

SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA ANALOG KALKON DARI 4'-HIDROKSIASETOFENON DENGAN 2-METOKSIBENZALDEHID

Denaria Oktavia¹, Nur Balatif², Adel Zamri²

1. Mahasiswa Program S1 Kimia FMIPA-Universitas Riau

2. Dosen Jurusan Kimia FMIPA-Universitas Riau

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Email: adel.zamri@lecturer.unri.ac.id

ABSTRAK

Senyawa kalkon (*E*)-1-(4'-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on (DO) telah disintesis melalui kondensasi *Claisen-Schmidt* antara 4'-hidroksiasetofenon dengan 2-metokibenzaldehid menggunakan katalis basa (KOH) dibawah iradiasi gelombang mikro. Struktur senyawa dikarakterisasi berdasarkan interpretasi data spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR dan MS. Uji toksisitas senyawa kalkon ditentukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva *Artemia salina* Leach dan menunjukkan aktivitas dengan nilai LC₅₀ yaitu 49,54 µg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa DO memiliki aktivitas toksisitas yang cukup baik karena memiliki nilai LC₅₀ < 200 µg/mL.

Kata kunci: kalkon, gelombang mikro, BSLT

1. PENDAHULUAN

Kalkon atau 1,3-difenil-2-propen-1-on merupakan rantai terbuka flavonoid yang kedua cincin aromatikanya dihubungkan oleh tiga atom karbon sistem karbonil α , β tak jenuh (Patil *et al.*, 2009). Adanya sistem karbonil α , β tak jenuh menyebabkan kalkon memiliki banyak aktivitas biologis, beberapa diantaranya adalah antikanker (Syam *et al.*, 2012), analgesik, antijamur, sitotoksik, insektisidal (Ahmed *et al.*, 2011), anti-inflamasi, antioksidan (Chen *et al.*, 2013), antimalarial dan antimikroba (Kamble *et al.*, 2011), larvisidal serta inhibitor beberapa enzim terutama alfa-amilase pada mamalia, siklo-oksigenase dan monoamin oksidase (Rahman, 2011).

Senyawa kalkon terdistribusi dalam buah-buahan, sayur-sayuran, rempah-rempah, teh dan kedelai. Kalkon di alam jumlahnya relatif sedikit dan variasi strukturnya terbatas. Selain itu, isolasi senyawa kalkon dari alam membutuhkan waktu yang lama dan pengerjaannya cukup rumit. Sintesis merupakan solusi yang tepat untuk mengatasi permasalahan tersebut. Senyawa kalkon dapat disintesis melalui kondensasi aldol dari suatu keton aromatik dan aldehid aromatik baik dalam kondisi asam maupun basa. Beberapa kalkon sudah pernah disintesis menggunakan metode konvensional

yaitu gerus dan pengadukan, namun karena membutuhkan waktu yang lama, diperlukan alternatif lain agar proses sintesis berlangsung lebih cepat dan senyawa kalkon yang dihasilkan maksimal. Metode iradiasi gelombang mikro merupakan metode non-konvensional yang diyakini dapat menjadi alternatif pengganti metode konvensional tersebut, dikarenakan waktu reaksi yang lebih cepat dan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode-metode lainnya (Revathi *et al.*, 2013).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Desmiarti (2012), senyawa dengan substituen metoksi baik pada cincin A maupun B memiliki aktivitas toksisitas yang baik. Ritriani (2011), Hastiningrum (2013) dan Prayitno (2015) juga melakukan penelitian terhadap senyawa kalkon yang mengandung gugus metoksi. Menurut Ritriani (2011) kalkon dengan substituen monometoksi memiliki nilai LC₅₀ yang lebih kecil sehingga lebih berpotensi sebagai antikanker, oleh karena itu penulis tertarik melakukan penelitian tentang aktivitas toksisitas senyawa kalkon tersubstitusi monometoksi dengan posisi substituen yang berbeda pada cincin aromatik B.

Senyawa hasil sintesis dikarakterisasi berdasarkan interpretasi data spektroskopi UV-Vis, FTIR, ¹H NMR dan MS, kemudian diuji

sifat toksiknya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), suatu tanaman atau hasil isolasi dianggap menunjukkan aktivitas sitotoksik yang baik jika mempunyai nilai LC_{50} kecil dari 1000 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan untuk senyawa murni dianggap menunjukkan aktivitas sitotoksik bila mempunyai nilai LC_{50} kecil dari 200 $\mu\text{g/mL}$ (Meyer, 1982).

