

SINTESIS SENYAWA TURUNAN FLAVANON DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA KALKON SEBAGAI SENYAWA ANTARA DALAM SINTESIS FLAVANON

Nur Shidiq^{1,*}, Agung Rahmadani^{1,2}, Viriyanata Wijaya^{1,2}, Laode Rijai^{1,2}

¹Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

²Kelompok Bidang Ilmu Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi,
Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: shidiq10.sn@gmail.com

ABSTRACT

Secondary metabolite group which has biological activities such as anticancer, antitumor, antiproliferative and antimicrobe is flavonoid and flavanone is one of the compounds in the group. In this study, 2-hydroxy-5-chloro acetophenone and 4-hydroxy benzaldehyde was reacted. *Claisen-Schmidt* condensation produced chalcone derivative; 2'-hydroxy-5'-chloro-4-hydroxy chalcone. The 6-chloro-4'-hydroxy flavanone was then synthesized through chalcone derivative cyclisation reaction with reflux method using sulfuric acid as catalyst in ethanol. The synthesized product was characterized structurally using ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan MS (*Mass Spectroscopy*). Antioxidant and toxicity activities were carried out towards the synthesized product, 2'-hydroxy-5'-chloro-4-hydroxy chalcone, using DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method respectively and IC₅₀ dan LC₅₀ were measured and analysis using Reed and Muench method. IC₅₀ dan LC₅₀ values of 2'-hydroxy-5'-chloro-4-hydroxy chalcone were 131.19 ppm and 46.465 ppm respectively.

Keyword: *synthesis, chalcone, flavanone, toxicity, antioxidant*

ABSTRAK

Golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi seperti antikanker, antitumor, antiproliferatif, dan antimikroba adalah golongan flavonoid dimana flavanon merupakan salah satu senyawanya. Dalam penelitian ini senyawa 2-hidroksi-5-kloro asetofenon dan 4-hidroksi benzaldehida direaksikan melalui reaksi Kondensasi *Claisen-Schmidt* menghasilkan senyawa turunan kalkon yaitu 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon. Kemudian senyawa 6-kloro-4'-hidroksi flavanon disintesis melalui reaksi siklisasi turunan kalkon dengan metode refluks menggunakan asam sulfat di dalam etanol sebagai katalis. Senyawa hasil sintesis dikarakterisasi dengan teknik elusidasi struktur menggunakan ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan MS (*Mass Spectroscopy*). Dilakukan uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas dari senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksi kalkon hasil sintesis dengan menggunakan metode DPPH dan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan dihitung

nilai IC₅₀ dan LC₅₀ dengan menggunakan analisis Reed and Muench. Nilai IC₅₀ dan LC₅₀ senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksi kalkon diperoleh 131,19 ppm dan 46,465 ppm

Kata kunci: sintesis, kalkon, flavanon, toksisitas, antioksidan

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.305>

PENDAHULUAN

Kalkon dan flavanon yang diisolasi dari bahan alam adalah sumber senyawa bioaktif berharga dengan kerangka 1,3-diarilpropana yang termasuk kedalam keluarga flavonoid. Kalkon (1,3-difenil-2-propana-1-on) baik dalam bentuk alami maupun sintetiknya dilaporkan memiliki aktivitas biologi yang bervariasi seperti antikanker, antiinflamasi, antiinfeksi, antimikroba, antioksidan, dan antiproliferatif^[1].

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik alam yang mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau dan merupakan metabolit sekunder yang menunjukkan berbagai khasiat farmakologi^[8].

Senyawa flavanon telah dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antimalaria, antikanker dan anti-HIV^{[2],[5],[9],[10]}, berhasil mensintesis analog senyawa flavanon tersubstitusi halogen yang memiliki aktivitas sebagai antikanker. Selain itu, telah berhasil mengisolasi senyawa artokarpanon dan norartokarpanon yang juga memiliki aktivitas sebagai antikanker^[3].

Isolasi flavanon dari tumbuhan memiliki banyak kelemahan diantaranya lamanya waktu isolasi dan menggunakan banyak pelarut, selain itu jumlahnya yang terbatas dan persentasenya dalam tumbuhan juga kecil serta variasi strukturnya relatif sedikit. Dengan sintesis memungkinkan para peneliti

untuk memvariasi struktur flavanon yang diinginkan, memperoleh hasil sintesis yang banyak dan bisa dengan cepat menguji aktivitasnya.

