

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METODE DPPH SENYAWA TURUNAN KALKON 3-(3,4-DIMETOKSIFENIL)-1-(4'-HIDROKSIFENIL)-2-PROPEN-1-ON

Dwi Koko Pratoko¹, Indah Purnama Sary¹

¹Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

A new chalcone derivate named 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one has been synthesized. 4-hydroxyacetophenone and 3,4-dimethoxybenzaldehyde was mixtured to produce this compound by Claisen-Schmidt condensation. IR and ¹H-NMR spectra was used to elucidate the compound structure. The purity of the compound was identified by TLC that showed only one spot and a narrow melting point. Thus, this compound was evaluated for the antioxidant activity by DPPH method and the result showed that IC₅₀ is 318,2 ppm, lower than vitamin C as the standard.

Keywords : chalcone derivate, Claisen Schmidt condensation, antioxidant, DPPH

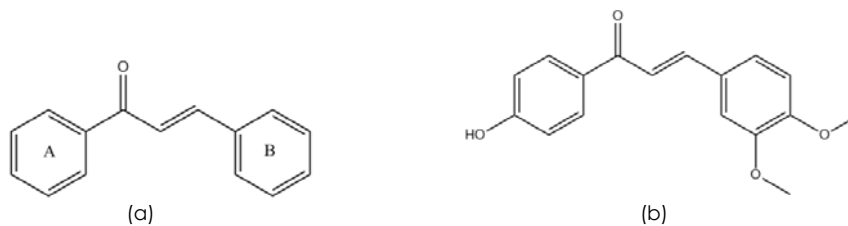
Korespondensi (correspondence): Jl Kalimantan I No.2 Jember, dwikoko.farmasi@unej.ac.id

Ada peningkatan bukti eksperimental, klinis dan epidemiologis menyoroti keterlibatan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam berbagai penyakit manusia termasuk kanker, gangguan inflamasi dan berbagai penyakit degeneratif terkait dengan penuaan. Antioksidan adalah senyawa kimia, yang menetralsir radikal bebas dan ROS sehingga meminimalkan stres oksidatif yang dihasilkan dalam tubuh. Selain itu, banyak penelitian eksperimental telah menjelaskan pentingnya antioksidan sebagai pendekatan terapi alternatif untuk pengobatan beberapa penyakit seperti penyakit jantung, berbagai jenis kanker dan gangguan inflamasi. Antioksidan dapat melindungi makromolekul sel yang penting (protein, lipid & asam nukleat) dari proses oksidasi sehingga membantu dalam proses perbaikan kesehatan.¹ Salah satu senyawa yang dapat bertindak sebagai antioksidan adalah kalkon.

Secara struktur kimia, kalkon terdiri dari flavanoid rantai terbuka di mana dua cincin aromatik digabungkan dengan tiga karbon α,β tak jenuh. Senyawa kalkon alami dan sintetis telah menunjukkan aktivitas biologis dan profil keamanan yang menjanjikan. Kalkon memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa induk

dalam penemuan antioksidan, anti-inflamasi dan agen antikanker⁽²⁾⁽³⁾. Singh *et al.*⁽⁴⁾ menyatakan bahwa dari tiga belas turunan kalkon yang telah disintesis dengan berbagai substituen, menunjukkan bahwa yang paling poten sebagai antioksidan adalah senyawa dengan substitusi gugus hidroksi (-OH) pada posisi *orto* cincin A dan dua gugus metoksi (-OCH₃) pada posisi *orto* dan *para* cincin B.

Pada penelitian ini disintesis senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on (Gambar 1b) yang merupakan turunan kalkon dengan modifikasi rantai samping pada cincin A dan B. Senyawa ini disintesis melalui reaksi kondensasi aldol Claisen-Schmidt dari senyawa 4'-hidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehid, dimana kesempurnaan reaksi diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil sintesis tersebut kemudian dikarakterisasi melalui uji organoleptis, kelarutan, titik lebur dengan *melting point tester*, identifikasi struktur senyawa dengan ¹H-NMR dan FT-IR. Setelah itu, dilakukan uji aktivitas antioksidan senyawa menggunakan metode DPPH dengan parameter aktivitas yaitu IC₅₀. Aktivitas yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan asam askorbat sebagai senyawa pembanding.



