

Sintesis Konjugat Kurkumin dengan Fenilalanin dan Isoleusin sebagai Kandidat Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Nurul Luthfi Maulida *, Nety Kurniaty, Rani Maharani

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

nurulluthfimaulida@gmail.com, nety.kurniaty@gmail.com, r.maharani@unpad.ac.id

Abstract. Curcumin is the main polyphenol compound of *Curcuma longa* that has a variety of biological activities, including as an antibacterial. However, its low solubility in water and its lack of stability limit its maximum utilization. One strategy to increase the biological effectiveness of curcumin is through conjugation with amino acids. This study aims to synthesize curcumin conjugate with the amino acids phenylalanine and isoleucine as antibacterial candidates against *Staphylococcus aureus*. Synthesis was carried out by the Steglich esterification method using DCC and DMAP in dioxane solvents, followed by purification through column chromatography with silica gel. The synthesis results showed the formation of curcumin-phenylalanine (Boc) and curcumin-isoleucine (Boc) conjugate with yields of 2.09% and 1.46%, respectively. Mass spectrometry analysis showed that the curcumin-isoleucine conjugate had a molecular ion peak of 581.16 m/z ($[M+H]^+$), corresponding to its theoretical mass. In contrast, the curcumin-phenylalanine conjugate did not show the expected ionic peak, so only the curcumin-isoleucine conjugate was tested for antibacterial activity in vitro by the microdilution method. The test results showed antibacterial activity at a concentration of 2000 ppm. Further research will focus on the release of Boc groups to increase antibacterial activity.

Keywords: *Curcumin, Phenylalanine, Isoleucine.*

Abstrak. Kurkumin adalah senyawa polifenol utama dari *Curcuma longa* yang memiliki beragam aktivitas biologis, termasuk sebagai antibakteri. Namun, kelarutan yang rendah dalam air dan stabilitasnya yang kurang membatasi pemanfaatannya secara maksimal. Salah satu strategi untuk meningkatkan efektivitas biologis kurkumin adalah melalui konjugasi dengan asam amino. Penelitian ini bertujuan mensintesis konjugat kurkumin dengan asam amino fenilalanin dan isoleusin sebagai kandidat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Sintesis dilakukan dengan metode esterifikasi Steglich menggunakan DCC dan DMAP dalam pelarut dioksan, diikuti pemurnian melalui kromatografi kolom dengan silika gel. Hasil sintesis menunjukkan terbentuknya konjugat kurkumin-fenilalanin(Boc) dan kurkumin-isoleusin(Boc) dengan rendemen masing-masing 2,09% dan 1,46%. Analisis spektrometri massa menunjukkan bahwa konjugat kurkumin-isoleusin memiliki puncak ion molekul sebesar 581,16 m/z ($[M+H]^+$), sesuai dengan massa teoritisnya. Sebaliknya, konjugat kurkumin-fenilalanin tidak menunjukkan puncak ion yang diharapkan, sehingga hanya konjugat kurkumin-isoleusin yang diuji aktivitas antibakterinya secara in vitro dengan metode mikrodilusi. Hasil uji menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2000 ppm. Penelitian lanjutan akan difokuskan pada pelepasan gugus Boc untuk meningkatkan aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: *Kurkumin, Fenilalanin, Isoleusin.*

A. Pendahuluan

Kurkumin adalah senyawa polifenol utama dalam *Curcuma longa* yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antimikroba, antioksidan, dan anti-inflamasi. Meski aman dikonsumsi, penggunaannya terbatas akibat kelarutan air dan stabilitas yang rendah. Salah satu strategi untuk meningkatkan efektivitasnya adalah melalui konjugasi dengan asam amino (Onwuka, 2018).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi serius. Adanya strain resisten seperti MRSA mendorong pencarian agen antibakteri baru dari bahan alam, termasuk kurkumin (Chambers & DeLeo, 2009). Kurkumin diketahui dapat merusak membran sel bakteri dan menghambat pembentukan biofilm, namun bioavailabilitasnya masih rendah (Tyagi et al., 2015).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa konjugasi kurkumin dengan asam amino isoleusin, dapat meningkatkan kelarutan atau bioavailabilitas melalui mekanisme peningkatan stabilitas dan gangguan agregasi. Konjugasi dengan isoleusin dapat meningkatkan kelarutan kurkumin, memfasilitasi penetrasi membran bakteri, serta memungkinkan interaksi yang lebih efektif dengan target intraseluler. Selain itu, modifikasi ini berpotensi meningkatkan kestabilan metabolik dan memperluas spektrum aktivitas antibakteri (Alam et al., 2017).

