

TERAKTIVASI SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA ANALOG KALKON TURUNAN 3'-METOKSIASETOFENON DENGAN 3,4- DIMETOKSIBENZALDEHID

Riki Setiawan¹, Hilwan Yuda Teruna² 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

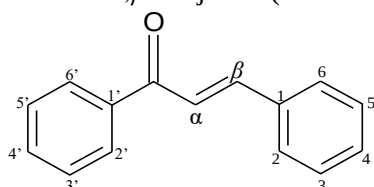
ABSTRAK

Senyawa kalkon merupakan senyawa bahan alam golongan flavonoid yang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang beragam. Senyawa ini tersusun atas dua cincin aromatik yang diubungkan oleh suatu sistem karbonil α , β tak jenuh. Beberapa bioaktivitas senyawa kalkon yang diketahui diantaranya adalah antiinflamasi, antitumor, antioksidan dan antimikroba. Senyawa (E)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(3'-metoksifenil)prop-2-en-1-on disintesis menggunakan metoda iradiasi gelombang mikro dari bahan dasar 3,4-dimetoksibenzaldehid dan 3'-metoksiasetofenon dalam pelarut etanol absolut dengan banuan katalis basa berupa KOH. Analisis struktur senyawa yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV, FTIR, HRMS dan ¹H-NMR. Rendemen senyawa yang diperoleh yaitu 76,60%. Hasil uji toksisitas menunjukkan potensi antikanker senyawa ini dengan nilai LC₅₀ = 79,268 μ g/mL.

Kata Kunci: kalkon, gelombang mikro, sintesis dan toksisitas

1. PENDAHULUAN

Kalkon merupakan salah satu jenis metabolit sekunder golongan flavonoid yang dihasilkan oleh tumbuhan dan merupakan senyawa flavonoid paling sederhana. Kalkon adalah salah satu golongan flavonoid yang memiliki sistem cincin terkonjugasi dengan ikatan rangkap C=C dan C=O. Sistem terkonjugasi ini secara teori memiliki panjang gelombang di sekitar tampak sehingga diperkirakan senyawa ini akan memiliki warna yang khas (Budimawarti & Handayani, 2010). Senyawa kalkon merupakan 1,3-difenil-2-propen-1-on. Kedua cincin aromatik pada senyawa tersebut dihubungkan oleh 3 atom karbon yang merupakan suatu sistem karbonil α , β tak jenuh (Patil *et al*, 2009).



(1)

Senyawa kalkon mengandung gugus etilen keto (-CO-CH=CH-) yang reaktif seperti terlihat pada gambar struktur umum senyawa kalkon (1).

Adanya gugus tersebut menyebabkan molekul kalkon mempunyai berbagai macam aktivitas biologis (Jayapal *et al.*, 2010). Beberapa contoh bioaktivitas senyawa kalkon misalnya sebagai antiinflamasi (Rahman, 2011), antitumor (Mukesh *et al.*, 2007), antikanker (Rullah, 2011), antioksidan (Ahmed *et al.*, 2011), antijamur (Yuharmen *et al*, 2011), dan antibakteri (Eryanti *et al.*, 2010).

Variasi struktur senyawa kalkon di alam sangat terbatas. Hal ini menyebabkan kajian terhadap aktivitas biologisnya masih terbatas pada senyawa-senyawa dengan variasi struktur tertentu. Untuk meningkatkan kajian terhadap aktivitas biologis tersebut, maka diperlukan variasi struktur dari senyawa kalkon yang lebih beragam. Metoda sintesis merupakan suatu cara yang dianggap mampu memberikan solusi terhadap permasalahan ini. Metoda sintesis lebih efektif untuk menghasilkan senyawa kalkon yang penggunaannya lebih maksimal. Metoda sintesis juga dapat menghasilkan berbagai struktur analog kalkon yang lebih variatif sehingga dapat diuji potensi aktivitas biologisnya.

