

SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS DUA ANALOG KURKUMIN DARI SIKLOHEKSANON DENGAN TURUNAN DIMETOKSIBENZALDEHID

Diah Sri Hastuti¹, Yum Eryanti², Hilwan Yuda Teruna²

¹Mahasiswa Program S1 Kimia FMIPA - Universitas Riau

²Dosen Jurusan Kimia FMIPA - Universitas Riau

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

diahsrihastuti@gmail.com

ABSTRACT

Curcumin (*2E,6E*)-2,6-bis(2,3-dimethoxybenzylidene)-cyclohexanone (DK) has been synthesized by *Claisen-Schmidt* condensation of cyclohexanone and 2,3-dimethoxybenzaldehyde under microwave irradiation using NaOH. The compound structure was then identified based on the interpretation of spectroscopic data included UV, IR, ¹H NMR, and MS. The toxicity of these curcumin carried out by Brine Shrimp Lethality Test method against larvae of *Artemia salina* Leach. Our finding showed that LC₅₀ of curcumin was 18,578 ppm. The result showed that DK has less activity since its LC₅₀ was higher than 200 ppm.

Keywords : *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), curcumin, *microwave*

ABSTRAK

Senyawa kurkumin (*2E,6E*)-2,6-bis(2,3-dimetoksibenzilidin)-sikloheksanon (DK) telah disintesis melalui kondensasi *Claisen-Schmidt* dengan mereaksikan sikloheksanon dengan 2,3-dimetoksibenzaldehyd dibawah iradiasi gelombang mikro menggunakan katalis basa (NaOH). Struktur senyawa diidentifikasi berdasarkan interpretasi data spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan MS. Uji toksisitas senyawa kurkumin ditentukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva *Artemia salina* Leach dan menunjukkan aktivitas dengan nilai LC₅₀ yaitu 18.578 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa DK tidak toksik karena memiliki nilai LC₅₀ > 200 ppm.

Kata kunci : *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), kurkumin dan *microwave*

PENDAHULUAN

Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang memberikan warna pada

kunyit dan bersifat lipofilik di alam. Oleh karena itu, kurkumin tidak larut dalam air dan eter tetapi larut dalam etanol, dimetilsulfoksida dan pelarut



organik lainnya (Aggarwal *et al.*, 2003). Kurkumin menunjukkan keefektifan sebagai zat kemopreventif dalam uji kultur sel karena memberikan hasil yang baik dalam berbagai uji bioaktivitas (Nagpal & Sood, 2013; Liu & Chen, 2013). Kurkumin diuji bioaktivitasnya secara *in vitro* maupun *in vivo*. Kurkumin memiliki aktivitas sebagai antikanker, antimutagenik, antikoagulan, anti-fertilitas, antidiabetes, antibakteri, antijamur, antiprotozoa, antivirus dan antifibrosis (Chattopadhyay *et al.*, 2004).

Keberadaan kurkumin di alam lebih sedikit dibandingkan dengan senyawa polifenol lainnya sehingga apabila dilakukan isolasi kemungkinan hasilnya akan sedikit. Penelitian yang dilakukan oleh Pawar *et al* (2014) mengisolasi kurkumin dari rimpang kunyit di daerah Bhandara, Maharashtra (India) dan menghasilkan sebanyak 4,32% kandungan kurkumin. Sintesis analog kurkumin pada penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan rendemen yang lebih banyak dan struktur yang lebih bervariasi. Sintesis senyawa kurkumin dapat dilakukan dengan reaksi kondensasi aldol yang sering dikenal dengan kondensasi *Claisen-Schmidt*. Sintesis dapat dilakukan dalam suasana asam (Selvakumar & Venkataraman, 2010) maupun dalam suasana basa.

