

Uji Mekanisme Kerja Antibakteri Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on ANALOG Kurkumin terhadap Beberapa Bakteri

Mechanism of Action from Curcumin Analog Compound 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on Against Some Bacteria

Dwiningsih¹, Vivin Nopiyanti¹, Ismi Rahmawati¹, Marlia Singgih Wibowo²,
Daryono Hadi Tjahjono²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

²Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesa, No. 10, Bandung

ABSTRAK

Senyawa monokarbonil analog kurkumin yang sudah berhasil disintesis yaitu senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on, mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti inflamasi dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme kerja senyawa analog kurkumin 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 yang teraktif.

Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on merupakan hasil sintesis yang dinyatakan murni dan memiliki hasil elusidasi struktur yang sesuai. Senyawa hasil sintesis diuji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi dengan pelarut DMSO serta kontrol positif amoksisilin dilanjutkan dengan metode dilusi. Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on dibuat dengan konsentrasi 1500 ppm. Suspensi bakteri disetarakan dengan McFarlan 0,5. Hasil aktivitas dengan metode dilusi ditentukan hasil KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) untuk dilakukan kajian mekanisme kerja dengan melihat kebocoran membran dan rusaknya dinding sel bakteri.

Hasil menunjukkan senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas terhadap bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031, *S. dysenteriae* ATCC 9361, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *B. subtilis* ATCC 6633 dengan diameter daya hambat rata-rata berturut-turut adalah 16mm; 18,6mm; 21,2mm dan 19mm. Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on merupakan senyawa teraktif terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Uji aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mendapatkan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal). Hasil KBM senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on adalah 187,5 ppm. Uji mekanisme kerja dilakukan dengan pengujian kebocoran membran dan kerusakan dinding sel yang dilihat dengan AAS. Hasil menunjukkan adanya kerusakan dinding sel bakteri karena terjadinya peningkatan konsentrasi Mg^{2+} pada perlakuan.

Kata kunci: analog kurkumin, hasil sintesis, antibakteri, dinding sel

ABSTRACT

Mono carbonyl compounds curcumin analogues that have been synthesized are compounds 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one, has antioxidant activity, anti-inflammatory and antibacterial. This study aims to determine the mechanism of action of curcumin analog compound 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one against the bacterium *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 were the most active.

1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one compound stated as pure compounds and have the appropriate structure elucidation results. The compounds synthesized were tested for antibacterial activity using the diffusion method with DMSO solvent and amoxicillin as the positive controls followed by dilution method. 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one compound prepared with a concentration of 1500ppm. The bacterial suspension was synchronized with McFarlan 0.5. The activity test results were then determined for its MKC (Minimum Kill Concentration) by the dilution method to study the mechanism of action by looking at the membrane leakage and destruction of the bacterial cell wall.

Results showed the compound 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one activity against bacteria *K. pneumoniae* ATCC 10031, ATCC *S. dysenteriae* 9361, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *B. subtilis* ATCC 6633 with a diameter of inhibition average is 16mm; 18,6mm; 21,2mm and 19mm respectively. Compound 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-one is the most active compounds against the bacterium *P. aeruginosa* ATCC 27853. Antibacterial activity test was continued with dilution method to obtain the value of MKC (Minimum Kill Concentration). The result for the 1,5-difuril KBM-1,4-pentadien-3-one compound was 187.5 ppm. The action mechanism test was done by testing the membrane leakage and cell walls damage that seen with AAS. Results indicate the presence of the bacterial cell wall damage due to the increased concentration of Mg^{2+} in treatment.

Keywords: curcumin analogues, antibacterial, cell wall

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya dinegara berkembang. Salah satu obat untuk mengatasi masalah tersebut adalah senyawa antimikroba antara lain antibakteri/ antibiotik, antijamur, antivirus, antiprotozoa. Pada penelitian kualitas penggunaan antibiotik diberbagai bagian rumahsakit ditemukan 30% sampai dengan 80% tidak didasarkan pada indikasi. Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Kuman resisten antibiotik tersebut terjadi akibat penggunaan antibiotik yang tidak bijak dan penerapan kewaspadaan standar (*standard precaution*) yang tidak benar difasilitas pelayanan kesehatan (DEPKES, 2011).