Sintesis konjugat kurkumin-fenilalanin diharapkan dapat meningkatkan kelarutan kurkumin. Adapun, sintesis konjugat kurkumin-isoleusin diharapkan dapat menghasilkan senyawa baru dengan aktivitas antibakteri yang lebih kuat, lebih selektif, dan lebih stabil terhadap degradasi enzimatik maupun kondisi fisiologis tubuh serta stabilitas yang lebih baik dibandingkan kurkumin murni. Selain itu, konjugasi ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan larut air kurkumin, sehingga bioavailabilitasnya menjadi lebih baik.

Dalam penelitian yang dilakukan, sintesis konjugat baik terhadap fenilalanin maupun isoleusin dilakukan namun hanya konjugat isoleusin yang berhasil dilakukan. Dalam penelitian ini kedua sintesis akan dilaporkan. Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah konjugat kurkumin-fenilalanin dan kurkumin-isoleusin dapat disintesis menggunakan metode esterifikasi steglich untuk mendapatkan senyawa baru yang bioavailabilitasnya lebih baik serta apakah hasil sintesis konjugat kurkumin dengan isoleusin dapat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis konjugat kurkumin dengan menggunakan metode esterifikasi steglich serta untuk menguji aktivitas antibakteri dari konjugat kurkumin hasil sintesis. Manfaat dari penelitian ini meliputi kontribusi terhadap pengetahuan baru dalam bidang sintesis konjugat kurkumin sebagai agen antibakteri, serta pengembangan metode sintesis konjugat kurkumin dengan potensi aktivitas antibakteri.

Tinjauan Pustaka

Asam Amino

Asam amino merupakan unit dasar pembentuk protein, yang tersusun atas gugus karboksil ($-\text{COOH}$), gugus amino ($-\text{NH}_2$), atom hidrogen, dan gugus rantai samping ($-\text{R}$) yang terikat pada atom karbon pusat. Berdasarkan kebutuhan tubuh, asam amino diklasifikasikan menjadi esensial, non-esensial, dan semi-esensial. Asam amino esensial seperti leusin, isoleusin, dan fenilalanin tidak dapat disintesis tubuh dan harus diperoleh dari makanan. Sebaliknya, asam amino non-esensial dapat disintesis oleh tubuh dari senyawa nitrogen dalam makanan (Cahyono & Mardani, 2020).

Fenilalanin

Fenilalanin adalah asam amino esensial dengan rumus kimia $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$, berperan sebagai prekursor sintesis tirosin, dopamin, dan adrenalin. Fenilalanin tersedia dalam dua bentuk enansiomer, namun hanya L-fenilalanin yang digunakan dalam biosintesis protein manusia. Asam amino ini dikategorikan sebagai aromatik karena memiliki cincin benzena, dan diperoleh dari sumber makanan seperti daging, ikan, dan produk susu. Proses metabolisme fenilalanin melibatkan enzim PAH, dan gangguan pada enzim ini dapat menyebabkan fenilketonuria (PKU) (Rubiyanti, 2019).

Isoleusin

Isoleusin termasuk asam amino esensial dan tergolong dalam kelompok rantai bercabang (BCAA), bersama leusin dan valin. Asam amino ini penting dalam metabolisme otot dan perbaikan jaringan. Secara kimia, isoleusin memiliki rantai alifatik bercabang yang bersifat hidrofobik, namun tetap memiliki gugus polar yang memungkinkan konjugasi dengan senyawa aktif seperti kurkumin. Isoleusin dapat meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas senyawa aktif serta membantu penetrasi

ke dalam sel bakteri (Zorzi et al., 2017).

Kurkumin

Kurkumin adalah polifenol utama dalam *Curcuma longa*, yang memberikan warna kuning-oranye pada kunyit. Senyawa ini memiliki dua gugus fenolik yang terhubung oleh sistem konjugasi dan berperan sebagai antioksidan kuat. Kurkumin juga memiliki potensi sebagai agen antikanker, anti-inflamasi, imunomodulator, dan pelindung saraf. Namun, keterbatasannya terletak pada rendahnya bioavailabilitas akibat penyerapannya yang buruk dan metabolisme cepat (Zaibunnisa et al., 2009).

Esterifikasi Steglich

Esterifikasi merupakan reaksi antara asam karboksilat dan alkohol yang menghasilkan ester. Salah satu metode yang digunakan adalah esterifikasi Steglich, yang memanfaatkan DCC sebagai aktivator dan DMAP sebagai katalis. Proses ini berlangsung dalam kondisi ringan dan netral, menghasilkan intermediet reaktif berupa O-acylisourea yang mempermudah pembentukan ikatan ester. Reaksi ini sering digunakan untuk senyawa dengan gugus sterik besar yang sulit bereaksi secara konvensional (Munawar et al., 2024).