Penelitian ini dilakukan dengan memodifikasi struktur senyawa kurkumin dengan mengubah gugus β -diketon menjadi monoketon. Penelitian dilakukan menggunakan iradiasi gelombang mikro. Hal ini dilakukan karena dengan menggunakan iradiasi gelombang mikro waktu reaksi yang digunakan lebih singkat, produk yang dihasilkan lebih bersih dan selektivitas lebih tinggi. Hasil penelitian ini

diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh dalam modifikasi senyawa kurkumin terhadap aktivitas toksisitasnya.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat destilasi, satu set *microwave* samsung ME109F, pompa vakum, pipet mikro, corong *Buchner*, plat KLT GF₂₅₄, vial, alat pengukur titik leleh *Fisher Johns* (SMP 11-Stuart®), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Shimadzu LC Solution jenis kolom *Shim-pack* VP-ODS dengan panjang dan diameternya yaitu 150x4,6 mm), lampu UV (254 nm dan 366 nm) (Camag®), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-VIS v4.002 2L9N175013), spektrofotometer inframerah (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektroskopi ¹H-NMR (Agilent 500 MHz) dan spektrometer massa (MS) (*ESI-Ion Trap Bruker HCT* mode positif) serta alat-alat untuk sintesis dan uji toksitas yang umum digunakan di laboratorium kimia.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sikloheksanon (Σ Aldrich), 2,3-dimetoksibenzaldehid (Merck), natrium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck), etanol absolut, metanol, kloroform, diklorometana, indikator universal, plat KLT GF₂₅₄, *n*-heksana, etil asetat, dan akuades. Bahan yang digunakan untuk uji toksitas adalah air laut, dimetilsulfoksida (DMSO), telur uji *Artemia salina* Leach.

b. Sintesis senyawa kurkumin

Sebanyak 0,49 g (5 mmol) sikloheksanon dan 1,66 g (10 mmol) 2,3-dimetoksibenzaldehid dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 5 mL etanol absolut dan 5 mL NaOH 8%. Campuran diiradiasi selama 4 menit dengan daya 180 Watt menggunakan iradiasi gelombang mikro. Tahapan reaksi dikontrol dengan KLT. Setelah reaksi selesai, *crude product* ditambahkan akuades dingin dan dinetralkan sampai pH 7 menggunakan HCl 10% hingga terbentuk endapan kuning. Endapan yang terbentuk disaring menggunakan corong *Buchner* dan dicuci dengan *n*-heksana dingin lalu dikeringkan. Endapan yang diperoleh dilakukan rekristalisasi dengan pelarut etilasetat. Uji kemurnian dengan KLT, pengukuran titik leleh dan HPLC. Senyawa murni diidentifikasi dengan UV, IR, MS dan ¹H NMR.

c. Uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sampel sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 2 mL kloroform (larutan induk, konsentrasi 10000 ppm), kemudian dari larutan induk dibuat konsentrasi berbeda yaitu 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dengan cara pengenceran bertingkat. Kemudian disiapkan vial 5 mL yang sudah dikalibrasi untuk masing-masing konsentrasi. Sampel dipipet kedalam masing-masing vial sebanyak 0,5 mL, lalu pelarut diuapkan hingga mengering. Selanjutnya, kedalam masing-masing vial ditambahkan 50 μ L DMSO.

Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan kedalam vial tersebut dan ditambah air laut hingga batas kalibrasi 5 mL. Tingkat toksisitas diukur dengan cara menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dalam selang waktu 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan perlakuan yang sama untuk masing-masing konsentrasi. Data yang diperoleh dianalisis untuk menentukan nilai LC₅₀ dengan metode kurva menggunakan tabel analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Sintesis senyawa kurkumin.

Senyawa kurkumin disintesis melalui reaksi kondensasi aldol dari senyawa awal sikloheksanon dan 2,3-dimetoksi-benzaldehid. Reaksi dilakukan menggunakan iradiasi gelombang mikro dan penambahan NaOH sebagai katalis. Senyawa kurkumin yang diperoleh dimurnikan dengan rekristalisasi.