Gambar 1 Struktur (a) senyawa kalkon (b) 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on

METODE PENELITIAN

Bahan. 4-hidroksiasetofenon (Sigma Aldrich), 3,4-dimetoksibenzaldehid (Sigma Aldrich), DPPH (Sigma Aldrich), asam askorbat, etanol p.a, etil asetat p.a, heksana p.a, metanol, HCl, KOH, NaOH, aquades, plat KLT GF254.

Alat. Uji kemurnian hasil sintesis dilakukan menggunakan electrothermal melting point tester. Identifikasi struktur hasil sintesis menggunakan ALPHA FT-IR Spektrometer ATR Bruker dan ¹H-NMR 90 MHz Permanent Magnet R-1900 Hitachi. Uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu.

Metode:

1. sintesis turunan kalkon dilakukan dengan metode kondensasi aldol (Claisen Schmidt) dengan cara mencampurkan 1,25 mmol 4-metilasetofenon dengan 1,25 mmol 3,4-dimetoksibenzaldehid dalam 10 ml etanol. Kemudian ditambah 1,2 ml NaOH 60% dalam *ice bath*, diaduk selama 24 jam pada suhu kamar. Terakhir ditambahkan HCl hingga pH netral, kristal kemudian disaring dan direkristalisasi dengan etanol.
2. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, yaitu dengan cara menyiapkan larutan DPPH 1,3 mg/ml dalam metanol, lalu diambil 100 µl larutan DPPH ditambahkan dengan 3 ml metanol. Senyawa uji dibuat dalam 11 konsentrasi, yaitu 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 250, dan 500 ppm, sedangkan standar asam askorbat dibuat dalam konsentrasi 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, dan 25 ppm. Masing-masing larutan uji dipipet 1 ml dan diencerkan dengan metanol 3 ml, ditambahkan 100 µl larutan DPPH. Campuran dibiarkan 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

HASIL

Optimasi Kondisi Sintesis

Pada penelitian ini, telah dilakukan optimasi kondisi sintesis, karakterisasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa turunan kalkon yang disintesis dari 4'-hidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol Claisen-Schmidt. Optimasi kondisi sintesis meliputi optimasi jenis dan konsentrasi katalis. Optimasi jenis dan konsentrasi katalis untuk mendapatkan persen hasil sintesis yang optimal. Selain itu, juga dilakukan optimasi eluen yang bertujuan untuk memberikan pemisahan yang baik saat identifikasi kesempurnaan reaksi. Hasil optimasi kondisi eluen, yang memberikan nilai Rf yang optimum yaitu campuran etil asetat :n-heksana = 1 : 1. Berdasarkan hasil uji kesempurnaan reaksi, diketahui bahwa waktu reaksi pembentukan senyawa turunan kalkon

ini membutuhkan waktu reaksi 24 jam, untuk dapat menghasilkan hasil reaksi yang optimum. Berdasarkan syarat terjadinya reaksi kondensasi, maka keberadaan katalis basa merupakan salah satu faktor penting untuk terbentuknya produk. Pada penelitian ini telah dioptimasi penggunaan katalis KOH dan NaOH dengan konsentrasi masing-masing 50%(b/v) dan 60%(b/v) terhadap hasil sintesis dari senyawa 4'-hidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehid (tabel 1). *Sintesis Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on*

Tabel 1 Perbandingan Persen Hasil Sintesis Senyawa Menggunakan Katalis KOH dan NaOH dengan Konsentrasi 50 %(b/v) dan 60%(b/v).

Jenis Katalis	Konsentrasi	% Hasil	% Hasil
		Sebelum Rekrystalisasi	Setelah Rekrystalisasi
KOH	50 %(b/v)	54,70 %	13,74 %
	60 %(b/v)	58,12 %	15,89 %
NaOH	50 %(b/v)	82,36 %	32,34 %
	60 %(b/v)	87,69 %	35,77 %

