

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Sebagian besar spesies ini tidak hanya menginfeksi paru-paru, tetapi juga dapat menyerang organ tubuh yang lain seperti kelenjar getah bening, tulang, ginjal, otak, tulang belakang, hati, kulit, sistem urogenital dan usus (Varghese dkk., 2018). Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA) (Kemenkes, 2019). *World Health Organization* (WHO) menyatakan penyakit TB di Indonesia menempati peringkat ketiga setelah India dan Cina, yakni dengan jumlah kasus 824 ribu dan kematian 93 ribu per tahun atau setara dengan 11 kematian per jam.

Menurut Riskesdas (2018), insidensi TB paru di Indonesia tahun 2018 yaitu sebanyak 321 per 100.000 penduduk. Banyaknya jumlah penderita TB disebabkan oleh rendahnya angka keberhasilan pengobatan, dimana angka keberhasilan pengobatan TB pada tahun 2016 yaitu 75,4% dan pada tahun 2017 meningkat menjadi 85,1%. Kemenkes menetapkan target minimal 88%. Dengan demikian, Indonesia belum mencapai standar angka keberhasilan pengobatan TB paru yang sudah ditetapkan. Sebagian besar kasus TB terjadi pada kelompok usia produktif dan sosial ekonomi lemah. Tercatat dalam *Global TB Report* tahun 2022, jumlah kasus TB terbanyak yaitu kelompok usia produktif terutama pada usia 25 sampai 34 tahun. Peningkatan morbiditas penyakit TB ini juga diikuti oleh peningkatan prevalensi *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap banyak obat atau *Multi Drug Resistance Tuberculosis* (MDR-TB) (Prihatni dkk., 2005). Kemunculan kasus resistensi terhadap obat lini pertama dan kedua serta kerumitan dan lamanya waktu terapi TB saat ini mendorong upaya pencarian dan penemuan obat anti-tuberkulosis baru. Beberapa dekade ini, muncul senyawa-senyawa baru yang saat ini sedang dalam tahap percobaan preklinis maupun klinis. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas potensial untuk melawan strain *Mycobacterium tuberculosis* sensitif dan resisten (Irianti dkk., 2016).

Perkembangan penggunaan senyawa kompleks telah banyak diteliti melalui suatu tahapan-tahapan reaksi (mekanisme reaksi) dengan menggunakan ion-ion logam serta ligan yang berbeda-beda (Kartina, 2013). Senyawa kompleks ataupun sering pula disebut sebagai senyawa koordinasi mempunyai peranan yang sangat berguna dalam kehidupan, tidak terkecuali pada sistem hayati manusia (Duwila dkk., 2023). Salah satu agen antibakteri yang dapat dikembangkan dan memiliki mekanisme yang berbeda dari agen antibakteri lain adalah penggunaan senyawa kompleks logam transisi. Beberapa logam transisi terbukti dapat menjadi agen antibakteri karena memiliki fungsi biologis dan ditemukan dalam sistem metabolisme manusia dan hewan, misalnya enzim dan kofaktor dimana logam transisi memiliki efek toksisitas yang rendah (Handayani dkk., 2021). Ion-ion logam

akan bereaksi dengan ligan dan membentuk kompleks pada suhu dan pH tertentu. Terdapat peluang perubahan efektivitas suatu obat dengan cara membuatnya menjadi senyawa kompleks dengan penambahan ion logam (Adhan, 2019).

Ditiokarbamat dan kompleks logamnya telah mengundang banyak perhatian dalam penelitian karena aplikasinya yang beragam dan biologis, struktural, magnetik, elektrokimia, dan kemampuan transportasi dalam membran (Kartina, 2019). Molekul ditiokarbamat yang mengelat logam memiliki banyak kegunaan dalam pengobatan. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur, AIDS, dan yang terbaru yaitu kanker, semuanya telah diobati dengan turunan ditiokarbamat. Perawatan kemoterapi saat ini memiliki kemampuan terbatas untuk membasmi keganasan karena sifatnya yang beracun. Oleh karena itu, banyak peneliti terlibat dalam menemukan obat baru yang sesuai dalam upaya untuk mengurangi efek samping sekaligus meningkatkan potensi dari ditiokarbamat (Irfandi dkk., 2022). Dalam pembentukan kompleks dengan logam, ditiokarbamat berperan sebagai ligan dengan atom donor sulfur. Ligan ini dapat membentuk kompleks monodentat atau bidentat dengan logam melalui ikatan koordinasi serta mampu mengikat logam dengan berbagai bilangan oksidasi secara kuat dan stabil (Kartina, 2019). Sintesis kompleks ditiokarbamat umumnya melibatkan reaksi antara asam ditiokarbamat dan logam dalam bentuk garam, dimana asam ditiokarbamat disediakan dengan mereaksikan amina dengan karbon disulfida dalam pelarut etanol (Kartina, 2013). Pengkompleksan logam dengan ligan dalam hal ini ditiokarbamat tidak lepas dari prinsip HSAB (*Hard and Soft Acid Base*), asam keras dengan basa keras, asam lunak dengan basa lunak. Ditiokarbamat merupakan basa lunak sehingga ditiokarbamat akan lebih menyukai logam yang bersifat asam lunak sedangkan ion Ni^{2+} dan Cu^{2+} keduanya merupakan asam menengah yang bersifat asam yang sedikit lunak dan sedikit keras (Nurillah, 2010). Ligan ditiokarbamat serta homolognya banyak digunakan dalam bidang farmasi, medis serta biokimia (Duwila dkk., 2023).

