

AKTIVITAS BEBERAPA SENYAWA TURUNAN BENZOPIRAN (*CHROMONES*) DAN BENZOFURANON (*COUMARANONES*) TERHADAP *Steinernema feltiae*

The Activities of Benzopyran (Chromones) and Benzofuranones (Coumaranones) Derivatives against Steinernema feltiae

Khairan Khairan¹, Muhammad Bahi², Claus Jacob³, dan Rinaldi Idroes¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³School of Pharmacy Universitaet des Saarlandes Saarbruecken Saarland, Germany

E-mail: rinaldi.idroes@unsyiah.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas beberapa senyawa turunan benzopiran (golongan senyawa kromon) dan benzofuranon (golongan senyawa kumaranon) terhadap aktivitas cacing *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*). Uji toksisitas terhadap nematoda *S. feltiae* menunjukkan bahwa senyawa benzopiran 2, 3, 4, 6, dan 9 memiliki aktivitas yang paling tinggi terhadap *S. feltiae* dengan persen viabilitas <50%. Senyawa 9 menunjukkan aktivitas yang paling tinggi dengan nilai LD₅₀ dan LD₉₀ masing-masing adalah 7,2 dan 52,2 µM. Aktivitas senyawa 7 dan 10 mempunyai toksisitas yang paling rendah. Uji nematisidal menunjukkan bahwa senyawa turunan benzofuranon mempunyai aktivitas yang sangat signifikan terhadap *S. feltiae*. Dibandingkan dengan senyawa turunan benzopiran, senyawa turunan benzofuranon mempunyai aktivitas yang paling tinggi, terutama senyawa 13 dengan LD₅₀ nya adalah sebesar 5,45 µM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa turunan benzofuranon mempunyai aktivitas yang paling tinggi dibandingkan dengan senyawa turunan benzopiran.

Kata kunci: *chromones*, benzopiran, *coumaranones*, benzofuranon, dan *Steinernema feltiae*

ABSTRACT

This study was purposed to inquire the activities of benzopyran (*chromones*) and benzofuranones (*coumaranones*) derivatives against *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*). The toxicity assay against *S. feltiae* showed that benzopyran derivatives 2, 3, 4, 6, and 9 have the highest activity on *S. feltiae* with viabilities percentage of <50%. The compound 9 demonstrated the highest activity with LD₅₀ and LD₉₀ values, 7.2 and 52.2 µM, respectively. The activities of compound 7 and 10 showed the lowest toxicity. Interestingly, the activity of benzofuranone derivatives showed significant activities against *S. feltiae*. Compare to benzopyran derivatives, the benzofuranone derivatives has the highest toxicity, in particular compound 13 with LD₅₀ 5.45 µM. The nematocidal assay showed that benzofuranones (*coumaranones*) derivatives revealed higher activities than benzopyran (*chromones*) derivatives.

Key words: *chromones*, benzopyran, *coumaranones*, benzofuranone, and *Steinernema feltiae*