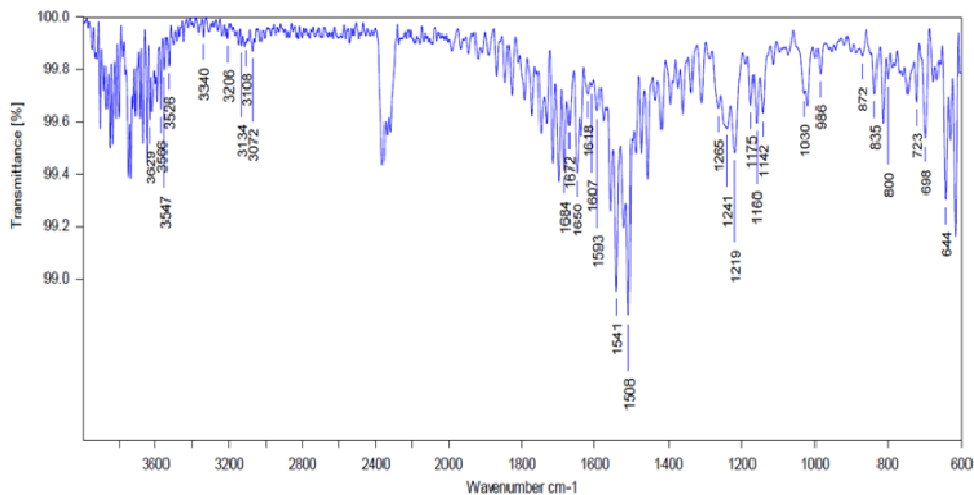
Tabel 2. Hasil Kelarutan Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on dalam Beberapa Pelarut

Pelarut	Perbandingan Zat Terlarut : Pelarut	Istilah Kelarutan
Metanol	1 : 172	Agak Sukar Larut
Etanol	1 : 164	Agak Sukar Larut
Kloroform	1 : 80	Larut
Etil	1 : 160	Agak Sukar Larut
Asetat	1 : 48	Larut
Aseton	1 : 48	Larut
Air	1 : >100.000	Praktis Tidak Larut

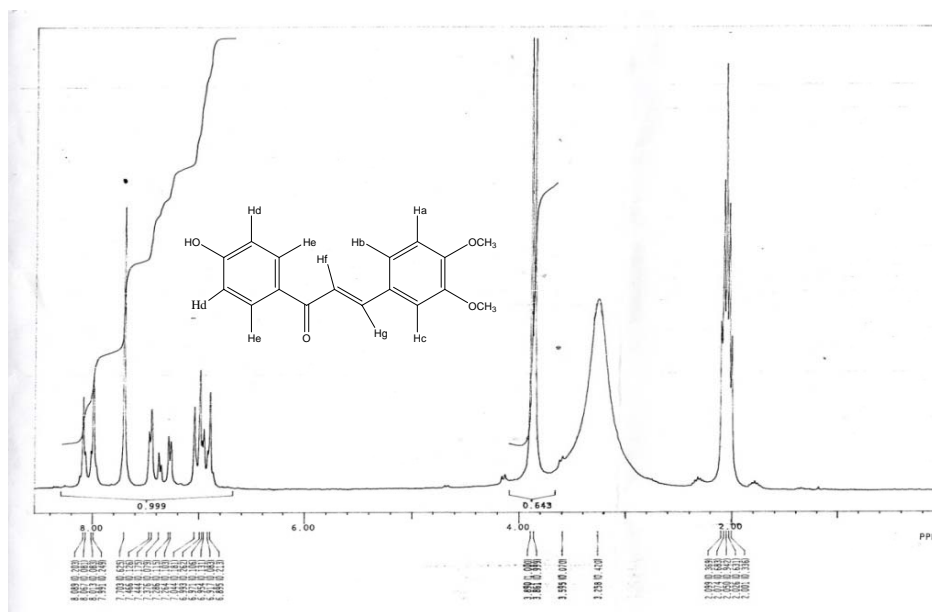
Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on yang disintesis dari senyawa 4'-hidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol Claisen-Schmidt menggunakan katalis NaOH 60%, mendapatkan hasil rendemen rata-rata % hasil reaksi sebelum rekrystalisasi 86,97 % dengan nilai RSD 2,09%. Sedangkan %hasil reaksi rata-rata setelah rekrystalisasi didapatkan nilai 35,21% dengan nilai RSD 4,23%.

Karakterisasi Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on

Senyawa hasil sintesis memiliki jarak lebur 203 – 205°C dan memiliki kelarutan pada beberapa pelarut seperti yang tercantum pada tabel 2. Hasil identifikasi FTIR dan ¹H-NMR ditunjukkan pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Spektra Senyawa Produk Sintesa dengan FTIR



Gambar 3. Profil 1H-NMR senyawa hasil sintesis

Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on

Dari hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC₅₀ dari senyawa sebesar 318,2 ppm. Sedangkan nilai IC₅₀ asam askorbat sebagai senyawa pembanding sebesar 6,32 ppm.

