

SINTESIS SENYAWA KALKON TURUNAN 4'-METOKSIASETOFENON DAN UJI TOKSISITAS DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Raja Mutya Gasella¹, Yum Eryanti² dan Adel Zamri³

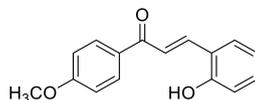
1. Mahasiswa Program S1 Kimia FMIPA Universitas Riau

2,3. Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

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

ABSTRAK

Senyawa kalkonturunan 4'-metoksiasetofenon (*E*)-1-(4'-metoksifenil)-3-(2-hidroksifenil)prop-2-en-1-on (RMG₁) telah disintesis dari senyawa 4'-metoksiasetofenon dan 2-hidroksibenzaldehid dibawah iradiasi gelombang mikromenggunakan kalium hidroksida sebagai katalis. Struktur senyawa kalkon dikonfirmasi berdasarkan interpretasi data spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR, dan MS. Aktivitas toksisitas senyawa kalkon ditentukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva *Artemiasalina* Leach dan menunjukkan aktivitas dengan nilai LC₅₀ = 1,58 x 10²⁹ µg/mL dan menunjukkan bahwa senyawa kalkon RMG₂ tidak memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai LC₅₀ diatas 200 µg/mL.



(RMG₁)

Kata Kunci: *Brine Shrimp Lethality Test*, kalkon, sintesis.

1. PENDAHULUAN

Senyawa kalkon merupakan senyawa metabolit sekunder dengan dua cincin aromatik dihubungkan oleh sistem karbonil α,β -takjenuh (Patilet *al.*, 2009). Senyawa kalkon juga dikenal sebagai senyawa intermediet untuk sintesis bermacam-macam senyawa heterosiklik seperti flavon, flavanol, dan flavanon (Tiwari *et al.*, 2010).

Kalkon tersebar diberbagai family tanaman, namun jumlahnya terbatas disbanding dengan senyawa flavonoid lain karena senyawa ini termasuk dalam kategori minor flavonoid dan persentasenya dalam tumbuhan juga kecil serta variasi strukturnya relative sedikit. Senyawa kalkon baik yang diperoleh melalui sintesis maupun dari bahan alam dianggap sebagai molekul yang sangat berharga dalam bidang farmasi, untuk mengetahui potensi aktivitas senyawa kalkon, dibutuhkan senyawa kalkon dalam jumlah yang cukup dengan variasi struktur yang beragam. Oleh karena itu, sintesis menggunakan reaksi aldol di laboratorium merupakan solusi terbaik untuk mendapatkan dan mengetahui potensi aktivitas senyawa kalkon.

Handayani (2013) melakukan penelitian terhadap senyawa kalkon yang mengandung gugus metoksi. Senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas toksisitas yang baik sehingga berpotensi sebagai antikanker.

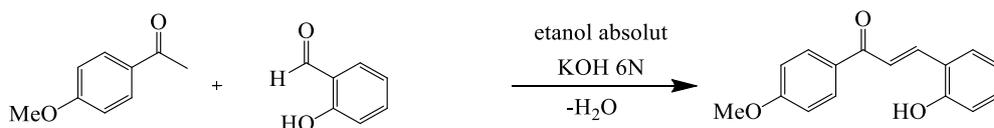
Oleh karena itu, pada penelitian ini disintesis senyawa kalkon menggunakan bahan baku senyawa aldehid aromatik yaitu senyawa 2-hidroksibenzaldehid dengan senyawa keton 4'-metoksiasetofenon menggunakan iradiasi gelombang mikro, kemudian diuji potensi antikankernya melalui toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2. METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

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



Gambar 1. Sintesis senyawa kalcon

Rancangan Penelitian

Sintesis senyawa kalcon dilakukan dalam satu tahap reaksi melalui kondensasi *Claisen-Schmidt* antara senyawa 4'-metoksi asetofenon dengan 2-hidroksibenzaldehid dengan bantuan iradiasi gelombang mikro menggunakan katalis KOH dan pelarut etanol absolut seperti terlihat pada Gambar 1.

Prosedur Kerja Sintesis

Senyawa 4'-metoksiasetofenon (5 mmol) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan etanol absolut (5 mL), kemudian ditambahkan KOH 6N (5 mL). Setelah itu, ditambahkan senyawa 2-hidroksibenzaldehid (5 mmol). Campuran ini diiradiasi dengan gelombang mikro selama 12 menit dengan diuji KLT setiap 1 menit. Campuran didiamkan selama \pm 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 direkrustalisasi dengan pelarut etanol lalu diuji 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 μ g/mL), kemudian dari larutan induk dibuat konsentrasi yang berbeda 1000 μ g/mL, 100 μ g/mL dan 10 μ g/mL dengan cara pengenceran bertingkat. Kemudian disiapkan vial 5 mL yang sudah dikalibrasi untuk masing-masing konsentrasi. Sampel dipipet ke dalam masing-masing vial sebanyak 0,5 mL, lalu pelarut

diuapkan hingga mengering. Selanjutnya, ke dalam masing-masing vial ditambahkan 50 μ L DMSO dan sedikit air laut. Setelah itu, sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam 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 LC₅₀ dengan metode kurva menggunakan tabel analisis probit.

