

Skripsi

**PENINGKATAN EFEKTIVITAS ISONIAZID SEBAGAI OBAT
TUBERKULOSIS MELALUI KOMPLEKSASI DENGAN
ION LOGAM Mg^{2+} , Fe^{2+} DAN Zn^{2+}**

ADHAN APRIADI PUTRA

H311 13 324



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PENINGKATAN EFEKTIVITAS ISONIAZID SEBAGAI OBAT
TUBERKULOSIS MELALUI KOMPLEKSASI DENGAN
ION LOGAM Mg^{2+} , Fe^{2+} DAN Zn^{2+}**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh:

ADHAN APRIADI PUTRA

H311 13 324



MAKASSAR

2019

SKRIPSI

**PENINGKATAN EFEKTIVITAS ISONIAZID SEBAGAI OBAT
TUBERKULOSIS MELALUI KOMPLEKSASI DENGAN
ION LOGAM Mg^{2+} , Fe^{2+} DAN Zn^{2+}**

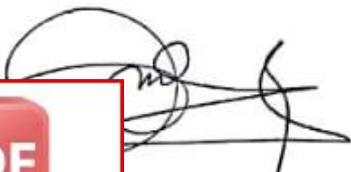
Disusun dan diajukan oleh:

ADHAN APRIADI PUTRA

H311 13 324

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



h Raya, M.Si
41125 199002 2 001

Pembimbing Pertama,



Dr. Abdul Karim, M.Si
NIP. 19620710 198803 1 002



PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji bagi **Allah** yang telah menciptakan alam semesta dan seisinya. Maha suci Allah yang telah menciptakan segala ilmu pengetahuan yang ada di muka bumi ini. Puji syukur kehadiran Allah yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul “**Peningkatan Efektivitas Isoniazid Sebagai Obat Tuberkulosis Melalui Kompleksasi Dengan Ion Logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+}** ” dapat terselesaikan.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada baginda **Rasulullah Muhammad SAW** yang menjadi panutan bagi umat di dunia. Dialah Nabi akhir zaman, revolusioner dunia, yang mampu menguak dan merubah kejahililian menuju *sirothol mustaqim*, yakni agama Islam.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi tingginya kepada Ibu **Dr. Indah Raya, M.Si.**, dan Bapak **Dr. Abdul Karim, M.Si.** selaku pembimbing riset yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga dari awal pemikiran untuk penyusunan skripsi hingga selesai. Keduanya merupakan orang-orang terbaik di bidangnya. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku **Muh. Arfan** dan **Saida** yang dengan penuh kasih sayang dan keikhlasan telah mengasuh, membesarkan dan membiayai baik materil maupun spiritual serta mengalirkan doa-doanya untuk kebahagiaan putri pertamanya baik di dunia maupun di akhirat, yang telah mendidik dan membimbing untuk penulis dengan curahan kasih sayang yang tidak terhingga.



2. Kepada adik-adikku **Gita Julia Putri** dan **Aslam Septriadi Putra** yang selalu berhasil menjadi penyemangat dan motivasi dalam melanjutkan hidup.
3. Seluruh **Dosen Departemen Kimia** Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin yang senantiasa membagi ilmunya yang sangat berharga.
4. **Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia**, yaitu Dr. Syarifudin Liong, M.Si, dan Dr. Fauziah, M.Si terima kasih atas bimbingan dan saran-sarannya.
5. **Kak Linda, Kak Hana, Pak Iqbal, Pak Sugeng, Ibu Tini dan Kak Fibi** selaku analis Laboratorium yang sangat membantu dalam penyelesaian penelitian, sangat sabar menghadapi kami para peneliti.
6. Saudara-saudaraku **Chemistry 2013**, sandi, sup, kipli (Alm) asrul, andika, wawan, yogi, danang, condang, slamet, aan, anton, afdhal, wahyu, flo, akbar, fatur, suci, murtina, eka, wina, ros, muli, ifah, riska, ayu, ody, nunu, usfah, adji, ani, dss, harma, shila, rani, nisa, adri, afni, ita, vero, tisa, ulfa, ana, rafsen, samri, mima, hikmah, fitri, Irma, sarifah, sri, emmi, eda, butet, fira, aul, adel, yuni, aeni, dalifah, dan yudit.
7. Kepada **Wahyudin, Arisandi, Muh. Afdhal, Danang dan Fathur** kelompok **Tuna Asmara a.k.a Korps Pecinta Kos** yang selalu menunjukkan muara dari banyaknya kepenatan.
8. Kepada kakak **konformasi 2011** kakak **mesomeri**, kakak **siklik**, adek **prekursor 2014, polihedra 2015, kromofor 2016, alifatik 2017, hibridisasi 2018** dan seluruh anggota serta alumni **KMK FMIPA UNHAS**.
9. Kepada semua teman seperjuangan **MIPA 2013** yang selalu menjadi rumah bagi penulis, serta seluruh anggota dan alumni **KMF MIPA Unhas**.

ada keluarga besar **Mushollah Istiqamah** dan **UKM LDK MPM Unhas** telah menjadi telaga ilmu akhirat.



11. Kepada teman-teman **angkatan 7 KPL Ozone Kimia Unhas** serta seluruh anggota **KPL Ozone Kimia Unhas**.

Penulis sadar bahwa Tulisan ini masih banyak memiliki kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan selanjutnya.