Asam amino glisin dan tirosin termasuk ke dalam asam amino non esensial yang keduanya diproduksi dan memiliki banyak manfaat dalam tubuh manusia. Glisin merupakan asam amino yang mudah menyesuaikan diri dengan berbagai situasi karena strukturnya sederhana. Glisin berperan dalam sistem saraf sebagai inhibitor neurotransmiter pada sistem saraf pusat (CNS) sedangkan tirosin adalah asam amino yang bermanfaat dalam mengatur suasana hati dan merangsang sistem saraf. Selain itu tirosin juga berfungsi mempercepat metabolisme serta bermanfaat dalam mengobati kondisi yang ditandai dengan gejala kelelahan kronis (Wahyudiati, 2017). Senyawa kompleks yang terbentuk dari ion logam dan asam amino tirosin telah banyak diteliti juga dan diketahui hasilnya memiliki aktivitas biologi yang baik terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dan juga dapat menghambat pertumbuhan jamur (Filbert, 2023). Glisin telah digunakan sebagai agen antibakteri dalam makanan karena toksisitasnya yang rendah pada hewan. Meskipun glisin bisa bersifat toksik bagi manusia jika diberikan dalam jumlah besar, glisin juga memiliki potensi antibakteri (Minami dkk., 2004).

Selain itu, pengaruh penggunaan senyawa kompleks secara langsung pada manusia sebagai obat anti tuberkulosis masih sangat tabu dan memiliki prosedur hukum yang belum memungkinkan untuk dilaksanakan. Oleh karena itu, dilakukan lah uji secara *in vitro* dengan *Lowenstein-Jensen* (LJ) yang dikenal sebagai uji kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sebagaimana yang direkomendasikan oleh *International Union Against Tuberculosis* (IUAT) (Adhan, 2019). Metode LJ menjadi metode yang paling umum digunakan dalam jurnal-jurnal penelitian sintesis senyawa kompleks untuk melihat potensi antituberkulosis senyawa tersebut.

Upaya pemanfaatan senyawa kompleks ditiokarbamat dan efektivitasnya sebagai obat TB terus dilakukan seperti yang diuji dalam penelitian Filbert (2023) dengan mensintesis Mn(II), Fe(II), dan Fe(III) dengan L-tirosin dan potensinya sebagai obat anti TB. Senyawa kompleks yang terbentuk diuji secara *in vitro* dan hasil penelitiannya ketiga senyawa kompleks tersebut memiliki potensi sebagai antituberkulosis. Selain itu, Islam (2007) berhasil melakukan *screening* biologis dari senyawa kompleks Ni(II)tirosin kemudian menguji aktivitas anti mikroba, anti jamur dan aktivitas sitotoksiknya. Senyawa kompleks Ni(II)tirosin dalam penelitian ini terbukti memiliki potensi sebagai anti mikroba dan dapat digunakan sebagai anti jamur. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Kannan & Arumugham (2014) dengan melakukan sintesis, karakterisasi, studi pengikatan DNA dan pengujian aktivitas anti mikroba dari Cu(II) yang dikomplekskan dengan 1,10 fenantrolin, L-tirosin dan etilamina sebagai ligan. Studi anti mikroba *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa kompleks yang dihasilkan memiliki aktivitas yang baik terhadap bakteri gram positif, gram negatif dan jamur. Dengan informasi tersebut, pada penelitian ini dilakukan sintesis dan karakterisasi senyawa kompleks dari logam Ni(II) dan Cu(II) dengan ligan tirosin-glisin ditiokarbamat hasilnya senyawa kompleks akan diuji aktivitasnya dengan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana hasil sintesis dan karakterisasi senyawa kompleks yang berasal dari ion logam Ni(II) dan Cu(II) dengan ligan tirosin-glisin ditiokarbamat secara *in situ*?
2. Bagaimana potensi senyawa kompleks hasil sintesis sebagai antituberkulosis?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antituberkulosis hasil sintesis senyawa kompleks ion logam Ni(II) dan Cu(II) dengan ligan tirosin-glisin ditiokarbamat.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. mensintesis dan mengkarakterisasi senyawa kompleks dari ion logam Ni(II) dan Cu(II) dengan ligan tirosin-glisin ditiokarbamat secara *in situ*
2. menguji potensi antituberkulosis senyawa kompleks hasil sintesis