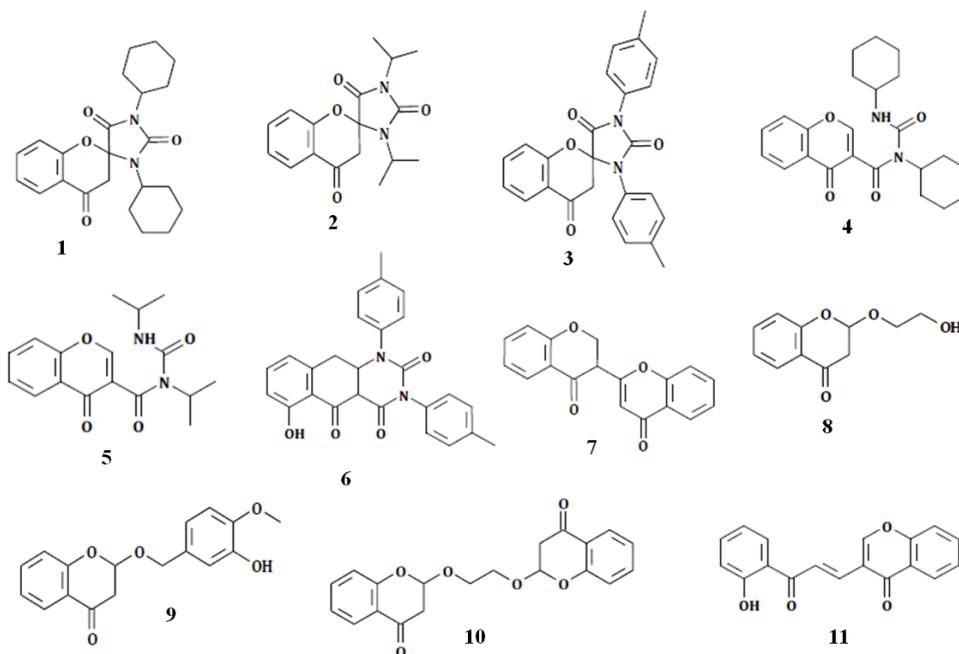
PENDAHULUAN

Senyawa flavonoid dikenal juga sebagai senyawa polifenolik. Senyawa ini banyak terkandung dalam sayur-sayuran dan buah-buahan. Efek anti-oksidan dari senyawa flavonoid diyakini mempunyai khasiat sebagai obat antikanker, obat sakit jantung koroner, dan sebagai obat untuk penyakit neurogeneratif (Michels *et al.*, 2004). Mekanisme aksi senyawa flavonoid sebagai anti-oksidan yaitu terjadinya perubahan bentuk menjadi suatu produk senyawa teroksidasi. Misalnya, senyawa indol bentuk orto dan para dengan mudah teroksidasi menjadi *quinon*, seperti senyawa *quercetin*, luteolin, naringenin, dan apigenin (Galati *et al.*, 1999; Galati *et al.*, 2001).

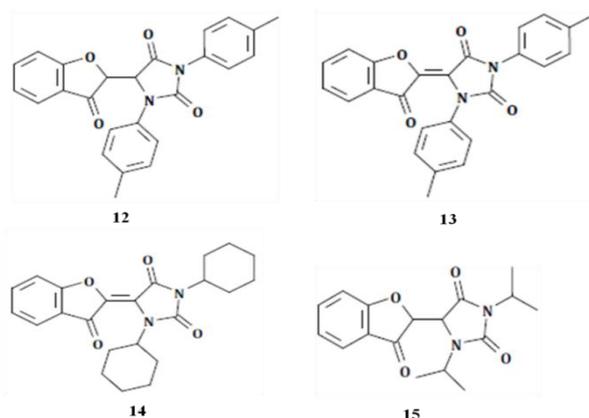
Chromone (atau 1,4-benzopiron) adalah senyawa turunan dari benzopiran, yaitu adanya substitusi gugus keto pada cincin piran. Senyawa ini dikenal juga sebagai senyawa *chromones* yang umumnya dikenal juga sebagai senyawa fenilpropanoid (*phenylpropanoids*) (Burgstahler *et al.*, 1966). Senyawa turunan benzopiran ini, diketahui mampu menghambat penolakan antigen dan banyak digunakan sebagai *mast cell stabilizer* dalam pengobatan asma, alergi rinitis, dan alergi konjungtif. Dalam penelitian ini, uji

nematisidal dilakukan terhadap beberapa senyawa turunan benzopiran. Senyawa turunan benzopiran telah berhasil disintesis di Laboratorium University of Metz, Perancis. Struktur senyawa tersebut disajikan pada Gambar 1.

Coumaranone (3-*coumaranone*) adalah senyawa turunan dari benzofuranon, yaitu adanya substitusi gugus keto pada cincin furan. Senyawa *coumaranones* banyak ditemukan pada tanaman dan sayur-sayuran. Senyawa ini diyakini mempunyai aktivitas sebagai anti-oksidan seperti senyawa 4,6-*dihydroxy-3(2H)-benzofuranone* yang diisolasi dari *quercetin* dan *kaemferol* (Jorgensen *et al.*, 1998). *Quercetin* adalah senyawa anti-oksidan alami yang ditemukan dalam sejumlah makanan (termasuk apel, bawang, teh, buah, dan anggur merah) dan dalam beberapa tumbuhan (seperti ginkgo biloba dan St. John's wort). Krishnamachari *et al.* (2002), juga menemukan bahwa senyawa ini secara alami tersubstitusi menjadi 3-benzofuranone dalam *quercetin* yang berperan sebagai *scavenging reactive oxygen species (ROS)*. Beberapa senyawa turunan benzofuranon telah berhasil disintesis di Laboratorium University of Metz, Perancis seperti yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Beberapa senyawa turunan benzopiran atau *chromone* telah berhasil disintesis di laboratorium University of Metz, Perancis