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Microwave* (Samsung ME 109F 500 MHz), alat pengukur titik leleh *Fisher John* (SMP 11-Stuart®), lampu 254/366 nm (Camag®), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis v4.002 2L9N175013), HPLC (Shimadzu LCsolution jenis kolom *shim-pack* VP-ODS dengan panjang diameter 150 x 4,6 mm), spektrofotometer IR (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ (Agilent 500 MHz DD2), spektroskopi Massa (water LCT premier XE mode positif), serta alat-alat untuk sintesis dan uji toksisitas yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu 4'-hidroksiasetofenon (Aldrich), 2-metoksibenzaldehid (Merck), kalium hidroksida (KOH) 6N (Merck), asam klorida (HCl) 3N (Merck), indikator universal, n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), methanol (Merck), etanol absolut (Merck), plat KLT GF₂₅₄, akuades dan larva *Artemia salina* L.

Sintesis senyawa kalkon

Sebanyak 5 mmol 4'-hidroksiasetofenon ditempatkan dalam wadah Erlenmeyer 125 mL, kemudian dilarutkan dengan 7,5 mL etanol absolut dan ditambahkan dengan 12,5 mL larutan KOH 6N. Campuran didiamkan selama 2 menit, lalu ke dalam campuran dimasukkan sebanyak 5 mmol 2-metoksibenzaldehid. Campuran ini di-iradiasi gelombang mikro selama 10 menit dengan daya 180 watt. Reaksi dipantau melalui uji KLT setiap 2 menit. Kemudian campuran didiamkan selama 20 jam untuk menyempurnakan reaksi. Setelah 20 jam, campuran ditambahkan 15 mL akuades dingin

dan pH campuran dinetralkan dengan HCl 3N. Campuran dibiarkan di dalam lemari pendingin untuk memaksimalkan hasil reaksi (endapan) yang diperoleh. Endapan yang terbentuk kemudian disaring menggunakan corong *buchner* sambil dicuci dengan akuades dan n-heksana dingin, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Rekrystalisasi dilakukan dengan menggunakan etanol. Kemurnian senyawa ditentukan dengan 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 0,5 mL air laut. 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 tiga kali pengulangan dengan perlakuan yang sama untuk masing-masing konsentrasi. Kemudian LC_{50} dihitung dengan metode kurva menggunakan tabel analisis probit.

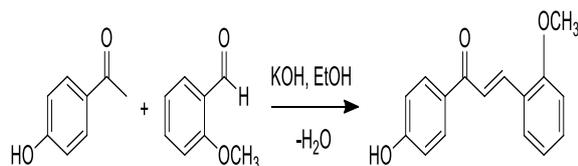
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis univariat digunakan untuk menggambarkan pemberian ASI eksklusif pada bayi usia 0 - 6 bulan terhadap pengetahuan dan sikap.

Sintesis senyawa kalkon

Senyawa kalkon disintesis melalui reaksi kondensasi aldol dari senyawa awal 4'-hidroksiasetofenon dan 2-metoksibenzaldehid menggunakan iradiasi gelombang mikro dan penambahan katalis KOH. Senyawa kalkon yang diperoleh dimurnikan dengan rekrystalisasi.

Sintesis senyawa DO dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Sintesis Senyawa DO

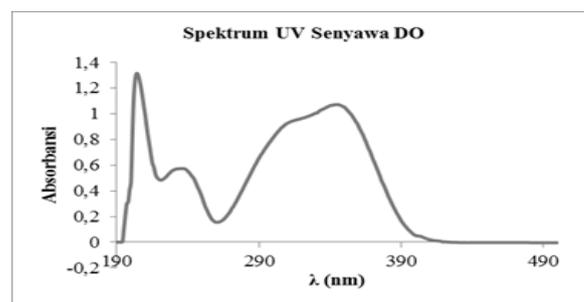
Sintesis yang telah dilakukan menghasilkan senyawa kalkon berupa padatan berwarna kuning dengan berat sebesar 1,1704 g dan rendemen yang dihasilkan sebesar 92,07%. Sifat fisika dari senyawa kalkon yang dihasilkan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Sifat fisika senyawa DO

