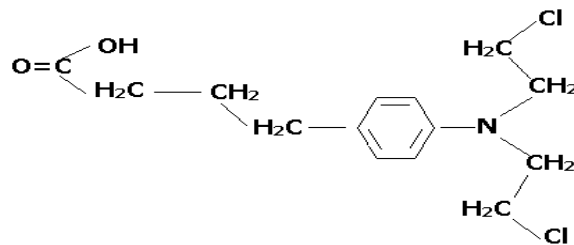


## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Klorambusil

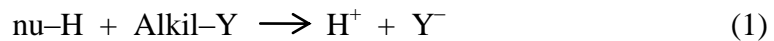
Senyawa klorambusil dengan nama lain 4-[bis(2-kloroetil) amino] asam butanoil benzena. Memiliki massa molekul relatif sebesar 304,23 g/mol, serbuk berwarna putih sedikit abu-abu kecoklatan tekanan uap rendah  $5,7 \times 10^{-8}$  mmHg pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ , senyawa organik yang tidak mudah larut dalam air tapi mudah larut dalam larutan etanol, kloroform, aseton, asetonitril, benzena, eter, asam, dan basa (Connors *et al.*,1992). Bentuk struktur molekul sederhana dari klorambusil ditunjukkan Gambar 1.



Gambar 1. Struktur molekul klorambusil (Connors *et al.*, 1992)

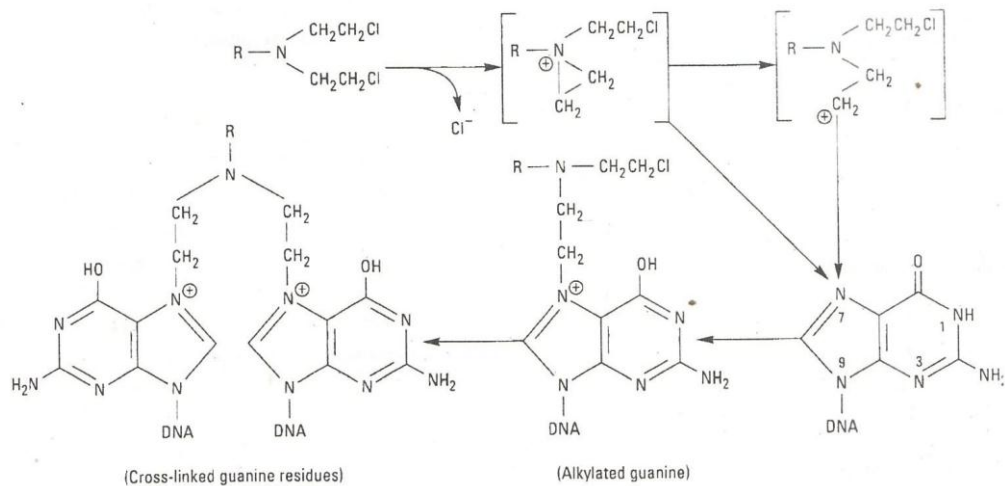
Klorambusil merupakan zat pengalkil bifungsional yang bekerja melalui pembentukan ion karbonium/kompleks. Ikatan kovalen akan terjadi dengan berbagai amino, sulhidril, hidroksil dan karboksil. Efek sitotoksik maupun efek sampingnya berhubungan langsung dengan terjadinya alkilasi DNA (Nafrialdi dan Gan, 2009). Sehingga akan berpotensi karsinogenik karena efek sitotoksiknya terhadap sel kanker yang memicu timbulnya kanker sekunder (Katzung, 2004).

