

Sintesis dan Uji Toksisitas Kompleks Tembaga(II) dengan Ligan 2-Metil-4,5-Difenil-1*H*-Imidazol

Nora Herliana, Fahimah Martak
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: fahimahm@chem.its.ac.id

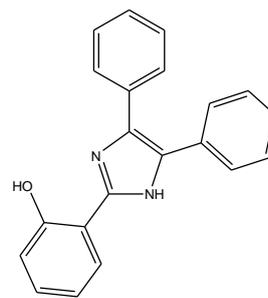
Abstrak— Senyawa 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan kompleks Cu(II) dengan rumus molekul $[CuL_2Cl_2] \cdot 5H_2O$; L= 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol telah berhasil disintesis. Senyawa 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan kompleks Cu(II) berwujud serbuk coklat muda dan padatan kristal berwarna merah dengan rendemen masing-masing sebesar 54,36% dan 93,72%. Senyawa 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dikarakterisasi dengan spektrofotometer 1H dan ^{13}C NMR dan diperkuat dengan hasil spektrofotometer inframerah, sedangkan kompleks Cu(II) dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah, CHN Analyzer, SSA dan TGA. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari kompleks Cu(II) dan ligan menunjukkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 24,55 dan 192,31 $\mu g/mL$.

Kata Kunci— 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol; kompleks Cu(II); *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

I. PENDAHULUAN

Imidazol merupakan sebuah senyawa organik yang memiliki rumus $C_3H_4N_2$ dan dikenal pula dengan nama 1,3-diazol (Gilchrist, 1997). Senyawa ini merupakan senyawa heterosiklik cincin lima yang mengandung nitrogen dengan beragam substituen (Chawla dkk., 2012). Beberapa tahun terakhir, sejumlah senyawa turunan imidazol memiliki peranan yang penting dan luas di bidang farmasi sebagai analgesik, antiinflamasi (Dutta, 2010), antimikotik, antibakterial, antelemtik dan antitumor (Puratchikody dan Doble, 2009). Imidazol dapat ditemui pada berbagai macam obat-obatan seperti metronidazol yang digunakan untuk antibiotik, dakarbazin yang digunakan untuk antineoplastik, metimazol sebagai antihipertiroid dan masih banyak lainnya (Puratchikody dan Doble, 2007).

Jain dkk. (2010) melaporkan struktur turunan 2-substitusi-4,5-difenil-*N*-alkil imidazol dan aktifitas antibakterinya. Semua senyawa yang dihasilkan menunjukkan sifat antibakteri untuk bakteri *S.aurius*, *B. subtilis*, dan *E.coli*. Namun, dibutuhkan modifikasi lebih lanjut untuk meningkatkan sifat antibakteri dari turunan imidazol tersebut. Khabnadideh dkk. (2003) melaporkan hubungan antara gugus fenil dengan efek antibakteria pada sintesis turunan 2-substitusi-4,5-difenil-*N*-alkil imidazol yang menunjukkan aktivitas antinosiseptif dan antiinflamasi. Penelitian lain menunjukkan bahwa senyawa 2-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-alkil)fenol (**1**) memiliki sifat aktif sebagai inhibitor α -glukosidase untuk mengobati penyakit diabetes (Yar dkk., 2015).



(1)

Selain itu, turunan dari 2-substitusi-*N*-[4-(1-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenil]asetamida dianalisis untuk mendapatkan aktivitas toksisitasnya. Dilaporkan bahwa dengan substituen 4-metil-1,2,4-tiadiazol-3-il-sulfanil dan 5-metil-1,2,4-tiadiazol-3-il-sulfanil memiliki aktivitas antikanker yang signifikan terhadap sel usus karsinoma dan memiliki sifat toksisitas terhadap sel MCF-7 yang mirip dengan cisplatin dengan nilai IC_{50} sebesar 3,2 $\mu g/mL$ (Ozkay dkk., 2010).

