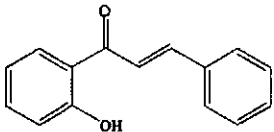
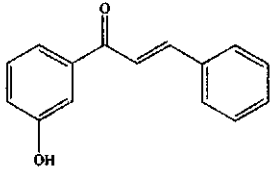
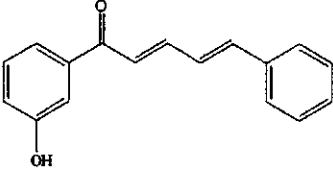


## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### IV.1. Hasil

#### IV.1.1. Hasil Sintesis

No	Nama Senyawa	Rendemen (%)	Titik Leleh (°C)	Rf	Spektrum
1.	<p>2'-hidroksi calkon</p> 	43	86-87	0,44 (eter-heksana 1:9), 0,28 (diklorometana-heksana 2:3)	<p>Spektrum UV <math>\lambda_{Maks}^{MeOH}</math> nm (A): 314,4; 221,8; 204,6</p> <p>Spektrum UV <math>\lambda_{Maks}^{MeOH} + NaOH</math> nm (A): 308,2; 243,4; 207,2</p> <p>Spektrum IR (cm<sup>-1</sup>): 3055,24; 3045,60; 3026,31; 2933,73; 2875,86; 2744,71; 1639,49; 1573,91; 1485,19; 1436,97; 1369,46; 1325,10; 1307,74; 1298,09; 1267,23; 1236,37; 1182,36</p> <p>Spektrum <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ): 1,5708 (s); 2,1672 (s); 7,4364; 6,9518 (t); 7,0337 (t); 7,4431 (t) 7,5061 (t); 7,6705 (m); 7,9204 (m); 7,9418 (m); 12,8193 (s)</p> <p>Spektrum <sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ): 118,8344; 119,0537; 120,1888; 120,2746;</p>

					128,8591; 129,2407; 129,8416; 131,7634; 136,6138; 145,6752; 163,7694; 193,9296
2.	3'-hidroksi-calkon  	67,81	121-123	0,49 (heksana- etilasetat 1:1)	Spektrum UV $\lambda_{Maks}^{MeOH}$ nm (A): 303, 223 Spektrum IR ( $cm^{-1}$ ): 3215, 3107, 3062, 3032, 1653, 1577 Spektrum $^1H$ NMR(500 MHz, $CDCl_3$ ) ( $\delta$ ): 7,13 (d); 7,35 (d); 7,36 (t); 7,39 (d); 7,40 (m); 7,49 (m); 7,51 (d, J= 15,3 Hz); 7,82 (d, J= 15,3 Hz) Spektrum $^{13}C$ NMR (125 MHz, $CDCl_3$ ) ( $\delta$ ): 115,4; 120,9; 122,0; 128,7; 129,1; 130,0; 130,8; 134,8; 139,5; 145,6; 157,0; 191,2
3.	(2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)-5- fenilpenta-2,4-dien-1-on  	93,04	134-136	0,50 (heksana- etilasetat 1:1)	Spektrum UV $\lambda_{Maks}^{MeOH}$ nm (A): 339, 206 Spektrum IR ( $cm^{-1}$ ): 3286, 3057, 3028, 1647, 1564 Spektrum $^1H$ NMR(500 MHz, $CDCl_3$ ) ( $\delta$ ): 7,01 (t); 7,06 (d, J=15,25 Hz); 7,10 (m); 7,33 (d, J=9,15 Hz); 7,34 (m); 7,35 (m); 7,37 (d); 7,38 (t); 7,51 (m); 7,63 (d, J=10,35 Hz) Spektrum $^{13}C$ NMR (125 MHz, $CDCl_3$ ) ( $\delta$ ):

					115,5; 120,5; 120,9; 125,4; 127,5; 128,7; 129,0; 129,4; 129,9; 136,1; 139,5; 145,5; 157,3;191,0
--	--	--	--	--	--