Alkilasi asam nukleat atau protein melibatkan reaksi substitusi dimana atom nukleofilik (nu) biopolimer mengganti gugus yang dipindahkan dari zat pengalkil (Remers,1991). Reaksinya sebagai berikut :



Laju reaksi kimia klorambusil tergantung pada nukleofilitas atom (S, N, O) yang bertambah besar jika nukleofil diionkan. Kedudukan N-7 guanin DNA adalah nukleofilik kuat. Orde reaksi tergantung pada struktur zat pengalkil. Mustar nitrogen tersubstitusi-aril klorambusil relatif stabil pada pembentukan ion aziridinum, karena cincin aromatis mengurangi nukleofilitas atom nitrogen. Mustar ini bereaksi dengan kinetika orde pertama. Sehingga karena stabilitasnya, klorambusil diperbolehkan digunakan secara oral (Remers,1991).

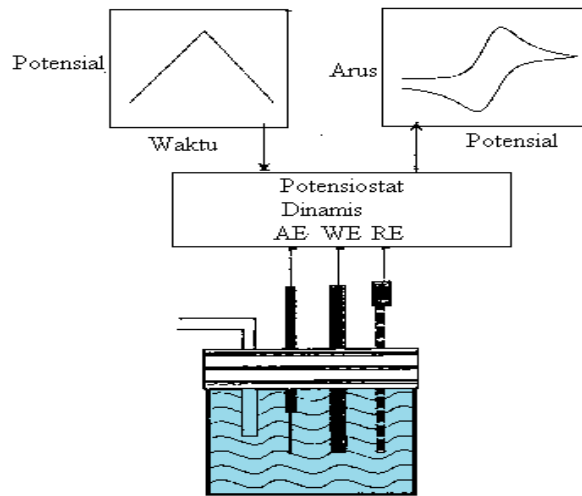
Reaktivitas kimia suatu zat adalah ukuran kemampuan suatu zat kimia untuk melakukan reaksi kimia (Qudus, 2001). Mekanisme reaksi zat pengalkil dengan DNA metabolime sel dapat mengikuti reaksi substitusi nukleofilik tingkat satu ( $S_N1$ ) atau substitusi nukleofilik tingkat dua ( $S_N2$ ), tergantung laju pembentukan karbokation dan serangan nukleofil pada karbokation (Silverman, 1992). Jika pembentukan karbokation lebih cepat, maka laju reaksi keseluruhan mengikuti  $S_N1$ , dan jika pembentukan karbokation lebih lambat daripada serangan nukleofil, maka laju reaksi keseluruhan mengikuti  $S_N2$ . Antara zat pengalkil dengan sel kanker, menghasilkan *adduct* dengan pusat nukleofil basa DNA sel. Mekanisme alkilasi guanin DNA dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Alkilasi guanin dalam DNA (Katzung, 2004)

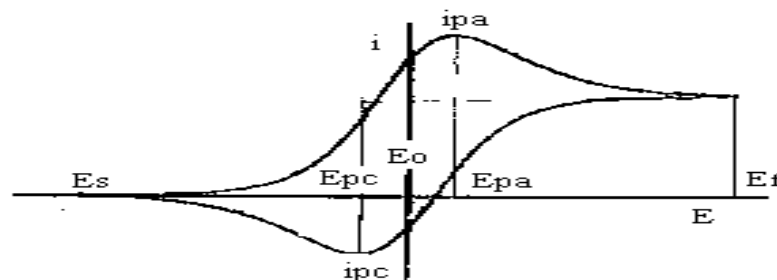
## B. Voltametri Siklik

Voltametri siklik merupakan modifikasi polarografi sistem *rapid scan* dimana arah dari penyapuan (*scanning*) dapat dibalik kembali setelah reduksi berlangsung (Khopkar, 2002). Voltametri siklik merupakan teknik elektrokimia yang menggunakan selusur potensial lurus (*linier potensial sweep*) dalam bentuk siklik. Pada proses analisisnya sel voltametri menggunakan elektroda kerja (Pt, Au, C, Ag dan lain-lain), elektroda acuan (Ag/AgCl, SCE, NHE) dan elektrode bantu (Pt) yang dicelupkan ke dalam larutan yang mengandung analit elektroaktif dan elektrolit pendukung (Qudus, 2006). Elektrolit pendukung berfungsi untuk mengurangi gaya tarik menarik antara muatan ion-ion analit dengan muatan pada elektroda serta menjaga kestabilan ion. Penambahan larutan elektrolit pendukung dalam larutan dengan konsentrasi 50 sampai 100 kali dari konsentrasi analit (Day dan Underwood, 2002). Beberapa contoh elektrolit pendukung antara lain NaOH, NH<sub>4</sub>Cl, NaClO<sub>4</sub>, dan HNO<sub>3</sub>. Gambaran eksperimen voltametri siklik disajikan pada Gambar 3.