Flavanon selalu disintesis melalui dua langkah, 2'-hidroksikalkon disintesis melalui metode yang paling umum digunakan, yaitu reaksi kondensasi Claisen-Schmidt antara 2-hidroksi asetofenon dan benzaldehida. Langkah kedua meliputi siklisasi 2'-hidroksikalkon untuk membentuk flavanon. Namun demikian, konversi kalkon ke flavanon tidak pernah sempurna dan selalu menghasilkan produk campuran^[7]. Selain itu, ada berbagai metode untuk mensintesis senyawa flavanon salah satunya adalah metode refluks karena memiliki kelebihan mempunyai cara pengerjaan yang lebih sederhana.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu labu erlenmeyer bertutup (Pyrex), labu sintesis leher tiga (Pyrex), *hotplate and Magnetic stirrer*, kondensor, mikropipet, tabung reaksi bertutup, vortex, labu ukur, corong *buchner*, lampu UV (254 nm dan 366 nm), botol vial, piper ukur (Iwaki), timbangan analitik, spektrometer NMR (Jeol Resonance 400 MHz), Spektrometer Massa (XEVO-QTOFMS), Spektrofotometri UV-Vis.

Bahan yang digunakan yaitu 2-hidroksi-5-kloro asetofenon (Sigma Aldrich) dan 4-hidroksi benzaldehida (Sigma Aldrich), natrium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck), asam

sulfat (Merck), n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), etanol absolut (Merck), metanol absolut (Merck), plat KLT GF₂₅₄ (Merck), DPPH, larva udang *A. salina* Leach, tween 80, ragi roti dan air laut.

Sintesis senyawa Kalkon

Dicampurkan senyawa 2-hidroksi-5-kloro asetofenon sebanyak (5 mmol) dalam 10 mL etanol absolut ke dalam erlenmeyer 100 mL kemudian diaduk. Ditambahkan natrium hidrosida 40% sebanyak 5 mL bertetes-tetes. Senyawa 4-hidroksi benzaldehida sebanyak (5 mmol) dalam 10 mL etanol ditambahkan kedalam campuran hingga homogen. Campuran ini di *stirer* selama 3 x 24 jam. Uji KLT dilakukan setelah 3 x 24 jam pengadukkan. Reaksi dihentikan jika spot noda tunggal dan nilai Rf berbeda dengan bahan dasar. Hasil reaksi ditambahkan 10 mL air dingin dan diletakkan dalam wadah berisi es. Kemudian ditambahkan asam klorida 10% untuk menetralkan senyawa, pH diukur menggunakan kertas indikator universal. Selanjutnya dicuci menggunakan air dingin dan disaring menggunakan corong *buchner*. Produk yang dihasilkan dikeringkan dalam desikator dan dilakukan perhitungan massa produk.

Sintesis senyawa 6-kloro-4'-hidroksiflavanon

Senyawa turunan 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon sebanyak (0,5 mmol) dalam etanol absolut 10 mL dimasukkan ke dalam labu sintesis leher tiga. Ditambahkan asam sulfat (9 mmol) kedalam campuran. Kemudian direfluks sambil *distirer* pada suhu 80°C selama 6 jam. Uji KLT dilakukan tiap 1 jam, jika memiliki spot noda tunggal dan nilai Rf yang berbeda dari bahan dasarnya maka reaksi dihentikan dengan ditambahkan dengan 10 mL aquadest dingin. Setelah itu dikristalisasi dengan cara didinginkan dalam wadah berisi es dan disimpan dalam refrigerator selama 24 jam. Produk yang dihasilkan disaring dengan corong

buchner dan disimpan dalam wadah kaca di desikator. Hasil produk dihitung rendemen dan dikarakterisasi dengan teknik elusidasi struktur menggunakan spektrometer ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan MS.

Uji Aktivitas Antioksidan

Senyawa hasil sintesis dibuat seri konsentrasi yaitu 25, 50, 100, 150, dan 200 ppm. Dibuat larutan DPPH 40 ppm. Dimasukkan larutan seri konsentrasi sebanyak 2 mL kedalam masing-masing tabung reaksi bertutup. Setelah itu ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL pada masing-masing tabung reaksi kemudian di vortex dan diinkubasi selama 30 menit. Kemudian di ukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm.

