

UJI ANTIMIKROBA SENYAWA ANALOG KURKUMIN

Hilwan Yuda Teruna, Rudi Hendra, Nurbalatif
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru 28293

Abstrak

Empat senyawa hasil sintesis terdiri dari 2 senyawa analog kurkumin (K1 dan K2) dan 2 senyawa calkon (C1 dan C2) telah dilakukan uji antimikroba. Hasilnya menunjukkan bahwa empat senyawa tersebut memiliki aktifitas antimikroba yang berbeda-beda yang diakibatkan oleh adanya perbedaan gugus fungsi.

Kata kunci : uji antimikroba, kurkumin, calkon

PENDAHULUAN

Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen maupun yang non-patogen. Senyawa-senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri terdiri dari garam logam-logam, senyawa fenol, formaldehid, alkohol, yodium, senyawa klor, deterjen, sulfonamida dan antibiotik (Tortora, 2001). Suatu zat kimia yang hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik. Sedangkan zat kimia yang dapat mematikan bakteri disebut bakterisida (Dwidjoseputro, 1994).

Antibakteri ataupun antibiotik dapat menghambat ataupun membunuh bakteri dengan cara menyerang situs tertentu yang ada pada bakteri. Secara umum, kemungkinan situs serangan suatu zat antibakteri dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju kepada matinya sel tersebut. Mekanisme kerja antibakteri menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

Penggunaan antibiotik yang terus menerus menyebabkan berkembangnya resistensi mikroorganisme terutama bakteri terhadap antibiotik. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, selain harus memikirkan cara mencegah resistensi bakteri terhadap antibiotik, juga perlu dilakukan penelitian untuk penemuan antibiotik-antibiotik baru dikarenakan tidak semua resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat

dicegah. Oleh karena itu diperlukan dilakukan pengujian antimikroba dari senyawa sintesis turunan calkon dan kurkumin.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: labu bulat, pengaduk magnet, kondensor refluks, lumpang, pompa vakum, corong buchner, termometer, alat penentu titik leleh Fisher John, spektrofotometer infra merah (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektrofotometer NMR proton dan karbon (Jeol Type ECA 500). Spektrometri UV-Visible (Hitachi U-2001), laminar air flow, incubator, autoclaf.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: nutrient agar, nutrient broth, sikloheksanon (Aldrich), natrium hidroksida (Merck), 4-fluoro benzaldehid (Merck), 4-kloro benzaldehid (Fluka), heksana, etil asetat, kloroform, diklorometan, metanol, aseton, dan plat KLT GF₂₅₄.

Sintesis analog kurkumin

Dicampurkan turunan keton (10 mmol) dan turunan aldehid (20 mmol) dimasukkan ke dalam mortal, lalu ditambahkan natrium hidroksida (14 mmol). Aduk campuran dengan menggunakan lumpang selama 15-20 menit sampai didapatkan campuran yang homogen. Tambahkan 10 mL air aduk campuran, kemudian dimasukkan ke dalam corong buchner dan disaring. Cuci lumpang dengan 5 mL air dan saring lagi. Padatan yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu ruang dan selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT dan pengukuran titik leleh.

Sintesis calkon piridin

Kedalam lumpang dimasukkan asetilpiridin (0,1 mol) dan piridinkarbaldehid (1 mol), kemudian ditambahkan natrium hidroksida (1 mol). Campuran diaduk selama 5-10 menit sampai diperoleh padatan, lalu ditambahkan 10 ml air dan disaring dengan corong buchner. Padatan yang diperoleh dicuci dengan air 3 x 5 mL, kemudian dikeringkan dan selanjutnya direkristalisasi dengan etanol. Bila hasil kurang memuaskan, maka akan dicoba menggunakan katalis basa lain atau asam dengan menggunakan peralatan refluks. Uji kemurnian senyawa ditentukan dengan kromatografi

lapis tipis (KLT) dan pengukuran titik leleh. Pemurnian senyawa dapat dilakukan dengan KLT preparatif dan rekristalisasi. Senyawa murni yang diperoleh akan dipastikan strukturnya dengan analisis spektroskopi IR dan NMR.