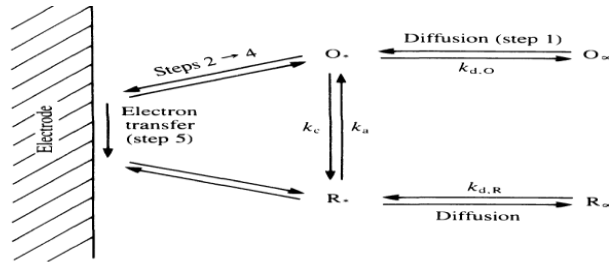
Gambar 3. Gambaran eksperimen voltametri siklik, AE elektroda bantu; WE elektroda kerja; RE elektroda acuan (Gosser, 1993)

Potensial yang diberikan pada elektroda kerja dengan elektroda acuan dikendalikan oleh potensiostat yang menyebabkan arus mengalir di antara elektroda kerja dan elektroda bantu guna mempertahankan potensial yang dikehendaki. Selama elektrolisis, arus yang melalui sel dipertahankan supaya konstan dengan bantuan galvanostat (Izutsu, 2002). Voltammogram siklik disajikan seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Voltammogram siklik ( $E_s$  = potensial awal;  $E_f$  = potensial akhir;  $E_{pa}$  = potensial puncak anodik;  $E_{pc}$  = potensial puncak katodik;  $i_{pa}$  = arus puncak anodik;  $i_{pc}$  = arus puncak katodik) (Huang, 2014)

Reaksi elektrokimia yang terjadi pada permukaan elektroda kerja oleh transfer elektron disebut arus Faraday. Mekanisme transfer elektron dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema transfer elektron pada elektroda (Brett and Brett, 1994)

1. Proses transfer elektron adalah peristiwa perpindahan elektron dari permukaan elektroda kerja ke analit dan atau sebaliknya. Zat yang mengalami reaksi elektrokimia reversibel, arus yang terukur pada transfer elektron mengikuti persamaan Butler-Volmer :

$$i = F A k_s \{ C_A \text{ eksp. } [-\alpha(E - E^0) F/RT] - C_B \text{ eksp. } [(1-\alpha) (E - E^0) F/RT] \} \quad (1)$$

Keterangan :

$k_s$ : konstanta laju reaksi heterogen acuan,  $A$  : luas permukaan elektroda,  $F$  : bilangan Faraday,  $R$  : konstanta umum gas ideal,  $T$  : temperatur,  $C_A$  : konsentrasi spesies A,  $C_B$  : konsentrasi spesies B,  $\alpha$  : koefisien transfer elektron reduksi,  $E$  : potensial yang dipakai sebagaimana yang diukur di antara elektroda kerja dan elektroda acuan, dan  $E^0$  : potensial elektroda acuan.

2. Proses difusi, yaitu perpindahan zat elektroaktif dari larutan analit ke permukaan elektrode kerja dan atau sebaliknya disebabkan oleh perbedaan konsentrasi. Pada proses reversibel arus puncak difusi mengikuti persamaan Randles-Sevcik :

$$i_p = 0,4958F (F/RT)^{1/2} n^{3/2} A D^{1/2} C_0^{1/2} \quad (2)$$



## 2. Elektroda pembanding (*reference*)

Elektroda pembanding harus memiliki sifat reversibel, potensial elektrokimia stabil terhadap waktu dan dapat mengukur potensial kerja dalam sel elektrokimia, larutan yang diukur tidak bergantung pada jenis dan komposisi larutan yang diukur, serta dapat mengikuti persamaan Nerst berkenaan dengan beberapa jenis elektrolit. Elektroda pembanding yang sering digunakan adalah Ag/AgCl dan kalomel.

