

II. TINJAUAN PUSTAKA

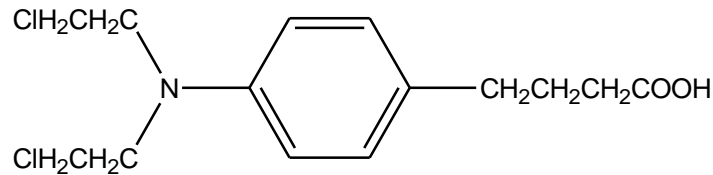
A. Senyawa Klorambusil

Klorambusil merupakan salah satu zat pengalkil, yaitu kelompok senyawa yang memiliki sifat antikanker karena efek sitotoksiknya terhadap sel kanker. Zat pengalkil adalah senyawa kimia reaktif yang dapat memberikan gugus alkilnya kepada senyawa lain yang bersifat nukleofil dengan reaksi yang tidak spesifik (Wheeler, 1974).

Zat pengalkil mempunyai gugus alkil yang dapat menggantikan tempat atom H pada suatu molekul atau suatu atom dalam keadaan valensi rendah. Bila zat pengalkil itu bereaksi dengan DNA, maka struktur DNA itu akan berubah sehingga fungsinya akan terganggu. Baik efek antikanker maupun efek kanker sekunder dari zat pengalkil disebabkan oleh reaktivitasnya terhadap nukleofil pada basa DNA sel.

Zat pengalkil digunakan secara luas dalam ilmu kedokteran untuk kemoterapi kanker karena terbukti efektif dapat menghentikan bahkan mematikan sel kanker melalui reaksi langsungnya dengan DNA dalam sel kanker. Selain itu dapat juga digunakan sebagai antiinflamasi (obat yang dapat menghilangkan radang yang disebabkan bukan karena mikroorganisme) dan immunosupresan (obat untuk

menekan respon imun) pada transplantasi organ tubuh (Penn, 1986). Adapun struktur molekul dari senyawa klorambusil ditunjukkan pada Gambar 1.

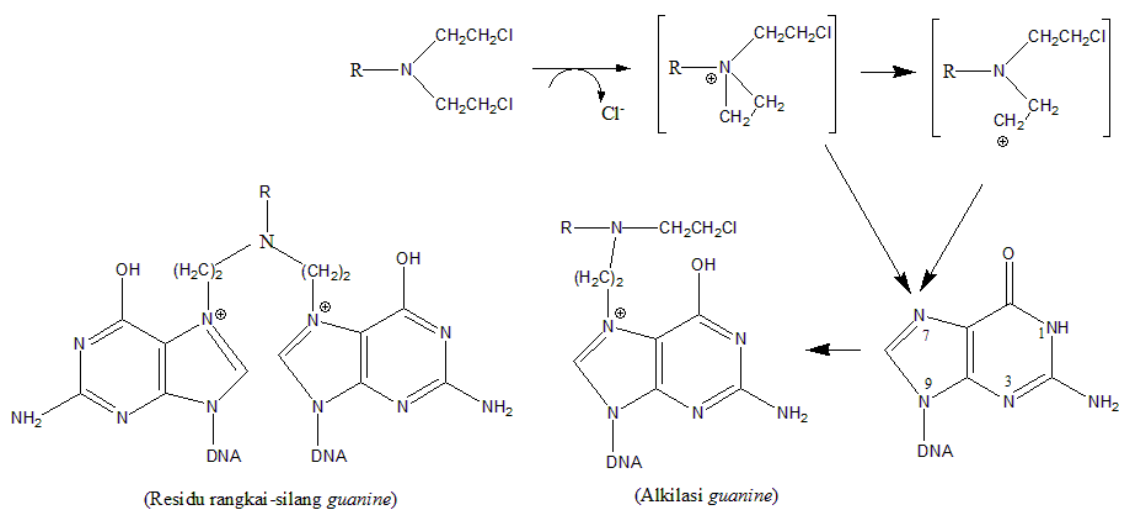


Gambar 1. Struktur senyawa Klorambusil
(4-[bis(2-kloroetil)amino]asam butanoil benzena)
(Connors *et al.*, 1992)

Agen alkilasi seperti klorambusil memiliki struktur yang mengandung suatu senyawa bis(kloroetil)amina. Agen-agen alkilasi menghasilkan efek sitotoksik melalui transfer kelompok *alkyl*-nya ke berbagai konstituen seluler. Alkilasi DNA di dalam nukleus mungkin merepresentasikan interaksi penting yang menyebabkan kematian sel, namun obat-obat ini bereaksi secara kimiawi dengan sulfhidril, amino, hidroksil, karboksil, dan kelompok fosfat dari nukleofil seluler lain. Mekanisme kerja obat ini melibatkan pelaksanaan siklus intramolekuler untuk membentuk ion *etyl-eneimonium* secara langsung atau melalui pembentukan ion *carbonium* yang mentransfer kelompok *alkyl* ke konstituen seluler.