Makassar, Februari 2019

Penulis



ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi terbesar di seluruh dunia. Salah satu penyebabnya adalah resistennya obat yang biasa digunakan. Pada penelitian ini, senyawa kompleks diperoleh dengan mereaksikan ion logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} dengan ligan isoniazid dengan menggunakan metode *in-vitro*. Karakterisasi dilakukan menggunakan pengukuran titik leleh, spektroskopi UV-Vis dan FT-IR. Hasil sintesis diperoleh 3 senyawa yaitu Mg-isoniazid, Fe-Isoniazid dan Zn-isoniazid dengan rendamen masing-masing senyawa kompleks adalah 62,08 %, 84,44 % dan 86,19 %. Semua senyawa kompleks yang berhasil disintesis menunjukkan hasil positif atau dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode uji Lowenstein-Jensen.

Kata Kunci: tuberkulosis, ion logam, isoniazid, Lowenstein-Jensen



ABSTRACT

Tuberculosis is the largest infectious disease in the entire world. One reason is the resistance of commonly used drugs. In this research, complex compounds were obtained by reacting metal ions Mg^{2+} , Fe^{2+} and Zn^{2+} with isoniazid ligands using the in-vitro method. Characterization was carried out using melting point measurements, UV-Vis spectroscopy and FT-IR. The synthesized results obtained 3 compounds, namely Mg-isoniazid, Fe-isoniazid and Zn-isoniazid with the renditions of each complex compound were 62.08%, 84.44% and 86.19%. All complex compounds that were successfully synthesized showed positive results or could inhibit the growth of *Mycobacterium tuberculosis* with the Lowenstein-Jensen test method.

Keywords: tuberculosis, metal ion, isoniazid, Lowenstein-Jensen



DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Maksud Penelitian	4
1.3.2 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Umum Penyakit Tuberkulosis	6
2.2 Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Ioniazid (INH).....	12
2.3 Metode Uji Aktivitas Tuberkulosis (TB) Lowenstein-Jensen (LJ)	15
2.4 Unsur Ion Logam	16



2.4.1	Magnesium (Mg)	16
2.4.2	Besi (Fe)	16
2.4.3	Zink (Zn)	17
BAB III METODE PENELITIAN		20
3.1	Bahan Penelitian	20
3.2	Alat Penelitian	20
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.4	Prosedur Penelitian	20
3.4.1	Pembuatan Kompleks	20
3.4.1.1	Pembuatan Senyawa Kompleks Mg-Isoniazid.....	20
3.4.1.2	Pembuatan Senyawa Kompleks Fe-Isoniazid.....	21
3.4.1.3	Pembuatan Senyawa Kompleks Zn-Isoniazid	21
3.4.2	Analisis Karakterisasi Senyawa Kompleks	21
3.4.2.1	Penentuan Titik Leleh	21
3.4.2.2	Analisis UV-Vis	22
3.4.2.3	Analisis FT-IR	22
3.4.3	Pengujian Daya Hambat Senyawa Kompleks Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	22
3.4.3.1	Pembuatan Medium Pertumbuhan LJ (Lowenstein Jensen)	22
3.4.3.2	Penyiapan Bakteri Uji	22
3.4.3.3	Uji Bioaktivitas Daya Hambat Senyawa Kompleks	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		24
1	Sintesis Senyawa Kompleks.....	24
1.1	Sintesis Senyawa Kompleks Mg-Isoniazid.....	24



4.1.2 Sintesis Senyawa Kompleks Fe-Isoniazid.....	24
4.1.3 Sintesis Senyawa Kompleks Zn-Isoniazid	25
4.2 Analisis Karakterisasi Senyawa Kompleks.....	25
4.2.1 Pengukuran Titik Leleh.....	25
4.2.2 Analisis Spektrofotometer UV-Vis	26
4.2.3 Analisis Menggunakan FTIR	30
4.3 Perkiraan Struktur Senyawa Kompleks	35
4.4 Uji Anti Tuberkulosis	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Titik Leleh Senyawa Kompleks	26
2. Data Analisis UV-Vis Ligan dan Senyawa Kompleks	27
3. Analisis Spektrum Inframerah Senyawa Kompleks	31
4. Hasil Uji <i>M. tuberculosis</i>	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Morfologi <i>M. tuberculosis</i>	8
2. Struktur dinding sel <i>M. tuberculosis</i>	9
3. Struktur Asam Mikolat	9
4. Struktur Isoniazid	12
5. Spektrum UV-Vis Senyawa Isoniazid	27
6. Spektrum UV-Vis Senyawa Kompleks Mg-Isoniazid	28
7. Spektrum UV-Vis Senyawa Kompleks Fe-Isoniazid	29
8. Spektrum UV-Vis Senyawa Kompleks Zn-Isoniazid	29
9. Spektrum FT-IR Kompleks Isoniazid	31
10. Spektrum FT-IR Kompleks Mg-isoniazid	32
11. Spektrum FT-IR Kompleks Fe-isoniazid	32
12. Spektrum FT-IR Kompleks Zn-isoniazid	33
13. Struktur Senyawa Kompleks Mg-isoniazid	35
14. Struktur Senyawa Kompleks Fe-isoniazid	35
15. Struktur Senyawa Kompleks Zn-isoniazid	36
16. Hasil Uji Tuberkulosisi Senyawa Kompleks Mg-Isoniazid	38
17. Hasil Uji Tuberkulosisi Senyawa Kompleks Fe-Isoniazid	38
18. Hasil Uji Tuberkulosisi Senyawa Kompleks Zn-Isoniazid	39
19. Hasil Uji Tuberkulosisi Senyawa Kompleks Isoniazid	39
20. Hasil Uji Tuberkulosisi Senyawa Kompleks Isoniazid dalam Biosintesis Asam mikolat	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Pembuatan Senyawa Kompleks Mg-isoniazid	47
2. Bagan Kerja Pembuatan Senyawa Kompleks Fe-isoniazid	48
3. Bagan Kerja Pembuatan Senyawa Kompleks Zn-isoniazid	49
4. Bagan Kerja Pembuatan Medium Pertumbuhan LJ.....	50
5. Bagan Kerja Penyiapan Bakteri Uji.....	50
6. Bagan Kerja Uji Aktivitas Senywa Kompleks.....	51
7. Perhitungan Rendamen Senyawa Kompleks.....	52
8. Data Spektrum UV-Vis Senyawa Isoniazid.....	53
9. Data Spektrum UV-Vis Senyawa Mg-Isoniazid.....	54
10. Data Spektrum UV-Vis Senyawa Fe-Isoniazid.....	55
11. Data Spektrum UV-Vis Senyawa Zn-Isoniazid.....	56
12. Data Spektroskopi FT-IR Senyawa Isoniazid.....	57
13. Data Spektroskopi FT-IR SenyawaMg-isoniazid.....	58
14. Data Spektroskopi FT-IR Senyawa Fe-isoniazid.....	59
15. Data Spektroskopi FT-IR Senyawa Zn-isoniazid.....	60
16. Data Hasil Uji Tuberkulosis.....	61
17. Lampiran Dokumentasi Proses Penelitian.....	65



DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

AIDS	: Acquired Immuno Deficiency Syndrome
BTA	: Bakteri Tahan Asam
DMSO	: Dimetil sulfoksida
FTIR	: Fourier Transform Infra Red
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HSAB	: Hard Soft Acid Base
INH	: <i>isonicotinic acid hydrazide</i>
LJ	: Lowenstein Jensen
MAH	: Mono asetil hidrazin
mL	: milliliter
mmol	: milimol
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
p.a	: pro analisis
TB	: Tuberkulosis
UV-Vis	: Ultra Violet-Visible
WHO	: World Helath Organization



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh Basil Tahan Asam (BTA) yaitu bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Christian dkk 2009; Starla, 2008). Saat ini sekitar sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan setiap tahunnya ada sembilan juta kasus baru penderita tuberkulosis dan angka kematian akibat tuberkulosis sekitar tiga juta orang tiap tahunnya. Satu persen dari penduduk dunia akan terinfeksi tuberkulosis setiap tahun. Satu orang berpotensi menularkan ke 10 hingga 15 orang dalam 1 tahun (Depkes RI, 2011). Tuberkulosis telah ada selama ribuan tahun dan tetap menjadi masalah utama kesehatan global. Selama lima tahun terakhir, TB menjadi penyebab utama kematian akibat infeksi tunggal, melebihi infeksi yang disebabkan oleh HIV/AIDS (WHO, 2017).

Penyebab utama meningkatnya masalah TB antara lain, kemiskinan pada berbagai kelompok masyarakat di negara-negara berkembang, kegagalan program penanggulangan TB, struktur umur kependudukan serta dampak pandemi HIV (Manalu, 2010; Suharyo, 2013). Sejalan dengan terus meningkatnya angka kematian akibat TB, WHO secara global mengembangkan strategi pengendalian

g disebut *Directly Observed Treatment Short-course* (DOTS) (Christian dkk 2009).



Strategi DOTS merupakan kegiatan penanggulangan TB dengan panduan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) jangka pendek disertai pengawasan terhadap kepatuhan minum obat bagi penderita (Depkes RI, 2011). Obat Anti Tuberkulosis yang paling banyak digunakan dan dinilai paling baik dalam pengobatan TB saat ini yaitu, Isoniazid (INH) dan Rifampisin (Prihatni, 2005).

Terapi penyembuhan penyakit TB dengan obat Isoniazid dilakukan secara berkala dan berkelanjutan selama 6-12 bulan sama efektifnya dengan pemberian Rifampisin selama 3-6 bulan (Nurul dan Kasswandhani, 2016). Waktu terapi yang relatif panjang menyebabkan peningkatan angka ketidakpatuhan pasien yang berakibat resistensi obat (Nugraheni dan Malik, 2015). Resistensi terhadap INH terjadi karena mutasi gen pada kodon KatG 315Sew(AGC) (Siregar, 2015).

Isoniazid dikenal luas sebagai obat lini pertama dalam pengobatan TB. Isoniazid bekerja pada enzim yang berperan pada penyusunan asam mikolat yang merupakan komponen dinding bakteri *M. tuberculosis* (Mycek, 2001). Dalam penelitian Dao dkk., (2004) menyebutkan bahwa dinding sel *M. tuberculosis* terdiri dari glikolipid dan asam lemak rantai panjang yang disebut asam mikolat. Asam mikolat yang penting untuk keberhasilan hidup *M. tuberculosis* dalam makrofag inilah yang akan dihambat pembentukannya oleh Isoniazid.

Meningkatnya penggunaan INH sebagai pengobatan TB, menyebabkan resiko efek samping yang ditimbulkan juga semakin tinggi. Penggunaan INH dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel-sel hati. Hal ini berkaitan dengan metabolisme INH dalam hati yang membentuk metabolit

soniazid mengalami proses metabolisme oleh enzim Sitokrom P450 metabolit reaktif yang dikenal dengan Mono Asetil Hidrazin (MAH).