## 3. Elektroda bantu (*auxiliary electrode*)

Elektroda bantu, disebut juga *counter electrode* digunakan untuk mengalirkan arus antara elektroda kerja dan elektroda bantu, sehingga arus dapat diukur. Umumnya elektroda bantu yang sering digunakan yaitu bahan yang bersifat inert seperti kawat platina (Pt), emas (Au), dan grafit.

## D. Mekanisme Reaksi Berdasarkan Metode Nicholson Shain

Proses transfer elektron pada permukaan elektroda kerja (Gosser, 1993) yang dinyatakan sebagai E, dapat berlangsung reversibel (r), kuasi reversibel (q), atau tak reversibel (i). Sedangkan reaksi kimia yang dinyatakan sebagai C, dapat berlangsung reversibel (r), atau tak reversibel (i). Jenis-jenis mekanisme reaksi yang dapat terjadi di sekitar permukaan elektroda kerja adalah  $E_x$ ,  $E_xC_x$ . Analisis voltammogram siklik zat pengalkil yang mengikuti mekanisme reaksi EC menggunakan metode Nicholson-Shain, maka nilai konstanta laju reaksi kimia suatu zat dapat ditentukan secara voltametri siklik.

Perbandingan arus puncak katodik dengan arus puncak anodik pada beberapa perubahan laju selusur potensial dapat digunakan untuk menentukan karakterisasi  $x$  pada  $C_x$  pada mekanisme reaksi EC untuk mekanisme reaksi elektrokimia yang reversibel ( $E_r$ ) dan reaksi kimia yang reversibel ( $C_r$ ) atau irreversibel ( $C_i$ ). Sedangkan nilai  $k_s$  dapat digunakan untuk menentukan bahwa karakterisasi  $x$  pada mekanisme reaksi tersebut. Nilai konstanta laju reaksi heterogen acuan ( $k_s$ ) dapat dihitung dengan menggunakan persamaan (Nicholson, 1965).

$$k_s = \psi (\pi D n F v / RT)^{1/2} (\gamma)^\alpha \quad (3)$$

Keterangan:

$k_s$  = konstanta heterogen standar,  $F$  = ,  $R$  = Tetapan ,  $v$  = laju selusur potensial,  $T$  = suhu (K),  $\alpha = 0,5$ ,  $D = 1 \times 10^{-5}$ ,  $\gamma = 1$ ,  $\psi$  merupakan intrapolasi terhadap  $\Delta E_p$ .

Berdasar nilai  $k_s$ , maka keadaan  $x$  pada  $E_x$  sebagai berikut (Gosser, 1993) :

$$r \text{ (reversibel)} \quad : \quad k_s > 0,3\sqrt{v} \quad \text{cm/s} \quad (4)$$

$$q \text{ (kuasi reversibel)} \quad : \quad k_s > 2,5 \cdot 10^{-5} \sqrt{v} \quad \text{cm/s} \quad (5)$$

$$i \text{ (tak reversibel)} \quad : \quad k_s < 2,5 \cdot 10^{-5} \sqrt{v} \quad \text{cm/s} \quad (6)$$

