SINTESIS ANALOG KALKON *(E)-3-(2-KLOROFENIL)-1-(4'METOKSI FENIL)-PROP-2-EN-1-ON* DAN UJI TOKSISITAS DENGAN *METODE BRINE SHRIMP LETHAL TEST* (BSLT)

Sri Handayani[*], Hilwan Yuda Teruna, Adel Zamri

Kampus Binawidya, KM 12,5 Simpang Baru Pekanbaru, 28293, Indonesia
Email :srihdyani@gmail.com

Abstract

Chalcone is a very interesting compound because it known to have various biological activities such as antivirus, antimicrobe, antiulcer, antifungi anticancer and anti inflamantory. In this research, a chalcone analogue, (E)-3-(2-klorofenil)-1-(4'-metoksifenil)-prop-2-en-1-on has been synthesized by using microwave method and base catalyst (KOH). The purity of the compound has been tested using TLC, melting point test, analytical HPLC, and characterized using UV, FTIR, ^{1}H-NMR, and MS spectroscopy. The result showed that LC_{50} of the compound was 3,54 mg/ml indicated that it was toxic as its LC_{50} less than 200 mg/ml.

***Keywords**: Brine Shrimp Lethality Test, Chalcone, microwave*

Abstrak

Kalkon merupakan senyawa yang penting karena memiliki berbagai aktivitas biologi yang beragam seperti antivirus, antimikroba, antiulser, antifungi, antikanker dan anti inflamasi. Pada penelitian ini telah disintesis senyawa analog kalkon (E)-3-(2-klorofenil-1-(4'metoksifenil)-prop -2-en-1-on menggunakan metode mikrowave dengan katalis basa KOH. Kemurnian senyawa diperoleh menggunakan KLT, penentuan titik leleh, analisis dengan HPLC dan dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV, FTIR, H-NMR dan MS. Uji toksisitas dilakukan dengan metode Brine Shrimp Lethal Test (BSLT). Hasil menunjukkan bahwa LC_{50} senyawa tersebut adalah 3,54 mg/ml yang mengindikasikan bahwa senyawa tersebut bersifat toksik karena memiliki nilai LC_{50} kecil dari 200 mg/ml.

***Kata kunci**: Brine Shrimp Lethality Test, kalkon, microwave*

PENDAHULUAN

Kalkon secara alami terdapat pada beberapa jenis tumbuhan di alam yang berperan sebagai senyawa perkursor untuk biosintesis flavonoid dan isoflavonoid (Patil *et al.,* 2009). Senyawa kalkon juga berguna dalam sintesis berbagai macam senyawa heterosiklik seperti isokazol, quinolinon, thiadiazin, benzofuranon, benzodiazepine dan lain sebagainya (Jayapal *et al.,* 2009).

Pemanfaatan senyawa kalkon yang ditemukan melalui isolasi dan sintesis telah banyak diaplikasikan di bidang farmasi, hal ini dikarenakan kalkon memiliki berbagai aktivitas seperti aktivitas sitotoksik, antivirus, anestesi, antimikroba, antiulser, antijamur, antiinflamasi antikanker dan lain sebagainya (Jayapal *et al.*, 2010). Beberapa kalkon lain-nya digunakan sebagai inhibitor tirosin dan dilaporkan memiliki aktivitas hipoglikemik (Patil *et al.*, 2009) dan sebagai senyawa in-termediet dalam beberapa reaksi adisi nukleofilik (Sarda *et al.*, 2009).

Melalui analisis retrosintesis senyawa kalkon dapat disintesis menggunakan starting material keton aromatik dan aldehid aromatik dengan katalis asam atau basa yang biasa dikenal dengan kondensasi Aldol (Claisen-Schmidt) (Patil *et al.*, 2009). Kombinasi dua reaktan akan menghasilkan kalkon dengan

struktur yang sangat beragam dan sesuai dengan yang diinginkan Metode ini dikenal ramah lingkungan karena menggunakan bahan kimia berbahaya yang relatif kecil.

BAHAN DAN METODA

Bahan yang digunakan dalam peneli-tian ini yaitu 4-metoksiasetofenon (Merck), etanol absolut, metanol, 2-kloro-benzaldehid (Aldrich), n-heksana, etil asetat, akuades, kalium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck). Benur udang *Artemia Salina*, air laut, etil asetat, dimetilsulfoksida (DMSO).

