugus peroksida, sehingga dipilih katalis padat lain yang memiliki sifat reduktif yang lebih lemah, memiliki harga murah dan mudah diperoleh. Pada penelitian sebelumnya sintesis artemeter selalu melewati dua tahapan reaksi, namun pada penelitian ini dengan satu katalis bifungsional dapat melewati dua tahapan reaksi dalam satu wadah. Setelah hasil sintesis diperoleh maka akan diuji aktivitas antikanker terhadap sel leukimia L1210, dengan diawali uji pendahuluan toksisitas dengan uji BSLT.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh artemeter dari artemisinin dengan menggunakan katalis bifungsional $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$ dalam satu wadah reaksi (*one pot system reaction*) dan mengkaji aktivitas antikanker pada artemeter terhadap sel leukemia L1210.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker atau karsinoma berasal dari bahasa Yunani dari kata *Karkinos* yang berarti kepiting adalah pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (*maligne*). Suatu kelompok sel dengan mendadak menjadi liar dan memperbanyak diri secara pesat dan terus menerus (*proliferasi*). Akibatnya adalah pembengkakan yang disebut tumor atau neoplasma yang berasal dari kata *neo* yang berarti baru dan *plasma* yang berarti bentukan. Sel – sel kanker ini menginfiltrasi jaringan sekitarnya dan memusnahkannya. Tumor primer setempat itu sering kali menyebarkan sel–selnya melalui saluran darah dan limfe ke tempat lain ditubuh (*metastase*), untuk selanjutnya berkembang menjadi tumor sekunder (Tjay & Rahardja, 2007).

Sel kanker mengganggu tuan rumah karena menyebabkan desakan akibat pertumbuhan tumor, penghancuran jaringan tempat tumor berkembang atau bermetastasis dan gangguan sistemik lainnya sebagai akibat sekunder dari pertumbuhan sel kanker. Sifat umum dari kanker dicirikan dengan pertumbuhan berlebihan umumnya berbentuk tumor, gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan sehingga mirip jaringan mudigah, bersifat invasif, mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (perbedaan pokok dengan jaringan normal), bersifat metastatik, menyebar ke tempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru, memiliki hereditas bawaan (*acquired herepidity*) yaitu turunan sel kanker juga dapat menimbulkan kanker dan pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekuler dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Syarif et al., 2007)

Sitostatica atau *onkolitica* berasal dari bahasa Yunani yaitu *kytos* berarti sel, *statis* yang berarti terhenti, *ongkos* berarti benjolan dan *lysis* berarti melarutkan. Sitostatika merupakan zat-zat yang dapat menghentikan pertumbuhan pesat dari sel-sel ganas (*maligne*). Prinsipnya adalah penggunaan obat-obat dengan langsung merusak DNA dan RNA sel. Senyawa – senyawa ini mematikan sel–sel dengan menstimulir *apoptosis*. Dosis dan jadwal kemoterapi terbatas pada

daya tahan jaringan normal, terutama jaringan yang berkembang pesat seperti sumsum tulang dan mukosa saluran cerna, dan juga tergantung dari farmakokinetika obat bersangkutan dan afinitasnya terhadap jaringan tertentu (Tjay & Rahardja, 2007).

Kejadian penyebaran geografis dan perilaku beberapa jenis kanker berhubungan dengan berbagai faktor, termasuk jenis kelamin, usia, ras, predisposisi genetik dan paparan-paparan terhadap karsinogen-karsinogen lingkungan. Dari beberapa faktor ini, karsinogen lingkungan mungkin menjadi faktor terpenting. Karsinogenik kimia (khususnya karsinogenik dalam asap tembakau) serta agen-agen seperti pewarna azo, aflatoxin dan benzena jelas diketahui dapat menimbulkan kanker baik pada manusia dan hewan. Metode pengobatan saat ini, sepertiga jumlah pasien telah tertolong melalui langkah-langkah lokal seperti pembedahan dan terapi radiasi, yang cukup efektif apabila tumor ini belum mengalami metastasis pada saat pengobatan. Diagnosis sejak dini mungkin akan meningkatkan pemulihan pasien melalui pengobatan lokal tersebut. Meskipun pada beberapa kasus, mikrometastasis dini merupakan sifat karakteristik dari neoplasma, yang menunjukkan perlunya pendekatan sistemik seperti kemoterapi untuk menangani kanker secara efektif. Kesembuhannya hampir seluruhnya terjadi pada pasien yang penyakitnya belum menyebar pada saat pembedahan (Katzung, 2004).

Upaya utama untuk mengembangkan obat antikanker baik melalui penapisan empiris maupun rancangan senyawa baru yang rasional hingga sekarang berjalan lebih dari tiga dekade. Kemajuan-kemajuan mutakhir di bidang ini termasuk sintesis peptida-peptida dan protein-protein dengan teknik DNA rekombinan dan antibodi monoklonal (Katzung, 2004). Obat-obat antikanker diharapkan memiliki toksisitas yang selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal. Pada umumnya *antineoplastik* menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas, karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat misalnya sumsum tulang, epitel germinativum, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Terapi hanya dapat dikatakan berhasil baik, bila dosis yang digunakan

dapat mematikan sel tumor yang ganas dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang berproliferasi (Syarif et al., 2007).

Informasi terbaru mengenai kinetik sel dan massa sel tumor dapat menjelaskan keterbatasan efektivitas kebanyakan antikanker karena prinsip *total cell-killed* sangat penting dalam keberhasilan terapi ganas ini. Matinya sel tumor oleh antikanker mengikuti kinetik orde pertama, artinya obat tersebut membasmi sel sebanyak persentasi tertentu setiap kalinya. Misalnya pada pasien kanker metastatik mungkin terdapat lebih dari 10^{12} sel kanker dan sekiranya suatu antikanker dapat membasmi 99,99% sel kanker maka masih tertinggal sebanyak 10^8 sel kanker. Berbeda dengan infeksi bakteri, sisa sel kanker yang tidak terbasmi ini tidak dapat diatasi oleh faktor pertahanan tubuh dan dapat menyebabkan relaps (Syarif et al., 2007).

2.1.1 Jenis Jenis Kanker

Jenis – jenis kanker yang dikenal banyak sekali dan hampir semua organ dapat dihinggapi penyakit ganas ini, termasuk limfe, darah, sumsum dan otak. Bentuk – bentuk tumor dinamakan menurut jaringan tempat neoplasma berasal, yaitu :

- a) *Adenoma* : benjolan maligne pada kelenjar, misalnya pada prostat dan mamma.
- b) *Limfoma* : kanker pada kelenjar limfe, misalnya penyakit (non-) *Hodgkin* dan *P-Burkitt* yang berciri benjolan rahang.
- c) *Sarkoma* : neoplasma ganas yang berasal pembuluh darah, jaringan ikat, otot atau tulang, misalnya *sarkoma Kaposi*, suatu tumor pembuluh di bawah kulit tungkai dengan bercak–bercak merah.
- d) *Leukimia* : kanker darah yang berhubungan dengan produksi leukosit yang abnormal tinggi dan eritrosit sangat berkurang.
- e) *Myeloma* : kanker pada sumsum tulang misalnya penyakit *Kahler* (*multiple myeloma*) dengan pertumbuhan lain sel–sel plasma di sumsum. Sel plasma termasuk leukosit dan membentuk antibodi.
- f) *Melanoma* : neoplasma kulit yang luar biasa ganasnya, terdiri dari sel – sel pigmen, yang dapat menyebar dengan pesat. Neoplasma kulit lainnya yang

dapat terjadi adalah dari sel *basal* dan sel “*plaveisel*” (*squamous cell*). Berlainan dengan melanoma, kedua jenis kanker terakhir dapat disembuhkan (Syarif et al., 2007).

2.1.2 Golongan Obat Antikanker

Ditinjau dari siklus sel, obat dapat digolongkan dalam dua golongan, yang pertama ialah yang memperlihatkan toksisitas selektif terhadap fase-fase tertentu dari siklus sel dan disebut zat *cell cycle-specific* (CSS), misalnya vinkristin, vinblastin, merkaptopurin, hidroksiurea, merotreksat dan asparaginase. Zat CSS ini terbukti efektif terhadap kanker yang berproliferasi cepat misalnya kanker sel darah. Golongan kedua ialah zat *cell cycle-nonspecific* (CCNS) misalnya zat alkilator, antibiotik antikanker (daktinomisin, daunorubisin, doksorubisin dan nitrosourea). Perbedaan kerja tersebut adalah lebih bersifat relatif daripada absolut karena banyak zat yang tergolong CCNS lebih efektif terhadap sel yang berproliferasi dan terhadap sel-sel yang sedang dalam fase tertentu siklusnya. Misalnya bila DNA sel klonogenik yang telah teralkilasi diperbaiki sebelum sel memasuki fase S, maka sel tersebut tidak dipengaruhi oleh zat alkilator (Syarif et al., 2007).

Ditinjau dari mekanisme kerjanya, obat-obat antitumor pada umumnya dibagi dalam beberapa golongan yakni, zat alkilasi, antimetabolit, antimitotika, antibiotika, imunomodulansia, hormon dan antihormon, obat lainnya dan obat alternatif. Contohnya seperti klormetin, busulfan, asam folat, doksoorubiksin, taxol, prokarbazin dan lainnya (Tjay & Rahardja, 2007).

2.1.3 Uji Aktivitas Antikanker

2.1.3.1 Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker yang berasal dari tanaman. Metode ini terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat (Meyer, 1982).

2.1.3.2 Sitotoksik Terhadap Sel Leukemia L1210

Salah satu cara uji pendahuluan dalam penentuan senyawa yang berkhasiat sebagai anti kanker adalah uji daya hambat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210. Sel leukemia L1210 yang menjadi target percobaan aktivitas antikanker ini adalah satu galur (strain) sel leukemia tikus yang secara rutin telah digunakan untuk uji senyawa anti kanker, baik *in vitro* maupun *in vivo* menggunakan tikus percobaan. Sel leukemia L1210 diperoleh dari *The Institute of Physical and Chemical Research Japan* (RIKEN). Sel leukemia L1210 tersebut kemudian disuspensikan ke dalam formula media RPMI-1640 dan mengandung larutan *Bovine Calf Serum*.

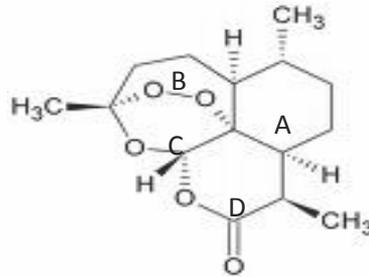
Metode pengujian aktivitas penghambatan terhadap perkembangan sel leukemia L1210 yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *in vitro* yang ditujukan sebagai suatu penapisan terhadap senyawa antitumor pada suatu senyawa bukan merupakan suatu metode yang menjelaskan mekanisme antitumor dari senyawa tersebut. Metode ini biasanya dipilih karena merupakan metode penapisan awal yang tepat dan dapat diketahui secara cepat dengan zat uji yang dibutuhkan sangat sedikit terhadap aktivitas penghambatan suatu senyawa antikanker. Persentasi penghambatan pertumbuhan sel oleh suatu senyawa kimia dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \left(1 - \frac{\Sigma \text{ sel hidup dalam medium pada zat uji}}{\Sigma \text{ sel hidup dalam kontrol}} \right) \times 100 \% \quad (2.1)$$

Ekstrak kasar dari suatu bahan alam yang dapat diuji secara langsung dalam biakan sel leukemia L1210. Jika hasilnya positif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210, maka dapat dikatakan ekstrak tersebut aktif sebagai inhibitor. Sebagai ukuran aktivitas sitotoksik, ditentukan IC_{50} dari ekstrak kasar tersebut. Ekstrak atau fraksi dinyatakan aktif bila $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas kristal (isolat) dikatakan aktif sebagai antikanker bila nilai $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$ (Sumatra, 1998)

2.2 Artemisinin

2.2.1 Monografi (Merck, 2001)



Gambar 2.1 Struktur artemisinin

Rumus molekul	: $C_{15}H_{22}O_5$
Berat molekul	: 282,332 g/mol
Pemerian	: Kristal ortorombik tak berwarna dan berbentuk jarum
Kelarutan	: Sangat larut dalam pelarut nonpolar bertitik didih rendah seperti kloroform, eter, dietil eter, aseton dan etil asetat dan sedikit larut dalam air dan minyak dan dapat terurai dalam pelarut yang mengandung proton dengan terbukanya cincin lakton.

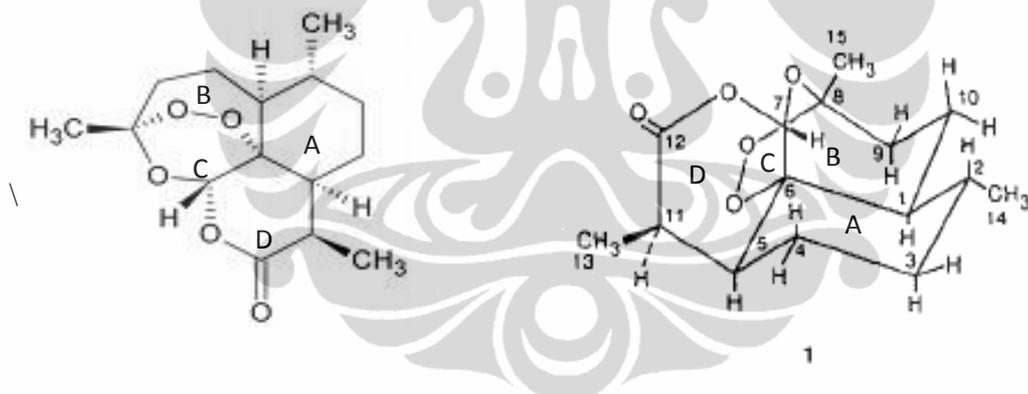
2.2.2. Struktur, Sifat Fisik dan Kimia Artemisinin

Struktur artemisinin termasuk kelompok seskuiterpen lakton (β -valerolakton) dan dari data analisis spektrofotometri massa resolusi tinggi, disimpulkan senyawa tersebut mempunyai BM 282,34 g/mol dengan distribusi 63,81 % C; 7,85% H dan 28,33% O. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa artemisinin mempunyai rumus empiris $C_{15}H_{22}O_5$. Nama IUPAC artemisinin adalah [3R- (3 α ,5 α β ,6 β ,9 α ,12 β ,12 α)]- oktahidro- 3, 6, 9-trimetil-3, 12- epoksi-12 H- pirano [4,3-*j*]- 1,2-benzo-dioksepin-10 (3H)-on, sedangkan nama lain artemisinin adalah artemisinin, arteannuin, *huang hua haosu*, *qinghaosu*, QHS dan qing hau sau (The Merck, 2001).

Data kristalografi sinar X menunjukkan bahwa 15 atom karbon dan 5 atom oksigen sebagai unsur penyusun dalam struktur artemisinin tersusun dari 4 cincin: A, B, C dan D. Cincin A merupakan sikloheksana dengan konformasi kursi,

cincin D merupakan δ -lakton yang berperan dalam pelekukan konformasi kursi, sedangkan cincin B dan C merupakan cincin yang jenuh dengan atom oksigen dan keduanya terpisah oleh jembatan peroksida. Keempat cincin dalam struktur artemisinin mempunyai hubungan ikatan yang erat satu sama lainnya. Hubungan ikatan antara cincin A-D, A-B dan C-D adalah cis, sedangkan B-D adalah trans (CCRG, 1982).

Sifat fisik senyawa artemisinin adalah merupakan suatu kristal ortorombik tak berwarna dan berbentuk jarum, titik lebur 156-157°C (12), 153-154 °C (13), 150-152 °C (14), 154 °C (15), $[\alpha]_D^{17} = 66,3$ ($c=1,64$, CHCl_3) dan rapatannya 1,30 g/cm^3 . Sifat kimia artemisinin adalah sangat larut dalam pelarut non polar bertitik didih rendah seperti kloroform, petroleum eter, dietil eter, aseton dan etil asetat dan sedikit larut dalam air, minyak dan dapat terurai dalam pelarut yang mengandung proton dengan terbukanya cincin lakton. Stabilitas termal struktur artemisinin sampai dengan suhu 150°C dan akan terdekomposisi bila dipanaskan sampai suhu 180-200°C (Geldre et al., 1997).



Gambar 2.2 Struktur dan stereokimia artemisinin (Blasko & Cordell, 1998)

2.2.3. Farmokologi

Artemisinin atau “*Qinghaosu*” termasuk kelompok seskuiterpen lakton. Turunan artemisinin ini merupakan obat *partner* pilihan untuk kombinasi obat karena kelebihanannya yaitu diabsorpsi baik, aman, cepat diubah menjadi bentuk metabolit yang aktif, mempunyai waktu paruh yang sangat pendek (2 jam), aktivitasnya luas dan sangat kuat. Kelemahan dari kelompok artemisinin ini adalah memerlukan waktu pengobatan lama apabila pengobatan hanya menggunakan obat artemisinin saja (*monotherapy*) (Lin, et al., 1995).

2.2.4. Sintesis Senyawa Turunan Artemisinin

Modifikasi molekul menurut pendekatan Topliss adalah memasukkan gugus-gugus yang memiliki sifat lipofil, elektronik dan sterik tertentu pada posisi tertentu pada suatu struktur molekul induk, dengan ramalan akan menghasilkan senyawa yang memberikan aktivitas lebih tinggi, sama atau lebih rendah dibanding aktivitas senyawa induk dan kemudian di cari jalur sintesis yang paling menguntungkan. Modifikasi molekul atau melakukan sintesis analog senyawa penuntun yaitu senyawa yang telah terbukti mempunyai aktivitas biologi, tetapi aktivitasnya lemah kurang spesifik atau toksisitasnya tinggi, merupakan metode pengembangan obat yang dewasa ini banyak sekali digunakan (Nogrady, 1985)

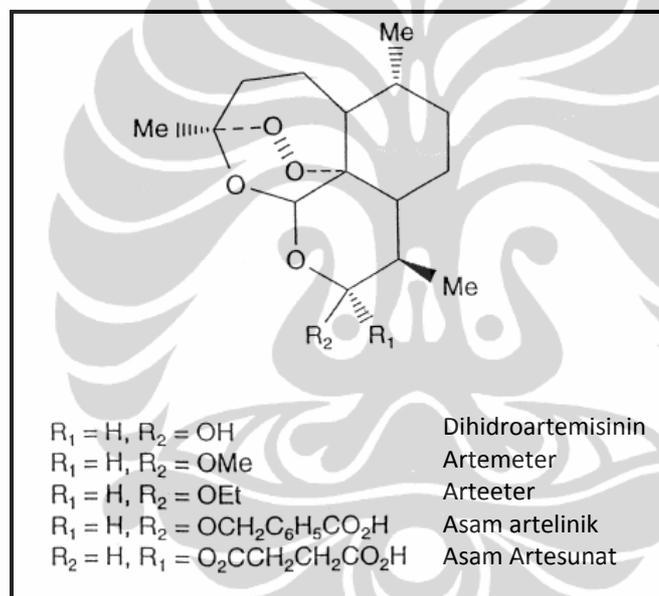
Modifikasi struktur molekul adalah dasar pengembangan kimia organik yang bertujuan untuk mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi, masa kerja lebih panjang, tingkat kenyamanan lebih besar, toksisitas atau efek samping lebih rendah, lebih selektif dan lebih stabil. Dasar modifikasi molekul adalah mengembangkan struktur senyawa induk yang sudah diketahui aktivitas biologinya, kemudian disintesis dan diuji aktivitasnya (Siswandono & Soekardjo, 1995).

Modifikasi struktur mengakibatkan perbedaan seperti sifat fisika kimia dan reaktifitas struktur secara kimia yang selanjutnya menyebabkan perbedaan distribusi dalam sel jaringan perjalanan sampai ke lokasi yang berupa enzim reseptor/akseptor. Laju serta pola metabolisme dan ekskresi senyawa tersebut. Modifikasi struktur kimia sangat kecil dapat menemukan efek biologis yang semula tersembunyi atau tertutup oleh efek yang lain. Modifikasi kadang dapat menemukan efek samping yang tidak terduga kemudian digunakan sebagai penuntun dalam rancangan obat (Sardjoko, 1993).

Aplikasi klinik artemisinin sebagai *therapeutic agent* dibatasi oleh beberapa faktor yakni aktivitas oralnya rendah pada dosis tinggi yang dikehendaki, waktu paruh dalam plasma rendah dan kelarutannya terbatas baik dalam lemak dan air . Selain itu, artemisinin juga dapat terurai dalam pelarut yang mengandung proton (*protic solvent*). Oleh karena itu, usaha untuk mengatasi masalah terapi dan farmasi ini, antara lain melalui modifikasi struktur kimia artemisinin menjadi senyawa analognya sangatlah penting dan diharapkan akan

memberikan keuntungan dibandingkan dengan senyawa induknya (Klayman, 1985).

