



## Synthesis of 4-Hydroxy-2-Methylchalcone from meta-Cresol Formilation Product and Its Activities as an Antibacteria

Ismiyarto<sup>a,\*</sup>, Suyanti<sup>a</sup>, Purbowatiningrum Ria Sarjono<sup>a</sup>, Ngadiwiyana<sup>a</sup>, Nor Basid Adiwibawa Prasetya<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [ismiyarto@live.undip.ac.id](mailto:ismiyarto@live.undip.ac.id)

<https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.193-197>

### Article Info

#### Article history:

Received: 20 August 2018  
 Revised: 22 October 2018  
 Accepted: 23 October 2018  
 Online: 31 October 2018

#### Keywords:

Claisen-Schmidt,  
 Chalcone, Reimer-Tiemann, Antibacterial

#### Kata Kunci:

Claisen-Schmidt, Kalkon,  
 Reimer-Tiemann,  
 Antibakteri

### Abstract

Research on the synthesis of 4-hydroxy-2-methylchalcone from 4-hidroksi-2-metilbenzaldehida as formilated meta-cresol product and its antibacterial activity test has been conducted. As the first step, synthesis of 4-hydroxy-2-methylbenzaldehyde was carried out by treatment meta-cresol with chloroform through the *Reimer-Tiemann* formylation. Product is a brown solid with 23.94% yields. Furthermore, the 4-hydroxy-2-methylchalcone was synthesized using the 4-hydroxy-2-methylbenzaldehyde and acetophenone through the *Claisen-Schmidt* reaction. The product is a brownish yellow solid with 29.74% yields. Antibacterial test against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria was carried out by comparing the activity of 4-hydroxy-2-methylchalcone with 4-hydroxy-3-methoxychalcone, and chalcone compounds. The antibacterial activity test showed that the 4-hydroxy-2-methylchalcone compound, 4-hydroxy-3-methoxychalcone, and chalcone compounds gave a better antibacterial activity against *Escherichia coli* than the *Staphylococcus aureus*.

### Abstrak

Telah dilakukan sintesis 4-hidroksi-2-metilkalkon dari 4-hidroksi-2-metilbenzaldehida sebagai produk formilasi meta-kresol dan uji aktivitasnya sebagai antibakteri. Pada tahap pertama dilakukan sintesis 4-hidroksi-2-metilbenzaldehida dengan bahan dasar meta-kresol dan kloroform melalui reaksi formilasi *Reimer-Tiemann* menghasilkan padatan berwarna coklat dengan rendemen 23,94%. Tahap selanjutnya adalah sintesis 4-hidroksi-2-metilkalkon menggunakan bahan dasar 4-hidroksi-2-metilbenzaldehid dan asetofenon melalui reaksi *Claisen-Schmidt* menghasilkan padatan berwarna kuning kecoklatan dengan rendemen 29,74%. Uji antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dilakukan terhadap 4-hidroksi-2-metilkalkon dan dibandingkan dengan dua turunan senyawa kalkon yaitu: 4-hidroksi-3-metoksikalkon dan kalkon. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa senyawa 4-hidroksi-2-metilkalkon, senyawa 4-hidroksi-3-metoksikalkon, serta senyawa kalkon mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* daripada pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 1. Pendahuluan

Senyawa kalkon ( $C_{15}H_{12}O$ ) merupakan salah satu golongan flavonoid yang sangat penting di alam namun penyebarannya sangat terbatas dan hanya ditemukan pada beberapa golongan tumbuhan dengan jumlah yang sangat sedikit [1]. Hal ini disebabkan kalkon memiliki peranan penting dalam pembuatan turunan flavonoid

karena berfungsi sebagai zat antara [2]. Menurut Gaikwad *dkk.* [3] dan Chavan *dkk.* [4], senyawa kalkon dan turunannya mempunyai beberapa aktivitas farmasi seperti antibakteri, antikanker, antioksidan, serta anti inflamasi [3, 4].

Sintesis kalkon dapat dihasilkan melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*) yang melibatkan aldehyd aromatik dan alkil atau aril keton [5].

Aktivitas biologis kalkon dipengaruhi oleh gugus karbonil  $\alpha, \beta$ -tak jenuh dan substituen yang terikat pada kedua cincin aromatic [6].