Antibakteri

Senyawa antibakteri berfungsi untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Mekanisme kerjanya mencakup penghambatan sintesis dinding sel, protein, serta gangguan pada membran dan DNA. Kurkumin termasuk antibakteri alami yang efektif terhadap bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, meskipun efektivitasnya dibatasi oleh stabilitas dan kelarutan yang rendah (Actions et al., 2004). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat, sering ditemukan di kulit dan saluran napas manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi mulai dari ringan hingga berat. Strain MRSA menunjukkan resistensi tinggi terhadap antibiotik seperti methicillin, menjadikannya ancaman serius dalam dunia medis (Chambers & DeLeo, 2009).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan metode pemisahan senyawa dengan menggunakan lapisan tipis sorben pada pelat datar. Larutan sampel ditotolkan pada pelat, lalu dikembangkan dengan eluen tertentu. Pemisahan terjadi berdasarkan perbedaan afinitas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Nilai R_f digunakan untuk mengidentifikasi senyawa (Poole, 2003).

Spektrofotometri Massa

Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi massa molekul dengan mengionisasi senyawa dan menganalisis rasio massa terhadap muatan (m/z). Spektrum yang dihasilkan membantu mengenali struktur molekul berdasarkan fragmen yang muncul dan intensitasnya (Martens et al., 2011).

Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa berdasarkan perbedaan polaritas atau interaksi terhadap fase diam (misalnya silika gel). Campuran senyawa dialirkan melalui kolom dan dipisahkan sesuai afinitas masing-masing komponen terhadap fase diam dan gerak (Poole, 2003).

B. Metode

Penelitian ini menggunakan metode sintesis dengan harapan menghasilkan konjugat kurkumin-fenilalanin dan kurkumin-isoleusin sebagai kandidat antibakteri *S. aureus*. Sintesis senyawa ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran Bandung. Metode yang digunakan dalam pembentukan sintesis ini yaitu reaksi steglich yang dimana kurkumin direaksikan dengan asam amino fenilalanin dan isoleusin yang terproteksi oleh Boc (butiloksikarbonil) dengan reagen DCC (disikloheksilkarbodimida) dan DMAP (4-dimetilamino-piridina). Setelah itu, senyawa konjugat kurkumin-fenilalanin dan kurkumin-isoleusin yang terbentuk dipisahkan menggunakan kromatografi kolom untuk menghasilkan senyawa konjugat yang murni.

Selanjutnya, uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis untuk memastikan bahwa senyawa konjugat yang terbentuk memiliki kemurnian yang tinggi dan tidak mengandung pengotor atau produk samping dan dikarakterisasi dengan spektrofotometri massa untuk mengkonfirmasi berat molekul. Langkah selanjutnya, senyawa konjugat kurkumin-isoleusin yang sudah terbentuk diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Analisis dan Pembahasan

Sintesis Konjugat Kurkumin-Asam Amino

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa konjugat antara kurkumin dan asam amino fenilalanin(Boc) dan isoleusin(Boc), dengan harapan bahwa konjugasi ini dapat meningkatkan kelarutan dan aktivitas biologis kurkumin. Fenilalanin adalah salah satu dari sembilan asam amino esensial yang diperlukan tubuh untuk sintesis protein. Asam amino ini bersifat aromatik dan relatif hidrofobik karena keberadaan cincin benzena dalam rantai sampingnya. Meskipun demikian, keberadaan gugus polar seperti $-NH_2$ dan $-COOH$ pada fenilalanin tetap memungkinkan terjadinya interaksi dengan pelarut polar seperti air (Del Ry et al., 2011). Adapun, secara struktur kimia, isoleusin adalah asam α -amino dengan rantai samping alifatik yang bercabang. Sifat ini membuatnya bersifat cukup hidrofobik, sehingga mudah berinteraksi dengan struktur lipid pada membran sel. Dalam konteks farmasi, sifat hidrofobik-hidrofilik dari isoleusin ini dapat dimanfaatkan untuk mengkonjugasi senyawa aktif seperti kurkumin, guna meningkatkan kelarutan dan kemampuannya melewati membran sel (Zorzi et al., 2017). Konjugasi kurkumin dengan fenilalanin dan isoleusin diharapkan dapat memperbaiki sifat kelarutan kurkumin dan meningkatkan efektivitas biologisnya. Konjugasi kurkumin dengan fenilalanin dan isoleusin juga dapat mencegah terjadinya agregasi antar molekul kurkumin, yang seringkali terjadi karena interaksi antar cincin aromatik. Agregasi ini menyebabkan kurkumin menjadi tidak larut dan kurang aktif secara biologis (Priyadarsini, 2014). Dengan menggabungkan kurkumin dengan fenilalanin dan isoleusin, struktur senyawa menjadi lebih fleksibel dan terhindar dari penggumpalan, sehingga lebih mudah larut dalam media berair.

Reaksi sintesis konjugat antara kurkumin dan dua asam amino, yaitu fenilalanin dan isoleusin, dilakukan menggunakan metode esterifikasi Steglich. Metode ini memanfaatkan DCC (N,N'-dicyclohexylcarbodiimide) sebagai aktivator dan DMAP (4-dimethylaminopyridine) sebagai katalis dalam pelarut dioksan. Sintesis dilakukan dengan pengadukan selama 24 jam pada suhu ruang dalam suasana gelap untuk menghindari degradasi senyawa oleh cahaya.

