

Sintesis dan Uji Aktivitas Antimalaria Senyawa Turunan 2,4-Difenil-1,10-Fenantrolin

(Synthesis and Testing of Antimalarial Activity of 2,4-Diphenyl- 1,10-Phenanthroline Compounds)

RUSLIN HADANU^{1*}, MUSTAFA², AND NAZUDIN¹

¹Department of Chemistry, FKIP, Pattimura University, Poka, Ambon- Indonesia

²Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine,
Gadjah Mada University, Sekip Utara, Yogyakarta-Indonesia.

Diterima 8 April 2011, Disetujui 10 November 2011

Abstrak: Malaria masih merupakan masalah kesehatan utama di negara-negara subtropis dan tropis. Ada 105 negara di dunia yang berada pada daerah endemik malaria dan lebih dari 500 juta kasus atau lebih dari 2,7 juta kematian akibat malaria setiap tahunnya. Beberapa obat tradisional tidak efektif lagi, dan masih banyak serangan penyakit malaria yang paling berbahaya akibat spesies *P. falciparum* terus meningkat, sementara beberapa obat tradisional seperti chloroquine telah mengalami resistensi. Sintesis turunan 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dari bahan baku benzaldehida [1], asetofenon [2], *l*-kalkon [3], dan 8-aminokuinolin [4] melalui 3 tahap reaksi telah dilakukan. Hasil dari semua tahap reaksi tersebut diperoleh senyawa [5], (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7]. Hasil uji aktivitas anti antiplasmodium secara *in vitro* terhadap strain *P. falciparum* FCR3 yang resisten klorokuin menunjukkan bahwa senyawa [7] mempunyai aktivitas antimalarial tertinggi ($IC_{50} = 0,06 \pm 0,05 \mu M$), dibandingkan dengan aktivitas antimalarial senyawa [6] ($IC_{50} = 1,27 \pm 0,97 \mu M$) dan senyawa [5] ($IC_{50} = 1,66 \pm 0,70 \mu M$). Hasil yang serupa dalam uji *in vitro* dengan metode yang sama pada strain *P. falciparum* D10 yang resisten klorokuin menunjukkan bahwa senyawa [7] memiliki aktivitas antimalaria yang lebih tinggi ($IC_{50} = 0,04 \pm 0,04 M$) dari aktivitas senyawa [5] ($IC_{50} = 1,13 \pm 0,30 M$) dan senyawa [6] ($IC_{50} = 0,81 \pm 0,06 M$).

Kata kunci: sintesis, turunan 2,4-difenil-1,10-fenantrolin, antimalaria.

Abstract: Malaria is still the main health problems in subtropical and tropical countries. There are 105 countries in the world at malaria endemic and more than 500 million cases or more than 2.7 million deaths from malaria each year. The traditional remedies are no longer effective and the incidence of malarial by *P. falciparum*, the most dangerous species of parasite, continues to grow, while some traditional drugs such as chloroquine has been resistance. Synthesis of 2,4-diphenyl-1,10-phenanthroline [5] compounds with benzaldehyde [1], acetophenone [2], *l*-calcone [3], 8-aminoquinoline [4] as starting material through three steps has been carried out. The results of all steps of the reaction were obtained compounds of [5], (1)-*N*-methyl-7,9-diphenyl-1,10-phenanthroline sulfate [6] and (1)-*N*-ethyl-7,9-diphenyl-1,10-phenanthroline sulfate [7]. The results of antiplasmodial activity *in vitro* testing of the derivatives on chloroquine-resistant *P. falciparum* FCR3 indicated that compound [7] has higher antimalarial activity ($IC_{50} = 0.06 \pm 0.05 \mu M$) than the activity of [6] compound ($IC_{50} = 1.27 \pm 0.97 \mu M$) and [5] compound ($IC_{50} = 1.66 \pm 0.70 \mu M$). Results of similar *in vitro* testing on chloroquine-resistant *P. falciparum* D10 strain indicated that [7] compound has higher antimalarial activity ($IC_{50} = 0.04 \pm 0.04 \mu M$) than the activity of [5] compound ($IC_{50} = 1.13 \pm 0.30 \mu M$) and [6] compound ($IC_{50} = 0.81 \pm 0.06 \mu M$).