Turunan artemisinin yang banyak dikenal adalah dihidroartemisinin, artesunat dan artemeter. Dihidroartemisinin dan artesunat merupakan turunan artemisinin yang lebih larut dalam air, lebih aktif dari senyawa induk dan memiliki toksisitas rendah, namun memiliki periode aktifitas terpendek dalam tubuh karena waktu paruh dalam aliran darah sangat singkat. Artemeter merupakan turunan artemisinin yang larut dalam lemak dan waktu paruhnya lebih lama dibanding artemisinin dan juga lebih bersifat toksik. Berdasarkan sifat larut dalam lemak maka artemeter lebih mudah melewati penghalang darah otak.



Gambar 2.3 Struktur turunan-turunan artemisinin

2.2.5. Penelitian yang Berkaitan dengan Artemisinin dan Turunannya

Artemisinin direduksi dengan reduktor $NaBH_4$ pada kisaran suhu $0-5^\circ C$ dengan lama pengadukan satu jam, menghasilkan rendemen dihidroartemisinin 75%. Reduksi artemisinin dengan reduktor $NaBH_4$ juga pernah dilakukan oleh CCRG (1982) dan El-Ferally et al dan Vishwakarma (1990), walaupun langkah percobaannya tidak dijelaskan, tetapi rendemen dihidroartemisinin yang dihasilkan berturut-turut 75%, 79% dan 85% (Lin et al., 1987)

Kelompok peneliti Cina yang tergabung dalam QACRG (1979) melaporkan bahwa artemisinin beraksi parasitidal langsung melawan plasmodium pada tahapan eritrositik baik *in vitro* maupun *in vivo*. Klayman (1985) melaporkan bahwa terbentuknya radikal bebas artemisinin dipacu oleh ion besi II yang terikat kovalen dalam molekul hemoglobin. Terbentuknya radikal bebas terdeteksi oleh alat voltameter yang ditandai dengan pergeseran potensial reduksi artemisinin sebesar 0,6 Volt dan juga dapat dibuktikan dengan alat spektroskopi *elektron paramagnetic resonance* (EPR), data percobaan lain yang mendukung mekanisme aksi tersebut adalah:

1. Hasil telaah dari beberapa pustaka menyebutkan bahwa senyawa turunan artemisinin yang tidak memiliki jembatan peroksida (dikenal sebagai sumber radikal bebas oksigen), senyawa tersebut tidak memiliki aktivitas anti malaria (Klayman, 1985).
2. Penambahan senyawa oksidan atau pembangkit terbentuknya radikal seperti doksorubin mikonazol kastesin artemisinin dengan adanya konsentrasi oksigen yang tinggi ke dalam artemisinin masih dapat meningkatkan aktivitas antimalaria artemisinin, hanya saja cara kerja artemisinin dalam menghambat plasmodium berbeda dengan cara kerja senyawa oksidan pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya kerusakan sel seperti lipid peroksida setelah terbentuknya radikal bebas artemisinin (Meshchik et al., 1996)
3. Penambahan senyawa antioksidan seperti alfa-tokoferol, dengan katalis ditiotreitol, asam askorbat, dan glutathion tereduksi dapat menghambat kerja artemisinin sebagai zat antimalaria. Sebaliknya jika substrat kekurangan alfa-tokoferol, aktivitas antimalaria dan senyawa artemisinin meningkat (Meshchik et al., 1996).

Berdasarkan mekanisme kerja artemisinin diatas telah mendorong peneliti dari *University of Washington* melakukan penelitian pada beberapa *cell line* kanker secara *in vitro* dan memberkan hasil yang memuaskan, setelah itu artemisinin dikembangkan sebagai obat anti kanker hingga saat ini. Malaria merupakan penyakit yang disebabkan plasmodium yang menginfeksi darah merah yang kaya akan besi, akumulasi besi terjadi di dalam tubuh parasit. Keberadaan

besi akan memutuskan ikatan jembatan peroksida pada artemisinin sehingga merubah artemisinin kedalam bentuk radikal bebas yang akan menyebabkan kematian parasit. Akumulasi besi yang sangat tinggi terjadi juga pada sel-sel kanker karena sel sel kanker membutuhkan banyak kandungan besi untuk pembelahan selnya yang sangat cepat, sehingga pada permukaan sel kanker akan dilengkapi reseptor transport besi yang jauh lebih banyak dibanding sel normal yang disebut reseptor transferin, ketika artemisinin dimasukkan kedalamnya maka artemisinin akan membunuh dan menghambat sel kanker tersebut. Sel leukemia memiliki konsentrasi besi terbanyak yakni seribu kali lebih besar daripada sel normal (Lai & Narendra, 2007; White 2002)

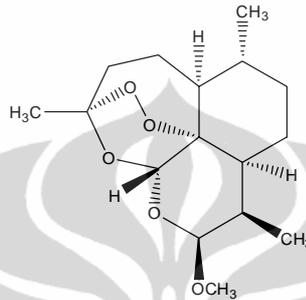
Tabel 2.1 Beberapa turunan artemisinin yang telah disintesis (Purwatiningsih, 1993)

No	Reaktan	Pereaksi,katalis dan kondisi reaksi	Produk
1	Artemisinin	Metanol/NaBH ₄ pada 0 – 5°C Gas H ₂ , logam Pd/CaCO ₃ K ₂ CO ₃ /Metanol LiAlH ₄ 10% H ₂ SO ₄ /CH ₃ COOH glasial pada Suhu kamar selama 1 jam	Dihidroartemisinin Deoksiartemisinin Turunan artemisinin bentuk α-peroksida Sikloheksanopiran dan sikloheksan polialkohol Norseskuiterpenalaktan dan dekalon (γ-lakton)
2.	Dihidro artemisinin	Metanol/BF ₃ -Dietil eter Etil Iodida/CH ₂ Cl ₂ /Ag ₂ O Disikloheksilkarbodiimida/DMSO/ H ₃ PO ₄ /O ₂ /metilen blue/650 watt-25°C/Ac ₂ O/piridin Dietil eter anhidrat/ R(CH ₂) _n OH/BF ₃ -dietil eter pada suhu kamar selama 24 jam Gas H ₂ , logam Pd/CaCO ₃ Termolisis pada suhu 190°C HCl atau anhidrida suksinat/piridin Esterkloroformat/trietil-amin/4-dimetil aminopiridin	Artemeter A-artemeter Artemisiten Turunan ester Desoksiartemisinin Desoksiartemisinin dan diketonaldehid Asam artesunat Turunan dihidroartemisinin karbonat

Tabel 2.1 Beberapa turunan artemisinin yang telah disintesis (lanjutan)

No	Reaktan	Pereaksi,katalis dan kondisi reaksi	Produk
3	Artemisiten	Fotooksigenasi/CH ₂ Cl ₂ /tri-fenilfosfin/suhu kamar Aseton/NMO/OsO ₄	Dihidroartemisiten 9,9a-dihidroksiartemisiten

2.3 Artemeter



Gambar 2.4. Struktur artemeter

Rumus molekul : C₁₆H₂₆O₅

Berat molekul : 298,374 g/mol

Nama IUPAC artemeter adalah [3R-(3 α , 5 $\alpha\beta$, 6 β , 8 $\alpha\beta$, 9 α , 10 α , 12 β , 13 α]-dekahidro-10 metoksi-3,6,9 – trimetil-3,12-epoksi-12H-pirano [4,3]-1,2-benzodioxepin. Nama lainnya adalah O-metil dihidroartemisinin. Rumus molekulnya C₁₆H₂₆O₅ dengan bobot molekul 298 g/mol. Artemeter merupakan senyawa benzodioxepin ini adalah turunan semi sintetik dari artemisinin yang terkandung dalam tumbuhan Cina *artemisia annua*. Artemeter adalah metil eter yang larut dalam lemak. Dari beberapa uji klinik terlihat bahwa artemeter cepat sekali mengatasi parasitemia pada malaria yang ringan maupun berat (The Merck, 1989).

Artemeter oral segera diserap dan mencapai kadar puncak dalam 2-3 jam sedangkan artemeter Intra muskular mencapai kadar puncak dalam 4-9 jam Obat ini mengalami demetilasi dalam hati menjadi dihidroartemisinin. Waktu paruh eliminasi artemeter sekitar 4 jam. sedangkan dihidroartemisinin sekitar 10 jam. Ikatan protein plasma beragam antar spesies, pada manusia sekitar 77% terikat pada protein, berdasarkan penelitian sebelumnya dengan zat radioaktif kadar artemeter dalam plasma sama dengan dalam eritrosit, menunjukkan bahwa distribusi ke eritrosit sangat baik (Syarif et al., 2007).

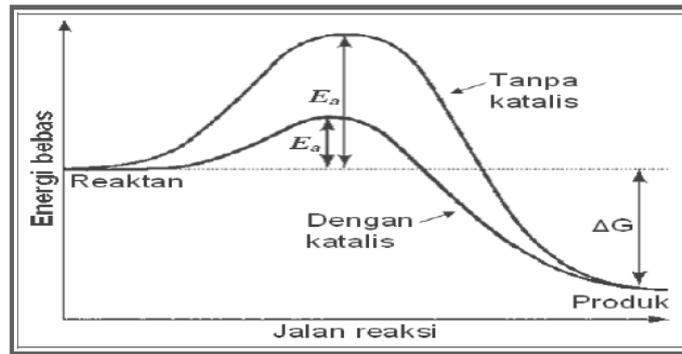
Artemeter diperoleh melalui intermediet dihidroartemisinin dalam alkohol pada suasana asam akan berubah gugus hidroksil pada dihidroartemisinin menjadi artemeter, reaksi pembentukan artemeter ini disebut metilasi alkohol. Artemeter akan memiliki kepolaran yang lebih kecil daripada senyawaan artemisinin dan dihidroartemisinin karena artemeter larut dalam lemak. Berdasarkan penelitian sebelumnya artemeter dibuat melalui reaksi metilasi antara dihidroartemisinin dan alkohol dengan katalis BF_3 -dietil eter. Pada tahun 1982 CCRG mereaksikan dihidroartemisinin dan metanol dengan katalis $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ menghasilkan β -artemeter. Haynes & Vonwiller pada (1994) menghasilkan artemeter berupa rasemat. Lin et al (1989) mereaksikan artemisinin dengan berbagai alkohol telah menghasilkan produk utama bentuk ester dan artemeter merupakan produk minor, Lin et al (1981) mereaksikan dihidroartemisinin dengan logam iodida/ Ag_2O diperoleh produk α -artemeter. Dari beberapa penelitian ini tidak menyebutkan rendemen artemeter yang dihasilkan.

2.4 Katalis

2.4.1 Pengertian Katalis

Istilah katalis pertama kali diperkenalkan oleh Berzelius pada tahun 1836 dalam bahasa Yunani, yang dalam bahasa Inggris berarti *Loosening down* atau dalam bahasa Indonesia longgar/lepas. Beliau menyatakan bahwa katalis adalah sesuatu yang misterius. Fenomena katalis telah dipelajari secara intensif sejak awal dekade abad ke-19, Kirchoff pada tahun 1814 menemukan asam sebagai katalis hidrolisis tepung/kanji yang merupakan contoh klasik dari katalis homogen (Thomas dan Thomas, 1997).

Menurut Satterfield, katalis adalah suatu bahan kimia yang dapat meningkatkan laju suatu reaksi kimia dan setelah reaksi kimia berakhir bahan tersebut akan diperoleh kembali. Keberadaan katalis akan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi sehingga laju reaksi dapat ditingkatkan. Penurunan energi aktivasi ini disebabkan reaksi tersebut menempuh jalan lain yaitu katalis akan bereaksi dengan reaktan sebelum berinteraksi dengan reaktan lainnya. Hasil interaksi katalis dengan reaktan merupakan zat perantara (intermediet) yang reaktif dan selanjutnya dapat menghasilkan produk reaksi (Atkins, 1997).



Gambar 2.5 Hubungan antara energi bebas reaksi (G) terhadap jalan reaksi

Katalis digunakan untuk menurunkan energi aktivasi, energi aktivasi adalah energi minimum yang dibutuhkan oleh campuran reaktan untuk menghasilkan produk. Hubungan antara energi bebas aktivasi terhadap jalannya reaksi terlihat pada gambar 2.5.

2.4.2 Jenis-jenis Katalis

Katalis dapat dikelompokkan atas tiga jenis, yaitu:

1. Katalis Enzim

Katalis enzim adalah molekul protein dengan ukuran koloid, dimana katalis ini memiliki fasa yang berada antara katalis homogen dan heterogen. Enzim dikenal sebagai katalis biologi, enzim dapat meningkatkan kecepatan reaksi dalam sel hidup tanpa dirinya mengalami perubahan apapun, reaktan yang dikatalisisnya disebut substrat, setiap enzim bersifat spesifik terhadap substrat untuk menghasilkan produk tertentu (Hudiyono, 1998).

2. Katalis Homogen

Katalis homogen adalah katalis yang memiliki fasa yang sama dengan substratnya dan reaksi terjadi pada fasa yang sama, misalnya asam sulfat. Kelemahan katalis homogen yaitu tidak dapat digunakan kembali, pemisahan yang sulit antara produk dengan katalis (Kiss & Dimian, 2007).

3. Katalis heterogen

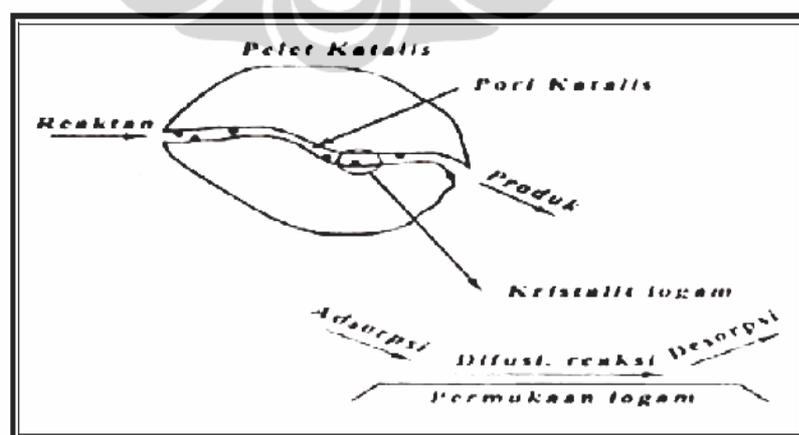
Katalis heterogen adalah katalis yang berada dalam fasa yang berbeda dengan substratnya. Reaksi ini umumnya menggunakan katalis dalam

bentuk fasa padat dengan substrat fasa cair atau gas. Sehingga interaksi yang akan terjadi dapat berupa padat-gas dan padat-cair. Keuntungan katalis heterogen ini adalah mudah dipisahkan dari produk (fasa cair), tidak beracun, tidak bersifat korosif dan tidak mencemari lingkungan (Serio et al., 2007)

Katalis heterogen mempunyai sifat kimia yang spesifik pada permukaan dan biasanya menyangkut struktur dan kereaktifan permukaannya. Oleh karena itu, dengan mengetahui struktur dan reaktifitas permukaan padatan maka kemampuan katalitiknya dapat diketahui.

Proses katalitik menggunakan katalis heterogen lebih kompleks dari katalis homogen karena katalis tidak terdistribusi secara merata dalam medium reaksi. Interaksi reaktan dengan katalis heterogen melibatkan lima tahapan reaksi sebagai berikut:

1. Transport dari reaktan ke permukaan katalis
2. Interaksi antara reaktan dengan katalis
3. Reaksi antara spesies-spesies yang teradsorpsi untuk menghasilkan produk
4. Desorpsi katalis produk
5. Transport produk menjauhi katalis



Gambar 2.6 skema reaksi katalitik dalam rongga katalis (Gates, 1979).

Pada tahap 1 dan 5 merupakan transport fisik dan melibatkan porositas sebagai faktor utama. Pada tahap 2 dan 4 terdapat interaksi antara reaktan dan katalis yang melibatkan perubahan kimia dan tahap 3 merupakan tahap penurunan energi aktivasi reaksi. Skema proses katalitik akan dijelaskan pada gambar 2.6.

Secara umum katalis heterogen diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu oksida logam dan logam. Oksida logam sering digunakan sebagai katalis oksidasi karena aktifitasnya yang dapat bertindak sebagai asam atau basa. Berikut ini adalah beberapa contoh katalis heterogen:

Tabel 2.2 Reaksi katalisis dan katalis umum yang biasa digunakan (Gates, 1979).

Contoh	Kelompok	Fungsi reaksi	Contoh reaksi
Ni, Pd, Pt, Cu,	Logam	Hidrogenasi C=C	Olefin + H ₂ → parafin
Ni, Ag, Re + Pt		Hidrogenasi C=O	Aseton + H ₂ → Isopropanol
		Oksidasi	Etilen + O ₂ → Etilen Oksida
		Dehidrogenasi	n-heptana → Toluena + 3 H ₂
ZnO ₄ , Fe ₂ O ₃ ,	Oksida logam,	Oksidasi,	CH ₃ OH → CH ₂ O
MoO ₃ , V ₂ O ₅ ,		semikonduktor	Hidrogenasi C=C
Cr ₂ O ₃		Polimerasi Olefin	n(-C=C-) → (-C-C-)n
Al ₂ O ₃ , SiO ₂	Oksida logam,	Dehidrasi	Alkohol → Olefina + H ₂ O
dan MgO		Insulator	
Si-O ₂ -Al ₂ O ₃	Asam	Polimerasi, alkilasi dan isomerisasi	n(-C=C-) → (-C-C-)n

Katalis biasanya tersusun dari komponen-komponen yang dapat menunjang sifat dan fungsinya katalis yang diinginkan. Komponen tersebut meliputi:

1. Pusat aktif, merupakan bagian penting yang mempunyai fungsi utama yaitu mempercepat dan mengarahkan reaksi, sehingga komponen ini harus aktif mengkonversi reaktan dan selektif terhadap pembentukan produk yang diinginkan.
2. Penyangga, merupakan tempat terdistributornya pusat aktif katalis, fungsi utama dari penyangga adalah menaikkan luas permukaan katalis. Selain itu

penyangga juga berfungsi untuk menghasilkan kekuatan mekanik dari suatu bahan katalis yang mudah rapuh dan menstabilkan struktur aktif katalis.

3. Promotor, komponen ketiga ini ditambahkan dalam jumlah yang relatif sedikit pada saat preparasi katalis yang berfungsi meningkatkan kinerja katalis seperti aktivitas, stabilitas dan selektifitas katalis.

Berdasarkan sifat katalis yang diharapkan adalah katalis yang aktif selektif, stabil, dan ekonomis. Faktor penting dalam kestabilan katalis adalah sifat fisika dan kimia, karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti aktivitas dan selektifitas katalis berubah terhadap waktu dan akan menyebabkan kestabilan katalis menurun. Semakin lama katalis digunakan, keaktifan dan selektifitas akan berkurang sampai suatu ketika akan tidak berfungsi akibat terjadinya keracunan katalis, pengurangan luas permukaan karena reaksi suhu tinggi (*sintering*) dan pembentukan deposit karbon (*fouling*).

Ada beberapa parameter katalis heterogen (Khalaf et al., 2007)

Beberapa faktor yang harus diperhatikan untuk mendapatkan katalis yang baik yaitu:

1. Aktivitas, yaitu kemampuan katalis untuk meningkatkan laju reaksi agar keseimbangan dapat tercapai.
2. Selektifitas, yaitu kemampuan katalis untuk mengkonversi reaktan menjadi produk tertentu dalam jumlah yang paling banyak daripada yang lain.
3. Kestabilan, yaitu lamanya katalis memiliki aktivitas dan selektifitas seperti keadaan semula.
4. Rendemen atau *yield*, yaitu jumlah produk tertentu yang terbentuk untuk setiap satuan jumlah reaktan yang dikonsumsi (biasanya dinyatakan dalam % berat produk)
5. Regenerasi, yaitu proses pengembalian aktivitas dan selektifitas katalis seperti semula.

