



## SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VI

“Pemantapan Riset Kimia dan Asesmen Dalam Pembelajaran Berbasis Pendekatan Saintifik”

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS  
Surakarta, 21 Juni 2014



MAKALAH  
PENDAMPING

KIMIA ORGANIK  
BAHAN ALAM

ISBN : 979363174-0

### AKTIVITAS ANTIBAKTERI PINOSTROBIN (5-hidroksi-7- metoksiflavanon) dari *Kaempferia pandurata*

Soerya Dewi M<sup>1,\*</sup> Didin Mujahidin, Yana M Syah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kimia FMIPA UNS Surakarta, Indonesia.

<sup>2</sup> Kelompok Keahlian Kimia Organik Bahan Alam ITB Bandung, Indonesia

\* Soerya Dewi M, tel/fax : 085229298003/-, email: msoerya@gmail.com

#### ABSTRAK

*Kaempferia pandurata* (Syn. *Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pandurata*) dikenal dengan nama Temu Kunci banyak digunakan sebagai obat tradisional, seperti pengobatan asma, diare, gangguan pencernaan, gatal, dan demam. Senyawa turunan flavonoid, pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon) telah berhasil diisolasi dari ekstrak aseton rimpang *K.pandurata*. Pemisahan dan pemurnian senyawa tersebut dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi dan kromatografi. Penentuan struktur ditetapkan berdasarkan analisis data spektroskopi yang meliputi <sup>1</sup>H NMR dan <sup>13</sup>C NMR. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Shigella dysenteriae* dengan pembanding *amoxicilin*. Nilai MIC (Minimum Inhibitory Concentration) untuk masing-masing bakteri berkisar 37,5 - 75 µg/mL.

**Kata Kunci:** Pinostrobin, antibakteri, *Kaempferia pandurata*

## PENDAHULUAN

*Kaempferia pandurata* (Syn. *Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pandurata* (Robx.) Schltr), lebih dikenal dengan nama Temu Kunci, merupakan salah satu spesies dari famili Zingiberaceae yang tersebar luas di wilayah Asia Tenggara. Selain di Indonesia, spesies ini dibudidayakan di beberapa negara tropis termasuk Myanmar, Malaysia dan Thailand. Bagian rimpang tanaman ini telah banyak digunakan sebagai obat tradisional, seperti pengobatan asma, diare, gangguan pencernaan, gatal, dan demam [3], serta untuk pengobatan karies gigi, gangguan kolik, infeksi jamur, batuk kering, rematik dan nyeri otot) [11]. Selain itu, rimpang segar memiliki aroma yang khas, dan oleh karenanya banyak digunakan sebagai zat penyedap masakan. Karena penggunaan yang luas dalam berbagai pengobatan tradisional, maka tidak mengherankan bahwa kajian kimia terhadap tanaman ini telah banyak dilakukan oleh para peneliti.

Pencarian sumber-sumber senyawa antimikroba yang berasal dari bahan alam asal tumbuh-tumbuhan pada saat ini menjadi kajian penting, yang secara terus menerus dikembangkan, sebagai akibat semakin menurunnya efektivitas obat-obat antibiotik karena resistensi. Lebih dari 300 senyawa metabolit alam menunjukkan aktivitas antimikroba dan sekitar 145 senyawa berpotensi sebagai antimikroba dengan MIC sebesar 0,02-10 µg/mL [9]. Sebagaimana telah dikemukakan pada bagian sebelumnya, komponen yang terkandung dalam *K. pandurata* memiliki potensial untuk dikembangkan sebagai

sumber bahan aktif antimikroba. Namun demikian, kajian terhadap bidang ini masih relatif terbatas, baik dari komponen senyawa yang diujikan ataupun spektrum mikroba yang menjadi targetnya. Oleh karena itu perlu dilakukan kajian lebih lanjut terhadap sifat antimikroba dari komponen-komponen tanaman ini yang selanjutnya dapat digunakan sebagai *lead compound* untuk senyawa antibiotik.

## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan rimpang *K. pandurata* berasal dari daerah Surakarta, aseton, n-heksana, etil asetat, metanol, plat KLT, silica gel, media MHA dan MHB, NaCl, DMSO, aquades, isolat bakteri dan mikroplat.

Alat yang digunakan rotary evaporator, Kromatografi Vakum Cair (KVC), kromatografi radial, NMR (500 MHz, Agilent), Microplate spectrofotometer Bio-Rad (xMarks) reader.

### Isolasi senyawa pinostrobin

Sebanyak 2 kg serbuk rimpang *K. pandurata*, dimaserasi dengan aseton (3 x 24 jam) kemudian dievaporasi diperoleh ekstrak aseton. Kemudian 20 gram ekstrak aseton dipisahkan dengan KVC menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan tertentu dan diperoleh 12 fraksi.