## IV.2. Hasil Uji Antioksidan Senyawa Sintesis

Tabel 1. Aktivitas antioksidan beberapa senyawa sintesis calcon

Konsentrasi	BHT	Vitamin C	2'-hidroksi Calcon	3'-hidroksi Calcon	(2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)-5-fenilpenta-2,4-dien-1-on
	Penghambatan (%)				
0	0	0	0	0	0
100	78	87	0.7	0	0
150	86	86	0.7	0.3	1.9
200	90	84	1.4	0.3	1.9
250	88	88	0.7	0.8	1.9
300	89	87	1.4	0	3.1
350	90	89	3	1.9	4.3
400	90	88	3	0	4.3
450	89	87	3.5	0	2.3
500	90	89	4.7	1.9	2.3

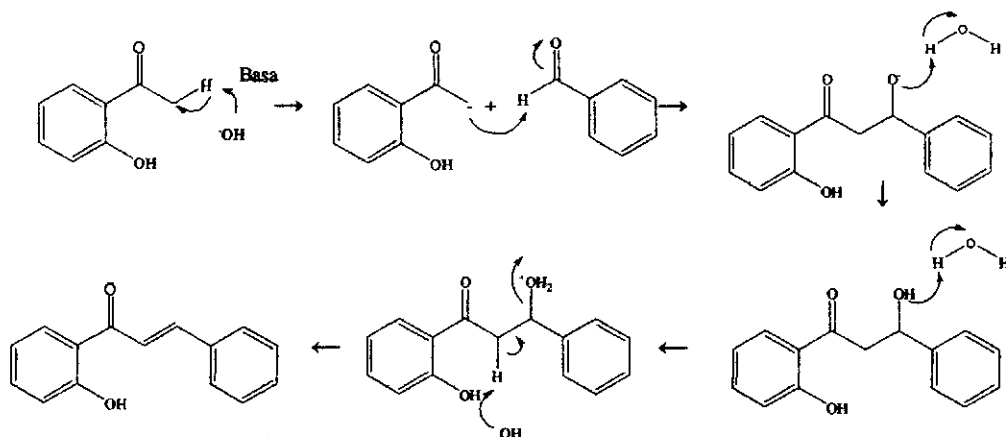
Tabel 2. IC<sub>50</sub> (µg/ml) beberapa senyawa sintesis calcon

No	Senyawa	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
1.	BHT	64,10
2.	Vitamin C	57,47
3.	2'-hidroksi calcon	5319,15
4.	3'-hidroksi calcon	13157,89
5.	(2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)-5-fenilpenta-2,4-dien-1-on	10869,56

## IV.2. Pembahasan

### IV.2.1. Sintesis senyawa 2'-hidroksi calcon

Senyawa 2'-hidroksi calcon diperoleh dengan mereaksikan 2'-hidroksi asetofenon dan benzaldehida dengan penambahan katalis basa barium hidroksida oktahidrat. Mekanisme reaksinya sebagai berikut:



Gambar 2. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 2'-hidroksi calcon

Kedua campuran pereaksi direfluks selama 2,5 jam dengan minyak goreng sebagai penangas diatas hotplate. Hal ini dilakukan agar reaksi berlangsung pada suhu tinggi dan konstan serta panas yang dihasilkan merata dengan adanya penambahan pengaduk magnet ke dalam labu reaksi. Produk yang didapatkan berupa padatan yang terbentuk bubuk kuning dengan berat 2,24 g. Produk yang dihasilkan tersebut masih mengandung sedikit pengotor. Pemurnian dilakukan dengan cara rekristalisasi menggunakan etanol absolut.

Uji KLT dengan dua sistem pelarut, masing-masing menunjukkan satu noda dengan beberapa variasi eluen: (1) eter-heksana 1:9 dengan Rf 0,44; dan (2) diklorometana-heksana 2:3 dengan Rf 0,28. Rf yang diperoleh antara standar dan produk menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan. Selain itu, perbedaan antara warna standar dengan warna produk pada plat KLT juga terlihat jelas. Titik leleh produk dicapai pada 86-87<sup>0</sup>C. Data fisikokimia tersebut di atas menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan relatif murni.

Spektrum UV memperlihatkan adanya serapan maksimum pada 314,4; 221,8; dan 204,6 nm. Serapan maksimum ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dengan gugus ausokrom. Hal ini diperkuat dengan penambahan pereaksi penggeser NaOH yang menunjukkan adanya pergeseran batokromik yakni pada serapan 308,2; 243,4; 207,2 nm.

Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3055,24; 3045,24; 3026,31 cm<sup>-1</sup> yang menunjukkan adanya C-H aromatik, pada 1639,49 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya gugus karbonil terkonjugasi, C=C aromatik muncul pada serapan gelombang 1573,91 cm<sup>-1</sup> dan 1485,19 cm<sup>-1</sup>. Gugus OH yang diperkirakan berada pada bilangan gelombang 3285 cm<sup>-1</sup> tidak memberikan sinyal pada spektrum IR tersebut.

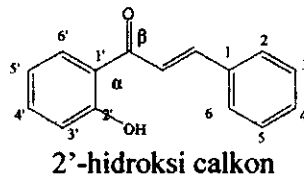
Spektrum <sup>1</sup>H NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada  $\delta$  7,92 ppm (1H, d, J= 15,3 Hz) dan  $\delta$  7,67 ppm (1H, d, J= 15,3 Hz) berturut-turut memperlihatkan adanya proton H pada C- $\alpha$  dan C- $\beta$ . Dari harga tetapan kopling tersebut dapat diperkirakan bahwa proton pada ikatan rangkap ini mempunyai konfigurasi trans. Pergeseran kimia pada  $\delta$  7,66 ppm dan 7,43 ppm menunjukkan adanya proton H yang saling simetris pada posisi atom C-2/C-6 dan C-3/C-5. Proton H pada atom C-3', C-4', C-5', C-6' berturut-turut ditunjukkan pada



pergeseran kimia  $\delta$  6,95 ppm; 7,44 ppm; 7,50 ppm, dan 7,93 ppm. Gugus hidroksil ditunjukkan pada  $\delta$  12,8193 ppm.

Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada  $\delta$  193,92 ppm mengindikasikan adanya atom C=O karbonil,  $\delta$  163,76 ppm menunjukkan atom C-2' yang mengikat gugus hidroksil. Atom C- $\alpha$  dan C- $\beta$  berturut-turut ditunjukkan pada pergeseran kimia  $\delta$  145,67 ppm dan 119,05 ppm. Atom karbon C-3 dan C-5 yang simetris ditunjukkan pada pergeseran kimia  $\delta$  129,84 ppm, atom C-2 dan C-6 ditunjukkan pada  $\delta$  128,85 ppm. Pergeseran kimia pada  $\delta$  129,24 ppm; 120,27 ppm; 118,83 ppm; 136,61 ppm; 120,18 ppm; 131,12 ppm berturut-turut menunjukkan adanya karbon pada posisi C-4; C-1', C-3', C-4', C-5', dan C-6'.

Gabungan spektrum NMR senyawa 2'-hidroksi calkon dapat dilihat pada tabel 3. Interpelasi data  $^{13}\text{C}$  NMR senyawa 2'-hidroksi calkon pada penelitian ini, memperkuat interpolasi data  $^{13}\text{C}$  NMR yang telah dilakukan oleh Agrawal (1989).



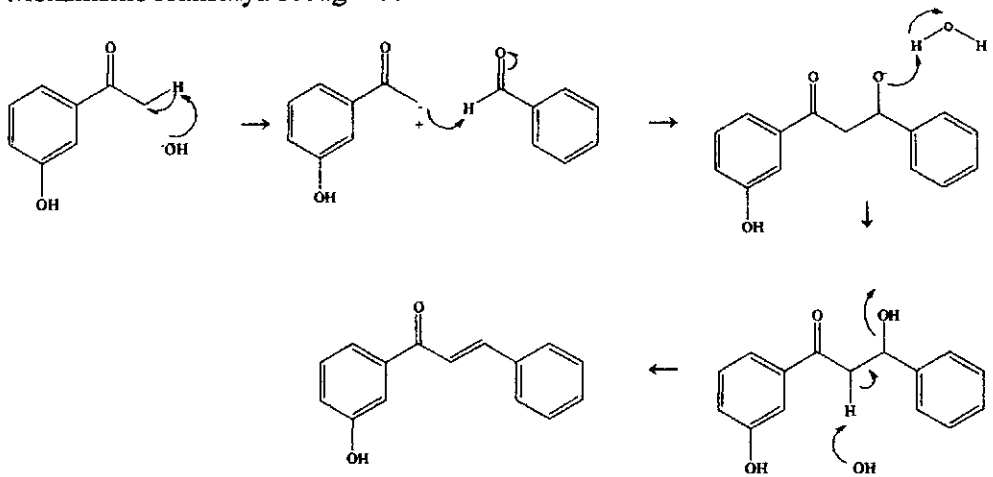
Tabel 3. Interpelasi data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR senyawa 2'-hidroksi calkon