Uji aktivitas mikroba

Uji bakteri dilakukan dengan metoda difusi kertas cakram. Koloni mikroba uji disuspensikan dalam NaCl fisiologis dengan cara mengencerkan dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Jumlah bakteri dalam suspensi diukur dengan spektrototometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh suspensi dengan transmittan 25%. Selanjutnya ambil 0,3 ml suspensi mikroba dan dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian tambahkan 15 ml NA, ratakan dengan cara memutar-mutar cawan petri dan didiamkan sampai memadat. Siapkan larutan sampel senyawa kalkon hasil sintesis masing-masing dengan konsentrasi (w/v) 1%, 5% dan 10%. Ambil 10 μ l setiap larutan dengan mikropipet dan teteskan pada setiap cakram, diangin-anginkan hingga kering dan diletakkan secara aseptis di permukaan media NA. Sebagai kontrol positif digunakan cakram ciprofloksasin 5 μ g. Selanjutnya cawan petri tersebut dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 37^oC selama 24 jam untuk bakteri, kemudiandiukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Sintesis(2E,6E)-2,6-bis(4-klorobenziliden) sikloheksanon (K1)

- Senyawa yang diperoleh berupa padatan berbentuk kristal berwarna kuning terang dengan berat 0,376 g
- Rendemen yang dihasilkan : 11%
- Titik leleh: 139-140^oC
- Rf : 0,9 (etilasetat:heksan=1:4); 0,57 (diklorometan:heksan=2:3); 0,95 (aseton:heksan=1:4)
- Spektrum UV : λ_{maks} nm (A) : 203,0; 233,5; 330,5
- Spektrum IR (cm^{-1}) : 3259,7; 3059,1 (C-H aromatik) 1602,85; 1575,84; 1483,26 (C=C aromatik) 1660,71 (C=O) 827,46 (C-Cl)

- Spektrum ^1H NMR (500 MHz), CDCl_3 (δ) : 7,36-7,4 (*m*, 8H); 7,72 (*s*, 2H); 2,88-2,9 (*t*, 4H); 1,77-1,82 (*m*, 2H)

Sintesis (2*E*,6*E*)-2,6-bis(4-fluorobenzilidene)sikloheksanon (K2)

- Senyawa yang diperoleh berupa padatan berbentuk serbuk berwarna kuning dengan berat 0,7301 g
- Rendemen yang dihasilkan : 23,29%
- Titik leleh 146-148 °C
- Rf : 0,37 (diklorometan:heksan=2:3); 0,92 (etilasetat:heksan=1:4); 0,57 (diklorometan:heksan=3:2); 0,82 (aseton:heksan=1:4)
- Spektrum UV : λ_{maks} nm (A) : 205,0; 225,5; 327,0
- Spektrum IR (cm^{-1}) : 3059,1 (C-H aromatik) 1602,85; 1558,48; 1506,41 (C=C aromatik) 1660,71 (C=O) 1409,96 (C-F)
- Spektrum ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) (δ) : 7,08-7,11 (*m*, 4H); 7,43-7,46 (*m*, 4H); 7,75 (*s*, 2H); 2,88-2,9 (*t*, 4H); 1,79-1,81 (*m*, 2H)

Sintesis (E)-1-(piridin-2-il)-3-(piridin-4-il)prop-2-en-1-on (1)

Data pengamatan senyawa hasil sintesis:

- Wujud: padat
- Warna: kuning
- Persentaserendeman = 77,6 %
- Titik leleh = 136-138 °C
- Uji Kromatografi lapis tipis (KLT):
 Kloroform : metanol (9 : 1) : Rf = 0,62
 Kloroform : aseton (1 : 1) : Rf = 0,44
 Kloroform : aseton (3 : 2) : Rf = 0,30
- Data spektroskopi: IR ν_{max} (KBr): 1691, 1595, 1415 cm^{-1} ; ^1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 6,9 – 8,2 ppm; ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ : 121,7, 122,9, 123,7, 125,5, 126,6, 138,1, 138,3, 149,0, 149,3, 149,6, 149,9, 164,3, 204,8 ppm.

Sintesis (E)-1-(piridin-4-il)-3-(piridin-3-il)prop-2-en-1-on (2)

Data pengamatan senyawa hasil sintesis:

- Wujud: padat
- Warna: oranye
- Persentase rendeman = 28,6 %
- Titik leleh = 217-219 °C
- Uji Kromatografi lapis tipis (KLT):
 - Kloroform : etil asetat (4 : 1) : Rf = 0,10
 - Kloroform : aseton (4 : 1) : Rf = 0,32
 - Kloroform : metanol (9 : 1) : Rf = 0,85
- Data spektroskopi: IR ν_{\max} (KBr): 3408, 1620, 1512, 1448 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 8,3 – 9,2 ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 125,7, 127,1, 128,5, 130,0, 138,6, 139,3, 140,0, 140,9, 145,5, 146,1, 146,8, 155,9 ppm.

