TESIS – SK142501

SINTESIS, KARAKTERISASI DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA KOMPLEKS DARI ION LOGAM Zn(II) DENGAN LIGAN 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)-PIRIDIN

LAILATUL FITHRI
NRP. 1413 201 026

DOSEN PEMBIMBING
Dr. Fahimah Martak, M.Si.

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN KIMIA ANORGANIK
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

THESIS – SK142501

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND TOCXICITY TEST OF COMPLEXES METAL ION Zn(II) WITH 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)-PYRIDINE

LAILATUL FITHRI
NRP. 1413 201 026

SUPERVISOR
Dr. Fahimah Martak, M.Si.

MAGISTER PROGRAM
EXPERTISE FIELD OF INORGANIC CHEMISTRY
CHEMISTRY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2016

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si.)
Di
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
oleh:

LAILATUL FITHRI
NRP. 1413201026

Tanggal Ujian: 21 Januari 2016
Periode Wisuda : Maret 2016

Disetujui oleh:

1. **Dr. Fahimah Martak, M.Si.** **(Pembimbing)**
   NIP. 19660703 199102 2 001

2. **Dr. Afifah Rosyidah, M.Si.** **(Penguji)**
   NIP. 19730112 199802 2 001

3. **Prof. Dr. Taslim Ersam, M.S.** **(Penguji)**
   NIP. 19520816 197903 1 004

Direktur Program Pascasarjana,

Prof. Ir. Djauhar Manfaat, M.Sc, Ph.D.
NIP. 19601202 198701 1 001

SINTESIS, KARAKTERISASI DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA KOMPLEKS DARI ION LOGAM Zn(II) DENGAN LIGAN 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)PIRIDIN

Nama Mahasiswa	: Lailatul Fithri
NRP	: 1413201026
Jurusan	: Kimia
Pembimbing	: Dr. Fahimah Martak, M.Si

ABSTRAK

Kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin berhasil disintesis dengan perbandingan mol logam dan ligan 1:1 dalam pelarut metanol dan asetonitril 2:1. Hasil sintesis kompleks diperoleh padatan kristalin berwarna kuning kecoklatan. Kompleks menyerap sinar UV-Vis pada panjang gelombang 320 nm. Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan terjadi ikatan logam dan ligan yaitu Zn-N pada daerah sekitar 445,57 cm^{-1}. Hasil analisis elemental analyzer dan AAS menunjukkan kompleks yang terbentuk memiliki rumus molekul $[Zn(L)(Cl)_2]$. Rumus molekul juga didukung dengan data TGA. Hasil analisis TGA menunjukkan tidak terdapat air kristal dalam senyawa kompleks. Uji toksisitas senyawa kompleks dilakukan dengan metode Brine Shrimp Lethality Test *(BSLT) dan didapatkan nilai LC_{50} kompleks dan ligan masing-masing sebesar 76,95 µg/ml dan 200,27 µg/ml.*

Kata Kunci : Kompleks**,** Zn(II), ligan, 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin, LC_{50}

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND TOCXICITY TEST OF COMPLEXES METAL ION Zn(II) WITH 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)PYRIDINE

Name	: Lailatul Fithri
NRP	: 1413201026
Department	: Chemistry
Supervisor	: Dr. Fahimah Martak, M.Si

ABSTRACT

The complex of metal ion Zn (II) with the ligand 2.6-bis(4-nitrobenzamido)pyridine has been successfully synthesized with mole ratio of metal and ligand 1:1 in methanol and acetonitrile 2:1 as a solvent. Complex synthesis results obtained brownish yellow crystalline solid. Complex absorbs UV-Vis light at 320 nm. FTIR characterization results indicate occur bonding of metals and ligand, that is Zn-N in region 445.57 cm^{-1}. Results of elemental analyzer and AAS analysis shows the complex formed has the formula $[Zn(L)(Cl)_2]$. The molecular formula is also supported by the TGA data. TGA analysis results showed there was no water in the crystalline complex compounds. The toxcicity test complex compounds made by the method of Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) and the LC_{50} value of complex and ligand obtained 76.95 µg/ml and 200.27 µg/ml respectively.

Keywords: Complex, Zn(II), ligand, 2,6-bis(4-nitrobenzamido)pyridine, LC_{50}

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Sintesis, Karakterisasi dan Uji Toksisitas Senyawa Kompleks dari Ion Logam Zn(II) dengan Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin".

Penulis menyadari bahwa tesis ini tidak akan selesai dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih atas segala bantuan yang telah diberikan, khususnya kepada :

1. Dr. Fahimah Martak, M.Si selaku dosen pembimbing tesis dan dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, masukan, saran, arahan dan selalu memberikan motivasi dalam penyelesaian naskah tesis ini.
2. Prof. Dr. Mardi Santoso selaku Kaprodi S2 Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
3. Bapak Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
4. Dr. Afifah Rosyidah, M.Si. selaku ketua penguji sidang tesis atas saran dan bimbingannya.
5. Prof. Dr. Taslim Ersam, M.S. selaku dosen penguji sidang tesis dan ketua Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
6. Dr. Ir. Endah Mutiara, M.P., M.Si. selaku dosen penguji seminar tesis atas saran dan bimbingannya.
7. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
8. Kementrian Pendidikan Tinggi Indonesia yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjadi salah satu penerima beasiswa BPPDN dan melanjutkan studi S2.
9. Universiti Kebangsaan Malaysia yang telah membantu dalam pengujian CHN *micro analyzer*.

10. Bapak, Ibuk, Ayah dan Ibu mertua atas segala do'a dan dukungannya.
11. Suami tercinta atas dukungan dan toleransinya selama penulisan tesis ini.
12. Mas Yayak, Neng Wiwik, Mas Dedi serta seluruh keluarga besar atas doa dan dukungannya.
13. Elok Farda selaku teman seperjuangan dalam riset ini atas kerjasama dan bantuan selama proses penyelesaian penelitian dan penulisan tesis, serta seluruh anggota Laboratorium Kimia Bahan Alam atas masukan dan bantuannya.
14. Teman-teman Prodi Pascasarjana kimia angkatan 2013 yang telah banyak memberi masukan serta semua pihak yang telah berpartisispasi atas terselesainya tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan di masa mendatang. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 26 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN JUDUL iii
LEMBAR PENGESAHAN v
ABSTRAK vii
ABSTRACT ix
KATA PENGANTAR xi
DAFTAR ISI xiii
DAFTAR GAMBAR xvii
DAFTAR TABEL xix
DAFTAR LAMPIRAN xxi
BAB 1 PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Permasalahan 4
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.4 Manfaat Penelitian 5
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA
2.1 Kompleks Logam dan Toksisitasnya 7
2.2 Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) 9
2.3 Kompleks Ion Logam Zn(II) dengan Ligan Berbasis Piridin dan Benzamida 11
2.4 Karakterisasi 15
2.4.1 Spektrofotometri UV-Visible 15
2.4.2 Analisa Unsur Logam dengan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) 18
2.4.3 Spektrofotometri *Fourier Transform Infrared* (FTIR) 20
2.4.4 ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR 22
2.4.5 Analisa Mikrounsur dengan CHN *Analyzer* 26
2.4.6 *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA) 27

2.5 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 29
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN
3.1 Alat dan Bahan 31
3.1.1 Alat 31
3.1.2 Bahan 31
3.2 Prosedur Sintesis 32
3.2.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitobenzamido)piridin (BNBP) 32
3.2.2 Penentuan Perbandingan Logam dan Ligan 33
3.2.3 Sintesis Kompleks Zn(II) dengan Ligan BNBP 33
3.3 Prosedur Karakterisasi 33
3.3.1 Uji kelarutan Senyawa Kompleks 33
3.3.2 Analisa UV-Visible…… 34
3.3.3 Analisis *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) 34
3.3.4 Analisa Spektrofotometri *Fourier Transform Infrare*d (FTIR) 34
3.3.5 Analisa ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR ……..... 35
3.3.6 Analisa Kandungan C, H, dan N pada Senyawa Kompleks 35
3.3.7 *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA) 35
3.3.8 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 35
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Sintesis dan Karakterisasi Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido) piridin 39
4.1.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 39
4.1.2 Karakterisasi Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 44
4.2 Sintesis dan Karakterisasi Kompleks Zn(II) dengan Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin 49
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum 49

4.2.2 Sintesis Kompleks Zn(II)-2,6-bis(4-nitrobenzamido) piridin 50
4.2.3 Analisis Unsur CHN 53
4.2.4 Analisis *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) 54
4.2.5 Analisis Termogravimetri Kompleks 55
4.2.6 Karakterisasi Senyawa Kompleks dengan FTIR 57
4.3 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 60
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 63
5.2 Saran 63
DAFTAR PUSTAKA 65
LAMPIRAN 71
BIODATA PENULIS 93

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kompleks Ion Logam a. Mn(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) dan b. Cu(II) (Shakir dkk., 2015) 6
Gambar 2.2 Kelompok Senyawa Benzamida Sebagai Inhibitor HDAC 8
Gambar 2.3 Struktur 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 9
Gambar 2.4 Senyawa Turunan 4-(metilaminodenoksi)-piridin-3-il benzamida (R_1 & R_2 = atom halogen, alkil, alkoksi, dan aril) 9
Gambar 2.5 (a) Ligan; (b) $[Zn(L)(OAc)_2]$; (c) $[Zn(L)_2](OAc)$ (Tyagi dkk., 2014) 11
Gambar 2.6 Struktur Kompleks $[(L1)_2Zn][ZnCl_3(CH_3OH)]_2$ (Bhattacharyya dkk., 2014) 12
Gambar 2.7 Ortep Struktur Kompleks [Zn(2,2'bipy-4,4'carboxylic acid)(phen)$(H_2O_2)_2$] (Gao dkk., 2010) 13
Gambar 2.8 Skema Spektrofotometer UV-Visible (Shriver dan Atkins, 2010) 15
Gambar 2.9 Skema Spektrofotometer FTIR (Sibilia, 1996) 19
Gambar 2.10 Spektra FTIR Senyawa BNBP (Mehdipour-Ataei dan Taremi, 2011) 21
Gambar 2.11 Spektrum ^{1}H-NMR BNBP (Mehdipour-Ataei dan Taremi, 2011) 23
Gambar 2.12 Skema CHN *Analyzer* (Shriver dan Atkins, 2010) 25
Gambar 2.13 Kurva TGA kompleks [Zn(2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)-benzamida)(OAc)2] dalam Atmosfer Nitrogen (Tyagi dkk., 2014) 26
Gambar 4.1 Reaksi Pembentukan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 39
Gambar 4.2 Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (a) Sebelum (b) Sesudah Direkristalisasi dengan Asetonitril 41
Gambar 4.3 KLT dengan Eluen Kloroform:DCM 1:2 41
Gambar 4.4 Mekanisme Reaksi yang Diusulkan untuk Sintesis 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 43

Gambar 4.5 Reaksi Propilen oksida Sebagai *Scavanger* Asam (Fessenden dan Fessenden, 1986) 44
Gambar 4.6 Spektrum FTIR Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 44
Gambar 4.7 Spektrum ^{1}H-NMR 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 46
Gambar 4.8 Posisi dan Jenis Proton pada Senyawa BNBP 47
Gambar 4.9 Spektrum ^{13}C-NMR 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin 47
Gambar 4.10 Posisi dan Jenis Karbon pada Senyawa BNBP 48
Gambar 4.11 Perbedaan Warna Larutan Logam dan Ligan dengan Variasi Perbandingan Mol 49
Gambar 4.12 Perbedaan Panjang Gelombang Kompleks Zn(II)-BNBP 50
Gambar 4.13 (a) Padatan Kompleks Zn(II)-BNBP, (b) Kompleks Perbesaran 12x 51
Gambar 4.14 Spektra Absorpsi UV-Vis Ligan dan Kompleks 52
Gambar 4.15 Kurva TGA Kompleks Zn(II)-BNBP 56
Gambar 4.16 Spektra FTIR Ligan dan Kompleks 57
Gambar 4.17 Ikatan yang Diusulkan pada Senyawa Kompleks Zn(II)-BNBP 59
Gambar 4.18 Bentuk Geometri Molekul yang Diusulkan pada $[Zn(L)Cl_2]$ 59
Gambar 4.19 Grafik *Brine Shirmp Lethality Test* Ligan BNBP 61
Gambar 4.20 Grafik uji *Brine Shirmp Lethality Test* Kompleks Zn(II)-BNBP 61

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Beberapa Jenis Interaksi Logam Antikanker dan DNA	7
Tabel 2.2	Beberapa Hasil Penelitian Bioaktivitas Senyawa Kompleks	11
Tabel 2.3	Spektrum Tampak dan Warna-warna Komplementer	14
Tabel 2.4	Beberapa Perkiraan Batas Deteksi dalam Absorpsi Atom	17
Tabel 2.5	Karakteristik Band Spektrum Inframerah	20
Tabel 2.6	Karakteristik Spin Inti untuk ^{1}H dan ^{13}C (Shriver dan Atkins, 2010)	22
Tabel 2.7	Pergeseran Kimia ^{1}H NMR	22
Tabel 2.8	Pergeseran Kimia ^{13}C NMR	23
Tabel 2.9	Klasifikasi Toksisitas dalam Uji BSLT	28
Tabel 3.1	Perlakuan Konsentrasi Senyawa Uji pada BSLT	37
Tabel 4.1	Data FTIR BNBP Hasil Sintesis dan Pembanding	45
Tabel 4.2	Data ^{1}H-NMR BNBP Hasil Sintesis dan Pembanding	46
Tabel 4.3	Data ^{13}C-NMR 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin	48
Tabel 4.4	Hasil Uji Panjang Gelombang dengan UV-Vis	49
Tabel 4.5	Kelarutan Senyawa Kompleks Zn(II)-BNBP	52
Tabel 4.6	Panjang Gelombang Maksimum Logam, Ligan, dan Kompleks	53
Tabel 4.7	Data Kandungan Unsur C, H dan N pada Kompleks Zn(II)-BNBP Secara Teoritis dan Eksperimen	54
Tabel 4.8	Data Absorbansi Zn dalam Larutan Sampel	55
Tabel 4.9	Perbandingan Data Teoritis dan Eksperimen Kandungan Unsur Zn dalam Senyawa Kompleks	55
Tabel 4.10	Data Hasil Analisis TGA Secara Teoritis dan Eksperimen	56
Tabel 4.11	Perbedaan Bilangan Gelombang FTIR Ligan dan Kompleks	58
Tabel 4.12	Data Hasil Uji Metode BSLT Ligan dan Kompleks	60
Tabel 4.13	Nilai R^2 dan LC_{50} pada Sampel Uji	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	PROSEDUR SINTESIS LIGAN	71
Lampiran B	PROSEDUR SINTESIS KOMPLEKS	73
Lampiran C	SPEKTRUM FTIR LIGAN BNBP	75
Lampiran D	SPEKTRUM ^{1}H-NMR LIGAN BNBP	77
Lampiran E	SPEKTRUM ^{13}C-NMR LIGAN BNBP	79
Lampiran F	SPEKTRUM FTIR KOMPLEKS Zn(II)-BNBP	80
Lampiran G	PERHITUNGAN ANALISIS PENENTUAN UNSUR C, H, N KOMPLEKS	82
Lampiran H	ANALISIS *ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY* (AAS)	85
Lampiran I	ANALISIS DSC-TGA KOMPLEKS	88
Lampiran J	PERHITUNGAN LC_{50} DENGAN METODE BSLT	90

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa kompleks adalah senyawa yang tersusun dari suatu ion logam pusat dengan satu atau lebih ligan yang menyumbangkan pasangan elektron bebasnya kepada ion logam pusat. Senyawa kompleks terus dikembangkan menjadi senyawa yang bermanfaat dalam bidang pengobatan. Beberapa senyawa kompleks yang berhasil disintesis menunjukkan aktivitas yang baik dalam bidang kimia medisinal. Khususnya senyawa kompleks yang berikatan dengan senyawa organik.

Perkembangan kimia koordinasi menyediakan prospek untuk mendesain senyawa terapi baru yang memiliki karakteristik sebagai senyawa obat. Salah satu senyawa kompleks yang memiliki karakteristik tersebut adalah *cis*-$Pt(NH_3)_2Cl_2$ (cisplatin). Cisplatin merupakan senyawa organometalik yang digunakan untuk obat dan sangat efektif dalam *treatement* kanker ovum dan testis (Meng dkk., 2009). Namun, cisplatin menunjukkan efek samping yang kurang baik bagi tubuh seperti neurotoksik, nephrotoksik, dan menggangu fungsi hati. Beberapa kompleks logam platinum seperti zeniplatin, enioplatin, oxalatoplatin, dan ormaplatin setelah dilakukan uji klinis menunjukkan efek toksik seperti cisplatin, namun senyawa-senyawa tersebut tidak terdetoksifikasi cukup baik didalam tubuh, sehingga menimbulkan efek buruk pada ginjal (McKeage, 1991). Untuk mengatasi toksisitas dan fenomena ketahanan obat terhadap sel kanker, serta untuk mendapatkan aktivitas dan selektivitas obat yang lebih baik dari kompleks platinum (cisplatin), maka digunakan kompleks non platinum.

Sintesis kompleks non-platinum seperti paladium, rutenium, rhodium, copper, dan lantanum dengan ligan aromatis yang mengandung-N seperti piridin, imidazol, dan 1,10-penantrolin, dan turunannya (dimana bersifat sebagai donor yang mirip dengan basa purin dan pirimidin) telah dilaporkan dan menunjukkan sifat antikanker *in vitro* dan *in vivo* dalam model seperti cisplatin (Zhao dan Lin, 2005). Kebanyakan kompleks non-platinum menunjukkan geometri dan bilangan

koordinasi yang bervariasi, sifat kelarutan yang lebih baik dan kinetika reaksi subtitusi atau jalur mekanisme yang bervariasi. Semua faktor tersebut dapat menyebabkan profil farmakologis yang berbeda dari kompleks platinum (Liguori dkk., 2010).

Beberapa logam non-platinum seperti Zn(II), Co(II), Ni(II), Fe(II), dan Fe(III) berhasil digunakan sebagai senyawa kompleks yang memiliki aktivitas biologi (Gong dkk., 2012: Tyagi dkk., 2014; Gao dkk., 2010).

Zn merupakan ion logam paling esensial dalam tubuh setelah besi dan sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, baik tumbuhan, hewan, maupun manusia, selain itu Zn juga sangat berperan dalam berbagai sistem biologi di tubuh seperti proses homeostasis, respon imun, stress oksidatif, apoptosis dan sebagai kofaktor (M. Stefanidou, 2005). Asupan Zn yang dibutuhkan oleh orang dewasa adalah 15-20 mg perhari (Lippard dkk., 1994). Sebagai tambahan, Zn memiliki peran penting dalam neurogenesis, sipnatogenesis, pertumbuhan neuronal, dan neurotransmisi dan diharapkan tidak terakumulasi dalam tubuh sehingga dapat mengurangi efek toksik yang berlebihan pada ginjal dan liver (Nagy dkk., 2012). Zn merupakan logam transisi golongan IIB yang memiliki nomor atom 30 dengan konfigurasi elektron [Ar] $4s^2$ $3d^{10}$. Ion logam Zn(II) mampu menyediakan orbital kosong yang dapat menerima pasangan elektron bebas dari ligan. Oleh karena itu, Zn dapat digunakan sebagai salah satu kandidat logam yang dapat mengikat ligan dengan baik.

Telah dilaporkan oleh Pucci dkk. (2010) bahwa logam Zn mampu digunakan sebagai logam pengganti platinum pada kompleks [(bpy-9)$ZnCl_2$] dan aktif sebagai senyawa obat. Aktivitas kompleks dari ion logam Zn(II) sebagai senyawa obat dipengaruhi oleh ligan yang terkoordinasi dengannya. Beberapa ligan yang biasanya digunakan sebagai senyawa obat adalah ligan organik seperti piridin (Helal dkk., 2015: Jose dkk., 2015), benzamida (Zhang dan Li, 2012), imidazol dan turunannya (Wu dkk., 2012). Ligan-ligan tersebut memiliki pasangan elektron bebas dari atom nitrogen dan oksigen. Senyawa piridin menunjukkan aktivitas yang baik sebagai antimikroba, antiinflamasi, analgesik (Helal dkk., 2015) dan antikanker (Zhang dan Li, 2012).

Beberapa kompleks ion logam Zn(II) yang berikatan dengan ligan organik seperti piridin, benzamida, dan imidazol menunjukkan aktivitas yang baik sebagai agen antibakteri (Colak dkk., 2012: Chiniforoshan dkk., 2014), antioksidan (Wu dkk., 2012), antiinflamasi, dan antikanker (Tyagi dkk., 2014: Gao dkk., 2010). Kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(2-benzimidazolil)piridin memiliki kemampuan yang lebih baik daripada kompleks ion logam Cd(II) dalam aktivitasnya sebagai antioksidan (Wu dkk., 2012). Berdasarkan penelitian tersebut maka ion logam yang digunakan dalam penelitian ini adalah ion logam Zn(II).

Beberapa kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan benzamida maupun piridin terbukti aktif sebagai senyawa antikanker (Tyagi dkk., 2014; Gao dkk., 2010). Penelitian Tyagi (2014) mengenai kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)benzamida menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih baik daripada kompleks Ni(II) dengan nilai IC_{50} terhadap sel kanker hati HepG2 sebesar 80±10 μM dan sel kanker payudara MCF-7 83 ± 13 μM.

Monomer 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) berhasil disintesis oleh Taremi dkk. (2010). Senyawa ini memiliki kemiripan struktur dengan senyawa N-(aminopiridin) benzamida yang telah disintesis dan dikaji aktivitasnya sebagai senyawa obat oleh Zhang dan Li (2012). N-(aminopiridin)benzamida berhasil menginduksi kematian berbagai jenis sel kanker prostat PC-3, limfoma Hut78, dan leukimia K562 dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 1,1μM, 2,3μM dan 8,6μM. Nilai IC_{50} turunan N-(aminopiridin) benzamida tersebut lebih baik daripada kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)benzamida. Selain itu, senyawa BNBP memiliki dua gugus benzamida yang memungkinkan atom pada kedua gugus tersebut dapat berkoordinasi dengan ion logam Zn(II). Adanya dua atom donor O (oksigen) dan tiga atom donor N (1 atom nitrogen dari cincin piridin dan 2 atom dari amida) dapat menyumbangkan pasangan elektron bebasnya ke ion logam Zn(II). Berdasarkan pada penelitian tersebut maka ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin.

Berdasarkan uraian di atas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa kompleks dari ion logam Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yang diharapkan memiliki aktivitas biologi dan potensial

sebagai senyawa obat. Selanjutnya, senyawa kompleks yang dihasilkan dikarakterisasi dengan beberapa instrumen seperti UV-Vis, AAS, FTIR, Analisa unsur CHN, ^{1}H NMR dan ^{13}C NMR. Uji toksisitas ligan dan kompleks dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.2 Permasalahan

Penelitian Tyagi dkk. (2014) tentang sintesis senyawa kompleks Zn(II) dengan ligan 2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)benzamida menunjukkan nilai IC_{50} yang masih tinggi yakni 80 ± 10 µM pada sel kanker HepG2 dan 83 ± 13 µM pada sel kanker MCF-7. Di sisi lain, monomer 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) berhasil disintesis oleh Taremi dkk. (2010) dan belum diketahui toksisitasnya. Senyawa BNBP tersebut memiliki kemiripan struktur dengan senyawa yang telah disintesis oleh Zhang dan Li (2012). Senyawa tersebut menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih kecil (lebih toksik) daripada senyawa kompleks Zn(II) dengan ligan 2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)benzamida. Untuk itu pada penelitian ini dilakukukan sintesis kompleks dari ion logam Zn(II) yang dikoordinasikan dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) dengan harapan ligan BNBP akan memiliki aktivitas yang sama baik dengan analog N-(aminopiridin)benzamida.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan yang telah dijelaskan maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mendapatkan formula senyawa kompleks Zn(II) dengan ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin.
2. Mendapatkan nilai LC_{50} senyawa kompleks Zn(II) dengan ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya pada bidang sintesis senyawa kompleks. Hasil uji toksisitas diharapkan dapat bermanfaat untuk penggunaan senyawa kompleks dalam bidang pengobatan.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 2
KAJIAN PUSTAKA

2.1 Kompleks Logam dan Toksisitasnya

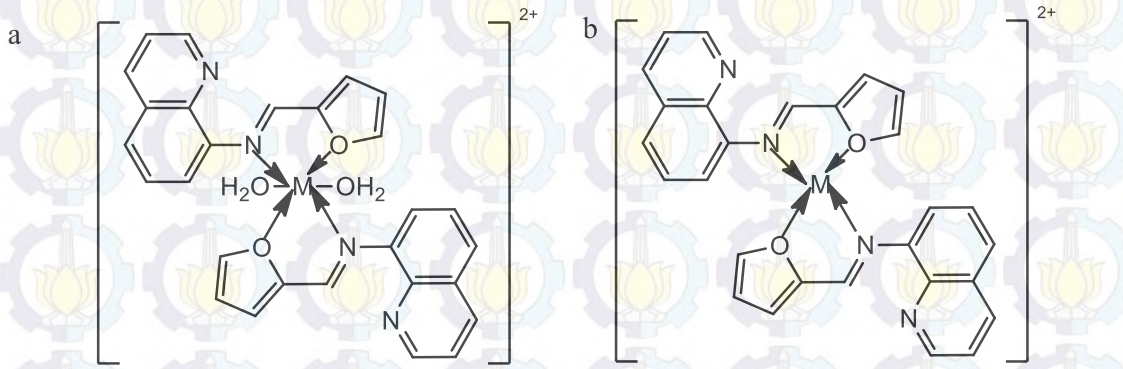
Senyawa kompleks adalah senyawa yang tersusun dari suatu ion logam pusat dengan satu atau lebih ligan yang menyumbangkan pasangan elektron bebasnya kepada ion logam pusat. Donasi pasangan elektron dari ligan kepada ion logam pusat menghasilkan ikatan kovalen koordinasi sehingga senyawa kompleks dapat disebut pula sebagai senyawa koordinasi (Cotton dan Wilkinson, 1989).

Perkembangan kimia koordinasi terutama dalam bidang senyawa kompleks menyediakan prospek untuk mendesain senyawa terapi baru yang memiliki karakteristik sebagai senyawa yang memiliki aktivitas sebagai senyawa obat. Senyawa anorganik diusulkan lebih efektif digunakan sebagai alternatif senyawa obat. Salah satu senyawa anorganik yang telah terbukti memiliki aktifitas biologi adalah platinum(II). Kompleks Pt(II) yang digunakan sebagai obat antikanker adalah adalah *cis*-$Pt(NH_3)_2Cl_2$ (cisplatin). Cisplatin telah terbukti sebagai agen kemoterapi yang sangat efektif untuk mengobati berbagai jenis kanker (Jamieson 1999; Rofique, 2010), seperti kanker ovum dan testis (Meng dkk., 2009). Cisplatin bergerak ke dalam sel melalui difusi dan transport aktif, menyebabkan platinasi DNA sehingga terbentuk hasil adisi, yang menyebabkan distorsi dan inhibisi replikasi DNA (Rofique dkk., 2010).

Berbagai logam non-platinum seperti paladium, rutenium, rodium, dan lantanum dengan ligan aromatis yang mengandung-N seperti piridin, imidazol, dan 1,10-penantrolin dan turunannya (dimana bersifat sebagai donor yang mirip dengan basa purin dan pirimidin), menunjukkan sifat antikanker secara *in vitro* dan *in vivo* dalam model seperti cisplatin (Zhao dan Lin, 2005). Kompleks non-platinum menunjukkan geometri dan bilangan koordinasi yang bervariasi, sifat kelarutan yang lebih baik dan kinetika reaksi subtitusi atau jalur mekanisme yang bervariasi. Semua faktor tersebut menyebabkan profil farmakologis untuk komplek non-platinum berbeda dari kompleks platinum (Liguori dkk., 2010).

Beberapa ion logam transisi yang banyak digunakan sebagai senyawa kompleks seperti Zn(II), Cu(II), Ni(II), Fe(II), Fe(III), Mn(II) dan Co(II) menunjukkan aktivitas biologi yang baik dan berpotensi sebagai senyawa obat (Gong dkk., 2012: Tyagi dkk., 2014; Gao dkk., 2010: Shakir dkk., 2015: Rathi dan Singh, 2014).

