

SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA (E)-1-(3-BROMOFENIL)-3-(4-KLOROFENIL)PROP-2-EN-1-ON

Eti Meirina Brahmana*, Hilwan Yuda Teruna, Adel Zamri

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya KM 12,5 Simpang Baru Pekanbaru, 28293, Indonesia
Email: eti.meirina@yahoo.com

Abstract

In this research, chalcone of (E)-1-(3-bromophenyl)-3-(4-chlorophenyl) prop-2-en-1-on was synthesized using microwave irradiation with a base catalyst (KOH) and 74.30% rendement was obtained. The purity of this compound has been tested using TLC, melting point test, and analytical HPLC. The identification of compound was analyzed using UV, IR, and ^1H NMR spectroscopy. The toxicity test was done by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method against Artemia salina Leach larva and the result showed that LC_{50} was 3.98 $\mu\text{g/mL}$. It indicated that this compound is potential as anti-cancer.

Keywords: Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), chalcone, toxicity test

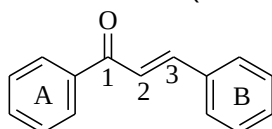
Abstrak

Pada penelitian ini, senyawa kalkon (E)-1-(3-bromofenil)-3-(4-klorofenil) prop-2-en-1-on telah disintesis menggunakan metode iradiasi microwave dengan katalis basa (KOH) dan diperoleh rendemen sebesar 74,30%. Kemurnian senyawa telah diuji menggunakan KLT, uji titik leleh dan analisis HPLC. Identifikasi senyawa tersebut dianalisis menggunakan spektroskopi UV, IR, dan ^1H NMR. Uji toksisitas senyawa tersebut menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) terhadap larva Artemia salina Leach menunjukkan nilai $\text{LC}_{50} = 3,98 \mu\text{g/mL}$. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut berpotensi sebagai anti-kanker.

Kata kunci: Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), kalkon, uji toksisitas

PENDAHULUAN

Kalkon adalah 1,3-difenil-2-propen-1-on (Gambar 1), dimana 2 cincin aromatik dihubungkan oleh suatu keton α, β tak jenuh (Patil *et al.*, 2009). Kalkon mengandung gugus etilen keto ($-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-$) yang reaktif. Adanya gugus tersebut menyebabkan molekul kalkon mempunyai berbagai macam aktivitas biologis (Jayapal dan Sreedhar., 2010). Aktivitas biologis dari kalkon seperti antikanker (Achanta *et al.*, 2006), sitotoksik (Echeverria *et al.*, 2009), antimikroba (Bhuiyan *et al.*, 2011), antimalaria (Wu *et al.*, 2003), dan anti-inflamasi (Kim *et al.*, 2007).



Gambar 1. Struktur Kalkon

Pada struktur senyawa kalkon, substituen pada 2 cincin aromatis yang mengapit enon akan memberikan pengaruh terhadap elektrofilisitas struktur enon melalui peningkatan ataupun penurunan kerapatan elektron pada cincin aromatis. Adanya gugus pemberi elektron akan menurunkan elektrofilisitas dari cincin enon. Demikian pula sebaliknya, adanya gugus penarik elektron pada cincin aromatis akan meningkatkan aktivitasnya sebagai agen pengalkil nukleofil biologis dalam biosintesis IL-1 (Batt *et al.*, 1993).

Menurut Batt *et al.*, (1993), jembatan enon pada senyawa kalkon tersubstitusi memegang peranan penting dalam mekanisme aksi inhibitor biosintesis IL-1 karena dapat berperan sebagai agen elektrofilik pengalkilasi. Para agen pengalkilasi mem-

berikan efek sitotoksik melalui *transfer alkyl group* untuk berbagai konstituen seluler. Alkilasi DNA dalam inti atom mungkin mewakili interaksi utama yang menyebabkan kematian sel, sehingga kalkon tersebut berpotensi sebagai anti kanker (Katzung *et al.*, 2009). Pada penelitian ini senyawa kalkon hasil sintesis diuji toksisitasnya sebagai uji awal aktivitas anti kanker.

Kalkon biasanya disintesis melalui kondensasi *Claisen-Schmidt* dari suatu aldehid dan keton aromatik menggunakan katalis basa atau asam yang diikuti oleh reaksi dehidrasi. Katalis asam yang biasa digunakan dalam reaksi kondensasi aldol antara lain HCl (Jayapal *et al.*, 2010), SOCl_2 (Jayapal and Sreedhar, 2010). Sedangkan katalis basa yang biasa digunakan adalah NaOH (Choudhary and Juyal., 2011) dan KOH (Tiwari *et al.*, 2010).