Sintesis senyawa kalkon mulanya dilakukan dengan menggunakan metode sintesis konvensional dengan cara pengadukan (*stirrer*), gerus, dan refluks. Seiring dengan perkembangan teknologi dibidang sintesis senyawa organik, maka digunakanlah metode sintesis nonkonvensional dengan bantuan radiasi gelombang mikro (*microwave*). Metode ini dianggap lebih menguntungkan karena dapat mempercepat waktu reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasinya. Pertimbangan inilah yang kemudian menjadi dasar pemilihan metode sintesis senyawa kalkon pada penelitian ini. Penelitian ini dilakukan untuk mensintesis senyawa kalkon dari 3'-metoksiasetofenon dengan 3,4-dimetoksibenzaldehid dan uji toksisitasnya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

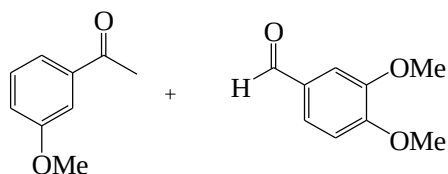
2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah UV-Vis (UVmini-1240 SHIMADZU, spektrofotometer tipe *Spectroquant Pharo 300*, SEM (ZEISS)EVO-50, oven (*Memmert*), *hotplate* (REXIM RSH-IDR AS ONE), sentrifuge, *stirrer*, *desikator*, pengaduk magnet, ayakan 200 mesh, neraca analitis, dan peralatan gelas sesuai prosedur kerja.

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 3'-metoksi asetofenon



Gambar 1. Sintesis senyawa kalkon

Prosedur Kerja Sintesis

Senyawa 3'-metoksiasetofenon (5 mmol) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan etanol absolut (5 mL) dan KOH 6N (5 mL). Kemudian campuran reaksi ini ditambahkan dengan senyawa 3,4-dimetoksibenzaldehid (5 mmol). Campuran ini kemudian diiradiasi gelombang mikro selama 9 menit. Tahapan reaksi dipantau dengan uji KLT setiap 1 menit. Produk sintesis kemudian ditambahkan aquades dingin sebanyak 15-20 mL

(Merck), 2,3-dimetoksi benzaldehid (Merck), Kalium hidroksida (KOH) 6N, etil asetat (EtOAc), n-heksana, metanol, kloroform, etanol absolut, asam klorida (HCl) 3N, dimetilsulfoksida (Merck), aquades, indikator universal, telur udang (*Artemia salina* Leach), dan air laut.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, *microwave* Samsung ME 109F, pompa vakum, corong buchner, plat KLT GF₂₅₄, alat pengukur titik leleh *Fisher John*, bejana KLT (*chamber*), lampu UV (254 dan 366 nm), pipet mikro, neraca analitik, kromatografi kolom, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Shimadzu LC solution jenis kolom *Shim-pack* VP-ODS dengan panjang dan diameternya yaitu 150x4,6 mm, spektrofotometer UV-Visible (Genesys 10S UV-VIS v4.002 2L9N175013) spektroskopi Inframerah (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektroskopi NMR (Aglient 500 MHz), spektroskopi Massa (MS water LCT premier XE mode positif) dan alat-alat gelas laboratorium yang umum digunakan dalam penelitian.

Rancangan Penelitian

Sintesis senyawa kalkon dilakukan dalam satu tahapan reaksi kondensasi *Claisen-Schmidt* antara 3'-metoksiasetofenon dengan 3,4-dimetoksibenzaldehid dengan bantuan katalis KOH dalam pelarut enanol absolut seperti terlihat pada **Gambar 1**.

dan setetes demi setetes larutan HCl 3 N hingga pH menjadi netral. Campuran reaksi ini kemudian diekstraksi dengan menggunakan kloroform untuk memisahkan produk dari pelarutnya. Produk yang telah terpisah dari pelarut ini kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan silika GF₆₀ (70-230 *Mesh*) dan eluen yang sesuai. Uji kemurnian dilakukan dengan KLT, uji titik leleh dan analisis kemurnian menggunakan HPLC.

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

Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 10000 µg/mL dengan cara melarutkan 20 mg sampel dalam 2 mL metanol. Larutan induk ini kemudian diencerkan bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 1000 µg/mL, 100 µg/mL dan 10 µg/mL. Kemudian disiapkan vial kosong yang sudah dikalibrasi volum 5 mL. Sampel dipipet ke dalam masing-masing vial sebanyak 0,5 mL, lalu pelarut diuapkan hingga mengering. Selanjutnya, ke dalam masing-masing vial ditambahkan 50 µL DMSO dan air laut. Sebanyak 10 ekor larva udang yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam vial tersebut dan ditambah air laut hingga batas kalibrasi 5 mL. Tingkat toksisitas diukur dengan cara menghitung jumlah larva udang yang masih hidup 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 metoda kurva menggunakan Tabel analisis probit.

