

# Perbandingan Aktivitas Antibakteri 4-Metilpiperazin-N-Karbonil Ampisilin dengan Ampisilin Terhadap *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli*

Andreyanus Eko Pudjianto<sup>(\*)</sup>, Martha Ervina<sup>(\*)</sup>, Catherine Caroline<sup>(\*)</sup>,

Bambang Soekardjo<sup>(\*)</sup>, Kuncoro Foe<sup>(\*)</sup>

<sup>(\*)</sup>Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Indonesia

Piperasilin memiliki aktivitas antimikroba tapi tidak diabsorpsi pada saluran cerna. Untuk itu, dilakukan modifikasi struktur untuk meningkatkan absorpsi piperasilin tapi tetap menjaga aktivitas antimikroba yang dimiliki. Senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin merupakan produk reaksi antara ampisilin dengan 4-metilpiperazin dengan metode *Schotten Baumann*. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin dan ampisilin. Uji perbandingan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram kertas Kirby-Bauer pada media agar *Mueller-Hinton* yang telah diinokulasi bakteri *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengamatan pada orientasi, terhadap *Micrococcus luteus* digunakan konsentrasi 0,5 ppm baik ampisilin maupun 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin dan konsentrasi 500 ppm terhadap *Escherichia coli* untuk memperoleh Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) yang teramati. Hasil percobaan menunjukkan bahwa senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin memberikan aktivitas antibakteri yang lebih kecil dibandingkan dengan ampisilin, ditunjukkan dengan DHP yang lebih kecil dibanding ampisilin baik pada *Micrococcus luteus* maupun *Escherichia coli*.

Kata kunci: 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin, ampisilin, difusi cakram kertas Kirby-Bauer, Daerah Hambat Pertumbuhan.

## Comparative Antibacterial Activity of 4-Methylpiperazin-N-Carbonyl Ampicillin and Ampicillin against *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*

Piperacillin has antimicrobial action but it is not absorbed from gastrointestinal tract. Therefore, it needs structure modification to increase its absorption while keeping its antimicrobial action. The 4-methylpiperazin-N-carbonyl ampicillin was the product of reaction between ampicillin and 4-methylpiperazin-N-carbonyl chloride using *Schotten Baumann* method. The aim of this research was to compare the antibacterial activity between 4-methylpiperazin-N-carbonyl ampicillin and ampicillin. The comparison test of antibacterial activity was done with Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility method on *Mueller-Hinton* agar which had been inoculated with *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*. Based on orientation studies, concentration of 4-methylpiperazin-N-carbonyl ampicillin and ampicillin were 0.5 ppm against *Micrococcus luteus* and 500 ppm against *Escherichia coli* in order to get visible zone of inhibition. The results showed that 4-methylpiperazin-N-carbonyl ampicillin had lower antibacterial activity than ampicillin which was showed by its zone of inhibition which was lower compared to ampicillin in inoculated agar media of *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*.

Keywords: 4-methylpiperazin-N-carbonyl ampicillin, ampicillin, Kirby-Bauer disk diffusion method, zone of inhibition.

---

\*Corresponding author: Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Jl. Dinoyo 42-44, Surabaya, Indonesia, Phone (+62)81805935598, E-mail : andreyanus@gmail.com

## PENDAHULUAN

Turunan penisilin adalah senyawa bakterisida dengan indeks terapi tinggi. Penisilin sering digunakan sebagai obat pilihan untuk pencegahan dan pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tertentu pada penderita yang tidak alergi (Istiantoro and Gan, 1995). Piperasilin merupakan salah satu antibiotik ureidopenisilin yang memiliki aksi antimikroba yang sama dengan karbenisilin dan tikarsilin tetapi lebih aktif melawan bakteri Gram-negatif termasuk *Klebsiella pneumonia* serta umumnya lebih aktif secara *in vitro* terutama pada *Pseudomonas aeruginosa* dan Enterobacteriaceae, Gram-positif *Enterococcus faecalis* dan *Bacteroides fragilis*. Piperasilin tidak diabsorpsi pada saluran cerna tapi diabsorpsi dengan baik pada penggunaan intramuskular dengan konsentrasi plasma puncak 40 µg/mL pada 30 sampai 50 menit setelah dosis 2 g. Sekitar 20% piperasilin dalam sistem sirkulasi diikat oleh protein plasma dan termasuk golongan obat orde non linier (Martindale, 2009). Diduga dua gugus atom oksigen pada struktur piperasilin menyebabkan elektronegativitas tinggi sehingga kelarutan piperasilin dalam pelarut non polar menjadi menurun dan sulit menembus membran mukosa usus.

Untuk meningkatkan kelarutan piperasilin dilakukan modifikasi struktur pada antibiotik ampisilin untuk menyerupai struktur piperasilin sehingga proses absorpsi dapat lebih meningkat. Senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin merupakan produk modifikasi dengan metode *Schotten-Baumann* yaitu reaksi asilasi ampisilin anhidrat 4-metilpiperazin-1-karbonilklorida (Morrison and Boyd, 1987) Perbedaan struktur kimia antara 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin dan piperasilin dapat dilihat pada **Gambar 1**. Berdasarkan perkiraan teoritis program komputer ChemBioDraw Ultra senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin memiliki sejumlah parameter fisika kimia yang mendukung seperti log P: -0,36, tPSA: 122,29, Clog P: -0,042501 dan ampisilin memiliki log P: -0,2, tPSA: 112,73, ClogP: -1,2045 serta piperasilin log P: -0,71, tPSA: 156,43 dan ClogP: 1,6965 (CambridgeSoft, 2007). Dari data-data diatas dapat ditunjukkan adanya peningkatan nilai parameter log P pada 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin dibandingkan dengan piperasilin sehingga secara teoritis lipofilitas 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin lebih tinggi dari piperasilin dan pada ClogP 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin

lebih bersifat non polar dari ampisilin sehingga diharapkan dapat menembus dinding sel bakteri gram-negatif dengan lebih mudah.

Dalam penelitian ini senyawa hasil sintesis diuji aktivitas antibakterinya pada dua bakteri yaitu *Micrococcus luteus* sebagai bakteri Gram-positif dan *Escherichia coli* sebagai Gram-negatif. Berdasarkan data-data di atas, dikembangkan penelitian pengujian aktivitas antibakteri senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin pada *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli* dan apakah aktivitas antibakteri 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin lebih besar dari ampisilin dengan menggunakan metode difusi cakram kertas Kirby Bauer.

## METODE PENELITIAN

### Alat

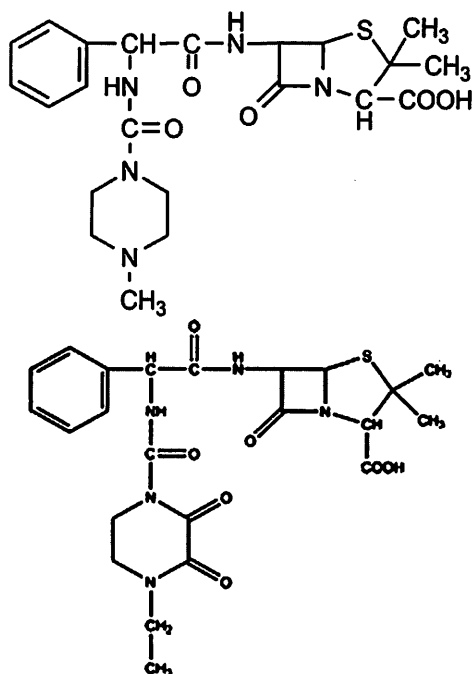
Alat-alat yang digunakan antara lain tabung reaksi Pyrex, gelas ukur, labu ukur 5 ml dan 10 ml, cawan petri, kaca objek, beker gelas, corong, timbangan analitis Sartorius TE241S, pinset, kawat ose, kapas steril, LAF (*Laminar Air Flow*) tipe V-130 (*made in Indonesia*), lemari pendingin Hitachi R-528H, oven Binder, *vortex*, *autoclave* UL 25X-2 (*made in US*) dan *incubator* Memmert (*made in Western Germany*).

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini bila tidak dinyatakan lain, mempunyai derajat pro analisis. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampisilin anhidrat (Sigma, Aldrich), 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin, metanol, bahan pendukung untuk menguji bakteri yang akan digunakan diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi-Virologi Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya seperti larutan ½ Mc Farland I, larutan Kovac's, larutan α-Naftol 5%, KOH 40 %, larutan amil alkohol, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pewarna Gram dan pemakaian media seperti media Simon's Citrat, media MR-VP, MHA (*Mueller Hinton Agar*), MHB (*Mueller Hinton Broth*).

### Bakteri Uji

Kultur murni bakteri diremajakan selama 3 hari berturut-turut sebelum digunakan. Pada peremajaan hari pertama dan kedua dilakukan dengan media MHA miring dan kemudian pada hari ketiga kultur bakteri dipindahkan ke dalam lempeng agar pada cawan petri. Koloni bakteri pada lempeng agar MHA digunakan untuk pengujian makroskopis dan mikroskopis kemudian pembuatan



**GAMBAR 1.** Struktur 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin (atas) dan piperasilin (bawah).

suspensi bakteri. Sebanyak 3-5 koloni bakteri diambil dengan menggunakan kawat ose kemudian dicelupkan ke dalam media MHB 3 ml. Media MHB diinkubasi  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  selama  $\pm 1$  jam hingga mencapai kekeruhan larutan  $\frac{1}{2}$  Mc Farland I. Setelah diinkubasi, suspensi bakteri disetarakan dengan menggunakan larutan standar  $\frac{1}{2}$  Mc Farland I dengan cara visual.

#### Tahapan Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimental, senyawa hasil sintesis 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin diuji untuk menentukan aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram kertas Kirby Bauer terhadap dua bakteri yaitu *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan ampisilin anhidrat. Aktivitas antibakteri tiap zat diamati dari besarnya Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) yang terjadi setelah 18 jam waktu inkubasi.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji pemeriksaan bakteri menunjukkan koloni-koloni bakteri merupakan kultur murni yang dapat digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri senyawa 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin dengan ampisilin anhidrat. Konsentrasi standar yang digunakan pada *Escherichia coli* yang direkomendasikan *Clinical and Laboratory*

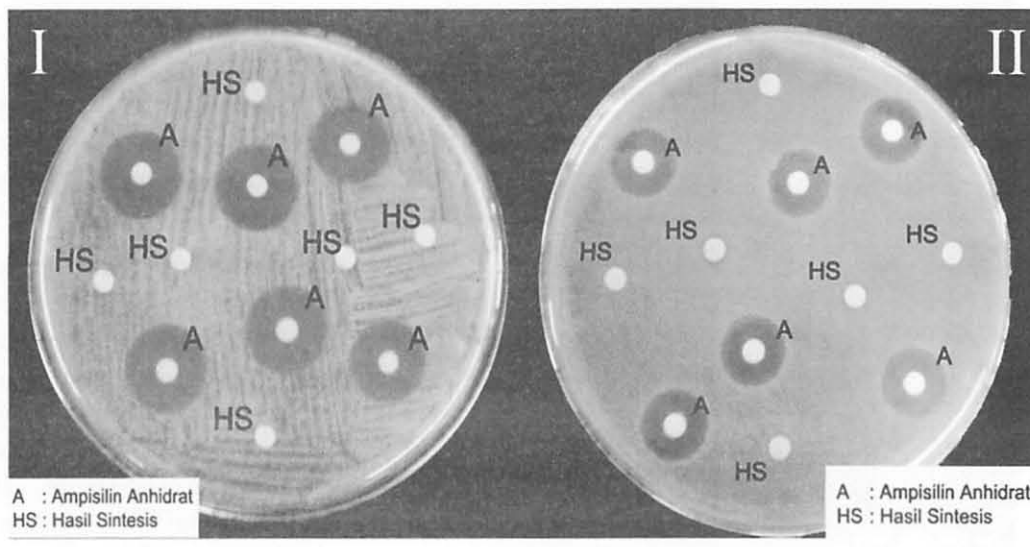
*Standards Institute* (CLSI) sebesar 10  $\mu\text{g}$  per cakram (Wikler *et al.*, 2007) Berdasarkan hasil uji orientasi, konsentrasi yang digunakan pada *Micrococcus luteus* sebesar 0,5 ppm untuk memperoleh DHP yang teramati pada media MHA.

Hasil pengamatan replikasi enam kali pada ampisilin anhidrat memberikan DHP terhadap *Micrococcus luteus* sebesar  $24,49 \pm 0,98$  mm pada konsentrasi 0,50 ppm dan terhadap *Escherichia coli* sebesar  $19,22 \pm 0,51$  mm pada konsentrasi 525,90 ppm. Sedangkan pada senyawa hasil sintesis 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin tidak memberikan DHP terukur pada konsentrasi yang sama dengan ampisilin anhidrat. Hasil pengamatan DHP dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Pada saat konsentrasi 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin ditingkatkan menjadi 599,70; 699,65; 899,55; hingga 999,50 ppm memberikan DHP sebesar 8,65; 10,30; 11,45; 12,35 mm secara berturut-turut pada pengamatan DHP terhadap *Escherichia coli*. Pada *Micrococcus luteus*, dengan konsentrasi 19,99; 49,98; 99,95 ppm berturut-turut menghasilkan DHP sebesar 24,60; 27,58; 36,46 mm.

Berdasarkan hasil pengamatan pada 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin DHP yang terjadi pada saat konsentrasi ditingkatkan menunjukkan cincin  $\beta$ -laktam pada senyawa 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin masih aktif. Namun aktivitas antibakteri 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin lebih rendah dari ampisilin anhidrat sehingga potensi antibakteri senyawa 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin tidak lebih besar dari ampisilin anhidrat. Hasil penentuan kadar senyawa aktif 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin diperoleh  $86,76\% \pm 4,97\%$  dan ampisilin anhidrat  $95,63\% \pm 4,43\%$  dengan menggunakan metode iodometri.

Jika dilihat dari pengamatan 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin dibandingkan piperasilin terdapat penghilangan gugus hidrofilik seperti dua gugus atom oksigen dan gugus metil, kemungkinan senyawa 4-metilpiperazin-*N*-karbonil ampisilin tidak memiliki DHP pada bakteri *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli* karena senyawa tersebut diduga tergolong senyawa pengikat  $\beta$ -laktamase seperti tazobaktam, yaitu senyawa yang memiliki cincin  $\beta$ -laktam namun tidak aktif sebagai antibiotika. Untuk



**GAMBAR 2.** Hasil pengamatan DHP dengan ampisilin anhidrat (A) dan 4-metil-piperazin-N-karbonil ampisilin (B) dengan konsentrasi masing-masing 0,5 ppm pada *Micrococcus luteus* (I) dan 500 ppm pada *Escherichia coli* (II).

menyimpulkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa pengikat  $\beta$ -laktamase perlu dilakukan uji pendukung lainnya seperti perbandingan dengan standar penghambat enzim  $\beta$ -laktamase yang belum dilakukan dalam penelitian ini.

### KESIMPULAN

Senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin memiliki aktivitas antibakteri pada *Micrococcus*

*luteus* dan *Escherichia coli* dan aktivitas antibakteri senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin tidak lebih besar dari ampisilin.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Katolik Widya Mandala yang telah mendanai penelitian ini dalam program LPPM Research Project.

### DAFTAR PUSTAKA

Cambridgesoft, 2007, **ChemBioDraw Ultra**, 11.0 ed., www.cambridgesoft.com.

Istiantoro YH dan Gan VHS, 1999, **Penisilin, Sefalosporin, dan Antibiotik Betalaktam Lainnya**, dalam: SG Ganiswara (ed.), *Farmakologi dan Terapi*, ed. 4, Jakarta, hlm. 622, 627, 630.

Martindale, 2009, **The Complete Drug Reference**, in: SC Sweetman (ed.), 36<sup>th</sup> ed, Chicago, Pharmaceutical Press.

Morrison RT and Boyd RN, 1987, **Organic Chemistry**, Boston, Inc. Allyn and Bacon.

Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Hecht GM, Hindler JF, Low DE, Sheehan DJ, Tenover FC, Turnidge JD, Wienstein MP, Zimmer BL, Ferraro MJ and Swenson JM, 2007, **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement**, in: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (ed.), Pennsylvania, CLSI, 32.