No. Atom C	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*
1	-	134,76	134,5
2/6	7,66	128,85	128,9
3/5	7,43	129,84	128,6
4	7,03	129,24	130,8
C $\alpha$	7,67 (d, J= 15,3)	119,05	118,5
C $\beta$	7,92 (d, J= 15,3)	145,67	145,3
C=O	-	193,92	193,6
1'	-	120,27	119,9
2'	-	163,76	163,6
3'	6,95	118,83	118,8
4'	7,44	136,61	136,3
5'	7,50	120,18	119,9
6'	7,93	131,12	129,6
2'-OH	12,81	-	-

\*Menurut Agrawa (1989)

#### IV.2.2. Sintesis senyawa 3'-hidroksi calkon

Sintesis senyawa ini dilakukan dengan mereaksikan 3'-hidroksi asetofenon dan benzaldehida dengan penambahan katalis basa barium hidroksida oktahidrat. Mekanisme reaksinya sebagai berikut:



Gambar 3. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 3'-hiroksi calkon

Rendemen senyawa yang dihasilkan cukup baik yaitu sebesar 67,81%. Hal ini dapat disebabkan karena struktur dari senyawa pembentuknya tidak mempunyai gugus pendorong elektron. Uji kemurnian dilakukan dengan KLT yang menggunakan dua pelarut yaitu heksan dan etil asetat (1:1) dengan harga  $R_f = 0,49$ . Uji KLT dilakukan dengan membandingkan produk dengan standar yaitu dua senyawa pereaksi.

Spektrum UV menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 303 dan 223 nm. Serapan maksimum ini menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi.

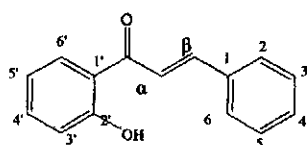
Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3215  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus hidroksil (OH). Bilangan gelombang 3107, 3062, dan 3032  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya C-H aromatik, dan 1653  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O), sedangkan C=C aromatik diperkirakan muncul pada bilangan gelombang 1577  $\text{cm}^{-1}$ .

Spektrum  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada 7,51 dan 7,82 ppm berturut-turut menunjukkan adanya proton pada C- $\alpha$  dan C- $\beta$ . Tetapan

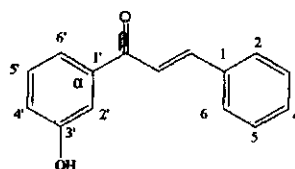
kopling untuk kedua proton ini adalah sebesar 15,3 Hz, berarti proton pada ikatan rangkap ini mempunyai konfigurasi trans. Pergeseran kimia pada  $\delta$  7,49 ppm dan 7,40 ppm menunjukkan adanya proton H yang saling simetris pada posisi atom C-2/C-6 dan C-3/C-5. Proton pada atom C-2' dan C-4' ditunjukkan pada pergeseran kimia 7,35 ppm, sedangkan C-5' dan C-6' berturut-turut ditunjukkan pada pergeseran kimia 7,39 ppm dan 7,13 ppm, sedangkan untuk proton pada gugus hidroksil tidak tampak dalam spektrum, hal ini mungkin disebabkan masih terdapatnya pengotor pada senyawa yang dihasilkan.

Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada 134,8 dan 139,5 ppm berturut-turut menunjukkan karbon pada posisi C-1 dan C-1'. Gugus karbonil tampak pada pergeseran kimia 191,2 ppm. Karbon C- $\alpha$  dan C- $\beta$  berturut-turut ditunjukkan pada pergeseran kimia 120,9 dan 145,6 ppm. Atom karbon C-3 dan C-5 yang simetris ditunjukkan pada pergeseran kimia 130,0 ppm, atom C-2 dan C-6 ditunjukkan pada  $\delta$  128,7 ppm.