Senyawa	Rumus molekul	Berat molekul	Warna	Rendemen (%)	Titik leleh (°C)
Kalkon (DO)	C ₁₆ H ₁₅ O ₃	254,1021	kuning	92,07	186 – 187

Analisis kemurnian senyawa kalkon dilakukan menggunakan uji KLT, titik leleh, dan HPLC. Analisis kemurnian dengan KLT dilakukan menggunakan eluen yang bervariasi dan perbandingan yang berbeda. Senyawa kalkon menunjukkan satu noda pada plat KLT. Noda pada KLT diamati dengan bantuan lampu UV (λ 254 nm dan 366 nm). Analisis kemurnian dengan titik leleh menunjukkan bahwa senyawa memiliki *range* titik leleh sebesar 1°C. Analisis kemurnian senyawa kalkon menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 236 nm dan 345 nm menunjukkan satu puncak dominan pada $t_R=11$ menit. Berdasarkan data analisis kemurnian tersebut menunjukkan bahwa senyawa kalkon yang diperoleh telah murni.

Spektrum UV senyawa kalkon (DO) memperlihatkan adanya serapan maksimum pada λ 204; 236 dan 345 nm (**Gambar 2**). Berdasarkan nilai serapan maksimum senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Spektrum IR senyawa kalkon memperlihatkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3086 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-H aromatik. Serapan pada bilangan gelombang 3193 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus O-H. Serapan pada bilangan gelombang 2907 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-H alifatik. Gugus C=O terdapat pada serapan bilangan gelombang 1648 cm⁻¹. Gugus C=C aromatik diperlihatkan pada serapan bilangan gelombang 1517 cm⁻¹. Sedangkan gugus C-O diperlihatkan pada serapan bilangan gelombang 1034 cm⁻¹.



Gambar 2. Spektrum UV senyawa DO dalam pelarut metanol

Spektrum ¹H-NMR senyawa kalkon menunjukkan bahwa jumlah proton dari senyawa tersebut sesuai dengan yang diharapkan, dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Interpretasi data ¹H-NMR senyawa DO

Nomor Atom	Senyawa DO
	δ_H (ppm)
1	-
2	-
3	6,99 (d, 1H)
4	7,43 (dt, 1H, $J = 7,5$ Hz)
5	7,03 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz)
6	7,85 (dd, 1H, $J_a = 1,35$ Hz; $J_b = 7,75$ Hz)
C α	7,86 (d, 1H $_{\alpha}$, $J = 15,7$ Hz)
C β	8,13 (d, 1H $_{\beta}$, $J = 15,75$ Hz)
1'	-
2'	8,08 (dd, 1H, $J_a = 1,8$ Hz; $J_b = 8,7$ Hz)
3'	7,11 (d, 1H, $J = 8,25$ Hz)
4'	-
5'	7,11 (d, 1H, $J = 8,25$ Hz)
6'	8,08 (dd, 1H, $J_a = 1,8$ Hz; $J_b = 8,7$ Hz)
-OCH ₃	3,96 (s, 3H)

Pergeseran kimia pada δ 6,99 ppm (d, 1H) menunjukkan proton H pada posisi C-3 dengan puncak *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,43 ppm (dt, 1H, $J = 7,5$ Hz) menunjukkan proton H dengan puncak *doublet of triplet* pada posisi C-4. Pergeseran kimia pada δ 7,03 ppm (t, 1H, $J = 7,5$ Hz) menunjukkan proton H dengan puncak triplet pada posisi C-5. Pergeseran kimia pada δ 7,85 (dd, 1H, $J_a = 1,35$ Hz; $J_b = 7,75$ Hz) menunjukkan proton H dengan puncak *doublet of doublet* pada posisi C-6. Pergeseran kimia pada δ 7,86 ppm (d, 1H, $J = 15,7$ Hz) dan δ 8,13 ppm (d, 1H, $J = 15,75$ Hz) dengan puncak *doublet* berturut-turut memperlihatkan proton H dengan puncak *doublet of doublet* pada posisi C-2' dan C-6'. Pergeseran kimia δ 7,11 ppm (d, 1H, $J = 8,25$ Hz) menunjukkan proton dengan puncak *doublet* pada posisi C-3' dan C-5'. Pergeseran kimia δ 3,96 ppm (s, 3H) menunjukkan proton dengan puncak singlet untuk gugus metoksi, -OCH₃. Proton yang terdapat pada C _{α} dan C _{β} memiliki nilai tetapan kopling (J) 15-16 Hz dengan puncak *doublet*. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ikatan rangkap pada C _{α} dan C _{β} mempunyai konfigurasi trans.