Alat-alat yang digunakan antara lain plat KLT GF_{254}, kertas saring, neraca analitik, lampu UV $\lambda_{254/366nm}$ (Camag®), microwave Samsung ME 109 F, alat penentu leleh *Fisher John*, spektrofotometer UV-Visibel (Genesys 10S UV-VIS), HPLC (Shimadzu LC 20AD), spektrofotometer IR (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR Agilent 500 MHz, spektrometer MS (Water LCT Premier XE).

Sintesis kalkon. Sebanyak 5 mmol 4-metoksiasetofenon dan 5 mmol 2-kloro-benzaldehid, dimasukkan ke dalam erlen-meyer ditambahkan dengan 5 mL etanol dicampurkan dengan 2 mL KOH, lalu cam-puran dimasukkan ke dalam oven dan disinari dengan microwave 180 watt pada waktu 30-120 detik. Kemajuan reaksi itu dipantau dengan KLT setiap 30 detik (n-heksana: etil asetat, 9:1). Setelah bereaksi ditambahkan 25 mL akuades dingin dan dinetralkan dengan HCl. Bila terbentuk minyak didinginkan dalam lemari es selama 1-2 hari sampai terbentuk endapan. Endapan disaring dengan corong buchner kemudian dicuci dengan akuades dan n-heksan. Kemurnian senyawa diuji dengan KLT, jika masih terdapat lebih dari satu noda maka dilakukan rekristalisasi dengan pelarut yang sesuai (Bhuiyan., 2011)

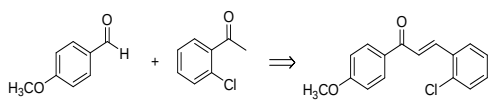
Uji Toksisitas (Meyer *et al.,*1982) Benur *Artemia salina* dimasukkan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut dan telah dilengkapi dengan aerasi dan lampu, penetasan telur dilakukan selama 48 jam sampai membentuk larva dengan menerangi wadah yang ditempati telur udang dengan sinar lampu.

Pengujian dilakukan untuk senyawa murni dengan konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Sebanyak 20 mg masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 2 mL etil asetat sehingga diperoleh larutan dengan konsen-trasi 10000 ppm. Kemudian dari masing-masing larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL etil asetat hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm setelah penambahan air laut. Kemudian dari larutan tersebut dipipet se-banyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL etil asetat hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm setelah penambahan air laut dan untuk konsentrasi 10 ppm dibuat dari konsentrasi sampel uji 100 ppm dengan cara yang sama. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam vial uji dengan pengulangan masing-masing 3 kali.

Masing-masing vial uji dibiarkan menguap etil asetatnya. Kemudian kembali senyawa uji dilarutkan dengan 50 µL DMSO dan ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi dan masing-masing vial ditambahkan larva udang *A. salina* sebanyak 10 ekor kemudian ditambahkan air laut beberapa tetes sampai batas kalibrasi. Kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dapat dihitung nilai LC_{50} dengan metode kurva meng-gunakan tabel analisis probit. Untuk kontrol, 50 µL DMSO dipipet dengan menggunakan pipet mikro dimasukkan ke dalam vial uji, ditambah-kan air laut hampir mencapai batas kalibrasi. Kemudian dimasukkan larva *A. salina* se-banyak 10 ekor, ditambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi. Masing-masing pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berhasil mensintesis analog kalkon dengan mereaksikan 4-metoksiasetofenon dengan 2-klorobenzal-dehid menggunakan katalis kalium hidrok-sida menghasilkan *(E)-3-(2-klorofenil)-1-(4'-metoksi fenil)prop-2-en-1-on.*



Gambar 1. Sintesis senyawa kalkon

Senyawa yang diperoleh berupa kristal berwarna kuning dengan berat 0,8835 mg dan rendemen sebesar 60,6%. Uji kemurnian dengan KLT dengan eluen yang berbeda yaitu etil asetat: heksan (1:9) dengan harga Rf=0,68,

etil asetat:heksan (2:8) dengan Rf=0,98. Hasil KLT ini menunjukkan bahwa senyawa telah murni.

Untuk memastikan kemurniannya, maka dilakukan pengukuran titik leleh pada rentang 90-92^{0}C. Range titik leleh sebesar 2^{0}C menunjukkan bahwa senyawa telah murni. Kromatogram HPLC menunjukkan bahwa hanya terdapat satu puncak dominan yaitu pada t_R=9,7 menit pada panjang gelom-bang 210 dan 310 nm, hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh telah murni.

