

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SECARA *IN VITRO* TERHADAP BAKTERI ISOLAT KLINIS TURUNAN CALKON DARI RIMPANG *Kaempferia pandurata*

***IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CHALCONE DERIVATIVES FROM *Kaempferia pandurata* RHIZOMES AGAINST CLINICAL ISOLATE BACTERIA**

Soerya Dewi Marliyana^{a*}, Yana Maolana Syah^b, Didin Mujahidin^b

^a Prodi Kimia, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta

^b Prodi Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10 Bandung 40132

*email: msoerya@gmail.com

DOI : 10.20961/alchemy.v13i1.4232

Received 19 January 2016, Accepted 8 March 2017, Published online 11 March 2017

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas secara *in vitro* terhadap bakteri isolat klinis dari senyawa turunan calkon yang berhasil diisolasi dari rimpang temu kunci (*K. pandurata*). Dua senyawa turunan calkon, panduratin A (**1**) dan 4-hidroksipanduratin A (**2**) telah berhasil diisolasi dari rimpang *K. pandurata*. Isolasi dilakukan dengan metode ekstraksi (maserasi), kromatografi kolom vakum cair dan kromatografi radial. Identifikasi struktur dilakukan dengan metode spektroskopi NMR (¹H NMR, ¹³C NMR, 1D dan 2D) dan dibandingkan dengan data literatur yang telah dilaporkan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi mengacu pada CLSI, terhadap delapan bakteri isolat klinis yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Senyawa **1** dan **2** menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri uji, dengan aktivitas tertinggi terhadap *S.aureus* dan *B. subtilis* dengan nilai MIC sebesar 2,4-18,8 µg/mL dan MBC pada kisaran 4,8-37,5 µg/mL. Hasil uji antibakteri menunjukkan kedua senyawa tersebut potensial sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri isolat klinis.

Kata kunci: antibakteri, bakteri isolat klinis, 4-hidroksipanduratin A, panduratin A.

ABSTRACT

In vitro antibacterial activity of chalcone derivatives from “temu kunci” (*K. pandurata*) rhizomes against clinical isolate bacteria has been done. Two chalcone derivatives, panduratin A (**1**) and 4-hydroxypanduratin A (**2**) were isolated from *Kaempferia pandurata* rhizomes. Isolation of the chemical components were done with extraction (maceration), vacuum liquid chromatography and radial chromatography methods. The structures were determined by NMR spectroscopy (¹H-NMR, ¹³C-NMR, 1D and 2D), then compare with data from literatures. Antibacterial activity was carried out with reference to the CLSI microdilution method, against eight clinical isolate bacteria such as *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* and *Vibrio*

cholerae. Compounds **1** and **2** showed significant antibacterial activity with highest activity against *S. aureus* and *B. subtilis* with MIC values of 2.4 to 18.8 µg/mL and MBC values of 4.8 to 37.5 µg/mL. These results showed these compounds as potential antibacterial agent for clinical isolate bacteria.

Keywords: antibacterial activity, clinical isolate bacteria, panduratin A, 4-hydroxypanduratin A

PENDAHULUAN

Kaempferia pandurata (Syn. *Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pandurata* (Robx.) Schltr), lebih dikenal dengan nama Temu Kunci, merupakan salah satu spesies dari famili Zingiberaceae yang bagian rimpangnya telah banyak digunakan sebagai obat tradisional, seperti pengobatan asma, diare, gangguan pencernaan, gatal, dan demam (Hwang *et al.*, 2004), serta untuk pengobatan karies gigi, gangguan kolik, infeksi jamur, batuk kering, rematik dan nyeri otot. Selain itu, rimpang segar memiliki aroma yang khas dan digunakan sebagai zat penyedap masakan (Trakoontivakorn *et al.*, 2001).