Kompleks ion logam Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), dan Zn(II) dengan ligan basa Schifft, (E)-N-(furan-2-il metilen)quinolin-8-amina menunjukkan aktivitas sebagai agen antimikroba, antioksidan, dan antikanker. Kelima kompleks tersebut menunjukkan aktivitas biologi yang baik pada beberapa jenis bakteri gram positif dan negatif seperti *E. coli*, *S. aureus, L. typhimurium, P.aeruginosa* dan *V. cholera* dengan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) < 250 µg/ml (Shakir dkk., 2015).



Gambar 2.1 Struktur Kompleks Ion Logam **a.** Mn(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) dan **b.** Cu(II) (Shakir dkk., 2015)

Kompleks logam yang memiliki aktivitas antikanker didasarkan pada reaksi kompleks dengan DNA. Beberapa interaksi dapat terjadi antara kompleks logam antikanker dengan DNA baik melalui ikatan kovalen maupun ikatan non-kovalen (McMillin dan McNett, 1998; Mudasir, 2009).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengkaji interaksi antara kompleks logam antikanker dengan DNA. Penggunaan senyawa kompleks sebagai interkalator DNA memungkinkan untuk mengubah-ubah jenis dan tingkat oksidasi logam serta memodifikasi bentuk, simetri, dan gugus fungsional pada

ligan untuk membidik DNA target (Mudasir, 2004). Beberapa jenis interaksi senyawa kompleks dengan DNA disajikan dalam Tabel 2.1

Tabel 2.1 Beberapa Jenis Interaksi Kompleks Logam Antikanker dengan DNA

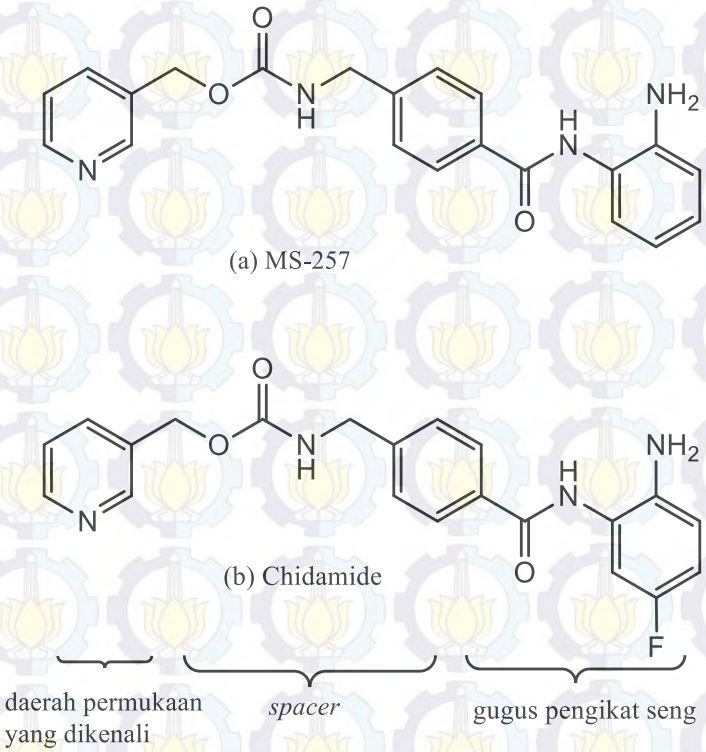
Kompleks	Jenis Interaksi	Referensi
$[Fe(phen)(dip)_2]^{2+}$	Interkalasi dan elektrostatik	Mudasir dkk., 2004
[Zn(2,2'bipy-4,4'carboxylic acid)(phen)$(H_2O_2)_2$]	Interaksi stacking kuat diantara gugus aromatis	Gao dkk., 2010
[Zn(2,6-bis(benzimidazo-2-yl)piridin)$NO_3]^+$	Interkalasi	Wang dkk., 2005
Zn bis(thiocarbazon)	Interaksi elektrostatik	Palanimuthu dan Samuelson , 2013

2.2 Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)

Inhibitor Histone Deacetylase (HDAC) merupakan kelompok kelas baru senyawa yang ditargetkan sebagai agen antikanker. Beberapa senyawa golongan inhibitor HDAC telah diuji secara klinis mempunyai aktivitas yang signifikan terhadap aktivitas hematologi dan tumor dalam dosis yang dapat ditoleransi dengan baik oleh pasien kanker. Berdasarkan strukturnya, senyawa inhibitor HDAC merupakan beragam molekul yang dapat menginduksi penangkapan pertumbuhan, diferensiasi, apoptosis, dan kematian sel kanker (Dokmanovic dan Marks, 2005).

Salah satu kelompok senyawa inhibitor HDAC adalah benzamida. Senyawa turunan benzamida yaitu MS-275 dan Chidamide (Gambar 2.2) telah dilaporkan aktivitasnya dalam inhibisi *histone deacetylase* (HDAC) dan berpotensi sebagai zat antikanker (Zhang dan Li, 2012). Turunan benzamida menunjukkan aktifitas antibakteri yang signifikan, antijamur, analgesik, antiinflamasi, antimalaria, antitumor dan antialergi lainnya, dan masih merupakan gugus fungsional yang paling umum digunakan dalam persiapan ligan aromatik. Sifat ambidentat kelompok amida mengarah pada pembentukan regioisomer ketika membentuk kompleks logam, memungkinkan koordinasi melalui atom nitrogen atau oksigen. Situs khelat N dan O yang berada dalam kelompok amida sangat diperlukan untuk polimer biologis penting, misalnya peptida dan protein

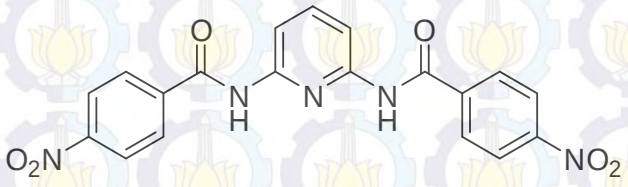
yang berfungsi penting dalam biokimia dan biologi (Tyagi dkk., 2014). Senyawa analog N-(aminopiridin)benzamida telah berhasil disintesis dan telah dilakukan pengujian aktivitasnya sebagai inhibitor HDAC1. Selain itu, senyawa analog tersebut berpotensi sebagai senyawa antikanker baru dengan nilai IC_{50} salah satu analognya sebesar 1,1 μM pada sel kanker PC-3 (Zhang dan Li, 2012). Struktur inhibitor HDAC ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kelompok Senyawa Benzamida Sebagai Inhibitor HDAC

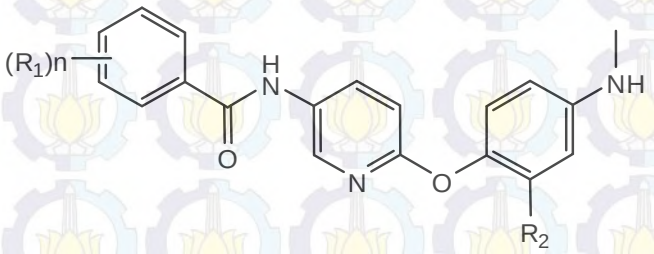
Senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) yang berhasil disintesis oleh Taremi dkk. memiliki kemiripan struktur dengan senyawa N-(aminopiridin)-benzamida. Namun belum pernah dilakukan pengujian mengenai aktivitas antikankernya. Senyawa tersebut berhasil disintesis melalui tahapan reaksi subtitusi nukleofilik dari senyawa 2,6-diaminopiridin dengan 4-nitrobenzoil klorida dengan adanya propilen oksida sebagai *scavenger* asam. Senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yang berhasil disintesis memiliki titik didih 273-275°C. Senyawa BNBP memiliki dua gugus benzamida yang memungkinkan atom-atom pada kedua gugus tersebut dapat berkoordinasi dengan ion logam

Zn(II). Adanya dua atom donor O (oksigen) dan tiga atom donor N (1 atom nitrogen dari piridin dan 2 atom nitrogen dari amida) dapat menyumbangkan pasangan elektron bebasnya ke ion logam. Struktur senyawa BNBP ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Nakagawa dkk. (US Patent No. 0267565 A1, 2013) telah melaporkan sintesis turunan benzamida dan piridin sebagai zat antikanker. Senyawa benzamida tersebut adalah turunan 4-(metilaminodenoksi)-piridin-3-il benzamida. Struktur senyawa ini ditunjukkan pada Gambar 2.4. Senyawa benzamida yang dihasilkan memiliki toksisitas antikanker yang baik dan kestabilan metabolisme yang tinggi.



Gambar 2.4 Senyawa Turunan 4-(metilaminodenoksi)-piridin-3-il benzamida (R_1 & R_2 = atom halogen, alkil, alkoksi, dan aril)

2.3 Kompleks Ion Logam Zn(II) dengan Ligan Berbasis Piridin dan Benzamida

Senyawa anorganik telah lama digunakan dalam dunia medisinal selama berabad-abad. Penemuan dan pengembangan senyawa cisplatin sebagai antikanker memainkan peranan penting dalam kimia anorganik medisinal (B. Lippert, 1999; Ronconi dan Sadler, 2007). Kompleks logam transisi menawarkan

dua keuntungan seperti agen binding-DNA. Pertama dan terpenting, logam transisi adalah atom pusat yang sangat baik untuk asam nukleat karena menunjukkan geometri koordinasi yang terdefinisi. Selain itu, logam transisi memiliki sifat elektrokimia atau fotofisika yang khas, sehingga fungsi agen binding meningkat (Barone dkk., 2013).

Kompleks ion logam Zn(II) merupakan salah satu yang dapat digunakan sebagai kandidat senyawa antikanker baru. Zn merupakan salah satu unsur logam transisi yang esensial dalam tubuh makhluk hidup. Zn memiliki nomor atom 30 dengan konfigurasi elektron [Ar] $4s^2\ 3d^{10}$.

Zn merupakan mineral mikro yang memiliki fungsi dan kegunaan penting bagi tubuh. Zn dibutuhkan oleh berbagai organ tubuh, seperti kulit, mukosa saluran cerna dan hampir semua sel membutuhkan mineral ini. Kekurangan Zn dalam tubuh mengakibatkan melambatnya pertumbuhan (Lippard dkk., 1994) dan rusaknya sistem kekebalan tubuh (Linder, 1992). Rata-rata kandungan Zn dalam tubuh orang dewasa adalah 2 gram. Asupan harian Zn adalah 15-20 mg dan hanya setengah yang diserap (Lippard dkk., 1994). Beberapa alasan tersebut mendasari penggunaan Zn sebagai ion logam transisi dalam senyawa kompleks. Zn yang dibutuhkan tubuh lebih mudah terdetoksifikasi dengan sendirinya sehingga ketika senyawa kompleks Zn(II) digunakan sebagai obat, Zn tidak menimbulkan efek toksisitas dan resistensi terhadap obat selayaknya cisplatin. Penggunaan mineral Zn dalam dosis tinggi yakni >200 mg perhari menimbulkan efek yang kurang baik yakni dapat menginduksi efek sekunder pada besi, tembaga, dan kekurangan kalsium (Lippard dkk., 1994).

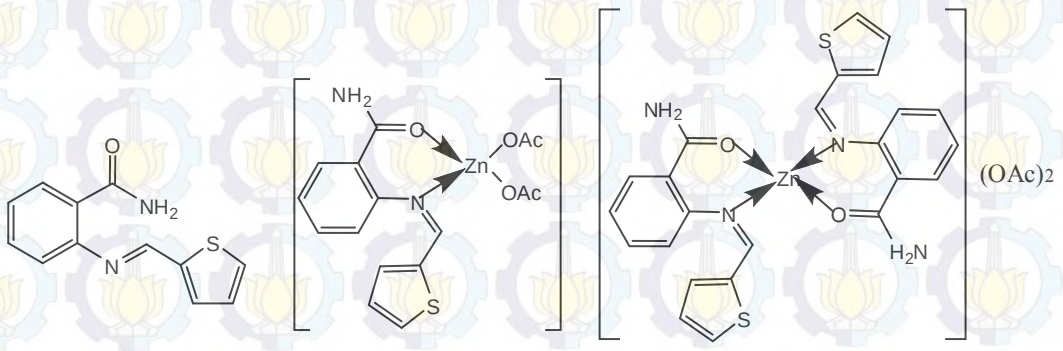
Disamping itu, beberapa kompleks logam Zn dengan ligan benzamida maupun piridin terbukti aktif sebagai senyawa antikanker (Tyagi dkk., 2014; Gao dkk., 2010). Kompleks logam dengan ligan menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih baik daripada ligan bebas (El-Morsy dkk., 2014; Dhahagani dkk., 2014). Nilai IC_{50} yang dihasilkan pada kompleks $[Zn(L)(OAc)_2]$ untuk sel kanker HepG2 sebesar 91 ± 9 μM dan MCF-7 sebesar 86 ± 14 μM, nilai IC_{50} HepG2 sebesar 80 ± 10 μM dan MCF-7 sebesar 83 ± 13 μM untuk kompleks $[Zn(L)_2](OAc)_2$ pada konsentrasi larutan 10 μM. Toksisitas tersebut lebih baik daripada ligan bebas yang sebesar 97 ± 3 μM untuk HepG2 dan 95 ± 5 μM untuk

MCF-7 (Tyagi dkk., 2014). Beberapa keunggulan kompleks logam Zn daripada logam lain dalam penggunaannya sebagai senyawa obat ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Beberapa Hasil Penelitian Bioaktivitas Senyawa Kompleks

Logam	Ligan	Aplikasi	Hasil	Referen
Zn(II) dan Cd(II)	2,6-bis(2-benzimidazolil piridin)	Antioksidan	Nilai IC_{50} Zn(II)= 0,89 μM Cd(II)= no activity	Wu dkk., 2012
Cu(II), Co(II), Zn(II), VO(II)	4-4-aminofenil morfolin	Antimikroba	Nilai MIC Cu(II)= 14% Co(II)= 15% Zn(II) = 12% VO(II)= 15%	Dhahagani dkk., 2014
Ni(II) dan Zn(II)	2-((tiofen-2-ilmetilen)-amino)-benzamida	Antikanker (sel MCF-7)	Nilai IC_{50} Ni(II)= 92±8 μM Zn(II)= 86±14 μM	Tyagi dkk., 2014

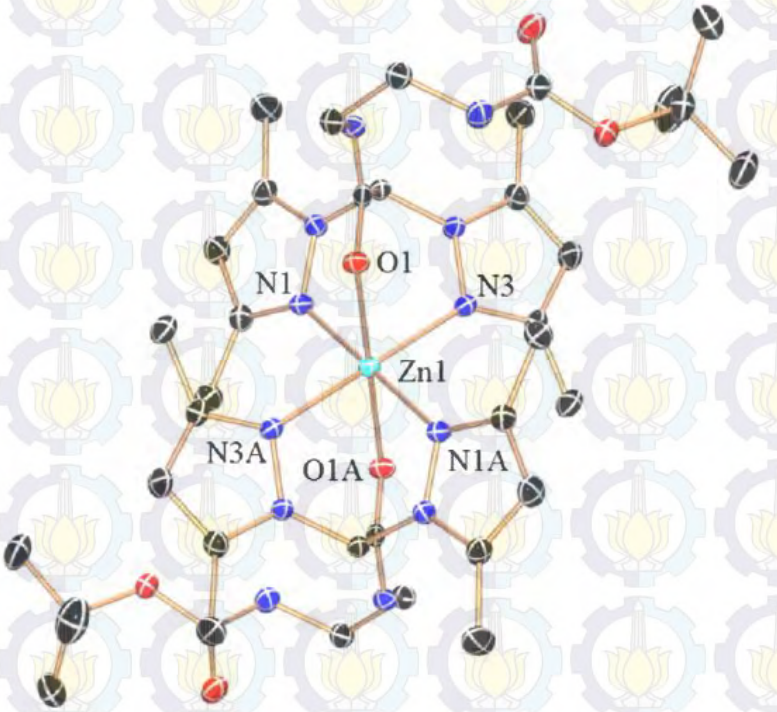
Berdasarkan Tabel 2.2 diketahui bahwa Zn(II) merupakan logam yang baik dan dapat digunakan dalam sintesis senyawa kompleks. Zn(II) menunjukkan aktivitas antikanker, antimikroba dan antioksidan yang lebih baik daripada ion logam lain seperti Cd(II), Cu(II), Co(II), Ni(II) dan VO(II). Beberapa bentuk molekul yang terjadi pada kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan turunan 2-((tiofen-2-ilmetilen)-amino)-benzamida (Tyagi dkk., 2014) ditunjukkan dalam Gambar 2.5.



(a) (b) (c)

Gambar 2.5 (a) Ligan; (b) $[Zn(L)(OAc)_2]$; (c) $[Zn(L)_2](OAc)_2$ (Tyagi dkk., 2014)

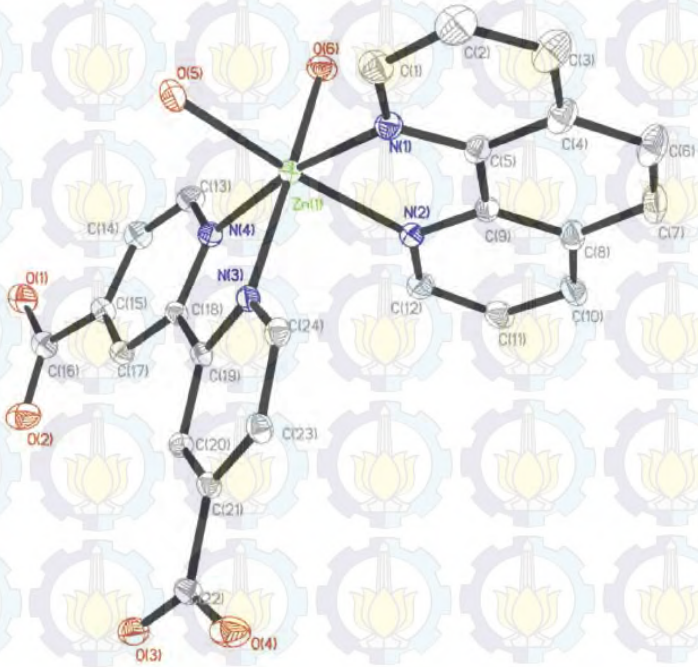
Senyawa kompleks Zn(II) yang dikoordinasikan dengan ligan bis-pyrazol dan dikonjugasikan dengan glukosamin (Gambar 2.6) telah berhasil disintesis dan menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 57-80 μM. Kompleks tersebut menunjukkan bahwa ion logam Zn(II) berkoordinasi dengan N_4O_2 dan senyawa kompleks terdistorsi oktahedral dengan Zn(II) sebagai pusat koordinasi. Donor-N terjadi pada bidang *square* (persegi) dari atom nitrogen pada pirazol dan koordinasi aksial dipenuhi oleh oksigen pada kelompok karbonil dari amida. Rata-rata panjang ikatan Zn─N adalah ca. 2,11 (2) Å dan rata-rata panjang ikatan Zn─O untuk ikatan Zn─O aksial adalah ca. 2,15 (3) Å (Bhattacharyya dkk., 2014). Angka dalam kurung pada posisi atom dan konstanta kisi dari hasil XRD kristal tunggal merupakan perkiraan ketidakpastian.



Gambar 2.6 Struktur Kompleks $[(L1)_2Zn][ZnCl_3(CH_3OH)]_2$ (Bhattacharyya dkk., 2014)

Kompleks [Zn(2,2'bipy-4,4'carboxylic acid)(phen)$(H_2O_2)_2$] berhasil disintesis dan menunjukkan bahwa ion logam Zn(II) berkoordinasi enam melalui empat atom nitrogen dari fenil dan ligan 2,2'bipridin-4,4'asam karboksilat serta dua atom oksigen dari H_2O, yang mengindikasikan bahwa Zn terletak di pusat oktahedron. Panjang Zn─N(1) aksial sebesar 2,132(2) Å dan panjang Zn─N(4)

sebesar 2,127(19) Å memanjang dibandingkan dengan panjang Zn─N(2) sebesar 2,176(2) Å dan panjang Zn─N(3) 2,163(19) Å. Panjang Zn─N dari empat nitrogen basal terletak pada kisaran 2,1278─2,176 Å dengan ikatan koordinasi normal. Senyawa kompleks tersebut memiliki empat molekul air. Nilai IC_{50} kompleks [Zn(2,2'bipy-4,4'carboxylic acid)(phen)$(H_2O_2)_2$] yang dihasilkan berbeda untuk masing-masing sel kanker dengan periode *treatment* selama 72 jam. Nilai IC_{50} pada sel kanker Hela sebesar 14,61 ± 1,67 µM, Hep-G2 sebesar 62,41 ± 11,34 µM, KB sebesar 49,75 ± 9,18 µM dan AGZY-831a sebesar 11,85 ± 2,83 µM (Gao dkk., 2010).



Gambar 2.7 Ortep Struktur Kompleks [Zn(2,2'bipy-4,4'carboxylic acid)(phen)$(H_2O_2)_2$] (Gao dkk., 2010)

2.4 Karakterisasi

2.4.1 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu cabang teknik analisis spektroskopik yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik dengan absorpsi sumber cahaya pada daerah sinar tampak (~750 sampai ~400 nm) dan daerah ultraviolet (UV ~400 sampai ~180 nm). Spektrum elektromagnetik

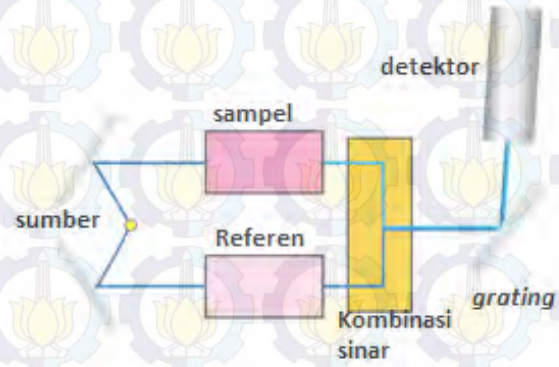
memiliki aplikasi yang luas dalam analisis kuantitatif bahan berupa cairan, larutan encer, film, dan bubuk. Daerah ultraviolet dan spektrum tampak dapat memberikan informasi mengenai struktur elektronik, khususnya untuk senyawa aromatik dan senyawa logam transisi. Absorpsi cahaya di daerah ultraviolet dan sinar tampak dihasilkan dari eksitasi pada keadaan elektronik. Untuk material anorganik termasuk logam transisi, spektrum penyerapan terlihat sensitif terhadap bilangan koordinasi (bilangan oksidasi logam) dan jenis ligan (kekuatan ikatan) (Sibilia, 1996).

Tabel 2.3 Spektrum Tampak dan Warna-warna Komplementer

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400-435	Lembayung (violet)	Kuning-Hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-Biru	Jingga
490-500	Biru-Hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-Hijau	Lembayung (violet)
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Hijau-Biru
610-750	Merah	Biru-Hijau

Sumber: Skoog dkk., 2000

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah absorpsi sinar ultraviolet atau sinar tampak yang mengakibatkan transisi elektronik. Transisi elektronik yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi yang berenergi lebih tinggi. Molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron menyerap foton pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi yang lebih sedikit menyerap foton pada panjang gelombang yang lebih panjang. Skema spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Skema Spektrofotometer UV-Visible (Shriver dan Atkins, 2010)

Spektroskopi UV-Vis adalah salah satu teknik yang paling banyak digunakan untuk mempelajari senyawa anorganik dan reaksinya. Molekul anorganik juga mengalami absorpsi UV-Vis, terutama pada spesies yang memiliki orbital d yang terisi sebagian. Hal ini menyebabkan pita absorpsi UV-Vis banyak teramati untuk kompleks logam transisi, serapan tersebut diakibatkan oleh interaksi ligan dengan orbital d dari logam. Untuk ion bebas, orbital-orbital d berada pada tingkat energi yang sama, tetapi tidak identik. Interaksi antarligan menyebabkan *splitting* (pembelahan) pada beberapa orbital. Sejumlah anion anorganik memperlihatkan puncak absorpsi ultraviolet sebagai akibat transisi $n \rightarrow \pi^*$. Splitting orbital d mengakibatkan terjadinya transisi $d \rightarrow d$ yang energinya berada pada daerah UV-Vis.

Senyawa kompleks terdiri dari spesies donor dan akseptor elektron yang membentuk struktur "*resonance like*" yang dapat mengabsorpsi UV-Vis. Pada kompleks oktahedral dengan menggunakan teori medan kristal, enam titik bermuatan negatif mewakili ligan yang ditempatkan dalam daerah oktahedral disekitar ion logam pusat (Shriver dan Atkins, 2010). UV-Vis dapat digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dari masing-masing senyawa yang disintesis, ligan maupun kompleks logam dan ligan.

Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan pada senyawa kompleks menunjukkan hasil spektra yang berbeda-beda. Spektra UV-Vis kompleks Zn(II) ditiokarbamato dalam larutan dimetilsulfoksida menunjukkan spektrum absorpsi dengan pola yang sama dengan tiga band absorpsi yang kuat di daerah UV 250-

320 nm yang merupakan transisi intraligan. Selain itu, ion logam Zn(II) memiliki konfigurasi elektron $3d^{10}$, karena itu tidak ada transisi d→d atau pita *Ligan to Metal Charge Transfer* (LMCT) karena orbital terisi penuh (Nagy dkk., 2012). Spektra absorpsi ligan dan kompleks Zn dinuklir yang dilarutkan dalam DMSO (20 μM) ditunjukkan pada puncak 337 nm dan bahu pada 346 nm untuk ligan, menunjukkan transisi n→π* dari azometin dan tioamida, dimana pada kompleksasi dengan seng ditunjukkan adanya koordinasi nitrogen dari azometin dan CS dari sulfur ke ion Zn. Penyerapan energi yang rendah pada ca. 440 nm merupakan pita (ikatan) tambahan pada kompleks Zn. Ikatan baru berasal dari transfer muatan ligan sulfur ke logam (Palanimuthu dan Samuelson, 2013). Spektra UV-Vis pada senyawa kompleks Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(2,6-dietilfeniliminometil)piridinbis-(nitrato) menunjukkan pergeseran transisi π →π* untuk menurunkan energi (Martines-Bulit dkk., 2014).

2.4.2 Analisa Unsur Logam dengan *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)*

Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) adalah instrument yang digunakan untuk mengukur kandungan logam pada suatu senyawa. Pada senyawa kompleks, AAS digunakan untuk menentukan kandungan ion logam Zn dalam senyawa kompleks hasil sintesis sehingga rumus molekul senyawa kompleks dapat ditentukan. Pengukuran AAS didasarkan pada penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu oleh atom atau logam dalam keadaan bebas. Metode ini sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah. AAS memiliki *range* ukur optimum pada panjang gelombang 200-300 nm (Skoog dkk., 2000).

Prinsip kerja yang berlangsung pada AAS adalah absorpsi sinar/cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh atom-atom logam dalam keadaan *ground state*. Sampel logam yang berupa cairan otomatis terdorong naik menuju *flame* ketika gas asetilen dialirkan menuju *flame* tersebut, *flame* berfungsi untuk mengatomisasi sampel logam sehingga menjadi atom-atom. Besarnya suhu nyala yang diperlukan untuk atomisasi berbeda pada masing-masing unsur, oleh karena itu digunakan campuran gas bahan bakar/*fuel* dan gas oksidan/*support gas* yang cocok untuk analisis unsur tertentu (Day&Underwood, 1983). Asetilen adalah

salah satu gas yang cocok untuk analisis suatu unsur dengan nyala gas sebesar 2200°C.

Sampel yang telah teratomisasi kemudian menyerap sinar/cahaya yang berasal dari *Hollow Catode Lamp* (HCL) yang memiliki panjang gelombang tertentu sesuai dengan logam yang diuji. Perbedaan tegangan dalam *Hollow Catode Lamp* menyebabkan foton yang terdapat pada HCL dipancarkan dan diserap oleh atom-atom yang terdapat dalam *flame*. Foton yang dipancarkan oleh HCL pada panjang gelombang tersebut memiliki cukup energi untuk mengubah tingkat energi elektronik suatu atom sehingga keadaan atom-atom yang mengabsorpsi cahaya tersebut menjadi tereksitasi. Eksitasi terjadi pada saat atom berada di *flame*. Selanjutnya, sisa foton yang tidak diserap oleh atom-atom di *flame* kemudian ditangkap oleh monokromator yang berfungsi untuk mendispersikan sinar dengan panjang gelombang tertentu. Sisa foton ditangkap oleh detektor untuk diukur intensitas sinarnya.