Gambar 2. Beberapa senyawa turunan benzofuranon atau *Coumaranone* yang telah berhasil disintesis di laboratorium University of Metz, Perancis



Gambar 3. *Steinernema feltiae*, cacing predator atau disebut juga *entomopathogenic nematode* (Sumber: <http://www.export.biocontrol.ch>)

Cacing *Steinernema feltiae* (*S. feltiae*) seperti yang disajikan pada Gambar 3 atau disebut juga cacing mikroskopis karena hanya bisa dilihat di bawah mikroskop dan digolongkan dalam *entomopathogenic nematodes* (EPNs) karena kemampuannya sebagai insektisida alami karena cacing bersifat spesifik dan hanya menginfeksi insektisida, sehingga para petani di luar negeri menggunakan cacing ini sebagai predator (*biological control*) untuk hama karena cacing ini memiliki kemampuan untuk menginfeksi *host* insektisida sehingga disebut sebagai cacing endoparasitik (Gaugler, 1997; Prakash dan Rao 1997; Gaugler, 2006). Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas beberapa senyawa turunan benzopiran (*chromones*) dan turunan benzofuranon (*coumaranones*) terhadap nematoda *S. feltiae*. Pemilihan *S. feltiae* sebagai organisme uji dikarenakan organisme ini merupakan *higher organism* dan digunakan sebagai model *whole organism*. Uji

nematoda dilakukan terhadap beberapa konsentrasi untuk melihat efek toksisitas dari beberapa senyawa tersebut.

MATERI DAN METODE

Sintesis Senyawa Turunan Benzopiran (*Chromones*) dan Turunan Benzofuranon (*Coumaranones*)

Senyawa turunan benzopiran (*chromones*) dan turunan benzofuranon (*coumaranones*) disintesis dan dimurnikan oleh kolega kami di University of Metz, Perancis. Senyawa hasil sintesis selanjutnya diberi label berdasarkan penomorannya. Senyawa hasil sintesis selanjutnya dikelompokkan berdasarkan struktur senyawanya yaitu senyawa turunan benzopiran (*chromones*), yaitu senyawa No. 1-11 dan senyawa turunan benzofuranon (*coumaranones*), senyawa No. 12-15. Kedua kelompok senyawa tersebut selanjutnya diuji aktivitasnya terhadap *S. feltiae*. Uji nematoda

dilakukan terhadap beberapa konsentrasi untuk melihat aktivitas senyawa tersebut terhadap *S. feltiae*.

Nematisidal Assay

Cacing *S. feltiae*

Cacing *S. feltiae* dibeli dari perusahaan *Sautter & Stepper, Ammerbuch*, Jerman. Cacing *S. feltiae* dijual dalam bentuk *powder cake*. Sebelum digunakan, cacing ini disimpan terlebih dahulu pada suhu 4-8° C. Larutan homogen *S. feltiae* dibuat dengan cara mencampurkan 200 mg *powder cake S. feltiae* dengan 50 ml *distilled water*. Pembuatan larutan homogen ini bertujuan mengaktifkan kembali cacing *S. feltiae* sebelum digunakan.

Preparasi Sampel

Uji nematoda dilakukan dengan melarutkan sebanyak 200 mg *soft cake S. feltiae* dalam 50 ml *distilled water* sehingga membentuk larutan suspensi. Sebelum digunakan, larutan suspensi ini kemudian didiamkan selama 10-15 menit pada suhu ruang untuk adaptasi dan menghidupkan atau membangunkan kembali cacing *S. feltiae*. Untuk uji aktivitas, larutan suspensi dilarutkan dalam sampel berdasarkan variasi konsentrasi. Konsentrasi akhir untuk uji aktivitas sampel adalah 50, 100, 200, dan 400 µM. Untuk kontrol negatif, 100 µl larutan suspensi cacing dimasukkan ke dalam satu *well-plate* steril (96 *well plate flat bottom tissue cell culture*) (Robinson *et al.*, 1992). Untuk setiap konsentrasi dibuat tiga kali pengulangan. Setiap kali pengulangan, dibuat tiga sampel, dan setiap sampel berisi 100 µl. Nematoda yang hidup dan yang mati dihitung segera setelah pemaparan terhadap sampel dengan menggunakan mikroskop (*four-fold magnification*). Kemudian dianalisis persen viabilitas nematoda terhadap sampel uji. Selanjutnya *plate* uji ditutup dan diinkubasi pada suhu ruang dalam ruang tertutup. Selanjutnya dilakukan penghitungan kembali setelah 24 jam pemaparan.

