

SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA ANALOG KALKON DARI 4'-HIDROKSIASETOFENON DENGAN DIMETOKSIBENZALDEHID

Lusrianti¹, Nur Balatif² dan Adel Zamri³

1. Mahasiswa Program S1 Kimia FMIPA Universitas Riau

2,3. Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

e-mail: adel.zamri@lecturer.unri.ac.id

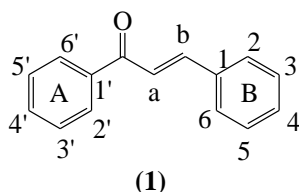
ABSTRAK

Senyawa kalkon terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon dengan sistem karbonil α , β tak jenuh. Senyawa kalkon dilaporkan memiliki bioaktivitas yang beragam dan menarik, diantaranya sebagai antioksidan, antikanker, anti-inflamasi, antialzheimer dan antimikroba. Senyawa (E)-3-(2,3-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)prop-2-en-1-on disintesis melalui iradiasi gelombang mikro dengan katalis KOH dan pelarut etanol absolut. Analisis struktur senyawa ini dilakukan menggunakan spektroskopi UV, FTIR, HRMS dan ¹H-NMR. Rendemen yang diperoleh yaitu 74,6%. Berdasarkan uji toksisitasnya, senyawa ini tidak berpotensi sebagai antikanker karena memiliki nilai LC₅₀ = 291,789 μ g/mL.

Kata Kunci: kalkon, gelombang mikro, sintesis dan toksisitas

1. PENDAHULUAN

Senyawa kalkon adalah salah satu metabolit sekunder termasuk golongan flavonoid yang memiliki dua cincin aromatik dihubungkan oleh tiga karbon α , β tak jenuh dalam struktur senyawa karbonil tak jenuh (Choudhary *et al.*, 2011). Berdasarkan struktur umumnya, senyawa kalkon (**1**) memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan sistem elektron π terdelokalisasi pada kedua sistem cincin aromatik.



Secara alami, senyawa kalkon menjadi senyawa prekursor untuk biosintesis flavonoid dan senyawa heterosiklik lainnya. Senyawa kalkon merupakan senyawa flavonoid yang paling sederhana yang dapat ditemukan pada berbagai jenis sayuran, teh, kedelai, buah-buahan dan pigmen bunga berwarna kuning pada tumbuhan *Heliantheaetribae*, *Coreopsidinae*, *Subtribe* dan famili *Compositae* (Dyrager, 2012).

Senyawa kalkon dilaporkan memiliki bioaktivitas yang menarik sebagai antioksidan (Oktavani *et al.*, 2014), antikanker (Brahmana *et*

al., 2013), anti-inflamasi (Chen *et al.*, 2013), antialzheimer (Pan *et al.*, 2012) dan antimikroba (Eryanti *et al.*, 2010). Bioaktivitas yang terdapat pada senyawa kalkon selain disebabkan oleh adanya gugus α , β tak jenuh yang terdapat pada senyawa kalkon juga dipengaruhi oleh substituen yang terikat pada kedua cincin aromatiknya (Kamble, 2011).

Senyawa kalkon baik yang diperoleh melalui sintesis maupun dari bahan alam dianggap sebagai molekul yang sangat berharga dalam bidang farmasi, namun untuk mengetahui potensi aktivitas senyawa kalkon, dibutuhkan senyawa kalkon dalam jumlah yang cukup dengan variasi struktur yang beragam. Oleh karena itu, sintesis di laboratorium merupakan solusi terbaik untuk mendapatkan dan mengetahui potensi aktivitas senyawa kalkon.

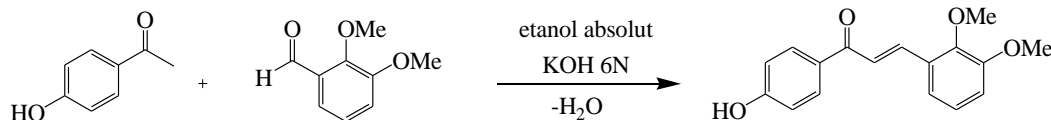
Sintesis senyawa kalkon dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya metode konvensional dan metode nonkonvensional. Metode konvensional dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti pengadukan, refluks dan gerus, namun membutuhkan waktu yang lama dalam proses sintesisnya. Selain itu, juga memiliki selektivitas yang rendah. Dewasa ini telah berkembang sintesis senyawa kalkon melalui metode iradiasi gelombang mikro