Sintesis senyawa ini dilakukan dengan metode iradiasi *microwave* yang merupakan teknologi radiasi gelombang. Radiasi gelombang mikro telah mendapat perhatian dari ahli kimia karena memiliki keuntungan, seperti waktu reaksi singkat, produk reaksi bersih, hasil yang lebih tinggi dan selektivitas yang lebih baik (Hayes., 2002; Varma., 1999).

Pada penelitian ini bahan baku aldehid aromatik yang digunakan yaitu 4-klorobenzaldehid, sedangkan material awal keton yang digunakan adalah 3'-bromoasetofenon. Senyawa kalkon yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektroskopi UV, IR, dan $^1\text{H-NMR}$, selanjutnya senyawa murni yang didapat diuji toksisitasnya.

BAHAN DAN METODA

Alat dan bahan yang digunakan adalah alat penentu titik leleh *Fisher John*, lampu UV (254 dan 366 nm), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis, UFLC Prominence, spektrofotometer FTIR (Shimadzu, IR Prestige-21, spektrometer NMR (AGILENT 500 MHz), oven *Microwave* Samsung ME 109 F, 3-bromoasetofenon (Aldrich, cat.No. 2124634), 4-kloro benzaldehid (Aldrich, cat.No. 104881), kalium hidroksida (Merck, cat.no. 109108), dimetilsulfoksida (Merck, cat.no. 1019001000), akuades, *n*-heksan, etil asetat, metanol, plat KLT GF₂₅₄ dan larva *Artemia salina*.

Sintesis Senyawa Kalkon

Sebanyak 5 mmol keton dan etanol absolut (5 mL) dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan ditambahkan tetes demi tetes

KOH 6 N (2 mL). Campuran tersebut diaduk selama 5 menit, kemudian 5 mmol aldehid dimasukkan ke dalam campuran. Campuran diiradiasi dengan menggunakan *Microwave* selama 2-5 menit dengan interval waktu 30 detik. Setelah itu, campuran dibiarkan selama 20 jam untuk memaksimalkan hasil reaksi (endapan) yang diperoleh sebanyak 15 mL akuades dingin kemudian ditambahkan ke dalam campuran dan pH campuran dinetralkan dengan HCl. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dengan corong *buchner*, dicuci dengan *n*-heksan dingin, dan divakum hingga kering. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan uji KLT, titik leleh, dan analisis HPLC.

Uji Toksisitas

Pembiakan benur *Artemia salina* dilakukan dengan mengisi air laut ke dalam suatu wadah persegi dangkal yang telah dibagi menjadi dua sisi yang akan ditutup, sedangkan sisi yang lain dibiarkan terbuka, diberi cahaya, dan dibiarkan selama 48 jam agar benur tersebut menetas. Benur yang menetas akan tertarik ke sisi yang terbuka dan terkena cahaya. Larva ini selanjutnya digunakan untuk uji toksisitas.

Pengujian dilakukan untuk senyawa murni kalkon dengan konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Sebanyak 20 mg masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 2 mL metanol maka akan diperoleh larutan dengan konsentrasi 10000 ppm. Kemudian dari masing-masing larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm setelah penambahan air laut. Kemudian dari larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL metanol 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 dan dimasukkan ke dalam vial uji dengan pengulangan masing-masing 3 kali.

Pelarut pada masing-masing vial uji dibiarkan menguap, lalu dilarutkan kembali senyawa uji dengan 50 μL DMSO, selanjutnya ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi. Larva udang dimasukkan pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor dan ditambahkan lagi beberapa tetes air laut hingga batas kalibrasi. Kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dihitung LC_{50} dengan metode

kurva menggunakan tabel probit (Harefa., 1997; Meyer *et al.*, 1982).

Analisis Data Uji Toksisitas

Pengaruh pemberian kalkon terhadap larva *Artemia salina* dapat dilihat dengan melakukan perhitungan statistik analisis Probit. Perhitungan ini dilakukan dengan membandingkan antara larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan sehingga diperoleh persen kematian. Kemudian dilihat dalam tabel nilai probit. Dari nilai tersebut akan diketahui nilai probit dan dimasukkan dalam persamaan regresi sehingga didapat nilai LC_{50} .