Berdasarkan prinsip kerja instrument tersebut maka dapat disimpulkan apabila terdapat cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada *flame* yang mengandung atom-atom bebas maka sebagian cahaya tersebut diserap oleh atom dan intensitas penyerapan berbanding lurus dengan banyaknya atom bebas logam yang berada pada *flame*.

Tabel 2.4 Beberapa Perkiraan Batas Deteksi dalam Absorpsi Atom

Unsur	Nyala Asetilena-Udara*	Tanur Grafiti
Ca	0,002	0,0003
Cd	0,005	0,0001
Cr	0,005	0,0005
Cu	0,004	0,0001
Fe	0,004	0,003
K	0,004	0,001
Mg	0,003	0,00005
Ni	0,005	0,0001
Zn	0,001	0,000006

*bagian unsur per sejuta bagian larutan (ppm)
Sumber: Day&Underwood, 1983

Hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi diturunkan dari Hukum *Lambert* yang menyatakan apabila suatu sumber sinar monkromatik melewati medium transparan, maka intensitas sinar yang diteruskan berkurang dengan bertambahnya ketebalan medium yang mengabsorbsi. Hukum *Beer* menyatakan intensitas sinar yang diteruskan berkurang secara eksponensial dengan bertambahnya konsentrasi spesi yang menyerap sinar tersebut. Dari kedua hukum tersebut diperoleh suatu persamaan:

$Log\ \frac{I_0}{I_t} = a.\ b.\ c$ ..... (2.1)

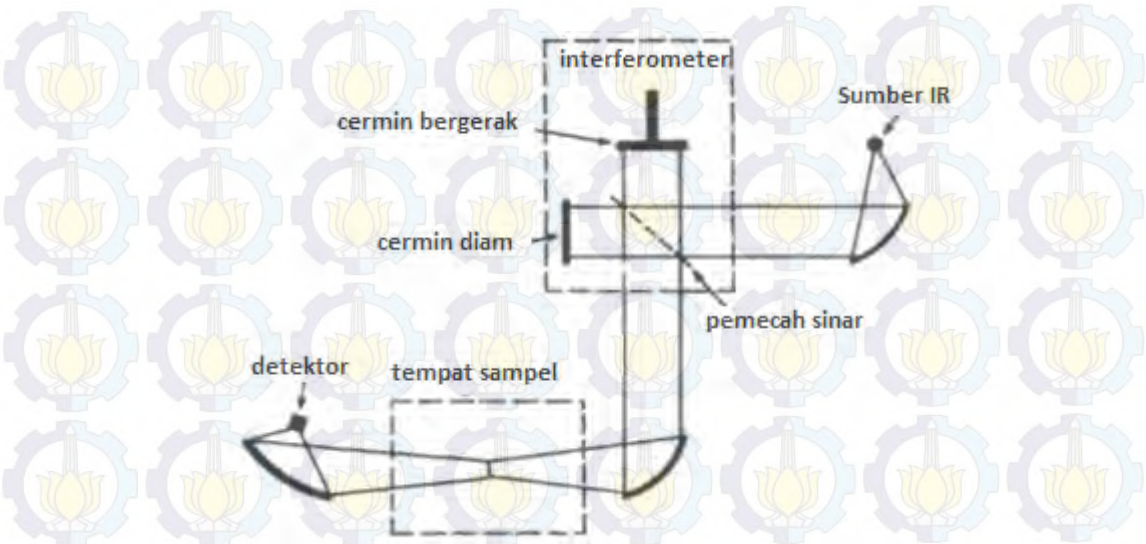
Jika A = $Log\ \frac{I_0}{I_t}$ maka persamaan di atas menjadi

A = a b c ..... (2.2)

Hukum Lambert-Beer dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi sampel dengan mengukur absorbansinya. Konsentrasi sampel dapat ditentukan dari kurva kalibrasi standar dengan persamaan linear y = ax + b.

2.4.3 Spektrofotometri *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) merupakan instrumen modern yang digunakan untuk mengukur serapan radiasi inframerah pada berbagai panjang gelombang. Pengukuran FTIR standar berlangsung pada range 7000–400 cm^{-1}, tetapi dapat pula mencapai –50 cm^{-1} dengan menggunakan tambahan sumber sinar, optik, dan detektor. Keuntungan dari metode FTIR dibandingkan dengan IR konvensional adalah penggunaan radiasi sumber sinar yang lebih tinggi, rasio *signal to noise* ditingkatkan dengan adanya interferometer sehingga kualitas spektrum inframerah lebih baik, meminimalkan waktu pengukuran dalam memperoleh data karena informasi dikumpulkan secara bersamaan atau dalam satu waktu, dan akurasi pengukuran yang lebih tinggi dibandingkan dengan spektrometer dispersif cahaya konvensional (Sibilia, 1996 dan Stuart, 2004). Skema spektrofotometer FTIR ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Skema Spektrofotometer FTIR (Sibilia, 1996)

Pada spektrum inframerah, bilangan gelombang (v) berbanding lurus dengan frekuensi atau energi, oleh karena itu bagian horizontal pada spektrum inframerah dinyatakan sebagai bilangan gelombang dalam cm^{-1}.

Molekul-molekul poliatom menunjukkan dua jenis vibrasi molekul yakni *stretching* dan *bending*. Vibrasi ikatan yang melibatkan atom hidrogen sangat berarti, karena atom-atom dengan massa kecil cenderung lebih mudah bergerak daripada atom dengan massa lebih besar. Semakin rumit struktur suatu molekul, semakin banyak bentuk vibrasi yang mungkin terjadi. Hukum Hooke dapat digunakan untuk membantu perkiraan daerah terjadinya vibrasi.

$$v = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{f\,(m_1+m_2)}{m_1.m_2}} \quad \text{..... (2.3)}$$

Dimana v adalah bilangan gelombang (cm^{-1}), c adalah kecepatan cahaya (cm/detik), m_1 adalah massa atom 1, m_2 adalah massa atom 2 dan f adalah tetapan gaya (dyne/cm = gr/detik).

Salah satu aplikasi FTIR adalah untuk menentukan ikatan dan gugus fungsional yang terdapat dalam suatu senyawa kompleks dan juga untuk mendukung penentuan rumus molekul senyawa kompleks yang dihasilkan. Beberapa bilangan gelombang spektrum inframerah khas muncul dengan adanya kelompok-kelompok gugus yang berasal dari ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)-

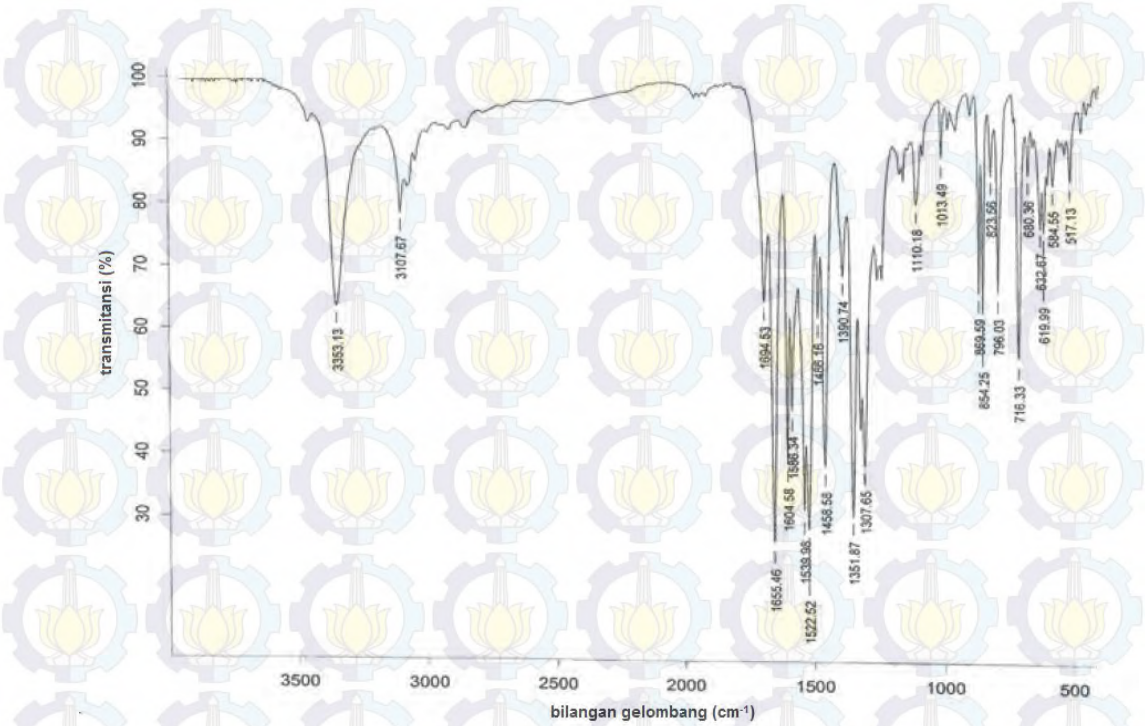
piridin. Tabel 2.5 menunjukkan beberapa karakteristik band yang mungkin muncul pada ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin.

Tabel 2.5 Karakteristik Band Spektrum Inframerah

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Karakter Band
3335	*Stretching* N–H singlet untuk amina sekunder
2780	*Stretching* N–CH_2
1615	*Bending* N–H
1360–1250	*Stretching* C–N aromatis
1220–1020	*Stretching* C–N alifatik
715	*Wagging* N–H
3360–3340	*Stretching* asimetris NH_2 amida primer
3300–3250	*Stretching* N–H pada amida sekunder
3190–3170	*Stretching* simetris NH_2 amida primer
3100–3060	Amida sekunder amida II *overtune*
1680–1660	*Stretching* C=O amida primer
1680–1640	*Stretching* C=O amida sekunder
1650–1620	*Bending* NH_2 amida primer
1560–1530	*Bending* N–H amida sekunder, stretching C–N
750–650	*Wagging* N–H amida sekunder
1615–1565	*Stretching* C=N piridin, stretching C=C
1660–1620	*Stretching* asimetrik NO_2 nitrat
1540–1500	*Stretching* NO_2 asimetrik senyawa nitro aromatik
1370–1330	*Stretching* NO_2 simetrik senyawa nitro aromatik
870–840	*Stretching* N–O nitrat
2000–1700	Cincin benzena
1650–1430	*Stretching* C=C
750-100	*Stretching* M–X
1010-850	M=O

Sumber: Stuart, 2004

Hasil IR pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (Gambar 2.10) menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 3353 cm^{-1} yang merupakan karakter khas N–H singlet untuk amina sekunder, *stretching* C=O ditunjukkan pada bilangan gelombang 1694 cm^{-1}, pada daerah serapan 1604–1586 cm^{-1} menunjukkan *stretching* C=N piridin dan *stretching* C=C, bilangan gelombang 1522 cm^{-1} untuk *stretching* asimetrik NO_2, dan 1351 cm^{-1} untuk *stretching* simetrik NO_2 (Taremi dkk., 2010).



Gambar 2.10 Spekta FTIR Senyawa BNBP (Mehdipour-Ataei dan Taremi, 2011)

Pada penelitian Tyagi dkk. (2014) bilangan gelombang khas M─O pada kompleks Zn dengan ligan 2-((tiofen-2-ilmetilen)amino)benzamida ditunjukkan pada *range* 534─540 cm^{-1}, sedangkan untuk M─Cl pada *range* 290─307 cm^{-1}. Ikatan logam Zn dengan atom N dari piridin pada pembentukan kompleks ditunjukkan pada bilangan gelombang 239-250 cm^{-1} untuk kompleks Zn dengan ligan 2-asetil piridin 1-(4-fluorofenil)-piperazinil tiosemikarbazon (Stanojkovic dkk., 2010).

2.4.4 ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) adalah spektroskopi yang dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul dalam larutan dan cairan murni. Dalam banyak kasus NMR dapat memberikan informasi mengenai bentuk dan simetri dengan kepastian yang lebih baik daripada teknik spektroskopi yang lain seperti spektroskopi IR dan Raman. Studi NMR pada molekul dalam larutan umumnya tidak bisa memberikan informasi mengenai jarak ikatan dan sudut, meskipun dapat memberikan beberapa informasi tentang pemisahan internuklir (Shriver dan Atkins, 2010).

Spektroskopi ^{1}H-NMR digunakan untuk mengidentifikasi posisi proton pada suatu molekul, sedangkan ^{13}C-NMR digunakan untuk menentukan letak atom C pada suatu molekul. Keuntungan ^{13}C-NMR adalah terjadinya pergeseran kimia yang lebih besar kearah bawah medan magnet dari puncak TMS dibandingkan dengan pergeseran kimia pada proton. Pergeseran kimia pada proton 0─100 ppm bawah medan puncak TMS, sedangkan pada ^{13}C didapat variasi sebesar 0─200 ppm.

Tabel 2.6 Karakteristik Spin Inti untuk ^{1}H dan ^{13}C

Inti	Kelimpahan di alam (%)	Sensitivitas*	Spin	Frekwensi NMR (MHz)†
^{1}H	99,98	5680	½	100,000
^{13}C	1,11	1,00	½	25,145

* Sensitivitas relatif untuk ^{13}C=1 dan merupakan produk sensitivitas relatif dari isotop dan kelimpahan di alam

† Pada 2,349 T (spektrometer ‘100 MHz)

Sumber: Shriver dan Atkins, 2010

Prinsip kerja NMR yaitu penyerapan energi di dalam medan magnet yang kuat oleh partikel yang sedang berputar sehingga medan magnet yang sesuai dengan molekul akan dikonversi menjadi spektra NMR, struktur senyawa/rumus bangun molekul senyawa organik dapat teridentifikasi. Beberapa jenis pergeseran kimia untuk ^{1}H-NMR disajikan dalam Tabel 2.7. Pergeseran kimia untuk ^{13}C-NMR disajikan dalam Tabel 2.8.

Tabel 2.7 Pergeseran Kimia ^{1}H NMR

Struktur Senyawa	δ_H (ppm)
H pada senyawa aromatis	6,0─9,5
H pada piridin	7,5─9,5
H benzena monosubtitusi *p*–NO_2	7,70
H pada amida-NH	6,0-8,5

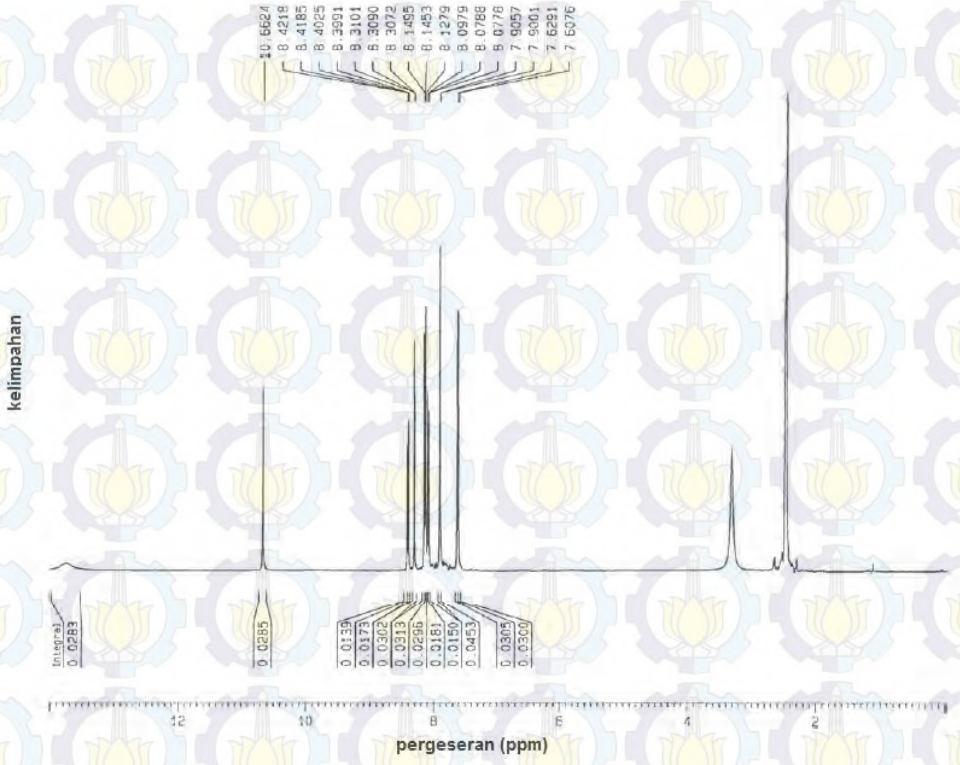
Sumber: Breitmaier, 2002

Tabel 2.8 Pergeseran Kimia ^{13}C-NMR

Struktur Senyawa	δ_C (ppm)
C=C pada aromatis	92─145
C pada piridin	85─165
C pada C=O	159-180

Sumber: Breitmaier, 2002

Hasil analisis ^{1}H-NMR pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (Gambar 2.11) ditunjukkan adanya pergeseran kimia (δ) 9.85 s ppm untuk 2H pada NH amida, 7,79–7,77 m ppm untuk 3H piridin, 7,69 d dan 6,55 d ppm untuk 4H fenil (Taremi dkk., 2010) yang ditampilkan dalam Gambar 2.11. Spektrum ^{1}H-NMR yang dihasilkan untuk ligan 2-((tiofen-2-ilmetilen)amino)benzamida dan kompleks Zn(II) menunjukkan adanya pergeseran kerapatan elektron dari ligan dengan logam. Ligan 2-((tiofen-2-ilmetilen)amino)benzamida menunjukkan karakteristik proton singlet dari azometanin pada 8,45 d ppm dan daerah untuk senyawa aromatis adalah double set, triplet dan multiplet pada *range* 7,75-6,67 ppm untuk kompleks, dan *range* 7,61-6,68 untuk ligan (Tyagi dkk., 2014).



Gambar 2.11 Spektrum ^{1}H-NMR BNBP (Mehdipour-Ataei dan Taremi, 2011)

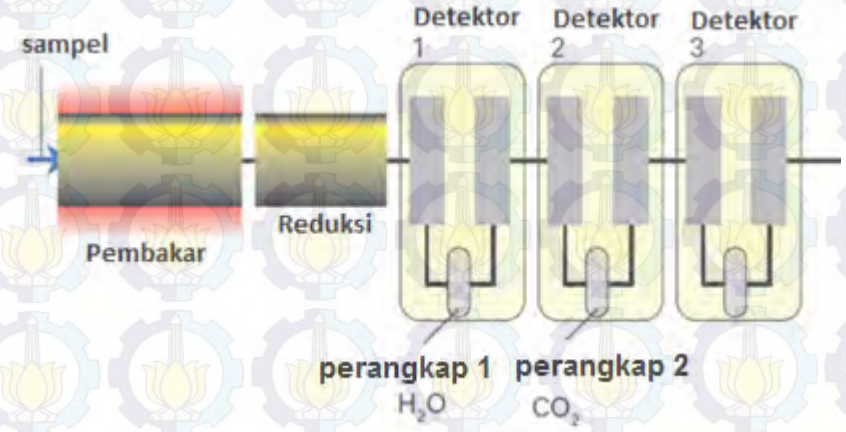
2.4.5 Analisa Mikrounsur dengan CHN *Analyzer*

Peralatan yang digunakan untuk menganalisa komposisi karbon (C), hidrogen (H), dan Nitrogen (N) pada suatu sampel material disebut CHN *Analyzer*. Dewasa ini, CHN *Analyzer* sudah mampu menganalisa kandungan oksigen (O) dan sulfur (S) pada sampel material, sehingga dapat disebut CHNS/O *Analyzer*. Prinsip umum alat ini adalah *combustion analyzer*. Sampel dibakar dengan bantuan oksigen dan berubah menjadi gas yang kemudian dideteksi oleh detektor. CHN *Analyzer* mampu menentukan persentase kandungan karbon, hidrogen, nitrogen, sulfur, dan oksigen pada senyawa organik berdasarkan metode Dumas. Metode tersebut melibatkan oksidasi yang sempurna dan sesaat dari sampel melalui pembakaran sekejap (*flash combustion*). Gas hasil pembakaran dipisahkan oleh kolom kromatografi dan kemudian dideteksi oleh *Thermal Conductivity Detector* (TCD) yang memberikan sinyal output yang sesuai dengan konsentrasi dari masing-masing dari campuran gas (Shriver dan Atkins, 2010).

Terdapat beberapa teknik yang berbeda untuk menentukan kandungan C, H, N, S, dan O pada sampel. Setiap teknik memiliki level presisi, akurasi, kecepatan analisa, dan tingkat kemudahan operasi yang berbeda. Sampel dipanaskan sampai 900°C dalam oksigen dan campuran karbon dioksida, dan dihasilkan karbon monoksida, air, nitrogen dan nitrogen oksida. Aliran gas helium menyapu produk kedalam tungku tabung pada suhu 750°C, dimana tembaga mereduksi nitrogen oksida menjadi nitrogen dan menghilangkan oksigen. Tembaga oksida mengubah karbon monoksida menjadi karbon dioksida. Campuran yang dihasilkan dianalisis dengan melewatkannya melalui tiga detektor konduktivitas termal (TCD). Detektor pertama mengukur kandungan atom hidrogen, sedangkan air dihilangkan dalam perangkap. Pada detektor kedua atom karbon diukur, dan karbon dioksida dihilangkan di perangkap kedua. Sisa nitrogen kemudian diukur pada detektor. Data yang diperoleh dari teknik ini dilaporkan sebagai persentase massa C, H, dan N (Shriver dan Atkins, 2010).

Oksigen dapat dianalisis jika tabung reaksi diganti dengan tabung kuarsa yang terisi dengan karbon yang telah dilapisi dengan katalis platinum. Ketika produk gas melalui tabung maka oksigen diubah menjadi karbon monoksida, yang kemudian dikonversi menjadi karbon dioksida oleh bagian atas tembaga oksida

panas. Prosedur selanjutnya sama dengan prosedur yang dilakukan sebelumnya. Kandungan sulfur dapat diukur jika sampel dioksidasi dalam tabung diisi dengan tembaga oksida. Kandungan air dihilangkan dengan perangkap dalam tabung dingin, sulfur dioksida biasanya ditentukan dengan detektor hidrogen. (Shriver dan Atkins, 2010).



Gambar 2.12 Skema CHN *Analyzer* (Shriver dan Atkins, 2010)

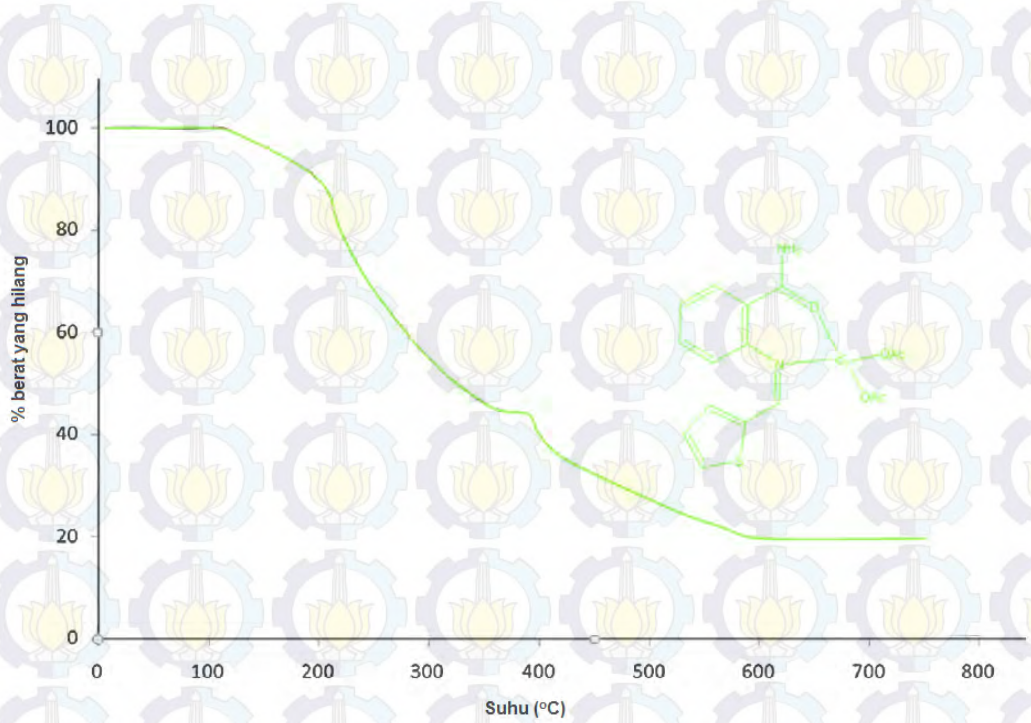
Dalam penelitian ini, analisis CHN digunakan untuk menganalisa kandungan unsur mikro dalam ligan maupun kompleks logam dengan ligan. Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin menunjukkan kandungan C, H dan N berturut-turut sebesar 56,18%, 3,10% dan 17,28%. Hal ini tidak berbeda jauh dengan nilai kalkulasi masing-masing unsur sebesar 56,02%, 3,19% dan 17,20% (Taremi dkk., 2010).

2.4.6 *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA)

Analisa termogravimetri (TGA) adalah suatu teknik analitik untuk menentukan stabilitas termal suatu material dan fraksi komponen *volatile* dengan menghitung perubahan berat yang dihubungkan dengan perubahan temperatur. TGA biasanya digunakan untuk pengujian komponen anorganik dan organik dalam material. Pengukuran TGA dilakukan di udara atau pada atmosfir inert, seperti helium atau argon, dan berat yang dihasilkan dinyatakan sebagai fungsi dari kenaikan temperatur. Analisis TGA dalam suatu senyawa kompleks dapat

digunakan untuk menentukan struktur senyawa dan juga untuk mengetahui keberadaan air kristal dalam kompleks yang terbentuk.

TGA pada umumnya memiliki timbangan *high-precision* berupa suatu tempat platina yang terisi dengan sampel. Tempat sampel diletakkan pada pemanas elektrik dengan *thermocouple* untuk mengukur temperatur. Atmosfir murni dengan gas inert digunakan untuk mencegah oksidasi atau reaksi lain yang tidak diinginkan.



Gambar 2.13 Kurva TGA Kompleks [Zn(2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)-benzamida)$OAc)_2$] dalam Atmosfer Nitrogen (Tyagi dkk., 2014)

Gambar 2.13 menunjukkan bahwa pada kompleks [Zn(2-((tiopfen-2-ilmetilen)amino)-benzamida)$OAc)_2$] hanya terdapat 1 tahap perubahan termogram pada area suhu 125-360°C yang merupakan tahap hilangnya anion $C_8H_9O_4S$, dan menyisakan residu ZnO sebesar 19,7 %. Kompleks ini hanya menunjukkan satu tahapan reaksi yang berarti tidak terdapat komponen air kristal dalam kisi kompleks (Tyagi dkk., 2014).

Kompleks [Zn(5,6-diamino-4-hidroksi-2-merkaptopirimidin)$_2Cl_2$].$2H_2O$ memiliki komponen air kristal dalam kisinya sehingga menunjukkan empat tahap perubahan termogram pada area suhu 45-248°C; 249-376°C; 377-498°C; dan 499-

685°C. Penurunan berat tersebut masing-masing dimulai dari air terhidrasi sebanyak 7,4 mg/menit atau sekitar 7,3% dari berat total, Cl_2 sebanyak 14,5 mg/menit yaitu 14,5% dari berat total, $C_3H_6N_3O$ sebanyak 20,5 mg/min yaitu 19,7% dari berat total, dan $C_3H_5N_3O$ sebanyak 20,3 mg/menit yaitu 20,1% dari berat total, sisanya adalah Zn(II) sebagai residu sebanyak 16,8% (El-*Morsy dkk.*, 2014).

2.5 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode awal yang sering digunakan untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker dalam senyawa kimia bahan alam. Metode ini memiliki beberapa keunggulan yakni waktu analisa cepat, reliabel, tidak mahal dan mudah dilakukan (Meyer dkk., 1982).

Berdasarkan metode yang telah dikerjakan oleh Meyer dkk. (1982), metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* yang disebabkan oleh larutan senyawa uji. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksisitas senyawa antikanker. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) senyawa kompleks, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi senyawa kompleks yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam (Lisdawati, dkk, 2006). Senyawa dengan LC_{50} < 1000 µg/ml dianggap sebagai suatu senyawa aktif (Meyer dkk., 1982).