Berdasarkan penelusuran literatur, ekstrak rimpang dan beberapa senyawa murni hasil isolasi telah diuji untuk berbagai efek biologis. Ekstrak rimpang menunjukkan efek biologis, seperti antibakteri (Hwang *et al.*, 2004), antiinflamasi (Tuchinda *et al.*, 2002), antitumor (Win *et al.*, 2007), antidiare, antidisentri (Calliste *et al.*, 2001), anti-HIV (Cheenpracha *et al.*, 2006), antioksidan (Shindo *et al.*, 2006), antipiretik, analgesik (Park *et al.*, 2005) dan insektisida (Pandji *et al.*, 1993). Sebagian dari senyawa-senyawa murni, terutama komponen utama pinostrobin, juga telah banyak dikaji efek biologisnya. Senyawa ini memperlihatkan efek antimutagenik (Trakoontivakorn *et al.*, 2001), antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan antinoseptif (Poerwono *et al.*, 2010). Senyawa-senyawa lainnya, seperti pinosembrin, pinosembrin calkon, kardamonin, 4-hidroksipanduratin A, dan panduratin A, juga bersifat antimutagenik (Trakoontivakorn *et al.*, 2001). Selain itu 4-hidroksipanduratin A, dan panduratin A, juga mempunyai aktivitas antiinflamasi dan anti-HIV yang cukup signifikan (Cheenpracha *et al.*, 2006; Tewtrakul *et al.*, 2009). Panduratin A, bersama-sama dengan nikolaoidesen B, juga memperlihatkan aktivitas antikanker yang kuat terhadap sel PANC-1 (sel pankreas) (Win *et al.*, 2007). Pada pengujian antimikroba, isopanduratin A bersifat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (Hwang *et al.*, 2004) dan panduratin A dilaporkan mempunyai sifat antibakteri yang kuat terhadap bakteri isolat klinis *Enterococci* (Rukayadi *et al.*, 2010).

Pencarian sumber-sumber senyawa antibakteri yang berasal dari tumbuh-tumbuhan pada saat ini menjadi kajian penting, yang secara terus menerus dikembangkan, sebagai akibat semakin menurunnya efektivitas obat-obat antibiotik karena resistensi. Oleh karena itu komponen yang terkandung dalam *K. pandurata* sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber bahan aktif antibakteri.

METODE PENELITIAN

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah rimpang *K. pandurata* yang diperoleh dari Surakarta pada bulan Januari 2012. Bakteri yang digunakan merupakan bakteri isolat klinis meliputi bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*) yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi POLTEKES Bandung. Media kultur bakteri (Oxoid) *Muller Hinton Broth* (MHB) dan *Muller Hinton Agar* (MHA), NaCl, pelarut organik teknis yang diredestilasi yaitu *n*-heksana, etil asetat, aseton dan metanol, kloroform p.a (pro analisis), DMSO p.a, silika gel Merck 60 G, silika gel Merck F₂₅₄, pelat KLT aluminium berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄, serta pereaksi penampak noda pada KLT yaitu larutan 1,5% (b/v) Ce(SO₄)₂ dalam H₂SO₄ 2N. Alat yang digunakan spektrometer NMR Agilent DD2 yang beroperasi pada 500 MHz (¹H) dan 125 (¹³C), neraca, laminar, inkubator, autoklav, spektrometer Bio-Rad xMark.