Persamaan Regresi :

$$y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{arc log } x$$

Keterangan :

x : Log Konsentrasi

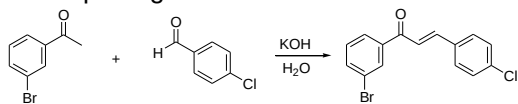
y : Nilai Probit

a : Intercept (garis potong)

b : Slope (kemiringan dari garis regresi linear)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa analog kalkon diperoleh dengan mereaksikan 3-bromo asetofenon dan 4-kloro benzaldehid menggunakan katalis KOH dengan metode iradiasi *microwave*. Pelarut yang digunakan adalah etanol absolut karena lebih mudah didapatkan dan tingkat keracunannya lebih rendah dibandingkan pelarut organik lainnya. Selain itu, etanol absolut dapat membantu menyerap air yang merupakan hasil samping dari reaksi kimia yang terjadi (Fessenden dan Fessenden., 1994). Skema reaksi dapat dilihat pada gambar 2.



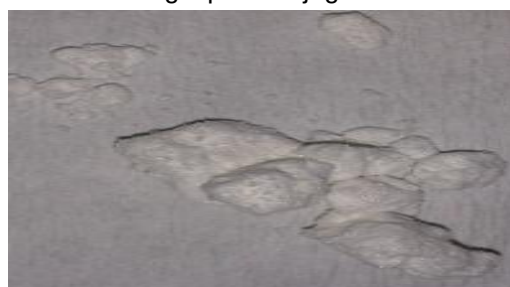
Gambar 2. Skema reaksi sintesis analog kalkon

Senyawa analog kalkon yang diperoleh dari hasil reaksi 3-bromo asetofenon dan 4-kloro benzaldehid yaitu (*E*)-1-(3-bromofenil)-3-(4-klorofenil) prop-2-en-1-on (Gambar 3). Senyawa yang diperoleh berbentuk kristal berwarna kuning muda dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}BrClO$ dan berat molekul 319,96 g/mol.

Rendemen yang diperoleh dari penelitian ini cukup baik yaitu sebesar 74,34%. Senyawa yang diperoleh telah diuji kemurniannya dengan KLT, uji titik leleh, dan

HPLC. Dari hasil KLT menggunakan empat variasi eluen etil asetat dan n-heksan dengan perbandingan (2 : 8), (1 : 9), (9,5 : 0,5) dan (10 : 0), semua senyawa menghasilkan satu noda dengan nilai R_f secara berurut adalah 0,98; 0,87; 0,48; dan 0,24. Uji titik leleh menghasilkan range suhu $1^{\circ}C$ yaitu 131-132 $^{\circ}C$ dan uji kemurnian menggunakan HPLC senyawa menghasilkan satu puncak pada t_R = 15,0 menit pada λ 206 dan 308 nm. Hal ini menunjukkan senyawa tersebut telah murni.

Spektrum UV dari senyawa tersebut menghasilkan serapan maksimum yang khas pada panjang gelombang 323 nm yang menunjukkan adanya serapan energi (emisi) dari ikatan rangkap terkonjugasi $C=C-C=O$.



Gambar 3. Kristal (*E*)-1-(3-bromofenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on

Spektrum IR dari senyawa tersebut memperlihatkan adanya serapan pada bilangan gelombang 669,30-823,60 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus vibrasi ulur C-Cl, pada bilangan gelombang 1489,05-1604,77 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi ulur $C=C$ dari benzena, pada bilangan gelombang 1662,64 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi ulur $C=O$ dari keton, pada panjang gelombang 2362,80 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi tekuk C-Br, pada panjang gelombang 3062,96 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H dari benzena, dan pada bilangan gelombang 3448,72 cm^{-1} menunjukkan adanya *Overtone* dari $C=O$.

Spektrum 1H -NMR senyawa tersebut menunjukkan adanya pergeseran kimia yang khas pada δ = 7,44 ppm (d, 1H, H_{α} , $J=15,5$ Hz) dan δ = 7,77 ppm (d, 1H, H_{β} , $J=15,5$ Hz) memperlihatkan adanya proton H pada C_{α} dan C_{β} (Tabel 1). Berdasarkan harga tetapan kopling tersebut dapat diperkirakan bahwa proton pada ikatan rangkap ini mempunyai konfigurasi *trans* (*E*).