Kontrol negatif dalam uji BSLT disiapkan, sebanyak 50 µL 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.

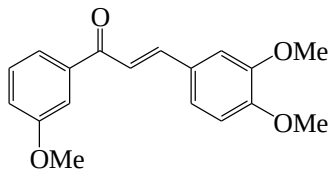
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Senyawa Kalkon

Penelitian ini mensintesis senyawa senyawa (*E*)-3-(3, 4- dimetoksifenil)-1-(3' - metoksifenil) prop-2-en-1-on (RS-2). Senyawa RS-2 yang diperoleh ini sulit membentuk padatan, sehingga pemurnian senyawa ini dilakukan dengan menggunakan metoda pemisahan kromatografi kolom. Sebelum dilakukan pemurnian, terlebih dahulu senyawa dipisahkan dari pelarut yang digunakan sa'at dilakukan proses sintesis. Hasil ekstraksi berupa cairan seperti minyak dengan berat total 0,8125 g. Proses pemurnian dengan metoda kromatografi kolom menghasilkan senyawa murni berupa padatan kuning dengan berat 0,6364 g dan rendemen 76,60 %.

Senyawa yang diperoleh kemudian diuji kemurniannya dengan menggunakan plat KLT, uji titi leleh dan analisis HPLC. Hasil uji dengan plat KLT menghasilkan satu noda pada perbandingan eluen n-heksana: etil asetat: kloroform (6: 1: 3) dengan harga $R_f = 0,525$. Hasil ini kemudian didukung dengan uji titik leleh yang memberikan hasil berupa selisih sebesar 1°C (52-53°C). analisis kemurnian dengan HPLC menunjukkan adanya puncak dominan pada λ 258 nm, t_R : 15,635 menit dan λ 366 nm, t_R : 15,637 menit. Data hasil pengujian dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Sifat fisik senyawa kalkon

Struktur	Rumus Molekul	Rendemen (%)	Titik Leleh (°C)	Warna Kristal
	$C_{17}H_{16}O_4$	76,60	52-53	Kuning

Proses selanjutnya yang dilakukan adalah karakterisasi senyawa RS-2 dengan menggunakan spektroskopi UV, IR 1H -NMR dan MS. Hal ini dilakukan dengan tujuan memastikan struktur senyawa yang telah berhasil disintesis. Karakterisasi senyawa RS-2

dengan menggunakan spektroskopi UV menghasilkan serapan maksimum pada λ 203. Hasil ini membuktikan bahwa pada senyawa RS-2 terdapat suatu sistem konjugasi dari cincin aromatik. Serapan maksimum lainnya yaitu pada

λ 257 yang mengindikasikan adanya sistem konjugasi cincin A aromatik yang terkonjugasi dengan karbonil. Hasil serapan maksimum yang lainnya adalah pada λ 357 yang mengindikasikan adanya sistem konjugasi cincin B yang terkonjugasi dengan suatu sistem karbonil α,β -tak jenuh dan adanya pengaruh dari gugus metoksi.

Karakterisasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan spektroskopi IR. Spektrum IR senyawa RS-2 menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang $1174,70\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C-OMe. Serapan pada bilangan gelombang $1652,10\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C=O. Serapan pada bilangan gelombang $1516,11\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus C=C aromatis. Serapan selanjutnya ada pada bilangan gelombang $1586,52\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya ikatan C=C alkena. Serapan selanjutnya ada pada bilangan gelombang $3084,31\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya ikatan C-H aromatis. Data analisis FTIR dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Analisis $^1\text{H-NMR}$ dimaksudkan untuk menentukan struktur senyawa yang telah berhasil disintesis dengan melihat *splitting* puncak proton yang ada pada senyawa tersebut. Data spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa RS-2 menunjukkan kesesuaian antara jumlah proton yang terbaca dengan jumlah proton yang diharapkan. Pergeseran kimia pada δ 6,90 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-5 dengan pemecahan *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,12 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-4' dengan pemecahan *doublet of doublet*. Proton

pada posisi C-4' seharusnya menunjukkan pemecahan *doublet*, akan tetapi karena adanya pengaruh konektivitas jarak jauh dengan C-6' sehingga menyebabkan pemecahan *doublet* dari C-4' terpecah kembali menjadi *doublet of doublet*. Pergeseran kimia δ 7,16 ppm menunjukkan proton pada posisi C-2 dengan pemecahan *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,23 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-6 dengan pemecahan *doublet of doublet*.