Ekstraksi dan Pemurnian

Serbuk rimpang *K. pandurata* (2 kg) dimaserasi dengan 10 L aseton pada suhu kamar selama 24 jam (3x). Ekstrak aseton hasil maserasi disaring dan filtratnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah, menghasilkan ekstrak aseton pekat berupa gum berwarna coklat sebanyak 256 g. Ekstrak aseton pekat sebesar 20 g difraksinasi dengan KCV menggunakan campuran eluen *n*-heksana:EtOAc mulai dari perbandingan 10:0; 9:1; 8:2; 7:3; 1:1; 4:6 dan 0:10. Fraksinasi ini menghasilkan 16 fraksi utama yaitu fraksi F1 s/d F16. Pengelompokan setiap fraksi didasarkan pada kemiripan pola dari analisis KLT. Masing-masing fraksi selanjutnya dimurnikan dengan teknik kromatografi radial. Pemurnian F9 berturut-turut dengan menggunakan eluen *n*-heksana:EtOAc (9:1; 8:2) dan *n*-heksana:CHCl₃ (1:1; 6:4) dihasilkan senyawa murni senyawa **1** berupa serbuk putih kekuningan (80,7 mg). Sedangkan pemurnian F13 dengan campuran eluen berturut-turut *n*-heksana:CHCl₃ (2:8) dan *n*-heksana:EtOAc (8:2) dihasilkan senyawa murni berupa serbuk putih, senyawa **2** (12,2 mg).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas senyawa 1 dan 2 terhadap delapan bakteri isolat klinis (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* dan *V. cholerae*) dilakukan secara *in vitro* dengan metode mikrodilusi (*microdillution methods*) untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), dan nilai MBC (*minimum bactericidal concentration*) mengacu pada *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) tahun 2012.

Uji antibakteri meliputi tiga tahap yaitu:

a) Pembuatan suspensi mikroba

Bakteri ditumbuhkan di medium agar pada suhu 37 °C selama 24 jam, pada kondisi aerob. Selanjutnya bakteri disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9 % (b/v), konsentrasi bakteri disetarakan dengan standar 0,5 Mc Farland (diperkirakan $1-2 \times 10^6$ sel bakteri/mL).

b) Penentuan konsentrasi hambat minimum (MIC)

Sebelum dilakukan uji antibakteri, disiapkan larutan uji (sampel) menggunakan pelarut DMSO dengan konsentrasi sebanyak 600 µg/mL. Media cair MHB sebanyak 200 µL dimasukkan ke dalam setiap lubang mikroplat (96 wells). Ke dalam lubang pertama ditambahkan 200 µL larutan uji. Seri konsentrasi larutan dilakukan dengan memindahkan 200 µL larutan dari lubang pertama ke lubang kedua, dari lubang kedua diambil lagi sebanyak 200 µL dan dimasukkan ke lubang ketiga, hal yang sama dilakukan sampai ke lubang kedelapan. Jumlah larutan dalam masing-masing lubang adalah 200 µL. Kemudian ke dalam masing-masing lubang dimasukkan 10 µL suspensi mikroba. Dua lubang berikutnya masing-masing digunakan untuk dua larutan kontrol. Untuk kontrol pertama lubang diisi dengan 200 µL media cair dan 10 µL suspensi bakteri (*growth control*), sedangkan untuk kontrol kedua lubang hanya diisi dengan 200 µL media cair (*sterility control*). Mikroplat selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri ditentukan dengan menggunakan *microplate spectrometer* (Bio-Rad xMark) pada panjang gelombang 600 nm. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol. Nilai MIC adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

c) Penentuan konsentrasi bunuh minimum (MBC)

Berdasarkan hasil uji pada tahap 2, larutan uji yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri, diinokulasikan ke dalam media padat *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, selanjutnya diamati pertumbuhan

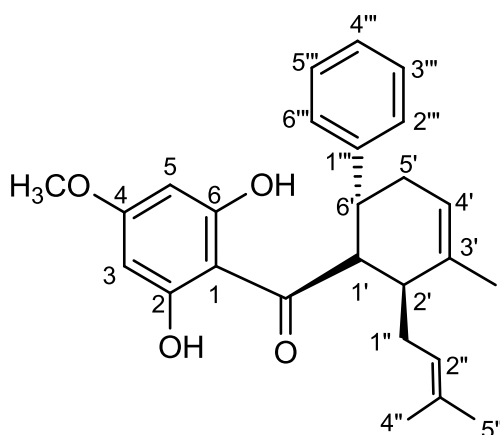
bakterinya. Konsentrasi terendah dari larutan uji yang dapat membunuh semua mikroba dinyatakan sebagai MBC.

PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi senyawa

Isolasi komponen kimia rimpang *K pandurata* dengan menggunakan metode maserasi, kromatografi kolom cair vakum dan kromatografi radial diperoleh dua senyawa turunan calcon yaitu panduratin A (**1**) dan 4-hidroksipanduratin A (**2**). Berdasarkan penelusuran literatur kedua senyawa tersebut bukanlah senyawa baru. Senyawa **1** dan **2** diidentifikasi dengan analisis data ^1H NMR (500 MHz) dan ^{13}C NMR (125 MHz) dalam pelarut CDCl_3 dan CD_3OCCD_3 .

Data spektrum NMR untuk masing-masing senyawa sebagai berikut: Panduratin A (**1**) merupakan senyawa sikloheksenil calcon berbentuk serbuk putih kekuningan dengan titik leleh 157-158°C mempunyai rumus molekul $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_4$. Hasil analisis spektrum ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) mengindikasikan adanya dua sinyal proton aromatik dengan δ_{H} 5,90 ppm (2H, *s*, H-3, H-5), satu sinyal proton gugus metoksi (δ_{H} 3,72 ppm, *s*, OCH_3 -3), lima sinyal proton monosubsitisi aromatik dengan δ_{H} 7,09-7,21 ppm (5H, *m*, H-1'' - H6''), satu sinyal proton metil vinil δ_{H} 1,76 (3H, *s*, H-3'-Me) dan empat sinyal metin pada geseran δ_{H} 5,40 ppm (1H, *br s*, H-4'); 4,77 ppm (1H, *dd*, $J = 4,7; 11,4$ Hz, H-1'); 3,41 ppm (1H, *m*, H-6') dan 2,64 ppm (1H, *m*, H-2'). Adanya gugus isoprenil ditunjukkan oleh sinyal proton pada δ_{H} 4,89 ppm (1H, *t*, H-2''); 2,35 ppm (1H, *m*, Ha-1''); 2,25 ppm (1H, *m*, Hb-1'') dan 1,51 ppm (6H, *s*, H-4'', H-5''). Sedangkan dari data spektrum ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) memperlihatkan adanya 26 sinyal karbon yaitu 8 sinyal karbon alifatik (C-sp^3) yaitu δ_{C} 25,3 (C-4''); 17,6 (C-5''); 22,4 (C-3'-Me); 54,9 (C-1'); 42,1 (C-2'); 35,7 (C-5'); 36,8 (C-6'); 28,7 (C-1'') ppm, 16 sinyal karbon C-sp^2 (δ_{C} 126,9 (C-2''', C-6'''); 128,0 (C-3''', C-5'''); 125,2 (C-4'''); 124,1 (C-2''); 120,6 (C-4'); 105,8 (C-1); 165,1 (C-2); 93,4 (C-3); 165,1 (C-4); 93,4 (C-5); 165,1 (C-6); 137,1 (C-3'); 131,3 (C-3''); 147,1 (C-1''') ppm), sinyal karbon dari gugus karbonil (C=O) pada δ_{C} 206,6 ppm dan gugus metoksi (δ_{C} 53,4 ppm). Berdasarkan data spektrum NMR senyawa **1** (Tabel 1) mempunyai kesesuaian dengan data spektrum NMR yang dilaporkan Tuntiwachwuttikul *et al.* (1984). Struktur senyawa **1** ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Panduratin A (1).

Tabel 1. Data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR panduratin A (1).