Sekarang ini, kompleks Cu(II) mendapatkan perhatian yang besar dan banyak penelitian yang dilakukan antara ion logam Cu(II) dengan senyawa turunan imidazol untuk mengetahui aktivitas farmakologinya (Zanvetor dkk., 2016). Menurut studi yang dilaporkan oleh (Bolos dkk., 2002) kompleks $[Cu(dien)(2A5MT)NO_3]NO_3$ menunjukkan aktivitas antiproliferatif dan efek sel kanker usus HT-29 yang baik. Selain itu, kompleks $[M(MOX)(HIm)Cl_2] \cdot nH_2O$ dimana M= ion logam dengan MOX = moksiflokasin dan HIm= imidazol disintesis dan diuji aktivitas biologisnya. Semua senyawa kompleks diuji aktivitas antibakteri dengan 2 jenis bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherchia coli* (*E.coli*) sedangkan antijamur menggunakan 2 jenis jamur yaitu *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. Dari uji yang telah dilakukan, semua senyawa kompleks memiliki sifat antibakteri dan antijamur yang lebih baik dibandingkan dengan moksiflokasin yang tidak dikomplekskan (Soayed dkk., 2013).

Aktivitas biologis kompleks ion logam Cu(II), Co(II) dan Ni(II) dengan ligan turunan imidazol juga telah dilaporkan oleh Jin dkk. (2014). Senyawa kompleks Cu(II) dengan ligan 3-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)- β -karbolin menunjukkan aktivitas antitumor dengan kekuatan DNA mengikat dan membelah lebih baik daripada kompleks dengan ion logam Co(II) dan Ni(II).

Berdasarkan latar belakang di atas, penggabungan antara senyawa turunan imidazol dengan ion logam Cu(II) memiliki aktivitas biologis yang lebih baik. Senyawa 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol telah disintesis oleh (Dutta, 2010), namun uji toksisitas pada senyawa tersebut belum dilakukan.

Oleh karena itu, terdapat peluang untuk mensintesis kompleks Cu(II) dengan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol sebagai ligan yang diharapkan memiliki aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan dengan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol yang tidak dikomplekskan.

II. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu gelas kimia, kaca arloji, pipet tetes, labu erlenmeyer, gelas ukur, pengaduk, corong, seperangkat alat refluks, pinset, pipa kapiler, pinset, pipet ukur, kertas saring, *chamber* KLT, plat KLT *Silica Gel* 60 F254, *hot plate stirrer* Cimarec, neraca analitik, kuvet plastiband, *magnetic stirrer bar* dan desikator.

Instrumen yang digunakan yaitu alat ukur titik leleh Fisher John, lampu UV ($\lambda = 254$ dan 365 nm), spektrofotometer UV/Vis *Genesys* 10S, spektrofotometer Infra Merah SHIMADZU FTIR 8400S, spektrofotometer serapan atom (SSA) ZENIT 700, spektrofotometer NMR Agilent 500 MHz, mikroskop *compound Olympus* cx21, *elemental analyzer* Thermo Finnigan EA 1112, analisa termal TGA STAR SW 10.00 dan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain benzil ($C_{14}H_{10}O_2$) (Sigma Aldrich), ammonium asetat (NH_4OAc) (Merck), asam asetat glasial (CH_3COOH) (Fulltime), asetaldehid (C_2H_4O) (Merck), $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (Merck), etanol (Merck), DMSO (Merck), aqua dm, aquades, ammonium hidroksida (Merck), *n*-heksana (Merck), etil asetat ($EtOAc$) (Merck), asam nitrat (HNO_3) (Merck), asam klorida (HCl) (J.T. Baker) dan dikolrometana (DCM) (Merck).