Spektrum UV dari senyawa analog kalkon menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 201-203 nm yang menunjukkan adanya gugus benzena dan pada 280-290 nm yang menunjukkan adanya kromofor yaitu gugus karbonil. Spektrum IR senyawa *(E)-3-(2-klorofenil)-1-(4'-metoksife-nil) prop-2-en-1-on* menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}) 1652 yang mengindikasikan adanya vibrasi ikatan C=O, 1601 mengindikasikan adanya vibrasi ikatan C=C, 3066 mengindikasikan adanya vibrasi ikatan C-H aromatik, 1263 mengindikasikan adanya gugus metoksi (Ar-OCH_3), dan bilangan gelombang 754 meng-indikasikan adanya ikatan C-Cl.

Spektrum ^{1}H-NMR senyawa analog kalkon hasil sintesis menunjukkan adanya pergeseran kimia yang khas pada δ=7,48-7,51 ppm (d, 1 H, Hα, J=15,5 Hz) dan δ=8,144-8,175 ppm (d,1H, Hβ J=15,5 Hz) berturut-turut memperlihatkan adanya proton H pada Cα dan Cβ. Berdasarkan harga tetapan kopling tersebut diperkirakan bahwa proton pada ikatan rangkap ini mempunyai konfigurasi trans (*E*). Pergeseran kimia pada δ=3,89 (s, 3H) yang memperlihatkan adanya gugus metoksi (OCH_3) dan pergeseran δ=7-8 ppm memperlihatkan adanya proton pada gugus aromatik.

Spektrum MS senyawa analog kalkon menunjukkan puncak ion molekul yang sesuai dengan perhitungan dan yang di-temukan. Spektrum MS senyawa analog kalkon menunjukkan adanya puncak ion molekul yang dihitung sebagai $C_{16}H_{14}O_2Cl$ $(M+H)^+$ pada 273,0682, sedangkan yang ditemukan adalah 273,0681. Pada spektrum senyawa juga ditemukan puncak lain yang puncaknya sepertiga dari puncak ion molekul. Puncak ini menunjukkan bahwa senyawa ini mengandung gugus Cl yang mempunyai dua isotop yaitu ^{35}Cl dan ^{37}Cl. Berdasarkan puncak ion molekul yang dihasilkan spektrum MS dan yang dihitung secara teoritis terlihat selisih nilai yang dihasilkan sangat kecil. Hal ini menunjukkan senyawa hasil sintesis telah murni dan mempunyai struktur sesuai dengan yang diinginkan.

Uji Toksisitas. Hasil uji toksisitas senyawa analog kalkon yang diperoleh menunjukkan efek positif dengan nilai LC_{50} = 3,54 mg/mL. Hal ini menunjukkan senyawa analog kalkon diperkirakan berpotensi sebagai antikanker bila dilihat dari sifat toksisitasnya yang mempunyai nilai LC_{50}<200 µg/mL (Anderson and Mclaugnlin,1991).

KESIMPULAN

Senyawa analog kalkon dapat disintesis dari suatu keton aromatik dan aldehid aromatik dengan katalis basa menggunakan metode microwave dengan rendemen yang banyak. Uji toksisitas yang dilakukan dengan metode BSLT menghasilkan LC_{50}3,54 mg/ml.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dikti melalui lembaga penelitian Universitas Riau yang telah membantu penelitian ini melalui Dana Hibah Guru Besar tahun 2013 atas nama Prof. Dr. Adel Zamri, MS, DEA.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson,J.E. and MclaugnlinJ.L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxyty as Antitumor Prescreens, Pytochem An. (2): 107-111

Bhuiyan M.M.H, 2011, Microwave-assisted Efficient Synthesis of Chalcones as Probes for Antimicrobial Activities.*Chemistry journal* 1(1). 21-28

Jayapal, MR, Prasad, K.S. & Sreedhar. NY, 2010. "Synthesis and Characterization of 2, 5-Dihydroxy Substituted Chalcones Using $SoCl_2$/EtOH." *Int J Pharma Bio Sciences.* 1 361-6.

Jayapal, M.R. &Sreedhar, N.Y. 2010.Anhydrous K_2CO_3 as Catalyst for the synthesis of Chalcones under Microwave Irradiation.*Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2(10): 644-647.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Jacobsen, J.E., Nichols, D.E. & McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants-constituents. *J. Med. Plant Res*. 45: 31-34.

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

Sarda.S.R. jadhav.W.N., Bhusare, S.R., Wasmatkar, S.K., Dake, S.A., & Pawar, R.P. 2009,. Solvent free NaOH-Al_2O_3 Supported Synthesis of 1,3-diaryl-2propene-1ones, J.*ChemTech Res.* 1(2):265-269