Hasil reaksi berupa produk padat dan konjugat kurkumin–fenilalanin(Boc) diperoleh dengan rendemen sebesar 2,09%, sedangkan konjugat kurkumin–isoleusin(Boc) memiliki rendemen 1,46%. Rendemen yang rendah kemungkinan disebabkan oleh kondisi reaksi yang tidak sepenuhnya optimal, seperti pengaruh kelembapan, lamanya waktu reaksi, atau efektivitas pemurnian.

Pemurnian dengan Kromatografi Kolom

Pemisahan senyawa hasil sintesis, baik konjugat kurkumin-fenilalanin(Boc) maupun konjugat kurkumin-isoleusin(Boc), dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam berupa silika gel 60 F254. Kromatografi kolom merupakan salah satu teknik pemisahan paling umum dan efisien dalam kimia organik sintetik, yang memanfaatkan perbedaan polaritas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak untuk menghasilkan fraksi-fraksi yang berbeda (Onwuka, 2018).

Pada pemisahan senyawa konjugat kurkumin-fenilalanin(Boc), silika gel terlebih dahulu direndam dalam pelarut n-heksan dan disonikasi selama 2 jam untuk menjamin distribusi merata dan kejenuhan fase diam. Produk hasil reaksi kemudian dikeringkan menggunakan rotary evaporator, ditimbang, dan digerus bersama silika gel dengan perbandingan 1:1 hingga terbentuk serbuk homogen. Produk ini kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang telah diisi fase diam, dan dilakukan pemisahan menggunakan fase gerak berupa campuran n-heksan dan etil asetat secara gradien dengan perbandingan pelarut bertahap dari 100:0 hingga 60:40.

Fraksi yang dihasilkan dari kolom dipisahkan menjadi 21 vial. Masing-masing fraksi dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pelarut n-heksan:etil asetat (6:4) dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Fraksi yang menunjukkan pola satu bercak dianggap mengandung senyawa tunggal atau murni (Poole, 2003). Fraksi murni selanjutnya diuapkan kembali hingga kering atau berbentuk serbuk dan dianalisis menggunakan spektrofotometri massa untuk mengetahui berat molekul serta memperkuat dugaan struktur senyawa hasil sintesis.

Sementara itu, pemisahan senyawa konjugat kurkumin-isoleusin(Boc) memerlukan prosedur pemisahan lebih kompleks, yakni dilakukan dalam tiga tahap kromatografi kolom. Hal ini disebabkan karena kemungkinan struktur senyawa konjugat lebih polar atau memiliki kemiripan R_f dengan pengotor sehingga diperlukan pemisahan berulang untuk memperoleh produk murni.

Pada kolom pertama, digunakan silika gel dengan fase gerak isokratik berupa n-heksan:etil asetat (8:2), menghasilkan empat fraksi. Selanjutnya, fraksi yang belum murni diproses kembali menggunakan kolom kedua silika gel dan metode gradien. Perbandingan pelarut dimodifikasi secara bertahap dari 9:1 hingga 7:3 dalam 21 tahapan, menyerupai metode gradien pada pemisahan senyawa kurkumin-fenilalanin(Boc).

Kolom ketiga digunakan untuk pemurnian lebih lanjut menggunakan silika gel modifikasi (ODS - Octadecylsilane) sebagai fase diam dan pelarut polar metanol:air (9:1) sebagai fase gerak dalam metode isokratik. ODS digunakan karena memiliki afinitas lebih tinggi terhadap senyawa yang lebih polar atau memiliki gugus hidrofilik, seperti asam amino. Hasil fraksi dari ketiga kolom kemudian dianalisis kembali menggunakan KLT untuk mengevaluasi kemurniannya.

Proses pemisahan dihentikan ketika fraksi menunjukkan satu spot tunggal pada plat KLT. Selanjutnya, senyawa murni dikeringkan dan dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri massa. Langkah karakterisasi ini penting untuk mengonfirmasi struktur senyawa dan kesesuaian dengan berat molekul teoritis senyawa konjugat yang disintesis.

Dengan demikian, perbedaan utama dari kedua prosedur pemisahan ini terletak pada kompleksitas dan jumlah tahap pemisahan. Senyawa konjugat kurkumin-isoleusin(Boc) membutuhkan pemisahan bertahap yang lebih panjang, menandakan tantangan dalam mencapai kemurnian tinggi, kemungkinan karena perbedaan sifat kimia dari asam amino isoleusin yang lebih non-polar dan lebih bercabang dibanding fenilalanin.