Permasalahan kesehatan di Indonesia yang saat ini mencemaskan adalah resistensi bakteri. Tingginya angka resistensi bakteri mendorong upaya penemuan obat-obatan baru yang memiliki aktivitas antibakteri, baik itu melalui sintesis obat atau modifikasinya yang memiliki aktivitas antibakteri. Pengembangan obat baru dapat dilakukan dengan sintesis senyawa atas dasar struktur senyawa alam yang mempunyai nilai terapeutik, bahkan mengembangkan struktur baru dari senyawa organik sintetik, yang secara struktural tidak ada hubungannya dengan senyawa alam. Hal ini secara bertahap diarahkan untuk menemukan senyawa penuntun dengan modifikasi molekul (Wolff, 1995).

Pengembangan obat baru dapat dilakukan dengan sintesa senyawa atas dasar struktur senyawa alam yang mempunyai nilai terapeutik, bahkan mengembangkan struktur baru dari senyawa organik sintetik, yang secara struktural tidak ada hubungannya dengan senyawa alam. Hal ini secara bertahap diarahkan untuk menemukan senyawa penuntun dengan modifikasi molekul (Foye, 1995). Modifikasi terhadap struktur kurkumin yang dilakukan oleh Tim Molnas UGM dengan mengganti gugus β -diketon menjadi mono keton telah menghasilkan beberapa

senyawa analog kurkumin. Senyawa-senyawa analog kurkumin ini memiliki aktivitas seperti yang dimiliki kurkumin, bahkan lebih poten. Beberapa senyawa baru analog kurkumin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri berhasil disintesa dan mempunyai hubungan aktivitas dengan struktur (Sardjiman, 2000). Senyawa monokarbonil analog kurkumin 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypii* ATCC 13311 dan *Stapylococcus aureus* ATCC 25923 (Rahmawati, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dan mekanisme kerja senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on terhadap bakteri *K. pneumonia* ATCC 10031, *S.dysenteriae* ATCC 9361, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *B.subtilis* ATCC 6633.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan

Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on, amoksisilin, DMSO, aquadest steril, Media *Sulfide Indol Motilitas* (SIM), Media *Klinger Iron Agar* (KIA), Media *Lysin Iron Agar* (LIA), Media *Citrat*, media *Brain Heart Infusion* (BHI), McConkey, media PSA, media Endo Agar. Bakteri uji *K. pneumonia* ATCC 10031, *S.dysenteriae* ATCC 9361, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *B.subtilis* ATCC 6633.

Alat

Alat alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan, tabung reaksi steril, cawan petri steril, jarum ose, jarum ent, kapas lidi steril, entkas, pinset dan lampu spiritus, rak tabung, incubator, mikroskop, autoclave, labu takar dan alat AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*).

Jalannya Penelitian

Pembuatan Media

Timbang medium, lalu masukkan ke dalam beker glass, tambah aquadest 1 liter. Medium dimasak hingga mendidih, setelah mendidih diangkat media tersebut dan dituangkan ke dalam tabung-

tabung reaksi. Tabung-tabung reaksi tersebut selanjutnya ditutup dengan kapas. Tabung-tabung reaksi yang berisi media disterilkan di dalam autoclave dengan suhu 121^o C tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media tersebut dimasukkan ke dalam lemari pendingin sampai saatnya digunakan.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri *K. pneumonia* ATCC 10031, *S. dysenteriae* ATCC 9361, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *B. subtilis* ATCC 6633 dalam biakan murni pada media Nutrient agar yang telah diinkubasi pada suhu 37^o C selama 24 jam. Satu ose bakteri uji kemudian dipindah ke dalam tabung yang berisi media BHI lalu diinkubasi pada suhu 37^o C selama 5-8 jam, selanjutnya diencerkan dengan NaCl fisiologis steril hingga diperoleh suspensi bakteri dengan kekeruhan sama dengan standar Mc Farlan 0,5 yang mengandung antara 1,5- 2 x 10⁸ CFU / ml.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan metode difusi