2.4.3 Logam Nikel Sebagai Katalis

Nikel sebagai katalis metanasi CO dan CO₂ telah banyak dikaji oleh para peneliti sebelumnya. Aktivitas katalitik yang tinggi, diikuti dengan fakta bahwa hidrogen terserap kedalam pori-pori katalis selama aktivasi, menjadikan nikel

sebagai katalis yang berguna untuk banyak reaksi hidrogenasi. Stabilitas termal dan strukturnya (tidak terurai pada temperatur yang tinggi) memungkinkan penggunaan katalis ini pada kisaran reaksi yang luas. Selain itu, solubilitas nikel boleh diabaikan pada kebanyakan pelarut, kecuali pada asam klorida dan densitasnya yang relatif tinggi (antara 6-7 g/cm³) juga memfasilitasi pemisahan fase cair setelah reaksinya selesai. Katalis nikel lebih umum digunakan karena harga dari katalis nikel lebih murah dibandingkan dengan katalis padat lainnya dengan perbedaan kereaktifan yang relatif tidak signifikan (Usman, 2001).

2.4.4 Penyangga Katalis

Penyangga katalis yang umumnya dipilih dari oksida anorganik, digunakan untuk membantu penyebaran panas dari partikel logam sehingga dapat meningkatkan stabilitas termal dari logam dan menghindari hilangnya luas permukaan logam karena proses *sintering*. Penyangga dapat menghasilkan katalis efisiensi tinggi dengan luas area spesifik yang besar, meningkatkan stabilitas termal dan waktu hidup katalis yang disebabkan oleh pemisahan dan dilusi partikel logam serta interaksi partikel logam dengan penyangga.

Disamping itu, penyangga dapat menghasilkan katalis yang lebih selektif, yang tergantung pada reaksi tersebut tergolong peka terhadap struktur atau tidak. Oleh karena itu, pemilihan penyangga menjadi sangat penting dalam mendisain katalis untuk mendapatkan reaksi yang kita inginkan. Pemilihan penyangga biasanya didasarkan pada luas area spesifik, sifat porositas, kestabilan termal, aktivitas dan selektivitas (Foger, 1984)

Titanium adalah logam transisi yang berwarna perak keabu-abuan, merupakan unsur ke-9 yang terbanyak dikerak bumi (0,6%) dalam bentuk biji-biji mineral. Titanium mempunyai konfigurasi [Ar] 3d² 4s² (Cotton & Wilkinson). Titania terdapat dalam tiga modifikasi kristalin yaitu anatas, rutil dan brookit. Anatas dan rutil umumnya digunakan sebagai adsorben, pigmen dan katalis. Luas permukaan titania anatas dan rutil berkisar antara 5-100m²/g. Anatas dan rutil berbentuk kisi tetragonal, sementara brookit berbentuk ortorombik. Unit struktural ketiga bentuk tersebut adalah oktahedron TiO₆. Perbedaan ketiga kristal tersebut terletak pada perbedaan penyusunan pada struktur oktahedronnya. Titanium juga

berada dalam keadaan valensi 3^+ dan 2^+ dan perlakuan titanium dibawah kondisi reduksi dapat menyebabkan pembentukan fase oksida nonstoikiometri (Foger, 1984).

TiO_2 merupakan senyawa inert secara biologis dan tidak menunjukkan efek toksik yang akut serta berbahaya untuk pernafasan dan memiliki titik lebur yang tinggi yakni $1855^\circ C$ dan merupakan semikonduktor. Titanium dioksida memiliki tiga jenis kristal yaitu brokit, rutil, dan anatase. Dalam kristal-kristal murni ini titanium dioksida tetapi masih mengandung pengotor seperti besi, krom, atau vanadium. Rutil memiliki bentuk stabil secara termodinamika dan lebih stabil dibandingkan anatase dan brokit. TiO_2 stabil secara termal dan sangat inert, jika dipanaskan dalam keadaan vakum maka hanya sedikit kehilangan oksida dan membentuk TiO yang berwarna biru tua, dan kembali berwarna putih seperti semula jika dipanaskan di udara (Atkins, 1997)

2.4.5 Preparasi Katalis

2.4.5.1 Impregnasi

Pada metode impregnasi, umumnya penyangga dilakukan kontak dengan sejumlah larutan prekursor logam (biasanya garam) kemudian dikeringkan dan dikalsinasi. Berdasarkan jumlah larutan yang digunakan, metode ini dapat dibagi atas dua kategori yaitu:

1. Impregnasi kering, dimana volume larutan prekursor yang digunakan tidak melebihi volume pori penyangga. Pada metode ini, larutan ini prekursor disemprotkan pada penyangga terus menerus sambil diaduk, setelah gas pada penyanggan terlebih dahulu dievakuasi. Penetrasi prekursor yang lebih dalam lagi dapat dicapai dengan menggunakan air yang terperangkap dalam pori bagian dalam, sehingga diperoleh distribusi logam prekursor yang lebih seragam dan merata. Pada prinsipnya metode ini sederhana, ekonomis (terutama ketika menggunakan larutan dengan komponen aktif yang mahal) dan dapat menghasilkan muatan logam yang sesuai dengan diinginkan.
2. Impregnasi basah, dimana larutan prekursor yang digunakan melebihi volume pori penyangga. Campuran kemudian dibiarkan beberapa saat

sambil terus diaduk. Setelah semua pelarutnya habis, bubuk katalis kemudian dikeringkan. Oleh karena itu, konsentrasi prekursor logam pada penyangga tidak hanya tergantung pada konsentrasi larutan dan volume pori penyangga tapi juga tergantung pada jenis atau konsentrasi sisi adsorpsi yang ada pada permukaan.

2.4.5.2 Metode Presipitasi

Secara umum metode presipitasi dapat dibagi menjadi 2 kategori yaitu :

1. Metode koresipitasi, Pada metode ini larutan yang mengandung garam logam dan garam dari senyawa yang akan dikonversi menjadi penyangga dicampur dengan larutan basa sambil dilakukan pengadukan untuk diendapkan sebagai hidroksida dan atau karbonat. Setelah pencucian, hidroksida atau karbonat tersebut dapat diubah menjadi oksida dengan pemanasan.
2. Deposisi presipitasi, Metode ini secara prinsip sama dengan metode koresipitasi, yaitu presipitasi logam hidroksida atau karbonat. Pada partikel penyangga lewat reaksi basa dengan prekursor logam. Hal yang ditekankan pada metode ini adalah presipitasi prekursor logam terjadi didalam pori penyangga. Oleh karena itu, nukleasi dan pertumbuhan pada permukaan penyangga akan menghasilkan distribusi yang seragam dari partikel-partikel kecil pada penyangga. Sebaliknya nukleasi dan pertumbuhan yang cepat pada larutan bulk hanya akan menghasilkan ukuran kristal yang besar dan distribusi yang tidak homogen, karena partikel yang besar tidak dapat masuk ke dalam pori tapi hanya deposit pada permukaan eksternal. Untuk mendapatkan hasil yang baik, harus dilakukan pencampuran yang efisien dengan penambahan larutan alkali secara perlahan-lahan untuk menghindari terbentuknya konsentrasi lokal (Pinna, 1998)

2.4.5.3 Metode Penukar Ion

Oksida anorganik seperti Al_2O_3 , SiO_2 , TiO_2 , MgO yang biasa digunakan sebagai penyangga katalis cenderung terpolarisasi dan mempunyai muatan

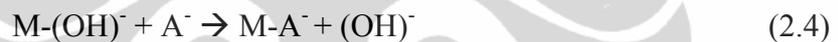
permukaan ketika disuspensikan dengan larutan berair. Muatan ini dapat dikontrol dengan pH larutan menurut persamaan reaksi:



Dalam media asam (persamaan 1) sisi permukaan adsorpsi (M-OH) bermuatan positif yang dikelilingi oleh anion, sementara pada media basa (persamaan 2) akan bermuatan negatif dan dikelilingi kation. Pada masing-masing oksida terdapat pH tertentu dimana sisi permukaan pada larutannya tidak bermuatan, pH ini disebut dengan PZC (*zero point of charge*) atau titik isoelektrik.

Bila mengetahui titik isoelektrik ini akan sangat bermanfaat dalam mendesain katalis, karena dapat digunakan untuk meramal sifat adsorpsi dari oksida yang berbeda sebagai fungsi dari pH larutan impregnasi.

Untuk adsorpsi kation sederhana persamaan reaksi umumnya adalah:



Menurut model adsorpsi Brunelle yang didasarkan pada interaksi elektrostatik, variable penting yang harus dikontrol pada metode ini adalah Jenis dan konsentrasi prekursor logam, pH larutan dan jenis penyangga, titik isoelektriknya dan ketergantungan pH terhadap perubahan polarisasi permukaan penyangga (Pinna, 1998)

2.4.6 Perlakuan katalis

2.4.6.1 Pengeringan

Setelah proses impregnasi material katalis kemudian dikeringkan pada suhu 80-200⁰C untuk menghilangkan pelarut yang digunakan pada tahap impregnasi. Variabel serta laju pemanasan, suhu pemanasan, lama pemanasan, dan jenis atmosfer dapat mempengaruhi hasil akhir katalis, terutama dalam hal distribusi prekursor aktif.

Faktor-faktor penting lain yang juga mempengaruhi proses redistribusi logam diantaranya adalah laju nukleasi, laju pemanasan, derajat kejenuhan cairan, viskositas, volume dan bentuk pori dan distribusi ukuran pori (Pinna, 1998).

2.4.6.2 Kalsinasi

Setelah pengeringan, bubuk katalis segar biasanya diperlakukan dibawah aliran gas oksigen atau udara dengan suhu yang relatif tinggi. Proses itu disebut dengan kalsinasi, reaksi yang terjadi pada waktu kalsinasi adalah proses oksidasi prekursor logam untuk mendapatkan oksida logam. Sesuai persamaan sebagai berikut:



Tujuan bagi para industri katalis untuk melakukan kalsinasi adalah untuk menghilangkan material seperti binder, pelumas, bahan volatil, kation dan anion yang tidak stabil yang telah ditambahkan selama preparasi katalis, tapi tidak diinginkan spesies tersebut ada pada produk akhir. Meningkatkan kekuatan pellet katalis dengan adanya *sintering*, tapi *sintering* yang berlebih dapat menurunkan aktivitas katalis dengan turunya luas permukaan. Sehingga diperlukan kondisi yang optimum agar tidak terjadi *sintering* yang berlebihan, untuk mendapatkan oksida logam, bila produk katalis yang diinginkan adalah katalis metalik dan berguna untuk menghilangkan CO₂ dan air terikat yang tidak hilang pada saat pengeringan (Satterfield, 1991).

Kalsinasi mempunyai tujuan dekomposisi prekursor logam dengan pembentukan oksida dan untuk menghilangkan produk-produk gas seperti air, CO₂, dan lainnya, menghilangkan kation maupun anion yang telah ditambahkan sebelumnya. Selain dekomposisi selama kalsinasi terjadi pula *sintering* prekursor atau pembentukan oksida dan reaksi oksida dengan penyangga (Pinna, 1998).

2.4.6.3 Reduksi

Reduksi bertujuan untuk pembentukan spesies logam ke bentuk dasar dari oksida logamnya, sesuai persamaan reaksi:



Disamping itu, hidrogen juga dapat menghilangkan uap pada permukaan katalis melalui pembentukan hidroksilat pada permukaan (Satterfield, 1991). Oksida logam atau prekursor logam dapat diubah menjadi logam dengan perlakuan suhu pada aliran gas H₂. Variabel yang penting untuk diperhatikan

selama proses reduksi adalah laju pemanasan, suhu akhir, waktu reduksi, konsentrasi hidrogen, dan laju alir hidrogen (Pinna, 1998).

2.5. Identifikasi

2.5.1. Kromatografi Lapis Tipis

Penggunaan kromatografi sangat membantu dalam pendeteksian senyawa dan dapat dijadikan sebagai patokan untuk proses pengerjaan berikutnya dalam menentukan struktur senyawa. Berbagai jenis kromatografi yang umum digunakan antara lain teknik kromatografi lapis tipis (KLT) sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan yang sederhana, waktu cukup singkat (15-60 menit), dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (kira-kira 0,01 g senyawa murni, 0,1 g simplisia). Di samping itu tidak diperlukan ruang besar dan teknik pengerjaan sederhana (Harmita, 2006).

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dibawah gerakan pelarut pengembang. Pada dasarnya KLT sangat mirip dengan kromatografi kertas, terutama pada cara pelaksanaannya. Perbedaan nyata terlihat pada fase diamnya atau media pemisahannya, yakni digunakan lapisan tipis adsorben sebagai pengganti kertas. Bahan adsorben sebagai fase diam dapat digunakan silika gel, alumina dan serbuk selulosa. Partikel silika gel mengandung gugus hidroksil pada permukaannya yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan molekul polar air. Fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendar flour dalam sinar ultra violet. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai.

Pada identifikasi noda atau penampakan noda, jika noda sudah bewarna dapat langsung diperiksa dan ditentukan harga R_f . R_f menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fase diam. Karena itu R_f juga disebut faktor referensi, yang merupakan nilai dari jarak relatif pada pelarut. Harga R_f dihitung sebagai jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak tempuh oleh eluen (fase gerak) untuk setiap senyawa berlaku rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \quad (2.7)$$

2.5.2 Spektrometri Resonansi Magnetik Inti (RMI) (Suminar, 1990)

Jenis spektroskopi yang sangat besar manfaatnya pada penetapan struktur organik ialah spektroskopi NMR. Alat ini dikembangkan pada akhir 1950-an sejak itu spektroskopi NMR menjadi alat yang harus dipunyai oleh kimiawan organik. Teori dasar dari spektrum NMR, Beberapa macam inti atom berputar. Karena inti mempunyai muatan, spin dari muatan tersebut mengakibatkan timbulnya medan magnet atau dikatakan bahwa inti mempunyai efek seperti batang magnet kecil. Inti yang mempunyai sifat seperti ini adalah ^1H NMR, ^{12}C dan ^{16}O yang juga banyak terdapat pada senyawa organik tidak mempunyai spin dan tidak memberikan spektra NMR. Namun isotopnya yaitu ^{13}C dan ^{17}O mempunyai spin seperti halnya ^{15}N , ^{31}P dan ^{19}F . Masing-masing NMR akan berguna dengan cara kerjanya masing-masing.

Jika inti yang berspin diletakkan di antara kutub-kutub magnet yang sangat kuat, maka mereka akan menyusun diri sejajar atau berlawanan arah dengan medan magnet. Inti yang sejajar dengan medan magnet energi yang lebih rendah dibandingkan dengan yang berlawanan medan magnet. Jika dipasang energi dalam selang frekuensi radio, inti dapat tereksitasi dan menyebabkan spin dari keadaan energi yang rendah ke keadaan energi tinggi (kadang-kadang dikatakan spinnya terbalik). Keadaan energi diantara kedua keadaan spin bergantung pada kekuatan medan terpasang, semakin kuat medan maka semakin besar kesenjangan energi.

Frekuensi radiasi yang diserap oleh suatu proton bergantung pada lingkungan dekat dalam molekul itu. Hal ini disebabkan karena elektron yang terdapat di sekeliling inti proton merupakan perisai terhadap medan magnet terpasang. Besarnya kekuatan perisai tergantung pada kerapatan elektron (elektron bukan ikatan(nonbonding), elektron σ dan elektron π). Pada frekuensi R_f tertentu, semakin terperisai keadaan suatu proton maka semakin tinggi medan magnet terpasang yang diperlukan agar resonansi tercapai.

Kedudukan puncak diukur dalam satuan δ (delta) dari senyawa acuan, yaitu tetra metil silana (TMS), $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$. Alasan pemilihan TMS sebagai acuan adalah karena, kedua belah protonnya secara kimia ekuivalen sehingga hanya menampilkan satu sinyal, yang dapat berfungsi sebagai titik baku dan semua

protonnya muncul pada medan yang lebih tinggi yang mengakibatkan kemudahan identifikasi puncak TMS dan juga merupakan senyawa yang lembam (inert) atau tidak bereaksi dengan kebanyakan senyawa organik, titik didihnya rendah dan mudah diuapkan sesuai pengukuran.

Spektra RMI biasanya ditentukan dari larutan substansi yang akan dianalisis. Untuk itu pelarut yang digunakan tidak boleh mengandung atom hidrogen, karena adanya atom hidrogen pada pelarut akan mengganggu puncak-puncak spektrum.

2.5.2.2 Spektrofotometri Infra Merah (Harmita, 2006)

Metode yang dapat menentukan serta mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa organik, yang mana gugus fungsi dan senyawa organik dapat ditentukan berdasarkan ikatan dari tiap atom dan merupakan bilangan frekuensi yang spesifik.

Spektrofotometri Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75 – 1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000 – 10 cm^{-1} . Radiasi elektromagnetik dikemukakan pertama kali oleh James Clark Maxwell, yang menyatakan bahwa cahaya secara fisis merupakan gelombang elektromagnetik, artinya mempunyai vektor listrik dan vektor magnetik yang keduanya saling tegak lurus dengan arah rambatan.

Dua molekul senyawa yang berbeda struktur kimianya akan berbeda pula spektrum IR-nya. Hal ini dapat dimengerti, karena macam ikatan yang berbeda, frekuensi vibrasinya tidak sama serta walaupun macam ikatan sama tetapi berada dalam senyawa yang berbeda, frekuensi vibrasinya juga berbeda (karena dua ikatan yang sama tersebut berada dalam lingkungan yang berbeda).

2.5.2.3 Spektrofotometri Massa

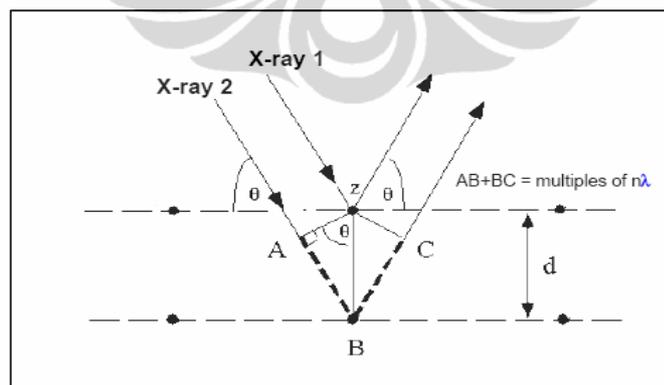
Spektrometer massa adalah suatu instrumen yang menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilih ion tersebut menjadi spektrum sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan (m/e) dan merekam kelimpahan reaktif tiap jenis ion yang ada (Harmita, 2006). Spektroskopi massa ini untuk mengetahui

berat molekul senyawa dan ditunjang dengan adanya fragmentasi ion molekul yang menghasilkan pecahan-pecahan spesifik untuk suatu senyawa berdasarkan m/e dan masing-masing fragmen yang terbentuk. Terbentuknya fragmen-fragmen dengan terjadinya pemutusan ikatan apabila disusun kemudian akan dapat menentukan kerangka struktur senyawa yang diperiksa.

2.5.3 Difraksi Sinar X

Difraksi sinar X akan memberikan Informasi bentuk katalis atau komponen dari katalis dalam bentuk nonkristalin atau quasi-kristalin, dan dapat memperkirakan ukuran mikrokrystal yang mungkin ada, karena difraksi sinar X menghasilkan dimensi ruang dan dimensi unit sel, sehingga kita dapat memperkirakan penyusun atomik dari unit sel. Katalis non kristalin tidak menunjukkan adanya puncak yang tajam atau hanya terlihat puncak-puncak yang melebar (Thomas dan Thomas, 1997).

Jika seberkas sinar-X menumbuk permukaan bidang kristal Miller maka sebagian sinar akan dihamburkan atau diteruskan ke lapisan bidang atom atau molekul lainnya. Sinar-X yang dihamburkan bersifat koheren dapat berinterferensi secara konstruktif dan destruktif. Interferensi konstruktif terjadi apabila berkas sinar-X yang dihamburkan berada dalam keadaan satu fasa.



Gambar 2.7 Difraksi sinar-X pada suatu Kristal

Kondisi satu fasa tercapai apabila jarak $BC + AB$ dengan nilai bilangan bulat (n) dari panjang gelombang radiasi.

$BC + AB = n\lambda$, di mana $n =$ orde difraksi

Karena $BC = AB = 2 d \sin \theta$, maka interferensi konstruktif dari berkas sinar-X pada sudut θ adalah

$$n\lambda = 2 d \sin \theta \quad (2.8)$$

Keterangan :

$d =$ jarak antar Kristal

$\theta =$ sudut pengukuran (sudut difraksi)

$\lambda =$ panjang gelombang sinar-X

persamaan diatas dikenal sebagai persamaan Bragg, sedangkan sinar-X akan dipantulkan jika sudut datang sinar-X sama dengan

$$\sin \theta = n\lambda / 2 d \quad (2.9)$$

Sinar datang dengan sudut θ yang tidak memenuhi persamaan diatas akan mengalami interferensi destruktif.