Situs penting alkilasi di dalam DNA adalah posisi N7 *guanine* (Gambar 2), akan tetapi, banyak basa lain juga dialkilasi, termasuk N1 dan N3 *adenine*, N3 *cytosine*, dan O6 *guanine*, serta atom-atom fosfat dan protein yang terkait dengan DNA. Interaksi ini terjadi pada rantai tunggal atau rantai pada kedua rantai DNA melalui rangkai-silang (*cross-linking*), dengan dua gugus reaktif. Alkilasi *guanine*

dapat menyebabkan *miscoding* (pengkodean yang keliru) melalui pemasangan basa yang abnormal dengan *thymine* atau menyebabkan *depurinasi* melalui eksitasi residu *guanine*. Efek yang terakhir ini menyebabkan pecahnya rantai DNA melalui pemisahan kerangka DNA gula-fosfat. Rangkaian silang DNA tampaknya mempunyai arti penting bagi kerja sitotoksik agen-agen alkilasi, dan sel-sel yang mengalami replikasi menjadi paling peka terhadap obat ini.



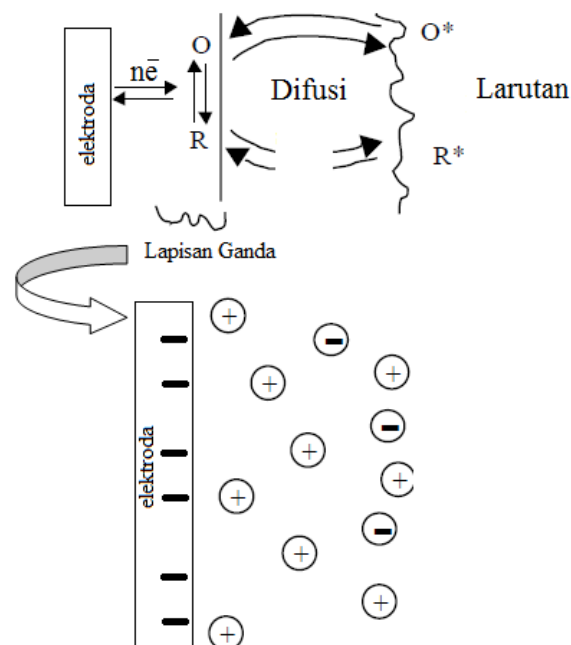
Gambar 2. Mekanisme alkilasi *guanine* DNA (Katzung, 2004).

B. Voltametri Siklik

Voltametri siklik adalah salah satu teknik elektrokimia yang menggunakan selusur potensial lurus dalam bentuk siklik. Reaksi elektrokimia yang diamati terjadi pada permukaan elektroda kerja. Pada voltametri siklik, selusur potensial bergerak dari awal hingga akhir lalu berbalik ke potensial awal (Gosser, 1993).

Pada awal eksperimen, larutan hanya mengandung bentuk R^* , tidak ada perubahan dari bentuk residu R^* ke bentuk oksidasi O^* (Gambar 3). Arus yang

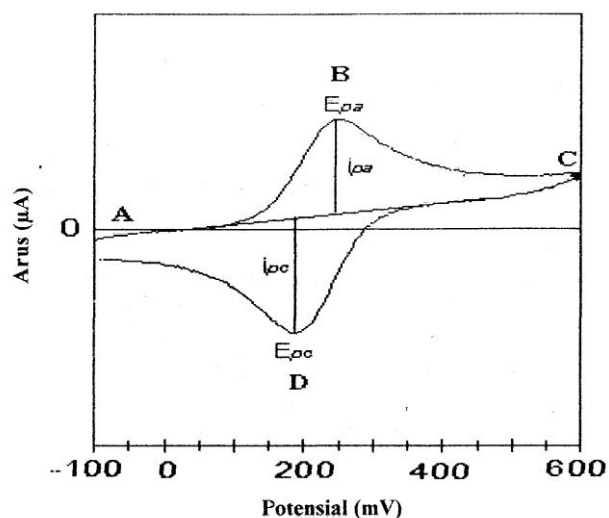
dialirkan ke larutan melalui elektroda acuan menyebabkan terjadinya reduksi. Bersamaan dengan terjadinya reduksi (R), suatu lapisan ganda terbentuk. Saat potensial reduksi tercapai, arus anodik naik secara eksponensial dengan potensial. Arus akan naik karena merespon naiknya potensial. Saat R^* berubah menjadi O^* , terdapat konsentrasi R^* dan O^* di sekitar elektroda kerja sehingga terjadi difusi yang akan menurunkan konsentrasi keduanya. Laju reduksi elektroda dibatasi oleh difusi sehingga arus akan turun. Pada puncak anodik, potensial redoks cukup positif, semua R yang mencapai permukaan elektroda teroksidasi menjadi O. Selusur arus sekarang tergantung kepada laju transfer massa ke permukaan elektroda. Pada titik reduksi dari O ke R, selusur berbalik menghasilkan suatu arus katodik. Selusur arus terus turun sampai potensialnya mendekati potensial redoks yang akhirnya menghasilkan arus puncak katodik (Paisley, 2000).