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai hasil sintesis senyawa kompleks dari logam Ni(II) dan Cu(II) dengan ligan tirosin-glisin ditiokarbamat, karakteristik senyawa kompleks yang dihasilkan dengan mengukur titik leleh, konduktometri, spektrofotometri UV-Vis, FTIR, XRD, dan SEM-EDS, serta menghasilkan senyawa kompleks yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku obat antituberkulosis dan juga diharapkan dapat menjadi bahan rujukan atau bahan referensi untuk peneliti selanjutnya.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah NiCl_2 (*Merck*), CuCl_2 (*Merck*), tirosin, glisin, karbon disulfida (CS_2), bakteri uji (*Mycobacterium tuberculosis*), medium LJ (Lowenstein Jensen), kalium hidroksida (KOH), dimetil sulfoksida (DMSO), parafilm, akuabides, etanol p.a, es batu, kertas saring Whatmann no. 42, kertas label, dan *tissue roll*.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium, neraca analitik (Ohaus), pinset, desikator, batang pengaduk, *bulb*, sendok tanduk, *magnetic stirrer*, pengukur titik leleh model Elektrotermal 9100, konduktometer (Lutron CD-4303), spektrofotometer UV-Vis (Spektronik 20 D+), spektrofotometer FTIR (Shimadzu Prestige-21), Instrumen XRD (Shimadzu XRD-7000 maxima), dan SEM-EDS (JEOL JCM-300plus).

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga September 2024 di Laboratorium Kimia Anorganik dan Laboratorium Terpadu Departemen Kimia, Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Mikrostruktur Fakultas Teknik Universitas Muslim Indonesia.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Sintesis Senyawa Kompleks Ni(II) dan Cu(II) dengan Tirosin-Glisin Ditiokarbamat (Irfandi, 2019)

Sebanyak 0,2805 g KOH dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan akuabides hingga larut. Selanjutnya ditambahkan larutan CS_2 sebanyak 0,302 mL (5 mmol) tetes demi tetes pada suhu dingin. Setelah itu, glisin ditambahkan sebanyak 0,3754 g (5 mmol) yang telah dilarutkan dengan etanol 10 mL, lalu diaduk. Kemudian tirosin dimasukkan sebanyak 0,9067 g (5 mmol) yang telah dilarutkan dengan etanol 10 mL, lalu diaduk. Selanjutnya NiCl_2 ditambahkan sebanyak 0,39 g (3 mmol) yang telah dilarutkan dalam etanol 10 mL. Setelah itu, campuran diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dan dimasukkan dalam desikator hingga kering kemudian dikristalisasi dengan pelarut yang sesuai hingga diperoleh kristal murni. Selanjutnya hasil sintesis dianalisis dan dikarakterisasi. Untuk sintesis kompleks logam Cu(II) dilakukan prosedur yang sama seperti logam Ni(II) dan menggunakan CuCl_2 sebanyak 0,51 gram.

2.4.2 Sintesis Ligan Tirosin-Glisin Ditiokarbamat (Irfandi, 2019)

Sebanyak 0,2805 g KOH dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan akuabides hingga larut. Selanjutnya ditambahkan larutan CS₂ sebanyak 0,302 mL (5 mmol) tetes demi tetes pada suhu dingin. Setelah itu, glisin ditambahkan sebanyak 0,3753 g (5 mmol) yang telah dilarutkan dengan etanol 10 mL, lalu diaduk. Kemudian tirosin dimasukkan sebanyak 0,9067 g (5 mmol) yang telah dilarutkan dengan etanol 10 mL, lalu dihomogenkan. Setelah itu, campuran diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dan dimasukkan dalam desikator hingga kering kemudian dikristalisasi dengan pelarut yang sesuai hingga diperoleh kristal murni. Selanjutnya hasil sintesis dianalisis dan dikarakterisasi.

2.4.3 Analisis Karakterisasi Senyawa Kompleks

2.4.3.1 Pengukur titik leleh

Pengukuran titik leleh dilakukan dengan menggunakan alat *Electrothermal Melting Point Apparatus*. Pipa kapiler diisi dengan sampel dimasukkan ke dalam slot pada alat *Melting point*. Mesin dinyalakan dan diatur tingkat kepanasannya dengan memutar *heating control knob*. Amati sampel melalui *eyepiece* dan catat suhu ketika sampel mencapai titik leleh.