2.2 Prosedur Kerja

2.2.1 Sintesis Ligan 2-Metil-4,5-Difenil-1*H*-Imidazol

Sintesis 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dilakukan dengan mengadaptasi metode dari Dutta (2010) dan Pruratchikody dan Doble (2009). Benzil (1,0512 gram; 5 mmol) dan ammonium asetat (0,7708 gram; 10 mmol) dilarutkan ke dalam asetat glasial 30 mL di dalam labu bundar 100 mL. Kemudian ditambahkan larutan asetaldehid (0,28 mL; 5 mmol). Larutan direfluks pada temperatur 118-120°C selama 5 jam. Ammonium asetat (0,7708 gram; 10 mmol) dan asetaldehid (0,28 mL; 5 mmol) dilarutkan dalam 5 mL asetat glasial dan ditambahkan ke dalam larutan yang sedang direfluks setiap lima belas menit sampai reaksi selesai. Jalannya reaksi dipantau dengan KLT dalam eluen *n*-heksana:etil asetat = 7:3. Setelah reaksi selesai, larutan didinginkan pada temperatur ruang. Larutan hasil reaksi selanjutnya dituangkan ke dalam aquades dingin sebanyak 200 mL dan ditambahkan ammonium hidroksida. Endapan cokelat yang terbentuk disaring, dicuci dengan aquades dingin dan dikeringkan dalam desikator. Selanjutnya, produk direkrustalisasi menggunakan etil asetat. Produk dilarutkan ke dalam etil asetat pada temperatur 70°C dan didiamkan pada temperatur ruang sampai terbentuk endapan cokelat muda. Hasil sintesis yang telah murni ditimbang serta diidentifikasi dengan spektrofotometer infra merah, 1H NMR dan ^{13}C NMR.

2.2.2 Sintesis Kompleks Cu(II) dengan Ligan 2-Metil-4,5-Difenil-1*H*-Imidazol

Senyawa kompleks Cu(II) dengan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol disintesis menggunakan alat refluks. Sumber ion Cu(II) berasal dari padatan $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,0341 gram; 0,2 mmol) yang dilarutkan dengan 25 mL etanol dan ditambahkan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol (0,1404 gram; 0,6 mmol). Larutan dimasukkan ke dalam labu refluks 50 mL, diaduk dengan kecepatan 400 rpm dan direfluks selama 24 jam pada suhu 70 °C. Selanjutnya, larutan didiamkan pada temperatur ruang dan ditutup dengan aluminium foil. Padatan kompleks yang terbentuk disaring, dikeringkan, kemudian ditimbang dan diidentifikasi dengan spektrofotometer inframerah, spektrofotometer serapan atom, CHN analyzer, TGA/DSC dan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.2.3 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Metode BSLT yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode Meyer. Uji ini diawali dengan menetaskan telur udang *Artemia salina* dalam air laut selama 48 jam (Lisdawati dkk., 2006). Larutan uji dibuat pada konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm dan 500 ppm yang diambil masing-masing sebanyak 50 μ L dan dimasukkan ke dalam *micro-well plate* yang berbeda. Air laut sebanyak 150 μ L yang sudah berisi dengan 6 ekor larva udang kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing tabung dan didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya, dihitung jumlah larva udang yang mati secara visual. Pengujian dilakukan tiga kali untuk masing-masing konsentrasi.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Sintesis ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol

Sintesis ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dilakukan dengan mengadopsi prosedur dari Dutta (2010) dan Puratchikody dan Doble (2009). Sintesis dilakukan dengan mereaksikan benzil sebagai prekursor, ammonium asetat sebagai sumber nitrogen pada struktur dasar imidazol, dan asetaldehid sebagai tambahan substituen yang terikat pada cincin imidazol dalam asam asetat glasial yang direfluks pada suhu 118°C. Reaksi dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) setiap 45 menit dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3). Hasil pemantauan reaksi dengan KLT menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk setelah direfluks selama 305 menit, yang ditandai dengan terbentuknya noda dengan R_f yang berbeda dari R_f benzil. Pada saat reaksi berlangsung, asetaldehid dan ammonium asetat ditambahkan setiap lima belas menit dikarenakan asetaldehid dan ammonium asetat memiliki titik didih yang lebih rendah dibandingkan dengan temperatur refluks. Penambahan dilakukan sampai produk terbentuk yang ditandai dengan munculnya noda dengan R_f yang berbeda dari R_f benzil.