(*microwave*), yang dapat meningkatkan produk sintesis senyawa kalkon dalam waktu yang singkat. Gelombang mikro dapat menurunkan energi aktivasi dalam proses reaksi kimia, hal ini menyebabkan reaksi dapat berlangsung dengan cepat sehingga waktu reaksi secara signifikan menurun dibandingkan dengan sistem pemanasan konvensional. Oleh karena itu, pada penelitian ini disintesis senyawa kalkon dari 4'-hidroksiasetofenon dengan 2,3-dimetoksibenzaldehid melalui iradiasi gelombang mikro, kemudian diuji potensi antikankernya melalui toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2. METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4'-hidroksiasetofenon (Aldrich), 2,3-dimetoksibenzaldehid (Aldrich), etanol absolut, KOH 6N (Merck), HCl 3N (Merck), indikator universal (Merck), n-heksana, metanol, etil asetat,



Gambar 1. Sintesis senyawa kalkon

Prosedur Kerja Sintesis

Senyawa 4'-hidroksiasetofenon (5 mmol) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan etanol absolut (7,5 mL), kemudian KOH 6N (12,5 mL) secara tetes demi tetes. Setelah itu, diamkan selama ± 2 menit kemudian ditambahkan senyawa 2,3-dimetoksibenzaldehid (5 mmol). Campuran ini diiradiasi gelombang mikro selama 9 menit dengan diuji KLT setiap 1 menit. Campuran didiamkan selama ± 24 jam. Setelah itu, 15 mL akuades dingin ditambahkan ke dalam campuran dan tetes demi tetes HCl 3N sampai pH campuran netral. Kemudian dibiarkan dalam lemari pendingin \pm satu hari agar terbentuk endapan yang maksimal.

Endapan yang terbentuk disaring dengan menggunakan corong *buchner*, dicuci dengan akuades dan n-heksan dingin, kemudian divakum hingga kering. Produk yang diperoleh direkristalisasi dengan etil asetat lalu diuji

kloroform, diklorometana, akuades, air laut dan dimetil sulfoksida.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave* (Samsung ME 109 F 500 MHz), alat pengukur titik leleh *Fisher John*, lampu Ultra Violet (254 nm dan 366 nm), plat KLT GF₂₅₄, HPLC (Shimadzu LC 20 AD), spektrofotometer FTIR (Shimadzu, IR Prestige-21), spektroskopi NMR (Agilent 500 MHz DD2), spektroskopi massa (water LCT Premier XE Mode Positif), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 S UV-Vis v4.002 2L9N175013) dan peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Rancangan Penelitian

Sintesis senyawa kalkon dilakukan dalam satu tahap reaksi melalui kondensasi *Claisen-Schmidt* antara senyawa 4'-hidroksi asetofenon dengan 2,3-dimetoksibenzaldehid menggunakan iradiasi gelombang mikro dengan katalis KOH dan pelarut etanol absolut seperti terlihat pada

Gambar 1.

kemurniannya dengan uji KLT, titik leleh, dan analisis HPLC.

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

Sampel sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 2 mL metanol (larutan induk, konsentrasi 10000 $\mu\text{g/mL}$), kemudian dari larutan induk dibuat konsentrasi yang berbeda 1000 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara pengenceran bertingkat. Kemudian disiapkan vial 5 mL yang sudah dikalibrasi untuk masing-masing konsentrasi. Sampel dipipet kedalam masing-masing vial sebanyak 0,5 mL, lalu pelarut diuapkan hingga mengering. Selanjutnya, kedalam masing-masing vial ditambahkan 50 μL DMSO dan sedikit air laut. Setelah itu, sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan kedalam vial tersebut dan ditambah air laut hingga batas kalibrasi 5 mL.

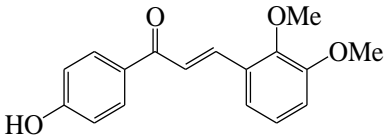
Tingkat toksisitas diukur dengan cara menghitung jumlah larva udang yang mati dalam selang waktu 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan perlakuan yang sama untuk masing-masing konsentrasi. Data yang diperoleh dianalisis untuk menentukan nilai LC_{50} dengan metode kurva menggunakan tabel analisis probit.

Kontrol negatif dalam uji BSLT disiapkan, sebanyak 50 μ L DMSO dipipet dengan pipet mikro dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan air laut sedikit. Kemudian dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dan ditambah air laut hingga batas kalibrasi 5 mL.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Senyawa Kalkon

Tabel 1. Sifat fisik senyawa kalkon

Struktur	Rumus Molekul	Rendemen (%)	Titik Leleh ($^{\circ}$ C)	Warna Kristal
	$C_{17}H_{16}O_4$	74,6	149-150	Kuning

Senyawa CL1 yang telah murni kemudian dianalisis strukturnya menggunakan spektroskopi UV, FTIR, 1 H-NMR dan HRMS. Serapan maksimum pada spektrum UV untuk senyawa CL1 terlihat pada λ 213, 229 dan 325 nm. Hal ini menunjukkan terjadinya eksitasi elektron dari $n-\pi^*$ untuk karbonil dan $\pi-\pi^*$ untuk kedua gugus aromatik pada senyawa

kalkon. Selain itu, hal ini juga menunjukkan bahwa pada senyawa CL1 ada ikatan rangkap terkonjugasi. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi terdapat pada senyawa kalkon maka energi ikatannya menjadi semakin lemah sehingga panjang gelombang

