

# Sintesis Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonol 2-(3,4,5-Dimetoksifenil)-3-Hidroksi-4h-Kromen-4-On

Muhamad Rokhim, Adel Zamri, Hilwan Yuda Teruna

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau

e-mail : m.rokhim@staff.unri.ac.id

## ABSTRAK

Senyawa analog flavonol turunan 2'-hidroksikalkon telah berhasil disintesis dalam suasana basa (KOH). Struktur senyawa dikarakterisasi berdasarkan interpretasi data spektroskopi HPLC, UV, FTIR, NMR dan HRMS. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa senyawa flavonol turunan 2'-hidroksikalkon berpotensi aktif sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ .

**Kata kunci:** 2'-hidroksikalkon, flavonol, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH).

## ABSTRACT

Flavonols derivatives of 2'-hydroxycalcone have been synthesized under basic condition (KOH). The structures of all compounds were characterized based on the interpretation of spectroscopic data including HPLC, UV, FTIR, NMR and HRMS. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH assay which showed that the flavonol 2'-hydroxycalcone derivative was potentially active as antioxidants with  $IC_{50}$  values  $< 1000 \mu\text{g/mL}$ .

**Key words:** 2'-hydroxycalcone, flavonol, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH).

## PENDAHULUAN

Pencarian molekul baru dengan kemampuan untuk menghambat inisiasi penyakit degeneratif merupakan kontribusi penting. Senyawa bahan alam telah menjadi sumber yang efektif sebagai senyawa bioaktif (Dias *et al.*, 2013) yang berperan untuk menginisiasi penyakit degeneratif. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat di alam, yang memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan dan dianggap sebagai senyawa yang berpotensi dalam terapi pengobatan kanker (salah satu penyakit degeneratif) (Burmistrova *et al.*, 2014). Salah satu senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang sering disintesis untuk dipelajari bioaktivitasnya adalah kalkon. Senyawa kalkon dan turunannya dikenal memiliki beragam aktivitas biologi. Dalam bidang sintesis, senyawa kalkon telah banyak digunakan untuk membuat berbagai macam senyawa heterosiklik salah satunya flavonol (Britton *et al.*, 2012 & Jadhav *et al.*, 2008) yang memiliki aktivitas biologi yang menarik termasuk didalamnya sebagai antioksidan.

Aktivitas biologi senyawa-senyawa turunan kalkon seperti flavonol dipengaruhi oleh jenis substituenya (Jadhav *et al.*, 2008). Beberapa analog flavonol turunan kalkon dilaporkan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut dan dikembangkan sebagai obat kanker prostat berdasarkan uji sitotoksik menggunakan *cell line* 22rv1 (kanker prostat pada manusia) dengan nilai  $IC_{50} < 5 \mu\text{M}$  (Britton *et al.*, 2012). Beberapa analog flavonol dengan substituen halogen juga dilaporkan aktif berdasarkan uji sitotoksik menggunakan *cell line* HCT116 (kanker usus besar) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $4,6 \mu\text{M}$  (Dias *et al.*, 2013), dan juga terhadap *human leukemia cell line* dengan  $IC_{50}$  sebesar  $43,3 \mu\text{M}$  (Burmistrova, 2014).

Selain memiliki potensi sebagai antikanker, senyawa flavonol juga sangat dikenal dengan aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu, menjadi sesuatu hal yang sangat menarik untuk melihat pengaruh berbagai jenis dan posisi substituen tersebut terhadap potensi antikanker dan antioksidan dari senyawa 2'-hidroksikalkon dan turunannya. Variasi substituen pada cincin aromatik akan menghasilkan kalkon dan turunannya dengan struktur yang luas dan aktivitas yang beragam. Variasi struktur yang luas tersebut tidak dapat diperoleh melalui isolasi dari bahan alam, selain karena membutuhkan biaya yang lebih

mahal dan waktu pengerjaan yang lebih lama. Senyawa kalkon dan turunan kalkon tersubstitusi halogen, metil, dan isopropil tidak dapat ditemukan di alam. Oleh karena itu, sintesis secara kombinatorial merupakan jalan keluar yang paling tepat bagi pemecahan masalah tersebut.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah lampu UV 254/366 nm (Camag®), alat penentu titik leleh *Fisher Johns* (SMP 11-Stuart®), HPLC (UFLC Prominace-Shimadzu®, detektor UV SPD 20AD), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S®), spektrofotometer FTIR (Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR (Agilent 500 MHz), HRMS (Water LCT premier XE mode positif), *microplate reader 96 well* (Berthold LB-941), indikator universal, peralatan sintesis, uji antioksidan yang biasa digunakan di Laboratorium Sintesis Organik.

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 2'-hidroksiasetofenon (Aldrich), dimetoksi benzaldehid, 3,4,5-dimetoksi benzaldehid, larutan KOH 3N, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, larutan HCl 3N, DPPH, aquades dan berbagai pelarut organik seperti etil asetat, *n*-heksana, kloroform, metanol, etanol dan dimetilsulfoksida (DMSO).