Viabilitas *Steinernema feltiae*

Viabilitas nematoda yang dihasilkan pada setiap konsentrasi senyawa (viabilitas dihitung tiga kali pengulangan) dinyatakan dalam persen viabilitas (%). Nilai viabilitas dihitung berdasarkan jumlah nematoda yang hidup setelah 24 jam pemaparan, yang dinyatakan dengan W_{24h} , sementara jumlah nematoda yang mati setelah 24 jam pemaparan, dinyatakan dengan W_{0h} . Persen viabilitas dihitung dengan menggunakan rumus:

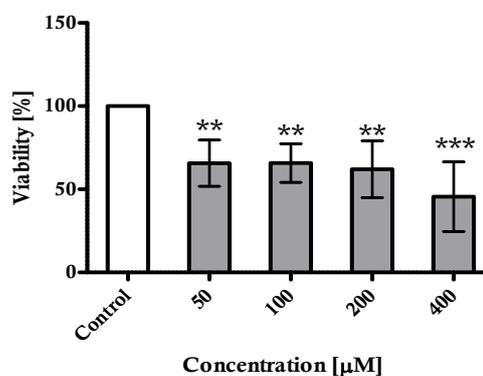
$$Viability(\%) = \frac{W_{24h}}{W_{0h}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Senyawa Turunan Benzopiran (*Chromones*)

Tujuan dari uji nematisidal ini adalah untuk melihat aktivitas senyawa benzopiran dan benzofuranon terhadap nematoda *S. feltiae*. *Steinernema feltiae* banyak digunakan oleh para ahli sebagai model hewan uji untuk melihat aktivitas suatu senyawa. Senyawa yang akan diuji dalam uji ini dibuat dalam berbagai

konsentrasi, selanjutnya diamati viabilitasnya (jumlah nematoda yang hidup dan cacing yang mati) setelah 24 jam pemaparan. Selanjutnya, ditentukan nilai LD_{50} untuk melihat efek senyawa yang akan diuji terhadap nematoda. Pada uji ini, *thiabendazole* (TBZ) digunakan sebagai kontrol positif juga ditentukan aktivitasnya terhadap *S. feltiae*. *Thiabendazole* adalah senyawa antiparasitik yang mempunyai sifat nematisidal terhadap cacing *roundworms* (cacing menyebabkan *strongyloidiasis*), cacing *hookworms*, dan spesies cacing lainnya (Gnoul *et al.*, 2007). Hasil penelitian terhadap TBZ seperti yang disajikan pada Gambar 4. Dari Gambar 4 terlihat bahwa pada konsentrasi 50 µM, persen viabilitas nematoda turun sampai 65,7%. Bila konsentrasi TBZ dinaikkan sampai 400 µM, viabilitas nematoda terus turun sampai 45,6%. Hasil ini juga menunjukkan bahwa nilai LD_{50} senyawa TBZ adalah 238,57 µM. Dalam uji ini, dimetilsulfoksida (DMSO) digunakan sebagai negatif kontrol.



Gambar 4. Persen viabilitas *Steinernema feltiae* terhadap senyawa *thiabendazole* (TBZ) setelah 24 jam inkubasi (Kontrol mengandung 1% dimetil sulfoksida yang diset pada viabilitas 100%). Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol

Sementara itu, hasil penelitian terhadap senyawa uji menunjukkan bahwa umumnya senyawa turunan benzopiran menunjukkan aktivitas terhadap *S. feltiae* setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, senyawa turunan benzopiran 9 menunjukkan toksisitas yang paling tinggi terhadap *S. feltiae* terhadap semua konsentrasi uji (50-400 µM), dengan persen viabilitas di bawah 50%. Sifat toksisitasnya diduga karena adanya gugus metoksi dan gugus hidroksil pada cincin benzennya. Senyawa turunan benzopiran, 2, 3, 4, dan 6, menunjukkan aktivitas terhadap cacing *S. feltiae*, yakni senyawa 6, yaitu senyawa yang mempunyai cincin imidin mempunyai aktivitas yang paling tinggi terhadap cacing *S. feltiae* terutama pada konsentrasi 200 dan 400 µM. Sementara senyawa 1 dan 7 menunjukkan toksisitas yang paling rendah terhadap *S. feltiae*. Hal ini terlihat dari persen viabilitas >60% dari semua konsentrasi yang digunakan. Dari semua senyawa benzopiran, senyawa 10 mempunyai toksisitas yang sangat rendah terhadap *S. feltiae* (Gambar 5-6), sementara itu, rata-rata persen viabilitas *S. feltiae* terhadap senyawa turunan benzopiran disajikan pada Tabel 1.