Penelitian ini mensintesis senyawa senyawa (*E*)-3-(2, 3- dimetoksifenil)-1-(4' -hidroksifenil) prop-2-en-1-on (CL1). Senyawa murni yang diperoleh berupa kristal tak beraturan berwarna kuning dengan berat 1,0599 gram dan rendemen 74,6%. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditunjukkan dengan hasil KLT satu noda pada perbandingan eluen n-heksana: etil asetat: kloroform (6: 2: 2) dengan Harga $R_f = 0,60$. Selain itu, didukung oleh hasil kromatogram HPLC yang satu puncak pada λ 240 nm, t_R : 11 menit dan λ 360 nm, t_R : 11 menit dan titik leleh 149-150 $^{\circ}$ C. Lebih jelasnya dapat dilihat pada **Tabel 1**.

yang dihasilkan semakin besar. Spektrum FTIR senyawa CL1 memperlihatkan adanya vibrasi pada bilangan gelombang 3106 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus O-H, vibrasi pada bilangan gelombang 3089 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H aromatik, vibrasi pada bilangan gelombang 2906 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H alifatik, vibrasi pada bilangan gelombang 1646 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O, vibrasi pada bilangan gelombang 1090 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O metoksi dan vibrasi pada bilangan gelombang 1031 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O alkohol. Lebih jelasnya dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Data spektrum FTIR, HRMS dan 1 H-NMR senyawa kalkon

Data Spektrum 1 H-NMR (300 MHz, Dimetilsulfoksida, δ (ppm))	Data Spektrum IR (KBr, cm^{-1})	Data Spektrum MS (m/z)
8,04 (d, 1H, Ar-6'-H); 8,04 (d, 1H, Ar-2'-H); 7,92 (d, 1H $_{\beta}$, $J_{\beta} = 15,7$ Hz); 7,84 (d, 1H $_{\alpha}$, $J_{\alpha} = 15,75$ Hz); 7,58 (t, 1H, Ar-5-H); 7,13 (m, 1H, Ar-4-H); 7,13 (m, 1H, Ar-6-H); 6,89 (d, 1H, Ar-5'-H); 6,89 (d, 1H, Ar-3'-H); 3,83 (s,	3106 (O-H); 3089 (C-H aromatik); 2906 (C-H alifatik); 1646 (C=O); 1570 (C=C); 1090 (C-O metoksi)	285,1127

Data Spektrum ¹ H-NMR (300 MHz, Dimetilsulfoksida, δ (ppm))	Data Spektrum IR (KBr, cm ⁻¹)	Data Spektrum MS (m/z)
3H, Ar-2-OCH ₃) dan 3,78 (s, 3H, Ar-3-OCH ₃)	dan 1031 (C-O alkohol)	

Spektrum ¹H-NMR senyawa CL1 memperlihatkan adanya pergeseran kimia pada δ 8,04 ppm (d, 2H), hal ini menunjukkan adanya proton H yang simetris pada gugus aromatik posisi C-2' dan C-6' dengan puncak *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 6,89 ppm (d, 2H) juga menunjukkan adanya proton H yang simetris pada gugus aromatik posisi C-3' dan C-5' dengan puncak juga *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,84 ppm (d, 1H, $J = 15,75$ Hz) dan 7,92 ppm (d, 1H, $J = 15,7$ Hz) berturut-turut memperlihatkan adanya proton H pada C _{α} dan C _{β} , harga kopling (J) menunjukkan bahwa ikatan rangkap pada C _{α} dan C _{β} mempunyai konfigurasi trans. Pergeseran kimia pada δ 7,13 ppm (m, 1H) menunjukkan proton H pada gugus aromatik posisi C-4 dengan puncak *multiplet*. Pergeseran kimia pada δ 7,58 ppm (t, 1H) menunjukkan proton H pada gugus aromatik posisi C-5 dengan puncak *triplet*. Pergeseran kimia pada δ 7,13 ppm (m, 1H) menunjukkan proton H pada gugus aromatik posisi C-6 dengan puncak *multiplet*. Pergeseran kimia pada δ 3,83 ppm (s, 3H) menunjukkan proton H pada metoksi (OCH₃) posisi C-2 dari gugus aromatiknya, sedangkan pergeseran kimia δ 3,78 ppm (s, 3H) menunjukkan proton H pada

Spektrum HRMS senyawa CL1 menunjukkan adanya puncak ion molekul yang dihitung sebagai C₁₇H₁₆O₄ (M+H)⁺ pada 285,1127 m/z dan yang ditemukan pada spektrum massa 285,1132 m/z, lihat **Tabel 2**. Selisih massa molekul tersebut 0,0005. Berdasarkan puncak ion molekul yang dihitung dan yang ditemukan dalam spektrum MS tersebut, didapatkan selisih massa antara keduanya sangat kecil. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kalkan yang telah disintesis telah murni dan mempunyai struktur sesuai dengan yang diharapkan.