Dari hasil pengukuran XRD didapatkan nilai d (jarak bidang kristal) dan sudut 2θ serta intensitasnya dengan cara membandingkan dengan data standar dapat diketahui senyawa dan struktur kristal dari sampel (Matralis et al., 1995).

2.5.4 Metode BET

Metode BET merupakan pengukuran luas permukaan suatu padatan berpori yang sering digunakan dikembangkan oleh Brunauer, Emmet, dan Teller (1938). BET juga dapat digunakan untuk menentukan ukuran dan volume pori suatu padatan berpori. Dasar pengukuran BET adalah fisisorpsi gas N_2 pada permukaan padatan berpori.

Pada pengukuran BET, sejumlah sampel yang telah ditimbang beratnya dimasukkan ke dalam tabung yang volumenya sudah diketahui dan dipanaskan pada tekanan vakum untuk menghilangkan gas-gas yang terdapat pada sampel. Setelah itu tempat sampel didinginkan dengan nitrogen cair dan sejumlah gas nitrogen dimasukkan kedalam tabung tersebut. Setelah kesetimbangan tercapai, tekanan diukur dan diketahui volume sistem dimana temperatur dan volume

ditambahkan setiap saat. Perbedaan antara tekanan hasil perhitungan dan tekanan yang diperoleh pada pengukuran disetiap titik akan dapat menentukan jumlah nitrogen yang diadsorpsi pada padatan berpori.

Dengan mengekstrapolasi kurva dan menggunakan persamaan adsorpsi BET maka luas permukaan dapat ditentukan dengan:

$$P/(v(P_o-P)) = (1/ V_m c) + (c-1)/(V_m c) \cdot P/P_o \quad (2.10)$$

Keterangan

P = Tekanan

V = Volume Gas yang dihasilkan pada tekanan P

P_o = Tekanan jenuh (200-400 Torr)

V_mc = Volume gas yang diadsorpsi pada lapisan monolayer

C = Konstanta BET

Metode *Multipoint* BET menggunakan tiga titik pada berbagai tekanan relatif atau berat dari monolayer adsorbat W_m didapatkan dari harga slope s, dan intercept, I, pada persamaan linear BET.

$$S = (C-1)/(V_m \cdot C) \quad (2.11)$$

$$I = 1/(V_m \cdot C) \quad (2.12)$$

Berat monolayer V_m didapatkan dengan mengkombinasi kedua persamaan tersebut.

$$V_m = 1/(s+1) \quad (2.13)$$

Luas permukaan dari sampel didapatkan dari persamaan berikut:

$$S_1 = (V_m \cdot N \cdot A_{cs})/M \quad (2.14)$$

Keterangan:

N = Bilangan Avogadro 6,02 x 10²³ molekul

M = Berat molekul adsorbat

A_{cs} = Luas penampang molekul adsorbat gas N₂ yaitu 16,2 Å pada 77K.

Luas permukaan spesifik, S, dapat dihitung dari luas permukaan total, S₁, dan berat sampel, W, menurut persamaan:

$$S = S_1/W$$

Luas permukaan katalis dapat dibagi menjadi beberapa kriteria yaitu:

- Rendah (low surface area), kurang dari $10 \text{ m}^2/\text{g}$
- Sedang (moderate surface area) = $50 \text{ m}^2/\text{g} - 100 \text{ m}^2/\text{g}$
- Tinggi (high surface area) = $200 \text{ m}^2/\text{g} - 500 \text{ m}^2/\text{g}$
- Sangat tinggi (very high surface area) = $> 500 \text{ m}^2/\text{g}$

Sedangkan menurut IUPAC, distribusi pori dikelompokkan menjadi dalam tiga bagian yakni mikropori, mesopori dan makropori. Mikropori (pori kecil) dengan diameter $< 2 \text{ nm}$, sedangkan mesopori dengan diameter diantara $2-100 \text{ nm}$, dan makropori (pori besar) dengan ukuran pori diatas 100 nm .



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan

Artemisinin (PT. Sinkona Indonesia Lestari, Indonesia), titanium iso-propoksida (Fluka chemical, Amerika Serikat), nikel (II) nitrat (E. Merck, Jerman), asam sulfat (E. Merck, Jerman), asam nitrat (E. Merck, Jerman), n-propanol (E. Merck, Jerman), KBr (E. Merck, Jerman), CTAB (E. Merck, Jerman), metanol pa (E. Merck, Jerman), gas hidrogen HP, kloroform (E. Merck, Jerman), aquades, etil asetat, asam format, heksana, toluene, zat pewarna, DMSO, anisaldehida, silika gel 60 GF 254 (E. Merck, Jerman), RPMI-1640L-glutamin (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat), NaHCO₃, *calf bovine serum* (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat), dan sel leukemia L1210 (RIKEN, Jepang)

3.2 Alat

Termometer, peralatan gelas refluks, penangas listrik, lemari pendingin, gelas piala (pyrex, Amerika Serikat), buret (pyrex, Amerika Serikat), magnet pengaduk, pH indikator, oven vakum, furnace 6000 (Thermolyne, Amerika), alat reduksi katalis (Thermolyne tube furnace 21100S, Amerika Serikat), reaktor hidrogenasi, pelat KLT Si gel 60 F₂₅₄ (E. Merck, Jerman), Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy (Perkin Elmer 16 PC, FTIR, Prestige-21 Shimadzu, Jepang), Instrumen XRD, Instrumen BET (NOVA 1000 Quantachrome, Amerika Serikat) penguap putar, peralatan kromatografi kolom, timbangan analitik, ultra sonic (Branson 3510, Amerika Serikat), resonansi Magnet Inti 500 MHz (Jeol, Amerika Serikat), kromatografi cair- Spektrometri Massa Mariner Biorad 70 ev, mikroskop, pipet mikro (Eppendorf), hasil pengembangan alat haemocytometer Neubauer dan alat-alat gelas laboratorium.

3.3 Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia di Serpong.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Katalis

Preparasi katalis dilakukan dengan cara melarutkan 9,25 mL titanium iso propoksida didalam 14,45 mL n-propanol kemudian diaduk dengan menggunakan magnetik stirer pada suhu 0°C , setelah homogen ditambahkan larutan HNO_3 65%, tetes demi tetes sampai pH larutan 3 dan akan diperiksa dengan menggunakan indikator pH. Setelah larutan mencapai pH 3 lalu ditambahkan larutan asam sulfat pekat (H_2SO_4) sebanyak 0,306 mL sampai merata. Setelah itu, larutan tersebut direfluks pada suhu 70°C selama 5 jam dengan dilengkapi pendingin, setelah proses refluks selesai, tetes demi tetes air ditambahkan pada larutan tersebut sampai terbentuk sol gel padat. Sol gel yang terbentuk direndam dengan larutan CTAB selama 24 jam, lalu didekantasi. Setelah itu sol gel basah dikeringkan dari pelarutnya dengan menggunakan vakum pada suhu 70°C selama 24 jam. Proses berikutnya sol gel yang telah kering dikalsinasi dengan menggunakan furnace 6000 (thermolyne) secara bertahap pada suhu 150°C selama 2 jam; 225°C selama 2 jam, dan 500°C selama 4 jam. Sehingga diperoleh katalis Ti-SO_4 . yang kemudian ditimbang bobot keringnya.

Proses impregnasi basah dilakukan dengan cara membuat larutan $\text{Ni}(\text{NO}_3)_3$ 0,05M dalam aquades yang kemudian dimasukkan ke dalam kolom gelas, tetes demi tetes larutan $\text{Ni}(\text{NO}_3)_3$ ditambahkan pada katalis Ti-SO_4 hasil kalsinasi dengan pengadukan secara perlahan hingga terbentuk *slurry* berwarna hijau muda. Setelah itu katalis hasil impregnasi di oven pada suhu 70°C selama 3 jam. Lalu dikalsinasi lagi dengan menggunakan tanur atau *furnance*. Maka diperoleh katalis $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$ hasil impregnasi berupa serbuk berwarna hijau muda.

Katalis hasil impregnasi dimasukkan kedalam peralatan gelas perangkat pada proses reduksi, kemudian dengan dialiri gas hidrogen selama 3 jam pada suhu 300°C maka diperoleh katalis hasil reduksi yang berupa serbuk hitam kelam.

3.4.2 Sintesis Turunan Artemisinin

Artemisinin hasil isolasi sebanyak 100 mg dicampurkan dengan 30 mL metanol dan 10 mg katalis $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$, campuran tersebut dimasukkan dalam reaktor lalu diaduk dan dipanaskan pada suhu konstan 100°C dengan dialiri gas

hidrogen pada suhu yang sama selama 5 jam pada tekanan konstan 5 bar. Produk hasil sintesis disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan dari katalis padat lalu dikeringkan dan dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan alat penguap putar (*rotary evaporator*). Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji dengan dengan kromatografi lapis tipis.

3.4.3 Identifikasi Hasil Sintesis Artemisinin Dengan KLT

Larutan pengembang yang digunakan untuk mengidentifikasi turunan turunan artemisinin adalah eluen toluena - etil asetat - asam format (7:3:1) yang dimasukkan ke dalam bejana kromatografi lalu dijenuhkan beberapa menit, disamping itu artemisinin dan senyawa hasil sintesis dilarutkan dalam kloroform. Masing-masing larutan tersebut ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis lalu dimasukkan dalam bejana yang telah jenuh dengan larutan pengembang tadi dan dielusi sampai garis batas. Setelah kering disemprot dengan larutan anisaldehyd, sehingga dihasilkan bercak bercak yang kemudian dibandingkan antara senyawa hasil sintesis dengan senyawa standar yaitu artemisinin. Kemudian dihitung Rf nya pada masing-masing senyawaan hasil sintesis tersebut.

3.4.4 Pemurnian Hasil Sintesis Dengan Menggunakan Kromatografi Kolom

Hasil sintesis dimurnikan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan metode elusi gradien, silika gel ditimbang sebanyak 600 mg lalu dimasukkan kedalam kolom kromatografi yang telah diberi kapas pada ujung pipetnya, kemudian dialiri eluennya secara terus menerus hingga terjadi silika gel padat. Setelah itu masukkan sampel yang dicampur dengan sedikit silika gel ke dalam kolom kromatografi. Berturut turut pelarut yang digunakan dalam pemurnian ini adalah heksana, 1% heksana-etil asetat, 2% heksana-etil asetat, 5% heksana-etil asetat, 10% heksana-etil asetat dan 15% heksana-etil asetat. Hasil elusi ditampung dalam vial-vial kecil sampai seluruh senyawa terelusi. Pada pemisahan dengan fase gerak heksana akan diidentifikasi hasilnya dengan di TLC menggunakan larutan pengembang 4% etil asetat-heksana sedangkan pada eluen campuran heksana-etil asetat menggunakan larutan pengembang toluene - etil

asetat - asam format (7:3:1) pada mengidentifikasi senyawa, pewarnaan hasil TLC digunakan pewarna anisaldehyda yang disemprotkan.

3.4.5 Identifikasi Artemeter

3.4.5.1 Spektrofotometri Infra Red Untuk Menentukan Gugus Fungsional

Dari Senyawa

KBr powder diambil, lalu ditempatkan pada kuvet untuk analisa powder lalu digerus, kemudian masukkan kuvet pada alat FTIR, Lakukan pengukuran sebagai background. Bersihkan kuvet dengan aquades dan metanol kemudian sampel digerus bersamaan dengan KBr powder setelah itu letakkan kedalam kuvet untuk dianalisa, kemudian letakkan kuvet pada alat FTIR lakukan pengukuran sebagai sampel dengan kode tertentu. Analisa dilakukan pada panjang gelombang 4000 cm^{-1} sampai dengan 400 cm^{-1} .

3.4.5.2 Spektrometri Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Spektrum resonansi magnetik inti (RMI) diukur dengan menggunakan spectrometer RMI untuk menentukan jumlah dan jenis proton dan karbon didalam molekul dari senyawa tersebut. Pada pengukuran $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ digunakan pelarut CDCl_3 dengan standar internal tetrametilsilan (TMS).

3.4.5.3 LC- MS

Untuk mengetahui bobot molekul dari senyawa dilakukan dengan instrument *Electrospray ionization mass spectrometry* (ESI-MS) dilakukan untuk menentukan ion-ion dan fragmen-fragmen pada molekul. Dimana pada ESI-MS ini digunakan mode ion positif yang ditandai dengan adanya pembentukan molekul dengan penambahan ion-ion, pengujian dilakukan di LIPI Serpong.

3.4.6 Uji Toksisitas Dengan Larva Udang (*Artemia Salina* Leach)

3.4.6.1 Penetasan Larva Udang

Kurang lebih 50–100 mg telur udang ditetaskan di dalam tempat persegi panjang (2 x 10 cm) yang dilengkapi pembatas berlubang diameter 2 mm dan telah diisi air laut, ditutup dengan kertas aluminium pada bagian telur, dan

dibiarkan 48 jam, maka telur akan menetas dan larva-larva udang yang akan diuji diambil dengan pipet dari sisi yang terang.

3.4.6.2 Persiapan Larutan Yang Akan Diuji

Senyawa murni yang akan diuji dibuat dengan konsentrasi 2000, 1000, 400, 200, 100 dan 20 ppm dalam air laut. Bila senyawa tidak larut, ditambahkan 10 μ L DMSO.

3.4.6.3 Uji Toksisitas Metode Meyer

Larva udang yang hidup sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam vial uji yang berisi 100 μ L air laut. Ditambahkan larutan artemeter yang akan diuji masing-masing sebanyak 100 μ L, sehingga konsentrasi akhir 10, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm. Larutan diaduk sampai homogen, untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel, kemudian didiamkan selama 24 jam. Dihitung jumlah larva yang mati dan yang masih hidup. Selanjutnya tingkat mortalitas dihitung dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva.

Dengan membuat grafik antara log konsentrasi terhadap mortalitas diperoleh persamaan regresi linier dengan $y = ax + b$. Nilai LC_{50} diperoleh dengan memasukkan nilai $y = 50$, maka diperoleh konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan kematian 50% larva yang disebut LC_{50} . Suatu zat dikatakan aktif jika mempunyai nilai $LC_{50} \leq 50$ ppm (Meyer et al., 1992).

3.4.6.2 Uji Aktivitas Sitotoksik Terhadap Sel Leukemia L1210

3.4.6.2.1 Metode Pembuatan Media RPMI-1640

Pembuatan media RPMI-1640 seberat 10,4 g yang mengandung L-glutamin dilarutkan dalam 1 L air steril (A). Kemudian 1,3 g $NaHCO_3$ dilarutkan dalam 50 mL air steril (larutan B). Sebanyak 25 mL larutan B ditambahkan ke dalam 475 mL larutan A, maka diperoleh 500 mL media (C). Untuk keperluan uji, 15 mL *calf bovine serum* ditambahkan ke dalam 85 mL larutan C. Semua pekerjaan dilakukan di ruang steril. Sel leukemia L1210 disuspensikan ke dalam media yang telah mengandung *calf bovine serum* sehingga jumlah sel sekitar

2×10^5 sel/mL. Sel leukemia L1210 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *The institute of Physical and Chemical Research Japan* yang bekerja sama dengan Pusat Aplikasi ISotop dan Radiasi (PAIR)- Batan.

3.4.6.2.2 Uji Toksisitas Terhadap Sel Leukemia L1210

Pengujian aktivitas dilakukan terhadap ekstrak metanol. Pengujian aktivitas sitotoksik artemeter dilakukan dengan variasi dosis 1,2,4,8,16 $\mu\text{g/mL}$ DMSO, media yang telah mengandung suspensi sel leukemia L1210 (2×10^5 sel/mL) dan zat uji dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's culture* sehingga volume total 1 mL dalam setiap sumuran. Sebagai kontrol digunakan 10 μL DMSO yang telah ditambahkan 990 μL suspensi sel. Percobaan dilakukan duplo, selanjutnya suspensi sel yang telah diisi zat uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator 5% CO_2 . Perhitungan sel dilakukan menggunakan haemocytometer Neubauer yang dikembangkan. Untuk membedakan antara sel hidup dengan sel mati maka sebelum dilakukan penghitungan, 90 μL suspensi dimasukkan ke dalam *sero cluster plate* (96 sumuran) dan ditambah 10 μL larutan 1% *tryphan blue* sebagai pewarnaan sel kemudian dihomogenkan. Sebanyak 10 μL larutan dialirkan ke dalam alat haemocytometer Neubauer yang dikembangkan. Setelah itu jumlah sel yang masih hidup dihitung di bawah mikroskop. Sel hidup terlihat sebagai bulatan bening dengan bintik biru inti sel di tengah bulatan, sedangkan sel mati terlihat sebagai bercak biru pekat yang bentuknya tidak teratur.

Persentase penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = (1 - A/B) \times 100\% \quad (3.1)$$

A : jumlah sel hidup dalam media yang mengandung zat uji

B : jumlah sel hidup dalam media yang tidak mengandung zat uji (kontrol)

Selanjutnya data persentase inhibisi diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit. Kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi (x) dan probit (y) sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = a + bx$. Dengan memasukkan nilai $y = 5$ (probit dari 50%), maka diperoleh nilai x (log konsentrasi), nilai IC_{50} dengan mengkonversikan nilai log konsentrasi ke bentuk anti log. IC_{50} yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat

perkembang biakan sel sebanyak 50% setelah masa inkubasi 48 jam. Ekstrak atau fraksi dinyatakan aktif bila $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas kristal (isolat) dikatakan aktif sebagai anti kanker bila nilai $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Katalis dan Karakteristik Katalis

4.1.1 Pembuatan Katalis

Preparasi katalis Ni/TiO₂-SO₄ menggunakan metode sol gel. Awalnya dibentuk sol cair kemudian dipanaskan dan dibuat dalam bentuk gel. Sol merupakan koloid dengan zat terdispersinya fase padat, sedangkan gel merupakan jaringan tiga dimensi yang terbentuk dari peristiwa kondensasi dari larutan koloid (sol). Bahan yang digunakan adalah titanium iso propoksida Ti (OCH (CH₃)₂)₄ sebagai sumber titanium. Pada penelitian ini menggunakan proses hidrolisis dengan mencampurkan titanium iso propoksida dengan n propanol, HNO₃ dan air. Titanium iso propoksida tidak larut baik dalam air maka hidrolisis dilakukan pada larutan beralkohol, agar reaksi pembentukan sol gel lebih cepat terbentuk maka larutan dibuat dalam suasana asam dengan penambahan HNO₃ pekat beberapa tetes sampai pH 3, lalu pH larutan diperiksa keasamannya dengan indikator pH. Selang beberapa waktu dimasukkan asam sulfat ke dalam larutan tersebut sebagai sumber sulfat. Kemudian diaduk dengan pemanasan selama 5 jam dengan refluks sampai larutan/sol tersebut homogen. Kemudian ditambahkan air tetes demi tetes hingga terbentuk gel.

Sol-gel yang terbentuk diimersikan dengan surfaktan didalam alkohol dan didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam, berfungsi untuk membentuk dan mengatur pori pada sol gel tersebut, surfaktan yang digunakan pada penelitian ini adalah CTAB (*Cetyl trimethylammonium bromide*) (C₁₆H₃₃)N(CH₃)₃Br). Sol gel tersebut dikeringkan didalam oven vakum selama 5 jam pada suhu 70°C, kemudian gel dikalsinasi secara bertahap dari suhu 150°C hingga suhu 500°C menggunakan tanur (*furnance*) untuk menghilangkan pelarut dalam sol-gel tersebut. Serbuk TiO₂-SO₄ diimpregnasi dengan nikel nitrat dalam air sebagai sumber dari nikel. Proses impregnasi yang digunakan adalah impregnasi basah, dimana larutan prekursor yang digunakan melebihi volume pori penyangga. Campuran kemudian dipanaskan dan dibiarkan beberapa saat sambil diaduk sampai semua pelarutnya habis sehingga terbentuk *slurry* yang berwarna hijau

muda. Katalis tersebut dioven kemudian dikalsinasi kembali. sehingga diperoleh katalis hasil impregnasi. Keuntungan dari metode impregnasi adalah sederhana, ekonomis dan reproduksibilitas muatan logam yang baik (Pinna,1998).

Pada tahapan kalsinasi, katalis dipanaskan dengan suhu tinggi. Hal yang mungkin terjadi pada proses kalsinasi adalah terdekomposisi senyawa prekursor dan pembentukan spesies oksidanya, terjadinya reaksi oksida yang dengan penyangga dan *sintering* senyawa prekursor atau oksida yang terbentuk. Pada umumnya pada proses kalsinasi akan diperoleh produk gas seperti uap air dan CO₂, yang tidak hilang pada saat pengeringan dengan menggunakan oven vakum.