Setelah reaksi selesai, hasil reaksi dikondisikan pada temperatur ruang. Kemudian, ke dalam hasil reaksi ditambahkan 200 mL aquades dingin dan ammonium hidroksida agar terbentuk endapan. Endapan cokelat yang terbentuk disaring dan dikeringkan. Produk yang dihasilkan kemudian dimurnikan dengan etil asetat dengan cara melarutkannya pada temperatur 70°C. Padatan yang terbentuk dan telah murni selanjutnya ditimbang. Didapatkan senyawa 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol berupa padatan cokelat muda dengan massa 0,636 gram atau dengan rendemen sebesar 54,36%. Kemurnian ligan 2-metil-4,5-

difenil-1*H*-imidazol dapat dilihat dari uji titik leleh sebesar 193 °C. Kemurnian senyawa juga dapat dilihat dari uji tiga eluen menggunakan KLT. Ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dikarakterisasi menggunakan spektrometer ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan spektrofotometer FTIR.

Pada spektra ¹H NMR menunjukkan sinyal-sinyal proton aromatik, NH dan gugus CH₃. Sinyal singlet pada pergeseran kimia 2,66 dan 3,53 ppm merupakan sinyal satu proton dan dua proton dari gugus CH₃. Munculnya dua pergeseran dipengaruhi oleh lingkungan yang berbeda dari proton CH₃. Sinyal multiplet pada pergeseran kimia 7,33-7,64 ppm merupakan sinyal dari delapan proton yang terikat pada gugus fenil dari ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dimana dua proton dengan lingkungan yang sama diwakili oleh satu proton. Sinyal singlet pada pergeseran kimia 12,24 ppm merupakan sinyal proton NH.

Spektra ¹³C NMR ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dengan jelas menunjukkan dua belas jenis karbon. Karbon- karbon aromatik menunjukkan sinyal pada pergeseran 144,08 ppm untuk karbon kuartener dan pergeseran kimia 125,93-135,68 untuk karbon tersier. Sinyal pada pergeseran kimia 13,79 menunjukkan karbon pada gugus CH₃. Spektra IR memperkuat adanya gugus NH dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 3448,84 cm⁻¹ untuk NH sekunder, 3039,91 cm⁻¹ untuk C-H aromatik dan 1602,90 cm⁻¹ untuk gugus C=N. Menurut studi yang dilaporkan oleh (Wahyuningrum, 2008) pada senyawa 4,5-difenil-1*H*-imidazol menunjukkan puncak-puncak serapan untuk gugus -NH tersier pada bilangan gelombang 3334 cm⁻¹, gugus aromatik pada bilangan gelombang 2974 cm⁻¹, dan gugus C=N pada bilangan gelombang 1595 cm⁻¹.

3.2 Sintesis Kompleks Cu(II) dengan Ligan 2-Metil-4,5-Difenil-1*H*-Imidazol

Kompleks Cu(II) dengan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol disintesis dengan perbandingan logam dan ligan sebesar 1:3. Garam logam CuCl₂·2H₂O direaksikan dengan ligan menggunakan pelarut etanol. Larutan direaksikan menggunakan alat refluks pada suhu 70-80 °C selama 24 jam. Setelah reaksi selesai, larutan hasil sintesis didinginkan pada temperatur ruang dan dibiarkan selama satu hari dengan seluruh permukaan wadah tertutup aluminium foil. Padatan yang terbentuk kemudian disaring, dikeringkan dalam desikator, dan ditimbang. Padatan kompleks Cu(II) berwarna merah dengan rendemen sebesar 93,72%. Senyawa kompleks yang didapatkan kemudian diuji kelarutannya dan dikarakterisasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan komposisi senyawa kompleks dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR, spektrometer serapan atom, CHN analyzer dan analisis termogravimetri.