Kontrol negatif dalam uji BSLT disiapkan, sebanyak 50 μ L DMSO dipipet dengan pipet mikro dimasukkan ke dalam 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 Kalcon

Senyawa kalcon (*E*)-3-(2-hidroksifenil)-1-(4'-metoksifenil)-prop-2-en-1-on (RMG₁) telah berhasil disintesis. Senyawa murni yang diperoleh berupa kristal berwarna orange dengan berat 0,8326 gram dan rendemen 65,56%. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditunjukkan

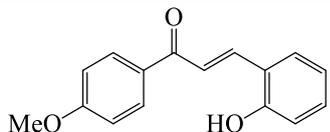
dengan hasil KLT satu noda pada perbandingan eluenn-heksana: etil asetat (8: 2) dengan Harga $R_f = 0,50$. Selain itu, didukung oleh hasil kromatogram HPLC yang satu puncak pada λ 240 nm, t_R : 14,5 menit dan λ 365 nm, t_R : 14,5 menit dan titik leleh 139-140°C. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Senyawa RMG₁ yang telah murni kemudian dianalisis strukturnya menggunakan spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR dan HRMS. Serapan maksimum pada spektrum UV untuk senyawa RMG₁ terlihat pada λ 207, 309 dan 348 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 RMG₁ ada ikatan rangkap terkonjugasi. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi terdapat pada senyawa kalkon maka energi ikatannya menjadi semakin lemah sehingga panjang gelombang yang dihasilkan semakin besar. Spektrum FTIR senyawa RMG₁ memperlihatkan adanya vibrasi pada bilangan gelombang 3210 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus O-H, vibrasi pada bilangan gelombang 3063 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H aromatik, vibrasi pada bilangan gelombang 1582 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C alifatik, vibrasi pada bilangan

gelombang 1640 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O, vibrasi pada bilangan gelombang 1171 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O metoksi. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Spektrum ¹H-NMR senyawa RMG₁ menunjukkan bahwa jumlah proton dari senyawa tersebut sesuai dengan yang diharapkan, dapat dilihat pada Tabel 4. Pergeseran kimia pada δ 6,99 ppm (dd, $J_a=8,15$ Hz; $J_b= 1,1$ Hz) menunjukkan proton H pada posisi C-3 dan C-5. Pergeseran kimia pada δ 7,26 (dt, $J_a=8,55$ Hz; $J_b= 7,6$ Hz) menunjukkan proton H pada posisi C-4. Pergeseran kimia pada δ 7,79 (dd, $J_a=7,8$ Hz; $J_b= 1,7$ Hz) menunjukkan proton H pada posisi C-6. Pergeseran kimia pada δ 7,88 ppm (d, 1H, $J=15,7$ Hz) dan δ 8,14 ppm (d, 1H, $J=16,05$ Hz) berturut-turut memperlihatkan proton H pada C _{α} dan C _{β} . Pergeseran kimia pada δ 8,12 (td, td, $J= 9$ Hz) menunjukkan posisi H pada C-2' dan C-6'. Pergeseran kimia pada δ 7,06 (dt, $J_a=8,85$ Hz) menunjukkan posisi proton H pada C-3' dan C-5'. Proton H pada gugus metoksi (s, 3H) terdapat pada pergeseran kimia δ 3,90 dan proton H pada gugus hidroksi (s, 1H) terdapat pada pergeseran kimia δ 9,14 ppm. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Sifat fisik senyawa kalkon

Struktur	Rumus Molekul	Rendemen (%)	Titik Leleh (°C)	Warna Kristal
	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	65,56	139-140	Orange

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

Data Spektrum ¹ H-NMR (500 MHz, Dimetilsulfoksida, δ (ppm))	Data Spektrum IR (KBr, cm^{-1})	Data Spektrum MS (m/z)
6,99 (dd, $J_a=8,15$ Hz; $J_b= 1,1$ Hz); 7,26 (dt, $J_a=8,55$ Hz; $J_b= 7,6$ Hz); 6,91 (dt, $J_a= 8,7$ Hz; $J_b= 1,15$ Hz); 7,79 (dd, $J_a=7,8$ Hz; $J_b= 1,7$ Hz); 7,88 (d, $J=15,7$ Hz); 8,14 (d, $J=16,05$ Hz); 8,12 (td, td, $J= 9$ Hz); 7,06 (dt, $J_a=8,85$ Hz); 7,06 (dt, $J_a=8,85$ Hz); 8,12 (td, $J= 9$ Hz); 9,14 ppm (s, 1H); 3,90 ppm (s, 3H)	3210 (O-H); 3063 (C-H aromatik); 1582 (C=C alifatik); 1640 (C=O); 1171 (C-O metoksi)	255,1021