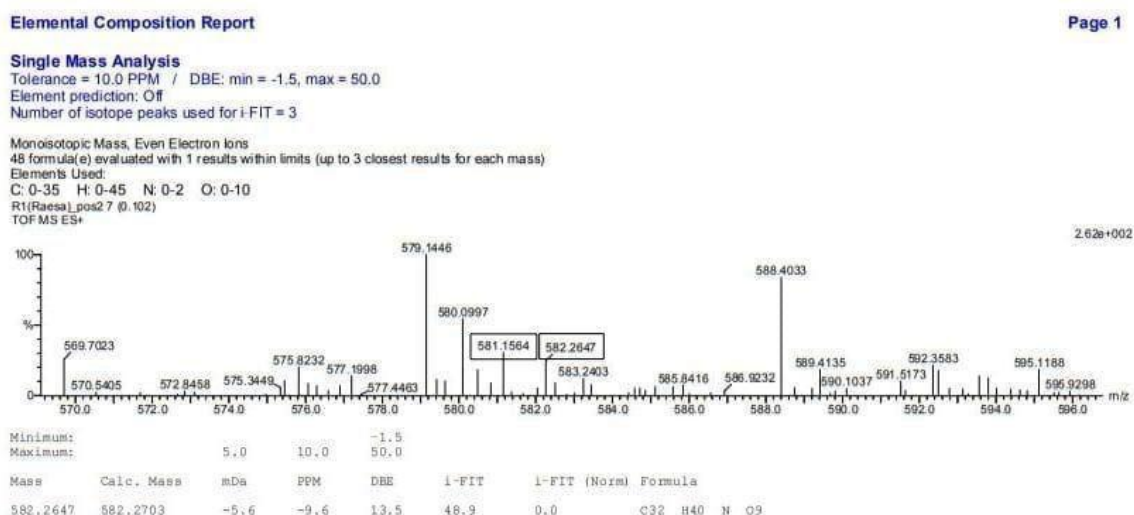
Karakterisasi dengan Spektrofotometri Massa

Karakterisasi senyawa hasil sintesis dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri massa untuk mengetahui massa molekul relatif dan memastikan struktur senyawa konjugat kurkumin-fenilalanin(Boc) serta kurkumin-isoleusin(Boc). Teknik spektrometri massa sangat penting dalam bidang kimia organik dan farmasi karena mampu memberikan informasi akurat mengenai bobot molekul, struktur fragmen, serta pola fragmentasi senyawa berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) (Hoffmann & Stroobant, 2007). Sampel dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut metanol, kemudian dianalisis menggunakan instrumen Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOF-MS) dengan metode Electrospray Ionization (ESI) dalam mode positif dan negatif.

Pada senyawa konjugat kurkumin-fenilalanin(Boc), hasil analisis menggunakan TOF-MS menunjukkan bahwa tidak terdapat puncak dominan pada $m/z = 615,25$, yang merupakan massa molekul teoritis dari senyawa dengan rumus molekul $C_{33}H_{31}NO_9$. Ketidakhadiran puncak ini kemungkinan besar disebabkan oleh proses ionisasi yang tidak efisien atau karena senyawa mengalami fragmentasi sebelum membentuk ion molekul utuh. Meskipun demikian, terdapat puncak-puncak fragmen yang muncul, seperti pada m/z 449,3483 dan 471,3519 dalam mode negatif, serta m/z 449,3364 dan 471,3261 dalam mode positif. Fragmen-fragmen ini diduga berasal dari pemutusan gugus ester atau gugus pelindung Boc yang bersifat labil selama proses ionisasi (Niessen, 2017).

dalam spektrum massa juga muncul puncak dengan m/z di atas 700, yaitu 718 dan 719. Puncak ini kemungkinan merupakan hasil dari dimerisasi parsial atau asosiasi senyawa dengan ion logam seperti Na^+ atau K^+ yang umum terjadi pada ionisasi dengan metode ESI. Dimerisasi parsial merupakan kondisi di mana sebagian molekul dalam sampel saling berasosiasi membentuk pasangan (dimer), sementara sebagian lainnya tetap dalam bentuk monomer. Proses ini terjadi karena metode ESI merupakan teknik ionisasi yang lembut sehingga memungkinkan molekul tetap utuh dan saling berikatan secara non-kovalen (Hoffmann & Stroobant, 2007). Akibatnya, pada spektrum massa dapat muncul puncak yang mendekati dua kali massa monomer atau sedikit lebih tinggi karena penambahan massa dari ion logam atau pelarut. Oleh karena itu, penting untuk menafsirkan puncak tersebut secara hati-hati agar tidak dianggap sebagai hasil sintesis senyawa baru. Untuk memastikannya, dapat dilakukan pengujian lanjutan seperti penyesuaian konsentrasi atau penambahan zat penstabil ion.

Berbeda dengan hasil karakterisasi kurkumin-fenilalanin(Boc), spektrum massa dari senyawa konjugat kurkumin-isoleusin(Boc) menunjukkan hasil yang lebih meyakinkan. Pada mode positif, muncul puncak dominan pada $m/z = 581,16$ dan $582,16$, yang sesuai dengan massa molekul teoritis senyawa, yaitu 581,26, dengan rumus molekul $C_{32}H_{40}N_2O_3$.