Proses selanjutnya adalah reduksi katalis dibawah aliran gas H₂ selama 4 jam pada suhu 120°C dan 350°C (Lampiran 4b). Tujuan reduksi untuk mengubah senyawaan prekursor nikel dan oksidanya menjadi keadaan logamnya berguna untuk meningkatkan aktivitas dari katalis tersebut. Disamping itu, hidrogen juga dapat menghilangkan uap air pada permukaan katalis melalui pembentukan hidroksilat pada permukaan. Telah diperoleh katalis padat berupa serbuk yang berwarna hitam kelam. Proses ini dikenal juga dengan sebagai aktivasi katalis.

4.1.2 Karakteristik Katalis

Karakteristik katalis Ni/ TiO₂-SO₄ pada penelitian ini menggunakan XRD dan BET dan FTIR. Perlakuan terhadapkatalis seperti pengeringan, kalsinasi dan reduksi mempengaruhi luas permukaan, ukuran volume pori dan struktur kristal pada katalis tersebut. Oleh karena perlu dilakukan pengukuran pada setiap tahap perlakuan tersebut, sehingga karakteristik dari perlakuan tersebut dapat diketahui.

4.1.2.1 X-Ray Difraktion (XRD)

Analisa difraksi sinar-X dilakukan untuk mengetahui struktur kristal dan menentukan pola difraksi dari sampel katalis. Ukuran kristalin dihitung menggunakan persamaan Debye-Scherrer. Pola difraksi sinar-X katalis diukur dengan program software XRD Xpert Philip. Sebanyak sekitar 2 g bubuk katalis ditempatkan pada plat sampel, lalu dianalisa. Sudut 2θ yang diukur adalah 10-80° dengan waktu pengukuran 23 menit, sumber CuKα, target Cu dan λ = 1,54 nm.

Berdasarkan hasil perbandingan antara puncak-puncak difraktogram antara hasil pengukuran XRD pada katalis Ni/ TiO₂-SO₄ dengan database komputer, telah memberikan nilai 2 θ spesifik yang sesuai antara katalis yang digunakan dengan nilai 2 θ spesifik logam Ni dan TiO₂ pada database komputer. Hal ini dapat dilihat pada lampiran 5.

Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan persamaan Debye-Scherrer diperoleh ukuran kristalin Ni/ TiO₂-SO₄ sebesar 9,4 nm dan TiO₂-SO₄ yakni katalis sebelum diimpregnasi juga berbentuk kristalin partikel dengan nilai 11,23 nm.

4.1.2.2 BET

Analisa katalis dengan BET menggunakan instrumen NOVA 1000 Quantachrome, katalis dianalisa dengan BET bertujuan untuk mengetahui luas permukaan dan ukuran pori dan volume pori katalis. Hasil pengukuran diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1. Sampel katalis yang telah diimpregnasi nikel

Sampel	Luas Permukaan Spesifik (m ² /g)	Volume Pori Total (cm ³ /g)
Ni/TiO ₂ -SO ₄	62,43	0,232
Ni//TiO ₂ -SO ₄ (setelah reduksi)	47,36	0,102

Luas permukaan pada katalis TiO₂-SO₄ sebelum dan setelah reduksi diperoleh berturut turut sebesar 62,43 m²/g , dan 47,36 m²/g. Sedangkan total volume total pori sebelum, dan setelah proses reduksi diperoleh berturut turut sebesar 0,232 cm³/g , dan 0,102 cm³/g. Hal ini menunjukkan proses reduksi menurunkan luas permukaan dan volume pori total dari katalis tersebut. Dengan menggunakan nano katalis ini, selektivitas dan efisiensi yang tinggi dapat ditingkatkan karena mampu bekerja pada level energi yang lebih rendah. Aktivitas katalis sangat ditentukan berdasarkan ukuran pori dari katalis tersebut. Logam oksida berpori polikristal fase tunggal atau multifase dengan tipe ukuran partikel 1 hingga 100 nm adalah sangat penting dalam kelas nano material, karena

perbandingan luas permukaan/volume dari material tersebut akan naik berlipat-lipat sehingga material tersebut sangat berguna untuk penerapan pada proses yang berhubungan dengan permukaan. Pemanasan pada suhu 500°C memperlihatkan terbentuknya kristal TiO₂ dalam bentuk anatase (Laksono, 2008).

4.1.2.3 FTIR

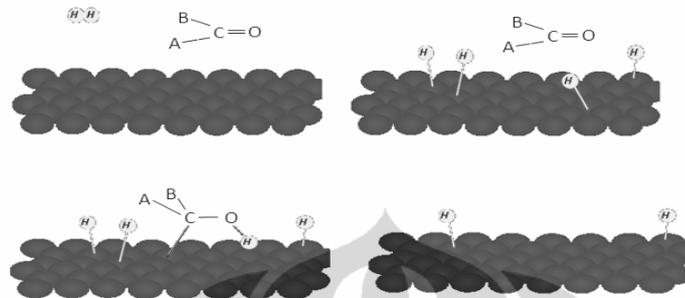
Berdasarkan hasil analisa pada lampiran 6, FTIR diperoleh bahwa terdapat ikatan antara O-Ti-O pada kisaran 400-1250 cm⁻¹ dan juga terdapat gugus SO₃H pada puncak sekitar 1040 hal ini menunjukkan adanya gugus sulfat pada katalis Ni/ TiO₂-SO₄ yang diujikan, namun pada katalis yang telah direduksi mengalami penurunan pada gugus sulfat, hal ini menunjukkan proses reduksi telah menurunkan keberadaan sulfat dalam katalis tersebut. Diperoleh juga puncak serapan pada daerah sekitar 1630 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan C-H dan puncak serapan sekitar 2900-3000 cm⁻¹ ini disebabkan adanya ikatan O-H yang berasal dari absorpsi air dalam molekul tersebut.

4.2 Sintesis Turunan Artemisinin

Sintesis senyawa artemeter pada penelitian ini melalui reaksi hidrogenasi dan kondensasi alkohol dalam satu wadah reaksi (*one pot system reaction*) dengan menggunakan katalis Ni/ TiO₂-SO₄ dalam metanol. Kondisi reaksi yang digunakan pada suhu konstan 100°C selama 5 jam yang dialiri gas H₂ pada tekanan konstan 5 bar.

Artemisinin terhidrogenasi dengan adanya logam Ni pada katalis Ni/TiO₂-SO₄ yang bersifat reduktif, reaksi hidrogenasi pada artemisinin terjadi pada permukaan katalis padat tersebut. Gas hidrogen dialiri secara kontinu selama reaksi, pada tekanan 5 bar dan suhu 100°C, logam Ni pada katalis akan memecah ikatan antar atom hidrogen menjadi bentuk radikalnya (H•), lalu atom atom hidrogen tersebut akan terikat pada permukaan katalis padat tersebut sehingga atom hidrogen tersebut menjadi teraktivasi dan sangat reaktif yang akan mencoba untuk menuju kestabilan baru dengan orbital s yang penuh (dengan 2 elektron). Secara bersamaan gugus karbonil yang dimiliki senyawaan artemisinin akan bereaksi dengan atom H yang teraktivasi pada permukaan katalis padat,

sehingga putuslah ikatan rangkap dua pada gugus karbonil menjadi satu ikatan dan ikatan yang lainnya digantikan dengan atom H dan terbentuklah senyawaan baru yang memiliki gugus -OH yakni dihidroartemisinin,

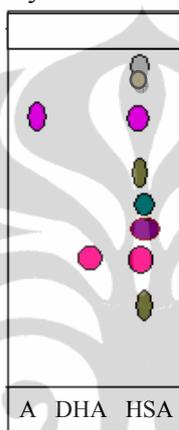


Gambar 4.1 Reaksi hidrogenasi pada permukaan katalis Ni/ TiO₂-SO₄

Penyangga TiO₂-SO₄ bersifat asam dan berfungsi dalam metilasi alkohol yakni dari gugus hidroksil (OH) menjadi metoksi(-OCH₃). Dengan adanya penyangga asam pada reaksi sintesis turunan artemisinin ini, mula-mula artemisinin bereaksi menjadi dihidroartemisinin melalui proses hidrogenasi lalu dihidroartemisinin yang terbentuk akan berubah menjadi artemeter. Metilasi alkohol terjadi karena adanya pengaruh penyangga TiO₂ dan promotor SO₄ yang menambah keasaman katalis padat tersebut. Maka reaksi hidrogenasi dan metilasi alkohol dapat terjadi bersamaan dalam satu wadah sehingga dapat disebut *one pot system reaction*. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada lampiran 14.

Hasil sintesis turunan artemisinin yang diperoleh berupa cairan berwarna kekuningan. Setelah diuapkan menghasilkan padatan berminyak berwarna putih kekuningan seberat 97,30 mg. Untuk mengetahui proses reaksi yang terbentuk maka dilakukan uji pendahuluan yakni uji secara kualitatif dengan menggunakan KLT dengan perbandingan larutan pengembang, toluena - etil asetat - asam format (7:3:1) dan disemprot dengan pewarna anisaldehyd untuk melihat hasil yang terbentuk. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 7 spot (noda), dimana menunjukkan masih adanya zat asal artemisinin, dihidroartemisinin dan senyawaan lainnya. Berdasarkan gambar dibawah, hasil sintesis turunan artemisinin (HSA) yang terbentuk dibandingkan dengan standar artemisinin (A) dengan Rf 0,84 dan dihidroartemisinin (DHA) dengan Rf sebesar 0,47. Dalam

kondisi reaksi yang digunakan masih terdapat artemisinin dan DHA dari hasil hidrogenasi artemisinin. Hal ini menunjukkan reaksi pembentukan artemisinin menjadi intermediet DHA tidak terbentuk secara optimal dan pembentukan artemeter dari intermediet DHA juga belum sepenuhnya terjadi, namun diduga pembentukan artemeter telah terjadi karena terdapat noda pada Rf 0,95 yang menunjukkan terbentuknya senyawaan yang lebih non polar dibanding artemisinin, sehingga dibutuhkan pemurnian lebih lanjut untuk memisahkan artemeter dengan senyawaan lainnya.



Gambar 4.2 Hasil KLT setelah sintesis artemisinin

4.3 Pemurnian dengan Kromatografi Kolom

Pemurnian hasil sintesis turunan artemisinin menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam silika gel (E. Merck 7733) sebanyak 300 mg, yang dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang berdiameter 1 cm dengan panjang 30 cm. Fase gerak yang digunakan adalah larutan heksana, 1% heksana-etil asetat, 2% heksana - etil asetat, 5% heksana-etilasetat, 10% heksana-etilasetat dan 15% heksana-etilasetat, hasil elusi dari kolom ditampung dalam vial 5mL, lalu diidentifikasi dengan KLT. Fase gerak pertama kali yang digunakan adalah larutan heksana. Heksana merupakan fase gerak yang bersifat non polar, berguna untuk mengelusi senyawa-senyawa yang bersifat non polar, sehingga eluen yang pertama kali keluar dari kolom merupakan senyawa-senyawa yang relatif non polar. Setelah itu, hasil elusinya diidentifikasi dengan KLT dalam larutan pengembang 4% heksana-etil asetat dengan pewarnaan anisaldehyd. kemudian pemisahan dilanjutkan dengan menaikkan tingkat kepolaran fase gerak

yakni dengan penambahan etil asetat. Fase gerak yang digunakan berikutnya adalah 1% heksana-etil asetat, 2% heksana-etil asetat, 5% heksana-etil asetat, 10% heksana-etil asetat dan 15% heksana-etilasetat. Hasil elusi pada fraksi-fraksi ini diidentifikasi dengan KLT dalam larutan pengembang toluena-etil asetat-asam format (7:3:1).

Berdasarkan hasil data diatas diperoleh spot senyawaan yang relatif bersifat non polar dibandingkan artemisinin dengan Rf 0,95 yang diduga adanya senyawa target yaitu artemeter, namun setelah diuji KLT dengan pengembang 4% heksana-etil asetat pada spot tersebut ternyata masih terdapat beberapa spot didalamnya, sehingga identifikasi senyawa pada fase gerak heksana atau senyawaan yang relatif non polar dibanding artemisinin telah diidentifikasi dengan larutan pengembang 4% heksana-etil asetat. Berdasarkan hasil KLT diperoleh tiga spot masing-masing FH₁, FH₂, FH₃ yang berturut urut dengan Rf 0,20; 0,44 dan 0,85. Setiap fraksi dikumpulkan berdasarkan senyawaan masing-masing, kemudian hasil pemurnian tersebut dianalisa dengan ¹H-NMR, IR dan LC-MS. Kromatogram yang menunjukkan senyawaan artemeter diperoleh dari senyawaan pada Rf 0,20 (FH₁). Senyawa target yang diperoleh berwarna putih seberat 1,25 mg (1,29%). Namun pada penelitian ini masih terdapat material dasar yakni artemisinin dengan berat 23,4 mg (24%) dan juga diperoleh produk dihidroartemisinin sebesar 18,3 mg (19%).

Tabel 4.2 Nilai waktu retensi (Rf) dari hasil sintesis artemisinin dengan larutan pengembang toluena - etil asetat - asam format (7:3:1).

No.	Hasil	Rf	Keterangan
1	Abu-abu kecoklatan	0,95	Senyawa target
2	Merah muda	0,84	Artemisinin
3	Merah muda kekuningan	0,70	Dihidroartemisinin
4	Abu-abu kehijauan	0,61	Sisa
5	Kuning	0,55	Sisa
6	Kuning	0,47	Sisa
7	Kuning	0,34	Sisa

4.4 Identifikasi Artemeter

4.4.1 Spektroskopi LC-MS

Analisis senyawa target dengan kromatografi cair yang ditandem dengan MS memberikan satu puncak dengan waktu retensi (t_R) 1,75 menit. Kromatogram senyawa target ditampilkan pada lampiran 7. Setelah pemisahan dengan kromatografi cair, *electrospray ionization mass spectrometry* (ESI-MS) dilakukan untuk menentukan ion-ion dan fragmen-fragmen pada molekul. ESI-MS ini digunakan mode ion positif yang ditandai dengan adanya pembentukan molekul dengan penambahan ion-ion seperti $[M+Na]^+$, $[M+H]^+$, $[M+K]^+$, $[2M+Na]^+$, $[2M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$ dan ion-ion positif lainnya (Wang et al., 2005). Hasil pengukuran LC-MS senyawa target mempunyai rumus molekul $C_{16}H_{26}O_5$ dan berat molekul 298 g/mol. Hal ini dibuktikan bahwa senyawa ini memberikan puncak ion molekul pada $299.33 [M + 1]^+$. Hasil analisa dengan spektroskopi LC-MS dapat dilihat pada lampiran 7.

4.4.2 Analisis Spektroskopi Infra Merah (FT-IR)

Pengukuran spektroskopi Infra merah pada artemeter menggunakan pellet KBr, menunjukkan gugus-gugus fungsi dengan bilangan gelombang yang ditampilkan pada spektrum yang sesuai Tabel 4.3. dan lampiran 8. Berdasarkan hasil analisa dengan menggunakan FT-IR telah menunjukkan Spektrum IR antara artemisinin dan artemeter memiliki persamaan sinyal-sinyal yang spesifik terhadap senyawa tersebut, namun pada senyawa target tidak tampak adanya spektrum pada bilangan gelombang $1735,93 \text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas tajam dan kuat, spektrum yang menunjukkan adanya vibrasi ulur C=O dari vibrasi ulur C=O siklik keton dan siklik ester (lakton) dan pada senyawa target ternyata tidak ada lagi serapan pada daerah dengan frekuensi tersebut.

Tabel 4.3 Perbandingan Bilangan Gelombang (cm^{-1}) antara artemeter dan Artemisinin dengan data literatur.

No	Literatur	Gugus Fungsi	Intensitas	Artemisinin	Senyawa Target
1	2900	Vibrasi ulur C-H Alifatik	Tajam dan Kuat	2846,93- 2980,02	2850,79- 2954,95
2	1715 – 1780	Vibrasi ulur C-O Siklik Keton dan Ester	Tajam dan Kuat	1735,93	---
3	1450-1465	Vibrasi Tekuk $-\text{CH}_2$	Tajam dan lemah	1454,33	1462,04
4	1375	Vibrasi Tekuk $-\text{CH}_3$	Tajam dan lemah	1382,96	1377,17
5	1000 – 1300	Vibrasi ulur C-O-C	Tajam dan lemah	1116,78- 1294,24	1022,27- 1261,45
6	1085–1150 810 – 950	Vibrasi ulur C-O-O-C-	Tajam dan lemah	1116,78 , 881,47 dan 833,28	1101,35; 823,60; 860,25 dan 889,18
7	1200 – 800	Vibrasi ulur C-C Siklik	Tajam dan lemah	995,27 dan 1027,00	802,39-1165,00

4.4.3 Data Analisis Pergeseran Kimia (δ , ppm) dari Spektrum NMR

^{13}C NMR digunakan untuk mengetahui jumlah atom karbon dan menentukan jenis atom karbon pada senyawa tersebut. Spektrum resonansi magnetik inti karbon senyawa target mengandung 16 atom karbon, yang terdiri dari 4 gugus metil (CH_3), 4 gugus metilen (CH_2), 6 gugus metin (CH), dan 2 atom C quartener. Data hasil analisa dapat dilihat pada lampiran 9 dan lampiran 10.

Berdasarkan hasil analisa dengan menggunakan ^{13}C NMR, pada senyawa target memberikan pergeseran kimia pada 56,16 ppm yang menunjukkan adanya ikatan $-\text{O}-\text{R}$ yang tidak ditemui dari material dasarnya yakni artemisinin, diperkuat dari hasil analisa dengan menggunakan ^1H NMR menunjukkan adanya

sinyal singlet pada daerah 3,424 ppm yang spesifik adanya gugus metil yang terisolasi dan juga terikat dengan atom oksigen yakni gugus metoksi (-O-CH₃). Hal ini menunjukkan adanya perubahan dari gugus karbonil menjadi gugus metoksi.

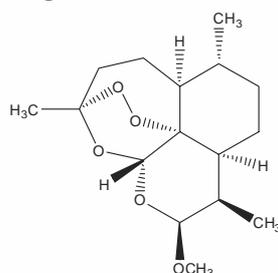
Senyawaan target memiliki 4 gugus metil, yang berasal dari 3 substituen (-CH₃) dan CH₃ dari metoksi (-O-CH₃). Pada pada atom C nomor 3,6,9 masing-masing terikat -CH₃ (metil) sehingga diberi tanda 3Me, 6Me dan 9Me. Dari ketiga metil tersebut, metil yang terikat pada atom C₃ ini memberikan pergeseran kimia yang paling *downfill* karena berikatan dengan atom C yang terikat pada atom oksigen dari gugus endoperoksida pada artemisinin, sehingga kerapatan elektronnya lebih besar dibanding 6Me dan 9Me dan memberikan pergeseran yang lebih *downfill*. Puncak yang dihasilkan pada 3Me berupa singlet karena 3Me tidak memiliki H atom tetangga karena bertetangga dengan atom C kuartener, sedangkan dengan 6Me dan 9Me memiliki 1 atom H tetangga sehingga memberikan sinyal dublet. Metil pada metoksi (-O-CH₃), selain terisolasi yang akan menyebabkan sinyal singlet dan juga metil ini terikat dengan atom oksigen secara langsung sehingga memberikan pergeseran kimia yang paling besar dari gugus metil lainnya yakni 3,424 ppm.

Pada gugus metin dan metilen memberikan pergeseran kimia pada daerah 1,5 -1,8 ppm dengan saling bertumpang tindih, karena memiliki kerapatan elektron yang mirip satu sama lainnya. Software Chemdraw dapat membantu dalam memperkirakan pergeseran kimia senyawaan satu dengan lainnya, dan telah terjadi perbedaan pergeseran kimia dengan senyawa target. Pada gugus metin pada atom C₁₀ dan C₁₂ mengalami pergeseran kimia yang cukup besar, terutama pada C₁₀, karena adanya perubahan dari gugus karbonil (O=C-) menjadi hidroksil (-C-O-H) membuat kerapatan elektron pada C₁₀ menjadi melemah sehingga bergeser ke arah medan yang lebih rendah (*upfill*).