Dalam uji BSLT, air laut yang digunakan sebagai medium untuk pengamatan larva udang dan persen kematian udang larva dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\%\ kematian = \frac{A}{B}\ x\ 100\ \% \quad \text{..... (2.4)}$$

dimana:

A = total kematian larva *Artemia salina*

B = total larva *Artemia salina*

Berdasarkan data kematian larva *Artemia salina* tersebut, kemudian ditarik regresi linier dari grafik log konsentrasi versus % kematian :

$y = Bx + A$ ..... (2.5)

dimana: x = log konsentrasi

y = % kematian larva

Nilai LC_{50} didapatkan dengan memasukkan nilai y yang didapatkan pada regresi linear (50% kematian). Apabila pada larutan kontrol terdapat larva yang mati, maka % kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus Abott (Meyer dkk., 1982 ; Fikriah, 2011):

dimana:

$$\%\ kematian = \frac{T-K}{10}\ x\ 100\ \% \quad \text{..... (2.6)}$$

dimana:

T = Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada sampel uji

K = Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada kontrol

Senyawa hasil ekstrak dikatakan aktif apabila nilai LC_{50} < 1000 µg/ml, dan tidak aktif jika > 1000 µg/ml. Senyawa yang memiliki nilai LC_{50} < 200 µg/ml (ekstrak) dan < 5 µg/ml (senyawa murni) dianggap sangat toksik (Tawaha, 2006). Klasifikasi toksisitas dalam uji BSLT menurut Meyer dalam Rossiana dijelaskan dalam Tabel 2.9.

Tabel 2.9 Klasifikasi Toksisitas dalam Uji BSLT

Tingkat Toksisitas	Konsentrasi (µg/ml)
Sangat toksik	1─10
Toksik sedang	10-100
Toksik rendah	100-1000

Sumber: Rossiana, 2006

BAB 3
METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini terdapat 3 tahap prosedur penelitian yang meliputi sintesis senyawa kompleks, karakterisasi senyawa kompleks menggunakan spektrofotometer UV-Vis, *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)*, analisis mikro unsur CHN, spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (*FTIR*), Termogravimetri Analis (TGA), Spektroskopi ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR. Tahap ke-tiga yakni uji toksisitas ligan dan senyawa kompleks yang dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada tahap sintesis senyawa kompleks adalah beberapa alat gelas, kertas saring, erlenmeyer, mikropipet, pipet ukur, pipet tetes, pemanas-pengaduk magnet (*magnetic stirrer hotplate*), neraca gelas, oven, desikator, *vacuum evaporator* dan timbangan analitik. Tahap karakterisasi menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Visible Genesys 10S di Laboratorium Fundamental ITS Surabaya, *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)* dan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red (FTIR)* SHIMADZU 8400S di Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia ITS Surabaya, ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR JEOL RESONANCE di Laboratorium NMR TDC UNAIR, CHN Analyzer Eager 300, DSC-TGA METLER di Laboratorium Instrumen Jurusan Material dan Metalurgi ITS Surabaya. Uji toksisitas menggunakan seperangkat alat *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis Jurusan Kimia ITS Surabaya.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan kimia dari Merck dan Sigma Aldrich yang memiliki kemurnian pro analis (p.a) meliputi 2,6-diaminopiridin, N-metil pirolidon (NMP), propilen oksida, 4-nitrobenzoil klorida, Seng klorida ($ZnCl_2$), metanol, SiO_2, etanol, dimetilformamida (DMF),

dimetilsulfoksida (DMSO), Asetonitril, etil asetat, kloroform, Diklorometana (DCM), Akuades. Uji toksisitas pada senyawa kompleks menggunakan larva udang *Artemia salina*.

3.2 Prosedur Sintesis

3.2.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamida)piridin (BNBP)

Ligan BNBP disintesis berdasarkan prosedur yang telah dilakukan oleh Taremi dkk. (2010) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 3,375 gram (0,03 mol) 2,6-diaminopiridin dan 90 mL N-metil-pirolidon (NMP) dimasukkan dalam labu dasar bulat leher tiga berukuran 250 mL (yang sebelumnya telah dilengkapi dengan *magnetic stirrer*, termometer dan tabung inlet gas nitrogen). Campuran diaduk pada suhu 0°C selama 30 menit. Sebanyak 43 mL propilen oksida ditambahkan dan diaduk selama beberapa menit. Kemudian, sebanyak 13,635 gram (0,07 mol) 4-nitrobenzoil klorida ditambahkan ke dalam labu dan campuran tersebut diaduk pada suhu 0°C selama 30 menit. Suhu reaksi selanjutnya dinaikkan hingga mencapai suhu ruang (22 ± 1°C) dan campuran diaduk lagi selama 25 jam. Setelah reaksi tuntas, senyawa hasil reaksi (BNBP) diperoleh melalui pengendapan dengan cara menuangkan campuran reaksi yang ada kedalam gelas kimia berisi air. Endapan yang dihasilkan kemudian disaring, dicuci dengan air panas dan metanol lalu dikeringkan dalam kondisi vakum suhu 78°C selama 2 jam. Padatan ligan BNBP yang diperoleh kemudian direkristalisasi dengan pelarut asetonitril. Selanjutnya, padatan ligan yang telah murni dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR, ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR.

3.2.2 Penentuan Perbandingan Logam dan Ligan

Penentuan panjang gelombang maksimum senyawa kompleks dilakukan dengan menggunakan metode perbandingan mol logam-ligan. Padatan $ZnCl_2$ dan padatan ligan BNBP (2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin) ditimbang sesuai dengan perbandingan mol logam ligan 1:1, 1:2, dan 1:3. Pada perbandingan mol logam dan ligan 1:1, ditimbang 0,0349 gram logam dan 0,1014 gram ligan. Pada perbandingan mol logam dan ligan 1:2, ditimbang 0,0349 gram logam dan 0,2034 gram ligan. Pada perbandingan mol logam dan ligan 1:3, ditimbang 0,0349 gram logam dan

0,3049 ligan. Kemudian masing-masing padatan dilarutkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* dalam pelarut metanol 10 ml dan asetonitril 5 ml hingga larut sempurna. Larutan logam dimasukkan kedalam labu dasar bulat leher dua dan diaduk suhu 70°C kemudian ditambahkan larutan ligan sedikit demi sedikit dan reaksi dilanjutkan sampai 24 jam. Reaksi dijaga dengan refluks. Selanjutnya, larutan disaring dan dimasukkan ke dalam vial-vial kecil. Larutan kompleks didiamkan selama 7 hari dalam desikator pada suhu ruang hingga terbentuk padatan kristalin. Padatan yang diperoleh setelah kemudian disaring, dikeringkan, dan diuji panjang gelombangnya dengan UV-Vis. Kompleks dengan panjang gelombang maksimum digunakan sebagai acuan komposisi perbandingan logam dan ligan pada tahap sintesis kompleks selanjutnya.

3.2.3 Sintesis Kompleks Zn(II) dengan Ligan BNBP

Pada tahap sintesis kompleks dari ion logam Zn(II) dengan ligan BNBP perbandingan mol logam dan ligan yang digunakan adalah 1:1. Padatan $ZnCl_2$ sebanyak 0,0349 gram dimasukkan dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 10 mL metanol sambil diaduk hingga larut. Larutan logam dimasukkan ke dalam refluks pada suhu 70°C. Kemudian kedalam larutan tersebut ditambahkan sedikit demi sedikit ligan BNBP (0,1014 gram) yang sebelumnya telah dilarutkan dalam 10 mL metanol dan 5 ml asetonitril. Larutan ini kemudian direfluks selama 24 jam. Setelah reaksi tuntas, larutan disaring dan filtrat yang diperoleh didiamkan selama 7 hari dalam desikator yang berisi SiO_2 hingga terbentuk padatan kristalin. Padatan kristalin yang dihasilkan selanjutnya disaring lalu dikeringkan. Padatan kristalin yang dihasilkan kemudian dianalisa lebih lanjut dengan mikrounsur CHN, AAS, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR dan TGA.

3.3 Prosedur Karakterisasi

3.3.1 Uji Kelarutan Senyawa Kompleks

Uji kelarutan digunakan untuk mengetahui pelarut yang tepat pada senyawa kompleks. Padatan hasil sintesis dilarutkan dengan berbagai pelarut yang berbeda yakni: air, asetonitril, kloroform, etil asetat, n-heksan, diklorometana, etanol,

metanol, dimetilformamida (DMF), dan dimetil sulfoksida (DMSO). Sebanyak 1 mg senyawa kompleks dilarutkan dalam 1 ml pelarut.

3.3.2 Analisa UV-Visible

Kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dikarakterisasi menggunakan UV/Vis Shimadzu UV-1100 pada kisaran panjang gelombang 190-600 nm.

3.3.3 Analisis *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS)

Larutan standar yang digunakan berasal dari larutan $ZnCl_2$ konsentrasi 100 ppm. Dibuat dari 0,250 gram garam $ZnCl_2$ yang diberi 2,5 ml HCl 5 M, kemudian ditambah aquades hingga volume 250 ml. Larutan Zn standar 100 ppm diperoleh dengan pengambilan 10 ml larutan tersebut dengan penambahan aquadest hingga volume 100 ml. Kemudian diambil 2, 4, 6, 8, dan 10 ml larutan standar 100 ppm, dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, lalu masing-masing ditambah 1 ml HCl 5 M dan ditambah aquadest hingga tanda batas. Larutan-larutan tersebut memiliki konsentrasi Zn(II) masing-masing sebesar 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Setiap larutan standar tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 213,9 nm. Data yang diperoleh dibuat kurva standar yaitu hubungan antara konsentrasi dengan serapan.

Sebanyak 0,02 gram kompleks Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dilarutkan dalam aquadest dan 2,5 ml HCl 5 M dalam labu takar 50 ml, kemudian 3 ml dari masing-masing larutan sampel diatas ditambah aquadest hingga tanda batas dalam labu takar 50 mL. Selanjutnya semua larutan standar dan larutan sampel hasil pengenceran diukur absorbansnya dengan alat SSA pada panjang gelombang, λ = 213,9 nm.

3.3.4 Analisa Spektrofotometri *Fourier-Transform Infrared* (FTIR)

Pengukuran spektrofotometri inframerah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer inframerah merk FTIR Perkin-Elmer 1600. Pengukuran diawali dengan pembuatan *pellet* sampel yang ditambah senyawa KBr dengan perbandingan 1:10 yakni 3 mg sampel ditambah 30 mg KBr, kedua padatan digerus sampai tercampur sempurna. Kemudian dimasukkan kedalam *press holder* dan

ditekan dengan kekuatan 2000 $N.m^{-2}$ beberapa saat hingga terbentuk *pellet*. Selanjutnya *pellet* diukur spektranya pada daerah bilangan gelombang 300-4000 cm^{-1}.

3.3.5 Analisa ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR

Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamida)piridin diuji dengan menggunakan pelarut dimetilsulfoksida (DMSO).

3.3.6 Analisa Kandungan C, H, dan N pada Senyawa Kompleks

Alat untuk analisis mikrounsur C, H, N, S distandarisasi dengan alat analisis mikrounsur CHNS distandarisasi terlebih dahulu sebelum digunakan dengan *L-Cistein Standard* ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$, C= 29,99%, H= 5,03%, N= 11,66%, S= 26,69% dan O=26,63%). Sebanyak 2,83 mg sampel ditempatkan dalam alumunium foil, kemudian ditambahkan vanadium(V)oksida untuk menyempurnakan reaksi oksidasi. Sampel tersebut dimasukkan dalam plat berlubang untuk dilakukan pembakaran dengan gas oksigen. Alat mikrounsur selanjutnya dijalankan dan komposisi unsur C, H, N yang terkandung pada senyawa dapat diidentifikasi.

3.3.7 *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA)

Analisa TGA dilakukan pada atmosfer N_2, pada suhu 0-700°C dengan rentang kenaikan suhu sebesar 6°C per menit. Suatu sampel material yang akan diuji, ditempatkan ke dalam suatu wadah alumina tinggi yang disupportkan atau disuspensi dari timbangan analitik yang ditempatkan diluar *furnace*. Timbangan dalam keadaan nol, dan wadah sampel dipanaskan menurut siklus panas yang ditentukan. Timbangan mengirimkan sinyal berat pada komputer sebagai penyimpan, berupa temperatur sampel dan waktu. Kurva plot dari sinyal TGA, dikonversi ke perubahan persen berat pada sumbu Y terhadap temperatur material referensi pada sumbu X.

3.3.8 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pada uji pendahuluan aktivitas antikanker ditentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) yaitu jumlah dosis atau konsentrasi larutan senyawa kompleks

yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam.

Uji ini diawali dengan menetaskan telur *Artemia salina* dalam air laut selama 48 jam. Sebelum telur ditetaskan, sebuah alat dirangkai terdiri atas botol plastik yang telah diisi dengan air laut dan diberi aliran oksigen dengan aerator serta disinari lampu. Setelah 48 jam diperoleh nauplii yang sudah aktif bergerak. Nauplii yang dihasilkan langsung diujikan dalam larutan senyawa kompleks. Sebanyak 10 ekor nauplii *Artemia salina* dimasukkan ke dalam *micro well plate* dikali banyaknya sampel uji.

Larutan uji dibuat dengan variasi konsentrasi 1µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml, 1000 µg/ml. Sebanyak 10 ml larutan uji yang telah dikalibrasi dimasukkan kedalam vial yang telah berisi 5 ml air laut serta berisi 10 ekor anak udang (nauplii), untuk masing-masing konsentrasi disiapkan dalam 3 buah vial, didiamakan selam 24 jam kemudian dihitung jumlah anak udang yang mati secara visual. Sebagai larutan kontrol digunakan air laut berisi 10 ekor anak udang tanpa larutan uji. Bila terdapat kematian pada larutan kontrol, maka analisis dihitung menggunakan rumus Abbot's (Meyer dkk., 1982):

$$\%\ kematian = \frac{T-K}{10}\ x\ 100\ \% \quad \text{..... (3.1)}$$

dimana:

T = Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada sampel uji

K = Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada kontrol

Berdasarkan data kematian larva Artemia salina tersebut, kemudian ditarik regresi linier dari grafik log konsentrasi versus % kematian :

$y = Bx + A$ ..... (3.2)

dimana:

x = log konsentrasi

y = % kematian larva

Persamaan regresi linear Y=Ax+B digunakan untuk menentukan LC_{50} dengan mensubtitusi angka 50 pada y, akan diperoleh nilai x (log konsentrasi), sehingga dihasilkan nilai antilog x yang merupakan konsentrasi kematian sel sebesar 50% atau LC_{50}. Perlakuan konsentrasi ligan dan kompleks pada BSLT ditunjukkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Perlakuan Konsentrasi Senyawa Uji pada BSLT

Konsentasi (ppm)	Log [ ]	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8			
125	2,1			
250	2,4			
500	2,7			
1000	3,0			

“halaman ini sengaja dikosongkan”

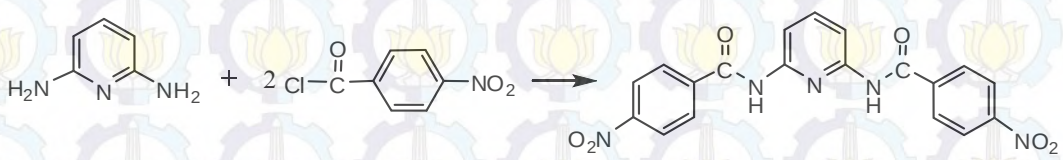
BAB 4
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri atas dua tahap reaksi. Tahap pertama adalah sintesis ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP). Ligan yang diperoleh kemudian dikarakterisasi dengan ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR dan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared (FTIR)*. Tahap reaksi kedua yakni, sintesis senyawa kompleks dari ion logam Zn(II) dengan ligan BNBP. Senyawa kompleks dioptimasi dengan variasi perbandingan mol logam dan ligan yakni 1:1, 1:2 dan 1:3. Hasil optimasi senyawa kompleks berdasarkan pada bilangan gelombang maksimum yang diperoleh menggunakan UV-Vis. Kompleks Zn(II)-BNBP kemudian disintesis sesuai perbandingan mol logam:ligan optimum. Selanjutnya, senyawa kompleks Zn(II)-BNBP dikarakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis, *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS), *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA), CHN-*Analyzer*, dan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared (FTIR)*. Kemampuan toksisitas ligan dan senyawa kompleks diamati menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*.

4.1 Sintesis dan Karakterisasi Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

4.1.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) disintesis dari modifikasi prosedur kerja yang pernah dilakukan sebelumnya (Taremi dkk., 2010). Sintesis ligan BNBP merupakan reaksi pembentukan amida melalui tahapan reaksi subtitusi nukleofilik dari 2,6-diaminopiridin dan 4-nitrobenzoil klorida dengan adanya propilen oksida. Propilen oksida berperan sebagai scavenger asam. Reaksi umum yang diusulkan untuk pembentukan BNBP terdapat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Reaksi Pembentukan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Padatan 2,6-diaminopiridin berwarna hijau tua dilarutkan dalam N-metil pirolidon (NMP). NMP digunakan untuk melarutkan 2,6-diaminopiridin sehingga 2,6-diaminopiridin lebih mudah direaksikan dengan senyawa 4-nitrobenzoil klorida. Selanjutnya pada larutan tersebut ditambahkan propilen oksida dan 4-nitrobenzoil klorida sehingga dihasilkan larutan berwarna hijau tua kekuningan. Campuran tersebut direaksikan pada suhu 0°C dalam atmosfer gas N_2. Gas N_2 bersifat inert dan dapat mengusir gas lain yang dapat menganggu reaksi seperti O_2. Adanya gas N_2 diharapkan dapat menjaga reaksi dari kontaminasi lingkungan luar sehingga reaksi pembentukan amida dapat berlangsung dengan baik. Selain itu, senyawa 4-nitrobenzoil klorida merupakan senyawa yang sangat reaktif dan mudah rusak sehingga dibutuhkan gas N_2 untuk menjaga agar 4-nitrobenzoil klorida tidak rusak sebelum terjadi reaksi. Setelah 30 menit reaksi dilanjutkan pada suhu ruang (22 ± 1°C) selama 25 jam.

Reaksi berakhir setelah 25 jam dan diperoleh larutan berwarna hijau tua kekuningan. Larutan tersebut dimasukkan dalam aquades dingin sehingga diperoleh endapan berwarna hijau tua. Suspensi disaring dan dicuci dengan aquades panas dan metanol beberapa kali. Aquades panas digunakan untuk mengaktifkan pengotor yang menempel pada senyawa, sehingga mudah larut dan hilang selama proses pencucian. Sedangkan metanol berfungsi untuk melarutkan sisa aquades pada padatan selama proses pencucian. Setelah proses pencucian, diperoleh bubur (*slury*) BNBP berwarna hijau tua. Bubur tersebut kemudian dikeringkan menggunakan vakum evaporator pada suhu 78°C selama 2 jam sehingga diperoleh padatan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin kering berwarna hijau tua (Gambar 4.2a). Vakum evaporator digunakan untuk menghilangkan sisa metanol yang masih tertinggal dalam senyawa BNBP. Titik didih metanol adalah 64,7°C.

Senyawa BNBP yang dihasilkan dimurnikan melalui proses rekristalisasi menggunakan larutan asetonitril sehingga diperoleh padatan berwarna kuning kehijauan (Gambar 4.2b) dengan rendemen sebesar 84,54%. Perhitungan rendemen ditunjukkan pada Lampiran A.

(a) **(b)**

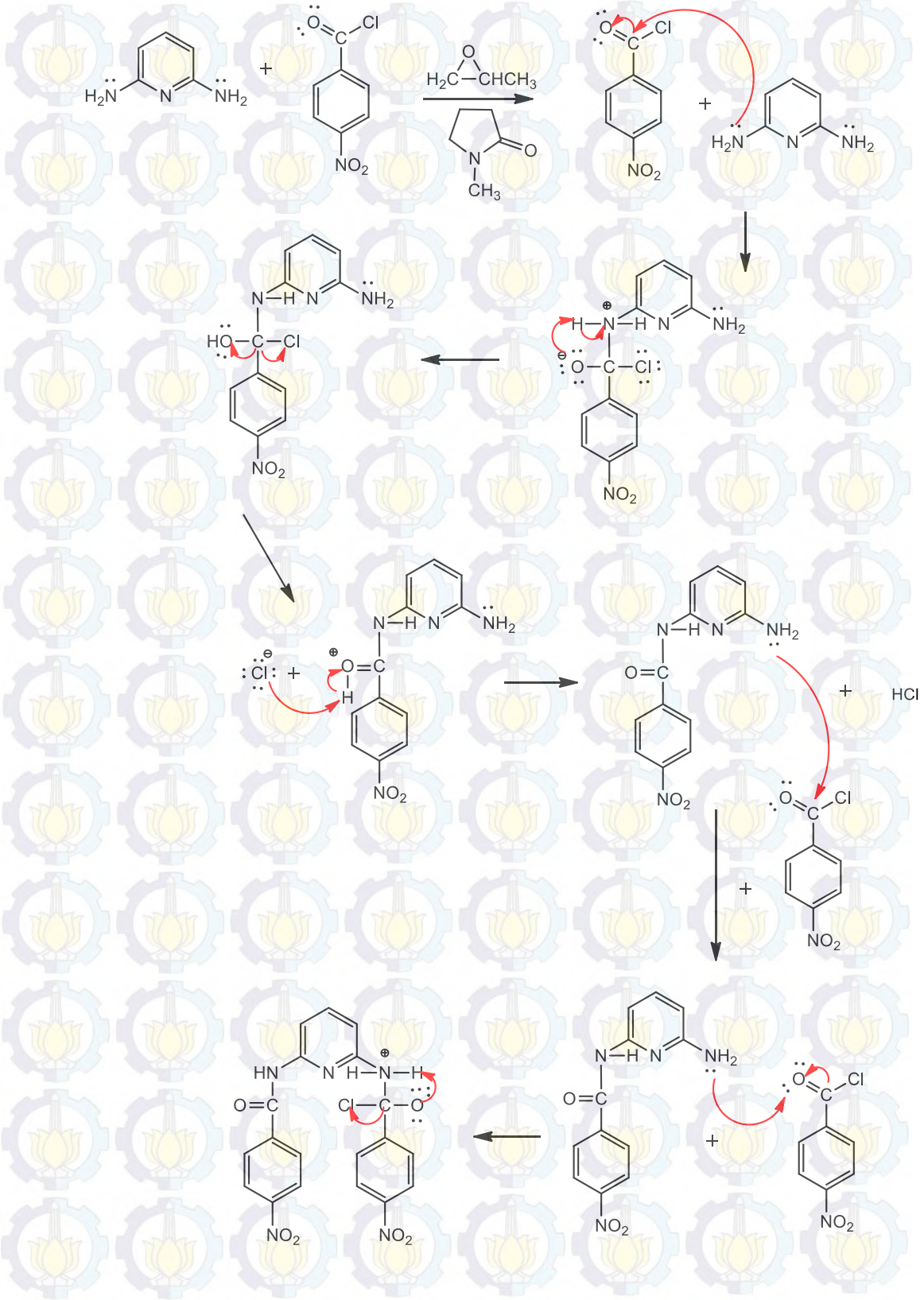
Gambar 4.2 Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (a) Sebelum, (b) Sesudah Direkristalisasi dengan Asetonitril

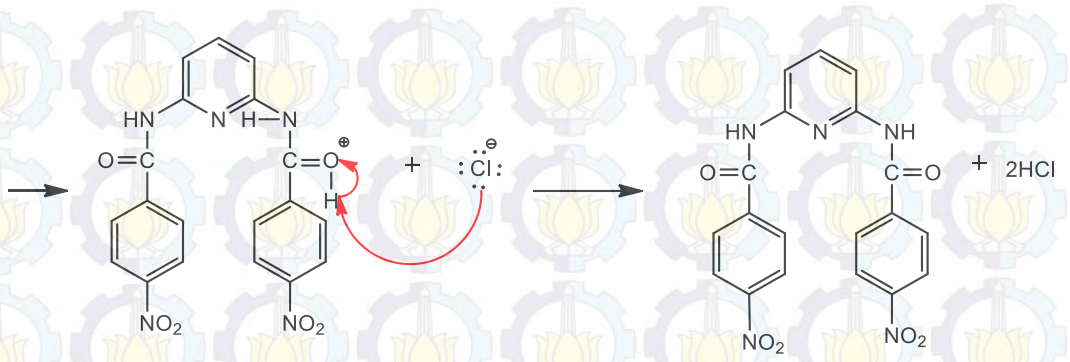
Hasil rekristalisasi 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan dalam uji KLT ini adalah silika gel sedangkan fase geraknya (eluen) adalah larutan kloroform dan diklorometana (DCM) dengan perbandingan 1:2. Noda yang dihasilkan dalam uji KLT menunjukkan 1 totol. Hal tersebut berarti bahwa eluen yang digunakan sudah sesuai karena noda yang dihasilkan tidak berekor (Harborne, 1987). Hasil uji dengan KLT pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Gambar 4.3 KLT dengan Eluen Kloroform:DCM 1:2

Hasil uji titik leleh senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin adalah 270-273°C, hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yakni

273-275°C (Taremi dkk., 2010). Mekanisme reaksi yang diusulkan untuk sintesis 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin disajikan pada Gambar 4.4.





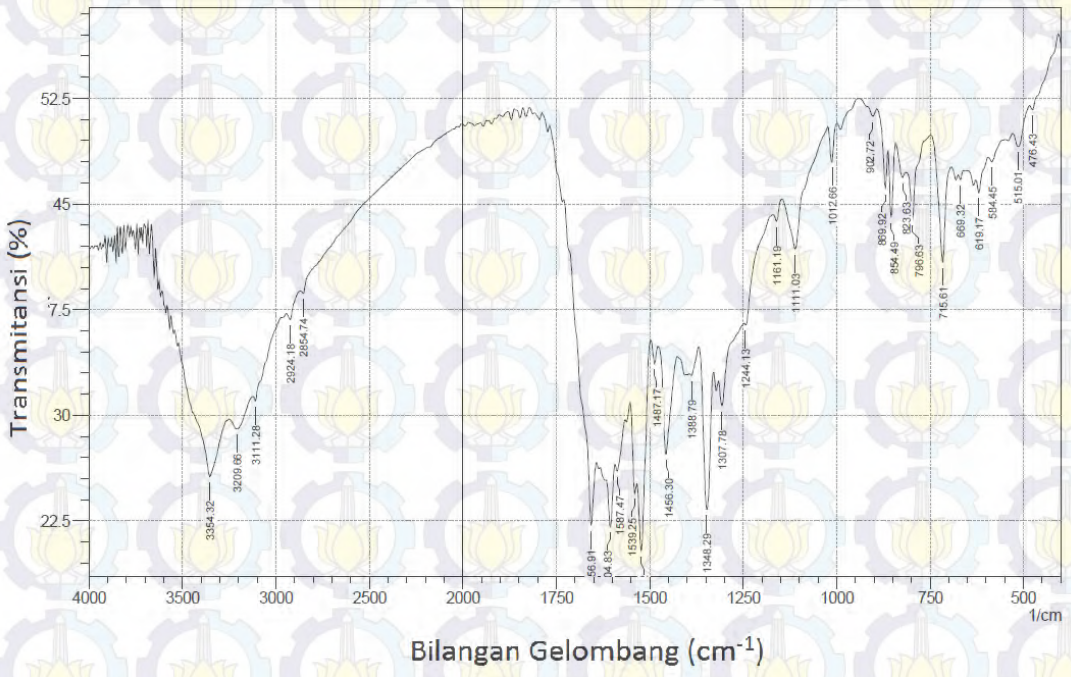
Gambar 4.4 Mekanisme Reaksi yang Diusulkan untuk Sintesis 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Reaksi sintesis 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin melalui tahapan subtitusi nukleofilik. Senyawa 2,6-diaminopiridin direaksikan dengan 4-nitrobenzoil klorida. Atom karbon pada 4-nitrobenzoil klorida diserang oleh atom nitrogen pada 2,6-diaminopiridin sehingga terbentuk karbokation tetrahedral. Kemudian elektron dari gugus karbonil C=O pada 4-nitrobenzoil klorida mengalami resonansi kearah atom oksigen, sehingga terjadi pemutusan ikatan rangkap dan atom oksigen menjadi kelebihan elektron. Atom hidrogen pada gugus amina pada 2,6-diaminopiridin diserang oleh atom oksigen bermuatan parsial negatif (δ-) sehingga terbentuk gugus hidroksil. Atom nitrogen pada 2,6-diaminopiridin menjadi tidak stabil karena kekurangan elektron sehingga atom hidrogen yang diserang oleh oksigen mudah dilepas. Atom klorida yang terikat pada karbon memiliki keelektronegatifan tinggi sehingga awan elektron lebih mudah tertarik ke arah klorida, hal ini menyebabkan ikatan antara atom karbon dan klorida menjadi lemah dan atom klorida mudah dilepas. Atom karbon menjadi tidak stabil dan bermuatan parsial positif (δ+) sehingga elektron pada oksigen berpindah ke karbon membentuk karbonil C=O dan menetralkan muatan atom karbon. Atom oksigen menjadi bermuatan parsial positif (δ+) sehingga ion hydrogen (H^+) mudah diserang oleh ion klorida (Cl^-) membentuk HCl. HCl yang dihasilkan kemudian ditangkap oleh propilen oksida yang berperan sebagai *scavenger* asam sehingga HCl tidak menganggu reaksi. Reaksi subtitusi nukleofilik berulang untuk atom nitrogen pada sisi kedua sehingga diperoleh senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin. Gambaran reaksi propilen oksida sebagai *scavanger* asam HCl ditunjukkan pada Gambar 4.5.