Kohler dan Chadwell [7] telah berhasil mensintesis senyawa kalkon yang paling sederhana, benzilidenasetofenon melalui mekanisme reaksi *Claisen-Schmidt* dengan katalis basa (NaOH 15%). Bahan awal yang digunakan yaitu benzaldehid dan asetofenon. Selain itu, penelitian tentang kalkon juga telah dilakukan oleh Madiyono [8] dengan mensintesis senyawa 3-metoksi-4-hidroksikalkon dari bahan awal vanilin dan asetofenon.

Pada penelitian dilakukan sintesis senyawa 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd melalui reaksi formilasi *Reimer-Tiemann* menggunakan meta-kresol. Senyawa 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd ini selanjutnya digunakan sebagai bahan dasar sintesis turunan kalkon melalui reaksi kondensasi aldol silang (*Claisen-Schmidt*).

Senyawa yang didapatkan kemudian akan dibandingkan sifat antibakterinya dengan senyawa 4-hidroksi-3-metoksikalkon dan senyawa kalkon. Adanya gugus metil dan hidroksi pada senyawa turunan kalkon ini, diharapkan dapat memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik.

## 2. Metode Penelitian

Sintesis senyawa 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd dilakukan melalui reaksi formilasi *Reimer-Tiemann* menggunakan meta-kresol. Hasil sintesis senyawa 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd kemudian digunakan sebagai bahan dasar sintesis 4-hidroksi-2-metilkalkon melalui reaksi *Claisen-Schmidt*. Identifikasi hasil sintesis dilakukan menggunakan FTIR, GC-MS,  $^1\text{H-NMR}$ , LC-MS, dan UV-Vis. Tahap terakhir yaitu uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ( $G^+$ ) dan *Escherichia coli* ( $G^-$ ) menggunakan metode difusi cakram terhadap 4-hidroksi-2-metilkalkon dan dibandingkan dengan 4-hidroksi-3-metoksikalkon dan kalkon.

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat: Seperangkat alat gelas, 1 set alat refluks, evaporator, pengaduk, TLC, kertas saring, kromatografi kolom gravitasi, autoklaf, inkubator, laminar air flow, GC-MS Perkin Elmer, FTIR, H-NMR (JEOL), LCMS-ESI pos ion, UV-Vis. Bahan: m-kresol, etanol teknis 96%, etanol p.a, NaOH, akuades, kloroform p.a, HCl 1M, etil asetat p.a, etil asetat teknis,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat, silika gel 60 G, asetofenon, DMSO, plat KLT, metanol p.a, kertas saring, *amoxicillin*, agar, yeast, alkohol 70%, pepton.

### 2.2. Sintesis 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyda

Larutan m-kresol (10 mmol) di dalam 10 mL etanol ditambahkan 3 g NaOH (75 mmol) dalam 15 mL air. Campuran reaksi direfluks pada suhu 80°C. Sesudah reaksi berlangsung 5 menit, 30 mL kloroform ditambahkan secara perlahan. Pengadukan dilanjutkan selama 1 jam sesudah penambahan kloroform selesai. Pelarut etanol kemudian diuapkan dengan evaporator dan 1 M HCl ditambahkan untuk menetralkan kelebihan NaOH hingga pH = 2-3. Larutan selanjutnya diekstraksi

dengan etilasetat sebanyak 3 kali. Selanjutnya fraksi etilasetat dikeringkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat dan selanjutnya dilakukan evaporasi. Residu selanjutnya dimurnikan dengan Kromatografi Kolom Gravitasi menggunakan silika gel untuk menghasilkan produk dengan kemurnian tinggi. Analisis produk dilakukan menggunakan GC-MS dan  $^1\text{H-NMR}$ .

### 2.3. Sintesis Senyawa 4-hidroksi-2-metilkalkon

Senyawa 2-metil-4-hidroksi benzaldehid 1 g (7,34 mmol) dilarutkan ke dalam 6,80 mL etanol 96%. Pelarutan dilakukan dengan menggunakan pengaduk magnetik. Asetofenon 0,857 mL (7,34 mmol) dan 4,50 mL NaOH 60% ditambahkan. Campuran dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam. Monitoring TLC dilakukan dengan perbandingan eluen etil asetat: n-hexana 1:3. Hasil reaksi dievaporasi pada suhu 45°C, kemudian diasamkan dengan HCl 1 M hingga pH = 1. Ekstraksi hasil evaporasi dilakukan dengan penambahan etil asetat 30 mL sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat dipisahkan kemudian dikeringkan dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat. Penyaringan dan evaporasi dilakukan hingga semua etil asetat menguap. Pemurnian menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan silika gel untuk mendapatkan produk yang diinginkan. Analisis produk dilakukan menggunakan UV-Vis, FTIR, dan LC-MS.