Tabel 1. Interpretasi data ^1H NMR senyawa analog kalkon

Nomor Atom	Senyawa C_1 δ_{H} (ppm)
1	-
2	7,397 (d, 1H) J = 3 Hz
3	7,59 (d, 1H) J = 8,5 Hz
4	-
5	7,59 (d, 1H) J = 8,5 Hz
6	7,397 (d, 1H) J = 3 Hz
C α	7,44 (d, 1H) J = 15,5 Hz
C β	7,77 (d, 1H) J = 15,5 Hz
1'	-
2'	8,13 (s, 1H)
3'	-
4'	7,71 (dd, 1H) J _a = 8 Hz, J _b = 1 Hz
5'	7,416 (t, 1H) J = 3 Hz
6'	7,93 (d, 1H) J = 8 Hz
-CH-	-
-CH ₃	-

Uji toksisitas dilakukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva *Artemia salina* Leach untuk senyawa kalkon hasil sintesis. Hasil uji toksisitas senyawa analog kalkon yang diperoleh mempunyai nilai $\text{LC}_{50} = 3,98 \mu\text{g/mL}$ (Tabel 2).

Tabel 2. Uji toksisitas dengan metode BSLT

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Kematian	Nilai Probit	LC_{50} (g/ml)
	10	90	6,282	
Kalkon	100	90	6,282	3,98
	1000	100	9,768	

Hasil yang diperoleh dari senyawa tersebut menunjukkan senyawa diperkirakan berpotensi sebagai antikanker bila dilihat dari sifat toksisitasnya yang mempunyai nilai

$\text{LC}_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$. Namun, untuk membuktikan hal tersebut perlu dilakukan uji sitotoksik terhadap sel kanker. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa mempunyai sifat sangat toksik terhadap uji kematian larva udang, karena suatu sampel dianggap toksik terhadap uji kematian larva udang jika konsentrasi maksimum $1000 \mu\text{g/mL}$ dengan $\text{LC}_{50} \leq 500 \mu\text{g/mL}$ (Meyer *et al.*, 1982). Suatu senyawa dikatakan aktif jika LC_{50} sebesar $\leq 250 \mu\text{g/mL}$ dan maksimal konsentrasi $500 \mu\text{g/mL}$ (Meyer *et al.*, 1982).

KESIMPULAN

Senyawa yang berhasil disintesis pada penelitian ini adalah (*E*)-1-(3-bromofenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on dengan metode iradiasi *microwave* dengan katalis basa (KOH) dan diperoleh rendemen sebesar 74,30%. Dari hasil uji toksisitas terlihat senyawa berpotensi sebagai antikanker karena mempunyai nilai $\text{LC}_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dikti melalui lembaga penelitian Universitas Riau yang telah membantu penelitian ini melalui Dana Hibah Pasca Sarjana 2013 atas nama Prof. Dr. Adel Zamri, MS, DEA.

DAFTAR PUSTAKA

- Achanta, G., Modzelewska, A., Feng, L., Khan, S.R & Huang, P. 2006. Boronic-chalcone derivative exhibits potent anticancer activity through inhibition of the proteasome. *Molecular pharmacology*. 70(1): 426-433.
- Batt, D.G., Goodman, R., Jones, D.G., Kerr, J.S., Mantegna, L.R., Macallister, C., Newton, R.C., Nurnberg, S., Welch, P.K & Covington, M.B. 1993. 2'-Substituted chalcone derivatives as inhibitor of Interleukin-1 biosynthesis. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. 36:1434-1442.
- Bhuiyan, M.M.H., Hossain, M.I., Mahmud, M.M & Amin, M.A. 2011. Microwave-assisted efficient synthesis of chalcones as probes for antimicrobial activities. *Chemistry Journal*. 1(1): 21-28.
- Choudhary, A.N & Juyal, V. 2011. Synthesis of chalcone and their derivatives as antimicrobial agents. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(3): 125-128.
- Echeverria, C., Santibanez, J.F., Tauda, O.D, Escobar, C.A & Tagle, R.R. 2009. Structural antitumoral activity relationships of synthetic chalcones. *International Journal of Molecular Sciences*. 10: 221-231.

- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. 1994. *Kimia Organik*. Jilid 2 Edisi III. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Harefa, F. 1997. Pembudidayaan *Artemia salina* untuk pakan udang dan ikan. Swadaya. Jakarta.
- Hayes, B.L. 2002. *Microwave Synthesis: Chemistry at the speed of Light*. Matthews. NC. CEM Publishing.
- Jayapal, M.R., Prasad, K.S & Sreedhar, N.Y. 2010. Synthesis and characterization of 2,5-dihydroxy substituted chalcones using $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 1(4): 361-366.
- Jayapal, M.R. dan 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.
- Katzung, B.G., Masters, S.B & Trevor, A.J. 2009. *Basic and clinical pharmacology* (11th ed). New York: McGraw-Hill
- Kim, Y.H., Kim, J., Park, H & 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.
- Meyer, B.N.R., Ferrigni, J.E., Putnam, L.B., Jacosen, D.E., Nicholas & McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45:31-34.