Sintesis senyawa 2'-hidroksi calkon dibandingkan dengan senyawa 3'-hidroksi calkon menghasilkan spektrum NMR dan interpolasi data  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) dan  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) dapat dilihat pada tabel 4. Interpretasi data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR pada senyawa 3'-hidroksi calkon sedikit mengalami perbedaan, jika dibandingkan dengan senyawa 2'-hidroksi calkon. Perbedaan posisi gugus hidroksil yang terdapat pada cincin I dari struktur calkon menyebabkan pergeseran kimia pada setiap atom hidrogen dan karbon menjadi berbeda, karena pengaruh efek induksi dari atom oksigen yang mengakibatkan atom karbon menjadi tidak terperisai (*deshielding*) dan menimbulkan *peak downfield*. Pergeseran kimia untuk atom proton selain mempengaruhi efek induksi atom oksigen, juga dipengaruhi efek anisotropik yang menyebabkan proton-proton menjadi relatif tidak terperisai.



2'-hidroksi calkon



3'-hidroksi calkon



Tabel 4. Interpelasi data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR 2'-hidroksi calkon dan 3'-hidroksi calkon

Nomor atom C	2'-hidroksi Calkon		3'-hidroksi Calkon	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	-	134,8	-	134,7
2/6	7,49	128,7	7,66	128,8
3/5	7,40	130,0	7,43	129,8
4	7,36	129,1	7,03	129,2
C $\alpha$	7,51 (d, J=15,3 Hz)	120,9	7,67 (d, J=15,3 Hz)	119,0
C $\beta$	7,82 (d, J=15,3 Hz)	145,6	7,92 (d, J=15,3 Hz)	145,6
C=O	-	191,2	-	193,9
1'	-	139,5	-	120,2
2'	7,35	120,9	-	163,7
3'	-	157,0	6,95	118,8
4'	7,35	122,0	7,44	136,6
5'	7,39	130,8	7,50	120,1
6'	7,13	115,4	7,93	131,1
3'-OH	-	-	12,81	-

#### IV.2.3. Sintesis senyawa (2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)-5-fenilpenta-2,4-dien-1-on

Sintesis senyawa ini dilakukan dengan mereaksikan 3'-hidroksi asetofenon dan sinamaldehida serta dengan penambahan katalis basa barium hidroksida oktahidrat. Mekanisme reaksinya digambarkan pada Gambar 4.

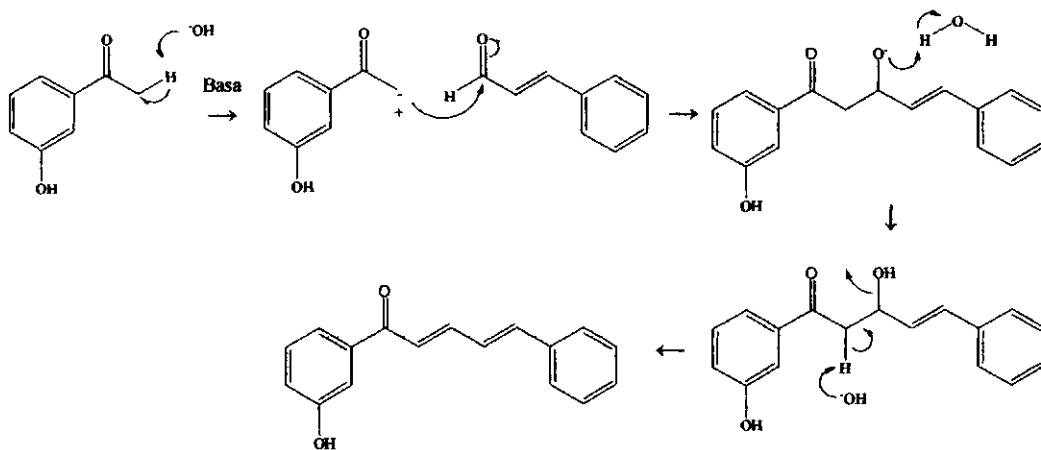
Rendemen senyawa (2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)-5-fenilpenta-2,4-dien-1-on dihasilkan lebih baik dari sintesis senyawa calkon lainnya yaitu sebesar 93,04%. Hal ini disebabkan karena memiliki rantai karbon lebih panjang dan pada senyawa pembentuknya juga tidak terdapat gugus lain seperti gugus yang bersifat sebagai pendorong elektron seperti amina.