Tabel 4.4. Hasil analisa ^{13}C NMR dari senyawa artemeter

Gugus	Simbol	Senyawa Target			Senyawa Artemisinin		
		^{13}C NMR	^1H NMR Pergeseran	Peak	^{13}C NMR	^1H NMR Pergeseran	Peak
Metil (CH_3)	9Me	13,16	0,90	D	12,67	0,96	D
	6Me	20,55	0,95	D	19,94	0,96	D
	3Me	26,40	1,44	S	25,29	1,43	S
	O- CH_3	56,16	3,42	S	-	-	-
Metilen (CH_2)	5	24,67	1,51	M	24,93	2,09;1,44	M
	8	24,89	1,64	M	23,49	1,78;1,19	M
	7	34,83	1,64	M	33,67	1,77; 1,00	M
	4	36,64	1,61	DD	35,97	2,04;2,07	dd
Metin (CH)	9	31,11	2,05	Q	32,98	3,39	Q
	6	37,60	1,75	M	37,61	1,40	M
	8a	44,69	1,54	M	45,03	1,76	M
	5a	52,77	1,51	M	50,11	1,39	M
	12	103,57	5,38	S	93,81	5,86	S
	10	104,28	4,69	D	172,24	-	-
C quartener	12a	87,97	-	-	77,39	-	-
	3	81,32	-	-	105,49	-	-

Berdasarkan hasil identifikasi dengan FT-IR, LC-MS, ^1H NMR dan ^{13}C NMR diperoleh senyawa turunan artemisinin yang bersifat relatif nonpolar dibanding artemisinin dengan terbentuknya gugus metoksi ($-\text{OCH}_3$) dengan BM 298 g/mol dengan struktur molekul sebagai berikut:



Gambar 4.3 Artemeter

4.5 Uji Aktivitas Antikanker terhadap Senyawa artemeter

4.5.1 Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Tabel 4.5 Data hasil perhitungan BSLT artemeter

Konsentrasi (ppm)	Log K	Mati	Hidup	Akumulasi		Mortalitas	LC ₅₀ (ppm)
				Mati	hidup		
10	1,00	1	29	1	95	1,04	142,89
50	1,70	5	25	6	66	8,33	
100	2,00	8	22	14	41	25,45	
200	2,30	17	13	31	19	62,00	
500	2,70	24	6	55	6	90,16	
1000	3,00	30	0	85	0	100	

Uji toksisitas pada artemeter dengan metode BSLT memperlihatkan hasil seperti pada Tabel 4.5. Berdasarkan dari data ini diperoleh persamaan regresi linear, $y = 55,90x - 70,49$, sehingga diperoleh nilai LC₅₀ 142,89 ppm. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC₅₀ < 1000 ppm untuk ekstrak dan LC₅₀ < 30 ppm untuk senyawaan. Berdasarkan hasil uji toksisitas senyawaan uji bersifat cukup toksik karena memiliki LC₅₀ dibawah 1000 ppm.

4.5.2 Uji Aktivitas Sitotoksik Terhadap Sel Leukemia L1210

Salah satu cara uji pendahuluan dalam penentuan senyawa yang berkhasiat sebagai anti kanker adalah uji daya hambat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210. Sel leukemia L1210 yang menjadi target percobaan aktivitas anti kanker ini adalah satu galur (strain) sel leukemia tikus yang secara rutin telah digunakan untuk uji senyawa anti kanker baik *in vitro* maupun *in vivo* menggunakan tikus percobaan. Sel leukemia L1210 diperoleh dari *The Institute of Physical and Chemical Research Japan* (RIKEN). Sel leukemia L1210 tersebut kemudian disuspensikan ke dalam formula media RPMI-1640 dan mengandung larutan *Bovine Calf Serum*.

Ekstrak kasar dari suatu bahan alam yang dapat diuji secara langsung dalam biakan sel leukemia L1210. Jika hasilnya positif menghambat pertumbuhan

sel leukemia L1210, maka dapat dikatakan ekstrak tersebut aktif sebagai inhibitor. Sebagai ukuran aktivitas sitotoksik, ditentukan IC_{50} dari ekstrak kasar tersebut. Ekstrak atau fraksi dinyatakan aktif bila $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas kristal (isolat) dikatakan aktif sebagai anti kanker bila nilai $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hasil uji diperoleh IC_{50} sebesar $3,07 \mu\text{g/mL}$ dengan $r = 0,9945\%$ dari persamaan regresi $y = 0,98x + 4,52$, hal ini menunjukkan senyawaan target memiliki sifat anti kanker, karena memiliki nilai $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$.

Tabel 4.6 Data Hasil uji anti kanker terhadap sel leukemia L1210

Konsentrasi (ppm)	Log Dosis	Jumlah sel hidup rata-rata 10^4	Penghambatan (%)	probit
0	-	23,50	-	-
1	0,0000	15,75	32,98	4,56
2	0,3010	13,50	42,55	4,82
4	0,6021	11,50	51,06	5,03
8	0,9031	8,00	65,96	5,41
16	1,2041	5,50	76,60	5,74

Persentase penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = (1 - A/B) \times 100\% \quad (4.1)$$

A : jumlah sel hidup dalam media yang mengandung zat uji

B : jumlah sel hidup dalam media yang tidak mengandung zat uji (kontrol)

Selanjutnya data persentase inhibisi diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit. Kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi (x) dan probit (y) sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = a + bx$. Dengan memasukkan nilai $y = 5$ (probit dari 50%), maka diperoleh nilai x (log konsentrasi), nilai IC_{50} dengan mengkonversikan nilai log konsentrasi ke bentuk anti log. IC_{50} yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat perkembangbiakan sel sebanyak 50% setelah masa inkubasi 48 jam. Sehingga diperoleh IC_{50} sebesar $3,07440 \mu\text{g/mL}$ dengan $r = 0,9945\%$ dari persamaan regresi $y = 0,98x + 4,52$.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

- 1) Artemeter telah dihasilkan dari modifikasi senyawa artemisinin dalam metanol dengan katalis Ni/TiO₂-SO₄ dalam satu wadah reaksi (*one pot system reaction*), melalui dua tahapan yakni proses hidrogenasi dan alkilasi alkohol.
- 2) Artemeter merupakan produk minor dengan rendemen 1,29% dan masih terdapat produk intermedietnya yakni dihidroartemisinin dengan rendemen sebesar 19%
- 3) Hasil BSLT dari artemeter memberikan nilai LC₅₀ sebesar 142,89 ppm dan uji terhadap sel leukemia L1210 memberikan nilai IC₅₀ sebesar 3,07 µg/mL, sehingga artemeter berpotensi sebagai senyawa antikanker.

5.2 SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengoptimasi proses sintesis artemeter, variasi beberapa faktor reaksi, seperti : suhu reaksi, jenis katalis, waktu reaksi dan variasi keasaman katalis padat untuk meningkatkan hasil rendemen dari artemeter.

DAFTAR PUSTAKA

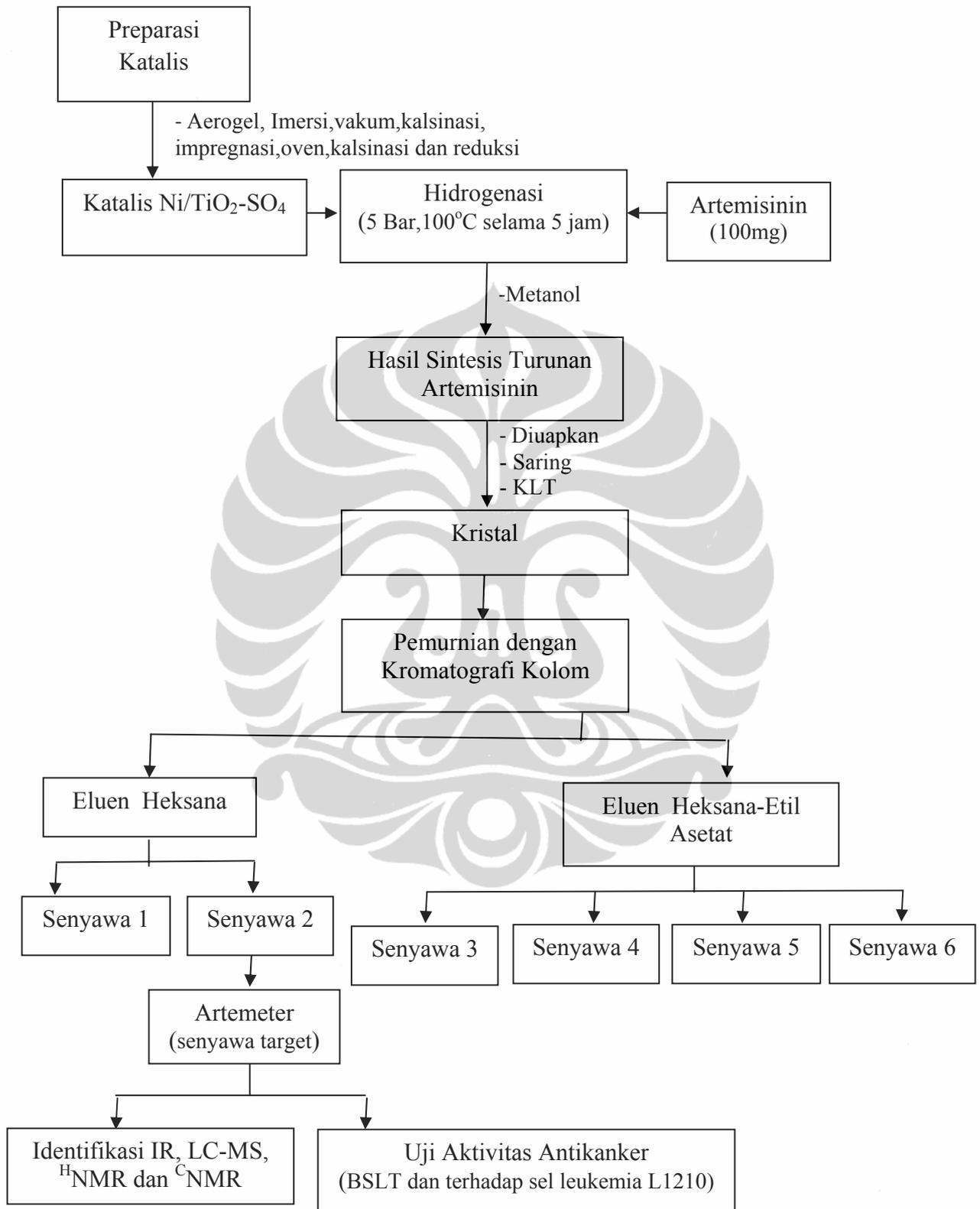
- Atkins, P.W. (1997). *Kimia Fisika. Jilid 2*. Ed. ke-4. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Blasko, G dan Cordell, G. A. (1988). Definitive ¹H- and ¹³C-NMR assignments of artemisinin (qinghaosu). *Journal of Natural Products*. Vol 51. 6. pp 1273-1276.
- Cotton dan Wilkinson. (1989). *Kimia Anorganik Dasar* (Sahati Suharto, penerjemah). Jakarta ; UI-Press.
- CCRG on Qinghaosu and its derivatives as antimalarials. (1982). The chemistry and synthesis of qinghaosu derivatives, *J. of Traditional Chinese Medicine* Vol. 2 (1): 9-16
- Foger, K. (1984). Dispersed Metal Catalyst, *Catalyst Science and Technology*, 6, 227-305
- Gates, B. C. (1979). *Chemistry and Catalytic Process*. New York ; Mc Graw Hill.
- Geldre., et al. (1997). State of art of the production of Antimalarial compound artemisinin in plants. *Planta Molecular Biology*. 33: 199-209
- Harmita. (2006). *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hart, H. (1983). *Kimia Organik*. Ed ke-6. (Suminar, penerjemah). Jakarta: Erlangga
- Haynes, R.K. dan S.C. Vonwiller. (1994). Extraction of Artemisinin and artemisinic acid: Preparation of artemether and new analogues. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.* Vol 88, Suppl. 1: 23-26
- Hudiyono, Sumi. (1998). *Teori Dasar Enzim*. Jakarta: FMIPA Kimia UI.
- Jenie, S. A. (2009). Sintesa nano material katalis super asam untuk sistem satu-reaktor (*One Pot System*) siklisasi dan hidrogenasi. laporan penelitian LIPI – Serpong.
- Katzung, B. G. (2004). *Farmakologi Dasar dan Klinik* ed: ke-8 (Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, penerjemah). Jakarta : Salemba medika
- Khalaf, H. A., et al. (2007). *Phospated alumina Catalyst: Surface Properties and Reactivity toward 2-Pr-OH Decomposition*. *Monatshefte fu"r Chemie*. 138:641-648

- Kiss, A .A., G. Rothenberg, dan A.C. Dimian. (2007). “Green” Catalyst for Enhanced Biodiesel Technology, Universty of Amsterdam
- Klayman, D.L., et al. (1984). Isolation of artemisinin (Qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *J. of Natural Products*. 47 (4): 715-717
- Klayman, D.L. (1985). Qinghaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science Direct*. 228: 1094-1054
- Lai, H and Singh, N.P. (1995). Selective cancer cell cytotoxicity from exposure to dihydroartemisinin and holotransferrin. *Cancer Letter* 91: 41-46, 1995.
- Laksono, A. J. (2008). Sintesa Nano Material Katalis Super Asam untuk Sistem Satu-Reaktor (*One Pot System*) Siklisasi dan Hidrogenasi. Laporan penelitian LIPI – Serpong.
- Li, Y., et al. (1981). Studies on artemisinin analogs. I. synthesis of ether, Carboxylates and carbonates of dyhydroartemisinin. *Acta Pharm. Sin.* 16: 429-439
- Lin A J, DL Klayman and WK Milhous. (1987). Antimalarial activity of new water soluble dyhydroartemisinin derivatives. *J. Med. Chem.* 30: 2147-2150
- Lin, AJ, M lee and DL Klayman. (1989). Antimalarial Activity of New Water Soluble Dyhydroartemisinin Derivatives and stereospecificity of the ether side chain. *J Med. Chem.* 32: 1249-1252
- Lin., et al. (1995). Antimalarial activity of new dihydroartemisinin derivatives. 6. α -alkylbenzylicethers. *Journal Medicinal Chemistry*. 38. 764-770
- Meshnick, S.R. (1994). The mode of action of antimalarial endoperoxides. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* Vol. 88 Suppl 1: S31-32
- Meshnick, S.R. TE Taylor dan S. Kamchonwongaison. (1996). Artemisinin and anti malarial endoperoxides from herbal remedy to targeted chemotherapy. *Microbiological Reviews* 60 (2): 301-315
- Metralis, H.K., et al. (1995). Vanadia Catalysts Supported on Mixed TiO₂-Al₂O₃. Supports ; Effect of Composition on the Structure and Acidity. *J.Of Catal*, 157, 368-379

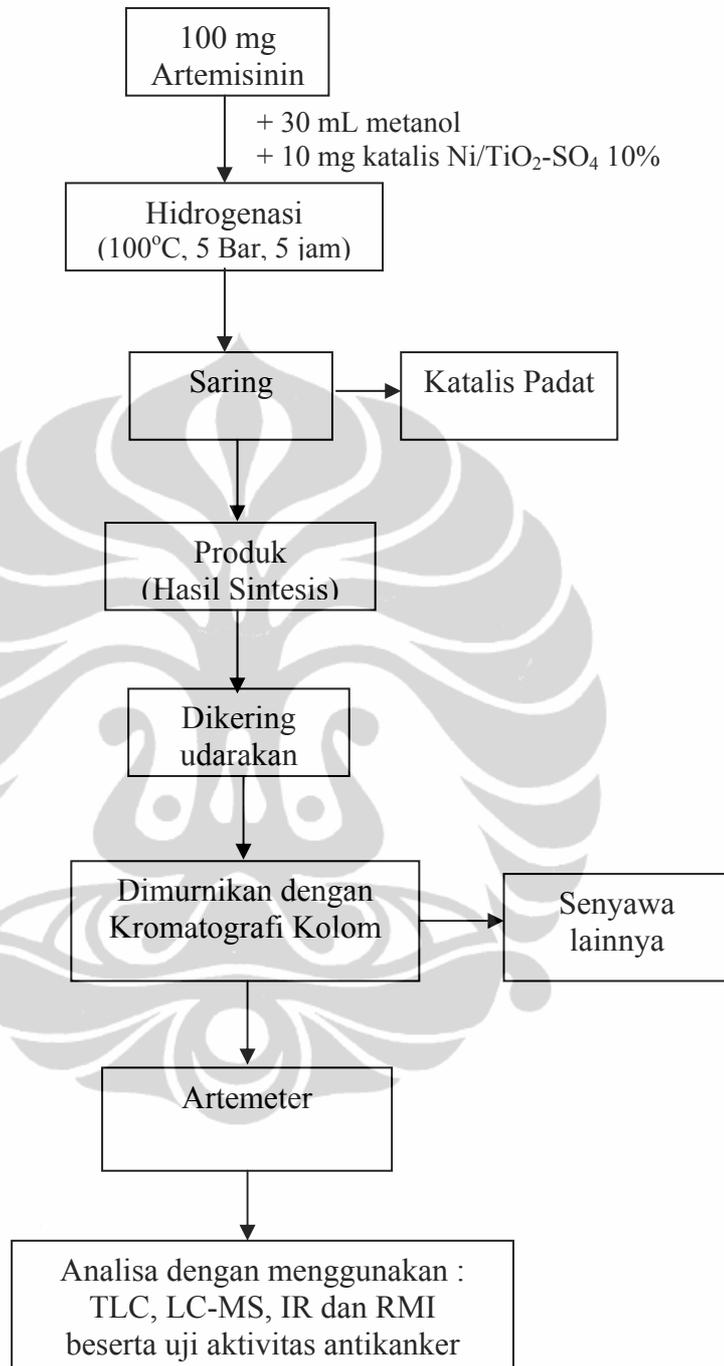
- Meyer, H. N, et al. (1982). Brine Shrimp Lethality Test : *Med Plant Research* Vol. 45. Hipokrates Verlag Gmbrl. Amsterdam
- Nogrady, T. (1985). *Medicine Chemistry. Biochemistry Approach*. New York: Oxford University Press. 376
- Pinna, F. (1998). Supported Metal Catalyst Preparation. *Catalyst Today*. 41, 129 – 137
- Purwantiningsih. (2003). *Artemisinin dari Artemisia saccharum, Ledep dan Turunannya Sebagai Komponen Bioaktif Antimalaria*. Bogor : Karya Utama Doktor Kimia, FMIPA Kimia IPB
- QACRG. (1979). Antimalaria studies on qinghaosu. *J. of Medicinal Chemistry*. 92 (12): 811-816
- Sardjoko. (1993). *Rancangan Obat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. 30-31
- Satterfield, C. N. (1991). *Chemistry and Catalysis in Industrial Practice*. New York: Mc Graw Hill.
- Serio, M.D., R. Tesser, L.Pengmei & E. Santacesaria. (2007). Heterogeneous Catalyst for biodiesel Production. *Energy and Fuels*. 22 (1) : 207-217
- Siswandono dan Soekardjo. (1995). *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press. 131-132, 237-238, 247-265.
- Sumatra, M. (1998). Bioassai In Vitro Dengan Sel Leukimia L1210, Sebuah metode Skrining zat Anti Tumor Dari Bahan Alam, Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia, Jakarta : 183-184
- Syarif., et al. (2007). *Farmakologi dan Terapi* . Jakarta : Universitas Indonesia press
- Tang, W and Eisenbrand. (1992). Chinese drug of plant origin: Chemistry pharmacology and use in traditional and modern medicine: *Artemisia annua*. Springer-Verlag. 159-171
- The Merck Index. (1989). An encyclopedia of chemical, drugs, and biological. 11thed. Merck index & Co., Inc Rahway. Newyork
- Thomas J.M., & Thomas, W.J. (1997). Principle and practice of heterogenous Catalysis, VHC Federal, Republic of germany

- Tjay, T.H., & Raharja, K. (2007). *Obat obat penting, khasiat penggunaan dan efek efek sampingnya*: ke 6 Jakarta: Gramedia
- Usman. (2001). Pengaruh Penyanga γ -Al₂O₃ dan γ -Al₂O₃-TiO₂ Terhadap Aktifitas Katalis Nikel Pada Reaksi Metanasi CO₂. Karya Utama Magister Kimia. Depok; FMIPA UI.
- Vasanth S., Gopal, R.H dan Rao, R.B. (1990). Plant Antimalarial Agents. *J. of scientific & Industrial Research* Vol 49:68-77
- Vishwakarma, RA. (1990). Stereoselective synthesis of α -artheeter from artemisinin. *J. Natural Products*. 53(1):216-217
- Vogel, A. L. (1951). A Textbook of Practical Organik Chemistry, 3rd edition English language book Society and Longmans, Green and Co.Ltd
- White, C. L. (2002). Cancer Smart Bomb, Part I: an Idea from Ancient Chinese Medicine. *New Horizons*
- Wu, Y.L. and J.L. Zhang. (1986). Reduction of Qinghaosu (artemisinin) with Litium aluminium hydride. *J. of Organik chemistry* 14: 153-156