Keywords: synthesis, 2,4-diphenyl-1,10-phenanthroline derivatives, antimalarial.

* Penulis korespondensi, Hp. 085228447288
e-mail: ruslin_hadanu@yahoo.com

PENDAHULUAN

MALARIA masih merupakan masalah kesehatan utama di dunia, baik di negara berkembang maupun negara maju. Usaha pemberantasan telah lama dicanangkan oleh Badan Kesehatan Dunia (WHO) sejak tahun 1959, namun hingga saat ini belum memberikan hasil yang memuaskan. Bahkan sampai saat ini malaria masih merupakan salah satu penyakit yang mengancam kembali (*reemergency diseases*) penduduk di seluruh dunia, di samping penyakit tuberculosis⁽¹⁾.

Pada tahun 1997, WHO melaporkan bahwa sekitar 41% penduduk dunia atau 1-3 miliar orang tinggal di daerah endemis malaria dan terancam infeksi parasit malaria. Tiga tahun kemudian (tahun 2000) WHO juga melaporkan bahwa malaria diperkirakan menjangkiti lebih dari 100 negara, bahkan mengancam hampir 40% populasi penduduk dunia dan menginfeksi secara akut 300 juta penduduk setiap tahun. Bahkan Sach dan Malaney⁽²⁾ menyatakan bahwa setiap 40 detik terdapat satu orang anak penduduk dunia yang meninggal akibat penyakit malaria. Lebih jauh lagi dilaporkan oleh WHO bahwa antara 300-500 juta penduduk terinfeksi malaria setiap tahun, dan diperkirakan antara 1,5-2,7 juta meninggal per tahun (setiap 12-21 detik terdapat satu orang meninggal dunia), terutama balita dan ibu hamil^(3,4). Pada tahun 2004, WHO kembali melaporkan bahwa lebih dari 40% penduduk dunia terancam dan berisiko tinggi terinfeksi malaria, dan diperkirakan bahwa lebih kurang 3 juta orang pada setiap tahunnya meninggal dunia akibat terinfeksi parasit malaria^(5,6).

Salah satu faktor utama penyebab terjadinya kegagalan dalam pemberantasan malaria adalah timbulnya vektor malaria (nyamuk *Anopheles*) yang resisten terhadap insektisida dan parasit malaria (*Plasmodium*) yang resisten terhadap antimalaria yang tersedia, utamanya antimalaria pilihan yaitu klorokuin. Resistensi parasit malaria, utamanya *Plasmodium falciparum*, pertama kali dilaporkan oleh D'Alessandro dan Buttiens⁽⁷⁾ pada tahun 1970 yang terjadi di Afrika, diikuti oleh Kamboja dan Thailand⁽⁸⁾. Kemudian resistensi ini mulai menyebar dengan cepat di kawasan negara-negara Asia Tenggara, termasuk di Indonesia dan Amerika Selatan periode tahun 1960-1970-an⁽⁹⁾. Resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin juga telah dilaporkan terjadi di kawasan Afrika Tengah dan Barat pada akhir tahun 1970-an⁽¹⁰⁾. Saat ini hanya beberapa daerah tertentu di dunia belum pernah dilaporkan terjadi resistensi *P. falciparum* terhadap antimalaria yaitu kawasan Amerika Tengah dan El Faiyum Mesir⁽¹¹⁾. Masalah resistensi tersebut telah menjadi masalah yang serius karena mengakibatkan banyak kegagalan dalam pengobatan bahkan sampai menyebabkan kematian

Senyawa hasil pemodelan yang mempunyai

aktivitas antimalaria yang tinggi secara teoritis/komputasi melalui analisis menggunakan metode semiempiris PM3 adalah turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5]. Turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] yang diprediksi mempunyai aktifitas antiplasmodial sebagai obat antimalaria baru adalah senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7]. Sintesis turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dilakukan melalui 3 tahap reaksi. Tahap pertama adalah sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dari senyawa *t*-kalkon [3] dan 8-aminokuinolin [4] melalui reaksi kondensasi aldol yang secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 1. Tahap kedua, alkilasi senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] menggunakan pereaksi DMS dan DES menghasilkan 2 senyawa baru lain yaitu senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7].