No. C	δ_{H} (<i>multiplisitas, J dalam Hz</i>)		δ_{C}	
	1	1*	1	1*
1			105,8	106,4
2			165,1	163,2
3	5,90 (s)	5,86 (s)	93,4	94,6
4			165,1	165,3
5	5,90 (s)	5,86 (s)	93,4	94,6
6			165,1	163,2
1'	4,77 (dd, $J = 4,7; 11,4$)	4,78 (dd, $J = 4,4; 11,0$)	54,9	54,1
2'	2,64 (m)	2,67 (m)	42,1	42,8
3'			137,1	137,3
3'-Me	1,76 (s)	1,73 (s)	22,4	22,8
4'	5,40 (br s)	5,43 (dd, $J = 3,0; 5,0$)	120,6	121,3
5'	2,39 (m, Ha)	2,40 (m, Ha)	35,7	35,9
	2,09 (m, Hb)	2,05 (m, Hb)		
6'	3,41 (m)	3,45 (m)	36,8	36,3
1''	2,25 (m, Ha)	2,30 (m, Ha)	28,7	28,9
	2,02 (m, Hb)	2,15 (m, Hb)		
2''	4,89 (t)	4,89 (t)	124,1	124,4
3''			131,3	132,0
4''	1,51 (s)	1,52 (s)	17,6	17,9
5''	1,51 (s)	1,52 (s)	25,3	25,7
1'''			147,1	148,2
2'''	7,21 (m)	7,21 (m)	126,9	127,3
3'''	7,18 (m)	7,21 (m)	128,0	128,0
4'''	7,06 (m)	7,09 (m)	125,2	125,7
5'''	7,18 (m)	7,21 (m)	128,0	128,0
6'''	7,21 (m)	7,21 (m)	126,9	127,3
4-OMe	3,72 (s)	3,67 (s)	53,4	55,5
C=O			206,6	206,6

Senyawa **1** : diukur dalam CDCl_3 , 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C).Senyawa **1***: diukur dalam CDCl_3 , 400 MHz (^1H) dan 100 MHz (^{13}C) (Tuntiwachwuttikul *et al.*, 1984).

Tabel 2. **Data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR 4-hidroksipanduratin A (2).**

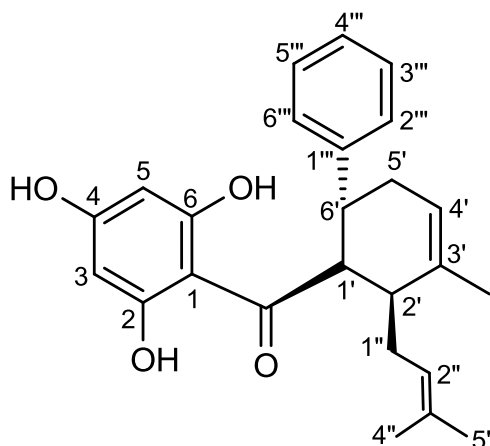
No. C	δ_{H} (<i>multiplisitas, J dalam Hz</i>)		δ_{C}	
	2	2*	2	2*
1			105,5	106,2
2			163,2	164,8
3	5,78 (s)	5,88 (br s)	95,0	95,9
4			163,2	164,8
5	5,78 (s)	5,88 (br s)	95,0	95,9
6			163,2	164,8
1'	4,73 (dd, $J = 4,7; 11,6$)	4,82 (dd, $J = 4,6; 11,6$)	53,5	54,5
2'	2,62 (m)	2,69 (m)	42,3	43,4
3'			137,4	137,9
3'-Me	1,76 (s)	1,76 (s)	22,7	23,0
4'	5,41 (br s)	5,41 (m)	120,8	121,7
5'	2,37 (m, Ha)	2,35 (m, Ha)	35,8	36,8
	1,98 (m, Hb)	1,95 (m, Hb)		
6'	3,41 (ddd, $J = 11,9; 10,6; 6,1$ Hz)	3,45 (ddd, $J = 11,6; 10,7; 6,3$ Hz)	37,0	37,8
1''	2,24 (m, Ha)	2,26 (m, Ha)	28,9	29,5
	2,09 (m, Hb)	2,10 (m, Hb)		
2''	4,89 (t)	4,92 (t)	124,3	125,4
3''			131,5	131,7
4''	1,51 (s)	1,51 (br s)	17,8	17,9
5''	1,51 (s)	1,51 (br s)	25,6	25,9
1'''			147,3	148,3
2'''	7,21 (m)	7,19 (m)	127,0	128,0
3'''	7,19 (m)	7,17 (m)	128,2	128,9
4'''	7,06 (m)	7,04 (m)	125,4	126,2
5'''	7,19 (m)	7,17 (m)	128,2	128,9
6'''	7,21 (m)	7,19 (m)	127,0	128,0
C=O			206,6	207,0

Senyawa **2** : diukur dalam CD_3COCD_3 , 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C).