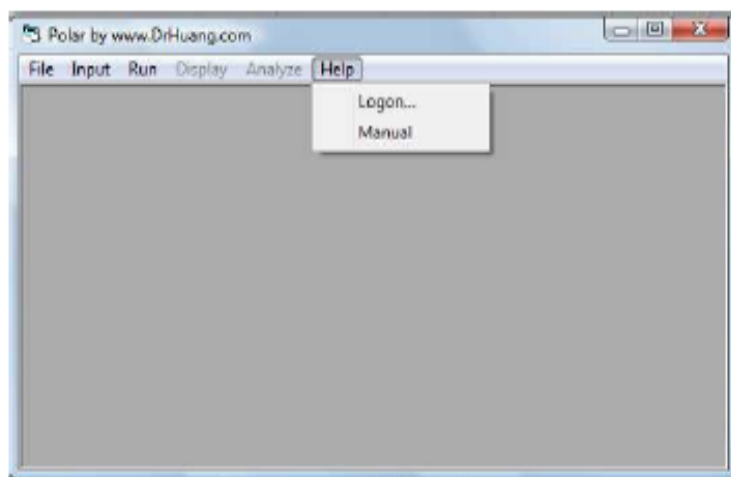
### E. Metode Perangkat Lunak Polar 5.8.30

Metode program polar 5.8.30 menggunakan acuan nilai parameter yang diperoleh dari hasil eksperimen. Laju selusur potensial ( $v$ ) tertentu yang menghasilkan parameter arus puncak anodik-katodik, potensial puncak anodik-katodik dan potensial elektrode acuan ( $E^0$ ) pada jendela potensial awal dan akhir pada eksperimen. Voltammogram secara akurat dapat disimulasikan lebih dari satu mekanisme dengan mengatur beberapa nilai parameter untuk pengukuran eksperimen. Perbandingan nilai antara voltammogram eksperimental dan simulasi dapat diukur melalui berbagai tingkat *scan* (Huang, 2014). Untuk mendapatkan



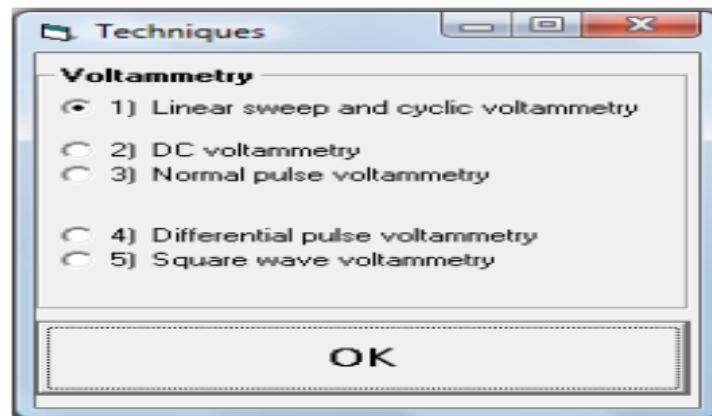
voltammogram yang sama seperti eksperimen maka harus mengatur nilai parameter  $k_s$ ,  $\alpha$ ,  $E^0$ ,  $D$  dan  $k_f$ nya pada program polar secara perlahan-lahan dan sedikit demi sedikit. Analisis voltammogram siklik senyawa klorambusil menggunakan perangkat lunak Polar 5.8.30 dengan langkah sebagai berikut :

1. Program Polar 5.8.30 pada komputer diaktifkan, dipilih menu *help*, dipilih submenu *logon*, dimasukkan *password* dan dipilih ok. Tampilan submenunya disajikan pada Gambar7.



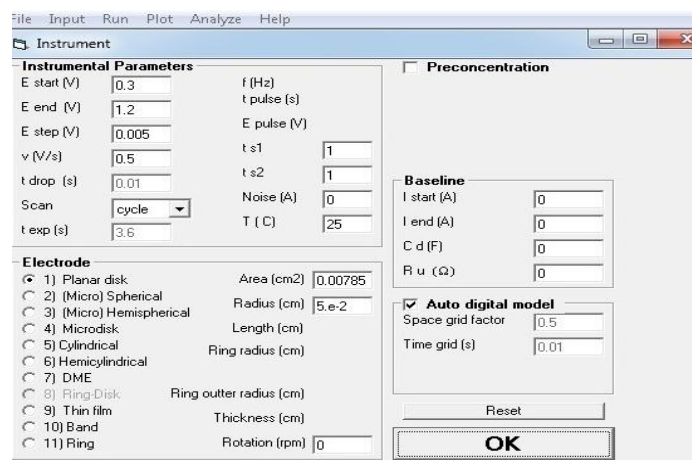
Gambar 7. Tampilan submenu help pada program Polar 5.8.30

2. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *techniques*, dipilih No.1 *linier sweep and cyclic voltammetry* dan dipilih ok. Tampilan submenunya disajikan pada Gambar 8.