Uji Toksisitas

Senyawa hasil sintesis dibuat seri konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Disiapkan botol vial yang telah dikalibrasi 10 mL. Kemudian masing-masing botol vial ditambahkan variasi konsentrasi senyawa sintesis dan 2 mL air laut lalu dikocok sampai larut. Sebanyak 10 ekor larva udang *A. salina* Leach dan setetes larutan ragi (1g/ 10 mL) dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditambahkan air laut hingga tanda batas kalibrasi 10 mL. Tingkat toksisitas dilakukan dengan menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dan mati setelah 24 jam setelah diletakkan di bawah lampu pijar. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 5 kali dengan perlakuan yang sama untuk tiap konsentrasi. Data dianalisis menggunakan metode analisis *Reeds and Muench* untuk memperoleh nilai LC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

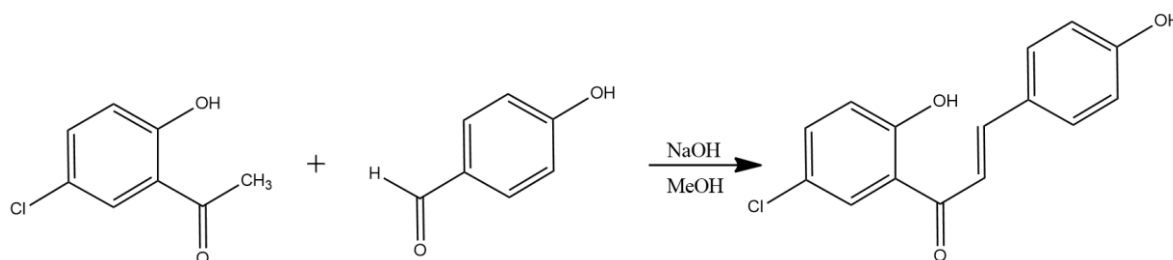
Sintesis senyawa kalkon

Senyawa turunan 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon diperoleh dengan mereaksikan senyawa 2-hidroksi-5-kloro

asetofenon dan 4-hidroksi benzaldehida melalui reaksi Kondensasi *Claisen-Schmidt*. Skema reaksi yang terjadi terlihat pada Gambar 1.

Data hasil spektroskopi massa menunjukkan bahwa massa molekul relatif senyawa hasil sintesis yang dianalisis adalah 275,0584 g/mol. Secara teoritis, massa molekul senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon dapat dihitung dengan menambahkan massa molekul relatif senyawa 2-hidroksi-5-

kloro asetofenon dan 4-hidroksi benzaldehida yang kemudian dikurangkan dengan massa molekul relatif air. Berdasarkan hasil perhitungan secara teoritis massa molekul relatif senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon adalah 275,0584 g/mol. Sehingga berdasarkan hasil analisis spektroskopi massa, massa molekul relatif senyawa hasil sintesis telah sesuai dengan massa molekul relatif senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon.



Gambar 1. Skema reaksi sintesis turunan kalkon

Tabel 1. Data fisik senyawa

Rumus Molekul	Berat Molekul (g/mol)	Massa Senyawa (g)	Rendemen (%)	Warna Padatan
C ₁₅ H ₁₁ O ₃ Cl	275,0584	0,9	61,49	Kuning

Tabel 2. Interpretasi data Kalkon ¹H-NMR dan ¹³C-NMR (CDCl₃)

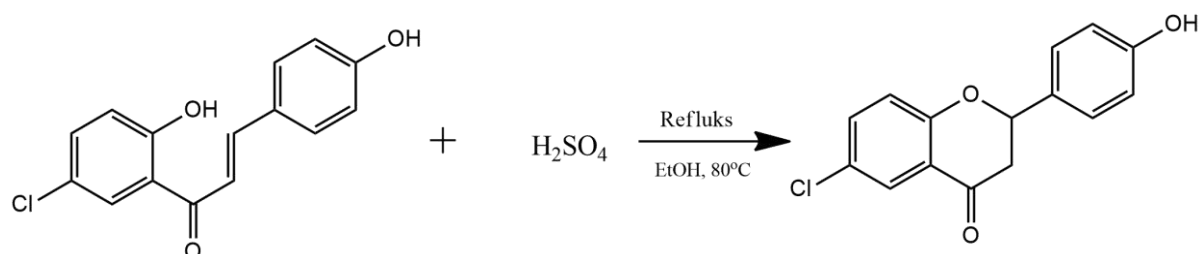
Nomor Atom	Pergeseran Kimia δ ¹ H-NMR (ppm)	Integrasi dan Tipe Multisiplitas	Pergeseran Kimia δ ¹³ C-NMR (ppm)
1'	-	-	120,7
2'	-	-	162,0
3'	6,9 (J = 8,4 Hz)	1H, d	120,2
4'	7,43	1H, s	136,0
5'/Cl	-	-	123,5
6'	7,85	1H, s	131,1
1	-	-	127,3
2/6	7,6 (J = 8 Hz)	1H, d	128,8
3/5	6,97 (J = 9,2 Hz)	1H, d	116,2
4/OH	-	-	158,6
C _α	7,90 (J = 15,2 Hz)	1H, d	117,0
C _β	7,43 (J = 15,2 Hz)	1H, d	146,4
C=O	-	-	192,8
2'/OH	12,82	1H, s	-
4'/OH	5,36	1H, s	-