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Aseton p.a. (Merck), 8-aminokuinolin p.a. (Merck), benzaldehida p.a. (Merck), asetofenon (Merck), KOH p.a. (Merck), H₂SO₄ p.a. (Merck), NaI p.a. (Merck), dimetil sulfat (DMS) p.a. (Merck), dietil sulfat p.a. (Merck), kertas saring, akuades, (seri larutan NaCl 0,90%; 1,60%; 12,00%), dekstrosa 0,20%; strain *P. falciparum* FCR-3 (resisten terhadap klorokuin) dan D10 (sensitif terhadap klorokuin) dari Laboratorium Eijkman Jakarta, serum manusia dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi serta Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM, medium *Rosswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1430, pewarna *Giemsa* dan lain-lain.

Alat. lampu UV-VIS (CAMAG UV-CABINET II; $\lambda=366-254$ nm), spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), spektrofotometer H-NMR (JOEL JNM MYGO), spektrofotometer Massa (Shimadzu GC-17 A, QP-5000), inkubator CO₂, Saringan *Milipore* (Millex), inkubator (NUAIRE), *laminary flow cabinet* (NUAIRE), *culture flask* (*Nalge Nunc International*, Denmark), *microplate* dengan 96 sumuran, mikroskop (Zeiss), tabung *Eppendorf*.

METODE. Sintesis senyawa 1,3-difenilpropen-2-en-1-on/*t*-kalkon [3]. Ke dalam Erlenmeyer dimasukkan 2,12 g benzaldehida [1] (0,020 mol) dan ditambahkan 2,40 g asetofenon [2] (0,020 mol) dalam 16 mL etanol 95%. Campuran tersebut dikocok sampai larut sempurna, dan kemudian dimasukkan 2 mL KOH 1,5 M secara tetes demi tetes hingga terbentuk endapan. Campuran dibiarkan selama 10 menit dan kemudian ke dalam campuran dimasukkan 100 mL air dingin. Padatan produk yang terbentuk didiamkan semalam

untuk menyempurnakan terbentuknya endapan, disaring dan direkristalisasi dengan etanol 95% untuk menghasilkan senyawa *t*-kalkon [3] sebanyak 3,99 g (95,79%). Senyawa produk hasil sintesis dianalisis dengan GC, spektrofotometer IR, ¹HNMR (60 MHz, DMSO-d₆, TMS) dan MS.

Sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5]. Sebanyak 4,16 g senyawa *t*-kalkon [3] (0,02 mol) yang ditambahkan secara perlahan-lahan selama 1 jam terhadap campuran 1,73 g 8-aminokuinolin [4] (0,01 mol) dan 0,02 g NaI (0,00012 mol) yang dilarutkan dalam 10 mL H₂SO₄ 70% yang dipanaskan pada suhu 110°C selama 5 jam. Campuran tersebut didinginkan pada suhu kamar dan ditambahkan 50 mL Na₂CO₃ 1 M. Campuran diekstraksi secara berturut-turut dengan CH₂Cl₂ (3 x @ 50 mL) dan HCl 12 M (5 x @ 25 mL), dinetralkan dengan NaOH 3 M, dicuci dengan Na₂CO₃ 1 M, dan kemudian diekstraksi dengan CH₂Cl₂. Campuran dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrous, kemudian dievaporasi. Produk dimurnikan melalui kolom silika gel dengan eluen CH₂Cl₂. Fraksi yang mempunyai warna yang mirip digabung dan dievaporasi untuk memperoleh cairan kental yang berwarna coklat. Produk yang diperoleh direkristalisasi dengan CH₂Cl₂ : *n*-heksana (1:9) untuk menghasilkan 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] yang berwarna coklat sebanyak 12,66 g (66,83%). Senyawa produk hasil sintesis diidentifikasi dengan spektrofotometer IR, ¹HNMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS) dan MS.

Sintesis senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6]. Ke dalam labu leher tiga yang telah dilengkapi dengan pendingin balik, pengaduk magnet, dan termometer dimasukkan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] (0,43 g; 0,001 mol), DMS (1,26 g, 0,01 mol) dan 20 mL aseton. Campuran diaduk dan sambil dipanaskan pada suhu refluks (55°C) selama 20 jam. Setelah proses refluks berakhir, campuran didinginkan, dicuci dengan aseton dan dikeringkan di bawah lampu pengering untuk menghasilkan senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] yang berwarna hijau kecoklatan sebanyak 1,31 g (87,33%). Senyawa produk hasil sintesis dianalisis dengan GC, spektrofotometer IR, ¹HNMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS) dan MS.