Senyawa **2***: diukur dalam CD_3COCD_3 , 300 MHz (^1H) dan 75MHz (^{13}C) (Tuchinda *et al.*, 2002).

Senyawa 4-hidroksipanduratin A (**2**) mirip dengan struktur panduratin A (**1**) yang mempunyai kerangka sikloheksenil calkon tetapi pada C-4 tersubstitusi gugus hidroksi, berbentuk serbuk putih kekuningan dan mempunyai rumus molekul $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_4$. Data analisis spektrum ^1H NMR (500 MHz, CD_3COCD_3) memperlihatkan adanya dua sinyal proton aromatik dengan δ_{H} 5,90 ppm (2H, *s*, H-3, H-5), lima sinyal proton monosubstitusi aromatik dengan δ_{H} 7,09-7,21 ppm (5H, *m*, H-1'''- H6'''), satu sinyal proton metil vinil δ_{H} 1,76 (3H, *s*, H-3'-Me) dan empat sinyal metin pada geseran δ_{H} 5,41 ppm (1H, *br s*, H-4'); 4,73 ppm (1H, *dd*, $J = 4,7; 11,4$ Hz, H-1'); 3,41 ppm (1H, *m*, H-6') dan 2,64 ppm (1H, *m*, H-2'). Keberadaan gugus isoprenil ditunjukkan oleh sinyal proton pada δ_{H} 4,89 ppm (1H, *t*, H-2''); 2,24 ppm (1H, *m*, Ha-1''); 2,09 ppm (1H, *m*, Hb-1'') dan 1,51 ppm (6H, *s*, H-4'', H-5''). Sedangkan dari data spektrum ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3COCD_3) menunjukkan adanya 25 sinyal karbon yaitu 9 sinyal karbon alifatik (C-*sp*³) yaitu δ_{C} 17,8 (C-4''); 25,6 (C-5''); 22,7 (C-3'-Me); 53,5 (C-1'); 42,3 (C-2'); 35,8 (C-5'); 37,0 (C-6'); 28,9 (C-1''); 124,3 (C-2'') ppm, 15 sinyal karbon C-*sp*² (δ_{C} 127,0 (C-2''', C-6'''); 128,2 (C-

3''', C-5'''); 125,4 (C-4'''); 120,8 (C-4'); 105,5 (C-1); 163,2 (C-2); 95,0 (C-3); 163,2 (C-4); 95,0 (C-5); 163,2 (C-6); 137,4 (C-3''); 131,5 (C-3'''); 147,3 (C-1''') ppm) dan sinyal karbon dari gugus karbonil (C=O) pada δ_C 206,6 ppm. Data spektrum senyawa **2** (Gambar 2) mempunyai kesesuaian dengan data spektrum NMR yang dilaporkan Tuchinda *et al.* (2002) seperti pada Tabel 2.



Gambar 2. 4-Hidroksipanduratin A (**2**).

Uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa senyawa **1** dan **2** terhadap delapan bakteri uji memperlihatkan aktivitas yang beragam dengan kisaran nilai MIC 2,4 - 300 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai MBC 4,8 - 300 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 3). Penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan dengan tiga kali pengulangan.

Tabel 3. Nilai MIC dan MBC ($\mu\text{g/mL}$) Senyawa **1** dan **2**

Senyawa		Gram-(+)				Gram-(-)			
		<i>S.au</i>	<i>B.su</i>	<i>E. ae</i>	<i>P. ae</i>	<i>V.ch</i>	<i>S.ty</i>	<i>S. dy</i>	<i>E.co</i>
1	MIC	4,8	2,4	75	150	75	75	75	75
	MBC	4,8	>9,4	>150	300	150	150	>150	300
2	MIC	18,8	18,8	75	75	75	300	75	75
	MBC	18,8	>37,5	300	150	75	300	300	75
KI	MIC	1,9	1,9	3,9	31,2	15,6	3,9	1,9	1,9
	MBC	1,9	1,9	3,9	31,2	15,6	3,9	1,9	1,9

Catatan:

* *S. au* (*S. aureus*), *B. su* (*B. subtilis*), *E. ae* (*E. aerogenes*), *P. ae* (*P. aeruginosa*), *V. ch* (*V. cholerae*), *S. ty* (*S. typhi*), *S. dy* (*S. dysenteriae*), *E. co* (*E. coli*).