Berdasarkan uji kelarutan dapat diketahui bahwa senyawa kompleks Cu(II) dapat larut sempurna dalam dimetilsulfoksida (DMSO). Setelah diketahui jenis pelarut yang dapat digunakan, padatan kompleks Cu(II) kemudian dianalisis panjang gelombangnya dan dibandingkan dengan panjang gelombang ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol. Penentuan panjang gelombang dilakukan untuk mengetahui bahwa kompleks Cu(II) yang disintesis telah terbentuk. Kompleks Cu(II) dan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dilarutkan dalam DMSO. Spektra UV-Vis dua senyawa tersebut menunjukkan posisi pita absorpsi yang berbeda-beda. Spektra yang dihasilkan menunjukkan panjang gelombang untuk ligan dan kompleks Cu(II). Kompleks Cu(II) berada pada panjang gelombang maksimum 298 nm.

Senyawa kompleks [Cu(MOX)(HIm)Cl.H₂O]₂·2H₂O yang diukur menggunakan UV-Vis dengan pelarut DMSO muncul pada panjang gelombang maksimum 297 nm (Soayed dkk., 2013). Ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol memiliki panjang gelombang maksimum 316 nm. Perbedaan daerah panjang gelombang yang dimiliki antara ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan kompleks Cu(II) menunjukkan bahwa kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol berhasil disintesis. Terjadinya transfer muatan dari ligan ke logam membuat terjadinya perbedaan panjang gelombang maksimum yang dihasilkan pada kompleks Cu(II).

3.3 Analisis Komposisi Kompleks Kobalt(II) dengan Ligan 2-Metil-4,5-Difenil-1*H*-Imidazol

A. Analisis Unsur CHN

Analisis unsur CHN bertujuan untuk mengetahui kandungan unsur karbon, hidrogen dan nitrogen pada senyawa kompleks Cu(II) sehingga dapat diprediksi rumus molekul kompleks. Hasil analisis dari senyawa kompleks menggunakan alat *elemental analyzer* dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Perbandingan teoritis dan eksperimen komposisi unsur C, H, N dan Cu

Rumus Molekul	C(%)	H(%)	N(%)	Cu(%)
Sampel	55,54	5,56	8,15	8,92
[Cu ₂ Cl ₂].6H ₂ O	54,08	5,67	7,88	8,93
[Cu ₂ Cl ₂].5H ₂ O	55,48	5,52	8,08	9,17
[Cu ₂ Cl ₄].2H ₂ O	54,15	4,54	7,89	8,95

L = 2-Metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol

Berdasarkan Tabel 3.1 diketahui bahwa perbandingan teoritis dan eksperimen yang paling mendekati adalah [Cu₂Cl₂].5H₂O.

B. Analisis Senyawa Kompleks dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Berdasarkan data kurva kalibrasi dari larutan standar Cu(II) diperoleh persamaan regresi $y = 0,0365x + 0,0101$. Nilai absorpsi ion logam Cu(II) dalam senyawa kompleks dimasukkan sebagai fungsi x sehingga diperoleh konsentrasi ion logam Cu(II) sebesar 5,17 mg/L dan didapatkan persentase ion logam Cu(II) yang terkandung dalam senyawa kompleks sebesar 8,93%.

Berdasarkan data eksperimen, kadar ion logam Cu(II) dalam senyawa kompleks Cu(II) yang mendekati adalah kompleks dengan rumus molekul [Cu₂Cl₂].5H₂O dengan persentase ion logam Cu sebesar 9,17%. Hasil ini bersesuaian dengan persentase unsur karbon, hidrogen dan nitrogen dari analisis CHN Analyzer secara eksperimen. Persentase ion logam Cu(II) teoritis yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksperimen dikarenakan kompleks Cu(II) yang belum murni sehingga masih terdapat ion logam Cu(II) lain yang berasal dari garam logam CuCl₂·2H₂O.