Uji Toksisitas

Aktivitas toksisitas senyawa kalkan yang

telah disintesis diuji dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian aktivitas toksisitas suatu senyawa dengan metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan ujinya. Hal ini dikarenakan pertumbuhan larva *Artemia salina* Leach dapat dikorelasikan dengan pertumbuhan suatu sel kanker. Pergerakan zat-zat menembus membran sel sangat penting bagi kehidupan sel.

Zat-zat tertentu jika dapat menembus membran sel, maka akan masuk kedalam sel dan dapat merusak sel, sehingga hal ini dapat menyebabkan kematian sel.

Senyawa CL1 diuji pada konsentrasi 1000, 100 dan 10 μ g/mL. Perbedaan konsentrasi ini dimaksudkan untuk mengetahui tingkat aktivitas toksisitas masing-masing senyawa terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Data hasil uji toksisitas dari tiga senyawa kalkan terhadap larva *Artemia salina* Leach dianalisis untuk menentukan nilai LC₅₀ dengan metode analisis probit. Pada metode BSLT, senyawa murni dianggap menunjukkan aktivitas toksisitas bila mempunyai nilai LC₅₀ kecil dari 200 μ g/mL (Anderson and Mclaughlin, 1991).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa senyawa CL1 tidak memiliki aktivitas toksisitas, hal ini dapat dilihat dari nilai LC₅₀ = 291,789 μ g/mL (> 200 μ g/mL).

4. KESIMPULAN

Senyawa (*E*)-3-(2,3-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)prop-2-en-1-on disintesis menghasilkan rendemen 74,6%. Berdasarkan hasil analisis struktur menggunakan spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR dan HRMS, senyawa kalkan yang diperoleh dari hasil penelitian sesuai dengan senyawa target yang diharapkan. Senyawa CL1 memiliki nilai LC₅₀ = 291,789 μ g/mL. Berdasarkan nilai LC₅₀ tersebut dapat

diketahui bahwa senyawa CL1 tidak berpotensi sebagai antikanker.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E and Mclaughlin J.L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicity as Antitumor Prescreens. *Pytochem An.* **2**(3): 107-111.
- Brahmana, E.M., Teruna, H.Y dan Zamri, A. 2013. Sintesis dan Uji Toksisitas Senyawa (*E*)-1-(3-Bromofenil)-3-(4-Klorofenil)prop-2-en-1-on. *Jurnal Indonesian Chemia Acta.* **4**(1):21-25.
- Chen, Y.H., Wang, W.H., Wang, Y.H., Lin, Z.Y., Wen, C.C and Chern, C.Y. 2013. Evaluation of the Anti-Inflammatory Effect of Chalcone and Chalcone Analogues in a Zebrafish Model. *Molecules.* **18**(1): 2052-2060.
- Choudhary, A.N and Juyal, V. 2011. Synthesis of Chalcone and Their Derivates as Antimicrobial Agents. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* **3**(3): 125-128.
- Dyrager, C. 2012. Design and Synthesis of Chalcone and Chromone Derivatives as Novel Anticancer Agents. *Tesis.* University of Gothenburg, Swiss.
- Eryanti, Y., Zamri, A., Jasril dan Rahmita. 2010. Sintesis Turunan 2'-hidroksi Kalkon melalui Kondensasi Claisen-Schmidt dan Uji Aktivitasnya sebagai Antimikroba. *Jurnal Natur Indonesia.* **12**(2): 223-227.
- Kamble, V.M., Hatnapure, G.D., Keche, A.P., Biradjar, S., Patil, S.G., Tale, R.H., Rodge, A.H., Turkar, S.S and Gour, K. 2011. Synthesis and Biological Evaluation of a Novel Series of Methoxylatedchalcone as Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* **3**(6): 639-648.
- Oktavani, J., Teruna, H.Y dan Jasril. 2014. Sintesis Kalkon Piridin dan Turunannya dari Asetilpiridin dan Indol-3-Karbaldehid serta Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan. *Jurnal Online Mahasiswa FMIPA.* **1**(2):100-104.
- Pan, Y., Chen, Y., Yu, X., Wang, J., Zhang, L., He, Y., Zheng, Y and Zheng, J. 2012. The Synthesis of a Novel Chalcone and Evaluation for Antifree Radical Activity and Antagonizing the Learning Impairments in Alzheimer's Model. *Cellular Physiology and Biochemistry.* **29**(3):949-958.