Data hasil ^{13}C -NMR menunjukkan hasil bahwa senyawa uji memiliki atom karbon (C) berjumlah 13 dengan spesifikasi C- sp^2 (C=O) sebanyak 1 dan C- sp^2 (C=C) sebanyak 12. Data hasil ^1H -NMR menunjukkan bahwa senyawa memiliki atom hidrogen (H) sebanyak 11 dan spektra yang dihasilkan sesuai dengan lingkungan atom hidrogen senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon. Data pada pergeseran kimia 7,90 ppm ($J = 15,2$ Hz) dan 7,43 ppm ($J = 15,2$ Hz) menunjukkan telah terbentuknya ikatan C=C khas kalkon dengan konfigurasi proton trans karena memiliki tetapan kopling yang sama yaitu 15,2 Hz. Tetapan kopling yang sama menunjukkan kedua proton saling mempengaruhi satu sama lain dan berada pada posisi yang berdekatan atau lingkungan yang sama. Umumnya proton dengan konfigurasi trans akan menghasilkan tetapan kopling 12-19Hz. Data pada pergeseran kimia 5,36 dan 12,82 ppm dengan multisiplitas *singlet* dan integrasi 1 menunjukkan keberadaan 2 gugus OH. Berdasarkan hasil analisis diketahui senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon telah terbentuk melalui reaksi antara 2-hidroksi-5-kloroasetofenon dan 4-hidroksi benzaldehida dalam suasana basa.

Sintesis senyawa 6-kloro-4'-hidroksiflavanon

Senyawa turunan 6-kloro-4'-hidroksiflavanon diperoleh dengan mereaksikan senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon melalui reaksi siklisasi dengan katalis asam sulfat dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol absolut. Skema reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.

Data hasil ^{13}C -NMR menunjukkan hasil bahwa senyawa uji memiliki atom karbon (C) berjumlah 13 dengan spesifikasi C- sp^3 sebanyak 2, C- sp^2 (C=O) sebanyak 1 dan C- sp^2 (C=C) sebanyak 10. Data hasil ^1H -NMR menunjukkan bahwa senyawa memiliki atom hidrogen (H) sebanyak 11 dan spektra yang dihasilkan sesuai dengan lingkungan atom hidrogen senyawa 6-kloro-4'-hidroksiflavanon. Data pada pergeseran kimia 2,86 ppm ($J = 17,2 ; 3,2$ Hz), 5,39 ppm ($J = 2,8 ; 13\text{Hz}$) dan 3,07 ppm ($J = 13,2 ; 16,8$ Hz) menunjukkan telah terbentuknya siklik cincin C flavanon. Data pada pergeseran kimia 5,145 ppm dengan multiplisitas *singlet* dan integrasi 1 menunjukkan keberadaan gugus OH. Berdasarkan hasil analisis diketahui senyawa 6-kloro-4'-hidroksiflavanon telah terbentuk dari 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon melalui reaksi siklisasi dengan katalis asam sulfat dengan metode refluks.



Gambar 2. Skema reaksi sintesis turunan flavanon

Tabel 3. Interpretasi data Flavanon $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3)

Nomor Atom	Pergeseran Kimia δ $^1\text{H-NMR}$ (ppm)	Integrasi dan Tipe Multisiplitas	Pergeseran Kimia δ $^{13}\text{C-NMR}$ (ppm)
1	-	-	-
2/Hx	5,39 (J = 2,8 ; 13 Hz)	1H, dd	79,6
3/ H α / H β	-	-	44,1
4/C=O	-	-	191,2
5	7,87 (J = 2,4 Hz)	1H, d	128,0
6	-	-	126,4
7	7,42 (J = 2,4 ; 9,2 Hz)	1H, dd	136,1
8	6,98 (J = 9,2 Hz)	1H, d	119,9
9	-	-	160,1
10	-	-	121,7
1'	-	-	130,5
2'/6'	6,88 (J = 8 Hz)	1H, d	127,2
3'/5'	7,33 (J = 8,8 Hz)	1H, d	115,7
4'/OH	-	-	156,2
2/Hx	5,39 (J = 2,8 ; 13 Hz)	1H, dd	79,6
3/H α	2,86 (J = 17,2 ; 3,2 Hz)	1H, dd	44,1
3/H β	3,07 (J = 13,2 ; 16,8 Hz)	1H, dd	44,1
4'/OH	5,14	1H, s	156,2

Uji aktivitas antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon adalah 131,19 ppm. Berdasarkan hasil tersebut senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon tergolong sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan lemah. Senyawa dengan nilai IC_{50} 100-250 ppm merupakan senyawa yang memiliki aktivitas lemah sebagai antioksidan^[6]. Sehingga senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon merupakan senyawa yang memiliki aktivitas lemah sebagai antioksidan.