Gambar 1. Spektrum massa konjugat kurkumin–isoleusin(Boc)

Perbedaan yang sangat kecil antara massa teoritis dan massa terdeteksi menunjukkan bahwa senyawa terionisasi sebagai $[M+H]^+$, yakni senyawa yang memperoleh satu proton selama proses ionisasi. Gugus Boc pada asam amino isoleusin dalam senyawa ini berperan sebagai pelindung gugus amino agar tidak bereaksi selama proses sintesis, dan keberadaannya tetap terdeteksi dalam spektrum massa.

Data ini memperkuat bukti bahwa proses konjugasi antara kurkumin dengan isoleusin-Boc berhasil dilakukan. Spektrofotometri massa dengan teknik TOF-MS ES⁺ telah memberikan hasil yang sesuai dengan rancangan awal, baik dari segi massa molekul maupun struktur fragmen. Maka dapat disimpulkan bahwa karakterisasi dengan spektrometri massa berhasil mengidentifikasi keberhasilan sintesis senyawa kurkumin-isoleusin(Boc), sedangkan senyawa kurkumin-fenilalanin(Boc) memerlukan perhatian lebih terkait proses ionisasi dan kemungkinan terjadinya fragmentasi atau dimerisasi. Informasi ini menjadi dasar penting sebelum melanjutkan ke tahapan pengujian aktivitas biologis seperti uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Uji Aktivitas Antibakteri

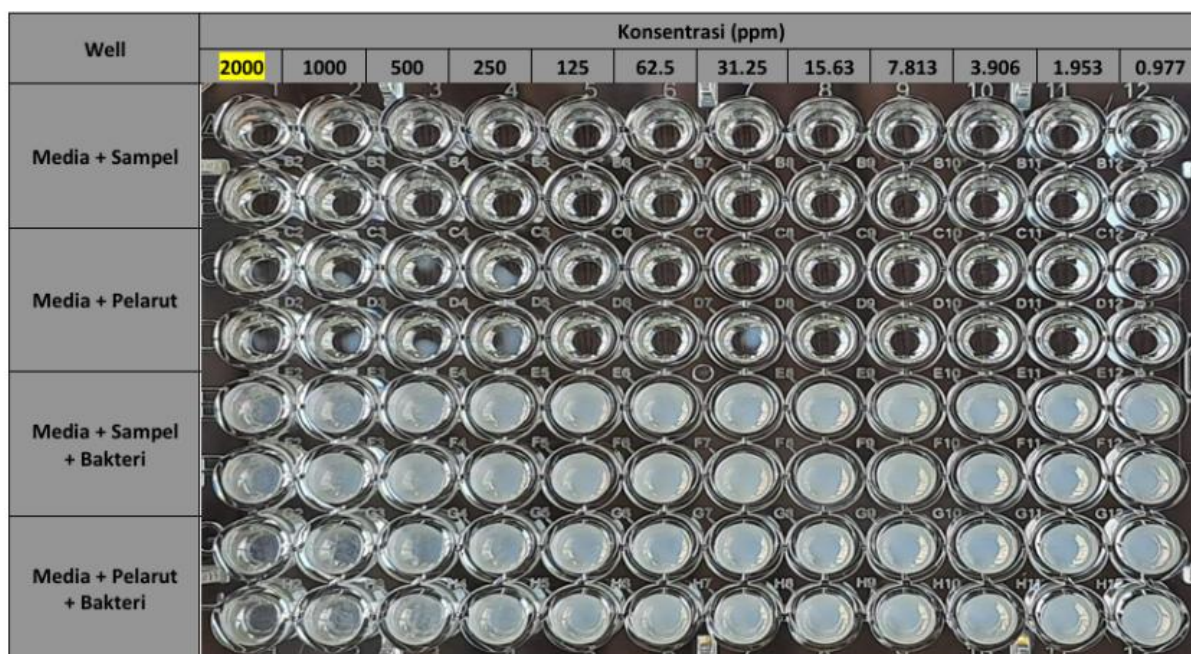
Penelitian ini mengevaluasi aktivitas antibakteri konjugat kurkumin-isoleusin terhadap *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram-positif yang dikenal sebagai patogen klinis utama penyebab infeksi kulit, saluran pernapasan, hingga luka bedah. Uji aktivitas dilakukan menggunakan metode mikrodilusi dalam pelat mikro untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi senyawa terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara nyata setelah masa inkubasi tertentu (Wiegand & Hancock, 2008).