Mekanisme INH dalam menyebabkan efek samping kerusakan sel-sel hati, melalui reaksi asetilasi dengan gugus hidrazid dari INH yang membentuk konjugat N-asetil dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim N-asetil transferase menjadi asetil-isoniazid. Selanjutnya, reaksi hidrolisis membentuk asam isonikotinat dan asetil hidrazin yang selanjutnya diubah oleh sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif Mono Asetil Hidrazin. Mono Asetil Hidrazin akan memacu asetilasi makromolekul dan menyebabkan kerusakan sel hati (Correira, 1994; Jussi, 2006). Kerusakan sel-sel hati, terjadi akibat pemberian INH dalam jangka waktu lama yang mampu memicu naiknya kadar serum Alanin aminotransferase (ALT).

Upaya pencarian obat TB terus dilakukan, seperti yang dilakukan oleh Arham, dkk., (2014) yang mensintesis senyawa La(III)-heptilmetil ditiokarbamat 2,9-dimetil fenantrolin yang memiliki sebagai antibakteri *Mycobacterium tuberculosis*, Carolina (2011) yang telah mensintesis senyawa kompleks Ni(II), Pr(III), dan Pt(IV) dengan Ditiokarbamat yang juga memiliki potensial sebagai anti TB dan Hasminisari (2011) telah mensintesis senyawa Pb(II)-heptilmetil ditiokarbamat yang juga dinilai efektif dalam menghambat perkembangan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Ion-ion logam akan bereaksi dengan ligan dan membentuk kompleks pada suhu dan pH tertentu (Lestari, 2014). Oleh karena itu, ada peluang perubahan efektivitas suatu obat dengan cara membuatnya menjadi senyawa kompleks dengan penambahan beberapa ion logam.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu diketahui pengaruh penambahan terhadap aktivitas INH sebagai obat anti tubekulosis, karena jika langsung



pada manusia masih sangat tabu dan memiliki prosedur hukum yang belum memungkinkan untuk dilaksanakan, maka dilakukanlah uji yaitu Lowenstein-Jensen (LJ) yang dikenal dengan uji kultur *M. tuberculosis* sebagaimana yang direkomendasikan oleh *International Union Against Tuberculosis* (IUAT) (Ariami, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka beberapa masalah akan ditemukan di dalam upaya peningkatan aktivitas obat INH dengan penambahan logam yang dirumuskan sebagai berikut:

1. apakah senyawa kompleks yang berasal dari ion logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} dengan ligan isoniazid dapat disintesis dan dikarakterisasi?
2. bagaimana potensi ion logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} yang dikomplekskan dengan ligan isoniazid sebagai anti tuberkulosis?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mensintesis senyawa kompleks dari ion logam (Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+}) dengan INH serta menguji aktivitas hasil sintesis terhadap *M. tuberculosis* dengan metode uji Lowenstein-Jensen.

1.3.2 Tujuan Maksud Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan, sebagai berikut:

mensintesis dan mengkarakterisasi senyawa kompleks dari ion logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} dengan INH.



2. mengamati dan mengklasifikasi aktivitas dari kompleks logam Mg^{2+} , Fe^{2+} , dan Zn^{2+} dengan INH terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode uji Lowenstein-Jensen.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. memberikan data ilmiah tentang metode sintesis senyawa kompleks dari ion logam logam Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} dengan INH.
2. memberikan kontribusi berharga bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang kimia anorganik sintesis.
3. Dapat menjadi rujukan dalam pengembangan senyawa kompleks yang berpotensi sebagai antituberkulosis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Penyakit Tuberkulosis

2.1.1 Definisi

Tuberkulosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*, yang merupakan kuman tahan asam (BTA). Dikenal ada dua tipe, yaitu tipe *humanus* dan tipe *bovinus*. Hampir semua kasus tuberkulosis disebabkan oleh tipe *humanus*, walaupun tipe *bovinus* dapat juga menyebabkan terjadinya tuberkulosis paru, namun hal itu sangat jarang sekali terjadi (Davies, dkk, 2008).

Kuman tersebut biasanya masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernafasan ke dalam paru. Kemudian kuman tersebut dapat menyebar dari paru ke bagian tubuh lain, melalui sistem peredaran darah, sistem saluran limfa, melalui saluran nafas atau penyebaran langsung ke bagian tubuh lainnya dan tuberkulosis paru merupakan bentuk yang paling banyak serta penting (Davies, dkk, 2008).

2.1.2 *Mycobacterium tuberculosis*

2.1.2.1 Klasifikasi

Garrity (2001) menyatakan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* merupakan jenis bakteri aerob yang hidup tenam di paru-paru manusia. Dalam klasifikasinya berdasarkan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2 Ed. dimasukkan ke dalam kelompok:



Domain	: Bacteria
<i>Phyllum</i>	: Actinobacteria
<i>Class</i>	: Actinobacteria
<i>Subclass</i>	: Actinobacteriadae
Ordo	: Actinomycetales
Sub ordo	: Corinebacteriaceae
Famili	: Mycobacteriaceae
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Spesies	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

2.1.2.2 Morfologi

Utji dan Harun (1994) mengatakan pada jaringan tubuh bakteri tuberkulosis berbentuk batang halus berukuran 3 x 0,5 pm dilihat pada Gambar 1, dapat juga terlihat seperti berbiji-biji. Pada pembedahan, berbentuk koloid dan berfilamen, tidak berspora dan tidak bersimpai. Pada pewarnaan Zeil Neelsen dan Tan Thiam Hok, berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru. Pada pewarnaan fluorokrom bakteri berfluoresensi dengan warna kuning jingga.

Pembedahan dengan media cair, pertumbuhan bakteri akan merata pada seluruh medium dan lebih cepat, sedangkan pada perbenihan padat pertumbuhan tampak setelah 2-3 minggu. Ciri koloni cembung, kering dan warnanya kuning

(Utji dan Harun, 1994).