Gambar 4.5 Reaksi Propilen oksida Sebagai *Scavanger* Asam (Fessenden dan Fessenden, 1986)

4.1.2 Karakterisasi Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Padatan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yang dihasilkan kemudian dianalisis dengan spektrofotometer FTIR, spektroskopi ^{1}H-NMR dan spektroskopi ^{13}C-NMR untuk membuktikan bahwa senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yang telah disintesis sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya (Taremi dkk., 2010). Hasil spektrum FTIR senyawa BNBP ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Spektrum FTIR Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

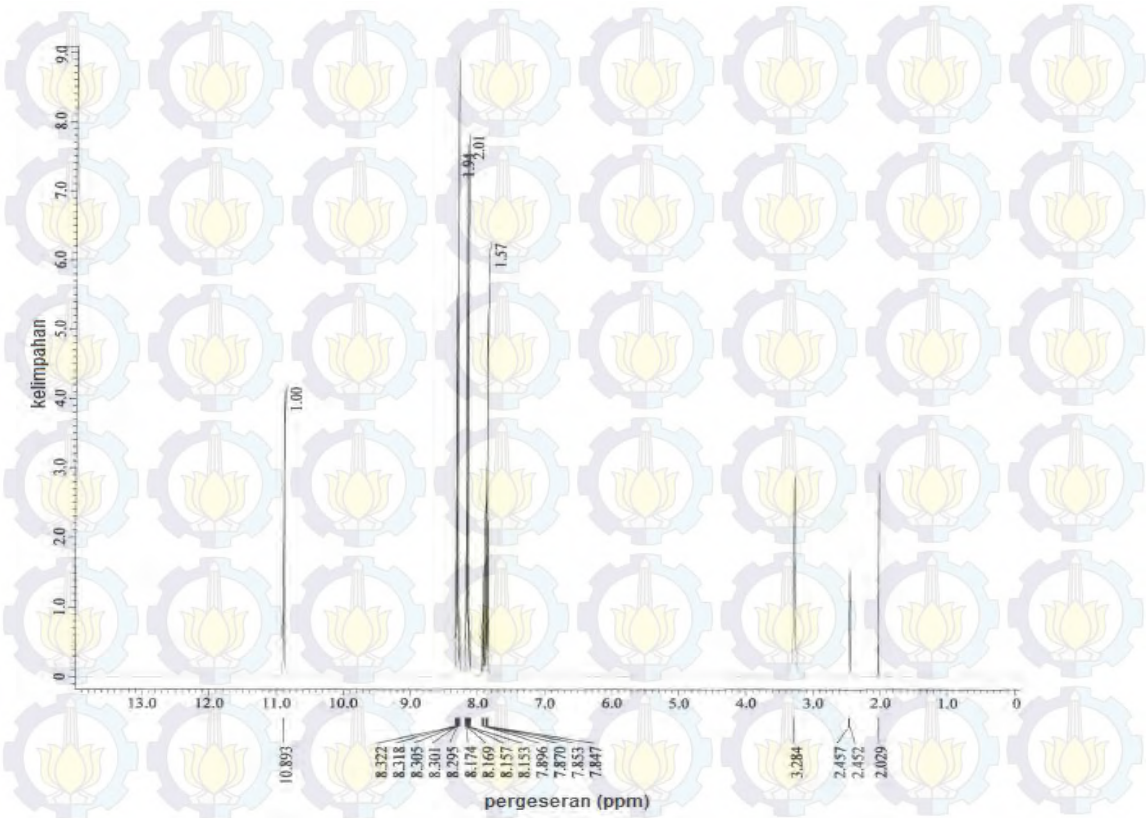
Berdasarkan hasil spektrum FTIR pada Gambar 4.5 dapat dilihat bahwa ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin telah terbentuk. Hal ini ditunjukkan dengan adanya serapan khas C=O pada daerah 1656,7 cm^{-1}. Selain itu, terdapat puncak khas *stretching* N-H amida sekunder dan *wagging* NH yang muncul pada

bilangan gelombang 3354,32 cm^{-1} dan 715,61 cm^{-1}. Serapan pada panjang gelombang 1587,47 cm^{-1} menunjukkan adanya *stretching* C=C pada fenil dan piridin. Vibrasi NO_2 asimetris dan simetris muncul pada bilangan gelombang 1532,82 cm^{-1} dan 1348,29 cm^{-1}. Adanya serapan *stretching* C=N piridin pada 1604,83 cm^{-1} juga menunjukkan bahwa ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin telah berhasil disintesis. Perbandingan senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin hasil sintesis dengan senyawa BNBP yang telah disintesis sebelumnya ditunjukkan pada Tabel 4.1 (Taremi dkk., 2010).

Tabel 4.1 Data FTIR BNBP Hasil Sintesis dan Pembanding

Gugus Fungsi	**FTIR (KBr, cm^{-1}) Hasil Sintesis**	**FTIR (KBr, cm^{-1}) Teoritis (Taremi dkk., 2010)**
Stretching N-H amida sekunder	3354,32	3353,13
Stretching C=O	1656,91	1694,53
Stretching C=N piridin	1604,83	1604,58
Stretching C=C	1587,47	1586,34
NO_2 asimetris	1523,82	1522,52
NO_2 simetris	1348,29	1351,87
Wagging-NH	715,61	716,33

Selanjutnya, ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dikarakterisasi dengan ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR. Pada spektrum ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR diperlihatkan banyaknya atom hidrogen dan karbon dalam senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin. Sehingga data pada spektrum tersebut dapat digunakan untuk memperkuat bukti bahwa ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin telah sesuai dengan penelitian sebelumnya (Taremi dkk., 2010). Spektrum ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR ditunjukkan pada Gambar 4.7 dan Gambar 4.9.



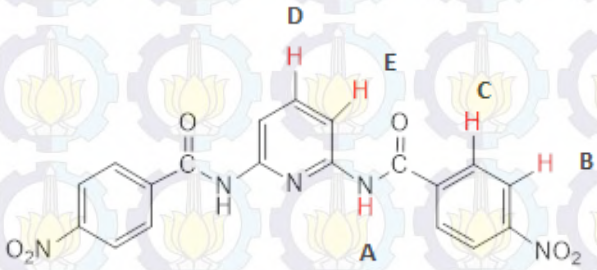
Gambar 4.7 Spektrum ^{1}H-NMR 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Spektrum ^{1}H-NMR pada Gambar 4.7 menunjukkan puncak singlet N-H dengan 2 proton muncul pada pergeseran (δ) 10,893 ppm, hal ini menunjukkan bahwa proton tersebut tidak memiliki tetangga. Pergeseran (δ) 8,318 dan (δ) 8,174 ppm doblet menunjukkan adanya proton yang terikat pada gugus aromatis, proton pada daerah ini berjumlah 8 proton. Puncak triplet dan doblet yang merupakan milik proton yang terikat pada gugus piridin ditunjukkan pada pergeseran (δ) 7,896 dan (δ) 7,870 ppm yang masing-masing terdiri atas 1 proton dan 2 proton. Data ^{1}H-NMR 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin hasil sintesis dan pembanding ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Data ^{1}H NMR BNBP Hasil Sintesis dan Pembanding

Proton	^{1}H NMR (DMSO-d$_6$, δ, ppm) Hasil Sintesis	^{1}H NMR (DMSO-d$_6$, δ, ppm) Teoritis (Taremi, *et. al*, 2010)
A	10,893 s (2H, NH)	10,97 s (2H, NH)
B	8,318 d (4H, fenil)	8,32 d (4H, fenil)
C	8,174 d (4H, fenil)	8,15 d (4H, fenil)
D	7,896- E 7,870 m (3H, piridin)	7,89-7,87 m (3H, piridin)

Berdasarkan Tabel 4.2 terdapat 5 jenis sinyal proton pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin. Hasil ini sesuai dengan struktur teoritis seyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin. Adapun posisi dan jenis proton tersebut disajikan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Posisi dan Jenis Proton pada Senyawa BNBP

Selanjutnya, padatan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin diuji dengan ^{13}C-NMR. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui banyaknya atom karbon yang terdapat pada senyawa tersebut. Spektrum ^{13}C-NMR 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin ditunjukkan pada Gambar 4.9.

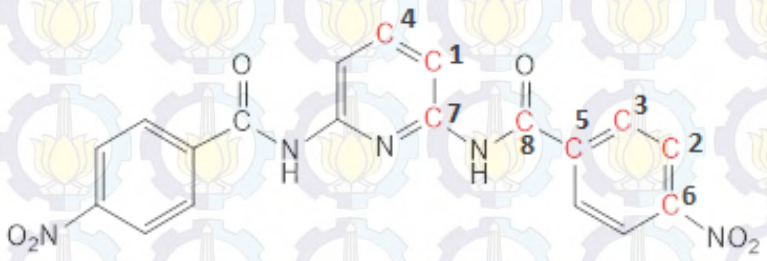
Gambar 4.9 Spektrum ^{13}C-NMR 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Pergeseran (δ) 160,135 ppm menunjukkan karbon yang terdapat pada gugus karbonil (C=O). Pergeseran (δ) 145,766 ppm dan 144,917 ppm menunjukkan jenis karbon yang dekat dengan atom N. Jenis karbon yang dekat dengan gugus C ditunjukkan pada 2 pergeseran (δ) 135,840 dan 135,421 ppm. Data lengkap mengenai jenis karbon dan pergeseran yang terjadi pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin ditunjukkan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data ^{13}C-NMR 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Karbon	Struktur Senyawa	δ_C (ppm)
C8	C pada karbonil (C=O)	160,135
C7	C=C pada piridin	145,766
C6	C=C pada aromatis	144,917
C5	C=C pada aromatis	135,840
C4	C=C pada piridin	135,421
C3	C=C pada aromatis	125,066
C2	C=C pada aromatis	119,088
C1	C=C pada piridin	107,466

Berdasakan spektrum ^{13}C-NMR diketahui bahwa terdapat 8 jenis sinyal karbon pada senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin. Hal ini sesuai dengan stuktur teoritis senyawa tersebut. Adapun posisi dan jenis karbon yang terdapat dalam senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Posisi dan Jenis Karbon pada Ligan BNBP

Berdasarkan pada beberapa karakterisasi tersebut dapat dipastikan bahwa senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin terbukti berhasil disintesis dan telah sesuai dengan hasil sintesis sebelumnya (Taremi dkk., 2010).

4.2 Sintesis dan Karakterisasi Kompleks Zn(II) dengan Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks Zn(II)-BNBP diawali dengan mereaksikan larutan logam dan ligan. Padatan $ZnCl_2$ dan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dengan perbandingan mol logam:ligan dilarutkan dalam pelarut metanol dan asetonitril dengan perbandingan 2:1. Perbandingan mol logam dan ligan yang digunakan adalah 1:1, 1:2, dan 1:3. Perbedaan warna larutan logam dan ligan yang digunakan dalam uji ini ditunjukkan pada Gambar 4.11.

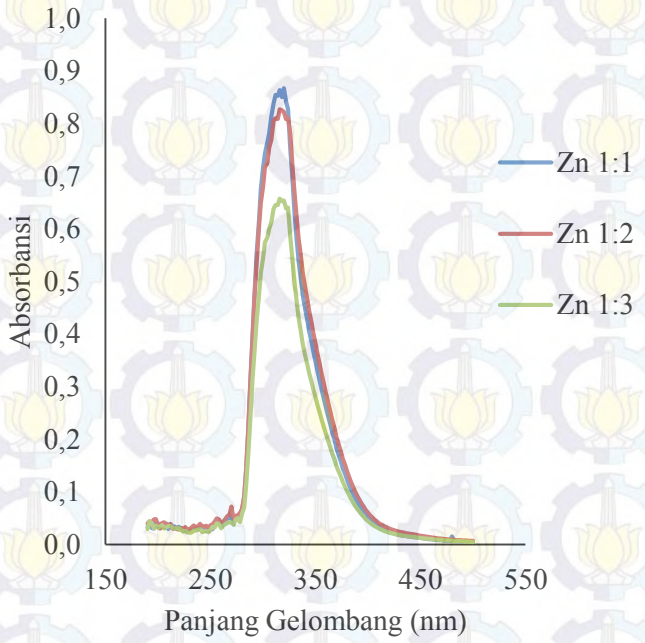
Gambar 4.11 Perbedaan Warna pada Larutan Logam dan Ligan dengan Variasi Perbandingan Mol

Padatan yang diperoleh kemudian diuji panjang gelombang maksimumnya menggunakan UV-Vis. Masing-masing padatan dengan variasi perbandingan mol dilarutkan dalam DMF dan diuji panjang gelombangnya menggunakan UV-Vis pada rentang panjang gelombang 190-500 nm. Berikut hasil uji UV-Vis padatan dengan variasi perbandingan mol logam dan ligan.

Tabel 4.4 Hasil Uji Panjang Gelombang dengan UV-Vis

Perbandingan mol logam:ligan	Panjang gelombang (nm)
1:1	320
1:2	316
1:3	316

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum pembentukan kompleks Zn(II)-BNBP terdapat pada padatan dengan perbandingan mol logam-ligan 1:1. Perbedaan panjang gelombang pada masing-masing kompleks tidak signifikan dikarenakan komposisi ligan yang terikat pada logam lebih dominan. Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin mendominasi kompleks Zn(II)-BNBP. Hasil spektra UV-Vis ketiga padatan tersebut berada pada rentang panjang gelombang 250-320 nm yang merupakan daerah transisi intraligan. Ligan BNBP memiliki banyak ikatan jenuh (aromatis) pada strukturnya, sehingga memungkinkan munculnya puncak UV-Vis pada daerah dibawah 400 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Nagy dkk., 2012). Spektra perbedaan panjang gelombang kompleks Zn(II)-BNBP dengan variasi perbandingan mol logam:ligan ditunjukkan pada Gambar 4.12.



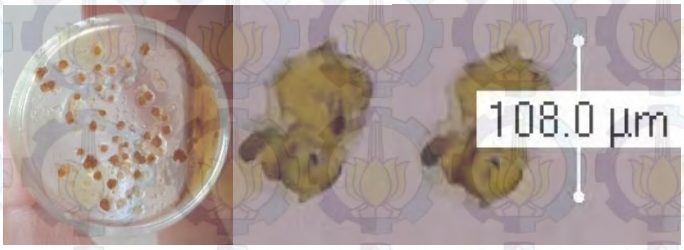
Gambar 4.12 Perbedaan Panjang Gelombang Kompleks Zn(II)-BNBP

4.2.2 Sintesis Kompleks Zn(II)-2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Sintesis senyawa kompleks Zn(II)-BNBP didasarkan pada hasil uji panjang gelombang maksimum sebelumnya. Padatan $ZnCl_2$ dan BNBP dengan perbandingan mol 1:1 disintesis dengan menggunakan refluks. Refluks digunakan

agar reaksi sintesis senyawa kompleks tetap terjaga meskipun dalam kondisi panas sehingga mol reaktan dan produk konstan. Larutan logam dan ligan diaduk selama 24 jam pada suhu 70°C. Campuran yang diperoleh kemudian didiamkan selama 7 hari di dalam desikator berisi SiO_2 pada suhu ruang. Kompleks yang diperoleh kemudian disaring dan dikeringkan sehingga diperoleh padatan kristalin berwarna kuning kecoklatan. Padatan tersebut kemudian disaring dan dikeringkan dalam desikator.

Senyawa kompleks yang diperoleh kemudian dinalisis panjang padatannya dengan foto mikroskop. Hasil foto mikroskop perbesaran 12x menunjukkan bahwa padatan yang diperoleh berbentuk kristalin dengan panjang rata -rata 108,0 µm. Padatan kompleks yang diperoleh dan hasil foto mikroskop ditunjukkan pada Gambar 4.13. Rendemen kompleks Zn(II)-BNBP yang diperoleh adalah sebesar 62,67%. Perhitungan rendemen kompleks Zn(II)-BNBP ditunjukkan pada Lampiran B.



(a) **(b)**

Gambar 4.13 (a) Padatan Kompleks Zn(II)-BNBP, **(b)** Kompleks Perbesaran 12x

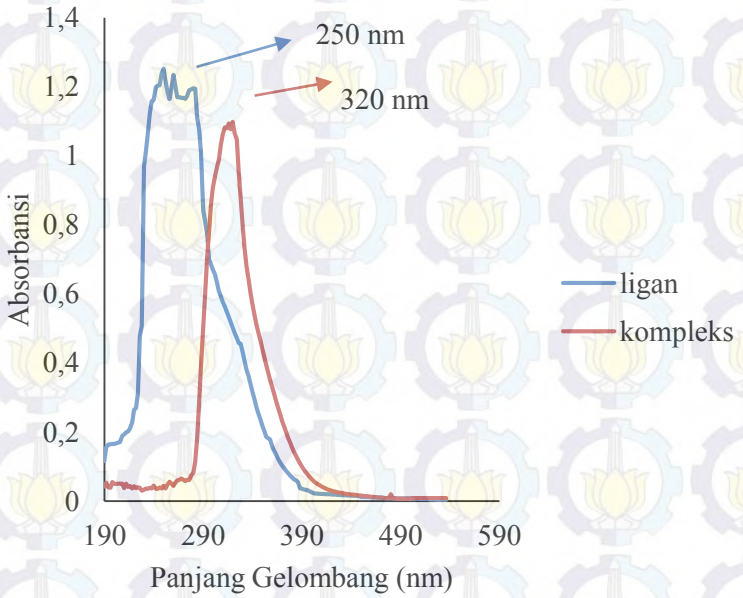
Padatan Zn(II)-BNBP yang diperoleh kemudian diuji kelarutannya dengan menggunakan berbagai macam pelarut. Uji ini bertujuan untuk mengetahui kelarutan senyawa kompleks Zn(II)-BNBP sehingga memudahkan untuk karakterisasi selanjutnya. Data perbedaan kelarutan senyawa kompleks Zn(II)-BNBP ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa senyawa kompleks Zn(II)-BNBP larut sempurna dalam DMF, DMSO, dan asetonitril. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kompleks Zn(II)-BNBP bersifat polar.

Tabel 4.5 Kelarutan Senyawa Kompleks Zn(II)-BNBP

Pelarut	Keterangan
Kloroform	Sedikit larut
Metanol	Larut sebagian
Asetonitril	Larut sempurna
n-heksan	Tidak larut
Etil Asetat	Sedikit larut
Metanol	Larut banyak
Diklorometana	Larut sebagian
Dimetilformamida	Larut sempurna
Dimetilsulfoksida	Larut sempurna

Setelah diketahui jenis pelarut yang dapat digunakan, padatan Zn(II)-BNBP kemudian dianalisis panjang gelombangnya. Panjang gelombang senyawa kompleks Zn(II)-BNBP kemudian dibandingkan dengan panjang gelombang logam $ZnCl_2$ dan ligan BNBP. Penentuan panjang gelombang pada senyawa kompleks Zn(II)-BNBP dilakukan untuk mengetahui apakah kompleks tersebut telah terbentuk. Kompleks Zn(II)-BNBP dan ligan BNBP dilarutkan dalam DMF. Sedangkan, logam $ZnCl_2$ dilarutkan dalam metanol pada suhu ruang. Spektra UV-Vis ketiga senyawa tersebut menunjukkan posisi pita absorbansi yang berbeda-beda. Hasil spektra senyawa kompleks Zn(II)-BNBP dan ligan BNBP ditunjukkan pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Spektra Absorpsi UV-Vis Ligan dan Kompleks

Spektrum absorbansi kompleks Zn(II)-BNBP menunjukkan pita absorpsi yang kuat pada daerah UV (230-320 nm). Panjang gelombang maksimum senyawa kompleks adalah 320 nm yang berasal dari transisi intraligan. Selain itu, ion Zn(II) memiliki konfigurasi elektron $3d^{10}$ dimana tidak terdapat jenis transisi d→d atau LMCT karena orbital d yang terisi penuh. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Nagy dkk., 2012). Transisi π→ π* yang ditunjukkan pada daerah 320 nm berasal dari ikatan tidak jenuh (aromatis) pada ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin, sehingga panjang gelombang yang terdapat pada kompleks merupakan pengaruh dari ligan BNBP.

Spektum UV-Vis ligan BNBP menunjukkan adanya pergeseran hipsokromik dari daerah 250 nm ke 260 nm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aromatis pada ligan terabsorpsi pada daerah tersebut. Perbedaan panjang gelombang yang signifikan antara ligan dan kompleks Zn(II)-BNBP yang diperoleh pada uji menggunakan UV-Vis menunjukkan bahwa kompleks Zn(II)-BNBP telah berhasil disintesis. Perbedaan panjang gelombang pada logam, ligan, dan kompleks Zn(II)-BNBP ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Panjang Gelombang Maksimum Logam, Ligan dan Kompleks

Senyawa	Panjang gelombang maks. (nm) (Abs.)
$ZnCl_2$	288 (0,291)
Ligan BNBP	250 (1,252), 260 (1,235), 282 (1,194)
Zn(II)-BNBP	312 (1,082), 320 (1,098)

4.2.3 Analisis Unsur CHN

Analisis unsur CHN bertujuan untuk mengetahui kandungan unsur karbon, hidrogen, dan nitrogen pada senyawa kompleks Zn(II)-BNBP sehingga dapat diprediksikan rumus molekul kompleks. Analisis tersebut menggunakan *elemental analyzer*. Data hasil eksperimen kompleks Zn(II)-BNBP dan prediksi rumus molekul berdasarkan kandungan unsur CHN secara teoritis ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Data Kandungan Unsur C, H dan N pada Kompleks Zn(II)-BNBP Secara Teoritis dan Eksperimen

Rumus Molekul	%C	%N	%H
Sampel	**41,756**	**12,648**	**2,594**
$[Zn(L)(Cl)_2]$	41,960	12,883	2,392
$[Zn(L)(H_2O)_2].Cl_2$	39,353	12,082	2,934
$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)]$	40,543	12,447	2,845
$[Zn(L)(Cl)(H_2O)_2].Cl$	39,285	12,061	3,101
$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)2]$	39,353	12,082	2,934

L = 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Berdasarkan Tabel 4.7 diketahui bahwa prediksi rumus molekul senyawa kompleks yang berhasil disintesis memiliki kandungan unsur karbon, hidrogen, dan nitrogen mendekati perhitungan secara teoritis. Kandungan unsur C, H dan N pada sampel berturut-turut 42,756%, 2,594%dan 12,648%. Nilai tersebut mendekati hasil perhitungan secara teoritis pada unsur C, H dan N yang berturut-turut 41,960%, 2,392% dan 12,883 %. Berdasarkan pada perbandingan tersebut maka rumus molekul senyawa kompleks yang paling mendekati adalah $[Zn(L)(Cl)_2]$. Hasil analisis unsur C, H dan N senyawa kompleks secara teoritis dan eksperimen ditunjukkan pada Lampiran H.

4.2.4 Analisis *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)*

Analisis *Atomic Absorption Spectroscopy* digunakan untuk mengetahui kadar logam Zn dalam senyawa kompleks. Kadar logam Zn yang diperoleh kemudian dianalisis dan disesuaikan dengan hasil analisis *elemental analyzer* sehingga kebenaran rumus molekul kompleks Zn(II)-BNBP dapat diperkuat. Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar Zn yang diukur absorbansinya dengan AAS, kemudian kadar Zn dalam senyawa kompleks diukur berdasarkan persamaan yang diperoleh dari hasil kurva kalibrasi. Gambar dan perhitungan kurva kalibrasi logam Zn ditunjukkan pada Lampiran H.

Berdasarkan data kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier y = 0,0763x + 0,0606. Nilai absorbansi logam Zn dalam sampel dimasukkan sebagai fungsi x sehingga diperoleh konsentrasi unsur Zn dalam sampel sebesar 1,72 mg/L. Data absorbansi Zn dalam larutan sampel disajikan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data Absorbansi Zn dalam Larutan Sampel

Cuplikan	Absorbansi	Konsentrasi Zn (mg/L)
Sampel	1,1910	1,72

Dari hasil kurva kalibrasi (Gambar 4.14) dan data absorbansi kompleks dapat ditentukan persentase logam Zn yang terkandung dalam kompleks. Perhitungan kadar logam Zn ditunjukkan pada Lampiran I. Perbandingan kadar logam Zn secara teoritis dan eksperimen dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Perbandingan Data Teoritis Dan Eksperimen Kandungan Unsur Zn Dalam Senyawa Kompleks

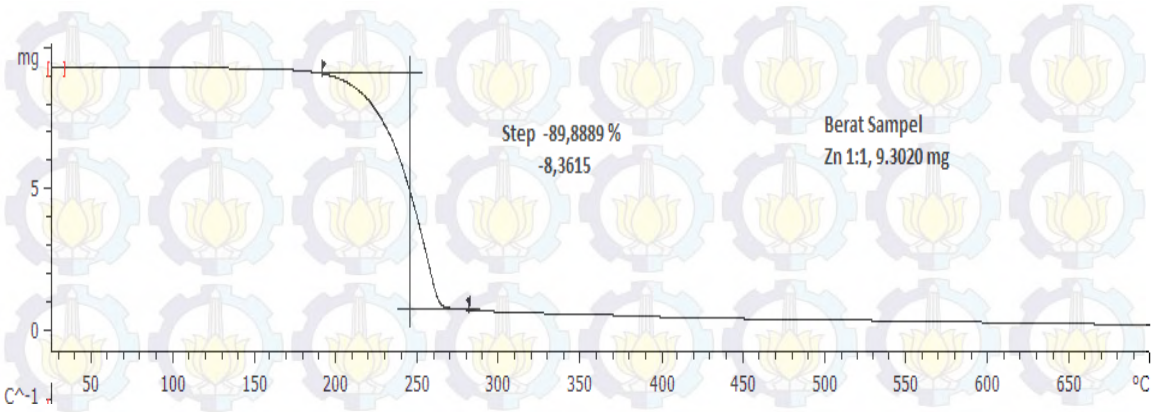
Rumus Molekul	%C	%N	%H	%Zn
Sampel	**41,756**	**12,648**	**2,594**	**12,044**
$[Zn(L)Cl_2]$	41,960	12,883	2,392	12,030
$[Zn(L)(H_2O)_2].Cl_2$	39,353	12,082	2,934	11,282
$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)]$	40,543	12,447	2,845	11,624
$[Zn(L)(Cl)(H_2O)_2].Cl$	39,285	12,061	3,101	11,264
$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)2]$	39,353	12,082	2,934	11,283

L = 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat dilihat bahwa kadar logam Zn dalam senyawa kompleks Zn(II)-BNBP yang mendekati data eksperimen adalah kompleks dengan rumus $[Zn(L)(Cl)_2]$ dengan persen teoritis masing-masing unsur C, N, H, dan Zn adalah 41,960%, 12,883%, 2,392%, dan 12,030%. Data tersebut bersesuaian dengan persentase unsur secara eksperimen yakni masing-masing sebesar 41,764%, 12,6483%, 2,5942%, dan 12,044% untuk masing-masing unsur C, N, H, dan Zn.

4.2.5 Analisis Termogravimetri Kompleks

Analisis TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*) digunakan untuk memperkuat data rumus molekul yang telah diprediksi sebelumnya. Analisis kompleks Zn(II)-2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dilakukan pada suhu 0-700 °C. Massa kompleks yang dinalisis sebesar 9,3020 mg. Grafik penurunan berat pada analisis TGA disajikan dalam Gambar 4.15.