KHM merupakan parameter penting dalam studi antimikroba karena memberikan gambaran kuantitatif terhadap efektivitas suatu senyawa dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme. Metode pengujian dilakukan dengan mencampurkan suspensi bakteri ke dalam media cair yang telah mengandung rentang konsentrasi serial dari senyawa uji, kemudian diamati kekeruhan media setelah inkubasi 24 jam. Kekeruhan menandakan pertumbuhan bakteri, sedangkan media jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan (Wiegand & Hancock, 2008).

Sampel konjugat kurkumin-isoleusin dilarutkan dalam DMSO hingga konsentrasi awal 2000 µg/mL. Pemilihan DMSO sebagai pelarut didasarkan pada kemampuannya melarutkan senyawa organik nonpolar seperti kurkumin tanpa mengganggu aktivitas biologis pada konsentrasi rendah (<2% v/v). DMSO bersifat aprotik dan memiliki polaritas tinggi, sehingga cocok digunakan untuk melarutkan senyawa yang sukar larut dalam air seperti konjugat kurkumin-asam amino.

Dalam pelat mikro, dilakukan pengenceran serial dua kali lipat mulai dari konsentrasi 2000 µg/mL hingga konsentrasi terendah pada kolom ke-12. Setiap sumur mengandung campuran media,

suspensi bakteri, dan senyawa uji. Setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan visual terhadap kejernihan media. Sumur yang tetap jernih menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan sumur keruh menunjukkan adanya multiplikasi mikroba.



Gambar 2. Microplate pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil uji yang ditunjukkan pada Gambar 2, kontrol sampel (baris A dan B) tampak jernih pada semua kolom, menandakan bahwa senyawa tidak terkontaminasi. Kontrol negatif (baris C dan D) juga menunjukkan kejernihan media karena hanya mengandung pelarut dan media tanpa inokulum. Adapun pada baris E dan F yang berisi senyawa uji dan suspensi *S. aureus*, tampak bahwa kolom ke-1 menunjukkan kejernihan yang lebih nyata dibanding kolom lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa konjugasi kurkumin dengan isoleusin berpotensi meningkatkan kemampuan antibakteri terhadap *S. aureus*, kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya kelarutan dan stabilitas senyawa hasil konjugasi. Penelitian ini mendukung hipotesis bahwa modifikasi kurkumin melalui konjugasi asam amino dapat menjadi pendekatan strategis untuk mengoptimalkan aktivitas biologisnya.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai sintesis konjugat senyawa kurkumin-fenilalanin serta kurkumin-isoleusin sebagai kandidat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, dapat disimpulkan bahwa konjugasi kurkumin dengan asam amino fenilalanin dan isoleusin berhasil dilakukan menggunakan metode esterifikasi Steglich, dengan menggunakan DCC (dicyclohexylcarbodiimide) sebagai aktivator dan DMAP (4-dimethylaminopyridine) sebagai katalis. Karakterisasi menggunakan spektrofotometri massa menunjukkan keberhasilan sintesis konjugat kurkumin-isoleusin, dengan munculnya puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada m/z 581,16 yang sesuai dengan massa teoritis 581,26. Sebaliknya, konjugat kurkumin-fenilalanin tidak menunjukkan puncak ion molekul yang sesuai, sehingga tidak dilanjutkan ke tahap uji antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri secara in vitro terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa konjugat kurkumin-isoleusin memiliki aktivitas bakteristatik dengan nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 2000 ppm. Selain itu, produk hasil sintesis masih mengandung gugus pelindung Boc (tert-butyloxycarbonyl) yang belum dilepaskan. Oleh karena itu, tahap lanjutan yang perlu dilakukan adalah deproteksi gugus Boc, dengan harapan dapat meningkatkan efektivitas antibakteri dari konjugat kurkumin-isoleusin yang dihasilkan.

Saran

Penelitian ini masih memiliki ruang untuk pengembangan lebih lanjut. Diperlukan optimasi lanjutan terhadap sintesis konjugat kurkumin-fenilalanin, misalnya dengan memvariasikan suhu, waktu reaksi, dan jenis pelarut, agar dapat menghasilkan produk yang dapat terkarakterisasi dengan baik melalui spektrofotometri massa. Selain itu, pelepasan gugus pelindung Boc pada konjugat kurkumin-isoleusin perlu dilakukan agar menghasilkan senyawa aktif bebas yang diharapkan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi. Penelitian selanjutnya juga disarankan untuk memperluas cakupan uji aktivitas antibakteri terhadap jenis bakteri lain, terutama bakteri Gram-negatif dan konsentrasi sampel perlu ditingkatkan.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. apt. Suwendar, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA, Ibu Dr. apt. Dina Mulyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi, serta para pembimbing Ibu Dr. Nety Kurniaty, S.Si., M.Sc. dan Ibu Prof. Rani Maharani, Ph.D. atas bimbingan dan arahnya. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Dr. apt. Umi Yuniarni, M.Si. selaku dosen wali, kepada seluruh dosen Farmasi FMIPA Unisba atas ilmu dan pengalaman yang diberikan, serta kepada pihak laboratorium sentral Universitas Padjadjaran atas bantuan selama penelitian. Penulis juga berterima kasih kepada orang tua tercinta, atas doa, kasih sayang, dan dukungan moral maupun material yang tak henti diberikan, serta kepada adik tercinta dan sahabat – sahabat yang selalu menjadi sumber kekuatan dan semangat. Tidak lupa, penulis menyampaikan apresiasi kepada diri sendiri atas keteguhan dan ketabahan selama menempuh studi.