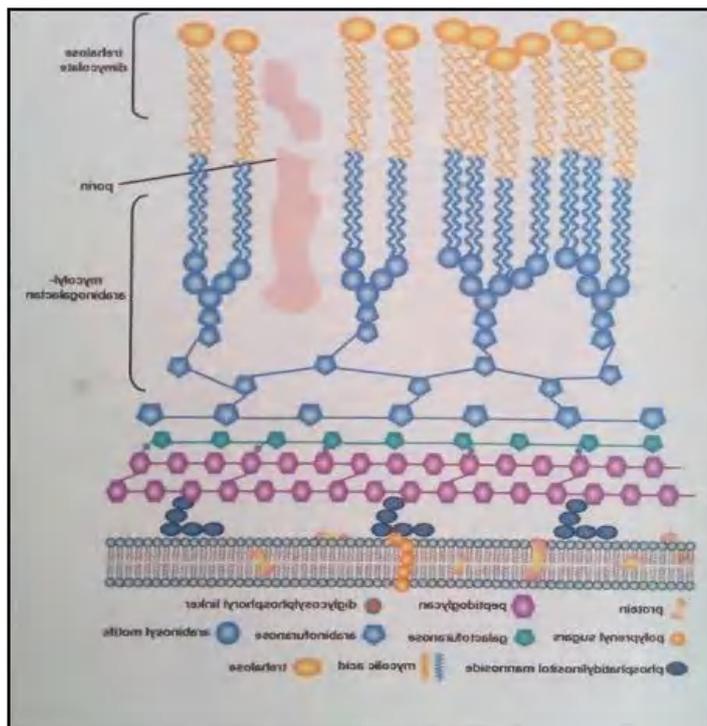
Gambar 1. Struktur Morfologi *M. tuberculosis* (Goldstein, 2011).

2.1.2.3 Sifat Biokimia dan Fisiologi

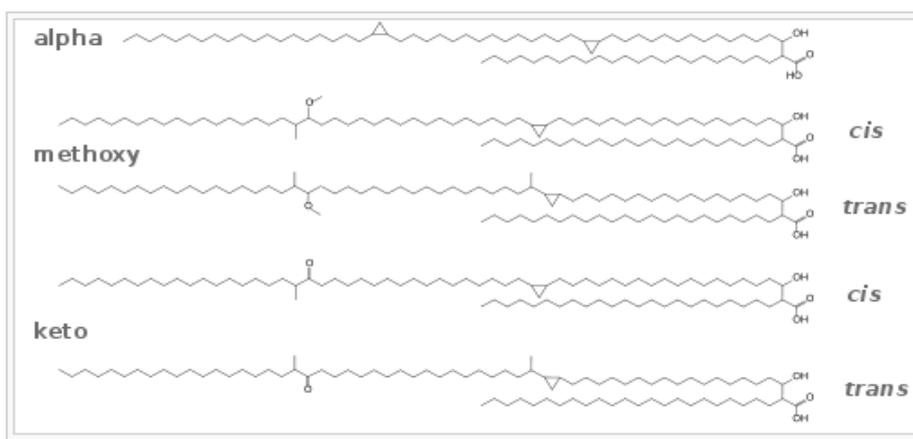
Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri aerob obligat dan mendapatkan energi dari oksidasi berbagai senyawa karbon. Aktivitas biokimia tidak khas dan laju pertumbuhannya lebih lambat dari bakteri lain. Waktu penggandaan basil *Mycobacterium tuberculosis* adalah sekitar 20 jam. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37 °C (Utji dan Harun, 1994).

Mycobacterium tuberculosis cenderung lebih resisten terhadap faktor kimia dari pada kuman lain, sebab sifat hidrofobik permukaan sel. Sifat hidrofobik permukaan sel ini mengakibatkan pertumbuhannya cenderung bergumpal atau berkelompok. Zat warna hijau malakit, alkali dan arsen dapat membunuh bakteri lain selain *Mycobacterium tuberculosis*. Phenol 5% dapat membunuh basil ini selama 24 jam untuk bakteri dalam sputum dan 1 menit bakteri dalam media kultur. Alkohol 70% dapat membunuh basil ini dalam waktu 5 samapi 30 menit (Brooks, 2001).





Gambar 2. Struktur dinding sel *M. tuberculosis* (McClellan, 2007).



Gambar 3. Struktur Asam mikolat (Takayama dkk, 2005)

2.1.2.4 Struktur Antigen

Antigen mikobakteria berupa unsur-unsur yang terdapat dalam dinding dapat merangsang hipersensitifitas lambat, merangsang suatu kekebalan infeksi. Jenis antigen terdiri dari lipid, protein dan polisakarida (McClellan, 2001).



Dinding *Mycobacterium tuberculosis* banyak mengandung lemak yang terdiri dari asam mikolat, lilin dan fosfolipida. Lipid dalam batas tertentu bertanggung jawab terhadap sifat tahan asam bakteri. Sifat tahan asam ini dapat dihilangkan dengan asam panas dan eter. Tiap tipe mikobakteria mengandung beberapa protein yang menimbulkan reaksi tuberkulin. Protein yang terikat pada lilin bila disuntikan dapat merangsang sensitivitas terhadap tuberkulin. Zat tersebut dapat pula menimbulkan pembentukan berbagai antibodi. Dinding *Mycobacterium tuberculosis* mengandung berbagai polisakarida yang dapat merangsang timbulnya hipersensitivitas dan dapat mengganggu beberapa reaksi antigen in vitro (Brooks, 2001).

2.1.2.5 Identifikasi

Tidak semua basil tahan asam yang diasingkan Lowenstein-Jensen atau Ogawa adalah *Mycobacterium tuberculosis*. Perlu dilakukan diidentifikasi lebih lengkap untuk membedakan spesies. Dasar dari pemeriksaan identifikasi adalah waktu pertumbuhan, pembentukan pigmen, tes biokimia dan suhu pertumbuhan (Utji dan Harun, 1994)

Fujiko (2002) dan Aditarna (2004) menyatakan bahwa ciri-ciri utama *Mycobacterium* dan kelompok *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT) atau kelompok runyon di media Ogawa adalah:

a. *Mycobacterium tuberculosis*

Pada media Ogawa menunjukkan sifatnya yang kering, rapuh,

permukaan tidak rata, pertumbuhan eugenik dan warna kekuning-



kuningan. Ketahanan asamnya ada, tingkat pertumbuhan lambat, pigmentasi lebih dari 99% negatif dan tes niasin lebih dari 90% positif.

b. Kelompok I Runyon (fotokromogen)

Warna koloni krem jika tidak kena cahaya, bila terkena cahaya koloni akan berubah jadi kuning lemon. Dibutuhkan waktu lebih dari 7 hari untuk pertumbuhan yang dapat dilihat. Contoh koloni yang memiliki ciri tersebut adalah *M. kansasii*.

c. Kelompok II Runyon (skotokromogen)

Koloni mempunyai pigmen *orange* walaupun tumbuh di dalam gelap. Dibutuhkan waktu lebih dari 7 hari untuk pertumbuhan yang dapat dilihat. Contoh koloni yang memiliki ciri tersebut adalah *M. gordonae*.

d. Kelompok III Runyon (nonfotokromogen)

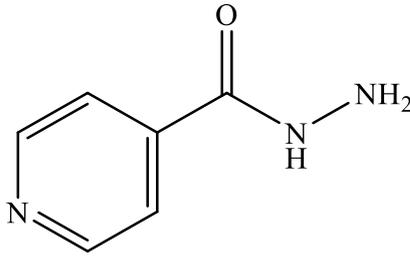
Koloni tidak berpigmen, baik ketika diinkubasi di dalam gelap maupun setelah penyinaran. Pertumbuhan akan mulai terlihat setelah lebih dari 7 hari. Contoh koloni yang memiliki ciri tersebut adalah *M. intracelluler*.

e. Kelompok IV Runyon (tumbuhnya cepat)

Koloni tampak dalam 7 hari. Beberapa koloni yang tua warnanya kehijauan karena menyerap hijau malakit dari media telur. Contoh koloni yang memiliki ciri tersebut adalah *M. chelonae*.



2.2 Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Isoniazid (INH)



Gambar 4. Struktur Isoniazid (Timmins dan Vojo, 2006)

Isoniazid (INH) atau *isonicotinic acid hydrazide*, *4-pyridinecarboxylic acid hydraze* mempunyai rumus kimia $C_6H_7N_3O$ (BM 137,1). INH berbentuk kristal tidak berwarna atau serbuk kristal putih, mempunyai kelarutan 1 bagian dalam 8 bagian air; 1 bagian dalam 45 bagian etanol; dan 1 bagian dalam 1000 bagian kloroform; praktis tidak larut dalam benzen dan eter. Dalam larutan asam, INH memberikan serapan UV pada panjang gelombang 266 nm dan dalam larutan alkali memberikan serapan pada panjang gelombang 298 nm (Moffat, 2005). INH adalah bentuk asam hidrazid isonikotinat dan dapat disterilisasi dengan *autoclave* atau dengan filtrasi (Martindale, 1982). INH dapat bersifat tuberkulositik maupun tuberkulostatik tergantung dosisnya (Jawetz, 1996).

INH adalah obat anti TB lini pertama yang telah digunakan sejak tahun 1952 dalam pengobatan dan pencegahan tuberkulosis. INH biasa diberikan sebagai terapi tunggal untuk profilaksis maupun sebagai kombinasi dengan Obat Anti Tuberkulosis lain. Isoniazid merupakan salah satu OAT yang

efek paling kuat terhadap *M. tuberculosis* (Weisiger, 2007).



Isoniazid memiliki struktur sederhana dengan cincin piridin dan grup hidrazid (McDermott, 1958). Mekanisme kerja secara lengkap dari INH belum diketahui secara pasti. Tetapi ada beberapa hipotesis tentang hal ini, diantaranya adalah INH bekerja pada enzim yang berperan pada penyusunan asam mikolat yang merupakan komponen dinding bakteri (Mycek, 2001). INH dalam kadar rendah mencegah perpanjangan rantai asam lemak yang sangat panjang yang merupakan bentuk awal molekul asam mikolat. Obat ini dapat berdifusi ke dalam jaringan dan cairan tubuh termasuk cairan serebrospinal dan cairan pleura. Kadar obat pada mulanya lebih tinggi dalam plasma dan otot daripada jaringan yang terinfeksi. Kemudian obat tertinggal lama di jaringan yang terinfeksi dalam jumlah yang cukup besar sebagai bakteristatik (Istiantoro dan Setiabudy, 2007).