** Senyawa (600 $\mu\text{g/mL}$): **1** (panduratin A), **2** (4-hidroksipanduratin A).

***KI: kloramfenikol (kontrol positif) konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan data (Tabel 3) yang diperoleh, tampak bahwa aktivitas antibakteri terhadap delapan bakteri isolat klinis, paling tinggi diperlihatkan oleh panduratin A (**1**) dan 4-hidroksipanduratin A (**2**) terhadap bakteri Gram-(+) yaitu *S. aureus* dan *B. subtilis*. Senyawa **1** mempunyai aktivitas yang sangat aktif terhadap bakteri *S. aureus* dan *B.*

subtilis dengan nilai MIC berturut-turut sebesar 4,8 µg/mL dan 2,4 µg/mL. Sedangkan untuk senyawa **2** terhadap kedua bakteri tersebut bersifat aktif dengan nilai MIC sebesar 18,8 µg/mL. Apabila diperhatikan kedua senyawa tersebut mempunyai nilai MIC dan MBC yang sama untuk bakteri *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa **1** dan **2** tidak hanya bersifat menghambat tetapi juga bersifat membunuh terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan baik senyawa **1** maupun **2** mempunyai nilai MIC yang berbeda dengan nilai MBC untuk bakteri *B. subtilis*, oleh karena itu kedua senyawa tersebut hanya bersifat menghambat terhadap bakteri *B. subtilis*. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Marliyana (2015), kedua senyawa tersebut panduratin A (1) dan 4-hidroksipanduratin A (2) mempunyai aktivitas yang sangat aktif terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 29737 dan *B. subtilis* ATCC 6633 dengan nilai MIC dan MBC berkisar pada 1,2-4,7 µg/mL.

Kedua senyawa ini mempunyai aktivitas lemah terhadap enam bakteri Gram(-). Hal ini dikarenakan tingkat aktivitas terhadap bakteri uji dipengaruhi oleh sifat atau karakteristik dari bakteri. Setiap bakteri mempunyai tingkat kepekaan yang berbeda terhadap suatu zat atau senyawa tertentu. Mekanisme aksi dari senyawa turunan calkon (flavonoid) dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba diperkirakan melalui berbagai cara yaitu merusak membran sitoplasma, menghambat sintesis protein, mengganggu metabolisme, menghambat sintesis dinding sel dan menghambat sintesis sel membran (Cushnie *et al.*, 2011). Masih belum ada kepastian dan masih menjadi perdebatan, apakah senyawa flavonoid hanya melalui satu atau lebih dari satu mekanisme aksi. Arakawa *et al.* (2004) melaporkan senyawa golongan flavanol, flavan-3-ol dan flavolan diperkirakan melalui perusakan membran sitoplasma. Golongan isoflavon dan flavan-3-ol diperkirakan menghambat sintesis asam nukleat (Gradisar *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2010), sedangkan flavanol, flavan-3-ol dan flavon mengganggu metabolisme (Chinnam *et al.*, 2010). Dari ketiga laporan tersebut, flavan-3-ol dapat melalui lebih dari satu mekanisme aksi yaitu melalui perusakan membran sitoplasma, menghambat sintesis asam nukleat dan mengganggu metabolisme bakteri