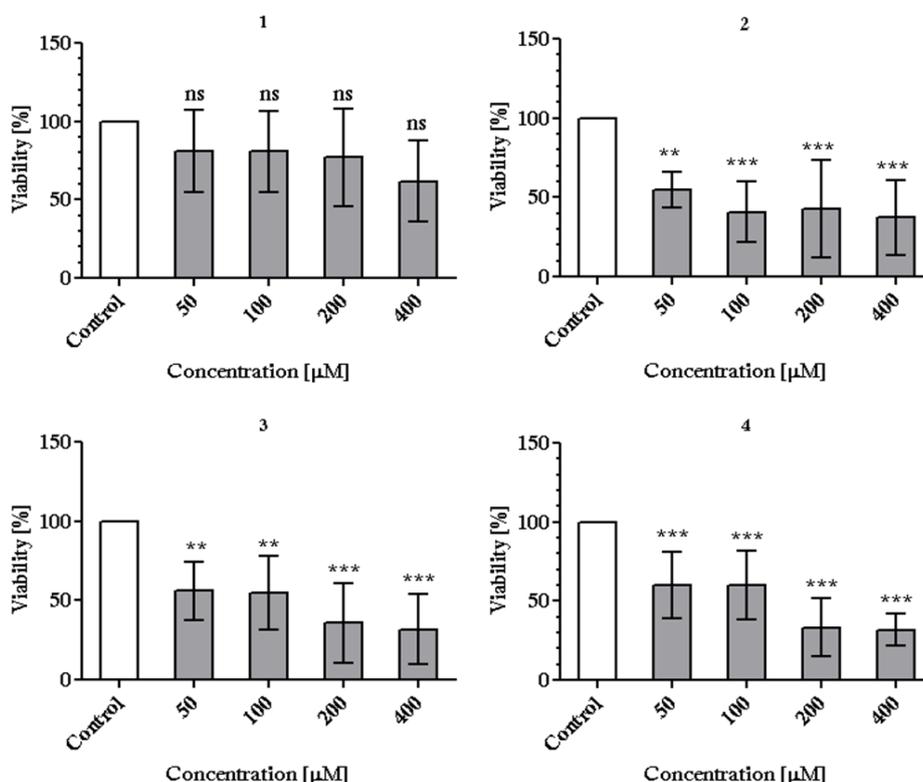
Aktivitas Senyawa Turunan Benzofuranon (Coumaranones)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, senyawa turunan benzofuranon mempunyai aktivitas yang sangat signifikan bila dibandingkan dengan senyawa turunan benzopiran. Senyawa 13 mempunyai aktivitas yang sangat tinggi dengan persen viabilitasnya <20% (Gambar 7). Rata-rata persen viabilitas *S. feltiae* terhadap senyawa turunan benzofuranon disajikan pada Tabel 1.

Nilai LD₅₀ dan LD₉₀ Senyawa Turunan Benzopiran (Chromones) dan Turunan Benzofuranon (Coumaranones)

LD₅₀ atau *median lethal dose*, adalah dosis yang diperlukan untuk membunuh 50% dari spesies *S. feltiae*. LD₅₀ adalah gambaran yang digunakan sebagai indikator