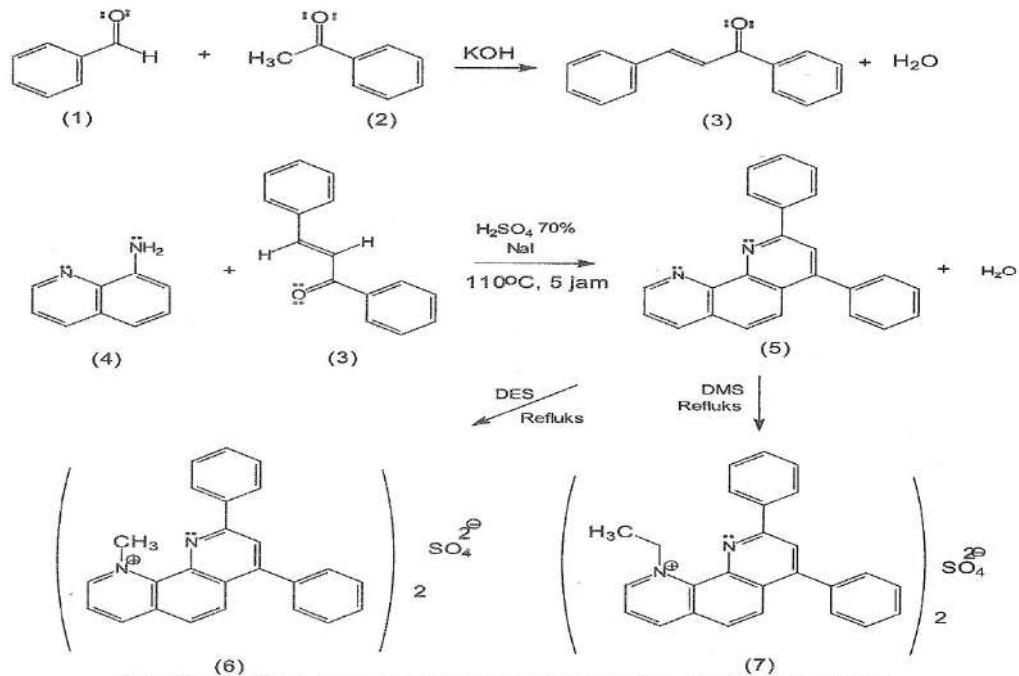
Sintesis senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7]. Sebanyak 0,42 g senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] (0,001 mol) yang dilarutkan dalam 20 mL aseton dimasukkan dalam labu leher tiga yang telah dilengkapi dengan seperangkat alat refluks. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan DES (1,54 g; 10 mmol) dan direfluks selama 24 jam. Endapan yang terbentuk disaring dan dicuci dengan aseton untuk menghasilkan senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] yang berwarna

hijau sebanyak 0,20 g (49,02%). Senyawa produk hasil sintesis diidentifikasi dengan GC, spektrofotometer IR, ¹HNMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS) dan MS.

Uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*. Langkah pertama pembuatan kultur *Plasmodium in vitro*. Strain *P. falciparum* yang resisten klorokuin (FCR3) ditumbuhkan dengan metode modifikasi berupa penyimpanan *candle jar* dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C. *Plasmodium* dipelihara secara *in vitro* menggunakan eritrosit golongan O⁺ dengan kepadatan/hematokrit 1%-5% dalam medium RPMI 1640 yang mengandung 25 mM HEPES, 30 mM NaHCO₃ dan 10% serum manusia (O⁺). Kondisi kultur diamati tiap hari, dan pada saat akan digunakan untuk uji, *Plasmodium* disinkronisasi dengan sorbitol 5%. Langkah ke dua adalah uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* dilakukan dengan metode mikroskopis yang dikembangkan oleh Desjardins⁽¹²⁾. Ke dalam mikrokultur 96 sumuran yang mengandung kultur *Plasmodium* pada fase trophozoit dengan parasitemia 2% (hematokrit 3%), ditambahkan senyawa uji pada berbagai peringkat kadar. Kultur yang mengandung senyawa uji selanjutnya diinkubasikan 72 jam. Pada metode mikroskopis, nilai parasitemia dihitung dari sediaan apus yang diwarnai dengan *Giemsa*. Nilai parasitemia ini selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Pada metode mikroskopis, pertumbuhan parasit dihitung berdasarkan eritrosit yang terinfeksi oleh *Plasmodium* dengan menggunakan mikroskop. Sebagai kontrol digunakan kultur *Plasmodium* tanpa senyawa uji dan dianggap mempunyai pertumbuhan 100%. Aktivitas antiplasmodium dinyatakan sebagai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*) yaitu kadar yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan parasit hingga 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap awal sintesis turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] adalah sintesis senyawa *t*-kalkon [3] sebagai senyawa antara dari senyawa benzaldehida [1] dan asetofenon [2] melalui reaksi kondensasi aldol dan menggunakan katalis KOH (Gambar 1). Reaksi tersebut sangat efisien, hal ini dapat dilihat dari rendemen hasil reaksi sebesar 95,79% yang direkristalisasi dengan etanol 95%. Produk reaksi kondensasi tersebut berupa padatan kuning dan mempunyai titik lebur 49-50°C. Spektrum massa senyawa produk di atas mendukung keakuratan struktur senyawa hasil reaksi yang mempunyai ion molekuler sebesar *m/z* 208 sesuai dengan massa molekul relatif senyawa *t*-kalkon [3], sehingga senyawa produk tersebut sangat berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku dalam reaksi sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5].



Gambar 1. Sintesis senyawa turunan 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5].

Keberanian struktur senyawa *t*-kalkon [3] dibuktikan oleh hasil analisis GC dengan kemurnian 78,70% dan titik lebur 49-50°C, hasil analisis spektrofotometri IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3028,0 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$), 1651,0 (C=O), 1621,0 dan 1593,0 (C=C aromatik); dan hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, DMSO-d_6 , TMS) δ (ppm): 8,2-7,9 (2H, m, HA), 7,8-7,1 (10H, m, Ph); MS (EI) m/z : 208 (M), 207 (M-H), 179 (207-C=O), 131 (207-Ph), 103 (M-PhC=O), dan 77 (103- C_2H_2).

Usaha sintesis turunan senyawa 1,10-fenantrolin yang mempunyai aktivitas tinggi, maka disintesis turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] yang mempunyai substituen fenil pada kerangka 1,10-fenantrolin. Sintesis turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] berdasarkan hasil desain molekul HKSA. Data yang diperoleh dari hasil desain molekul tersebut adalah data nilai IC_{50} beberapa turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] yang pada umumnya rendah atau mempunyai aktivitas antimalaria yang tinggi. Pembuatan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] melalui reaksi siklisasi terhadap senyawa 8-aminokuinolin [4] dengan senyawa *t*-kalkon [3] dan menggunakan katalis H_2SO_4 dan NaI. Sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] berdasarkan metode tersebut diperoleh produk yang mempunyai titik lebur 165°C-167°C. Sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dilakukan dari bahan baku senyawa

8-aminokuinolin [4] dan *t*-kalkon [3] dengan katalis H_2SO_4 dan NaI yang berlangsung pada suhu 110°C-115°C selama 5 jam. Produk reaksi berupa padatan berwarna coklat yang mempunyai titik lebur 165°C-167°C dan mempunyai rendemen 39,03%. Reaksi dalam sintesis senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] mempunyai rendemen yang rendah, hal tersebut disebabkan oleh efek sterik dari pereaksi *t*-kalkon [3] yang memiliki 2 buah fenil. Senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] mempunyai massa molekul relatif sebesar 332 gram/mol, hal ini sesuai dengan ion molekuler yang ditampilkan oleh spektrum massa (GC-MS). Keberanian struktur senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dibuktikan oleh hasil analisis spektrofotometri IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3394,5 (O-H ikatan hidrogen antar molekul), 3058,9 dan 3028,0 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$), 2923,9 dan 2869,9 ($\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$), 1596,9 dan 1462,8 (C=C aromatik); hasil analisis spektrofotometri IR $^1\text{HNMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , TMS) δ (ppm): 8,30-6,43 (12H, m, Ph); dan dibuktikan oleh hasil analisis spektrofotometri massa (MS, EI) m/z : 332 (M), 306 (M- C_2H_2), 280 (306- C_2H_2), 255 (280- C_2H), 229 (255- C_2H_2), 203 (229- C_2H_2), 178 (203- C_2H), 127 (178-NCCCH), 101 (127- C_2H) dan 77 (102- C_2H). Limpahan relatif yang tampak pada spektrum massa senyawa produk tersebut mempunyai selisih 1 dengan massa molekul relatif struktur senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5]. Titik lebur senyawa hasil reaksi