Fraksi 6-7 dievaporasi dan direkristalisasi. Senyawa hasil rekristalisasi berwarna putih, diidentifikasi dengan analisis data H-NMR dan C-NMR.

### Uji antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi menggunakan standar CLSI [1]. Kultur bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Shigella dysenteriae* diperoleh dari Laboratorium mikrobiologi POLTEKES Bandung. Perbandingan yang digunakan adalah *amoxicillin*.

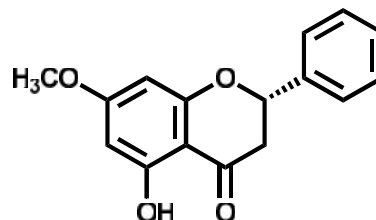
#### Penentuan MIC (*minimum inhibitory concentration*)

Pinostrobin sebesar 3 mg dilarutkan dalam 10 mL DMSO diperoleh konsentrasi 300 µg/mL. Larutan pinostrobin sebesar 200 µL ditambahkan ke dalam mikrolat yang telah berisi 200 µL media MHB. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk masing-masing lubang sampai semua lubang terisi 200 µL campuran media dan sampel. Kemudian dimasukkan 10 µL kultur bakteri yang telah diinkubasi pada suhu 37° C dan telah dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9%. Kontrol positif menggunakan satu lubang yang hanya berisi sampel dan media. Mikrolat yang telah berisi kontrol positif, sampel dan bakteri uji diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C. Penentuan nilai MIC dilakukan dengan mengamati pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer reader. Uji bakteri dilakukan pengulangan secara duplo,

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemisahan 20 gram ekstrak aseton dengan menggunakan kromatografi vakum cair diperoleh 12 fraksi dengan berbagai perbandingan eluen n-heksana dan etil asetat. Fraksi 6-7 dimurnikan dengan rekristalisasi menggunakan metanol, diperoleh kristal putih 1,8 gram.

Identifikasi struktur menggunakan analisis data NMR memberikan sinyal geseran kimia sebagai berikut: spektrum <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), (ppm): 5,40 (1H, *dd*, *J*= 3,0; 13,0 Hz, H-2); 3,07 (1H, *dd*, *J*= 13,05; 17,15 Hz, H-3ax); 2,81 (1H, *dd*, *J*= 3,05; 17,15 Hz, H-3eq); 3,80 (3H, *s*, 7-OCH<sub>3</sub>); 6,07 (1H, *d*, *J*= 2,25 Hz, H-6); 6,06 (1H, *d*, *J*= 2,25 Hz, H-8); 7,42-7,47 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'). Spektrum <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), (ppm): 79,2 (C-2); 43,4 (C-3); 103,1 (C-4a); 195,8 (C-4); 162,8 (C-5); 94,3 (C-6); 164,1 (C-7); 95,1 (C-8); 168,0 (C-8a); 138,4 (C-1'); 126,1 (C-2', C-6'); 128,9 (C-3', C-4', C-5'); 55,7 (OCH<sub>3</sub>, C-7). Hasil analisis tersebut setelah dibandingkan dengan data literatur merupakan pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon) [6,10]. Struktur pinostrobin ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Struktur pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon)

Pinostrobin merupakan senyawa turunan flavanoid mayor dalam rimpang *K. pandurata* [10]. Senyawa ini selain ditemukan dalam famili Zingiberaceae, juga dapat ditemukan antara lain dalam famili: Pinaceae, Fabaceae, Asteraceae, Lauraceae, Piperaceae dan Myrtaceae [2, 4, 5, 7, 8].

Aktivitas antibakteri pinostrobin untuk masing-masing bakteri uji *E. coli*, *B. subtilis* dan *Sh. dysenteriae* dengan pembandingan *amoxycilin* yang dinyatakan dalam nilai MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) ditunjukkan oleh Tabel 1. Penentuan nilai MIC menggunakan spectrometer dengan panjang gelombang 600 nm.

## Lampiran 2:

Tabel 1. Nilai Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ( $\mu\text{g/mL}$ ) senyawa pinostrobin

Sampel	Bakteri		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Sh. dysenteriae</i>
Pinostrobin	37,5	37,5	75
<i>Amoxycilin</i>	31,25	62,5	125

Nilai MIC untuk bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* adalah sama yaitu sebesar 37,5  $\mu\text{g/mL}$  sedangkan untuk bakteri *Sh. dysenteriae* sebesar 75  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai MIC tersebut apabila dibandingkan dengan antibiotik *amoxycilin* (MIC) untuk *E. coli* hampir sama (31,25  $\mu\text{g/mL}$ ), untuk *B. subtilis* lebih kecil (62,5  $\mu\text{g/mL}$ ) sedangkan untuk *Sh. dysenteriae* juga memberikan nilai MIC lebih kecil (125  $\mu\text{g/mL}$ ).