KESIMPULAN

Dua senyawa turunan calkon yaitu panduratin A (**1**) dan 4-hidroksipanduratin A (**2**) telah berhasil diisolasi dari rimpang *K. pandurata*. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap delapan bakteri isolat klinis memperlihatkan bahwa senyawa **1** dan **2** aktif terhadap bakteri Gram-(+) *S. aureus* dan *B. subtilis* dengan nilai MIC sebesar 2,4-18,8 µg/mL dan MBC

pada kisaran 4,8-37,5 µg/mL. Hasil uji antibakteri menunjukkan kedua senyawa tersebut sangat potensial untuk dikembangkan sebagai senyawa antibakteri untuk bakteri isolat klinis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dirjen Dikti atas bantuan dana melalui Penelitian Disertasi Doktor dengan nomor kontrak: 353/UN27.21/PN/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Arakawa, H., Maeda, M., Okubo, S., and Shimamura, T., 2004. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27, 277–281.
- Calliste, C.A., Le Bail, J.C., Trouillas, P., Pouget, C., Habrioux, G., Chulia, A. J., and Duroux, J. L., 2001, Chalcones: structural requirements for antioxidant, estrogenic and antiproliferative activities, *Anticancer Research*, vol. 21, pp. 3949–3956.
- Cheenpracha, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., Subhadhirasakul, S., and Tewtrakul, S., 2006. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 14 (6), 1710–1714.
- Chinnam, N., Dad, P. K., Sabri, S. A., Ahmad, M., Kabir, M. A., and Ahmad, Z., 2010. Dietary bioflavonoids inhibit *Escherichia coli* ATP synthase in a differential manner. *International Journal of Biological Macromolecules* 46, 478–486.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-9th edition. *CLSI Document M07-09* 32 (2), Wayne, PA, USA.
- Cushnie, T. P. T., Lambb, A. J., 2011. Review: Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38, 99– 107.
- Gradisar, H., Pristovsek, P., Plaper, A, and Jerala, R., 2007. Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site. *Journal of Medicinal Chemistry* 50, 264–271.
- Hwang, J. K., Chung, J.Y., Baek, N. I., and 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.
- Marliyana, S. D., Rukayadi, Y., Ismail, I. S., Mujahidin, D., and Syah, Y. M., 2015. Inhibitory properties of panduratin A and 4-hydroxypanduratin A isolated from

Kaempferia pandurata against some pathogenic bacteria. *Current Topics in Toxicology* 11, 23-28.

- Pandji, C., Grimm, C., Wray, V., Witte, L., and Proksch, P., 1993. Insecticidal constituents from four species of the zingiberaceae. *Phytochemistry* 34, 415–419.
- Park, K. M., Choo, J. H., Sohn, J. H., Lee, S. H., and Hwang, J. K., 2005. Antibacterial activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* against *Porphyromonas gingivalis*. *Food Science and Biotechnology* 14, 286–289.
- Poerwono, H., Sasaki, S., Hattori, Y., and Higashiyama, K., 2010. Efficient microwave-assisted prenylation of pinostrobin and biological evaluation of its derivatives as antitumor agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 20, 2086–2089.
- Rukayadi, Y., Han, S., Yong, D., and Hwang, J. K., (2010. *In vitro* antibacterial activity of panduratin A against *Enterococci* clinical isolates. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 33 (9), 1489-1493.
- 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.
- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., and Cheenpracha, S., 2009. Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*, *Food Chemistry* 115 (2), 534-538.
- Trakoontivakorn, G., Nakahara, K., Shinmoto, H., Takenaka, M., Onishi-Kameyama, M., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., and 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.
- Tuchinda, P., Reutrakul, V., Claeson, P., Ponprayoon, U., Sematong, T., Santosuk, T., and Taylor, W. C., 2002. Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry* 59, 169–173.
- Win, N. N., Awale, S., Esumi, H., Tezuka, Y., and Kadota, S., 2007. Bioactive secondary metabolites from *Boesenbergia pandurata* of Myanmar and their preferential cytotoxicity against Human Pancreatic Cancer PANC-1 cell line in nutrient-deprived medium. *Journal of Natural Products* 70, 1582–1587.