Lampiran 1. Alur Penelitian



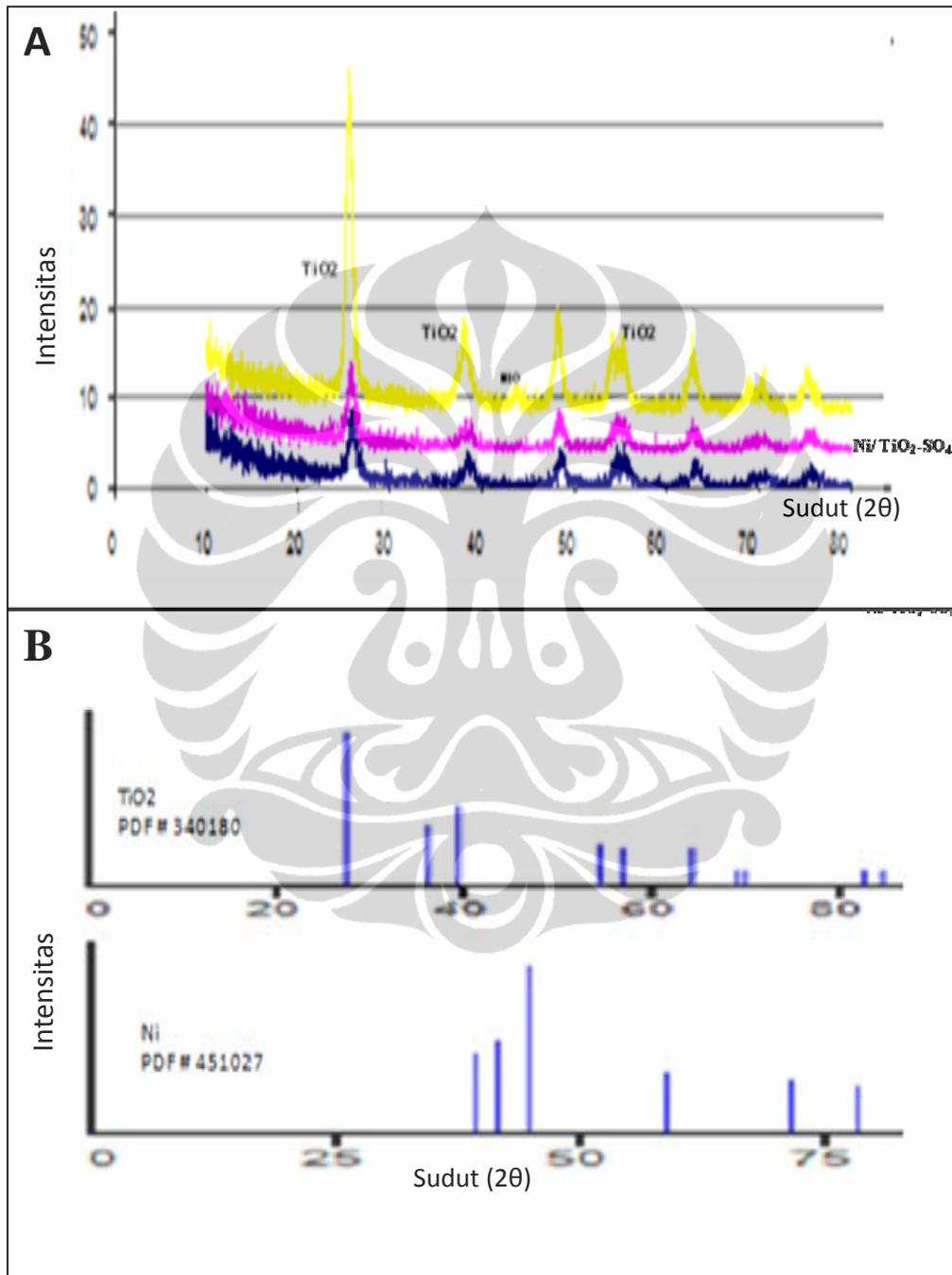
Lampiran 3. Prosedur Sintesis Artemeter



Lampiran 4. Gambar Alat yang digunakan pada penelitian A) rangkaian alat preparasi katalis B) rangkaian alat reduksi katalis dan C) Reaktor yang digunakan untuk sintesis artemeter.

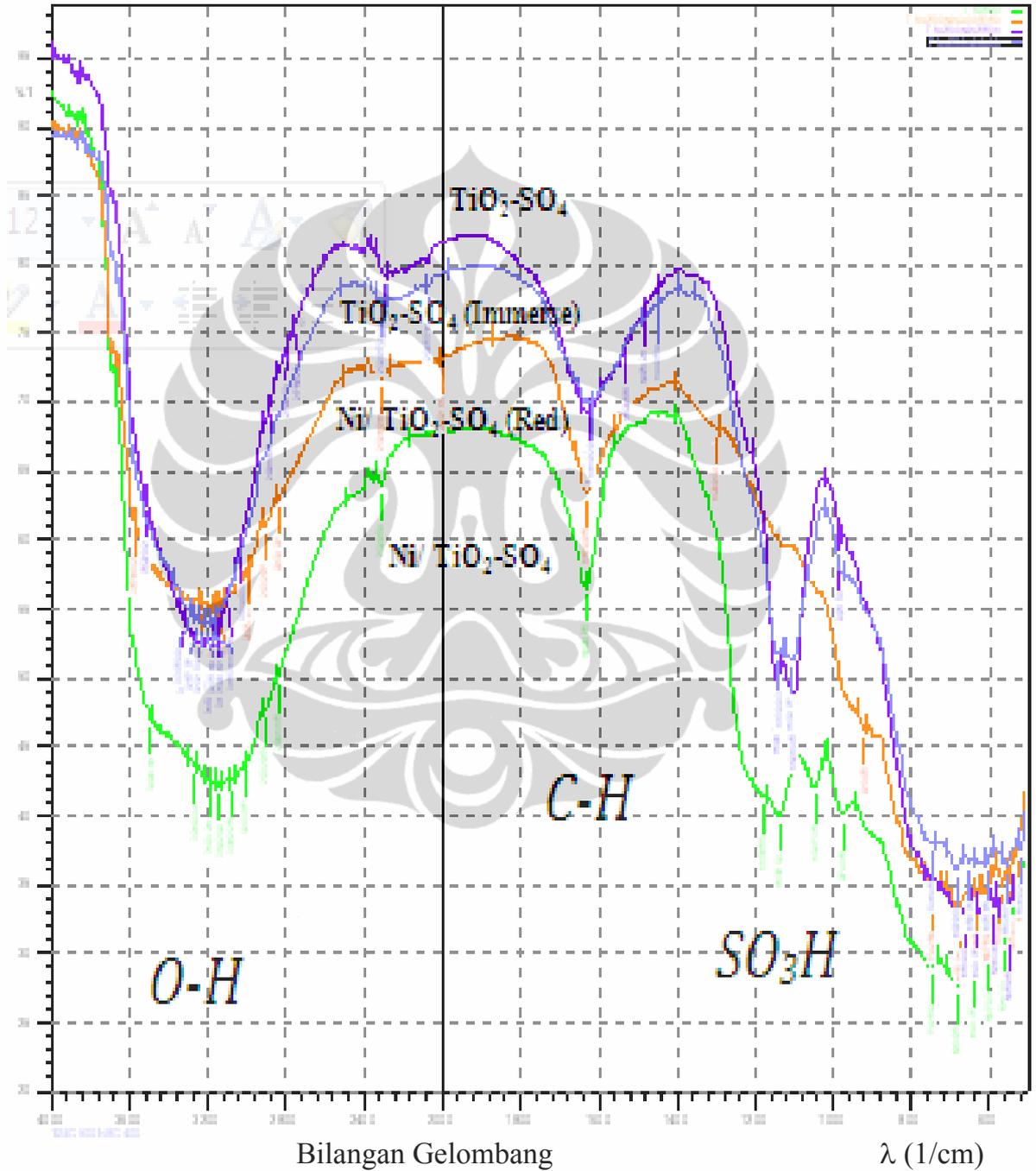


Lampiran 5. Hasil Analisa XRD katalis Ni/TiO₂-SO₄ dibandingkan XRD standar logam Ni dan TiO₂. A) Kromatogram XRD katalis Ni/TiO₂-SO₄, B) Kromatogram XRD standar

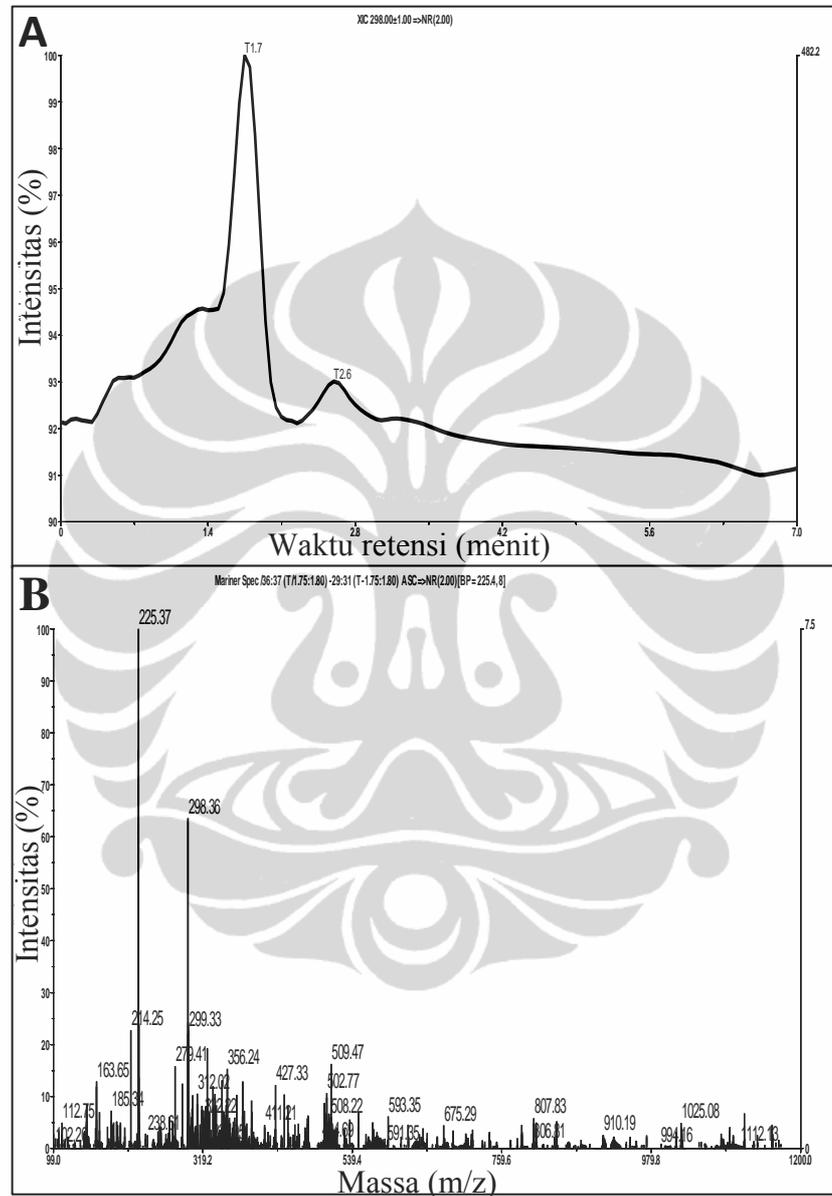


Lampiran 6. Hasil Analisa FTIR Pada Katalis $\text{TiO}_2\text{-SO}_4$ dan $\text{Ni/TiO}_2\text{-SO}_4$ sebelum dan setelah reduksi.

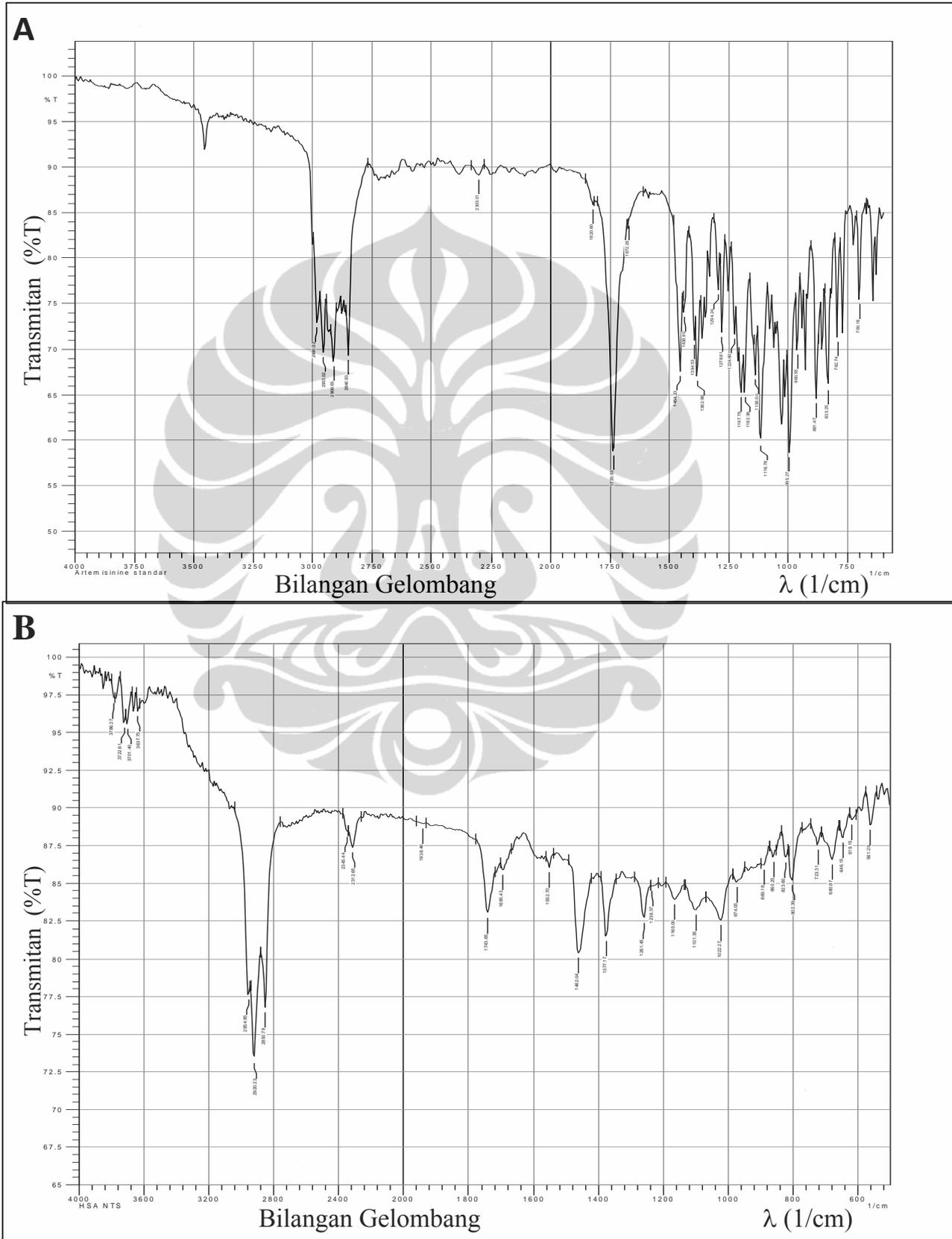
Transmitan
(%T)



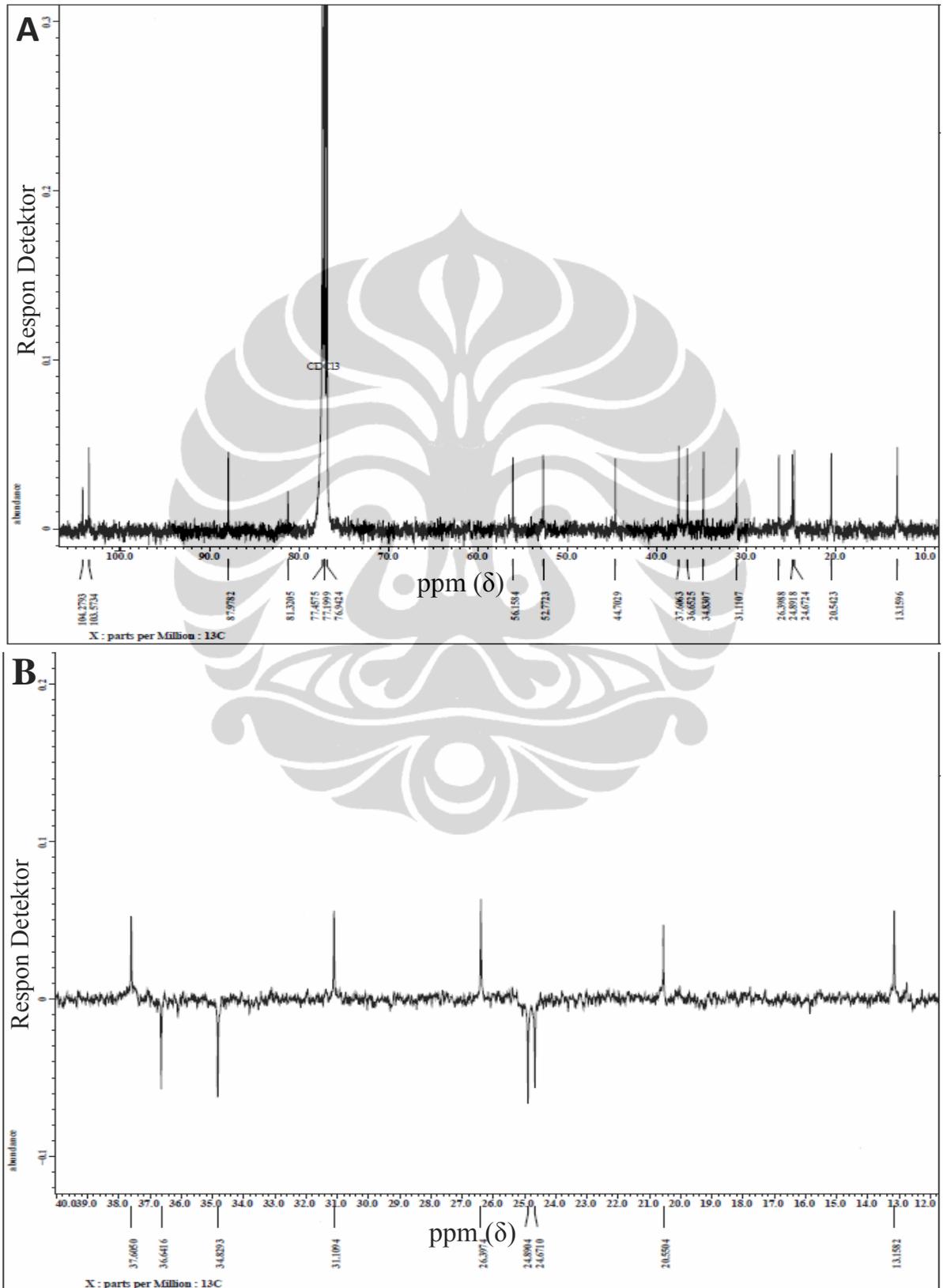
Lampiran 7. Pola Kromatogram Artemer Hasil Sintesis Dengan Menggunakan LC-MS, A) Pola Kromatogram B) Spektrum Massa