Berdasarkan hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa pinostrobin memberikan harapan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga dapat dijadikan sumber senyawa yang bersifat antibakteri untuk ketiga bakteri tersebut. Pinostrobin juga memberikan sifat antibakteri untuk bakteri *Helicobacter pylori* dengan MIC sebesar 125  $\mu\text{g/mL}$  (*clarithomysin*) [12].

## KESIMPULAN

Senyawa turunan flavonoid, pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon) telah berhasil diisolasi dari ekstrak aseton rimpang *K.pandurata*. Berdasarkan nilai MIC yang cukup signifikan untuk masing-masing bakteri *E. coli*, *B. subtilis* dan *Sh. dysenteriae* dengan pembandingan *amoxycilin*, pinostrobin dapat dijadikan salah satu sumber senyawa yang bersifat antibakteri.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terima kasih kepada Staf Laboratorium KOBA ITB atas bantuannya dalam melakukan analisis uji antibakteri secara mikrodilusi.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Document M7-A6, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Guideline," Wayne, PA, 2003.
- [2] Fang, J. M.; Su, W. C.; Cheng, Y. S., (1988), Flavonoids and stilbenes from armand pine, *Phytochemistry*, 27,1395.
- [3] Hwang, J.K., Chung, J.Y., Baek, N.I., Park, J.H., (2004), Isopanduratin A from *Kaempferia pandurata* as an active antibacterial agent against cariogenic *Streptococcus mutans*, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23, 377–381.
- [4] Kong, Y.; Fu, Y.-J.; Yuan, G.; Liu, W.; Wang, W.; Hua, X.; Yang, M., (2009), Ethanol modified supercritical fluid extraction and antioxidant activity of cajaninstilbene acid and pinostrobin from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves, *Food Chemistry*, 117, 152.
- [5] Lopez, J. A.; Barillas, W.; Gomez-Laurito, J.; Lin, F.-T.; Al-Rehaily, A. J.; Sharaf, M. H. M.; Schiff, P. L., (1995), Flavonoids from *Litsea glaucescens*, *Planta Medica*, 61, 198.
- [6] Mahidol, C., Tantiwachwuttikul, P., Reutrakul, V., Taylor, W.C., (1984), Constituents of *Boesenbergia pandurata* (syn. *Kaempferia pandurata*): isolation and synthesis of (±)-boesenbergin B, *Australian Journal of Chemistry*, 1937, 1739–1745.
- [7] Portet, B.; Fabre, N.; Rozenberg, R.; Habib-Jiwan, J.-L.; Moulis, C.; Quetin-Leclercq, J. J. (2008), Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmanniarum* var *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1210, 45.
- [8] Poerwono, H. , Sasaki, S., Hattori, Y., Higashiyama, K., (2010), Efficient microwave-assisted prenylation of pinostrobin and biological evaluation of its derivatives as antitumor agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20 , 2086–2089.
- [9] Saleem, M., Nazir, M., Ali, M. S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaz, N., Jabbar, A.,(2010), Antimicrobial Natural Products: An Update on Future Antibiotic Drug Candidates, *Natural Products Report*, 27, 238-254.
- [10] Shindo, K.; Kato, M.; Kinoshita, A.; Kobayashi, A.; Koike, Y., (2006), Analysis of Antioxidant Activities Contained in the *Boesenbergia pandurata* Schult. Rhizome, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70, 2281–2284.
- [11] Trakoontivakorn, G., Nakahara, K., Shinmoto, H., Takenaka, M., Onishi-Kameyama, M., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., Tsushida, T., (2001), Structural analysis of a novel antimutagenic compound, 4-hydroxypanduratin A , and

antimutagenic activity of flavonoids in a Thai spice, fingerroot (*Boesenbergia pandurata* Schult.) against mutagenic heterocyclic amines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3046–3050.

- [12] Wu, N., Kong, Y., Zu, Y., Fu, Y., Liu, Z., Meng, R., Liu, X., Efferth, T., (2011), Activity investigation of pinostrobin towards herpes simplex virus-1 as determined by atomic force microscopy, *Phytomedicine*, 18, 110–118.

#### **TANYA JAWAB**

**Nama Pemakalah :** Soerya Dewi Marliyana

**Nama Penanya :** Wahyu Nugroho

**Pertanyaan :**

- a. Apakah senyawa pinostrobin ditemukan juga di genus yang sama?
- b. Apakah isolasinya bersifat khusus atau umum?

**Jawaban :**

- a. Senyawa pinostrobin baru ditemukan di spesies *K. Pandurata*
- b. Isolasinya senyawa tersebut bersifat umum dan senyawa ini merupakan senyawa mayor dalam *K. Pandurata*