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada *Laminar Air Flow* (LAF) metode yang digunakan yaitu difusi. Medium MHA diolesi suspensi biakan bakteri *K. pneumonia*, *S. dysenteriae*, *P. aeruginosa* dan *B. subtilis* didiamkan 5 menit kemudian diletakkan disk yang diteteskan sampel 30 µl. Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37^o C. Pengamatan dilakukan dengan melihat besarnya diameter hambat masing-masing senyawa yang diuji.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan metode Dilusi

Hasil sintesis yang diperoleh diuji secara mikrobiologi *P. aeruginosa* dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 9 tabung steril. Konsentrasi senyawa yang digunakan adalah 1500 ppm; 750 ppm; 375 ppm; 187,5 ppm; 93,8 ppm; 46,88 ppm; 23,44 ppm; 11,72 ppm; 5,86 ppm. Secara aseptis dari larutan stock tersebut dibuat deret konsentrasi di bawahnya, dimana masing-masing konsentrasi dibuat sampai volume 3,0 ml ditambahkan 0,5 ml

suspensi bakteri pada masing-masing tabung. Tabung-tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^o C. Tabung terakhir sebagai kontrol biakan. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan dengan menggores larutan dari sejumlah tabung pada medium selektif untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37^o C selama 24 jam dan diamati tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Analisis kebocoran Ion-ion Logam (Park, 1996)

Analisis kebocoran ion dilakukan pada tabung yang dinyatakan satu kali KBM dan 2 kali KBM pada metode dilusi. Kebocoran ion-ion K⁺ dan Mg²⁺ dideteksi dengan menggunakan AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer). Hasil 1 kali KBM dan 2 kali KBM diambil 1 ml, selanjutnya diencerkan pada labu takar 100ml. Hasil diukur dengan AAS dengan destruksi basah menggunakan HNO₃.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Antibakteri Senyawa Analog Kurkumin secara Difusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on terhadap bakteri *K. pneumonia*, *S. dysenteriae*, *P. aeruginosa* dan *B. subtilis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Penentuan aktivitas antibakteri dengan metode difusi dilakukan berdasarkan diameter zona hambat yang muncul di sekitar cakram yang berisi zat antibakteri. Semakin luas zona hambat yang terbentuk menunjukkan semakin efektif zat tersebut sebagai zat antibakteri. Hasil uji aktivitas dengan metode difusi menunjukkan senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas tertinggi dengan diameter terbesar yaitu 21,2±4,02 mm terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Hasil aktivitas senyawa sampel memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan amoksisilin.

Hasil Pengujian Antibakteri Senyawa Analog Kurkumin secara Dilusi (CLSI, 1995)

Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat dinyatakan KBM dengan metode dilusi. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on dengan

metode dilusi terhadap bakteri *P.aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 2.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on terhadap *P.aeruginosa* adalah 93,8 ppm. Hasil KBM selanjutnya diuji kebocoran ion dengan menggunakan 1 kali KBM dan 2 kali KBM.

Hasil Pengujian Mekanisme kerja kebocoran ion-ion logam

Pada konsentrasi 1 kali KBM dan 2 kali mengakibatkan terjadinya keluarnya ion logam dari sel bakteri, khususnya Magnesium (Mg^{2+}) dan ion kalium (K^+). Hasil uji kebocoran ion-ion logam dengan metode AAS dapat dilihat pada Gambar 1.