INH termasuk obat yang bersifat bakterisid, dimana INH membunuh cepat bakteri yang sedang aktif bermultiplikasi. INH merupakan OAT yang bersifat *prodrug* dimana obat ini akan diubah menjadi metabolit aktifnya di dalam sel agar menjadi substansi yang toksik untuk sel mikrobakterial (Brunton dkk, 2008; Pym dan Cole, 2008; Debbie dan Roga, 2004). Mekanisme kerja INH adalah menghambat jalur biosintesis dinding sel. INH yang telah aktif akan menghambat biosintesis asam mikolat yang merupakan unsur penting pembentukan dinding sel mikrobakterial (Crick, 2004; Palomino, 2007).

INH mudah diabsorpsi baik pada pemberian peroral atau parenteral.

Pemberian dosis lazim (5mg/kgBB/hari) menghasilkan konsentrasi puncak

5-10 µg/ml dalam 1-2 jam. INH berdifusi segera dalam seluruh cairan dan jaringan. Konsentrasi di susunan saraf pusat dan cairan



serebrospinal \pm 1/5 dari kadar plasma (Jawetz, 1998). Saat INH dikonsumsi bersama makanan akan menurunkan kecepatan absorpsi dan kadar puncak obat. Konsentrasi minimal tuberkulostatik INH yaitu 0,025-0,05 $\mu\text{g/mL}$, dan konsentrasi puncak INH pada pemberian dosis 300 mg per oral adalah 3-5 $\mu\text{g/mL}$ yang dapat dicapai dalam waktu 1-2 jam setelah pemberian obat (Petri, 2006).

Metabolisme utama isoniazid adalah melalui asetilasi di hati oleh enzim N-asetil transferase yang menghasilkan asetilhidrazin. Kecepatan metabolisme ini dipengaruhi oleh faktor genetik yang secara bermakna mempengaruhi kadar obat dalam plasma dan masa paruhnya. Antara 75-95% isoniazid diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam dan hampir seluruhnya dalam bentuk metabolit. Ekskresi utama dalam bentuk asetil isoniazid yang merupakan metabolit proses asetilasi dan asam nikotinat yang merupakan metabolit proses hidrolisis. Sejumlah kecil ekskresi obat ini dalam bentuk isonikotinil glisin, isonikotinil hidrazon, dan N-metilisoniazid (Istiantoro dan Setiabudy, 2007).

Isoniazid mempunyai dua efek toksik utama yaitu hepatotoksik dan neuritis perifer. Pasien yang menerima Isoniazid dapat mengalami peningkatan transaminase serum sampai 12%. Hepatotoksisitas yang bermakna secara klinis jarang terjadi. Idealnya perlu pemantauan kadar transaminase pada dua bulan pertama terapi (Rahajoe, 2005). Mekanisme

dimungkinkan karena monoasetilhidrazin, suatu metabolit isoniazid dapat menyebabkan kerusakan hati (Rahajoe, 2005).



2.3 Metode Uji Aktivitas Tuberkulosis Lowenstein-Jensen (LJ)

Kultur bakteri tuberkulosis pertama kali diperkenalkan oleh Lowenstein pada tahun 1931 dan dimodifikasi oleh Jensen pada tahun 1932 untuk kemudian dipergunakan sebagai uji penghambatan perkembangan bakteri tuberkulosis melalui penambahan bahan tertentu. Uji daya hambat bakteri dengan metode Lowenstein-Jensen lebih efektif dibanding uji lain yang serupa misalnya Ogawa. Hal ini berdasarkan uji kecepatan kultur sputum *Mycobacterium tuberculosis* pada media Ogawa dan media LJ (Ariami, 2014).

Komposisi media Lowenstein-Jensen dalam 600 ml air mengandung, Asparagin 3,60 g, *Monopotassium phosphate* 2,50 g, *Magnesium citrate* 0,50 g, Magnesium sulfat 0,24 g, Tepung kentang 30,00 g, *Malasit green* 0,40 g, telur (*fresh whole*) 100,00 mL, Gliserol 12,00 g. Media LJ berbentuk padatan berwarna biru-hijau yang tidak transparan dengan pH berkisar antara 4,6 - 5 (Merck, 2006).

Media LJ dibuat dengan cara disuspensikan sebanyak 37,5 g bubuk LJ dalam 600 mL air murni berisi 12 mL gliserol. Jangan menambahkan gliserol jika tuberkulum basil tipe bovine atau organisme *glycerophobic* lainnya, lalu diaduk hingga rata. Kemudian dipanaskan sampai media mendidih. Lalu dimasukkan ke dalam autoklaf dengan 121 °C selama 15 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu 50 °C. Sementara itu, disiapkan 1.000 mL telur yang dikumpulkan aseptik dan dicampur secara merata tanpa ada gelembung udara. Lalu hasil campuran dimasukkan ke dalam wadah steril yang bertutup tabung. Tabung diatur dalam pendinginan, dibiarkan mengental pada suhu 85 °C selama 45 menit. Untuk memastikan kesterilan bahan dilakukan pemanasan selama 24 jam (Merck, 2006).



2.4 Unsur Ion Logam

2.4.1 Magnesium (Mg)

Magnesium adalah salah satu jenis logam yang dikategorikan logam ringan, diantara beberapa logam ringan yang biasa digunakan dalam struktur. Unsur magnesium ditemukan pada tahun 1808 di Inggris oleh Sir Humphrey Davey, pertama kali diproduksi oleh Deville dan Caron di Perancis pada tahun 1863. Magnesium termasuk unsur yang berlimpah yang ada di bumi, sekitar 2% terdapat pada kulit bumi dan terlarut di dalam air dengan konsentrasi rata-rata 0,13%. Magnesium ditemukan dalam 60 jenis mineral, di antaranya dolomit, magnesit, dan carnality yang biasa dijadikan produk komersial (Padmanaban, 2011).