Berat molekul kalkon ditunjukkan oleh spektrum massa yang dihitung sebagai C₁₆H₁₅O₃ [M+H]⁺ dengan puncak ion molekul m/z 255,1021 dan massa terukur ditemukan pada m/z 255,1024, selisih massa: 0,0003. Selisih massa senyawa kalkon sangat kecil sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa kalkon tersebut murni.

Uji toksisitas

Uji aktivitas toksisitas senyawa kalkon dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji toksisitas dari senyawa kalkon pada konsentrasi 1000, 100 dan 10 $\mu\text{g/mL}$ terhadap larva *Artemia salina* yang dianalisis dengan metode analisis probit tingkat potensi toksisitas senyawa kalkon dengan nilai LC₅₀ sebesar 49,54 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil uji aktivitas toksisitas, senyawa kalkon berpotensi sebagai senyawa antikanker karena memiliki nilai LC₅₀ < 200 $\mu\text{g/mL}$.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa kalkon diperoleh melalui reaksi kondensasi aldol *Claisen-Schmidt* menggunakan katalis basa (KOH) dibawah kondisi iradiasi gelombang mikro. Rendemen yang dihasilkan yaitu 92,07%. Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan MS menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian adalah murni dan merupakan senyawa kalkon dengan struktur yang diharapkan. Senyawa kalkon memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 49,54 $\mu\text{g/mL}$, hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa kalkon berpotensi sebagai senyawa antikanker. Namun penelitian lebih lanjut diperlukan pada penggunaan katalis lain yang hanya membutuhkan konsentrasi rendah dan volume yang sedikit

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, R.M., Sastry, G.V., Bano, N., Ravichandra, S., dan Raghavendra, M. 2011. Synthesis and Cytotoxic, Antioxidant Activities of New Chalcone Derivatives. *Rasayan Journal Chem.* 4(2): 289-294.
- Chen, Y.H., Wang, W.H., Wang, Y.H., Lin, Z.Y., Wen, C.C., dan Chern, C.Y. 2013. Evaluation of the Anti-Inflammatory Effect of Chalcone and Chalcone Analogues in a Zebrafish Model. *Molecules.* 18: 2052-2560.
- Desmiarti, Z. 2012. Sintesis dan Uji Toksisitas Senyawa Kalkon Turunan 4-Metoksi Asetofenon. *Skripsi.* Universitas Riau, Pekanbaru.
- Hastiningrum, W.P., Eryanti, Y., Zamri, A. 2013. Sintesis Senyawa Kalkon Analog 3,4-Dimetoksi Asetofenon Dan Uji Toksisitas Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi.* Universitas Riau, Pekanbaru.
- Kamble, V.M., Hatnapure, G.D., Keche, A.P., Biradjar, S., Patil, S.G., Tale, R.H., Rodge, A.H., Turkar, S.S. dan Gour, K. 2011. Synthesis and Biological

- Evaluation of a Novel Series of Methoxylatedchalcone As Antioxidant and Anti-microbial Agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3(6): 639-648.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E dan McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plants Consistent. *Journal of Plant Medical*. 45: 31-34.
- Prayitno, E. 2015. Sintesis dan Uji Toksisitas Tiga Analog Kalkon Tersubstitusi Metoksi. *JOM FMIPA*. 2(1).
- Rahman, M.A. 2011. Chalcone: A Valuable Insight into the Recent Advances and Potential Pharmacological Activities. *Chemical Sciences Journal*. 1-16.
- Ritriani. 2011. *Sintesis Senyawa Kalkon Turunan Metoksi Benzaldehid Dan Uji Aktivitas Sitotoksik Dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau Yayasan Universitas Riau, Pekanbaru.
- Syam, S., Abdelwahab, S.I., Al-Mamary, M.A., dan Mohan, S. 2012. Synthesis of Chalcones with Anticancer Activities. *Molecules*. 17: 6179-6195.