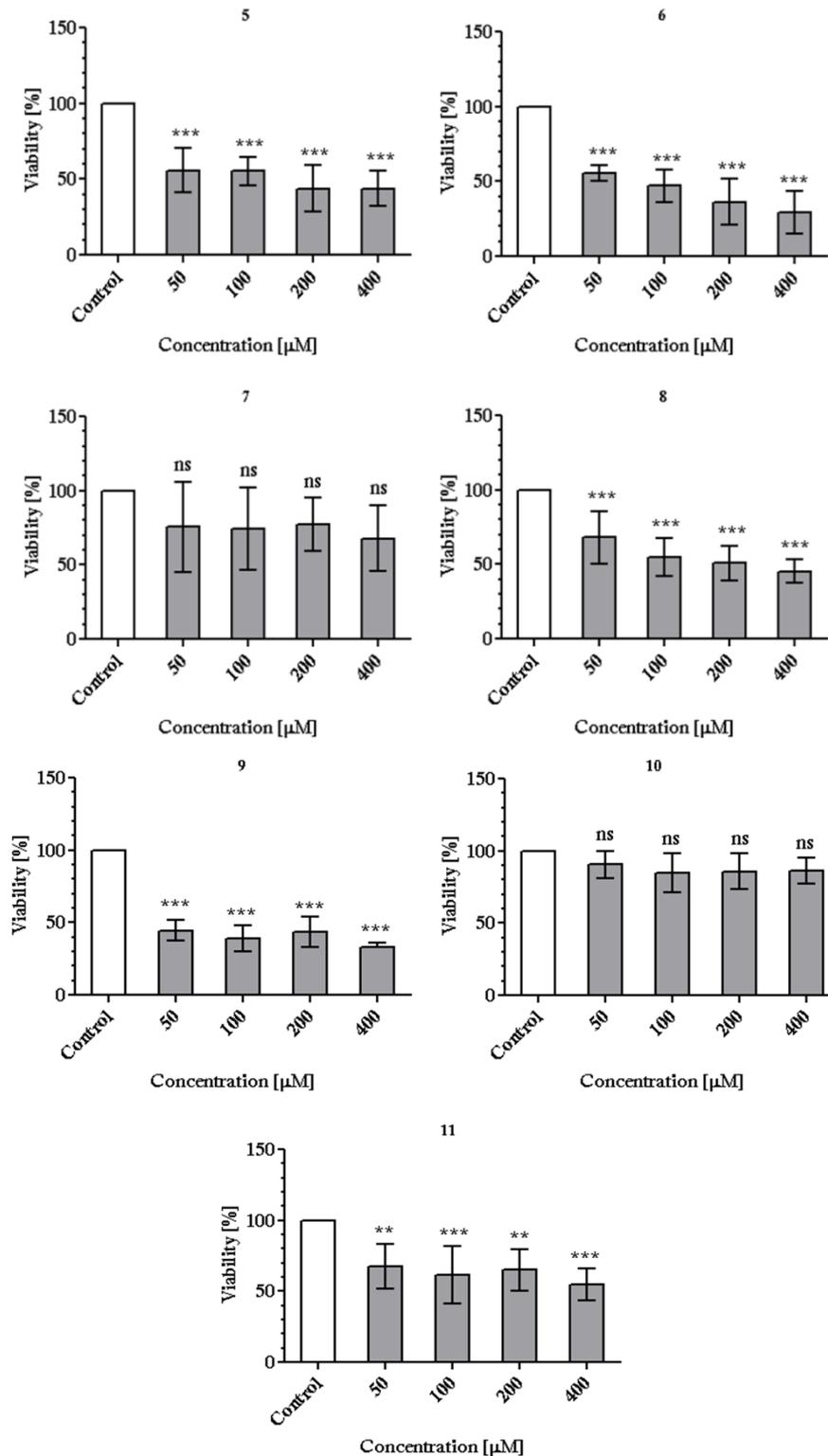
untuk menunjukkan toksisitas suatu senyawa. Dari semua senyawa turunan benzopiran, senyawa 9, senyawa yang memiliki gugus metoksi dan gugus hidroksil pada cincin benzennya menunjukkan toksisitas yang paling tinggi terhadap *S. feltiae*. Hal ini dapat dilihat dari nilai LD₅₀ sebesar 7,23 µM (Tabel 3). Tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa 2 dan 6 memiliki nilai LD₅₀ yang hampir sama yaitu berturut-turut sebesar 67,9 dan 75,6 µM. Sementara itu, senyawa 1, 7, 10, dan 11 mempunyai nilai LD₅₀>400 µM. Nilai LD₅₀ senyawa turunan benzofuranon dapat dilihat pada Tabel 3. Dari Tabel 3 terlihat bahwa senyawa 13 mempunyai nilai LD₅₀ yang paling rendah yaitu sebesar 5,45 µM, sementara senyawa 14 dan 15 mempunyai nilai LD₅₀ berturut-turut adalah 256,62 dan 153,03 µM. Kebalikannya, Tabel 3 juga menunjukkan bahwa senyawa 12 tidak menunjukkan aktivitas pada konsentrasi yang digunakan, dengan nilai LD₅₀> 400 µM.