Gambar 3. Transfer elektron pada sistem elektrokimia (Bioanalytical, 2000)

Voltammetri siklik merupakan salah satu teknik elektrokimia yang menggunakan selusur potensial lurus (linier potensial sweep) dalam bentuk siklik. Untuk eksitasinya, elektroda kerja (Pt, Au, C, Ag dan lain-lain), elektroda acuan (Ag/AgCl, SCE, NHE) dan elektroda bantu (Pt) dicelupkan dalam larutan yang mengandung analit elektroaktif dan elektrolit pendukung (garam perklorat anorganik atau organik). Selanjutnya larutan dibebaskan dengan gas nitrogen atau argon dengan kemurnian yang tinggi, karena oksigen memberikan arus katoda pada proses reduksi (Rieger, 1994).

Potensial yang diberikan (potensial antara elektroda kerja-elektroda acuan) dikendalikan oleh potensiostat yang menyebabkan arus mengalir di antara elektroda kerja dan elektroda bantu guna mempertahankan potensial yang dikehendaki. Eksperimen dimulai dengan memilih jendela potensial yang dibatasi oleh potensial awal dan potensial akhir. Zat elektroaktif mula-mula dioksidasi kemudian direduksi atau sebaliknya. Selusur potensial dengan laju konstan ($v = dE/dt$), dimulai dari potensial awal (E_s) sepanjang jendela potensial sampai potensial akhir (E_f). Kemudian arah laju selusur potensial (v) kembali ke potensial awal (Gambar 4) (Rudolph dkk, 1994).



Gambar 4. Voltammogram siklik (E_{pa} = potensial puncak anodik;
 E_{pc} = potensial puncak katodik; i_{pa} = arus puncak anodik
 I_{pc} = arus puncak katodik (Paisley, 2000)

Reaksi elektrokimia yang diamati terjadi pada permukaan elektroda kerja. Arus listrik pada elektroda kerja yang dibangkitkan oleh transfer elektron disebut arus Faraday. Sebuah elektroda bantu dipasang pada sirkuit potensiostatik untuk menyeimbangkan proses Faraday pada elektroda kerja untuk transfer elektron pada arah yang berlawanan (jika pada elektroda kerja terjadi reduksi, maka pada elektroda bantu terjadi oksidasi). Arus Faraday pada elektroda kerja mengalami perubahan pada keluaran potensial yang sensitivitasnya dipilih, dinyatakan dalam ampere per volt dan direkam dalam bentuk analog atau digital (Heineman, 1984). Respon voltammeter siklik dinyatakan sebagai arus terhadap potensial, yang disebut voltammogram siklik.

Sel elektrokimia harus dilengkapi sedikitnya dua elektroda dan satu elektrolit. Elektroda mungkin dianggap sebagai suatu penghubung dimana mekanisme transfer berubah diantara pergerakan elektron yang bersifat ion.

Dalam sel yang digunakan untuk penentuan elektroanalitik selalu digunakan tiga elektroda yaitu :

1. Elektroda indikator yang dikenal sebagai elektroda kerja (*working*).

Elektroda kerja merupakan tempat terjadinya reaksi kimia. Elektroda yang sering digunakan adalah platina, emas dan perak. Elektroda indikator karbon merupakan elektroda yang paling inert, karbon digunakan pada proses oksidasi dan reduksi dalam larutan berair dan larutan tidak berair.

2. Elektroda pembanding (*reference*)

Elektroda pembanding yang ideal harus memiliki beberapa sifat yaitu harus reversibel, mengikuti persamaan Nernst berkenaan dengan beberapa jenis elektrolit, memiliki potensial yang stabil.

3. Elektroda bantu (*auxilliary*)

Elektroda bantu yang melayani atau sebagai sumber untuk elektron melewati bagian luar menuju sel. Secara umum bukan potensial sesungguhnya atau arus yang terukur atau diketahui.