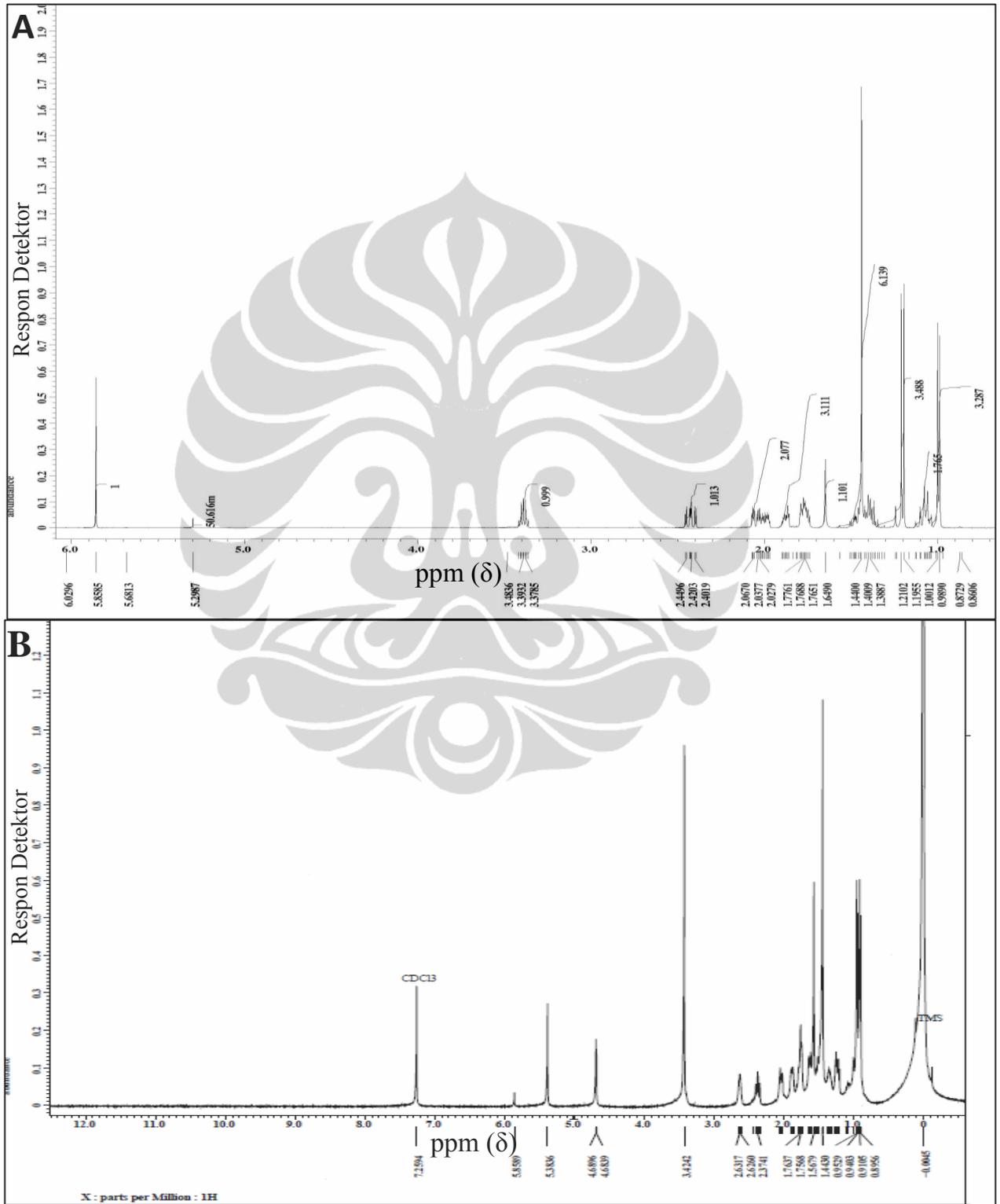
Lampiran 8. Data hasil pengukuran Spektrum FTIR A) Artemisinin B) Artemeter hasil sintesis



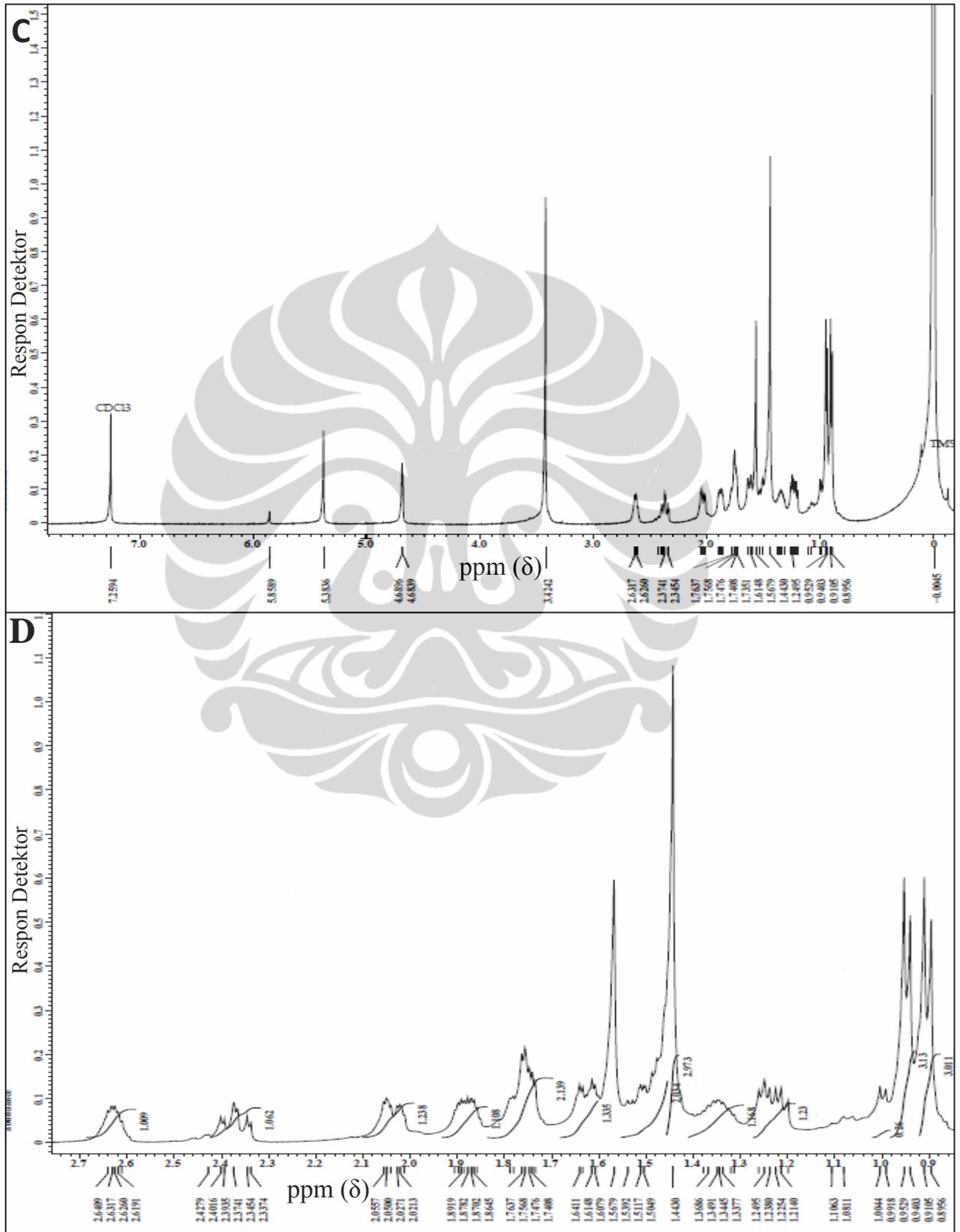
Lampiran 9. Data hasil Analisa ^{13}C NMR Artemeter, A) Jumlah atom C
B) Spektrum yang menunjukkan jumlah gugus CH_2



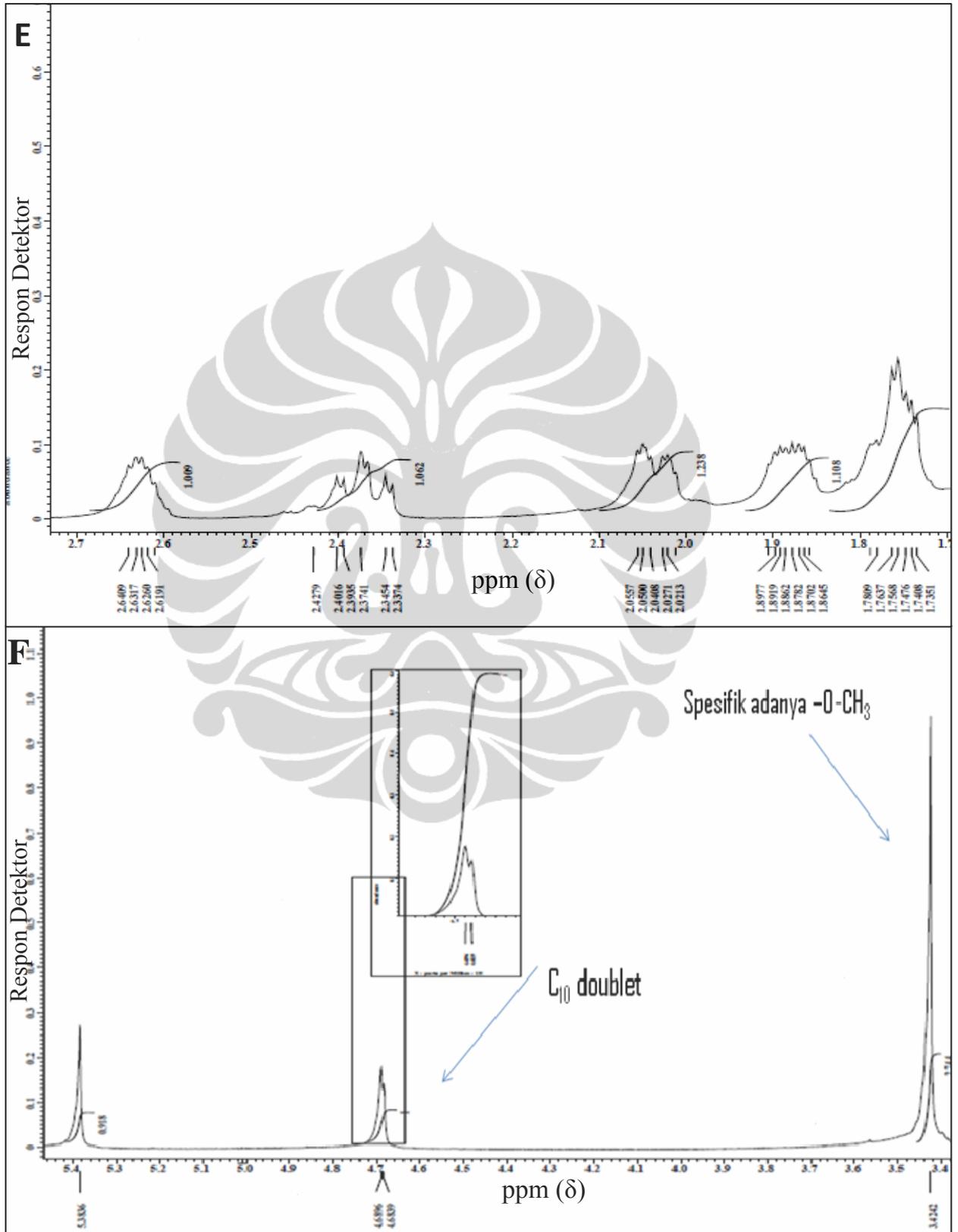
Lampiran 10. Data Hasil Analisa ¹HNMR A) Artemisinin B) Artemeter C) Perbesaran spektrum artemeter pada 0-7 ppm D) Perbesaran spektrum artemeter pada 0-3 ppm E) Perbesaran spektrum artemeter pada kisaran 3 ppm dan F) Perbesaran spektrum artemeter pada 3-5 ppm



(lanjutan)



(lanjutan)

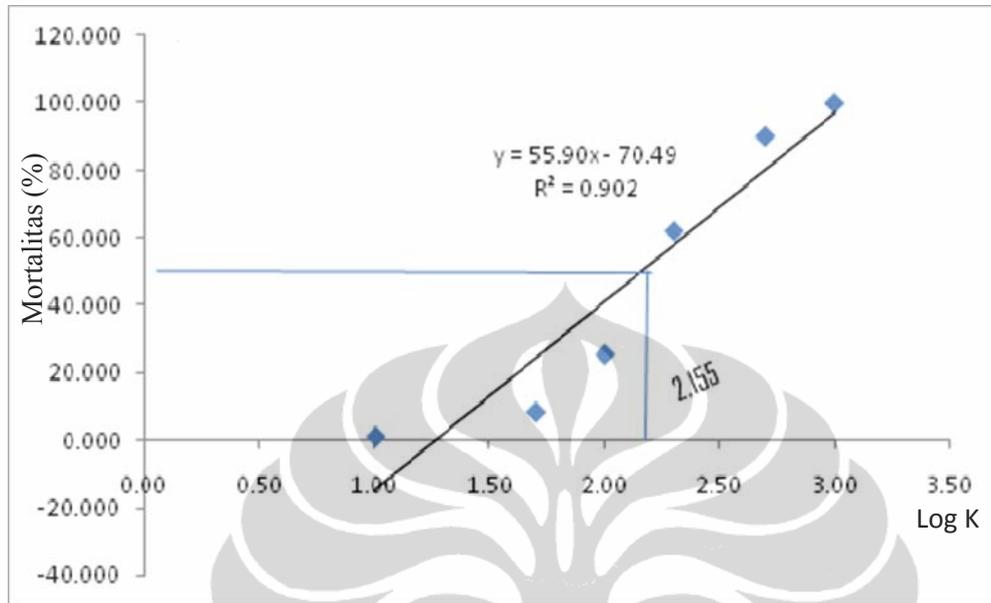


Lampiran 11. Hasil Perhitungan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Konsentrasi (ppm)	Log K (X)	Hidup Awal			Hidup akhir			Mati	Hidup	Akumulasi		Mortalitas (%) (Y)	LC ₅₀
		hidup	mati	hidup	mati	hidup	mati						
Blanko		10	10	10	10	10	10	0	30	0	90	0	142,89
		10	10	10	10	10	10	0	30	0	60	0	
		10	10	10	10	10	10	0	30	0	30	0	
10	1,00	10	10	10	10	10	9	1	29	1	95	1,04	
50	1,70	10	10	10	8	9	8	5	25	6	66	8,33	
100	2,00	10	10	10	8	8	6	8	22	14	41	25,45	
200	2,30	10	10	10	5	4	4	17	13	31	19	62,00	
500	2,70	10	10	10	2	3	1	24	6	55	6	90,16	
1000	3,00	10	10	10	0	0	0	30	0	85	0	100,00	

(lanjutan)

Penentuan LC₅₀



Gambar. Persamaan garis Uji BSLT pada artemeter

(lanjutan)

Cara perhitungan uji BSLT:

X = Log K

Y = mortalitas

LC₅₀ = mortalitas sebesar 50%

$$\begin{aligned}\text{Persamaan garis} &\rightarrow y = 55,90x - 70,49 \\ 50 &= 55,90 \cdot x - 70,49 \\ x &= -(50 - 55,90) / -70,49 \\ x &= 2,155\end{aligned}$$

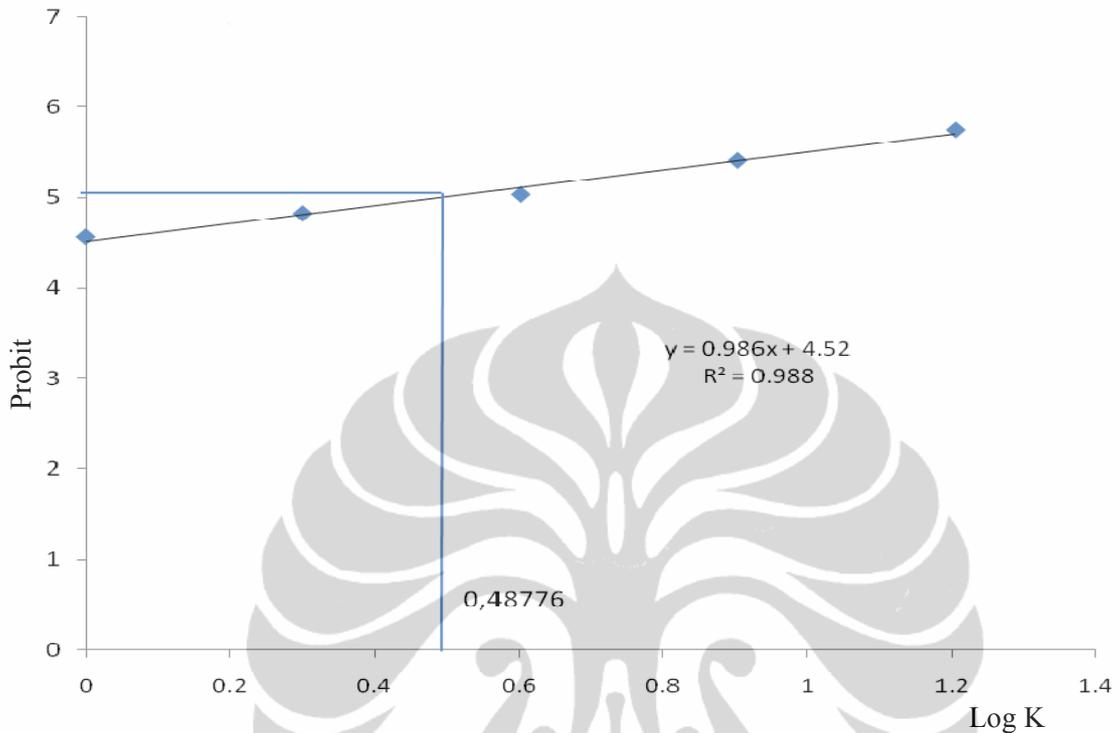
Diperoleh Log k (x) = 2,155 ; maka konsentrasi = antilog 2,155 = 142,89 ppm

LC₅₀ artemeter sebesar 142,89 ppm

Lampiran 12. Hasil perhitungan IC_{50} pada artemeter terhadap sel leukemia L1210

Konsentrasi (ppm)	Log Dosis (x)	Sel Hidup					Jumlah sel hidup 10^5	Jumlah sel hidup rata-rata 10^5	% Inhibisi	Probit (y)	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		1	2	3	4	5					
0	-	10	10	9	9	8	23,0	23,50	-	-	3,0744
		9	10	9	1	9	24,0				
1	0,0000	5	7	6	7	7	16,0	15,75	32,98	4,56	
		5	5	7	7	7	15,5				
2	0,3010	6	5	5	6	5	13,5	13,5	42,55	4,82	
		5	5	7	5	5	13,5				
4	0,6021	6	5	3	5	3	11,0	11,50	51,06	5,03	
		5	6	4	5	4	12,0				
8	0,9031	4	4	4	3	4	8,5	8,00	65,96	5,41	
		3	3	2	3	2	7,5				
16	1,2041	3	2	3	3	2	6,5	5,50	76,60	5,74	
		2	1	1	2	3	4,5				

(lanjutan)



Gambar. Persamaan garis Uji antikanker pada artemeter terhadap sel Leukemia L1210

Cara perhitungan uji toksisitas terhadap sel leukimia L1210:

X = Log K

Y = Probit

LC₅₀ = Probit sebesar 50% = 5,00 (dari tabel)

Persamaan garis → $y = 0,986 + 4,52$

$$5,00 = 0,986 \cdot x + 4,52$$

$$x = 0,48776$$

Diperoleh Log k (x) = 0,48776 , konsentrasi = antilog 0,488776 = 3,0744 ppm

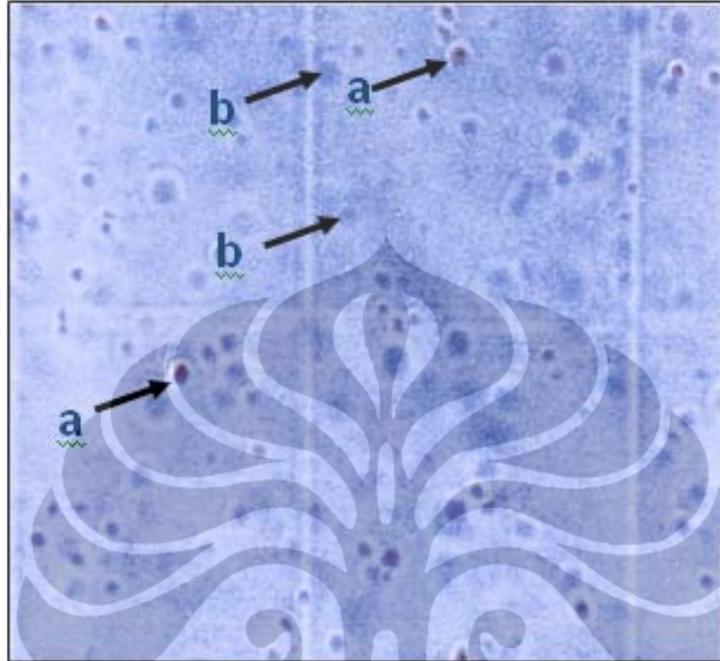
IC₅₀ artemeter sebesar 3,0744 ppm

(lanjutan)

Tabel. Transformasi presentase (Kematian atau penghambatan proliferasi) probit empirik

%	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	<u>5,00</u>	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,06	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,76	7,88	8,09

Lampiran 13. Data Hasil Pengamatan Sel Leukimia Pada Uji Aktivitas Antikanker



Keterangan:

a = sel hidup

b = sel mati

Lampiran 14. Reaksi one pot system pada artemisinin dengan menggunakan katalis Ni/ TiO₂-SO₄