Sintesis yang telah dilakukan menghasilkan senyawa kurkumin berupa kristal berwarna kuning dengan berat sebesar 1,544 g dan rendemen yang dihasilkan sebesar 78,33 %. Sifat fisik dari senyawa kurkumin yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Analisis kemurnian senyawa kurkumin dilakukan menggunakan KLT, titik leleh, dan HPLC. Analisis kemurnian dengan KLT dilakukan menggunakan eluen yang bervariasi dan perbandingan yang berbeda. Senyawa kurkumin menunjukkan satu noda pada plat KLT.

Tabel 1. Sifat fisika senyawa kurkumin (DK)

Senyawa	Rumus molekul	Berat molekul	Warna	Rendemen (%)	Titik leleh (°C)
Kurkumin	$C_{24}H_{26}O_5$	394,178	Kuning	78,33	124-126

Analisis kemurnian dengan titik leleh menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki *range* titik leleh sebesar 2°C. Analisis kemurnian senyawa kurkumin menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 214 nm dan 328 nm menunjukkan satu puncak dominan pada $t_R = 27,05$ menit dan $t_R = 27,00$ menit.

Struktur senyawa kurkumin yang telah murni diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV, FT-IR, MS dan 1H -NMR. Data spektrum UV memperlihatkan senyawa (DK) pada λ 214 nm ($\epsilon = 28.658$) dan 326 nm ($\epsilon = 16.753$). Berdasarkan nilai serapan maksimum senyawa tersebut menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi. Serapan maksimum ini terjadi karena adanya eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ untuk ikatan rangkap dan $n \rightarrow \pi^*$ untuk karbonil.

Data spektrum IR senyawa kurkumin pada bilangan gelombang 3078 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari C-H aromatik, 2929 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari C-H alifatik, 1608 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari gugus C=O, 1573 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari ikatan C=C alkena, 1556 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari ikatan C=C aromatik, 1427 menunjukkan adanya vibrasi dari ikatan C-C alkana dan 1147 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari ikatan C-OCH₃. Hal ini membuktikan bahwa senyawa yang diperoleh memiliki gugus

fungsi yang sesuai dengan senyawa target.

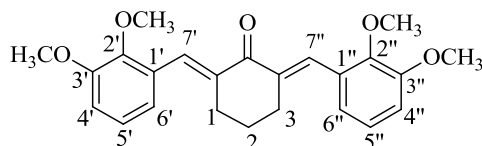
Berat molekul analog kurkumin DK ditunjukkan oleh spektrum massa yang dihitung sebagai $C_{24}H_{27}O_5 [M+H]^+$ dengan puncak ion molekul m/z 395,1858 sedangkan puncak ion molekul yang dihitung secara teoritis adalah m/z 395,1851. Dari data spektrum massa yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin yang diperoleh merupakan senyawa murni.

Spektrum 1H -NMR senyawa kurkumin menunjukkan bahwa jumlah proton dari senyawa tersebut sesuai dengan yang diharapkan, dapat dilihat pada Tabel 2. Tabel 2 memperlihatkan interpretasi data spektrum 1H -NMR senyawa (DK) pada pergeseran kimia δ 7,94 ppm (2H _{β}) menunjukkan proton β pada atom C-7'/C-7'' dengan puncak *singlet*. Pergeseran kimia pada 7,07 ppm (2H) dan diperoleh nilai $J = 10$ Hz dengan puncak *triplet* menunjukkan proton pada atom C-5'/C-5''. Pergeseran kimia 6,94 ppm (2H) pada atom C-4'/C-4'' dan pergeseran kimia 6,93 ppm (2H) pada atom C-6'/C-6''. Pergeseran kimia pada 3,90 ppm (6H) dengan puncak *singlet* menunjukkan proton pada OCH₃ yang terikat pada atom C-3'/C-3''. Pergeseran 3,83 ppm (6H) dengan puncak *singlet* menunjukkan sinyal proton pada OCH₃ yang terikat pada atom C-2'/C-2''. Pergeseran 2,81 ppm (4H) dengan puncak *triplet* menunjukkan sinyal

proton pada atom C-1/C-3. Pergeseran 1,74 ppm (2H) dengan puncak *multiplet* menunjukkan sinyal proton pada atom C-2. Data ini telah mengkonfirmasi

struktur yang diperoleh sesuai dengan struktur senyawa target.