Uji kemurnian dilakukan dengan uji KLT yang menggunakan dua pelarut yaitu heksana dan etilasetat (1:1) dengan harga Rf standar yaitu dua senyawa awal. Perbandingan antara Rf produk dengan standar menunjukkan hasil yang signifikan.

Spektrum UV menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 339 dan 206 nm. Serapan maksimum ini menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi.

Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3286  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus hidroksil (OH), 3057 dan 3028  $\text{cm}^{-1}$

menunjukkan adanya C-H aromatik, dan  $1647\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O), sedangkan C=C aromatik diperkirakan muncul pada bilangan gelombang  $1564\text{ cm}^{-1}$ .



Gambar 4. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa (2E,4E)-1-(3-hidroksifenil) 5-fenilpenta-2,4-dien-1-on

Spektrum  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada 7,33; 7,63; 7,06; dan 7,01 ppm berturut-turut menunjukkan adanya proton pada C- $\alpha$ , C- $\beta$ , C- $\gamma$ , dan C- $\delta$ . Tetapan kopling untuk proton C- $\alpha$  dan C- $\beta$  adalah sebesar 9,15 Hz dan 10,35 Hz berarti proton pada ikatan rangkap ini mempunyai konfigurasi cis. Proton pada posisi C-2 dan C-6 ditunjukkan oleh pergeseran kimia 7,51 ppm, sedangkan pada posisi C-3 dan C-5 ditunjukkan oleh pergeseran kimia 7,38 ppm. Pada pergeseran kimia 7,0-7,9 ppm terdapat puncak-puncak multiplet yang rumit (tumpang tindih) yang mengindikasikan adanya inti aromatik. Sedangkan untuk proton pada gugus hidroksil tidak tampak dalam spektrum, hal ini mungkin disebabkan karena masih terdapatnya pengotor pada senyawa yang dihasilkan.\

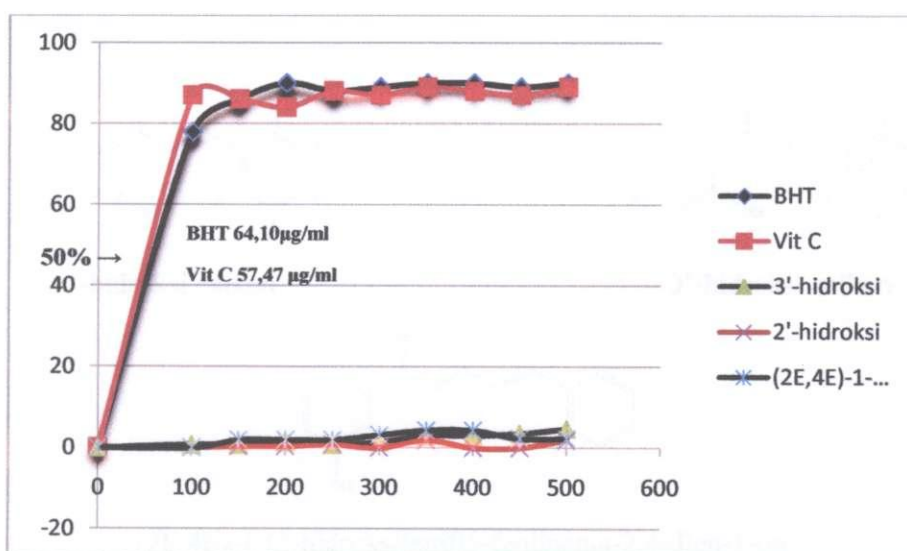
Spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada 191,0 ppm mengindikasikan adanya atom C karbonil (C=O), dan 157,3 ppm menunjukkan atom C-3' yang mengikat gugus hidroksil. Atom C- $\alpha$ , C- $\beta$ , C- $\gamma$ , dan C- $\delta$  berturut-turut ditunjukkan oleh pergeseran kimia 129,0; 145,5; 125,4; dan 129,9 ppm. Atom karbon C-3 dan C-5 yang simetris ditunjukkan pada pergeseran kimia 128,7 ppm, atom C-2 dan C-6 ditunjukkan pada 127,0 ppm. Pergeseran kimia pada 136,1; 127,5; 139,5; 120,5; 120,9; 129,4; dan 115,5 ppm masing-