Spektrum HRMS senyawa RMG₁ menunjukkan adanya puncak ion molekuler yang

dihitung sebagai C₁₆H₁₅O₃ (M+H)⁺ pada 255,1020 m/z dan yang ditemukan pada spektrum

massa 255,1021 m/z , lihat Tabel 2. Selisih massa molekul tersebut 0,0001. 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 kalkon yang telah disintesis telah murni dan mempunyai struktur sesuai dengan yang diharapkan.

Uji Toksisitas

Senyawa RMG₁ diuji pada konsentrasi 1000, 100 dan 10 $\mu\text{g/mL}$. 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 kalkon 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 $\mu\text{g/mL}$ (Anderson and Mclaughlin, 1991).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa senyawa RMG₁ tidak memiliki aktivitas toksisitas, hal ini dapat dilihat dari nilai LC₅₀ senyawa RMG₁ yang lebih dari 200 $\mu\text{g/mL}$ ($1,58 \times 10^{29}$ $\mu\text{g/mL}$).

4. KESIMPULAN

Senyawa kalkon (*E*)-3-(2-hidroksifenil)-1-(4'-metoksifenil)-prop-2-en-1-on telah berhasil disintesis dan menghasilkan rendemen 65,56%. Berdasarkan hasil analisis struktur menggunakan spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR dan HRMS, senyawa kalkon yang diperoleh dari hasil penelitian sesuai dengan senyawa target yang diharapkan. Senyawa RMG₁ memiliki nilai LC₅₀ = $1,58 \times 10^{29}$ $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai LC₅₀ tersebut dapat diketahui bahwa senyawa RMG₁ tidak berpotensi sebagai antikanker.

5. DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, R.M., Sastry, G.V., Bano, N., Ravichandra, S., and Raghavendra, M. 2011. Synthesis and Cytotoxic, Antioxidant Activities of New Chalcone Derivatives. *Rasayan Journal Chem.* **4**(2): 289-294.

Bano, S., Javed, K., Ahmad, S., Rathish, I. G., Singh, S., Chaitanya, M., Arunasree, K. M., & Alam, M. S. 2013. Synthesis of some novel chalcon, flavanones and flavones and evaluation of their anti-Inflammantory activity. *European Journal of Medical Chemistry.* **65**: 51-59

Budimawarti, C. & Handayani, S. 2010. Efektivitas katalis asam basa pada sintesis 2-hidroksikalkon, senyawa yang berpotensi sebagai zat warna. *Juridik kimia UNY.*

Fox, R. 2004. *Statistic Acute Toxicity Bioassay Laboratory Exercise.* Laboratory Ecologi Pages. 306.

Handayani, S., Teruna, H.Y. and Zamri, A. 2013. Sintesis Analog Kalkon (*E*)-3-(2-klorofenil)-1-(4'-metoksifenil)-prop-2-en-1-on dan Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J. Ind. Chem. Acta.* **4**(1): 17-20.

Indiastuti, D.N., Purwaningsih, S., Setiawati, Y., dan Cholies, N. 2008. Skrining Pendahuluan Toksisitas Beberapa Tumbuhan Benalu terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* **6**(2): 81-85.

Jayapal, M.R., Prasad, K.S., dan Sreedhar, N.Y. 2010. Synthesis and Characterization of 2,6-Dihydroxy Substituted Chalcones Using PEG-400 as a Recyclable Solven. *Journal of Pharmaceutical Science and Research.* **2**(8): 450-458.

Kim, Y.H., Kim, J., Park, H., and Kim, H.P. 2007. Anti-inflammatory Activity of the Synthetic Chalcone Derivatives: Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase-Catalyzed Nitric Oxide Production from Lipopolysaccharide-Treated RAW 264.7 Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* **30**(8): 1450-1455.

Oktavani, J., Teruna, H.Y dan Jasril. 2014. Sintesis Kalkon Piridin dan Turunannya dari Asetilpiridin dan Indol-3-Karbaldehid serta Uji Aktivasnya sebagai Antioksidan. *Jurnal Online Mahasiswa FMIPA.* **1**(2):100-104.

Patil, C.B., Maharjan, S.K., and Katti, S.A. 2009.
Chalcone: A Versatile Molecule. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. **1**(3): 11-12.

Tiwari, B., Pratapwvar, A. S., Tapas, A. R.,

Butle, S. R., & Vatkar, B. S. 2010.
Synthesis and Antimicrobial activity of some chalcone derivates. *International Journal of ChemTech Research*. **1**(2): 499-503.