### 2.4. Uji Aktivitas Antibakteri

#### 2.4.1. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media agar dibuat dengan cara melarutkan 2,64 gram serbuk nutrient agar ke dalam 120 mL akuades. Campuran diaduk dan dipanaskan hingga mendidih. Media yang sudah mendidih tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 2.4.2. Pembuatan Stok Kultur Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Masing-masing koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diambil menggunakan jarum ose yang telah steril. Goresan bakteri ditanamkan pada NA dengan cara menggores. Inkubasi dalam incubator dilakukan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

#### 2.4.3. Penyiapan Inokulum Bakteri

Dari stok bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam, diambil satu gores menggunakan jarum ose yang telah steril. Goresan bakteri disuspensikan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 580 nm dan diencerkan dalam media NaCl sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan standard skala 0,5 McFarland.

#### 2.4.4. Pembuatan Larutan Uji

Dilakukan pengenceran terhadap produk hasil sintesis menggunakan DMSO untuk mendapatkan konsentrasi yang akan diujikan.

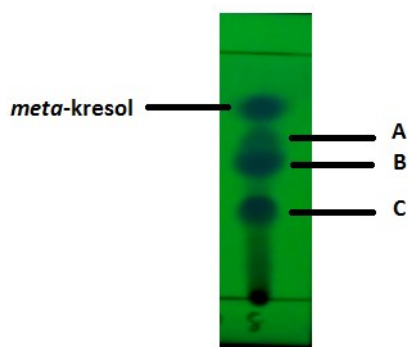
2.4.5. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Sebanyak 15 mL media nutrient agar dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Sebanyak 0,1 mL suspense bakteri yang telah diencerkan diinokulasikan ke nutrient agar yang telah memadat. Selanjutnya, kertas cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media agar yang telah diberi bakteri, diteteskan sebanyak 15 µL senyawa hasil. Dalam penelitian ini, ampicilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Media uji yang telah siap diinkubasi dalam incubator pada suhu 37°C. Pengukuran diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri disekitar cakram kertas dilakukan pada waktu inkubasi jam ke 3, 6, 9, 18 dan 24.

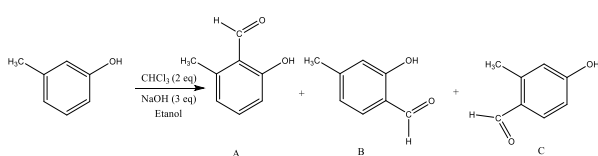
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Sintesis 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd

Tahap ini dilakukan dengan mereaksikan 50 mmol meta-kresol yaitu senyawa turunan fenol sebagai bahan utama sintesis 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd dengan kloroform, NaOH serta etanol melalui metode refluks. Hasil reaksi selanjutnya dievaporasi untuk menguapkan pelarutnya yaitu etanol. Selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan kloroform. Terdapat 2 lapisan yaitu lapisan bawah berupa kloroform + hasil sintesis sedangkan lapisan atas berupa fraksi air. Monitoring TLC dilakukan pada lapisan bawah menggunakan eluen etil asetat: n-hexana (1: 3), profil TLC terdapat pada gambar 1 (4 noda). Tahap selanjutnya yaitu evaporasi pada fraksi bawah untuk menguapkan kloroform.



Gambar 1. Profil TLC dengan eluen etil asetat: n-hexana (1: 3) senyawa hasil reaksi melalui reaksi formilasi Reimer-Tiemann



Gambar 2. Reaksi umum sintesis 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd

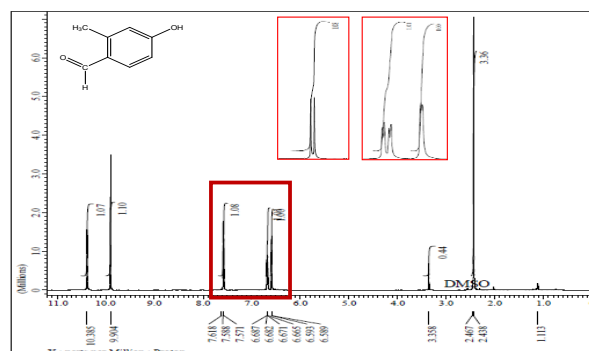
Reaksi reaksi formilasi Reimer-Tiemann secara umum dapat dilihat pada gambar 2. Analisis campuran produk menggunakan GC-MS bertujuan untuk mengetahui kelimpahan masing-masing fraksi dalam senyawa hasil reaksi. Hasil analisis komposisi senyawa

hasil reaksi Reimer-Tiemann menggunakan meta-kresol terdapat pada tabel 1.

Tabel 1. Analisis komposisi senyawa hasil reaksi Reimer-Tiemann menggunakan meta-kresol

No.	Nama Senyawa	Waktu Retensi (menit)	Massa Molekul (M+, g/mol)	Kelimpahan (%)
1.	meta-kresol	13,80	108	36
2.	2-metil salisilaldehid (A)	15,46	136	9
3.	4-metil salisilaldehid (B)	16,44	136	10
4.	4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd (C)	25,80	136	25

Pemurnian noda ke-4 atau Noda C [1] dilakukan menggunakan kromatografi kolom cepat dengan eluen n-hexana: etil asetat. Produk yang dihasilkan berupa padatan coklat dengan rendemen 23.94%. Berdasarkan data <sup>1</sup>H-NMR dari produk pada gambar 3 menunjukkan pergeseran kimia dengan nilai yang identik dengan 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd. Spektrum pada gambar 3 terdapat 8 puncak yang menunjukkan adanya senyawa C. Pergeseran kimia (δ) 10,385 ppm dengan pemecahan singlet menunjukkan proton yang terikat pada gugus hidroksil. Pergeseran kimia (δ) 9,904 ppm dengan pemecahan singlet menunjukkan proton yang terikat pada gugus aldehid. Pergeseran kimia (δ) 7,571-7,588 ppm dengan pemecahan duplet memiliki nilai J=8,5 Hz yang menunjukkan bahwa proton pada pergeseran kimia tersebut mengalami kopling dengan 1 proton lainnya pada posisi orto, pergeseran kimia (δ) 6,665-6,687 ppm dengan pemecahan duplet memiliki nilai J=8,5 Hz yang menunjukkan bahwa proton pada pergeseran kimia tersebut mengalami kopling dengan 1 proton lainnya pada posisi orto, dan pergeseran kimia (δ) 6,593 ppm dengan pemecahan singlet, ketiga pergeseran kimia tersebut menunjukkan adanya proton yang terikat pada cincin aromatik. Pergeseran kimia (δ) 2,438 ppm dengan pemecahan singlet menunjukkan adanya proton yang terikat pada gugus metil.

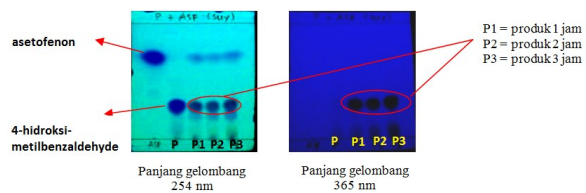


Gambar 3. Hasil analisis <sup>1</sup>H-NMR fraksi-4 senyawa

3.2. Sintesis 4-hidroksi-2-metilalkon

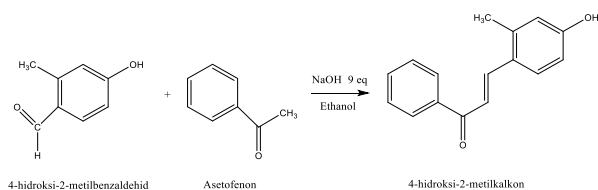
Penelitian ini dilakukan dengan mereaksikan 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd dan asetofenon pada kondisi basa pekat (NaOH 60 %) dan suhu 60°C,

kemudian dilakukan monitoring reaksi menggunakan TLC dengan eluen etil asetat: n-hexana = 1: 3. Hasil monitoring TLC terdapat pada gambar 4.