Gambar 4.15 Kurva TGA kompleks Zn(II)-BNBP

Kurva TGA pada Gambar 4.15 menunjukkan terjadinya satu tahap penurunan berat. Hal ini dapat diketahui bahwa pada kompleks Zn(II)-BNBP yang berhasil disintesis tidak memiliki komponen air kristal (Tyagi dkk., 2014). Data TGA yang diperoleh menunjukkan kesesuaian hasil dengan prediksi rumus molekul kompleks yakni $[Zn(L)(Cl)_2]$. Hasil perhitungan % berat eksperimen dan teoritis uji TGA ditunjukkan pada Tabel 4.10.

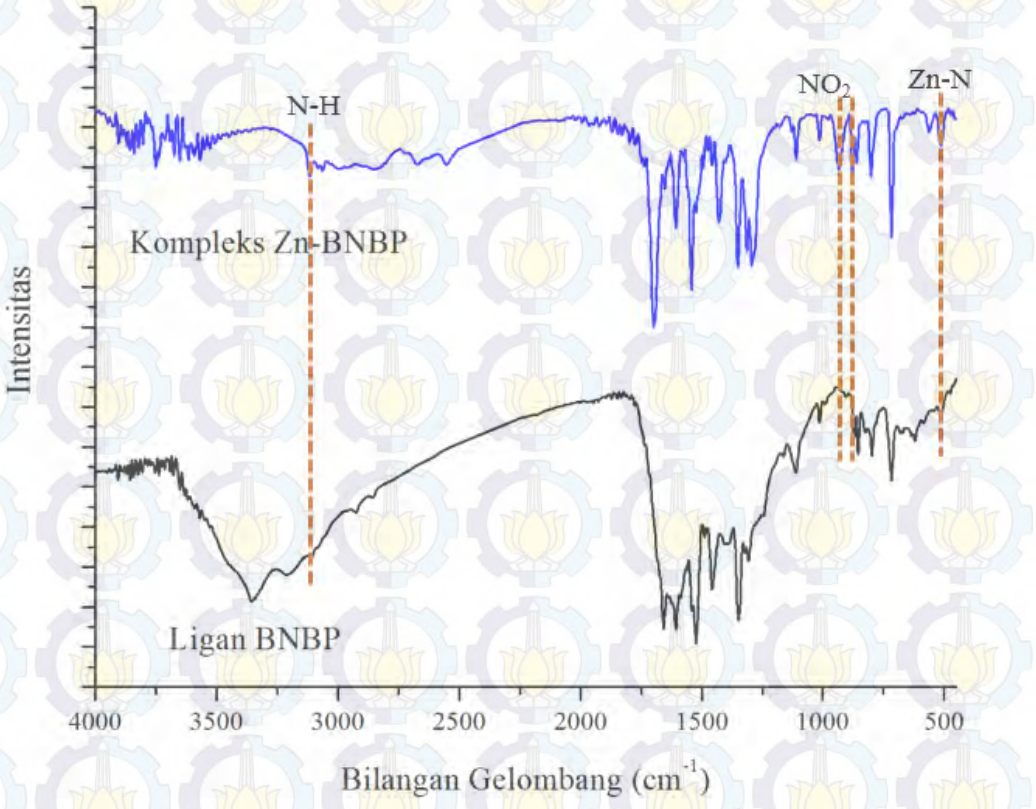
Tabel 4.10 Data Hasil Analisis TGA Secara Teoritis dan Eksperimen

Temperatur dekomposisi (°C)	% berat eksperimen	Spesi	% berat teoritis
0	100	$[Zn(C_{19}H_{13}N_5O_6)_2(Cl)_2]$	100
233,92-277,47	89,89	$[(C_{19}H_{13}N_5O_6)_2(Cl)_2]$	87,97

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa tahap kehilangan berat senyawa kompleks Zn(II)-BNBP sebesar 89,89 % yang merupakan kehilangan keseluruhan molekul kompleks kecuali satu atom Zn yang menjadi residu sebesar 10,11 %. Data ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa Zn menjadi residu sebesar 16,8% pada kompleks $[Zn(5,6\text{-diamino-4-hidroksi-2-merkapto-pirimidin})_2Cl_2].2H_2O$ (El-Morsy dkk., 2014). Data ini juga sesuai dengan penelitian yang menyebutkan bahwa logam Zn atau oksida logam ZnO menjadi residu pada uji TGA (Tyagi dkk., 2014).

4.2.6 Karakterisasi Senyawa Kompleks dengan FTIR

Hasil FTIR senyawa kompleks ditunjukkan pada Gambar 4.16 yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan bilangan gelombang pada ligan dan kompleks. Pita serapan karakteristik *wagging* *v*(N-H) pada ligan yang muncul pada daerah 715,61 cm^{-1} bergeser ke daerah bilangan gelombang 717,54 cm^{-1} pada kompleks. Pergeseran bilangan gelombang tersebut menunjukkan adanya ikatan antara atom nitrogen dari gugus amida dengan ion logam Zn(II). Data tersebut didukung dengan munculnya puncak baru pada daerah bilangan gelombang 445,57 cm^{-1} yang menunjukkan munculnya ikatan *v*(M-N) pada kompleks. Data ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan ikatan v(M-N) muncul pada bilangan gelombang 488-498 cm^{-1} (Tyagi dkk., 2014). Selain itu, *stretching* C=N piridin yang muncul pada pita serapan 1604,83 cm^{-1} pada ligan tidak berubah pada kompleks. Hal tersebut semakin memperkuat posisi ikatan yang terjadi pada kompleks Zn(II)-BNBP. Ikatan pada senyawa kompleks terjadi antara atom nitrogen pada gugus amida dengan ion logam Zn(II).



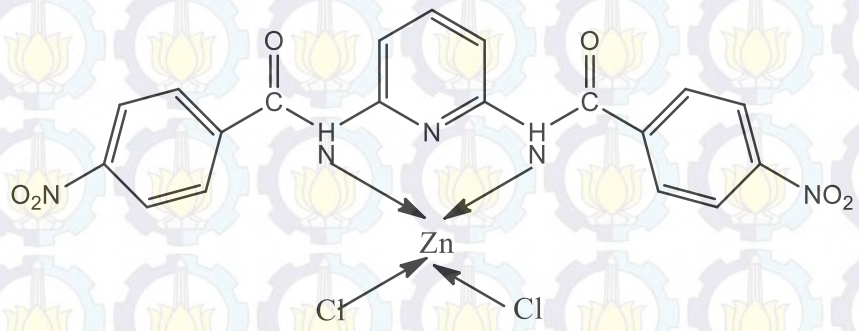
Gambar 4.16 Spektra FTIR Ligan dan Kompleks

Gugus NO_2 asimetrik dan simetris pada senyawa kompleks Zn(II)-BNBP juga mengalami pergeseran ke bilangan gelombang yang lebih besar dibandingkan dengan ligan BNBP. Hal ini dikarenakan terjadinya ikatan antara atom N pada amida dengan ion logam Zn(II). Ikatan yang terjadi pada pembentukan kompleks menyebabkan ikatan antar atom yang lain seperti N-O dan N-H menjadi semakin kuat. Sehingga dapat dipastikan jarak antar atom tersebut menjadi semakin dekat, hal tersebut terjadi akibat tarikan elektron ke arah ion logam Zn(II) semakin besar. Beberapa perubahan bilangan gelombang antara ligan BNBP dan kompleks Zn(II)-BNBP ditunjukkan pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Perbedaan Bilangan Gelombang FTIR Ligan dan Kompleks

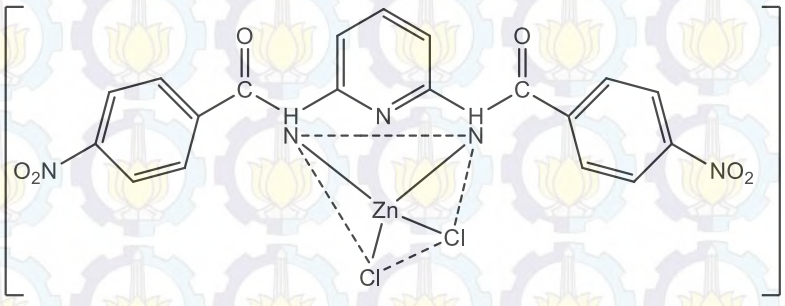
Gugus Fungsi	FTIR (KBr, cm^{-1}) Ligan	FTIR (KBr, cm^{-1}) Kompleks
Stretching C=O	1656,91	1651,12
Stretching C=N piridin	1604,83	1604,83
NO_2 asimetris	1523,82	1541,18
NO_2 simetris	1348,29	1350,22
wagging NH	715,61	717,54
V(M-N)	-	445,57

Berdasarkan hasil analisis UV-Vis, AAS, TGA, CHN *Analyzer*, dan FTIR maka ikatan yang diusulkan pada pembentukan kompleks Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin terjadi melalui atom nitrogen pada gugus amida dari ligan BNBP dan ion logam Zn(II). Hal ini semakin diperkuat dengan tidak munculnya *stretching* N-H ligan pada bilangan gelombang 3354,32 cm^{-1}, namun masih terdapat *wagging* N-H pada bilangan gelombang 716,61 cm^{-1} dalam *range* daerah sidik jari. Ikatan yang terjadi antara ligan dan kompleks melalui atom N pada gugus amida yang memiliki pasangan elektron bebas yang dapat didonorkan ke ion logam Zn(II). Sedangkan pada gugus karbonil C=O dan C=N piridin tidak mengalami perubahan sehingga ikatan tersebut tidak terjadi melalui atom O dan N dari gugus tersebut. Usulan posisi pengikatan yang terjadi pada kompleks disajikan pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17 Ikatan yang Diusulkan pada Senyawa Kompleks Zn(II)-BNBP

Bentuk geometri yang paling mendekati berdasarkan rumus molekul senyawa kompleks dari data AAS, TGA, UV-Vis, CHN-*analyzer*, dan FTIR adalah $[Zn(L)Cl_2]$ dengan geometri tetrahedral (Gambar. 4.18). Hal ini dikarenakan atom pusat yakni Zn(II) dikelilingi oleh 4 ligan yakni 2 ligan N dari benzamida dan 2 ligan Cl yang berasal dari prekusor $ZnCl_2$. Donor pasangan elektron bebas dari ligan tersebut membentuk hibridisasi sp^3 sehingga bentuk geometri molekul yang mendekati adalah tetrahedral. Usulan ini bersesuaian dengan penelitian sebelumnya yang berhasil mensintesis kompleks Zn(II) dengan ligan berbasis benzamida. Senyawa kompleks yang berhasil disintesis menunjukkan ikatan antara ion logam Zn(II) dengan atom O dan N dari ligan. Rumus molekul yang dihasilkan pada kompleks tersebut adalah $[Zn(L)(Cl)_2]$ dan $[Zn(L)(OAc)_2]$, pelarut yang digunakan ikut menjadi ligan dan terikat dalam struktur molekul senyawa kompleks (Tyagi dkk., 2014).



Gambar 4.18 Bentuk Geometri Molekul yang Diusulkan pada Kompleks $[Zn(L)Cl_2]$

4.3 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethaliy Test (BSLT)*

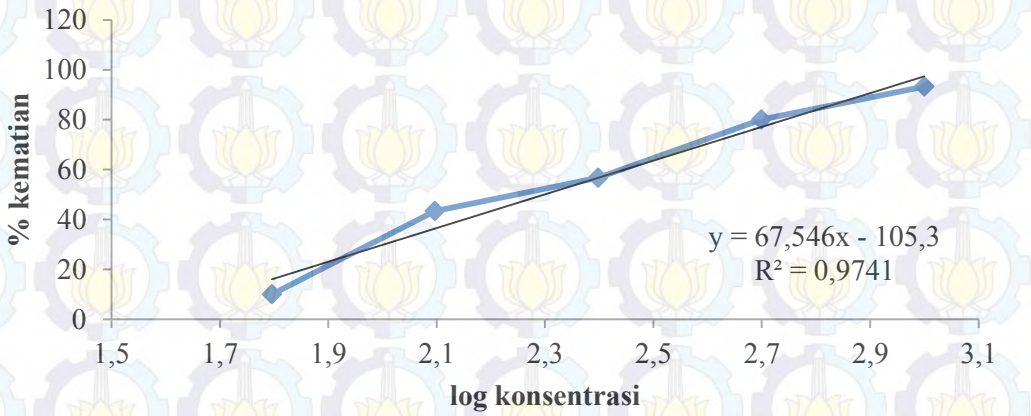
Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode awal yang sering digunakan untuk uji toksisitas senyawa kompleks yang telah disintesis. Uji tersebut menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Pada uji BSLT dihasilkan nilai LC_{50} senyawa kompleks dalam µg/ml, nilai tersebut menunjukkan sifat toksisitas senyawa uji. Nilai toksisitas diperoleh dari jumlah larva udang yang mati pada masing-masing konsentrasi larutan uji (Meyer dkk., 1982). Larutan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin dan kompleks Zn(II)-BNBP. Konsentrasi larutan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 62,5, 125, 250, 500, dan 1000 ppm dengan replikasi sebanyak 3 kali. Pada uji BSLT digunakan larutan kontrol yang terdiri atas 3 lubang *micro well plate* yang masing-masing lubang berisi 10-11 ekor anak udang (nauplii), pada larutan kontrol hanya diisi air laut tanpa larutan uji. Hasil uji toksisitas kedua senyawa tersebut disajikan dalam Tabel 4.12.

Tabel 4.12 Data Hasil Uji Metode BSLT Ligan dan Kompleks

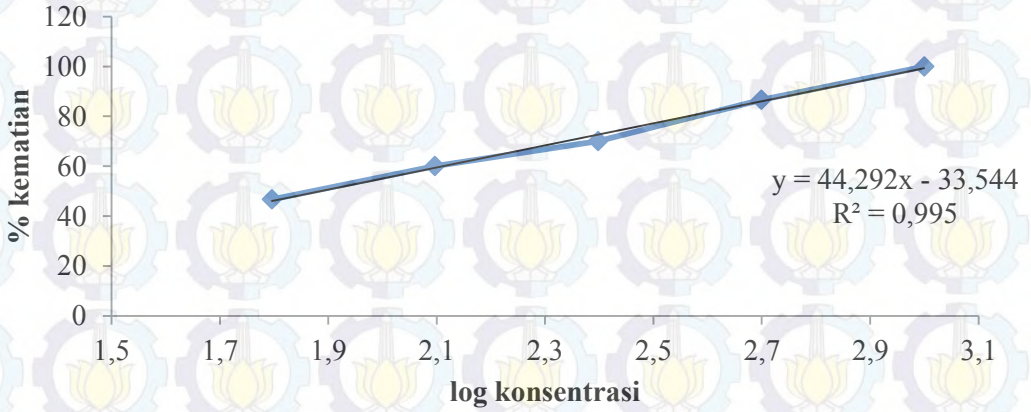
Konsentrasi (ppm)	Log [ ]	Rata-rata larva mati		% Kematian	
		Ligan	Kompleks	Ligan	Kompleks
0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00
62,5	1,8	1,00	4,67	10,00	46,67
125	2,1	4,33	6,00	43,33	60,00
250	2,4	5,67	7,00	56,67	70,00
500	2,7	8,00	8,67	80,00	86,67
1000	3,0	9,33	10,00	93,33	100,00

Berdasarkan Tabel 4.12 maka dapat diketahui bahwa % kematian nauplii semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi larutan uji. Pada larutan kontrol (tanpa senyawa uji) nauplii tidak mengalami kematian, namun pergerakan nauplii semakin melambat (tidak aktif) dikarenakan pada lubang *micro well plate* tidak terdapat oksigen baru seperti pada habitat pertumbuhan awal yang menggunakan *aerator* sebagai bantuan untuk mendapatkan oksigen terlarut. Jika hal ini berlanjut nauplii dalam senyawa kontrol akan mengalami kematian secara alami setelah 24 jam. Data yang dihasilkan kemudian di plot antara log

konsentrasi pada sumbu x dan % mortalitas pada sumbu y. Grafik hasil ploting tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.19 dan Gambar 4.20.



Gambar 4.19 Grafik *Brine Shrimp Lethality Test* Ligan BNBP



Gambar 4.20 Grafik *Brine Shrimp Lethality Tes* Kompleks Zn(II)-BNBP

Berdasarkan data tersebut dapat diamati bahwa semakin besar konsentrasi senyawa uji, maka larva *Artemia salina* yang mati semakin banyak. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya (R. Rani dkk., 2013) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka toksisitas senyawa juga meningkat. Hasil uji metode *Brine Shrimp Lethality Test* yang didapatkan pada Tabel 4.11, Gambar 4.19 dan Gambar 4.20 kemudian dihitung berdasarkan nilai regresi liniernya sehingga didapatkan nilai LC_{50}. Perhitungan nilai LC_{50} ditunjukkan pada Lampiran K. Nilai LC_{50} untuk ligan BNBP dan kompleks

Zn(II)-BNBP masing-masing sebesar 200,27 µg/ml dan 76,95 µg/ml. Suatu senyawa menunjukkan aktivitas toksisitas dalam uji BSLT jika terbukti menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 µg/ml (Meyer dkk., 1982), sedangkan untuk senyawa hasil ekstrak nilai LC_{50} < 200 µg/ml dan senyawa murni nilai LC_{50} < 5 µg/ml menunjukkan bahwa senyawa tersebut sangat toksik (Tawaha, 2006). Perbandingan nilai LC_{50} ligan BNBP dan kompleks Zn(II)-BNBP disajikan pada Tabel 4.13.

Tabel 4.13 Nilai R^2 dan LC_{50} pada Sampel Uji

Sampel Uji	Persamaan regresi	R^2	LC_{50} (µg/ml)
L	y = 67,546x – 105,3	0,9741	200,27
$[Zn(L)(Cl)_2]$	y = 44,292x – 33,544	0,995	76,95

L= 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Berdasarkan nilai LC_{50} yang didapatkan dari kedua senyawa uji maka nilai yang diperoleh untuk kompleks logam dan ligan lebih baik daripada ligan bebas. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kompleks Zn(II)-BNBP menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih baik daripada ligan bebas (El-Morsy dkk., 2014; Dhahagani dkk., 2014). Kematian nauplii pada larutan kompleks $[Zn(L)(Cl)_2]$ dimungkinkan karena adanya ligan Cl^-. Ligan Cl^- memiliki karakter ke-elektronegatifan yang tinggi sehingga ketika bertindak sebagai ligan maka sulit untuk mendonorkan pasangan elektron bebasnya kepada atom pusat sehingga mudah tersubtitusi oleh kehadiran ligan lain. Ligan Cl^- kemungkinan besar telah tersubtitusi oleh atom N pada protein integral membran sel *Artemia salina*, sehingga menyebabkan senyawa kompleks memiliki toksisitas yang lebih tinggi daripada ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yang tidak memiliki atom Cl dalam strukturnya.

BAB 5
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kompleks ion logam Zn(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin berhasil disintesis dengan perbandingan mol logam dan ligan 1:1. Rumus molekul kompleks yang terbentuk yaitu [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)Cl_2]. Rumus molekul kompleks diperoleh berdasarkan perhitungan dari hasil karakterisasi dan analisis CHN *analyzer*, *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS), *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA), dan karakterisasi dengan spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Uji toksisitas pada senyawa kompleks dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* dan diperoleh nilai LC_{50} sebesar 76,95 µg/ml. Nilai LC_{50} senyawa kompleks tersebut lebih baik baik (lebih toksik) dibandingkan dengan nilai LC_{50} yang dihasilkan pada ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin yakni sebesar 200,27 µg/ml. Nilai LC_{50} yang diperoleh < 200 µg/ml sehingga senyawa kompleks Zn(II)-BNBP termasuk dalam kategori senyawa sangat toksik.

5.2 Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan sel kanker agar diperoleh data yang lebih spesisik mengenai sitotoksisitas senyawa kompleks Zn(II)-BNBP dan ligan BNBP yang berhasil disintesis.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Barone, G., Terenzia A., Lauria A., Almerico A. M., Leal J. M., Busto N., García B., (2013), "DNA-binding of nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes: Structure–affinity relationships", *Elsevier, Coordination Chemistry Reviews.*

Bhattacharyya, S., Sarkar A., Dey S. K., Mukherjee A., (2014), "Effect of glucosamine conjugation to zinc(II) complexes of a bis-pyrazole ligand: Syntheses, characterization and anticancer activity", *Elsevier*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 140, hal.131-142.

Breitmaier, E., (2002), *Structur Elucidation By NMR In Organic Chemistry: A Practical Guide Third revised edition*, John Wiley & sons, Ltd., England.

Chiniforoshan, H., Zahra S.R., Leila T., Hossein T., Mohammad R.S., Gholamhossein M., Helmar G., Winfried P., (2014), "Pyrazinamide drug interacting with Co(III) and Zn(II) metal ions based on 2,20-bipyridine and 1,10-phenanthroline ligands: Synthesis, studies and crystal structure, DFT calculations and antibacterial assays", *ELSEVIER, Journal of Molecular Structure*. 1081, 237-243.

Copper, R., (2010), "Zinc rivals platinum in the fight against cancer", *Highlights in Chemical Biology, Royal Society of Chemistry*.

Colak. A.T., Pinar O.V, Ferdag C., Demet A., Selda, K. Ruhi U., (2013), "Syntheses, characterization, antimicrobial and cytotoxic activities of pyridine-2,5-dicarboxylate complexes with 1,10-phenanthroline", *Journal of Trace Element in Medicine and Biology, Elsevier.* 27, hal. 295-301.

Cotton dan Wilkinson, (1989), *Kimia Anorganik Dasar*, Terjemahan Sahati Suharjo, UI Press, Jakarta.

Day, R.A. and Underwood, A.L., (1983), *Analisis Kimia Kuantitatif*, Terjemahan Soendoro, Erlangga, Jakarta.

Dokmanovic, M., Marks, P.A, (2005), "Prospects: Histone Deacetylase Inhibitors", *Journal of Cellular Biochemistry,* Vol. 96, hal. 293-304.

Dhahagani, K., Kumar S. M., Chakkaravarthi G., Anitha K., Rajesh J., Ramu A., Rajagopal G., (2014), ”Synthesis and spectral characterization of Schiff base complexes of Cu(II), Co(II), Zn(II) and VO(IV) containing 4-(4-aminophenyl) morpholine derivatives: Antimicrobial evaluation and anticancer studies”, *Elsevier, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 117, hal. 87–94.

El-Morsy, F. A., Jean-Claude B. J., Butler I. S., El-Sayed S. A., Mostafa S. I., (2014), “Synthesis, characterization and anticancer activity of new zinc(II), molybdate(II), palladium(II), silver(I), rhodium(III), ruthenium(II) and platinum(II) complexes of 5,6-diamino-4-hydroxy-2-mercaptopyrimidine”, *Elsevier, Inorganica Chimica Acta.*

Fessenden R. J. dan Fessenden J. S., (1986). *Kimia Organik, Edisi Ketiga,* (Terjemahan Oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, PhD), Penerbit Erlangga: Jakarta

Fikriah, I. dan Lestari P., (2011), “Acute Toxicity Test of Bark and Stem Ethanol Extract of Sopang (Caesalpinia Sappan Linn) by Brine Shrimp Lethality Test”, *Folia Medica Indonesiana*, Vol. 47 No. 1 January-March, hal. 58-63.

Gao, En-jun, Sun T., Liu S., Ma S., Wen Z., Wang Y., Zhu M., Wang L., Gao X., Guan F., Guo M., Liu F., (2010), “Synthesis, characterization, interaction with DNA and cytotoxicity in vitro of novel pyridine complexes with Zn(II)”, *Elsevier, European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 45, hal. 4531-4538.

Gong. D. Xiaoyu J., Baolin W., Xuequan Z., Liansheng J., (2012), “Synthesis, characterization, and butadiene polymerization of iron(III), iron(II) and cobalt(II) chlorides bearing 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridyl or 2,6-bis(pyrazol)pyridine ligand”, *ELSEVIER: Journal of Organometallic Chemistry,* 702, hal. 10-18.

Harborne, J. B., (1987), *Metode Fitokimia, Jilid II*. Peneliti ITB: Bandung

Helal. M.H, S.A. El-Awdan, M.A. Salem, T.A. Abd-elaziz, Y.A. Mohamed, A.A. El-Sherif, G.A.M. Mohamed., (2015), “Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of novel series of pyridine derivatives as anticancer, anti-inflammatory and analgesic agents”, *ELSEVIER: Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,* 135, hal. 764-773.

Liguori, P. F., Valentini A., Palma M., Bellusci A., Bernardini S., Ghedini M., Panno M. L., Pettinari C., Marchetti F., Crispini A., Pucci D., (2010), "Non-classical anticancer agent: synthesis and heteroleptic and biological evaluation of zinc(II) complexes", *The Royal Society of Chemistry, Dalton Trans*, hal. 4205–4212.

Linder, M.C., (1992), "Biokimia Nutrisi dan Metabolisme", Parakkasi A., *Terjmahan dari*: "Nutritional Biochemistry and Metabolism". Penerbit Universitas indonesia, Jakarta.

Lippard, S. J, Ivano B., Harry B. G., Joan S. V., (1994), "*Bioinorganic Chemistry*", University Science Books Mill Valley, California.

Lisdawati, V., Sumarli, Wiryowidagdo, L., Kardono B. S., (2006), "Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota", *Bul Penel. Kesehatan,* Vol. 34, No. 3, hal. 111-118.

Martinez-Bulit, P., Garza-Ortíz A., Mijangos E., Barrón-Sosa L., Sánchez-Bartéz F., Gracia-Mora I., Flores-Parra A., Contreras R., Reedijk J., Barba-Behrens N., (2014), "2,6-Bis(2,6-diethylphenyliminomethyl)pyridine coordination compounds with cobalt(II), nickel(II), copper(II), and zinc(II): synthesis, spectroscopic characterization, X-ray study and in vitro cytotoxicity", *Elsevier, Journal of Inorganic Biochemistry,* Vol 142, hal. 1-7.

McKeage, M.J., Higgin J.D., Kelland L.R., (1991), "Platinum and othe metal coordination compounds in cancer chemotherapy", *A commentary on the sixth international symposium*, San Diego, California, 23-26th Januari.

Mehdipour-Atei, S., dan Taremi, F., (2011), "Preparation and Properties of Novel Thermally Stable Pyridine-Based Poly(amide imide amide)s", *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 121, hal. 299-308.

Meng, X., Leyva, M.L., Jenny, M., Gross, I., Benosman, S., Fricker, B., Harlepp, S., He´braud, P., Boos, A., Wlosik, P., Bischoff, P., Sirlin, C., Pfeffer, M., Loeffler, J., Gaiddon, C., (2009), "A Ruthenium-Containing Organometallic Compound Reduces Tumor Growth through Induction of the Endoplasmic Reticulum Stress Gene CHOP", *Cancer Research*, Vol.69 , No.13, (July 2009), 5458-5466, 1538-7445.

Meyer, B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L. B., Nichols D. E., McLaughlin J. L., (1982), "Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents", *Journal of Medical Plant Research Plan Medica* Vol. 45, hal. 31-34.

Mudasir, Wijaya K., dan Wahyuni E. T., (2004), "Interaction of Iron(II) Mixed-Ligand Complexes With DNA: Base-Pair Specificity and Thermal denaturation Studies", *Indonesian Journal of Chemistry*, 4(3), 174-179.

Mudasir, (2009), "Memahami Interaksi Senyawa Kompleks dengan DNA: Langkah Maju Mencari Senyawa Kandidat Antikanker", *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Ilmu Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada*, Yogyakarta.

M. Stefanidou, Maravelias C., Dona A., Spiliopoulou C. (2005). *Zinc: A Multipurpose trace element. Toxicol.* 80. 1-9.

Nagy, Marta E., Sitran S., Montopoli M., Favaro M., Marchio L., Caparotta L., Fregona D., (2012), "Zinc(II) complexes with dithiocarbamato derivatives: Structural characterisation and biological assays on cancerous cell lines", *Elsevier, Journal of Inorganic Biochemistry,* 177, hal. 131-139.

Palanimuthu, D. dan Samuelson A. G., (2013), "Dinuclear zinc bis(thiosemicarbazone) complexes: Synthesis, in vitro anticancer activity, cellular uptake and DNA interaction study", *Elsevier, Inorganic Chimica Acta*, 408, hal. 152-161.