Pemecahan ini juga dipengaruhi oleh konektivitas jarak jauh terhadap C-2 sehingga pemecahan yang seharusnya *doublet* terpecah kembali menjadi *doublet of doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,37 ppm (*d*, 1H, $J=15,6$) dan δ 7,76 ppm (*d*, 1H, $J=15,650$) berturut-turut menunjukkan proton H pada posisi C_α dan C_β . Pergeseran kimia pada δ 7,41 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-5' dengan pemecahan *triplet*. Pergeseran kimia pada δ 7,54 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-2' dengan pemecahan *triplet*. Pemecahan puncak pada posisi ini seharusnya adalah pemecahan *singlet*, akan tetapi karena ada pengaruh konektivitas jarak jauh dengan C-6' dan C-4' sehingga menyebabkan puncak *singlet* terpecah kembali menjadi dua sehingga menjadi *triplet*. Pergeseran kimia δ 7,59 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-6' dengan pemecahan *doublet*. Gugus fungsi metoksi ditunjukkan pada pergeseran kimia δ 3,88 ppm (*s*, 3H, C-4'), δ 3,93 ppm (*s*, 3H, C-3) dan δ 3,95 ppm (*s*, 3H, C-3'). Data analisis $^1\text{H-NMR}$ dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Data spektrum FTIR, HRMS dan $^1\text{H-NMR}$ senyawa kalkon

Data Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Dimetilsulfoksida, δ (ppm))	Data Spektrum IR (KBr, cm^{-1})	Data Spektrum MS (<i>m/z</i>)
6,90 ppm (<i>d</i> , 1H, Ar-5, $J=8,3\text{ Hz}$); 7,12 ppm (<i>dd</i> , 1H, Ar-4', $J_a=2,05\text{ Hz}$ dan $J_b=8,25\text{ Hz}$); 7,16 ppm (<i>d</i> , 1H, Ar-2-H, $J=1,75\text{ Hz}$); 7,23 ppm (<i>dd</i> , 1H, Ar-6-H, $J_a=1,80\text{ Hz}$ dan $J_b=8,30\text{ Hz}$); 7,37 ppm (<i>d</i> , 1H(H_α), $J=15,6\text{ Hz}$); 7,76 ppm (<i>d</i> , 1H(H_β), $J=15,65\text{ Hz}$); 7,41 ppm (<i>t</i> , 1H, Ar-5'-H, $J=7,95\text{ Hz}$); 7,5419 ppm (<i>t</i> , 1H, Ar-2'-H, $J=2,25\text{ Hz}$); 7,59 ppm (<i>d</i> , 1H, Ar-6'-H) $J=7,65\text{ Hz}$); 3,88 ppm (<i>s</i> , 3H, Ar-4-OCH ₃); 3,93 ppm (<i>s</i> , 3H, Ar-3-OCH ₃) dan 3,95 ppm (<i>s</i> , 3H, Ar-3'-OCH ₃)	1174,70 (C-OMe); 1652,10 (C=O); 1516,11 (C=C aromatis); 1586,52 (C=C alkena); 3084,31 (C-H aromatis) (Lampiran 10)	299,1284

Analisis spektrum massa (MS) menunjukkan berat molekul senyawa yang telah berhasil disintesis. Berat molekul untuk senyawa RS-2 ditunjukkan oleh spektrum massa sebagai $C_{18}H_{19}O_4[M+H]^+$ dengan puncak ion molekul m/z 299,1284 dan puncak ion molekul yang dihitung secara teoritis adalah 299,1283. Hasil ini menunjukkan adanya selisih massa sebesar 0,0001. Perbedaan selisih massa yang sangat kecil pada kedua senyawa tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil disintesis sudah dalam keadaan murni. Berdasarkan data-data karakterisasi yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwasannya senyawa yang telah berhasil disintesis sesuai dengan senyawa target yang diharapkan.