PEMBAHASAN

Reaksi kondensasi aldol merupakan reaksi kondensasi cepat dan reversibel dalam suatu pelarut alkohol dengan katalis basa. Syarat terjadinya kondensasi aldol adalah salah satu karbonil baik keton maupun

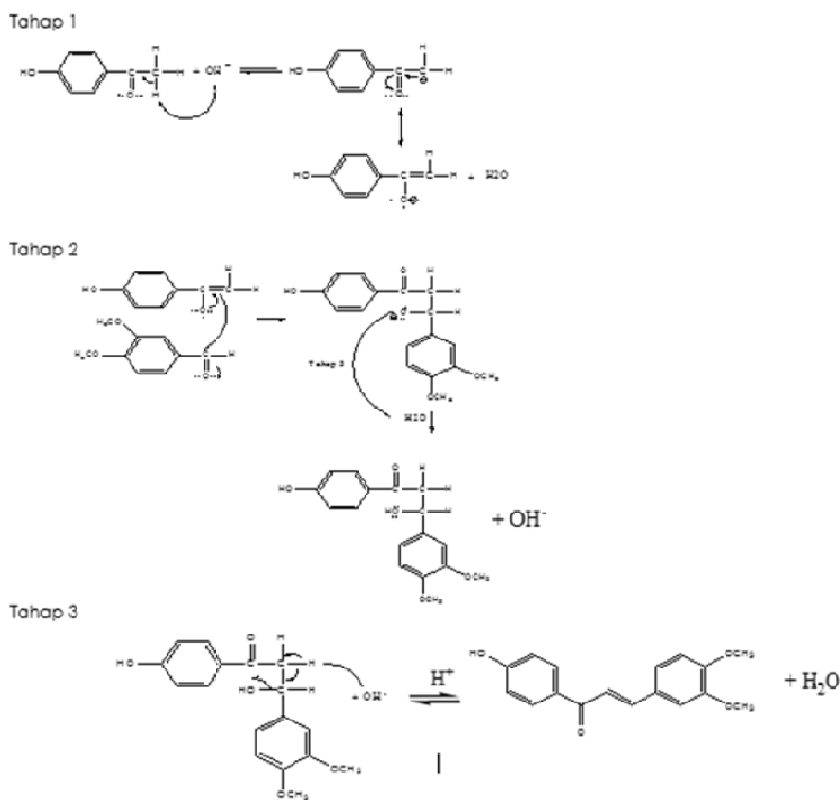
aldehid harus memiliki atom hidrogen a. Jika tidak memiliki atom hidrogen a, kondensasi aldol tidak akan terjadi. Senyawa karbonil yang memiliki atom hidrogen pada karbon posisi a dengan mudah diubah menjadi isomer enol. Untuk pembentukan isomer enol tersebut, maka diperlukan suatu basa agar meningkatkan keasamaan hidrogen pada karbon posisi alfa sehingga dapat lepas dan membentuk isomer enol. Berdasarkan syarat terjadinya reaksi kondensasi, maka keberadaan katalis basa merupakan salah satu faktor penting untuk terbentuknya produk. Penggunaan katalis baik KOH maupun NaOH dengan konsentrasi 60% memberikan

persen hasil lebih banyak dibandingkan KOH dan NaOH dengan konsentrasi 50%. Hal ini dikarenakan katalis dengan konsentrasi 60% lebih besar kemampuannya untuk mendorong reaksi pembentukan ion enolat sehingga akan meningkatkan persen hasil sintesis dibandingkan katalis dengan konsentrasi 50%.

Adapun mekanisme reaksi dari reaksi ini ditunjukkan pada gambar 4. Berdasarkan hasil sintesis, didapatkan rendemen rata-rata % hasil reaksi sebelum rekristalisasi 86,97 % dengan nilai RSD 2,09%. Sedangkan %hasil reaksi rata-rata setelah rekristalisasi didapatkan nilai 35,21% dengan nilai RSD 4,23%. Hasil replikasi menunjukkan bahwa kepresisian dari persen hasil sebelum rekristalisasi lebih baik daripada setelah rekristalisasi. Dimana RSD dari persen hasil sebelum rekristalisasi sebesar 2,09% dan setelah rekristalisasi sebesar 4,23%. Dari nilai RSD tersebut menunjukkan bahwa metode rekristalisasi yang digunakan kurang baik sehingga memungkinkan ada senyawa hasil sintesis yang hilang selama proses rekristalisasi dan pada akhirnya jumlah yang diperoleh lebih sedikit.