Ion K^+ pada bakteri berperan penting untuk fungsi dan kesatuan ribosom, sedangkan ion Mg^{2+} dibutuhkan sebagai komponen dinding sel bakteri (Brooks *et al.*, 2005). Menurut Jawetz (2001) ion Mg^{2+} berfungsi untuk menjaga kestabilan dinding bakteri dan dengan adanya keluarnya ion tersebut dari sel maka kestabilan dinding sel akan terganggu yang selanjutnya dapat mengakibatkan kematian bakteri. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan jumlah ion logam Mg^{2+} . Peningkatan menunjukkan dinding bakteri rusak. Peningkatan tersebut, disebabkan adanya senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on.

Indikasi adanya kerusakan membran sitoplasma adalah terjadinya kebocoran kandungan sitoplasma seperti ion K^+ , dan peningkatan K^+ diluar sel

Tabel 1. Nilai rata-rata diameter daya hambat

Senyawa	<i>K.pneumonia</i> (mm)	<i>S.dysenteriae</i> (mm)	<i>P.aeruginosa</i> (mm)	<i>B.subtilis</i> (mm)
Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on	16	18	18	18
	19	20	23	20
	15	22	25	19
	14	16	25	18
	16	17	15	20
Rata-rata	16±1,67	18,6±2,15	21,2±4,02	19±0,89
Kontrol +	26	32	32	28
	26	28	27	25
	20	30	28	28
	20	22	28	30
	21	20	28	30
Rata-rata	21,5±2,8	26,12±4,63	27,4±1,74	26,7±1,83

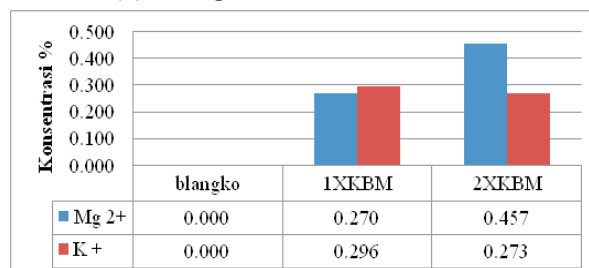
Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on dengan metode dilusi

No.	Konsentrasi (ppm)	Pertumbuhan bakteri pada media uji		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	1500	-	-	-
3	750	-	-	-
4	375	-	-	-
5	187,5	-	-	-
6	93,8	+	+	+
7	46,9	+	+	+
8	23,4	+	+	+
9	11,7	+	+	+
10	5,9	+	+	+
11	2,9	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri



Gambar 1. Uji ion logam Mg^{2+} dan K^+ menggunakan AAS

merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran (Cox *et al.*, 2001). Hasil penelitian menunjukkan ion logam K^+ tidak menunjukkan peningkatan jumlah, sehingga dimungkinkan mekanisme kerja dari senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on merusak dinding sel, tetapi tidak merusak membran sel.

Ucapan Terimakasih (Acknowledgement)

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementristekdikti yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui hibah pekerti.

Kesimpulan

1. Senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dengan diameter daya hambat rata-rata berurutan sebesar 16 mm; 18,6 mm; 21,2 mm dan 19 mm.
2. KBM senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-

onterhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 187,5 ppm.

3. Mekanisme kerja senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on merusak dinding sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G., 2001, Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules*, 6: 87-91.
- DEPKES, 2011, Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011, Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Salemba Medika.
- Rahmawati I, Sardjiman, Kuswandi, 2009, Sintesis dan uji aktivitas antibakteri senyawa 2,6 Bis (2-Furilidin) Sikloheksanon, *Proceeding Kongres ISFI 2009*, Jakarta
- Sardjiman, 2000, *Syntesis of some New Series of Curcumin Analogues, Antioxidative, antiinflammatory, antibacterial activities and Qualitative Structure Activity Relationship, A Dissertation*, Department of Pharmaceutical, Gadjah mada University, Yogyakarta.
- Wolff, M. E. ed.; 1995, *Burger's Medicinal Chemistry*, 5th ed., John Wiley & Sons: New York