C. Analisis Senyawa Kompleks dengan TGA

Analisis TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*) digunakan untuk memperkuat data rumus molekul yang telah diprediksi sebelumnya. Analisis kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dilakukan pada suhu 20-600 °C dengan kenaikan suhu sebesar 10°C/menit. Kurva TGA menunjukkan penurunan massa pada temperatur 122-160 °C. Pada temperatur tersebut terjadi dekomposisi sebesar 12,98%

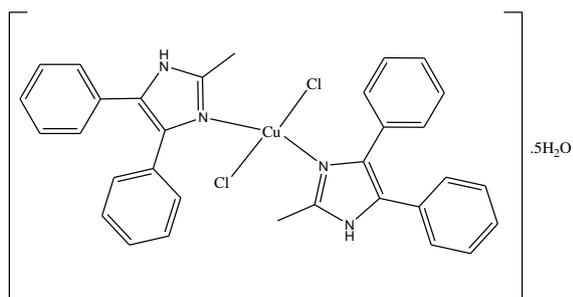
yang diprediksi hilangnya lima air kristal. Pada temperatur 263-510 °C terjadi dekomposisi sebesar 69,13% yang diprediksi hilangnya dua ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol. Residu yang tersisa sebesar 17,89% yang diprediksi sebagai logam oksida yaitu CuO. Pembahasan diatas sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pada temperatur 300-520 °C menyatakan hilangnya senyawa organik dan di atas temperatur 520 °C kompleks Cu(II) membentuk residu CuO (Sarioglu dkk, 2016).

D. Analisis Senyawa Kompleks dengan FTIR

Hasil analisis FTIR senyawa kompleks Cu(II) menunjukkan terdapat pergeseran bilangan gelombang pada ligan dan kompleks Cu(II). Pita serapan untuk gugus C=N pada ligan muncul pada daerah 1602,90 cm⁻¹ bergeser ke daerah bilangan gelombang 1618,33 cm⁻¹ pada kompleks Cu(II). Pergeseran terjadi karena adanya ikatan antara atom N dengan logam Cu(II).

Data tersebut didukung dengan munculnya bilangan gelombang baru pada daerah bilangan gelombang 489,94 dan 420,50 cm⁻¹. Ikatan antara logam Cu(II) dengan atom N pada imidazol ditunjukkan pada bilangan gelombang 489,94 cm⁻¹. Bilangan gelombang tersebut berada dalam rentang bilangan gelombang Cu-N yang dilaporkan oleh Vyas dkk (2011) yaitu sebesar 480-490 cm⁻¹. Sedangkan untuk ikatan antara Cu dengan atom Cl ditunjukkan pada bilangan gelombang 420,50 cm⁻¹. Menurut Soayed dkk (2013), ikatan antara M-Cl berada pada bilangan gelombang 400-422 cm⁻¹ pada senyawa kompleks [Cu(MOX)(HIm)Cl.H₂O]₂.2H₂O.

Bentuk geometri yang diusulkan berdasarkan rumus molekul senyawa kompleks dari analisis AAS, TGA, CHN-analyzer dan spektrofotometer FTIR adalah [CuL₂Cl₂].5H₂O dengan geometri tetrahedral. Usulan struktur dari kompleks Cu(II) dapat dilihat sebagaimana pada Gambar 3.2. Atom pusat Cu(II) dikelilingi oleh dua atom N dari senyawa ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan dua atom Cl yang berasal dari prekursor garam logam CuCl₂.2H₂O.



Gambar 3.2 Bentuk geometri molekul yang diusulkan pada kompleks [CuL₂Cl₂].5H₂O

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

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hewan uji yang digunakan pada metode ini adalah larva udang *Artemia salina*. Pada uji BSLT dihasilkan nilai LC₅₀ 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 kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan ligan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol.