Jarak lebur dari senyawa hasil sintesis dengan tiga kali replikasi menggunakan alat *melting point tester* yaitu sebesar 203 – 205° C.

Berdasarkan Gambar 2, dapat diprediksi bahwa keberadaan gugus fungsi dari senyawa kalkon yang diinginkan adalah sebagai berikut : OH (3629-3526 cm^{-1}), C=O (1684 - 1672 cm^{-1}), C=C (1650 - 1607 cm^{-1}) dan C-O (1265 - 1142 cm^{-1}). Untuk memastikan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa turunan kalkon adalah bergesernya serapan gugus fungsi C=O dan C=C yang terkonjugasi ke panjang gelombang lebih rendah. Selain itu, karena C=O dan C=C terkonjugasi, maka serapan C=C akan terlihat lebih rendah dari pada serapan C=O. Identifikasi struktur senyawa dengan Hitachi® R-1900 *Permanent Magnet* FT-NMR 90 MHz dilakukan untuk mengetahui jumlah atom hidrogen yang terdapat dalam senyawa yang diidentifikasi. Sehingga dapat digunakan untuk menentukan kebenaran dari senyawa yang telah disintesis. Bila dihitung secara teoritis, jumlah atom hidrogen senyawa turunan kalkon yang disintesis sebanyak 16 atom hidrogen, pada hasil NMR terhitung 18 atom hidrogen. Hal tersebut berbeda karena senyawa pada hasil NMR gugus hidroksi dan gugus keton membentuk ikatan hidrogen dengan atom hidrogen dari pelarut CD_3OCD_3 (aseton d_6) yang tidak murni 100% (masih mengandung atom hidrogen dan air).



Gambar 4. Mekanisme reaksi Sintesis senyawa turunan Kalkon

Dari nilai IC_{50} uji antioksidan terhadap DPPH, dapat diketahui bahwa kemampuan peredaman senyawa terhadap radikal DPPH tidak lebih baik dari asam askorbat karena senyawa membutuhkan konsentrasi lebih besar untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50 %. Apabila dikaitkan dengan struktur senyawa dengan asam askorbat tentunya asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan lebih besar karena memiliki gugus hidroksi lebih banyak sebagai *radical scavenger* (lihat Gambar 2.9). Sehingga kemampuan peredaman terhadap radikal DPPH lebih besar jika dibandingkan senyawa hasil sintesis. Aktivitas antioksidan senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on terkait dengan adanya gugus OH pada posisi *para* cincin A dan dua gugus OCH_3 pada posisi *meta*, *para* cincin B. Menurut Blois dalam Molyneux (2004) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm. Sedangkan Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on memiliki nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm sehingga senyawa tersebut sangat lemah sebagai antioksidan atau hampir tidak dapat dikategorikan sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Senyawa 3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on yang disintesis dari senyawa 4'-hidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol Claisen-Schmidt, memiliki nilai IC_{50} sebesar 318,2 ppm. Sehingga senyawa sintesa yang dihasilkan memiliki aktivitas yang sangat lemah atau hampir tidak dapat dikategorikan sebagai

antioksidan karena nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm. Perlu dilakukan uji aktivitas lain, dikarenakan kalkon memiliki banyak aktivitas biologis

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan banyak terima kasih untuk Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan hibah dosen pemula melalui pendanaan DIPA fakultas.

Daftar Pustaka

1. R. N. Gacche, N. A. Dhole, S. G. Kamble, B. P. Bandgar, In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2008, 23(1): 28–31
2. B. Mathew, J. Suresh, S. Anbazhagan, J. Paulraj, G. K. Krishnan, Heteroaryl chalcones: Mini review about their therapeutic voyage, *Biomedicine & Preventive Nutrition* 2014, 4:451–458
3. H. Jamal, W. H. Ansari, S. J. Rizvi, Chalcones: Differential effects on glycogen contents of liver, brain and sBarusl cord in rats, *Biology and Medicine* 2009, 1(2): 107-115
4. S. Singh, P. K. Sharma, N. Kumar, R. Dudhe, Anti-oxidant Activity of 2-hydroxyacetophenone Chalcone, *J. Adv. Sci. Res* 2011, 2(3):37-41
5. P. Molyneux. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 2004, 26 (2): 211-219