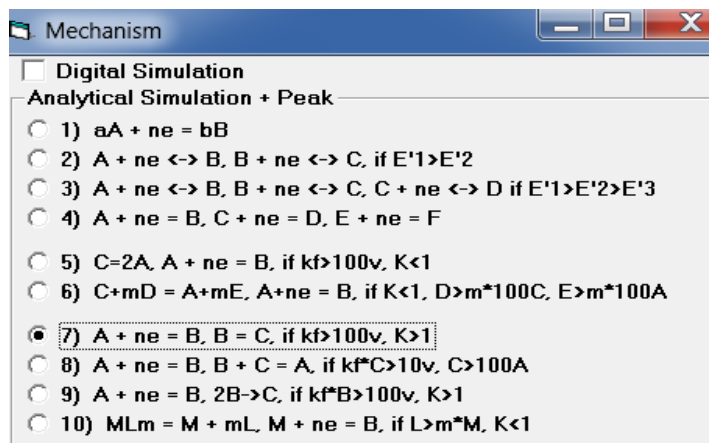
Gambar 8. Tampilan submenu techniques pada program Polar 5.8.30

3. Dipilih menu *input*, dipilih *instrument*, dan pengisian data dalam submenu ini disesuaikan dengan data pada kondisi eksperimen voltammogram siklik yang telah diperoleh, dan klik ok. Tampilan submenu disajikan pada Gambar 9.

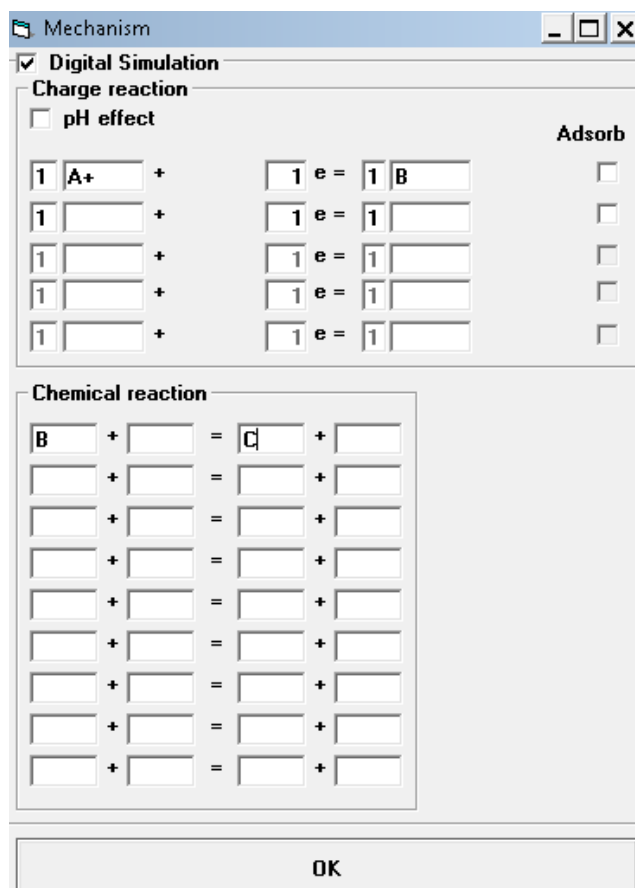


Gambar 9. Tampilan submenu *instrument* pada program Polar 5.8.30

4. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *mechanism*, dipilih *analytical simulation*, pada menu *analytical simulation* pilih no. 7 lalu klik kembali *digital simulation* pada *Chemical reaction* diketik B dan C dan dipilih ok seperti Gambar 10 dan Gambar 11.