Gambar 5. Persen viabilitas *Steinerma feltiae* terhadap senyawa 1-4 (turunan benzopiran) setelah 24 jam inkubasi (Kontrol mengandung 1% dimetil sulfoksida yang diset pada viabilitas 100%). Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol

Tabel 1. Mean viability (%) senyawa turunan benzopiran terhadap *Steinerma feltiae* setelah 24 jam inkubasi

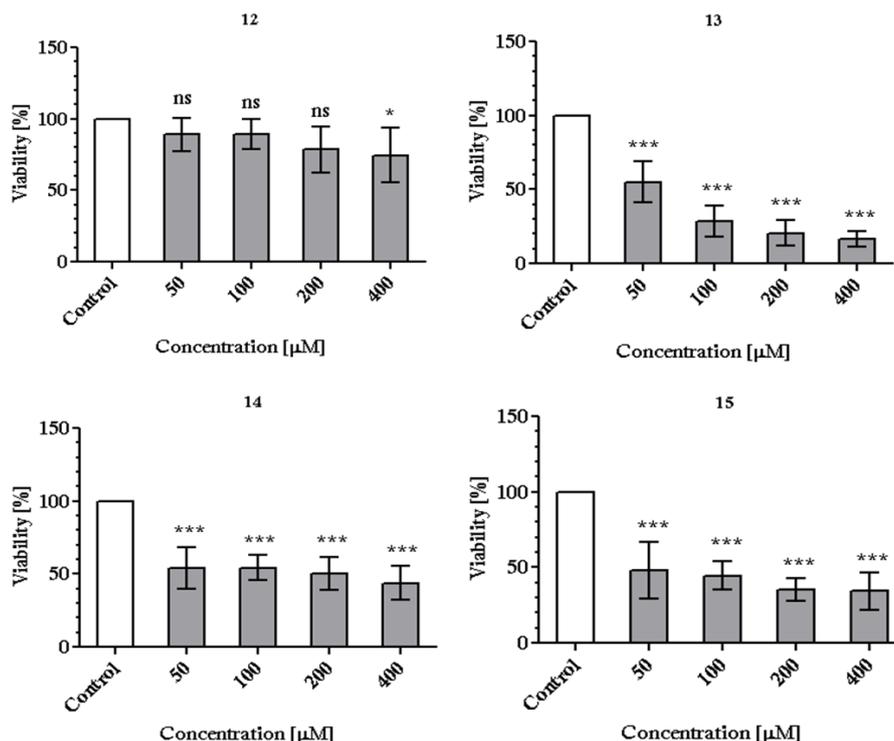
Senyawa	Mean viability <i>Steinerma feltiae</i> (%) setelah 24 jam inkubasi				
	Kontrol	50 µM	100 µM	200 µM	400 µM
Thiabendazole (TBZ)	100	65,7227	65,82552	62,09434	45,60246
1	100	81,3218	80,90237	77,14827	61,83756
2	100	54,98686	40,83099	42,67026	37,3229
3	100	54,98686	40,83099	42,67026	37,3229
4	100	60,42451	60,10892	33,4546	31,99576
5	100	55,71214	55,57219	43,72268	43,95602
6	100	55,41324	47,10962	36,36406	29,04191
7	100	75,64955	74,65047	77,28879	67,91336
8	100	68,02593	54,81591	50,78352	45,17808
9	100	44,50098	39,307	43,5651	33,3025
10	100	90,5527	84,87198	85,92826	86,61494
11	100	67,9447	61,48743	65,00702	54,84712



Gambar 6. Persen viabilitas *Steirnerma feltiae* terhadap senyawa 5-11 (turunan benzopiran) setelah 24 jam inkubasi (kontrol mengandung 1% dimetil sulfoksida yang diset pada viabilitas 100%). Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol

Tabel 2. Mean viability (%) senyawa turunan benzofuranon terhadap *Steirnerma feltiae* setelah 24 jam inkubasi