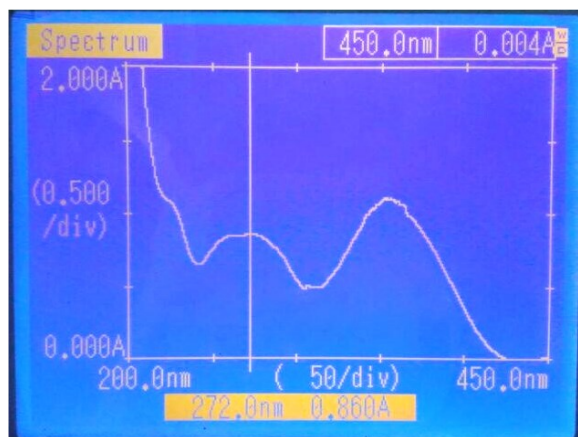
Gambar 4. Monitoring TLC reaksi 4-hidroksi-2-metilalkon

Hasil reaksi kemudian dievaporasi untuk menguapkan pelarut etanol dan setelah itu dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan etil asetat. Hasil ekstraksi terdapat 2 lapisan yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat, kemudian fraksi etil asetat dilakukan evaporasi untuk menguapkan etil asetat. Hasil evaporasi kemudian dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen etil asetat dan n-hexana. Hasil pemurnian ini kemudian dilakukan evaporasi untuk menguapkan eluennya. Rendemen yang didapatkan setelah dievaporasi berupa padatan berwarna kuning kecoklatan sebesar 0,52 g dengan rendemen 29,74%. Reaksi secara umum terdapat pada Gambar 5.



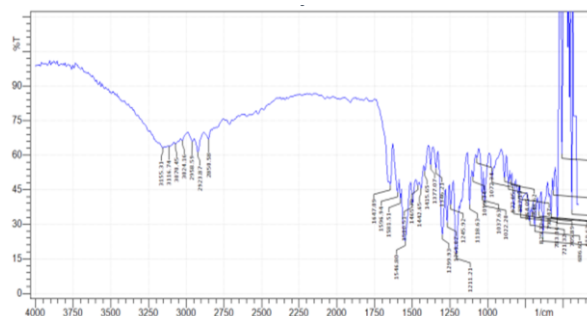
Gambar 5 Reaksi umum sintesis 4-hidroksi-2-metilalkon

Analisis produk dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis seperti pada Gambar 6 menunjukkan adanya 2 puncak yang merupakan ciri khas dari senyawa kalkan yaitu pada daerah panjang gelombang 272 nm dan 353 nm. Puncak serapan pada panjang gelombang 272 nm menunjukkan adanya sistem benzoil sedangkan puncak serapan pada panjang gelombang 353 nm menunjukkan adanya sistem sinamoil.



Gambar 6. Hasil spektra UV-Vis senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon

Analisis selanjutnya menggunakan instrumen FTIR yang memberikan informasi tentang gambaran gugus fungsi dari senyawa yang dianalisis. Hasil spektra FTIR terdapat pada gambar 7.



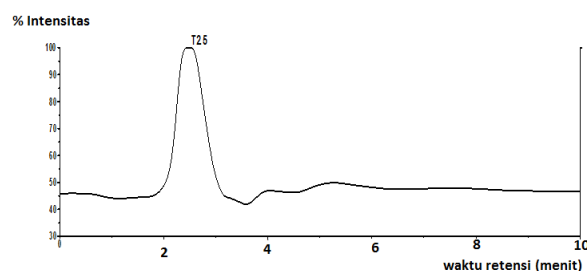
Gambar 7 Spektra FTIR senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon

Hasil analisis pada Gambar 7 di atas, terdapat puncak pada bilangan gelombang yang dilaporkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Interpretasi spektra FTIR senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon

No.	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Keterangan
1	3155,31	(-OH)
2	3024,16	(C-H ulur aromatik)
3	2923,87	(C-H sp <sup>3</sup> )
4	1647,09	(C=O terkonjugasi dengan cincin aromatik)
5	1546,80	(C=C tekuk aromatik)
6	1377,07	Gugus alkil (CH <sub>3</sub> )

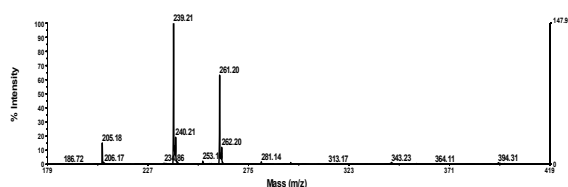
Analisis selanjutnya yaitu identifikasi menggunakan instrumen LC-MS yang dapat memberikan informasi kemurnian dan berat molekul dari senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon. Hasil analisis LC-MS disajikan pada gambar 8.