Pucci, Daniela., Bellini T., Crispini A., D'Agnano I., Liguori P. F., Garcia-Ordu~na P., Pirillo S., Valentini A., Zanchetta G., (2012), "DNA binding and cytotoxicity of fluorescent curcumin-based Zn(II) complexes", *Concise Article. Med. Chem. Commun.,* 3, 462.

Rathi P. dan Singh D.P., (2014), "Antimicrobial and Antioxidant activity of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with 15-thia-3,4,9,10-tetraazabicyclo[10.2.1] pentadeca-1(14),2,10,12-tetraene-5,8-dione", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomoleculae Spectroscopy.*

Ronconi, L. dan Sadler P. J., (2007), "Using coordination chemistry to design new medicines", Review, *ScienceDirect, Coordination Chemistry*, 251, hal. 1633-1648.

Rossiana, N., (2006), "Uji Toksisitas Limbah Cair Tahu Sumedang Terhadap Reproduksi Daphnia carinata King", *Laporan Penelitian*, Universitas Padjajaran, Bandung.

R., Rani A., Ervia Y., Sri S., (2013), "Uji toksisitas ekstrak pigmen kasar mikroalga *Spirullina platensus* dengan metode uji BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)*", *Journal of Marine Research,* Volume 2, Nomor 1, hal 25-31

Shakir, M., Summaiya H., Mohd. A. S., Owais M. Saud I. A., (2015), "Pharmacologically significant complexes of Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) of novel Schiff base ligand, (E)-N-(furan-2-yl methylene)quinolin-8-amine: Synthesis, spectral, XRD, SEM, antimicrobial, antioxidant and *in vitro* cytotoxic studies", *ELSEVIER: Journal of Molecular Structure,* 1092, hal 143-159

Shriver dan Atkins, (2010), *Inorganic Chemistry, Fifith Edition*, Oxford University Press, New York.

Sibilia, P., (1996), *Guide to Material Characteriztion and Chemical Analysis*, *2nd Edition*, John Willey-VCH, New-York.

Skoog, D. A., West D. M., Holler F. J., Crouch S. R., (2000), *Fundamentals of Analytical Chemistry,* Brooks Cole Publisher.

Stewart, B. W., dan Wild C. P., (2014), Edited, *Word Cancer Report 2014 Online*, New Publication.

Stuart, B., (2004), *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications (Analitycal Techniques in Sciences)*, John Wiley&Sons, Ltd., England.

Sujadi, M.S., (1983), *Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Ghalia Indonesia, Bandung.

Taremi, F., Mehdipour-Ataei S., Mahmoudi A., (2010), "Synthesis and Properties of New Heat-resistant Pyridine-based Polyimides Containing Preformed Amide Units", *Iranian Polymer Journal,* Vol. 19 (11), hal. 875-883.

Tawaha, Khaled A., (2006), "Cytotoxicity Evaluation od Jordanian Wild Plants using Brine Shrimp Lethality Test", J.J. Appl. Sci., Vol. 8 No. 1, hak 12-17

Tyagi, P., Chandra S., Saraswat B.S., (2014), "Ni(II) and Zn(II) complexes of 2-((thiophen-2-ylmethylene)amino)benzamide: Synthesis, spectroscopic characterization, thermal, DFT and anticancer activities", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Elsevier*, Vol. 134, hal. 200–209.

Wang, J., Shuai L., Xiao X., Zeng Y., Li Z., Matsumura-Inoue T., (2005), "Synthesis, characterization and DNA binding studies of a zinc complex with 2,6-bis(benzimidazol-2-yl) pyridine", *Elsevier, Short Comunication, Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 99, hal. 883–885.

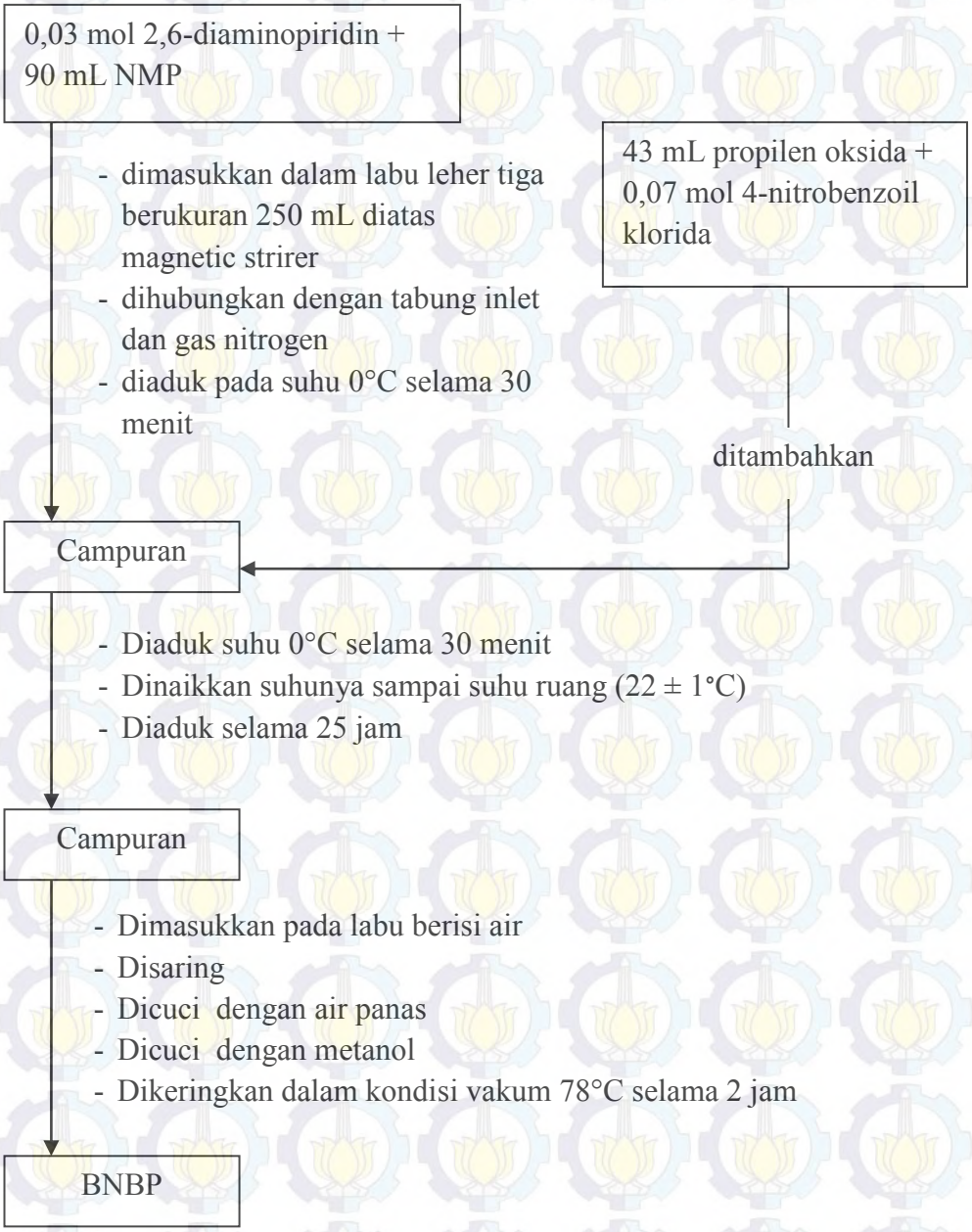
Wu, Hui-Lu, Yuan Jing-Kun, Huang Xing-Cai, Kou F., Liu B., Jia F., Wang Kai-Tong, Bai Y., (2012), "Two zinc(II) and cadmium(II) complexes based on the V-shaped ligand 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridine: Synthesis, crystal structure, DNA-binding properties and antioxidant activities", *Elsevier, Inorganica Chimica Acta*.

Zhang, Qing-Wei, dan Li Jian-Qi, (2012), "Synthesis and Biological Evaluation of N-(Aminopyridine) Benzamide Analogues as Histone Deacetylase Inhibitors", *Bull. Korean Chem. Soc.,* Vol. 33, No. 2.

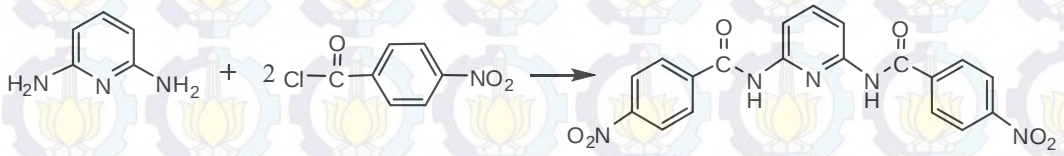
Zhao, G., Lin, H., (2005), "Metal complexes with aromatic N-containing ligands as potential agents in cancer treatment", *Current Medicinal Chemistry-Anticancer Agents,* Vol.5, No.2, hal. 137-147, 1568-0118

LAMPIRAN A
PROSEDUR SINTESIS LIGAN

A.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin



A.2 Perhitungan Rendemen Ligan

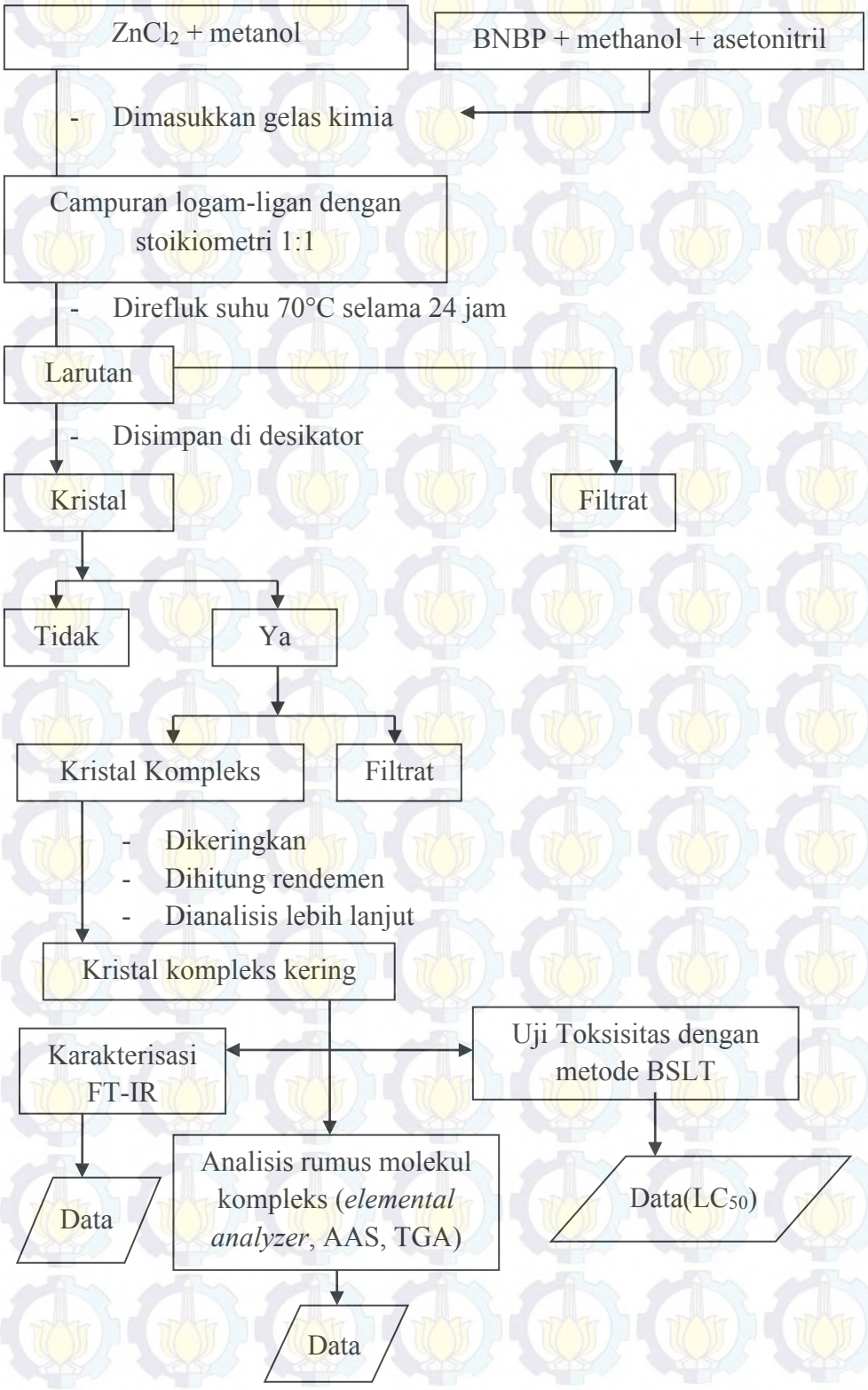


0,015 mol	0,030 mol	—	
0,015mol	0,030 mol	0,015 mol	—
—	—	0,015 mol	

- Mol ligan teoritis = 0,015 mol
- Massa molekul relatif ligan = 407,33642 g/mol
  Sehingga massa ligan secara teoritis = 0,015 mol x 407,33642 gram/mol
  = 6,11 gram
- Massa ligan hasil sintesis = 5,166 gram
- % rendemen = $\frac{\text{massa ligan hasil sintesis}}{\text{massa ligan teoritis}}$ x 100%
  = $\frac{5{,}166 \text{ gram}}{6{,}11 \text{ gram}}$ x 100%
  = 84,54 %

LAMPIRAN B
PROSEDUR SINTESIS KOMPLEKS

B.1 Sintesis Kompleks Zn(II) dengan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

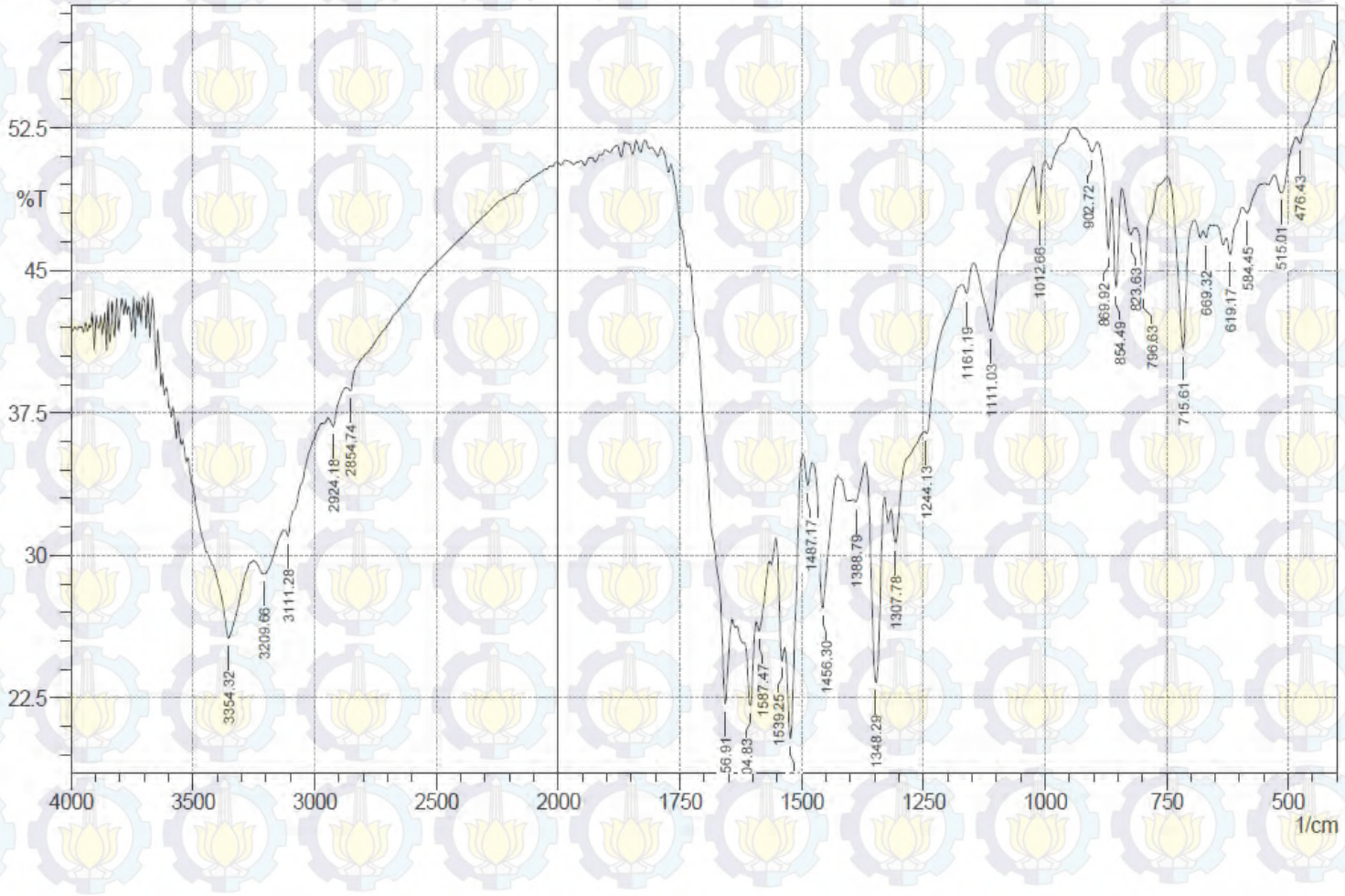


B.2 Perhitungan Rendemen Kompleks

$ZnCl_2$	+	$C_{19}H_{13}N_5O_6$	⟶	kompleks
0,250 mmol		0,250 mmol		
0,250 mmol		0,250 mmol		0,250 mmol
—		—		0,250 mmol

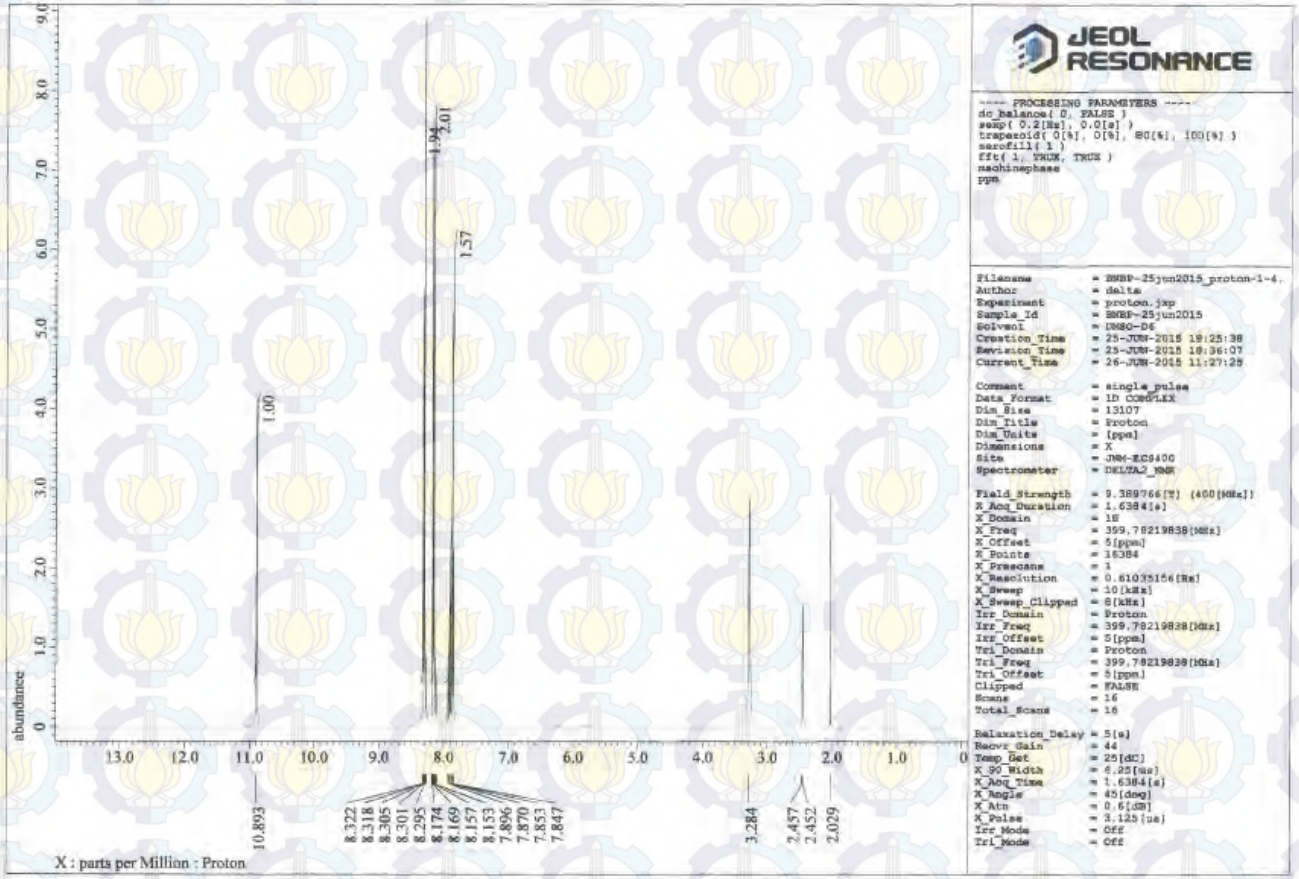
- Mol kompleks teoritis = 0,25 mmol
- Massa molekul relatif ligan = 541,370 gram/mol
- Sehingga massa ligan secara teoritis = 0,250 mol x 541,370 gram/mol
  = 135,34 mg
  = 0,135 gram
- Massa ligan hasil sintesis = 0,0846 gram
- % rendemen = $\frac{\text{massa ligan hasil sintesis}}{\text{massa ligan teoritis}}$ x 100%
  = $\frac{0{,}0846 \text{ gram}}{0{,}135 \text{ gram}}$ x 100%
  = 62,67 %

LAMPIRAN C
SPEKTRUM FTIR LIGAN BNBP



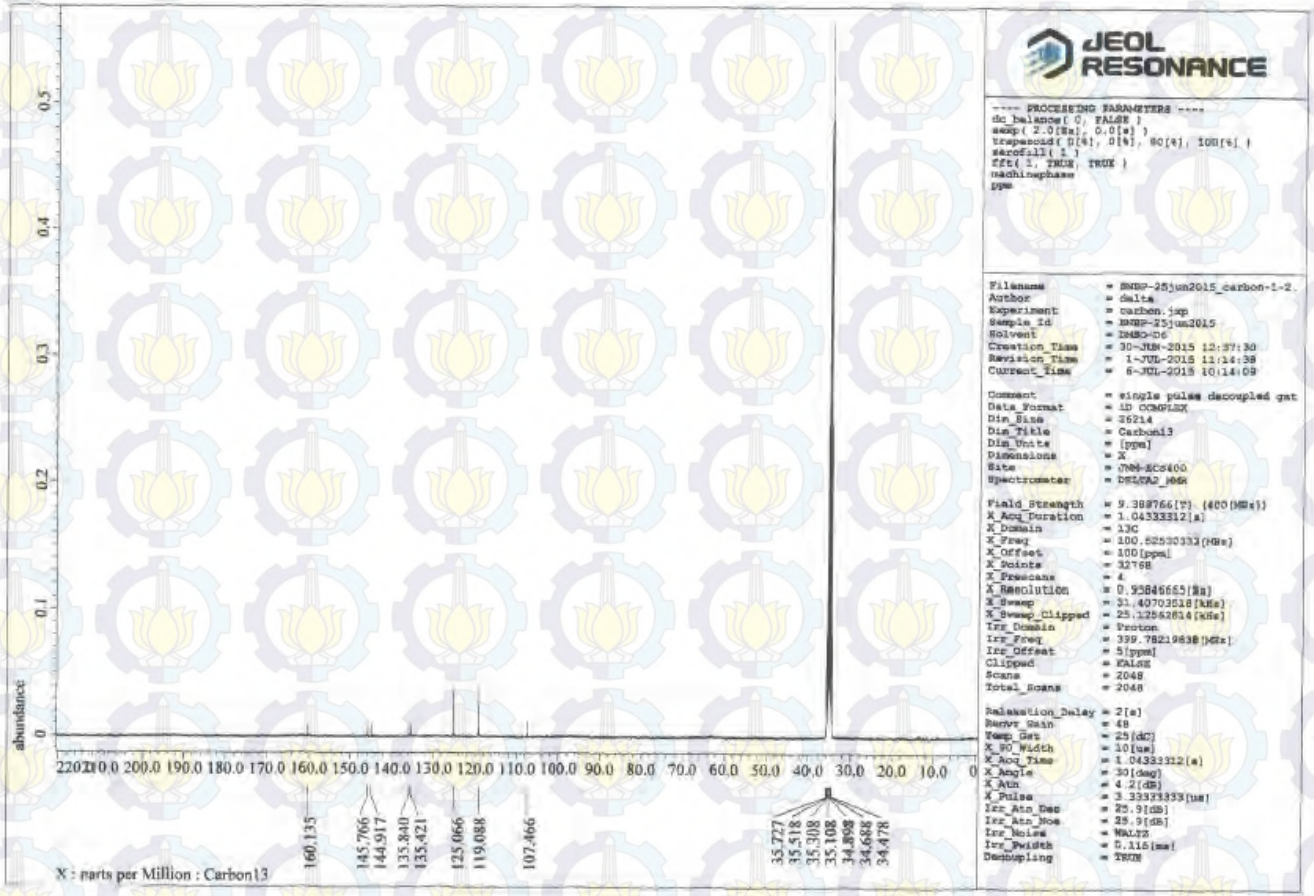
No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	476.43	51.681	0.824	484.15	406.99	20.695	0.346
2	515.01	49.059	1.557	528.51	484.15	13.255	0.28
3	584.45	47.991	0.592	594.1	547.8	14.399	0.036
4	619.17	45.81	1.265	626.89	594.1	10.724	0.122
5	669.32	46.715	0.49	675.11	661.61	4.428	0.029
6	715.61	40.884	7.666	748.41	692.47	18.887	1.425
7	796.63	43.874	4.067	813.99	748.41	21.058	0.476
8	823.63	46.896	1.036	842.92	813.99	9.291	0.138
9	854.49	44.071	4.942	862.21	842.92	6.387	0.422
10	869.92	46.073	3.471	893.07	862.21	9.479	0.257
11	902.72	51.238	0.656	941.29	893.07	13.741	0.093
12	1012.66	47.991	2.595	1024.24	999.16	7.648	0.229
13	1111.03	41.79	5.089	1147.68	1024.24	41.455	1.936
14	1161.19	43.77	0.938	1170.83	1147.68	8.167	0.095
15	1244.13	36.43	0.475	1247.99	1170.83	29.733	-0.808
16	1307.78	30.65	2.224	1315.5	1247.99	31.346	0.058
17	1348.29	23.317	10.538	1367.58	1330.93	20.185	2.941
18	1388.79	32.822	0.568	1394.58	1369.5	11.888	0.106
19	1456.3	27.258	7.301	1477.52	1427.37	25.356	2.169
20	1487.17	33.644	1.422	1496.81	1479.45	8.044	0.148
21	1523.82	20.385	7.343	1533.46	1496.81	21.022	1.949
22	1539.25	24.447	1.988	1552.75	1535.39	9.993	0.299
23	1587.47	26.015	1.192	1593.25	1566.25	15.17	0.269
24	1604.83	22.088	3.816	1616.4	1595.18	13.162	0.713
25	1656.91	22.172	7.413	1728.28	1643.41	42.031	2.812
26	2854.74	38.645	0.435	2872.1	2183.49	241.842	-6.194
27	2924.18	36.808	0.879	2945.4	2872.1	30.997	0.209
28	3111.28	31.016	0.741	3122.86	2970.48	71.227	-0.125
29	3209.66	29.03	1.207	3250.16	3122.86	66.746	1.159
30	3354.32	25.645	4.335	3443.05	3252.09	105.352	5.395