masing menunjukkan adanya karbon pada posisi C-1, C-4, C-1', C-2', C-4', C-5', dan C-6'.

#### IV.2.4. Uji Antioksidan

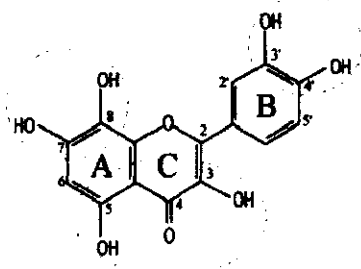
Uji antioksidan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) lebih sederhana, mudah, peka, dan cepat dibandingkan metoda lain seperti thiosianat dan metode TBA (Tiobarbituric Acid) menurut Amarowicz *et al.* (2004) dan Hanani *et al.* (2005). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois, 1958)

Parameter yang sering digunakan dalam menghitung aktivitas antioksidan adalah  $IC_{50}$ . Semakin kecil konsentrasi  $IC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Konsentrasi  $IC_{50}$  dari standar Butilhidroksitoluen (BHT) dan vitamin C berturut-turut adalah 64,10  $\mu\text{g/ml}$  dan 57,47  $\mu\text{g/ml}$  (Gambar 5). BHT dan Vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, karena mempunyai  $IC_{50}$  kurang dari 200  $\mu\text{g/ml}$  (Blois, 1958). Ketiga senyawa sintesis analog calcon yang diuji belum memperlihatkan aktivitas antioksidannya karena persen penghambatannya bisa dikatakan tidak ada (grafik melandai jika dibandingkan grafik yang dihasilkan standar, Gambar 6) dan nilai  $IC_{50}$  yang ribuan (Tabel 2).



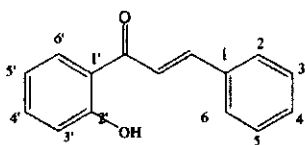
Gambar 5. Antioksidan 3 senyawa analog calcon dibandingkan BHT dan Vitamin

Analog calcon yang diuji (2'-hidroksi calcon, 3'-hidroksi calcon, dan (2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)5-fenilpenta-2,4-dien-1-on tidak memiliki gugus hidroksil (-OH) yang cukup untuk menangkap radikal bebas. Senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menahan radikal bebas dengan memberikan atom hidrogen ke senyawa radikal sehingga proses terminasi radikal dapat terjadi. Menurut Rice-Evans *et al.* (1996) dan Amić *et al.* (2003) bahwa hubungan struktur aktivitas antioksidan dari flavonoid dijelaskan pada gambar 6.

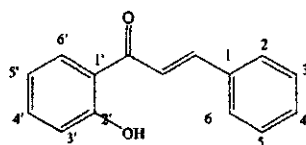


Gambar 6. Bagian struktur flavonoid yang berperan sebagai antioksidan

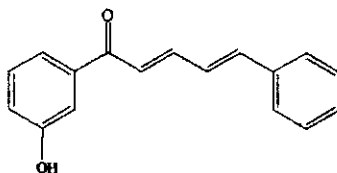
Ketiga senyawa sintesis calcon yang diuji belum memiliki gugus dan struktur aktivitas antioksidan seperti Gambar 2. Diperlukan suatu metode lebih lanjut dengan menyisipkan gugus -OH lebih banyak ke senyawa sintesis seperti dengan menggunakan pereaksi-pereaksi yang memiliki lebih banyak gugus hidroksil.



2'-hidroksi calcon



3'-hidroksi calcon



(2E,4E)-1-(3-hidroksifenil)5-fenilpenta-2,4-dien-1-on