Uji Toksisitas

Senyawa yang telah berhasil disintesis dan telah dikarakterisasi kemudian diuji bioaktivitasnya. Bioaktivitas yang dipilih pada penelitian ini adalah uji toksisitas. Uji aktivitas toksisitas dilakukan dengan menggunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Uji ini dipilih karena beberapa keunggulan diantaranya adalah pengerjaan yang sederhana, proses yang relatif cepat, tidak banyak menggunakan sampel dan tidak membutuhkan peralatan yang khusus.

Uji toksisitas RS-2 dilakukan dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi (100, 10, 1 $\mu\text{g/mL}$). Penggunaan variasi konsentrasi ini dimaksudkan untuk mengetahui tingkat aktivitas dari senyawa uji terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach dalam waktu 24 jam pengujian. Larutan uji dibuat dengan menggunakan pelarut metanol dengan pertimbangan pelarut ini mudah melarutkan senyawa organik dan mudah menguap. Pada proses pengujian terlebih dahulu pelarut metanol harus diuapkan sempurna. Hal ini dilakukan karena metanol dapat mengganggu hasil pengujian karena metanol juga bersifat toksik. Proses pengujian dilakukan dengan menggunakan air laut sebagai media uji dengan pertimbangan *Artemia salina* Leach dapat tumbuh dengan baik di dalam air laut. Untuk membantu melarutkan senyawa uji, ke dalam

masing-masing vial uji ditambahkan 50 μL DMSO (dimetilsulfoksida). DMSO dipilih karena mudah melarutkan senyawa uji dan sifatnya yang relatif kurang toksik jika dibandingkan dengan metanol sehingga tidak akan mempengaruhi hasil pengujian. Selain itu konsentrasi DMSO yang digunakan juga sangatlah kecil. Hasil pengujian kemudian dianalisis dengan menggunakan metoda analisis probit. Tingkat potensi toksisitas RS-2 yang ditunjukkan oleh nilai LC_{50} adalah 79,268 $\mu\text{g/mL}$.

4. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mensintesis senyawa (*E*)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(3'-metoksifenil)prop-2-en-1-on dengan rendemen 76,60%. Hasil uji analisis struktur dengan menggunakan spektroskopi UV, FTIR, $^1\text{H-NMR}$ dan HRMS terhadap senyawa kalkon yang telah berhasil disintesis menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh sesuai dengan senyawa target yang diharapkan. Hasil uji toksisitas memberikan hasil LC_{50} senyawa RS-2 sebesar 79,268 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut dapat diketahui bahwa senyawa RS-2 memiliki potensi sebagai antikanker

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, R.M., Sastry, G.V., Bano, N., Ravichandra, S., & Raghavendra, M. 2011. Synthesis and Cytotoxic, Antioxidant Activities of New Chalcone Derivatives. *Rasyan Journal of Chemistry*. 4(2): 289-294.
- Budimawarti, C & Handayani, S. 2010. Efektivitas katalis asam basa pada sintesis 2-hidroksikalkon, senyawa yang berpotensi sebagai zat warna. *Jurdik kimia UNY*.
- 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.
- Jayapal, M.R., Prasad, K.S., & Sreedhar, N.Y. 2010. Synthesis and Characterization of 4-Hidroxy Chalcones By Aldol

- Condensation Using $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. **4**(2): 60-62.
- Mukesh, D., Sivakumar, P.M & Babu, S.K. 2007. QSAR Studies on Chalcones and Flavonoids as Anti-tuberculosis Agents Using Genetic Function Approximation (GFA) Method. *Department of Biotechnology, Indian Institute of Technology Madras; Chennai 600036, India*.
- Patil, C.B., Mahajan, S.K., & Katti, S.A. 2009. Chalcone: A Versatile Molecule. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. **1**(3): 11-12.
- Rahman, M.A. 2011. Chalcone: A Valuable Insight into the Recent Advances and Potential Pharmacological Activities. *Chemical Sciences Journal*. **29**: 1-16.
- Rullah, K. 2011. Sintesis Senyawa Calkon Dan Turunannya dengan Pendekatan Green Synthesis Serta Uji Preklinik Antikanker Secara In Vitro dan In Vivo. *Tesis tidak diterbitkan*. Program Pascasarjana UR, Riau.
- Yuharmen., Eryanti, Y. Zamri, A., Rahmad, A. 2011. Sintesis Beberapa Senyawa Analog Calkon Menggunakan Katalis SOCl_2 dan Uji Aktivitas sebagai Antimikroba. *Jurnal Teknobiologi*. **2**(1):71-76.