tersebut sebesar 205°C-207°C, lebih tinggi jika dibandingkan dengan titik lebur senyawa *t*-kalkon [3] maupun senyawa 8-aminokuinolin [4] yang merupakan bahan baku dari reaksi tersebut. Berdasarkan titik lebur tersebut dan hasil analisis spektrometer tersebut di atas, maka dapat dikatakan bahwa senyawa hasil reaksi yang berupa padatan coklat merupakan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5].

Senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] disintesis dari senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dengan pereaksi DMS dalam pelarut aseton yang dilakukan pada suhu refluks. Reaksi metilasi berlangsung selama 22 jam yang menghasilkan senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] berupa padatan hijau dan mempunyai rendemen 87,33%. Senyawa produk reaksi berupa padatan hijau tersebut mempunyai titik lebur 188°C-190°C yang diukur dengan alat pengukur titik lebur elektrotermal 9100. Kebenaran struktur senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] diperkuat oleh data titik lebur senyawa tersebut yang telah berbeda secara signifikan dengan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5]. Selain adanya petunjuk tersebut, untuk menguji kebenaran struktur senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dianalisis dengan spektrometer IR. Informasi paling berarti diperoleh dari spektrum IR adalah pita pada ν 1365,9 cm^{-1} berasal dari gugus $-\text{CH}_3$ yang didukung oleh serapan pada ν 2923,9 cm^{-1} . Dua fakta tersebut cukup dijadikan alasan bahwa sintesis senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] telah berhasil dilakukan. Kesempurnaan reaksi metilasi terhadap senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] tersebut diperkuat oleh spektrum $^1\text{H-NMR}$. Pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ tersebut tampak adanya sinyal *singlet* pada δ 4,78 ppm yang berasal dari proton gugus $-\text{CH}_3$.

Senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] merupakan senyawa garam yang disintesis dari senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] melalui reaksi etilasi dengan DES di dalam pelarut aseton yang direfluks selama 16 jam. Kebenaran struktur senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] dibuktikan oleh hasil identifikasi spektrum IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3428,6 (O-H ikatan hidrogen antar molekul), 3009,1 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$), 2953,0, 2920,9 dan 2866,9 ($\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$), 1601,8 dan 1500,4 (C=C aromatik); 1450,4 (CH_2), 1369,5 (CH_3), hasil elusidasi struktur spektrofotometri $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , TMS) δ (ppm): 9,41-9,21 (1H, *d*, H_A), 8,75-8,65 (1H, *d*, H_C), 8,41-8,31 (1H, *t*, H_B), 8,28-8,13 (2H, *d*, H_I), 7,96-7,91 (1H, *d*, H_E), 7,78-7,70 (1H, *d*, H_D), 7,68-7,66 (2H, *d*, H_J), 7,64-7,62 (1H, *s*, H_P), 7,50-7,44 (2H, *t*, H_K), 7,28-7,24 (1H, *t*, H_G), 7,14-7,10 (1H, *t*, H_L), 7,06-7,00 (2H, *t*, H_H), 3,75-3,71

(2H, *m*, CH_2), 3,48 (H_2O ; ikatan hidrogen antar molekul) dan 1,10-1,07 (3H, *t*, CH_3).

Senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] mempunyai aktivitas antimalaria teoritis yang tinggi sebesar 0,002 μM . Berdasarkan nilai IC_{50} teoritis hasil uji HKSA tersebut, maka senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] dapat direkomendasikan untuk disintesis dan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antiplasmodium secara eksperimen di laboratorium. Padatan senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] yang berwarna hijau dan bertitik lebur 198°C-201°C, dianalisis dengan spektrofotometri IR dan $^1\text{H-NMR}$. Spektrum IR tersebut menunjukkan bahwa reaksi etilasi senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] dengan senyawa DES telah berhasil dilakukan. Yapi dkk.⁽¹³⁾ telah melakukan reaksi *N*-metilasi terhadap senyawa 4-kloro-3-vinil-2-metil-1,10-fenantrolin dengan pereaksi CH_3I dalam pelarut aseton yang menghasilkan senyawa 7-kloro-8-vinil-(1)-*N*-,9-dimetil-1,10-fenantrolinium iodida berupa padatan yang mempunyai titik lebur 226°C-227°C dan rendemen produk 80%. Sintesis senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] sesuai metode Yapi dkk.⁽¹⁴⁾ yaitu melalui reaksi alkilasi dari senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dengan reagen DMS dan DES.

Tahap pertama dari langkah uji aktivitas antiplasmodium adalah kultur secara berkelanjutan terhadap kedua strain *P. falciparum* dengan metode *candle jar*⁽¹⁵⁾. Setelah kultur tumbuh secara baik dan tidak terkontaminasi, kemudian dilakukan uji aktivitas antiplasmodium. Besarnya aktivitas penghambatan dari tiap kadar senyawa uji diketahui dengan menghitung persen penghambatan yang diberikan oleh turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] terhadap pertumbuhan *P. falciparum* yaitu dengan cara menghitung selisih persen parasitemia kontrol negatif dengan persen parasitemia senyawa bahan uji, selanjutnya dibandingkan dengan persen parasitemia kontrol negatif.

Persentase parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi dibandingkan dengan jumlah eritrosit total. Jumlah eritrosit total merupakan jumlah eritrosit parasit pada beberapa lapangan pandang yaitu sekitar 1000 eritrosit yang dihitung dengan mikroskop. Selanjutnya dari data persentase parasitemia tersebut dapat dihitung persentase penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*. Berdasarkan data Tabel 1, senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] memberikan efek penghambatan yang paling tinggi, jika dibandingkan dengan 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dan (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6].

Hasil perhitungan nilai IC_{50} aktivitas antimalaria

Tabel 1. Persen penghambatan pertumbuhan strain FCR-3 *P. falciparum* pada masa inkubasi 72 jam setelah pemberian seri turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5].

Kadar (ng/mL)	%Penghambatan (rerata±SD)		
	Senyawa [5]	Senyawa [6]	Senyawa [7]
50	35,29±12,60	41,93±7,56	58,92±7,62
100	51,12±5,17	42,85±4,84	49,64±19,17
200	39,96±4,00	44,74±5,32	58,96±11,20
400	47,31±1,24	42,24±11,29	62,56±14,03
800	51,47±8,18	51,15±2,73	73,11±4,04
1600	57,94±4,20	56,74±4,20	82,39±8,36
IC ₅₀ (µM)	1,66±0,70	1,27±0,97	0,06±0,05

Tabel 2. Persen penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* strain D10 pada masa inkubasi 72 jam setelah pemberian seri turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5].

Kadar (ng/mL)	%Penghambatan (rerata±SD)		
	Senyawa [5]	Senyawa [6]	Senyawa [7]
50	28,71±1,60	19,57±14,27	50,00±3,00
100	35,97±4,96	23,21±12,27	59,88±1,66
200	42,74±4,11	24,38±4,34	57,53±9,74
400	48,88±5,37	44,50±6,27	63,03±5,70
800	60,51±3,68	54,17±1,95	69,29±5,97
1600	67,34±6,89	65,08±2,22	78,25±7,57
IC ₅₀ (µM)	1,13±0,30	0,81±0,06	0,04±0,04

dari turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] terhadap strain FCR-3 diperoleh hasil bahwa senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5], (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6] dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] mempunyai nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 1,13±0,30; 0,81±0,06 dan 0,06±0,05 µM (Tabel 1). Senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] mempunyai aktivitas paling tinggi dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin.