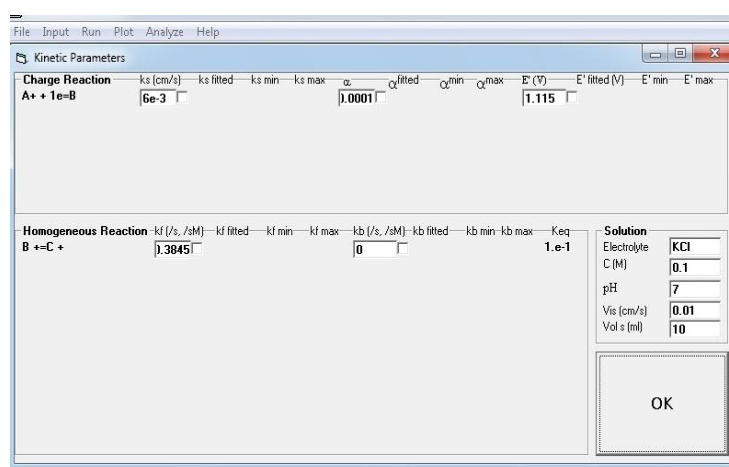


Gambar 10. Tampilan submenu *analytical simulation* pada program Polar 5.8.30



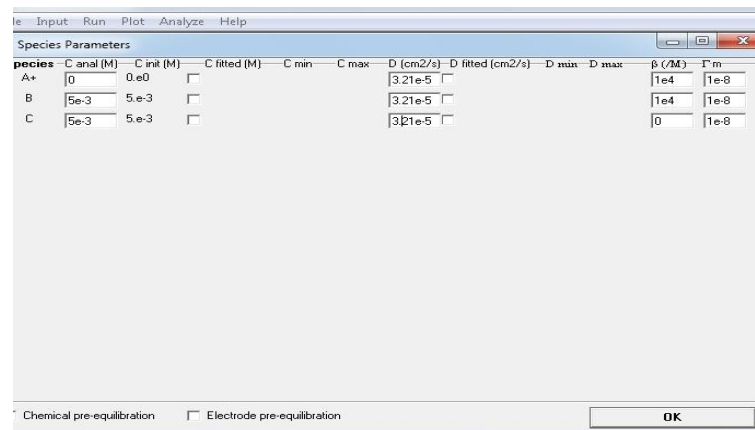
Gambar 11. Tampilan submenu *chemical reaction* program Polar 5.8.30

5. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *kinetics*, dan pengisian data dalam submenu ini disesuaikan dengan data pada kondisi eksperimen voltammogram siklik yang telah diperoleh. Nilai  $k_s$  (konstanta laju transfer elektron heterogen standar),  $\alpha$  (koefisien transfer elektron),  $E^\circ$  (potensial sel standar senyawa), dan  $k_f$  (konstanta laju reaksi kimia susulan maju) diisi dengan mengubah-ubah nilai-nilainya disajikan pada Gambar 12.



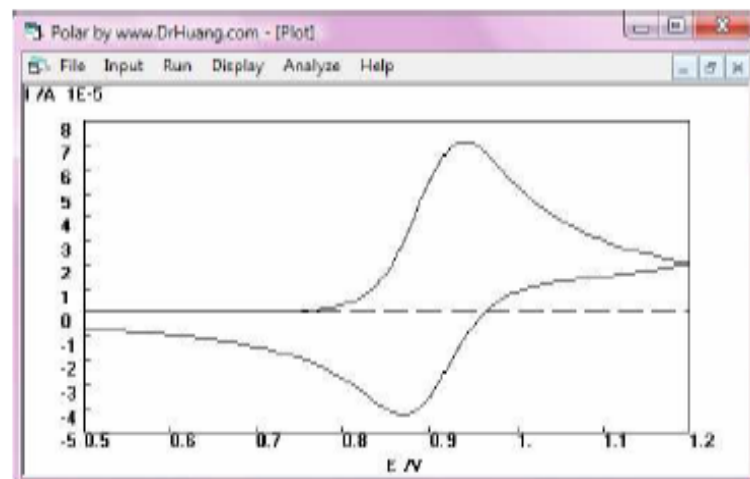
Gambar 12. Tampilan submenu *kinetic* pada program Polar 5.8.30

6. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *concentrations*, dan pengisian data dalam submenu ini disesuaikan dengan data pada kondisi eksperimen voltammogram siklik yang telah diperoleh. Nilai  $D$  (koefisien difusi senyawa) diisi dengan mengubah-ubah nilai-nilainya seperti pada Gambar 13.



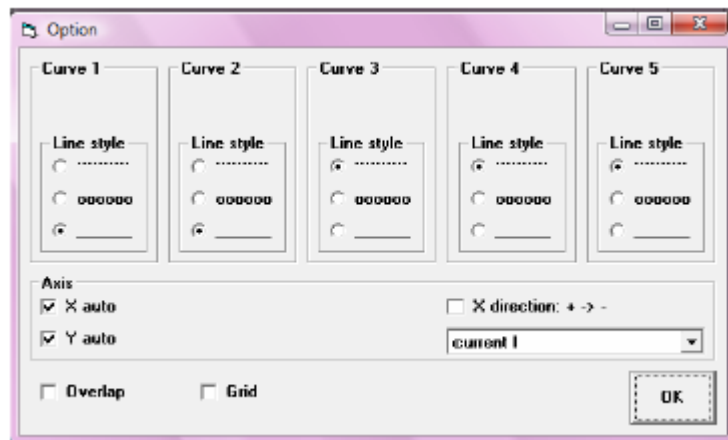
Gambar 13. Tampilan submenu *concentrations* pada program Polar 5.8.30

7. Dipilih menu *run*, dipilih *simulate* dan didapatkan grafik voltammogram siklik. Tampilan kurvanya disajikan pada Gambar 14.



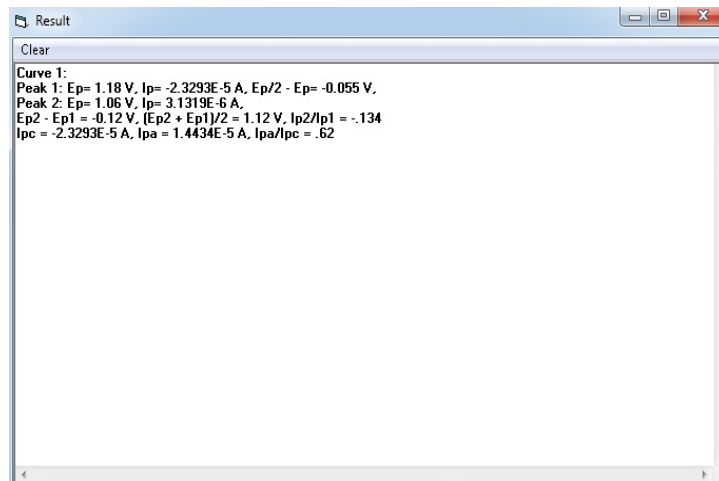
Gambar 14. Tampilan submenu *simulate* pada program Polar 5.8.30

8. Jika voltammogram terbalik pilih *plot*, pilih *sub menu* *y data* dan dipilih *-y* kemudian pilih sub menu *Option* tanda cek pada *x Direction* dihilangkan, untuk mengatur jarak *x* pilih sub menu *x auto* tanda cek dihilangkan, kemudian isi *x min* dan *x max* kemudian klik *ok*, disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Tampilan submenu *option* pada program Polar 5.8.30

9. Dipilih menu *analysis*, dipilih submenu *find peak*, diperoleh data nilai  $i_{pa}$ ,  $i_{pc}$ ,  $E_{pa}$  dan  $E_{pc}$  dari voltammogram sikliknya seperti pada Gambar 16.



Gambar 16. Tampilan submenu *result* pada program Polar 5.8.30