Tabel 1. Uji antimikrobal senyawa analog kurkumin K1 dan K2

Mikroba	Zona bening (mm) K1	Zona bening (mm) K2
Sacaromices :		
30 μg	-	-
60 μg	-	-
Candida albicans :		
30 μg	-	-
60 μg	11	-
B. substilis :		
30 μg	-	-
60 μg	-	-
E. coli :		
30 μg	-	-

K1 = (2E,6E)-2,6-bis(4-klorobenziliden) sikloheksanon

K2 = (2E,6E)-2,6-bis(4-fluorobenzilidene)sikloheksanon

Tabel 3. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Calkon

Mikroba	Senyawa	Diameter Daya Hambat (mm)		
		Konsentrasi sampel		Pembanding
		50 µg/disk	100 µg/disk	Amoxan 50 µg/disk
<i>E. coli</i>	4F+2Cl	10	13	19
	4F+3Br	10	11	19
<i>B. subtilis</i>	4F+2Cl	9	10	17
	4F+3Br	11	12	17

4F+2Cl : (E)-3-(2-klorofenil)-1-(4-fluorofenil) prop-2-en-1-on (4F+2Cl)

4F+3Br : (E)-3-(3-bromofenil)-1-(4-fluorofenil) prop-2-en-1-on

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri terhadap senyawa 4F+2Cl (A1) dan (A2) dilakukan dengan metode difusi agar pada konsentrasi 50 dan 100 µg/cakram, kedua senyawa tersebut dilarutkan dengan DMSO. DMSO juga berfungsi sebagai pembanding negatif, antibiotik amoxan 50 µg sebagai pembanding positif untuk uji antibakteri dan ketokonazol 50 µg sebagai pembanding positif untuk uji antijamur. Pada cakram, senyawa diteteskan sebanyak 10 µl menggunakan pipet mikro dengan variasi konsentrasi, 50 dan 100 µg/cakram, lalu ditunggu hingga kering. Kertas cakram yang telah ditetesi senyawa diletakkan pada media agar yaitu NA (Nutrien Agar) yang telah memadat, ini untuk uji antibakteri, sedangkan untuk uji antijamur media agar yang digunakan PDA (Potato Dextrose Agar). Tujuan pengeringan larutan ini adalah agar pelarutnya menguap dan sampel terserap dikertas cakram, sehingga sampel tersebut yang diharapkan memiliki aktivitas sebagai antimikroba bukan pelarut tersebut yang dapat menghambat aktivitas mikroba.

Bakteri uji yang digunakan ada dua bakteri yaitu satu bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis*) dan satu bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*). Kedua bakteri tersebut dipilih karena bakteri tersebut lazim digunakan pada uji aktivitas biologi dan terdapat stoknya di laboratorium, serta pada umumnya bakteri tersebut juga merupakan penyebab beberapa penyakit yang menginfeksi manusia.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kedua senyawa secara umum memiliki aktivitas yang baik. Hal tersebut dapat dilihat pada zona bening yang dihasilkan oleh kedua senyawa yang berkisar diantara 9-13 mm. Kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas yang lemah terhadap kedua bakteri uji tersebut, karena diameter zona bening atau zona hambat yang > 20 mm berarti memiliki aktivitas kuat, diameter hambat

16-20 mm memiliki aktivitas sedang, diameter hambat 10-15 mm memiliki aktivitas lemah, sedangkan diameter hambat < 10 mm memiliki aktivitas sangat lemah (Sagena, 2011). Hal ini berbeda dengan diameter zona bening yang dihasilkan oleh pembanding positif yaitu amoxan 50 µg yang berkisar antara 17-19 mm (aktivitas sedang).

Daya hambat terbesar ditunjukkan oleh senyawa 4F+2Cl dengan konsentrasi 100 µg/cakram dengan diameter 13 mm. Sedangkan senyawa 4F+3Br dengan konsentrasi 100 µg/cakram menunjukkan daya hambat sebesar 12 mm. Perbedaan substituen dan posisi substituen yang terikat pada senyawa calkon juga mempengaruhi daya hambat senyawa tersebut (Prasad, dkk., 2006). Dari hasil tersebut dapat kita simpulkan bahwa senyawa 4F+2Cl yang tersubstitusi kloro pada posisi orto memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa 4F+3Br yang tersubstitusi bromo pada posisi meta. Hal ini dapat disebabkan karena pengaruh substituen kloro yang memiliki keelektronegatifan lebih besar dibandingkan dengan substituen bromo, serta pada posisi orto memungkinkan resonansi terjadi sampai pada gugus karbonil sedangkan pada posisi meta resonansi hanya berlangsung pada cincin benzen saja.