Senyawa	Mean viability <i>Steirnerma feltiae</i> (%) setelah 24 jam inkubasi				
	Kontrol	50	100	200	400
<i>Thiabendazole</i>	100	89,03042	89,55498	78,55226	74,55182
12	100	89,03042	89,55498	78,55226	74,55182
13	100	55,23679	28,66013	20,46913	16,72469
14	100	53,91936	54,42374	50,63826	43,79923
15	100	48,29065	44,73248	35,51738	34,41669



Gambar 7. Persen viabilitas *Steinerema feltiae* terhadap senyawa 12, 13, 14, dan 15 setelah 24 jam inkubasi (Kontrol mengandung 1% dimetil sulfoksida yang diset pada viabilitas 100%). Uji signifikansi diekspresikan terhadap kontrol

Tabel 3. Nilai LD₅₀ dan LD₉₀ beberapa senyawa turunan benzopiran (*chromones*) dan turunan benzofuranon (*coumaronones*) setelah 24 jam inkubasi terhadap *Steinerema feltiae*

Nilai	Senyawa turunan benzopiran (<i>Chromones</i>)											
	<i>Thiabendazole</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
LD ₅₀ [µM]	238,5	>400	67,9	202,5	207,7	127,6	75,6	>400	242,7	7,2	>400	>400
LD ₉₀ [µM]	>400	>400	165,9	>400	>400	310,6	160,7	>400	>400	52,2	>400	>400

Nilai	Senyawa Turunan Benzofuranon (<i>Coumaronones</i>)				
	<i>Thiabendazole</i>	12	13	14	15
LD ₅₀ [µM]	238,5	>400	5,45	256,6	153,0
LD ₉₀ [µM]	>400	>400	198,7	>400	292,6

KESIMPULAN

Secara keseluruhan, senyawa 9 dan 13 adalah senyawa yang mempunyai aktivitas yang paling tinggi terhadap cacing *S. feltiae* dengan nilai LD₅₀ untuk kedua senyawa tersebut berturut-turut adalah 7,2 dan 5,45 µM. Sementara nilai LD₉₀ untuk kedua senyawa tersebut adalah 52,2 dan 198,7 µM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti sangat berterima kasih atas bantuan dana dan fasilitas penelitian dari Universitas Saarland, Saarbruecken Jerman dan Universitas Lorraine, Metz Perancis.

DAFTAR PUSTAKA

Burgstahler, A.W. and L.R. Worden. 1966. "Coumarone". *Org. Synth.* 46(28):251-256.
 Galati, G., M.Y. Moridani, T.S. Chan, and P.J. O'Brien. 2001. Peroxidative metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: gluathione oxidation and conjugation. *Free Radic. Biol. Med.* 30:370-382.

Galati, G., T. Chan, B. Wu, and P.J. O'Brien. 1999. Glutathione-dependent generation of reactive oxygen species by the peroxidase-catalyzed redox cycling of flavonoids. *Chem. Res. Toxicol.* 12:521-525.
 Gaugler, R. 2006. **Nematodes-Biological Control**. In judul. Li, Y. (Ed.). Cornell University, New York.
 Gaugler, R., E. Lewis, and R.J. Stuart. 1997. Ecology in the service of biological control: The case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia.* 109:483-489.
 Gnoula C., I. Guissou, J. Dubois, P. Duez. 2007. 5(6)-Carboxyfluorescein diacetate as an indicator of *Caenorhabditis elegans* viability for the development of an in vitro anthelmintic drug assay. *Talanta.* 71(5):1886-1892.
 Jorgensen, L.V., C. Cornett, U. Justesen, L.H. Skibsted, and L.O. Dragsted. 1998. Two-electron electrochemical oxidation of quercetin and kaempferol changes only the flavonoid C-ring. *Free Radic. Res.* 29:339-350.
 Krishnamachari, V., L.H. Levine, and P.W. Pare. 2002. Flavonoid oxidation by the radical generator AIBN: A unified mechanism for quercetin radical scavenging. *J. Agric. Food Chem.* 50:4357-4363.
 Michels, G.R., M.M. Haenen, W. Wätjen, and S. Rietjens. 2004. The thiol reactivity of the oxidation product of 3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one containing flavonoids. *Toxicol. Letters.* 151:105-111.
 Prakash, A. and J. Rao. 1997. **Botanical Pesticides in Agriculture**. CRC Press, Florida.
 Robinson, A.F., J.A., Veech, and C. M. Heald. 1992. Counting nematodes with a microplate reader. *J. Nematol.* 24(1):92-95.