Daftar Pustaka

- Actions, A., Washington, C. W., Asm, D. C., Parenti, F., Gualberto, G., & Lancini, G. (2004). *Antibiotics: Actions, origins, resistance* ,. 95(Walsh 1998), 3059–3060. <https://doi.org/10.1110/ps.041032204.and>
- Alam, F., Najum us Saqib, Q., & Waheed, A. (2017). Cytotoxic activity of extracts and crude saponins from *Zanthoxylum armatum* DC. against human breast (MCF-7, MDA-MB-468) and colorectal (Caco-2) cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1882-1>
- Apriliyani, B. K., Sani Ega Priani, & Aulia Fikri Hidayat. (2021). Rancangan Pengembangan Sediaan Nanospraygel in situ Mengandung Minyak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume) untuk Pengobatan Kandidiasis Oral. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 64–72. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.187>
- Cahyono, E., & Mardani, I. (2020). IDENTIFIKASI ASAM AMINO IKAN LAYANG (*Decapterus russelli*) PADA LOKASI PENANGKAPAN BERBEDA. *Jurnal Pengolahan Pangan*, 5(1), 1–6. <https://doi.org/10.31970/pangan.v5i1.33>
- Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629–641. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2200>

- Del Ry, S., Cabiati, M., Vozzi, F., Battolla, B., Caselli, C., Forini, F., Segnani, C., Prescimone, T., Giannessi, D., & Mattii, L. (2011). Expression of C-type natriuretic peptide and its receptor NPR-B in cardiomyocytes. *Peptides*, 32(8), 1713–1718. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.06.014>
- Ivan Fadillah, & Anggi Arumsari. (2022). Kajian Literatur Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Reduktor Kimia dan Biologi serta Uji Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(2), 141–149. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i2.569>
- Martens, L., Chambers, M., Sturm, M., Kessner, D., Levander, F., Shofstahl, J., Tang, W. H., Römpp, A., Neumann, S., Pizarro, A. D., Montecchi-Palazzi, L., Tasman, N., Coleman, M., Reisinger, F., Souda, P., Hermjakob, H., Binz, P. A., & Deutschh, E. W. (2011). mzML - A community standard for mass spectrometry data. *Molecular and Cellular Proteomics*, 10(1), R110.000133. <https://doi.org/10.1074/mcp.R110.000133>
- Munawar, S., Zahoor, A. F., Hussain, S. M., Ahmad, S., Mansha, A., Parveen, B., Ali, K. G., & Irfan, A. (2024). Steglich esterification: A versatile synthetic approach toward the synthesis of natural products, their analogues/derivatives. *Heliyon*, 10(1), e23416. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23416>
- Onwuka, P. (2018). *Nutritional Composition of Tumeric (Curcuma longa) and its Antimicrobial Properties*. October 2014.
- Poole, C. F. (2003). Thin-layer chromatography: Challenges and opportunities. *Journal of Chromatography A*, 1000(1–2), 963–984. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00435-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00435-7)
- Priyadarsini, K. I. (2014). The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19(12), 20091–20112. <https://doi.org/10.3390/molecules191220091>
- Rubiyanti, R. (2019). Mutasi pada Penyakit Phenylketonuria (PKU). *Farmaka*, 17(1), 75–88.
- Tyagi, P., Singh, M., Kumari, H., Kumari, A., & Mukhopadhyay, K. (2015). Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PLoS ONE*, 10(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121313>
- Yosi Siti Solihah, & Fikri Hidayat. (2022). Pengaruh Metode Plasma dalam Peningkatan Penyerapan Minyak Kayu Manis (Cinnamon oil) pada Kaos Kaki dan Uji Aktivitas

Antibakterinya terhadap *Staphylococcus epidermidis* Penyebab Bau Kaki. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(2), 124–132. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i2.567>

Zaibunnisa, A. H., Norashikin, S., & Osman, H. (2009). Stability of Curcumin in Turmeric Oleoresin-B- Cyclodextrin Inclusion Complex During Storage (Kestabilan Kurkumin Di Dalam Kompleks Rangkuman Oleoresin-B- Siklodekstrin Semasa Penyimpanan). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 13(2), 165–169.

Zorzi, A., Deyle, K., & Heinis, C. (2017). Cyclic peptide therapeutics: past, present and future. *Current Opinion in Chemical Biology*, 38, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.02.006>