Daya hambat yang dihasilkan pada bakteri *E. coli* lebih besar dari pada daya hambat yang dihasilkan pada bakteri *B. subtilis*. Hal ini disebabkan karena *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang struktur dinding selnya sangat tipis (10-15 nm) dan lapisan peptidoglikan hanya sekitar 10-20% yang terletak diantara membran luar dan membran dalamnya sehingga selnya akan lebih mudah terdenaturasi. Sedangkan *B. subtilis* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel lebih tebal yaitu 15-80 nm dengan lapisan peptidoglikan 60-100% yang terletak dilapisan luarnya sehingga dinding sel dari bakteri gram positif lebih sulit terdenaturasi oleh senyawa tersebut.

KESIMPULAN

Turunan kurkumin dan calkon dapat disintesis melalui kondensasi Claisen-Schmidt dari suatu keton dan aldehid aromatik dengan katalis basa natrium hidroksida menggunakan metode gerus. Metode ini efisien dan efektif dari segi waktu dan pelarut juga diperoleh hasil yang murni. Rendahnya rendemen untuk kedua turunan kurkumin ini disebabkan karena gugus halogen pada posisi *para* mendeaktivasi gugus karbonil dari aldehid sehingga mempersulit penyerangan oleh nukleofil. Aktifitas antimikroba dari turunan kurkumin dipengaruhi oleh adanya gugus fungsi yang terdapat pada cincin siklo dari kurkumin tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Makmur, L., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D. dan Mujahidin, D. 2007. "Ilmu kimia dan kegunaan tumbuh-tumbuhan obat Indonesia" ITB.
- Carey, F.A.; Sundberg, R.J (1983). "Advanced Organic Chemistry, Part B; Reactions and synthesis". second edition, *Plenum, New York*, 43-50
- Handler, N., Jaeger, W., Puschacher, H., Leiser, K., Erker, T. 2007. "Synthesis of Novel Curcumin Analogues and Their Evaluation As Selective Cyclooxygenase-1 (cox-1) Inhibitors". *J. chem. Pharm. Bull* **55**:64-71
- Kim, H.Y., Park, E.J. and Jou, I., 2003 "Curcumin suppresses janus kinase STAT inflammatory signaling through activation of SH2 domain-containing tyrosin phosphatase 2 in brain microglia" *j.immunology* **171**: 6072-79
- Kumar, S., Dubey, K., Tripathi, S., Fujii, M., Misra, K. 2000. "Design and synthesis of curcumin-bioconjugates to improve systemic delivery" *Nucleic Acid* **44**: 75-76
- Liang, G., Yang, S., Jiang, L., Zhao, Y., Shao, L., Xiao, J., Ye, F., Li, Y. and Li, X. "Synthesis and Antibacterial Properties of Mono-carbonyl Analogues of Curcumin" *J.chem. Pharm. Bull* **56**: 162-167
- Mahmodi, O. N., Ghomri, N., Azmi, A. 2006 "One Pot Synthesis of Curcumin Analogues and Preparation of Tetrabomin" Ahwaz, JundiShapour University of Medicinal Sciences
- Mohri, K., Watanabe, Y., Yosida, Y., Satoh, M., Isobe, K., Sugitomo, N and Tsuda, Y. "Synthesis of glycosylcurcuminoid" *j.pharm.Bull* **51**:1268-1273
- Palleros, D.R. 2000. *Experimental Organic Chemistry*. John Willey & Sons, New York.
- Sabu, M.C. & Kuttan, R. 2002. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relation-ship with their antioxidant property. *J. of Ethnopharmacology*. **81**: 155-160.
- Santo, D.R., Costi, R., Artico, M., Framontano, E., Colla, L.P., and Pani, A., 2003 "Replication in infected cells, planning synthetic derivatives from natural product" *j.pure appl chem.* **75** 195-206
- Stankovic, I. 2004. "Curcumin". Chemical and Technical Assesment (CTA) JEFA.
- Supardjan, A.M., Pudjono dan Monika. Sintesis diasetil Heksagamavunon-1 dengan katalis basa. Fakultas Farmasi UGM.
- Suzuki, M., Nakamura, T., Iyoki, S., Fujiwara, A., Watanabe, Y., Mohri, K., Isobe, K., Ono, K and Yano, S. "Elucidation of anti-allergic activities of curcumin-related compounds with a special reference to their anti-oxidative activities" *j.pharm.Bull* **28**: 1438-1443