### Sintesis Senyawa Flavonol

Sintesis senyawa flavonol akan dilakukan berdasarkan modifikasi metode yang telah digunakan oleh Britton *et al.*, (2012). 0,5 mmol 2'-hidroksikalkon dilarutkan dalam 5 mL etanol dan ditambahkan KOH 3 N sebanyak 1 mL. Campuran kemudian didinginkan dalam mangkuk berisi es di dalam Freezer hingga suhu 0°C kemudian sebanyak 0,25 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan diaduk selama 3 jam pada temperatur kamar. Kemudian ke dalam larutan ditambahkan HCl 3N sampai terbentuk padatan. Padatan yang diperoleh kemudian dimurnikan dengan rekristalisasi atau kromatografi kolom.

### Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader, two fold dilution* dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Zhang *et al.*, 2006) pada panjang gelombang 520 nm. Sebanyak 2 mg sampel dilarutkan dalam 2 mL metanol. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL (*plate* terdiri dari baris A-F masing-masing berjumlah 12 sumur). Sebanyak 50 µL metanol dimasukkan ke masing-masing sumur pada baris B-F. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dimasukkan ke baris C dan dilakukan sampai baris D, baris D dipipet 50 µL lalu dibuang, sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji 1000 µg/mL (baris A), 500 µg/mL (baris B), 250 µg/mL (baris C), dan 125 µg/mL (baris D). Baris E-F diisi dengan 50 µL metanol. Baris A-E ditambahkan DPPH sebanyak 80 µL dengan konsentrasi 100 µg/mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *microplate reader* dan olah data. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembandingan yaitu vitamin C. Nilai % inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

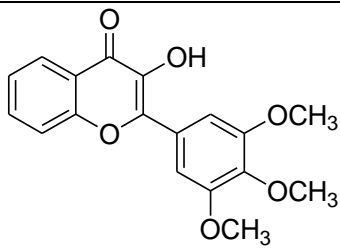
Keterangan :  $A_{\text{kontrol}}$  = Absorbansi tidak mengandung sampel  
 $A_{\text{sampel}}$  = Absorbansi sampel

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Analog flavonol dihasilkan dari reaksi antara 2'-hidroksikalkon dengan hidrogen peroksida dalam suasana basa, melalui reaksi Flynn-Algar-Oyamada (FAO). Skema reaksi pembentukan senyawa flavonol dari 2'-hidroksikalkon dapat dilihat pada Gambar 1. Reaksi diawali dengan oksidasi ikatan rangkap  $\alpha,\beta$  pada molekul 2'-hidroksikalkon oleh hidrogen peroksida dalam suasana basa membentuk intermediet epoksida (*oxirane*). Bersamaan dengan itu, basa merebut hidrogen fenolik pada 2'-hidroksikalkon sehingga terbentuk ion fenoksida. Selanjutnya, ion fenoksida akan menyerang cincin *oxirane* sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O *oxirane*. Atom oksigen *oxirane* digantikan oleh atom oksigen fenoksida melalui penyerangan pada karbon  $\beta$  *oxirane* menghasilkan flavanonol (**1**). Flavanonol tersebut kemudian akan teroksidasi menjadi flavonol (**2**) oleh hidrogen peroksida. Jika penyerangan ion



Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa Flavonol hasil sintesis.

No	Senyawa	Struktur Senyawa	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
1	Flavonol		142,01

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa sintesis senyawa Flavonol 2-(3,4,5-dimetoksifenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on turunan 2'-hidroksikalkon di sintesis dengan menggunakan modifikasi metode yang telah digunakan oleh Britton *et al.*, (2012). Kemudian karakterisasi menggunakan spektroskopi HPLC, UV, FTIR, NMR dan HRMS. menunjukkan bahwa struktur molekul senyawa hasil sintesis sesuai dengan struktur molekul target. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa senyawa flavonol bersifat aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 142,01µg/mL.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Riska Prasetyawati M. Farm., Apt., yang telah membantu dalam analisa spektroskopi HRMS.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bennett, M., Burke, J.A. & O'Sullivan, W.I. 1996. Aspects of the Algar-Flynn-Oyamada (AFO) Reaction. *Tetrahedron*, 52(20): 7163-7178.
- Britton, R.G., Horner-Glister, E., Pomenya, O.A., Smith, E.E., Denton, R., Jenkins, P.R., Steward, W.P., Brown, K., Gescher, A. & Sale, S. 2012. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Flavonols as Potential Anti-Prostate Cancer Agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54: 952-958.
- Burmistrova, O., Marrero, M.T., Estevez, S., Welsch, I., Brouard, I., Quintana, J. & Estevez, F. 2014. Synthesis and Effects on Cell Viability of Flavonols and 3-Methyl Ether Derivatives on Human Leukemia Cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84: 30-41.
- Dias, T.A., Duarte, C.L., Lima, C.F., Proenca, M.F. & Pereira-Wilson, C. 2013. Superior Anticancer Activity of Halogenated Chalcones and Flavonols Over the Natural Flavonol Quercetin. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 65: 500-510.
- Gormley, T.R. & O'Sullivan W.I. 1973. Flavanoid Epoxides-XIII<sup>1</sup> Acid and Base Catalysed Reactions of 2'-toxyloxychalcone epoxides. Mechanism of the Algar-Flynn-Oyamada Reaction. *Tetrahedron*, 29(2): 369-373.
- Jadhav, S.B., Bagul, K.R., Bagul, P.R. & Gaikwad, K.V. 2008. Synthesis of Some Novel Flavonol Derivatives and Its Antimicrobial Activity. *Oriental Journal of Chemistry*, 24(2): 583-588.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journals Songklanakarin Science Technology*, 26: 212-219.