2.4.3.2 Konduktometer

Pengukuran konduktivitas dilakukan untuk mengetahui sifat elektrolit dan kestabilan senyawa kompleks yang telah disintesis. Sampel dilarutkan dalam etanol dan diukur daya hantar listrik/konduktivitasnya menggunakan alat konduktometer (setiap pengukuran dikoreksi terhadap nilai daya hantar spesifik pelarut)..

2.4.3.3 Spektrofotometer UV-Vis

Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk mengetahui adanya gugus kromofor yang memungkinkan terjadinya eksitasi atau perpindahan energi rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi dari suatu senyawa. Sampel dilarutkan dalam etanol hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm kemudian diukur spektrumnya dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada daerah 200-800 nm.

2.4.3.4 Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR)

Analisis dengan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terikat dalam senyawa kompleks hasil sintesis. Sampel dihaluskan menggunakan mortir dan disiapkan dalam bentuk pelet KBr, kemudian diukur dengan alat spektrofotometer FTIR pada daerah bilangan gelombang kisaran 340-4000 cm⁻¹.

2.4.3.5 Difraktometer Sinar-X (XRD)

Analisis XRD dilakukan untuk mengidentifikasi material kristalit dengan memanfaatkan radiasi gelombang elektromagnetik sinar-X. Sampel disinari dengan sinar-X yang dihasilkan dari logam Cu-K α ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) pada sudut difraksi (2θ)

berkisar antara 5-90° dengan interval 0,02°/step. Selanjutnya diperoleh difraktogram antara sudut difraksi (2θ) dan intensitas puncak (*counts*).

2.4.3.6 Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS)

Analisis SEM-EDS dilakukan untuk mengetahui morfologi sampel melalui SEM dan prediksi senyawa kompleks dari data EDS. Gambar dihasilkan dengan memindai permukaan dengan sinar elektron yang terfokus dengan perbesaran skala tertentu. Elektron akan berinteraksi dengan atom dalam sampel, menghasilkan sinyal yang berisi informasi tentang topografi permukaan dan komposisi sampel. Sampel diletakkan di atas permukaan *stage blok* yang telah ditempel karbon tip, kemudian disemprot dengan udara menggunakan alat *Electric blower*. Selanjutnya dimasukkan sampel ke dalam kotak preparasi untuk di *coating* ke dalam *stage holder* lalu mengunci baut *stage holder* pada masing-masing ujung sisinya menggunakan kunci 'L' dan dianalisis dengan alat SEM untuk mengetahui morfologinya. Kemudian dilanjutkan SEM-EDS dengan memilih titik spot pada sampel. Sinar-X dipancarkan dari permukaan sampel, Sinar-X dideteksi dengan detektor EDS untuk memberikan informasi komposisi unsur pada sampel.

2.4.4 Pengujian Daya Hambat Antibakteri Tuberkulosis

2.4.4.1 Pembuatan Medium Pertumbuhan Lowenstein Jensen (LJ)

Bubuk LJ diambil sebanyak 36,5 g, kemudian dilarutkan dalam etanol sebanyak 600 mL. Setelah itu ditambahkan 1000 mL kuning telur bebek dan 12 mL gliserol selanjutnya dihomogenkan. Setelah homogen larutan LJ disaring. Larutan LJ yang siap dimasukkan dalam botol skrup lalu disterilkan pada temperatur 85°C selama 45 menit dengan menggunakan oven, setelah itu suhu dari oven diturunkan menjadi 37°C didiamkan selama 24 jam. Pada hari berikutnya (setelah 24 jam) suhu kembali dinaikkan menjadi 85°C setelah 45 menit suhu kembali diturunkan menjadi 37°C, medium siap digunakan.

2.4.4.2 Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terlebih dahulu diremajakan dengan cara diinokulasikan dalam medium LJ sebanyak 5 tetes dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-6 minggu.

2.4.4.3 Uji Potensi Antituberkulosis

Uji daya hambat senyawa kompleks yang berhasil disintesis terhadap perkembangan dan pertumbuhan mikroba dilakukan dengan metode difusi yang menggunakan botol skrup. Botol skrup berisi medium LJ yang sudah steril kemudian masing-masing botol diisi dengan larutan senyawa kompleks hasil sintesis, kontrol positif (isoniazid) dan kontrol negatif (DMSO), selanjutnya diinkubasi selama enam minggu pada suhu 37°C lalu diamati perkembangbiakan bakteri.