LAMPIRAN D
SPEKTRUM ^{1}H-NMR LIGAN BNBP

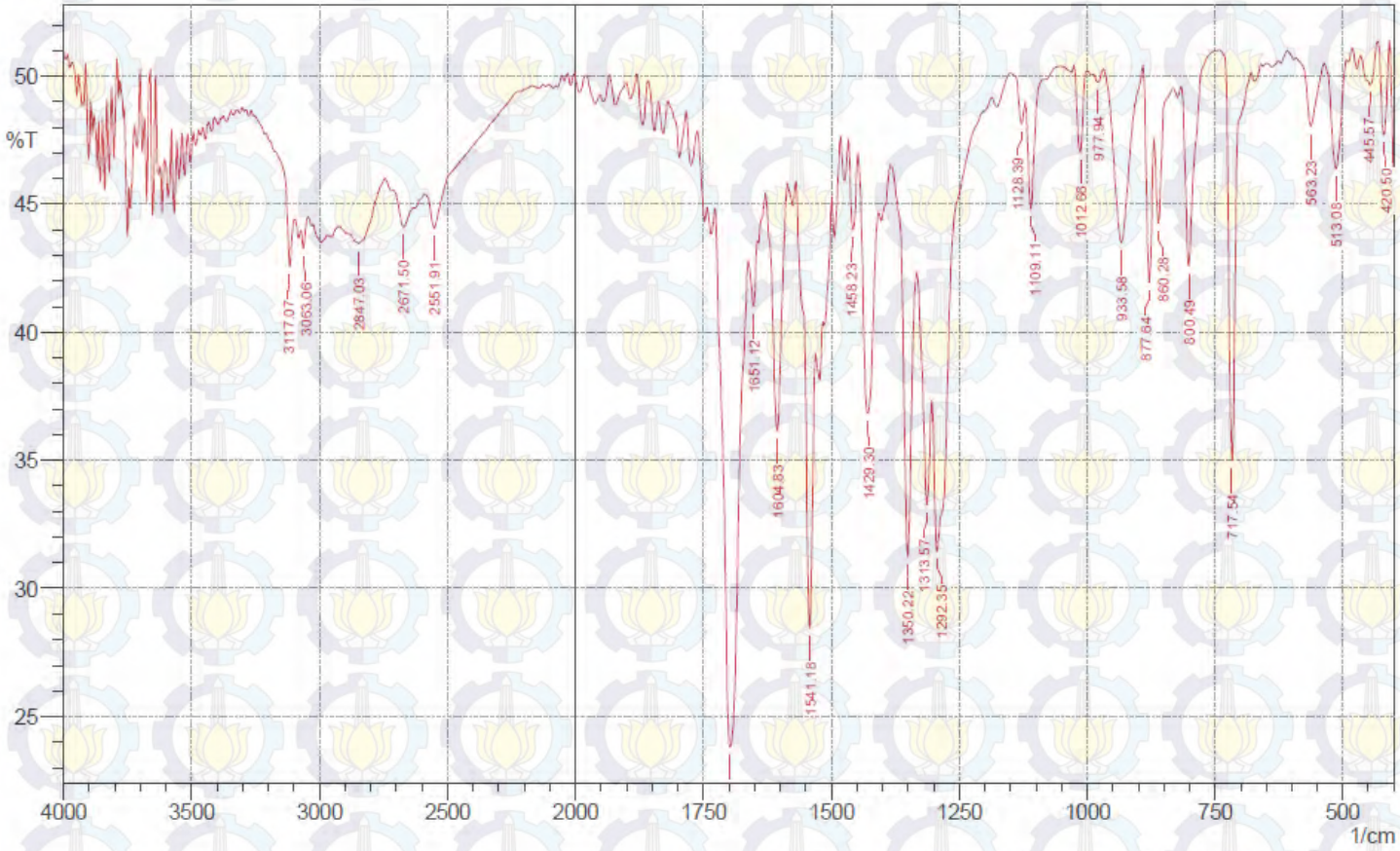


abundance
0
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
6.0
1.94
2.01
1.57
8.7
8.6
8.5
8.4
8.3
8.2
8.1
8.0
7.9
7.8
7.7
7.6
7.5
7.4
8.322
8.318
8.305
8.301
8.295
8.285
8.269
8.263
8.180
8.174
8.169
8.157
8.153
8.147
8.133
8.128
8.116
8.111
7.936
7.919
7.911
7.896
7.870
7.853
7.847
X : parts per Million : Proton

LAMPIRAN E
SPEKTRUM ^{13}C-NMR LIGAN BNBP



LAMPIRAN F
SPEKTRUM FTIR KOMPLEKS Zn(II)-BNBP



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	420.5	47.713	3.669	432.07	408.92	7.068	0.374
2	445.57	49.687	1.441	464.86	432.07	9.807	0.24
3	513.08	46.394	4.187	536.23	491.86	13.887	0.753
4	563.23	48.034	2.575	592.17	536.23	17.018	0.475
5	717.54	35.005	15.685	740.69	678.97	20.603	2.33
6	800.49	42.603	7.294	815.92	740.69	23.618	1.173
7	860.28	44.269	3.791	869.92	831.35	12.435	0.326
8	877.64	41.938	6.679	891.14	869.92	7.243	0.668
9	933.58	43.521	6.83	968.3	891.14	25.119	2.133
10	977.94	49.773	0.396	987.59	968.3	5.815	0.037
11	1012.66	47.063	3.223	1026.16	999.16	8.401	0.339
12	1109.11	44.813	4.448	1120.68	1084.03	11.715	0.498
13	1128.39	48.157	1.233	1139.97	1120.68	5.989	0.097
14	1292.35	31.423	7.086	1303.92	1186.26	43.483	0.189
15	1313.57	33.255	5.756	1332.86	1303.92	12.432	0.844
16	1350.22	31.203	12.526	1384.94	1332.86	20.556	2.178
17	1429.3	36.857	9.085	1446.66	1408.08	15.022	1.944
18	1458.23	44.026	3.298	1465.95	1446.66	6.624	0.346
19	1541.18	28.444	11.39	1552.75	1531.53	10.123	1.64
20	1604.83	36.16	9.507	1627.97	1585.54	16.352	1.9
21	1651.12	41.027	2.3	1662.69	1645.33	6.532	0.203
22	1697.41	23.804	20.13	1726.35	1662.69	30.727	7.903
23	2551.91	44.071	1.761	2590.49	2224	120	1.066
24	2671.5	44.104	1.395	2713.93	2590.49	42.983	0.739
25	2847.03	43.474	0.956	2885.6	2742.87	50.377	0.755
26	3063.06	43.277	0.882	3072.71	3043.77	10.348	0.102
27	3117.07	42.574	2.583	3171.08	3095.85	25.881	0.307

LAMPIRAN G
PERHITUNGAN ANALISIS PENENTUAN UNSUR C, H, N KOMPLEKS

Eager 300 Report

Page : 1 Sample : 1 (unk 274)

Method Name : NCHS
Method File : C:/Program Files/Thermo Finnigan/Eager300 for EA1112/CHNS/SEP
Chomatogram : unk 274
Operator ID : Bakri bin Din
Company Name : ThermoFinnigan
Analysed : 05/08/2006 15:00
Printed : 5/8/2006 15:10
Sample ID : 1 (# 87)
Instrument N. : Instrument #1
Analysis Type: Unknown (Area)
Sample weight : 3.537

Calib. Method: using 'K Factors'

!!! Warning missing one or more peaks.

Element Name	Ret.Time		Area	BC	Area ratio	K.factor
Nitrogen	12.6483	46	69119	RS	79.345050	.183929E+07
Carbon	41.7564	69	5484251	RS	1.000000	.441322E+07
Hydrogen	2.5942	222	1966062	RS	2.789460	.128636E+08
Totals			7519432			

- Hasil Analisis penentuan C, H, N kompleks

%C	%N	%H
41,7564	12,6483	2,5942

- Prediksi rumus molekul kompleks:

No.	Struktur Kompleks	Mr (gr/mol)	%C	%N	%H
1.	$[Zn(L)(Cl)_2]$	543,370	41,960	12,883	2,392
2.	$[Zn(L)(H_2O)_2].Cl_2$	579,370	39,353	12,082	2,934
3.	$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)]$	562,370	40,543	12,447	2,845
4.	$[Zn(L)(Cl)(H_2O)_2].Cl$	580,370	39,285	12,061	3,101
5.	$[Zn(L)(Cl)_2(H_2O)2]$	579,370	39,353	12,082	2,934

- Perhitungan rumus molekul kompleks

1. $[Zn(2,6\text{-bis}(4\text{-nitrobenzamido})piridin)(Cl)_2]$

$$\% C = \frac{19 \times 12}{543,370} \times 100\ \% = 41,960\ \%$$

$$\% N = \frac{5 \times 14}{543,370} \times 100\ \% = 12,883\ \%$$

$$\% H = \frac{13 \times 1}{543,370} \times 100\ \% = 2,390\ \%$$

2. $[Zn(2,6\text{-bis}(4\text{-nitrobenzamido})piridin)(H_2O)_2].Cl_2$

$$\% C = \frac{19 \times 12}{579,370} \times 100\ \% = 39,353\ \%$$

$$\% N = \frac{5 \times 14}{579,370} \times 100\ \% = 12,082\ \%$$

$$\% H = \frac{17 \times 1}{579,370} \times 100\ \% = 2,934\ \%$$

3. $[Zn(2,6\text{-bis}(4\text{-nitrobenzamido})piridin)(Cl)_2(H_2O)]$

$$\% C = \frac{19 \times 12}{562,370} \times 100\ \% = 40,543\ \%$$

$$\% N = \frac{5 \times 14}{562,370} \times 100\ \% = 12,447\ \%$$

$$\% H = \frac{16 \times 1}{562,370} \times 100\ \% = 2,845\ \%$$

4. $[Zn(2,6\text{-bis}(4\text{-nitrobenzamido})piridin)(Cl)(H_2O)_2].Cl$

$$\% C = \frac{19 \times 12}{580,370} \times 100\ \% = 39,285\ \%$$

% N = $\frac{5\ x\ 14}{580,370}$ x 100 % = 12,061 %

% H = $\frac{18\ X\ 1}{580,370}$ x 100 % = 3,101 %

5. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(Cl)_2(H_2O)2$]

% C = $\frac{19\ x\ 12}{579,370}$ x 100 % = 39,353%

% N = $\frac{5\ x\ 14}{579,370}$ x 100 % = 12,082 %

% H = $\frac{17\ X\ 1}{579,370}$ x 100 % = 2,934 %

LAMPIRAN H
ANALISIS *ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY* (AAS)

H.1 Perhitungan % Zn Prediksi Rumus Molekul Kompleks

1. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(Cl)_2$]

   % Zn = $\frac{65{,}37\ x\ 1}{543{,}370}$ x 100 % = 12,030 %

2. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(H_2O)_2$].Cl_2

   % Zn = $\frac{65{,}37\ x\ 1}{579{,}370}$ x 100 % = 11,283 %

3. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(Cl)_2(H_2O)$]

   % Zn = $\frac{65{,}37\ x\ 1}{562{,}370}$ x 100 % = 11,624 %

4. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(Cl)(H_2O)_2$].Cl

   % Zn = $\frac{65{,}37\ x\ 1}{580{,}370}$ x 100 % = 11,263 %

5. [Zn(2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin)$(Cl)_2(H_2O)$2]

   % C = $\frac{65{,}37\ x\ 1}{579{,}370}$ x 100 % = 11,282 %

H.2 Perhitungan % Zn Hasil AAS

Pembuatan larutan standar Fe

Mr $ZnCl_2$ = 136,315 g/mol

a. Larutan standar 100 ppm (mg/L)

100 mg/L = $\frac{\text{Ar Zn}}{\text{Mr ZnCl2}}$ x massa

100 mg/L = $\frac{65{,}109}{136{,}315}$ x massa

65,409 x massa = 13631,5 mg/L

Massa = 208,4040 mg/L

= 0,2084040 g/L

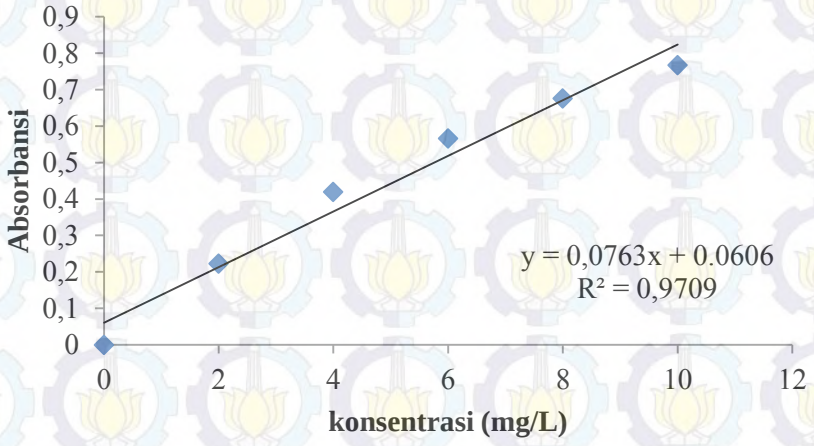
= 0,0104 g/50 mL

b. Pengenceran larutan standar 100 mg/L menjadi konsentrasi 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, dan 10 mg/L

- 2 mg/L, $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
  $100 \text{ mg/L} \times V_1 = 2 \text{ mg/L} \times 50 \text{ ml}$
  $V_1 = 1 \text{ ml}$
- 4 mg/L, $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
  $100 \text{ mg/L} \times V_1 = 4 \text{ mg/L} \times 50 \text{ ml}$
  $V_1 = 2 \text{ ml}$
- 6 mg/L, $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
  $100 \text{ mg/L} \times V_1 = 6 \text{ mg/L} \times 50 \text{ ml}$
  $V_1 = 3 \text{ ml}$
- 8 mg/L, $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
  $100 \text{ mg/L} \times V_1 = 8 \text{ mg/L} \times 50 \text{ ml}$
  $V_1 = 4 \text{ ml}$
- 10 mg/L, $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$
  $100 \text{ mg/L} \times V_1 = 10 \text{ mg/L} \times 50 \text{ ml}$
  $V_1 = 5 \text{ ml}$

Tabel 1. Data absorbansi Zn dalam larutan standar

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0	0,0000
2	0,2232
4	0,4194
6	0,5665
8	0,6758
10	0,7669



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Larutan Standar

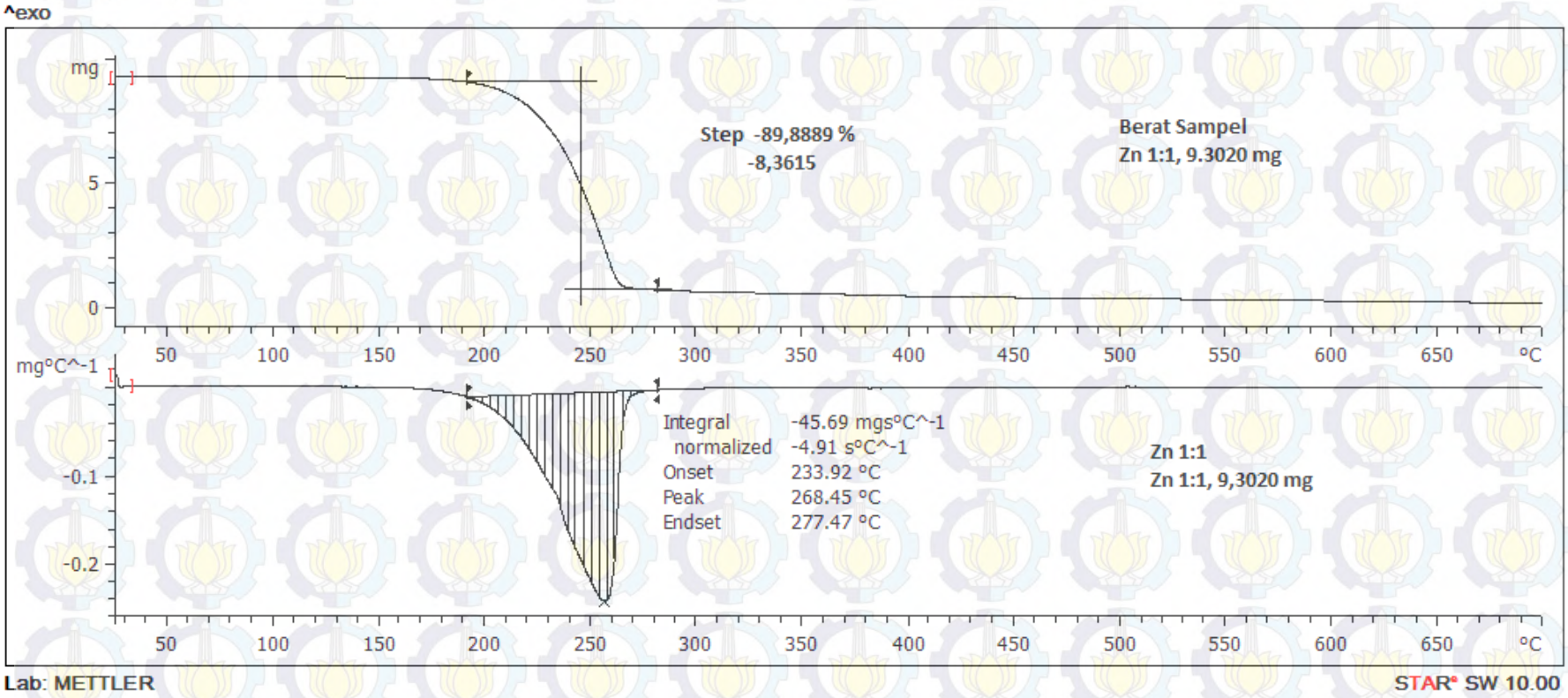
Tabel 2. Data absorbansi Zn dalam larutan sampel (kompleks)

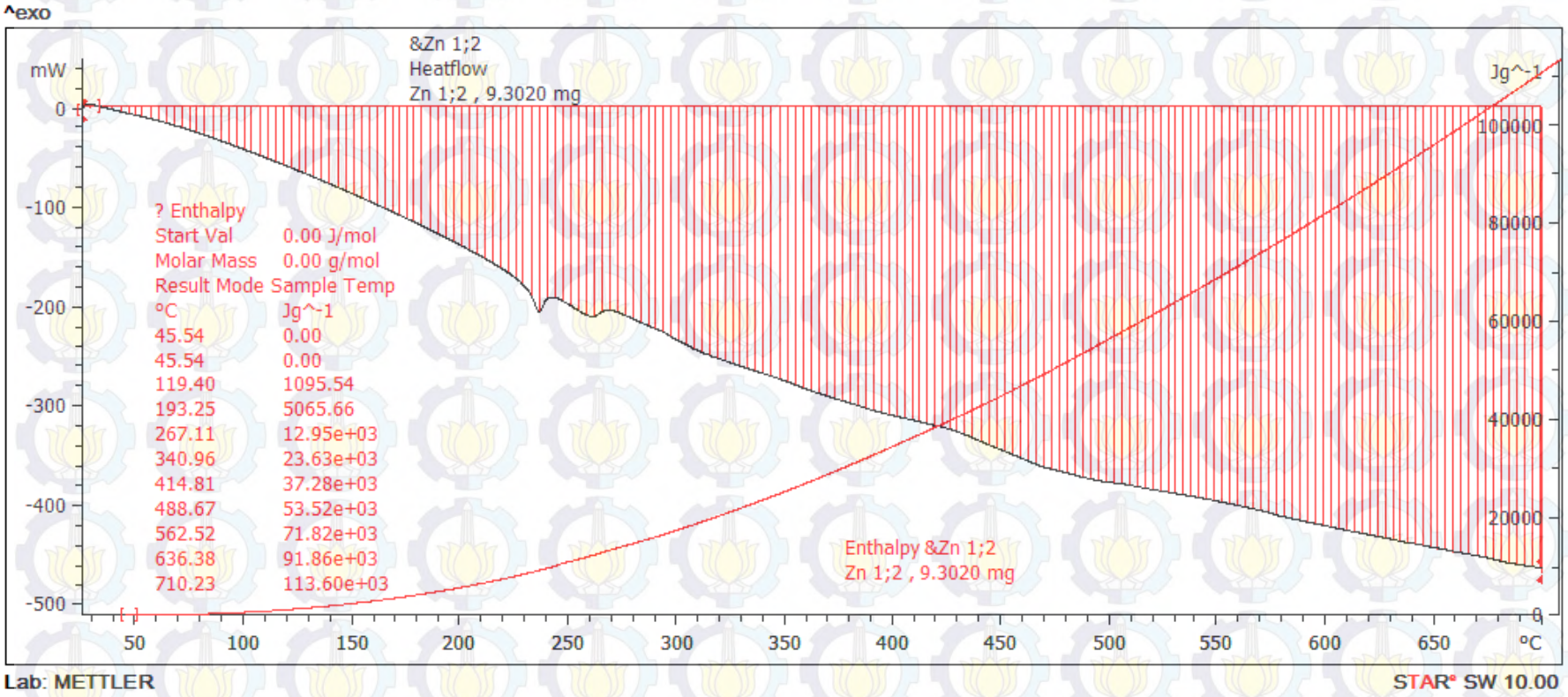
Cuplikan	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
Sampel	1,72	0,1910

Persamaan regresi linier:
y = ax + b
y = 0,076x + 0,060
Konsentrasi sampel
y = 0,076x + 0,060
0,1910 = 0,076x + 0,060
x = 1,72
massa sampel terukur = $\frac{1{,}72 \; x \; 543{,}370 \; x \; 0{,}057}{65{,}37}$ = 0,814 mg

Kadar (%) Zn dalam sampel
% Zn = $\frac{1{,}72x \; 0{,}057}{0{,}814}$ x 100 % = 12,044 %

LAMPIRAN I
ANALISIS DSC-TGA KOMPLEKS



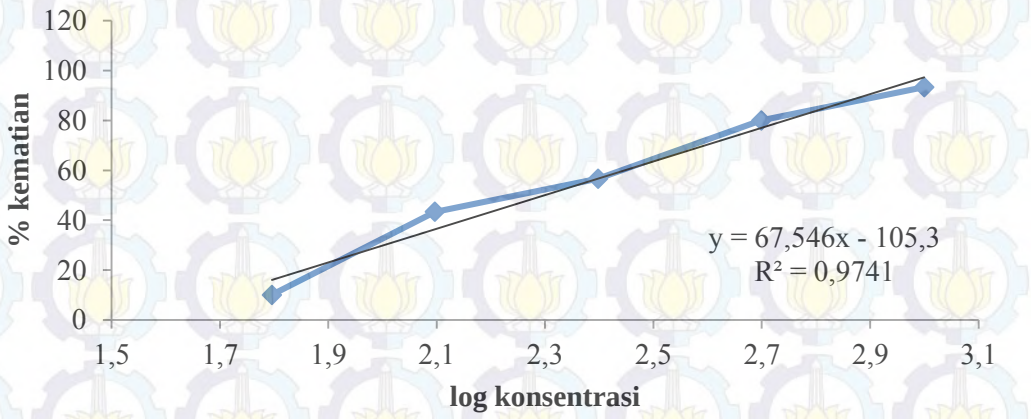

^exo
&Zn 1;2
Heatflow
Zn 1;2 , 9.3020 mg
mW
Jg^-1
0
-100
-200
-300
-400
-500
100000
80000
60000
40000
20000
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
550
600
650
°C
? Enthalpy
Start Val 0.00 J/mol
Molar Mass 0.00 g/mol
Result Mode Sample Temp
°C Jg^-1
45.54 0.00
45.54 0.00
119.40 1095.54
193.25 5065.66
267.11 12.95e+03
340.96 23.63e+03
414.81 37.28e+03
488.67 53.52e+03
562.52 71.82e+03
636.38 91.86e+03
710.23 113.60e+03
Enthalpy &Zn 1;2
Zn 1;2 , 9.3020 mg
Lab: METTLER
STAR° SW 10.00

LAMPIRAN J
PERHITUNGAN LC_{50} DENGAN METODE BSLT

J.1 Hasil Perhitungan Uji BSLT Ligan BNBP

Tabel 1. Data Hasil Uji Metode BSLT Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Konsentasi (ppm)	Log [ ]	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	1	1,00	10,00
		1		
		1		
125	2,1	4	4,33	43,33
		5		
		4		
250	2,4	5	5,67	56,67
		6		
		6		
500	2,7	8	8,00	80,00
		9		
		7		
1000	3,0	9	9,33	93,33
		9		
		10		



Gambar 1. Grafik Uji BSLT 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Perhitungan nilai LC_{50} ligan

y = 67,778x – 106

LC_{50} = 67,778x – 106

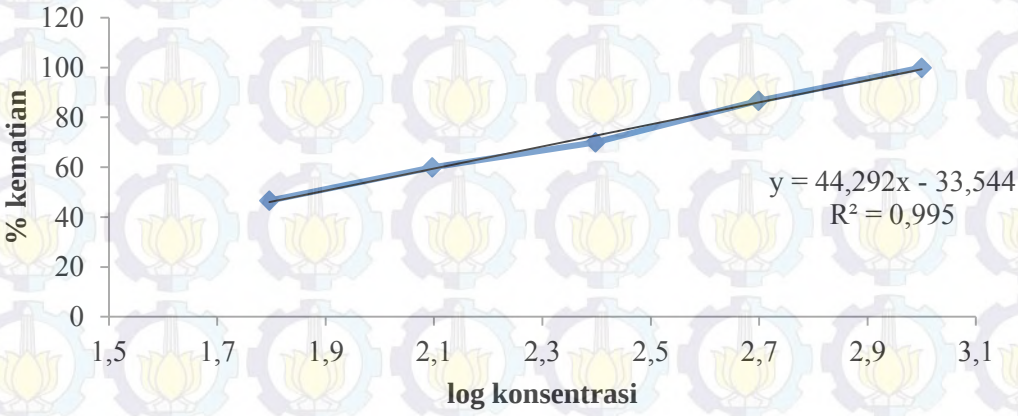
dengan memasukkan nilai 50 sebagai LC_{50}, maka:

$$50 = 67{,}546x - 105{,}3$$
$$50 + 106 = 67{,}546x$$
$$156 = 67{,}546x$$
$$x = 2{,}30$$
$$\text{antilog } x = 200{,}27 \text{ mg/L (nilai } LC_{50})$$

J.2 Hasil Perhitungan Uji BSLT Senyawa Kompleks Zn(II)-BNBP

Tabel 2. Data Hasil Uji Metode BSLT Kompleks Zn(II) dengan Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin

Konsentasi (ppm)	Log [ ]	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	5 4 5	4,67	46,67
125	2,1	7 5 6	6,00	60,00
250	2,4	8 7 6	7,00	70,00
500	2,7	8 9 9	8,67	86,67
1000	3,0	10 10 10	10,00	100,00



Gambar 2. Grafik Uji BSLT Kompleks Zn(II)

Perhitungan nilai LC_{50} kompleks

$y = 44{,}292x - 33{,}544$

$LC_{50} = 44{,}292x - 33{,}544$

dengan memasukkan nilai 50 sebagai LC_{50}, maka:

$$\begin{aligned} 50 &= 44{,}292x - 33{,}544 \\ 50 + 33{,}544 &= 44{,}292x \\ 83{,}544 &= 44{,}292x \\ x &= 1{,}89 \\ \text{antilog } x &= 76{,}950 \text{ mg/L (nilai } LC_{50}) \end{aligned}$$

BIODATA PENULIS

Penulis memiliki nama lengkap Lailatul Fithri, lahir di Desa Ujungpangkah-Gresik pada 16 April 1990 dan merupakan anak terakhir dari 3 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formalnya di TK Ma'arif Islamiyah Ujungpangkah (1996), MI Ma'arif Islamiyah Ujungpangkah (2002), MTs Assa'adah II Sampurnan Bungah Gresik (2005), SMA Assa'adah Bungah Gresik (2008). Jenjang pendidikan S1 diselesaikan di Fakultas MIPA Jurusan Kimia Universitas Negeri Surabaya (UNESA) pada Tahun 2013. Pada Studi S1 penulis mengambil bidang minat kimia anorganik dengan judul skripsi "Penentuan Kapasitas Adsorpsi Ion Sianida dan Pola Pengikatannya Pada Hibrida Amino Silika Terimpregnasi Fe(III)" dibawah bimbingan Dra. Amaria, M.Si. Pada Tahun 2013 penulis mendapatkan kesempatan untuk menempuh studi S2 di Jurusan Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya melalui jalur Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPP-DN) Dikti. Penulis mengambil bidang minat kimia anorganik dengan judul tesis "Sintesis, Karakterisasi dan Uji Toksisitas Senyawa Kompleks dari Ion Logam Zn(II) dengan Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin" dibawah bimbingan Dr. Fahimah Martak, M.Si. Penulis pernah menjalankan Praktek Kerja Lapangan di PT. Coca Cola Amatil Pandaaan Jawa Timur pada Tahun 2011. Selain itu penulis juga pernah menjadi Ko. Asisten Laboratorium selama 2 semester pada Tahun 2012-2013 di Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Kimia Universitas Negeri Surabaya. Penulis dapat dihubungi melalui alamat email puput164@gmail.com atau melalui akun Facebook Puput Binti Kholid.