Efek penghambatan seri turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] terhadap strain *P. falciparum* D10 disajikan pada Tabel 2. Senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] mempunyai efek penghambatan pertumbuhan parasit paling tinggi, karena pada kadar yang paling rendah (50 ng/mL) telah mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar 50,00±3,00, sedangkan pada kadar yang paling tinggi (1600 ng/mL) senyawa tersebut telah mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar (78,25±7,57 µM). Hasil uji aktivitas antiplasmodium yang ditampilkan pada Tabel 2 terhadap strain *P. falciparum* D10 memberikan hasil yaitu senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 0,04±0,04 µM yang juga hampir setara dengan senyawa klorokuin, kemudian diikuti oleh nilai aktivitas antimalaria senyawa (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6]

(0,81±0,06), dan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] (IC₅₀=1,13±0,30 µM).

SIMPULAN

Sintesis turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] dari bahan dasar senyawa 4 dan 3 melalui 3 tahap reaksi dapat menghasilkan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5], (1)-*N*-metil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [6], dan (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] dengan rendemen masing-masing sebesar 66,83%, 87,33% dan 49,02%.

Senyawa yang mempunyai aktivitas antiplasmodium paling tinggi pada seri turunan senyawa 2,4-difenil-1,10-fenantrolin [5] adalah senyawa (1)-*N*-etil-7,9-difenil-1,10-fenantrolinium sulfat [7] yang mempunyai nilai IC₅₀ = 0,06±0,05 µM terhadap strain FCR-3 dan mempunyai nilai IC₅₀ = 0,04±0,04 µM terhadap strain *P. falciparum* D10 dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zein U. Penanganan Terkini Malaria *P. falciparum*, e-USU Repository. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2005.
2. Sach J and Malaney P. The Economic and Social Burden of Malaria, Nature. 2002. 415:680-5.

3. Tatu U, Jain S and Priya P. Whither genome research: Of man, mosquito and malaria, *J Biosci.* 2005. 30(5):567-71.
4. Mahmoudi N, Ortiz JVJ, Ciceron L, Galvez J, Mazier D, Danis M, Derouin F and Domenech RG. Identification of New Antimalarial Drugs by Linear Discriminant Analysis and Topological Virtual Screening, *J Antimicrobial Chemotherapy.* 2006. 57:489-97.
5. Ashley E, McGready R, Proux S and Nosten F. Review, *Malaria, Travel Medicine and Infectious Disease.* 2006. 4:159-73.
6. Zarranz B, Jaso A, Lima LM, Aldana I, Monge A, Maurel S. Antiplasmodial activity of 3-trifluoromethyl-2-carbonylquinoxaline-di-N-oxide derivatives, *Brazilian J. of Pharm. Sci.* 2006. 42(3):357-61.
7. D'Alessandro U and Buttiens H. History and importance of antimalarial drug resistance (abstract). *Tropical Medicine International Health.* 2001. 6(11):845-8.
8. Payne D. Spread of chloroquine resistance in *P. falciparum*. *Parasitol. Today.* 1987. 3(8):241-6.
9. Wensdorfer WH and Payne D. The dynamics of drugs resistance in *P. falciparum*. *Pharmac Ther.* 1991. 50:95-121.
10. Basco LK, Rugeri C and Le Bras J. *Molecules antipaludique.* Paris: Editions Masson;1994.
11. World Health Organization. Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs for uncomplicated *falciparum* malaria. Geneva: WHO; 1997.
12. Desjardin RE, Canfield CJ, Haynes JD and Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semi-automated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1979. 16:710-8.
13. Yapi AD, Mustofa M, Valentin A, Chezal JM, Chavignon O and Chaillot C. In Vitro and In Vivo Antimalarial Activity of Derivatives of 1,10-phenanthroline Framework, *Arch Pharm Chem Life Sci.* 2006. 339:201-6.
14. Yapi AD, Mustofa M, Valentin A, Chavignon O, Teulade JC, Mallie M. New Potensial Antimalarial Agents: Synthesis and Biological Activities of Original Diazanalogues of Phenanthroline *J Chem Pharm Bull.* 2000. 48(12):1886-9.
15. Trager W and Jensen JB. Human malaria parasite in continuous culture, *Science.* 1976. 193:673-5.