C. Metode Perangkat Lunak Polar 4.2

Metode perangkat lunak polar 4.2 merupakan salah satu simulator elektrokimia umum, yang secara analitik dan digital mensimulasi voltammogram dari beberapa mekanisme secara virtual pada beberapa bentuk geometri elektroda (planar, spiral, semi-spiral, silinder, semi-silinder, dan elektroda putar) dalam beberapa teknik (*linier sweep and cyclic voltammetry, DC, normal pulse, differential pulse, squer wave, and staircase voltammetries*). Metode ini juga mensimulasi pengaruh arus

resistensi, *noise*, elektrolit, waktu, potensial, pH, jumlah reaktan, dan produk (Huang, 2000).

Menurut Huang (2000), metode polar menganalisis semua data ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*) x-y data untuk mendeteksi lokasi puncak, nilai puncak, derivatif, semi derivatif, integral, semi integral, mencocokkan kurva, dan memisahkan *peak* yang tumpang tindih dan memilih antara voltammogram yang sebenarnya dengan *noise* dan garis datar. Polar menghasilkan nilai-nilai voltammogram teori, kurva arus, dan data potensial arus, yang dapat dimasukkan ke dalam program lain. Penggunaan metode ini dapat menyalin dan menyimpan voltammogram ke dalam dokumen lain.

Dalam metode program Polar 4.2, sebagai acuan dipakai voltammogram siklik eksperimen dengan zat yang konsentrasinya (C) diketahui dan laju selusur potensial (v) tertentu, yang menghasilkan parameter arus puncak anodik (i_{pa}), arus puncak katodik (i_{pc}), potensial puncak anodik (E_{pa}), potensial puncak katodik (E_{pc}), dan potensial elektroda acuan (E°) pada jendela potensial awal (E_s) dan potensial akhir (E_f) eksperimen. Untuk mendapatkan nilai voltammogram siklik i_{pa} , i_{pc} , E_{pa} dan E_{pc} yang sama dengan hasil eksperimen, maka pada parameter nilai E_s , E_f , E° , C dan v dalam keadaan tetap, sedangkan yang di atur nilai parameter k_s , α , E° , D dan k_f nya (Huang, 2000).

Perhitungan nilai konstanta laju reaksi kimia maju (k_f) dengan perangkat lunak Polar 4.2 dilakukan dengan menyesuaikan nilai parameter i_{pa} , i_{pc} , E_{pa} dan E_{pc} dari voltammogram siklik eksperimen sebagai acuan. Untuk menyesuaikan nilai

parameter tersebut dilakukan pengaturan berulang-ulang dengan mengatur nilai k_s , α , E° , D dan k_f .

D. Metode Nicholson-Shain

Menurut Nicholson dan Shain (1964), harga k_f pada mekanisme E_rC_i ($r =$ reversibel, $i =$ tak reversibel) dapat dihitung berdasarkan nilai banding arus puncak katodik (i_{pc}) dengan arus puncak anodik (i_{pa}) terkoreksi. Berdasarkan metode tersebut, pengukuran pada bagian arus katodik pada oksidasi suatu senyawa memberikan informasi mengenai pengukuran kinetiknya. Untuk nilai k_f/a ($a = nF v /RT$) memberikan pengaruh pada reaksi kimianya. Pada nilai k_f/a ($a = nF v /RT$) yang kecil, maka pengaruh reaksi kimia yang terjadi juga kecil dan sebaliknya.

Banyak kurva siklik tunggal teoritik telah dihitung dengan variasi k_f/a dan potensial batas (E_f). Perbandingan arus puncak katodik dengan arus puncak anodik yang didapat dalam pengukuran akan tetap pada nilai parameter $k_f t$ yang tetap pula (t adalah waktu dalam detik dari $E_{1/2}$ atau E° ke E_f). Jadi, kurva kerja dapat dibuat untuk perbandingan arus puncak i_{pc}/i_{pa} sebagai fungsi $\log(k_f t)$. Jika $E_{1/2}$ diketahui, konstanta laju reaksi kimia maju (k_f) dapat dihitung dari kurva siklik tunggalnya. Dengan menggunakan v yang cepat (k_f/a kecil), maka $E_{1/2}$ diperoleh secara eksperimen. Penentuan nilai konstanta laju reaksi kimia maju (k_f) senyawa klorambusil menggunakan metode Nicholson-Shain telah dilakukan oleh Mulia (2008) dengan mengalirkan nilai $k_f t$ terhadap nilai t sehingga diperoleh nilai k_f sebagai *slope*. Dari data penelitian Mulia (2008), nilai k_f klorambusil berdasarkan kurva $k_f t$ terhadap t pada diameter elektroda kerja yang divariasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data nilai k_f klorambusil berdasarkan kurva $k_f t$ terhadap t pada variasi diameter elektroda kerja (0,25 mm; 0,5 mm; 1,0 mm; 1,5 mm)

Diameter elektroda kerja (mm)	k_f
0,25	1,139
0,5	3,868
1,0	4,017
1,5	0,502

(Mulia, 2008)