Konsentrasi larutan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10, 50, 100, 250, dan 500 µg/ml dengan tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi. Pada metode BSLT digunakan larutan kontrol dengan menggunakan air laut tanpa larutan uji. Dari data hasil uji toksisitas dapat diketahui bahwa % kematian larva udang meningkat dengan bertambahnya konsentrasi larutan uji. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Martak dkk. (2016) yang memberikan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka akan semakin tinggi pula nilai % kematian larva. Data yang dihasilkan kemudian di plot antara log konsentrasi pada sumbu x dan % mortalitas pada sumbu y.

Hasil uji metode BSLT yang didapatkan kemudian dihitung berdasarkan nilai regresi logaritmanya sehingga didapatkan nilai LC₅₀. Nilai LC₅₀ untuk kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol diperoleh sebesar 24,55 µg/ml, sedangkan untuk ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol diperoleh sebesar 192,3 µg/ml (Lampiran I). 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 murni nilai LC₅₀<200 µg/ml menunjukkan bahwa senyawa tersebut toksik (Anderson, 1991). Berdasarkan pembahasan di atas dapat diketahui bahwa senyawa kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol bersifat toksik karena memiliki nilai LC₅₀<200 µg/ml. Kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol memiliki aktivitas biologis yang lebih tinggi saat konsentrasinya dibawah 50 ppm, sedangkan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol memiliki aktivitas biologis lebih tinggi saat konsentrasinya diatas dari 50 ppm. Hal ini membuktikan bahwa kompleks antara ion logam Cu(II) dan ligan lebih baik daripada ligan bebas.