Gambar 1. Struktur dan penomoran senyawa analog kurkumin



Tabel 2. Interpretasi data ^1H NMR (CDCl_3) untuk senyawa DK

No Atom C	δ_{H} (ppm)
4' / 4''	6,94 (t, 2H)
5' / 5''	7,07 (t, 2H, $J = 10$ Hz)
6' / 6''	6,93 (t, 2H)
7' / 7''	7,94 (s, 2H $_{\beta}$)
1/3	2,81 (t, 4H)
2	1,74 (m, 2H)
OCH_3 (C 2'/2'')	3,83 (s, 6H)
OCH_3 (C 3'/3'')	3,90 (s, 6H)

b. Uji toksisitas

Uji aktivitas toksisitas senyawa kurkumin dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji toksisitas dari senyawa kurkumin pada konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm terhadap larva *Artemia salina* yang dianalisis dengan metode analisis probit tingkat potensi toksisitas senyawa kurkumin dengan nilai LC_{50} sebesar 18.578 ppm. Pada metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), suatu tanaman atau hasil isolasi dianggap menunjukkan aktivitas sitotoksik bila mempunyai nilai LC_{50} kecil dari 1000 ppm, sedangkan untuk senyawa murni

dianggap menunjukkan aktivitas sitotoksik bila mempunyai nilai LC_{50} kecil dari 200 ppm (Meyer, 1982). Berdasarkan hasil uji aktivitas toksisitas, senyawa kurkumin tidak bersifat toksik karena memiliki nilai $\text{LC}_{50} > 200$ ppm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa kurkumin diperoleh melalui reaksi kondensasi aldol *Claisen-Schmidt* menggunakan katalis basa (NaOH) dengan teknik iradiasi gelombang mikro. Rendemen yang dihasilkan yaitu 78,33%. Hasil

identifikasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan MS menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian adalah murni dan merupakan senyawa kurkumin dengan struktur yang diharapkan. Senyawa kurkumin memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 18.578 ppm, hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa kurkumin tidak bersifat toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B.B., Kumar, A & Bharti, A.C. 2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *PubMed Commons below Anticancer Res.* 23: 363-398.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U & Banerjee, R.K. 2004. Tumeric and Curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Journal Current Science.* 87 (1): 44- 53.
- Liu, D & Chen, Z. 2013. The Effect of Curcumin on Breast Cancer Cells. *Journal Breast Cancer.* 16: 133-137.
- Meyer, B. N. R., Ferrigni, J.E., Putnam L, B., Jacosen, D.E., Nicholas, J.L & Laughin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituens. *Journal of Medical Plants Medicinal.* 45: 31-34.
- Nagpal, M & Sood, S. 2013. Role of Curcumin in Systemic and Oral Health: an Overview. *Journal of Natural Science Biology and Medicine.* 4: 3-7.
- Pawar, H., Karde, M., Mundle, N., Jadhav, P & Mehra, K. 2014. Phytochemical Evaluation and Curcumin Content Determination of Turmeric Rhizomes Collected From Bhandara District of Maharashtra (India). *Journal of Medicinal Chemistry.* 4 (8): 588-591
- Selvakumar, B & Venkataraman, R. 2010. Synthesis and Biological Evaluation of Some Curcumin Analogs and Their Derivatives. *Journal Chemistry.* 3 (2): 260-265.