Gambar 8. Kromatogram LC senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon

Hasil kromatogram LC pada Gambar 9 menunjukkan adanya satu puncak tertinggi dengan waktu retensi 2,5 menit yang artinya bahwa senyawa yang dihasilkan murni. Data spektrogram pada Gambar 9 menunjukkan bahwa muncul puncak dengan [M<sup>+</sup>H<sup>+</sup>] 239,21 m/z sehingga dapat disimpulkan bahwa berat molekul 238 g/mol adalah sesuai dengan berat molekul senyawa 4-hidroksi-2-metilalkon.





Gambar 9 Spektogram massa senyawa 4-hidroksi-2-metilchalcon

### 3.3. Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan terhadap 3 senyawa dengan kontrol (+) dan (-) pada konsentrasi yang sama yaitu 4000 ppm (tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengukuran luas zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Larutan Uji (4000 ppm)	Luas Zona Hambat (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
4-hidroksi-2-metilchalcon (A)	2,2	1,6
4-hidroksi-3-metoksichalcon (B)	1,6	1,5
Chalcon (C)	0,8	0,8
kontrol positif (+)	9,5	8,8
kontrol negatif (-)	0	0

## 4. Kesimpulan

Senyawa 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd telah berhasil disintesis dari bahan dasar meta-kresol dan kloroform melalui reaksi formilasi *Reimer-Tiemann* dengan rendemen sebesar 23,94 % dan berbentuk padatan berwarna coklat. Senyawa 4-hidroksi-2-metilchalcon telah berhasil disintesis melalui reaksi *Claisen-Schmidt* dari bahan dasar 4-hidroksi-2-metilbenzaldehyd dan aseton dengan rendemen sebesar 29,74 % dan berbentuk padatan berwarna kuning kecoklatan. Senyawa 4-hidroksi-2-metilchalcon, senyawa 4-hidroksi-3-metoksichalcon, dan senyawa chalcon memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* daripada *Staphylococcus aureus*.

## 5. Ucapan Terimakasih.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Diponegoro atas dukungan dana melalui Hibah Penelitian RPP (RISET PENGEMBANGAN DAN PENERAPAN) Bacth 2, Tahun 1 (2018) (No:474-30/UN7.P4.3/2018) Universitas Diponegoro

## 6. Daftar Pustaka

- [1] M. Hapsari, Tri Windarti, Purbowatiningrum Ria Sarjono, Ngadiwiyana, Ismiyanto, Synthesis of 4-hydroxy-3-methylchalcone from Reimer-Tiemann reaction product and its antibacterial activity test, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 349, 1, (2018) 012036 <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012036>
- [2] Rajat Ghosh, Abhijit Das, Synthesis and biological activities of chalcones and their heterocyclic

derivatives: a review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 3, (2014) 578-595

- [3] Kishor V Gaikwad, Sandip V Gaikwad, Satish B Jadhav, Shantilal D Rathod, Synthesis of some novel chalcones of phthalimidoester possessing good anti-inflammatory and antimicrobial activity, *Indian Journal of Chemistry*, 49B, (2010) 131-136
- [4] B. B. Chavan, A. S. Gadekar, P. P. Mehta, P. K. Vawhal, A. K. Kolsure, A. R. Chabukswar, Synthesis and Medicinal Significance of Chalcones- A Review, *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6, 56, (2016) 1-7
- [5] Hery Suwito, Jumina, Mustofa, Alfinda Novi Kristanti, Ni Nyoman Tri Puspaningsih, Chalcones: Synthesis, structure diversity and pharmacological aspects, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6, 5, (2014) 1075-1088
- [6] V. M. Kamble, G. D. Hatnapure, A. P. Keche, S. Birajdar, S. G. Patil, R. H. Tale, A. H. Rodge, S. S. Turkar, K. Gour, Synthesis and biological evaluation of a novel series of methoxylated chalcones as antioxidant and anti-microbial agents, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, 6, (2011) 639-648
- [7] E. P. Kohler, H. M. Chadwell, *Organic Syntheses*, in, 1941.
- [8] Madiyono, Sintesis Senyawa 4-hidroksi-3-metoksichalcon dari Vanilin dan Asetofenon, Departemen Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang