

Uji Aktivitas Antibakteri 1-[(Kuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium Bromida dan 2-Bromometilkuinazolin-4-on

Hayun¹, Arif Arrahman¹, Herman Suryadi¹, Arry Yanuar¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok. 16424

Email : hayun.ms06@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan uji aktivitas antibakteri dari senyawa turunan kuinazolin-4-on: 1-[(6-nitrokuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium bromida (**1**), 1-[(6-aminokuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium bromida (**2**), 2-bromometilkuinazolin-4-on (**3**) dan 2-bromometil-6-nitrokuinazolin-4-on (**4**) dengan trimetoprim (**5**) sebagai standar positif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metoda difusi cakram terhadap *E. coli*, *S. thyposa* dan *S. aureus*, dan menentukan kadar hambat minimal (KHM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa 1 dan 2 tidak aktif sebagai antibakteri, sedangkan senyawa 3 dan 4 aktif. Aktivitas pada *E. coli* $\frac{1}{4}$ kali aktivitas trimetoprim (KHM: 5×10^2 $\mu\text{g/ml}$ dibanding $1,25 \times 10^2$ $\mu\text{g/ml}$). Aktivitas pada *S. typhosa* $\frac{1}{2}$ -1 kali aktivitas trimetoprim (KHM berturut-turut: 2,5 dan $1,25 \times 10^2$ $\mu\text{g/ml}$ dibanding $1,25 \times 10^2$ $\mu\text{g/ml}$); tetapi tidak aktif pada *S. aureus*. Trimetoprim aktif pada *S. aureus* dengan KHM: $0,62 \times 10^2$ $\mu\text{g/ml}$.

Abstract

Antibacterial activity tests of quinazolin-4-one derivatives: 1-[(6-nitroquinazolin-4-one-2-yl)methyl]pyridin-1-ium bromide (**1**), 1-[(6-aminoquinazolin-4-on-2-yl)methyl]pyridin-1-ium bromide (**2**), 2-bromomethylquinazolin-4-one (**3**) and 2-bromomethyl-6-nitroquinazolin-4-one (**4**) with trimethoprim (**5**) as a positive standard were conducted. The antibacterial activity tests were carried out using disc diffusion method against *E. coli*, *S. aureus* and *S. thyposa*, and determination of minimum inhibitory concentration (MIC). The results showed that compounds 1 and 2 are inactive as antibacterial, whereas compounds 3 and 4 are active. The activities to *E. coli* were $\frac{1}{4}$ times the activity of trimethoprim (MIC : 5×10^2 $\mu\text{g/ml}$ compared to 1.25×10^2 $\mu\text{g/ml}$). The activity to *S. typhosa* were $\frac{1}{2}$ -1 times the activity of trimethoprim (MIC: 2.5 and 1.25×10^2 $\mu\text{g/ml}$ compared to 1.25×10^2 $\mu\text{g/ml}$); but they are not active to *S. aureus*. Trimethoprim active to *S. aureus* with MIC : 0.62×10^2 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords : quinazolinone-pyridinium, bromomethyl quinazolinone, antibacterial

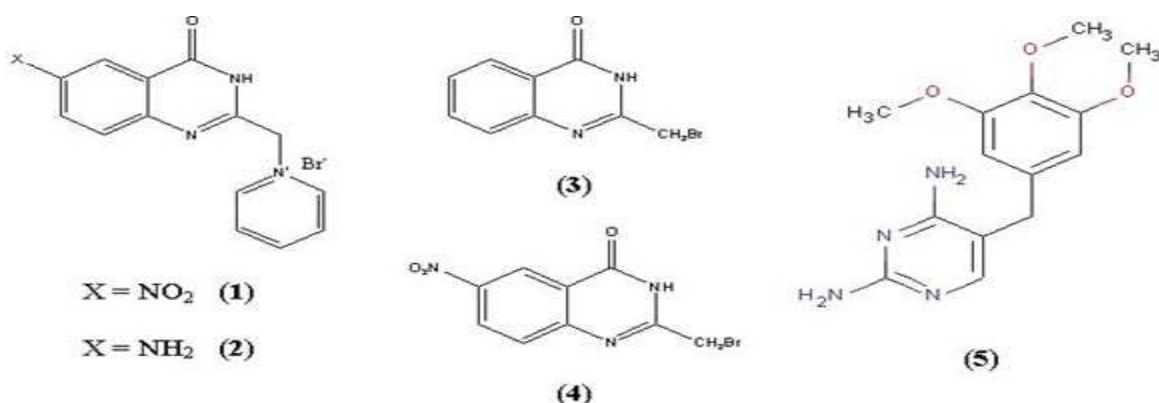
PENDAHULUAN

Senyawa 1-[(6-nitrokuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium bromida (**1**) dan 1-[(6-aminokuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium bromida (**2**) (Gambar 1) merupakan senyawa baru turunan kuinazolin-4-on yang mempunyai gugus piridinium (Hayun *et al.*, 2014). Turunan-turunan senyawa kuinazolin-4-on mempunyai beragam aktivitas biologis bergantung gugus fungsi pada cincinnya, seperti senyawa N-3(4-(4-klorofenil tiazol-2-il)-(2-(amino)metil)-kuinazolin-4-on (antibakteri), 3-(1,3-benzotiazol-2-il-6-tersubstitusi)-2-[(fenil-4-tersubstitusi)amino]methyl] kuinazolin-4-on (antiinflamasi), 4-[(E)-2-(4-Okso-3-fenil-3,4-dihidrokuinazolin-2-yl)etenil] benzen-1-sulfonamida (inhibitor COX-2), dan 4-(2-etilfenil)-1-tersubstitusi-[1,2,4] triazolokuinazolin-5-on (antihistamin) (Pattan *et al.*, 2006; Srivastav *et al.*, 2009; Hayun *et al.*, 2012; Alagarsamy, *et al.*, 2010).

Sejumlah garam piridinium menunjukkan aktivitas antibakteri (Hameed *et al.*, 1994; Jayatissa *et al.*, 2012; Alptüzün *et al.*, 2009), sehubungan dengan hal itu maka senyawa **1** dan **2** diprediksi mempunyai aktivitas antibakteri. Tulisan ini melaporkan hasil uji aktivitas antibakteri kedua senyawa baru turunan kuinazolin-4-on tersebut di atas, 2-bromometilkuinazolin-4-on (**3**) dan 2-bromometil-6-nitro-kuinazolin-4-on (**4**) (Gambar1), yang merupakan senyawa antara dalam sintesis senyawa **1** & **2**, dengan trimetoprim (**5**) sebagai pembanding.

METODE

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminair Air Flow*, cawan petri diameter 9 cm, pipet ukur 10 ml, 5 ml, 1 ml, tabung reaksi 15 x 160 mm, tabung reaksi 7,5 x 100 mm, filter bakteri, spuit 5 ml, mikropipet 20 µL, *vortex*, inkubator, autoklaf, bunsen, mikroskop cahaya, *hotplate*, cakram kertas, dan oven.



Gambar 1. Senyawa 1-[(kuinazolin-4-on-2-il)metil]piridin-1-ium bromida (**1** dan **2**), 2-Bromometilkuinazolin-4-on (**3** dan **4**) dan trimetoprim (**5**)

Bahan-bahan yang diperlukan adalah senyawa uji 1-4, trimetoprim (5, pembanding positif), mikroba uji *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*, wild strain diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia), aquadest steril, dimetilsulfoksida (DMSO), natrium klorida (NaCl) fisiologis, etanol 96% dan 70%, suspensi Mc Farland III, aqua bidestillata steril, nutrient agar, kertas cakram diameter 6 mm dan *Nutrient broth*.

Cara kerja

Senyawa uji dan pembanding (trimetoprim) dilarutkan dalam campuran aquabidestillata dan dimetilsulfoksida (DMSO) (4:1) dengan konsentrasi 100, 250 dan 500 µg/ml. Sebanyak 1 ml inokulum 10^6 sel/ml dimasukkan ke dalam cawan petri diameter 9 cm, kemudian ditambahkan 10-15 ml *nutrient agar* (suhu $\pm 45^\circ\text{C}$) dan diratakan perlahan-lahan hingga homogen. Cawan petri didiamkan 15-20 menit sampai agar membeku. Selanjutnya, kertas cakram sebanyak 3 buah diletakkan pada cawan petri dan diteteskan 20 µL larutan trimetoprim atau uji masing-masing dengan konsentrasi 500, 250, dan 100 µg/ml, didiamkan 15-20 menit, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati terbentuknya zona hambat (zona jernih) di sekitar kertas cakram (Wilkinson, 2006; Johnson *et al.*, 1995). Senyawa uji yang menunjukkan aktivitas antibakteri, dilanjutkan dengan uji kadar hambat minimal (KHM) pada bakteri uji itu sebagai berikut.

Tiap senyawa uji disiapkan tujuh tabung reaksi dan diberi label berturut-turut 500, 250, 125, 62,5, 31,25 µg/ml, kontrol kuman dan kontrol media. Pada 5 tabung reaksi pertama diisikan 0,5 ml *nutrient broth*, pada tabung kontrol kuman diisikan 0,9 ml *nutrient broth* dan 0,1 ml inokulum 10^6 sel/ml, sedangkan pada tabung kontrol media diisikan 1 ml *nutrient broth*. Sebanyak 0,5 ml larutan stok trimetoprim/senyawa uji konsentrasi 1000 µg/ml dimasukkan ke dalam tabung 500 µg/ml, dipusingkan hingga homogen, diambil 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 250 µg/ml, dipusingkan hingga homogen dan seterusnya melalui pengenceran bertingkat seperti dari tabung 500 ke 250 µg/ml untuk tabung 125 sampai 31,25 µg/ml. Dari tabung 31,25 µg/ml diambil 0,5 ml dan dibuang. Pada lima tabung pertama ditambahkan inokulum setara dengan 10^6 sel/ml sebanyak 0,1 ml dan 0,4 ml *nutrient broth* sehingga total volumenya menjadi 1 ml. Tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati adanya kekeruhan pada tabung reaksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa 1 dan 2 tidak aktif sebagai antibakteri terhadap semua bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 1), senyawa 3 dan 4 pada konsentrasi 5×10^2 µg/ml menunjukkan aktivitas antibakteri lemah terhadap bakteri *E. coli* dan intermediet pada *S. typhosa*, tetapi tidak aktif pada *S. aureus*. Sedangkan trimetoprim pada konsentrasi 5×10^2 µg/ml menunjukkan aktivitas antibakteri kuat

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

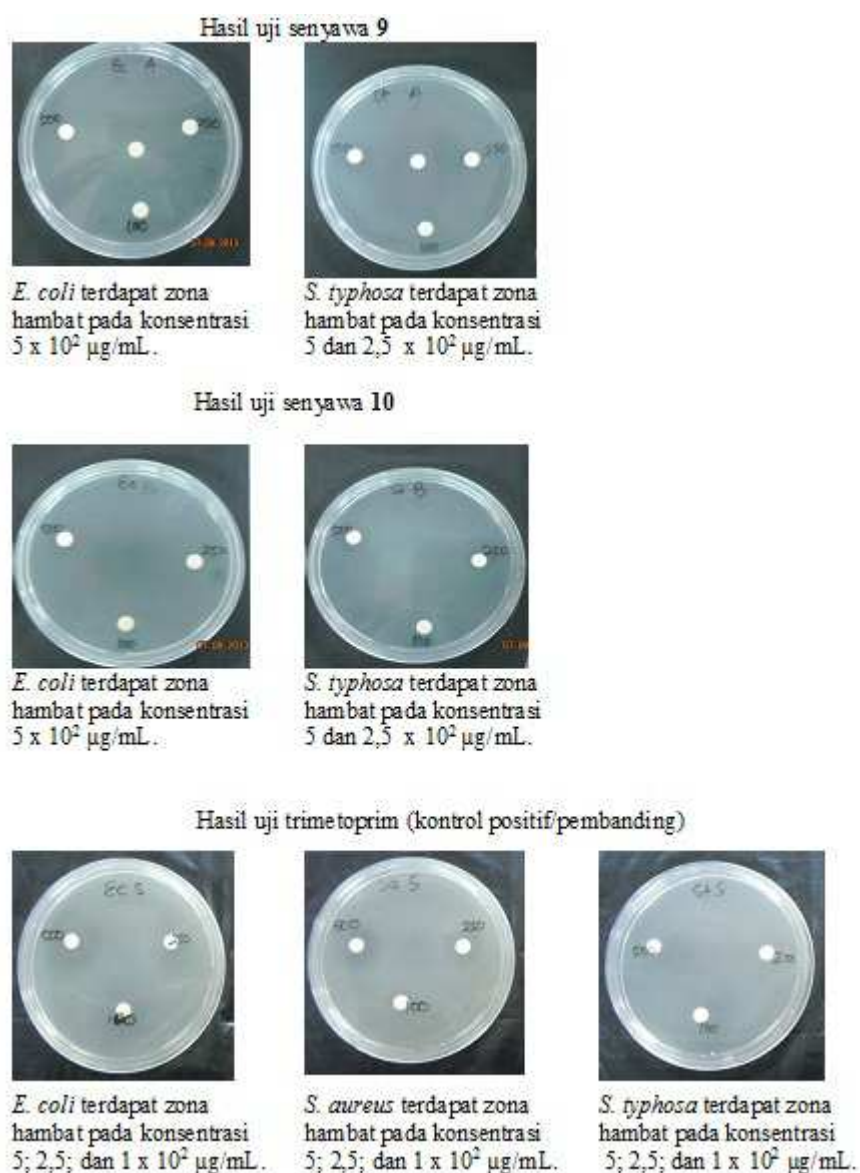
Senyawa Uji	Konsentrasi $\times 10^2 \mu\text{g/mL}$	Zona hambatan (mm)*)		
		Bakteri		
		<i>E.coli</i>	<i>S.typhosa</i>	<i>S.aureus</i>
Senyawa 3	5	7,5	11,5	0
	2,5	0	7	0
	1	0	0	0
Senyawa 4	5	8	15,5	0
	2,5	0	7,5	0
	1	0	0	0
Senyawa 1	5	0	0	0
	2,5	0	0	0
	1	0	0	0
Senyawa 2	5	0	0	0
	2,5	0	0	0
	1	0	0	0
Trimetoprim	5	17	12	12,5
	2,5	12	7,5	8
	1	5,5	4,5	5

Keterangan :

*) rata-rata dari 2 kali penentuan.

terhadap bakteri *E. coli*, dan intermediet pada *S. typhosa* dan *S. aureus* (Tabel 1, Gambar 2). Mengingat senyawa **1** dan **2** tidak aktif, maka penetapan kadar hambat minimal (KHM) hanya dilakukan untuk senyawa **3**, **4** dan trimetoprim pada bakteri uji yang positif. Hasil uji kadar hambat minimal (KHM) senyawa **3**, **4** dan trimetoprim dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3. Berdasarkan data pada Tabel 2, kadar hambat minimal (KHM) senyawa **3** dan **4** pada *E. coli* adalah $5 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$, sedangkan pada *S. typhosa* adalah berturut-turut $2,5 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$ dan $1,25 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$. Aktivitas antibakteri kedua senyawa tersebut pada *E.coli* $\frac{1}{4}$ kali dari aktivitas trimetoprim yang mempunyai KHM: $1,25 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$, pada *S. Typhosa* masing-masing $\frac{1}{2}$ dan 1 kali dari trimetoprim yang mempunyai KHM: $1,25 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$. KHM trimetoprim pada *S.aureus* $0,62 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan literatur, trimetoprim aktif sebagai antimikroba terhadap *E. coli*, *S. typhosa*, dan *S. aureus* dengan kadar hambat minimal 50% (KHM_{50}) berturut-turut: 0,1 $\mu\text{g/ml}$; 0,2 $\mu\text{g/ml}$, dan 3 $\mu\text{g/ml}$ (<http://www.antimicrobe.org/d20tab.htm>). Data hasil uji diatas mengindikasikan bahwa bakteri uji sudah resisten terhadap trimetoprim ($\text{KHM} > 16 \mu\text{g/ml}$). Senyawa **1** dan **2** merupakan senyawa amina kuarternar. Aktivitas antibakteri senyawa ini sangat dipengaruhi oleh rantai alkil lipofilik. Sebagai contoh, setilpiridium klorida ($\text{Clog P} = 3,08$), aktif sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan KHM 16 $\mu\text{g/ml}$ dan $< 0,5 \mu\text{g/ml}$ (Thorsteinsson *et al.*, 2003). Senyawa **1** dan **2** bersifat sangat hidrofilik dengan $\text{Clog P} = -2,72$ dan $-3,46$ (<http://www.chemaxon.com>). Faktor lipofilisitas inilah yang diperkirakan menjadi penyebab



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

senyawa 1 dan 2 sama sekali tidak aktif. Aktivitas antibakteri senyawa 3 dan 4 lebih rendah dibandingkan dengan trimetoprim. Lipofilisitas ketiga senyawa tersebut tidak begitu berbeda. Clog P senyawa 3, 4 dan trimetoprim berturut-turut 1,15; 1,1; dan 1,05 (<http://www.chemaxon.com>). Penyebab perbedaan aktivitas antibakteri bukan disebabkan lipofilisitasnya, melainkan faktor

lain yang memerlukan penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

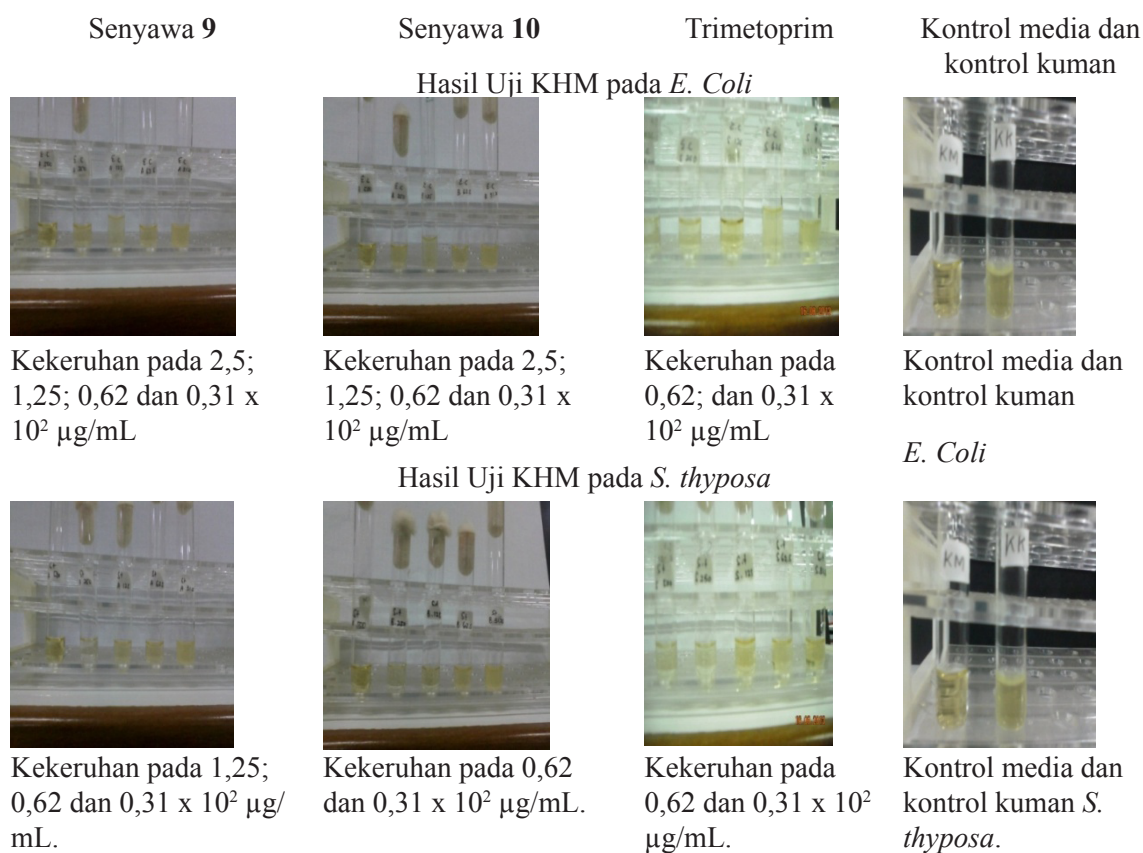
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa 1 dan 2 tidak aktif sebagai antibakteri, sedangkan senyawa 3 dan 4 aktif terhadap bakteri *E. coli* dengan KHM $5 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$ dan *S. typhosa* dengan

Tabel 2. Hasil penetapan Kadar Hambat Minimal (KHM)

Senyawa Uji	Konsentrasi x10 ² µg/mL	Zona hambatan (mm) ^{*)}		
		Bakteri		
		<i>E.coli</i>	<i>S.typhosa</i>	<i>S.aureus</i>
Senyawa 3	5	7,5	11,5	0
	2,5	0	7	0
	1	0	0	0
Senyawa 4	5	8	15,5	0
	2,5	0	7,5	0
	1	0	0	0
Senyawa 1	5	0	0	0
	2,5	0	0	0
	1	0	0	0
Senyawa 2	5	0	0	0
	2,5	0	0	0
	1	0	0	0
Trimetoprim	5	17	12	12,5
	2,5	12	7,5	8
	1	5,5	4,5	5

Keterangan :

*) rata-rata dari 2 kali penentuan.

**Gambar 3. Hasil Penetapan KHM dengan Metode Dilusi**

KHM berturut-turut: 2,5 dan $1,25 \times 10^2$ $\mu\text{g/ml}$.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian pada Masyarakat Universitas Indonesia (DRPM-UI) yang telah memberikan dana hibah riset sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR ACUAN

- Alptüzün, V., Parlar, S., Taşlı, H. and Erciyas, E. (2009). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Pyridinium Salts. *Molecules*, 14, 5203-5215
- Alagarsamy, V., Shankar, D., Solomon, V.R., Parthiban, P., and J.C., Singh, J.C.H. (2010). Synthesis of 4-(2-ethylphenyl)-1-substituted (1,2,4) triazoloquinazolin-5(4H)-ones for their H1-Antihistamine Activity. *International Journal Drug Design and Discovery*, 1 (1), 49-56
- Hameed, S., Saeed, M., Khan, A., Ahmed, M., Nizami, S.S., Kazmi, M.H. (1994). Synthesis and Antibacterial Activity of Picolin Derivatives. *Journal of Islamic Academic of Sciences*, 7(1), 26-29
- Hayun., Hudiyono, S., Hanafi, M., and Yanuar, A. (2012). Synthesis and COX-2 Inhibitory Activity of 4-[(E)-2-(4-Oxo-3-phenyl-3,4-dihydroquinazolin-2-yl) ethenyl]benzene-1-sulfonamide and Its Analogs. *Pharmaceuticals*, 5, 1282-1290
- Hayun., Arrahman, A., Suryadi, H., and Yanuar, A. (2014). Microwave Assisted Synthesis of Pyridin-1-ium Salt of 6-Nitroquinazolin-4-one and Synthesis of its 6-Amino Analog under Ultrasonic Irradiation. *Asian Journal Chemistry*, 26 (23), 7904-06
- Jayatissa, R.N., Perera, R.P., Hettiarachchi, C.M., Weerawarna, P.M. (2012). In Vitro Antibacterial Activity of 4-Phenyl-1-(2-phenylallyl)pyridinium bromide: A Novel Class of Pyridinium Based Antibacterial Compounds. *Indian Journal Microbiology*, 52(1), 83-87
- Johnson, T. and C, Case. (1995). "Chemical Methods of Control," adapted from *Laboratory Experiments in Microbiology, Brief Edition, 4th ed.* Redwood City, CA: Benjamin/Cummings Publishing Co., available online from The National Health Museum, Access Excellence Activities Exchange [accessed October 19, 2014] http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/CC/chance_activity.html.
- Pattan, S.R, Reddy, V.V.K., Manvi, F.V., Desai, B. Gand Bhat, A.R. (2006). Synthesis of N-3(4-(4-chlorophenyl thiazol-2-yl)-(2-(amino)methyl)-quinazolin-4(3H)-one and their Derivatives for Antitubercular Activity. *Indian Journal of Chemistry*, 45B, 1778-1781.
- Srivastav, M., Salahuddin, M.D., and Shantakumar, S.M. (2009). Synthesis and anti-inflammatory Activity of Some Novel 3-(6-Substituted-1,3-benzothiazole-2-yl)-2-[(4-substituted phenyl)amino]methyl]quinazolin-4(3H)-ones. *E-Journal of Chemistry*, 6(4), 1055-1062.
- Thorsteinsson, T., Masson, M., Kristinsson, K.G., Hjalmarsdottir, Hilmarsson &

Loftsson. (2003). Soft Antimicrobial Agents: Synthesis and Activity of Labile Environmentally Friendly Long Chain Quarternary Ammonium Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46,

4173-4181.

11. Wilkinson, J.M. (2006). *Modern Phytomedicine: Methods for Testing The Antimicrobial Activity of Extracts*. Weinheim:Wiley-VCH Verlag GmbH &