Uji toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk menentukan toksisitas senyawa hasil sintesis. Metode yang digunakan yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan konsentrasi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan skrining awal dengan melihat toksisitas senyawa terhadap larva *Artemia salina* L untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas biologi suatu senyawa dari nilai

LC_{50} . LC_{50} adalah konsentrasi senyawa yang dapat membunuh 50% populasi hewan uji dalam hal ini larva udang *Artemia salina* L. Nilai LC_{50} ditetapkan dari data hewan mati dan hewan hidup yang masing-masing diakumulasikan. Data kemudian dianalisis menggunakan metode analisis *Reed and Muench*. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai LC_{50} senyawa kalkon hasil sintesis adalah 46,465 ppm. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa berpotensi sebagai antibakteri^[4].

KESIMPULAN DAN SARAN

Senyawa 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon telah berhasil disintesis dari bahan dasar 2-hidroksi-5-kloroasetofenon dan 4-hidroksi benzaldehida melalui reaksi Kondensasi *Claisen-Schmidt* dan diperoleh rendemen hasil reaksi sebanyak 61,49 %. Senyawa ini sebagai senyawa antara sintesis turunan flavanon. Senyawa 6-kloro-4'-hidroksiflavanon telah berhasil disintesis dari bahan dasar 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon menggunakan katalis asam sulfat dengan metode refluks dan

diperoleh rendemen hasil reaksi sebanyak 17,37 %. Senyawa sintesis 2'-hidroksi-5'-kloro-4-hidroksikalkon memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 131,19 ppm dan toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 46,465 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Albogami, A. S., Karama, U, Mousa, A.A., Khan, M., Al-Mazroa, S.A., & Alkathlan, H.A. 2012. Simple and Efficient One Step Synthesis of Functionalized Flavanones and Chalcones. *Orient. J. Chem.* 28(2) : 619-626.
- [2] Cortes, J. A., Patcas, F., & Amiridis, M. D. 2010. Effect of Li on the catalytic activity of MgO for synthesis of flavanone. *Applied Catalysis.* 386:1-8.
- [3] Kagawa, H., Shigematsu, A., Dai, Y., Gao, H., Liu, H. W., Wang, N. L., Ye, W. C., & Yao, X. S. 2008. Alkaloids from the root barks of *Goniothalamus cheliensis*. *Chinese Chemical Letters.* 19:302-304.
- [4] Meyer B.N, Ferrigni N.R, Putnam J.E, Jacobsen L.B, Nichols D.E, McLaughlin J.L, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research.* Vol.45
- [5] Mondal, R., Gupta, A. D., & Mallik, A. K. 2011. Synthesis of flavanones by use of anhydrous potassium carbonate as an inexpensive, safe, and efficient basic catalyst. *Tetrahedron Letters.* 52:5020-5024.
- [6] Phongpaichit, S., Palakawong, C., Sophanodora, P., dan Pisuchpen, S. 2010. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crude Extracts from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Parts and some Essential oils. *International Food Reaseach Journal.* 17 (1) : 583-589
- [7] Rizal, Syamsul., Yuharmen, Adel Zamri. 2014. Sintesis dan Uji Toksisitas Senyawa Metoksi Flavanon Turunan 2'-Hidroksikalkon. *JOM FMIPA.* 1(2) : 143-148.
- [8] Rohyami, Y. 2008. Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl). (*Skripsi*). Universitas Islam Indonesia: Yogyakarta.
- [9] Safavi, M., Esmati, N., Ardestani, S. K., Emami, S., Ajdari, S., Davoodi, J., Shafiee, B., & Foroumadi, A. 2012. Halogenated flavanones as potensial apoptosis-including agent: Synthesis and biological activity evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 58:573-580.
- [10] Wang, X., Tseng, Y. H., Chan, J. C. C., & Cheng, S. 2005. Catalytic application of aminopropylated mesoporous silica prepared by a template-free route in flavanones synthesis. *Journal of Catalysis.* 233:266-275.