KESIMPULAN

Ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol telah berhasil disintesis dengan rendemen sebesar 54,36%. Ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol yang dihasilkan dikarakterisasi dengan FTIR dan Spektrofotometer ¹H dan ¹³C NMR. Kompleks Cu(II) dengan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol yang dihasilkan berbentuk padatan kristal berwarna merah dengan rendemen sebesar 93,72%. Rumus molekul yang dihasilkan yaitu [CuL₂Cl₂].5H₂O berdasarkan data karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, SSA, analisis CHN Analyzer dan analisis TGA. Uji toksisitas dari kompleks Cu(II)-2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Nilai LC₅₀ kompleks Cu(II) dan ligan 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol yang didapat dari uji BSLT sebesar 24,55 dan 192,3 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kompleks memiliki aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan dengan ligan bebas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Bohari M. Yamin dari Universiti Kebangsaan Malaysia, Dr. Deana Wahyuningrum dari Jurusan Kimia ITB, atas kerjasama yang diberikan selama proses penelitian, Laboratorium NPCS serta kepada semua pihak yang turut membantu terselesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., Goetz, C.M., McLaughlin, J.L. (1991). A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*, 2, 107-111.
- Bolos, C.A., Papazisis, K.T., Kortsaris, A.H., Voyatzi, S., Zambouli, D., Kyriakidis, D.A. (2002). Antiproliferative activity of mixed-ligand dien-Cu(II) complexes with thiazole, thiazoline and imidazole derivatives. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 88, 25-36.
- Chawla, A., Sharma A., Sharma A.K. (2012). Review: A convenient approach for the synthesis of imidazole derivatives using microwaves. *Der Pharma Chemica*, 4(1), 116-140.
- Dutta, S. (2010). Synthesis and anthelmintic activity of some novel 2-substituted-4,5-diphenyl imidazoles. *Acta Pharm.*, 60, 229-235.
- Gilchrist, T. L. (1997). *Heterocyclic Chemistry*. London: Addison Wesley Longman Limited.
- Jain, A. K., Ravichandran V., Sisodiya, M., Agrawal, R.K. (2010). Synthesis and bacterial evaluation of 2-substituted-4,5-diphenyl- N-alkyl imidazole derivatives. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 471-474.
- Jin, Q. M., Lu, Y., Jin, J. L., Guo, H., Lin, G. W., Wang, Y., Lu, T. (2014). Synthesis, Characterization, DNA Binding Ability and Cytotoxicity of The Novel Platinum(II), Copper(II), Cobalt(II) and Nickel(II) Complexes with 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-b-carboline. *Inorganica Chimica Acta*, 421, 91-99.
- Khabnadideh, S., Rezaei, Z., Khalafi-Nezhad, A., Bahrinajafi, R., Mohamadi, R., Farrokhriz, A. A. (2003). Synthesis of N-alkylated derivatives of imidazole as antibacterial agents. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*. 2863-2865.
- Lisdawati, V., Sumali W., dan L. Broto S. Kardono. (2006). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari berbagai ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa. *Bul. Penel. Kesehatan*, 34, 111-118.
- Martak, F., Utomo, W.P., Nugraheni, Z.V., Budi, P. (2016). Synthesis and toxicity test of M/Zn(II) complexes [M= Mn(II), Co(II)] with pyridine-2,6-dicarboxylic acid ligand. *Asian Journal of Chemistry*, Vol.28, No.8.
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., Mc-Laughin, J., (1982) Brine Shrimp : a convenient general bioassay for active plant constituent, *Journal of Medical Plant Research*, 45, 31-34.
- Ozkay, Y., Isikdag, I., Incesu, Z., Akalin, G. (2010). Synthesis of 2-substituted-N-[4-(1-methyl-4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl)phenyl]acetamide derivatives and evaluation of their anticancer activity. *European Journal of Medical Chemistry*, 45, 3320-3328.
- Puratchikody, A. dan Doble, M. (2007). Antinociceptive and antiinflammatory activities and QSAR studies on 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-Imidazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 1083-1090.
- Puratchikody, A. dan Doble, M. (2009). QSAR Studies on Antiepileptic and Locomotor in vivo Activities Of 4,5-diphenyl-1H-Imidazoles. *Chem Biol Drug*, 74, 173-182.
- Sariouglu, A.O., Ceylan, U., Yalcin, S.P., Sonmez, M., Ceyhan, G., Aygun, M. (2016). Synthesis of a new ONNO donor tridentate schiff base ligand and binuclear Cu(II) complex: Quantum chemical, spectroscopic and photoluminescence investigations. *Journal of Luminescence*, 176, 193-201.
- Soayed, A.A., Refaat, H.M., El-Din, D.A.N. (2013). Metal complexes of moxifloxacin-imidazole mixed ligands: Characterization and biological studies. *Inorganica Chimica Acta*, 406, 230-240.
- Vyas, K.M., Jadeja, R.N., Gupta, V.K., Surati K.R. (2011). Synthesis, characterization and crystal structure of some bidentate heterocyclic Schiff base ligands of 4-toluoyl pyrazolones and its mononuclear Cu(II) complexes. *Journal of Molecular Structure*, 990, 110-120.
- Wahyuningrum, D. (2008). *Sintesis senyawa turunan imidazol dan penentuan aktivitas inhibisi korosinya pada permukaan baja karbon*. Disertasi. Kimia ITB.
- Yar, M., Bajda M., Shahzad, S., Ullah, N., Gilani, M. M., Ashraf, M., Rauf, A., Shaukat, A. (2015) Organocatalyzed solvent free an efficient novel synthesis of 2,4,5-trisubstituted imidazoles for α -glucosidase inhibition. *Bioorganic Chemistry*, 58, 65-71.
- Zanvetor, N. T., Nakahata, D. H., Paiva, R. E. F., Ribeiro, M. A., Cuin, A., Corbi, P. P., Formiga, A. L. B. (2016). Copper(II), palladium(II) dan platinum(II) complexes with 2,2-thiophen-yl-imidazole: Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray crystallographic studies and interactions with calf-thymus DNA. *Inorganica Chimica Acta*, 443, 304-315.