2.4.2 Besi (Fe)

Besi merupakan salah satu unsur dengan symbol Fe, memiliki nomor atom 26, massa atom 55,85 g/mol, konfigurasi elektron $[Ar]3d^64s^2$ dan terletak pada golongan VIIIB unsur transisi di dalam tabel periodik. Besi yang murni adalah logam berwarna putih perak yang melebur pada suhu 1535 °C. besi yang murni jarang ditemui, biasanya besi mengandung sejumlah kecil karbida, silida dan sulfida, serta sedikit grafit. Zat-zat tersebut memainkan peran penting dalam kekuatan struktur besi. Asam klorida encer atau pekat dan asam sulfat encer dapat melarutkan logam besi yang menghasilkan besi(II) dan gas hidrogen.

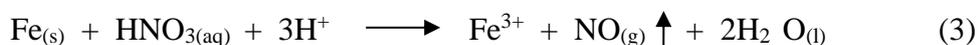


Asam klorida pekat yang panas akan menghasilkan ion-ion besi(III) dan belerang





Asam nitrat pekat yang panas akan melarutkan besi dengan membentuk gas nitrogen dan ion besi(III).



Besi membentuk dua deret garam yang penting. Garam besi(II) atau ferro diturunkan dari besi(II) oksida, dalam larutan garam-garam ini mengandung kation Fe^{2+} dan berwarna sedikit hijau (Svehla, 1985).

Zat besi merupakan mikronutrien esensial dalam memproduksi haemoglobin yang berfungsi dalam pengangkutan oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, pengangkutan elektron dalam sel dan sintesis enzim (Nasution, 2004). Kekurangan zat besi pada anak dapat menghambat pertumbuhan dan kecerdasan anak serta dapat menyebabkan anemia (kekurangan darah). Kekurangan zat besi sering terjadi selama masa kehamilan karena sejumlah besar zat besi harus disediakan ibu untuk pertumbuhan janin, selain itu anak perempuan juga membutuhkan zat besi lebih banyak daripada anak laki-laki. Hal tersebut disebabkan karena pada usia tertentu anak perempuan biasanya sudah mulai haid sehingga memerlukan zat besi yang lebih banyak (Depkes RI, 2011).

2.4.3 Zink (Zn)

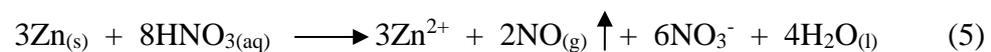
Zink merupakan salah satu unsur dengan symbol Zn, memiliki nomor atom 30, massa atom 65,37 g/mol, konfigurasi electron $[\text{Ar}]3d^{10}4s^2$ dan terletak pada golongan IIB unsur transisi di dalam table periodic. Seng adalah logam yang putih kebiruan yang sangat mudah ditempa. Seng liat pada suhu 110-
melebur pada suhu 410 °C dan mendidih pada suhu 906 °C. Logam seng
larut lambat dalam asam maupun basa. Adanya zat-zat pencemar atau



kontak dengan platinum atau tembaga, yang dihasilkan dari penambahan beberapa tetes larutan garam dari logam platinum atau tembaga, dapat mempercepat reaksi. Hal tersebut menjelaskan mengapa seng komersial dapat larut dengan mudah dalam larutan asam klorida encer atau asam sulfat encer dengan mengeluarkan gas hidrogen.



Asam nitrat pekat akan membentuk ion-ion seng(II) dan nitrogen oksida (NO).



Asam nitrat pekat mempunyai pengaruh yang kecil terhadap seng, karena rendahnya kelarutan seng nitrat. Dengan asam sulfat pekat seng akan larut dan melepaskan belerang oksida.



Seng membentuk hanya satu seri garam, garam-garam ini mengandung kation seng(II) yang diturunkan dari seng oksida, ZnO (Shehla, 1985). Logam seng memiliki sifat fisik dan sifat kimia yaitu berat molekul 161,4 mengandung 1 atau 7 molekul hidrat, hablur transparan dan berbentuk jarum-jarum kecil, serbuk hablur atau butir tidak berwarna dan tidak berbau. Larutan memberikan reaksi asam pada lakmus, konsentrasi Zn lebih besar dari 5 mg/L di dalam air dapat menyebabkan rasa pahit. Seng dalam air juga mungkin dihasilkan dari sisa racun industri (Dirjen POM, 2995).

Mulyaningsih (2009) menyatakan bahwa pada manusia seng merupakan logam esensial yang dibutuhkan manusia dalam jumlah kecil, yaitu kurang dari

hari, yang sangat berperan bagi metabolisme tubuh. Seng dapat memfasilitasi aktivitas 100 macam enzim dan terlibat sebagai kofaktor pada 200



jenis enzim lainnya yang terlibat dalam sejumlah besar enzim yang mengkatalisis reaksi metabolic yang vital. Kekurangan asupan Zn dapat menyebabkan rendahnya system imunitas dalam tubuh manusia (Nasution, 2004).

Defisiensi seng telah banyak dilaporkan antara lain di Iran dan Mesir pada awal tahun 1960-an, di Turki, Portugal, Maroko dan Yugoslavia yang penyebab utamanya adalah menderita kekurangan makanan. Menu makanan anak-anak dari negara tersebut tidak mengandung protein hewani, tetapi seluruhnya terdiri dari roti, kacang-kacangan serta roti gandum atau roti jagung. Akibatnya anak-anak tersebut menjadi kerdil, bermasalah dengan organ reproduksi, hati dan ginjal membengkak serta terjadi gejala anemia gizi besi (Winarmo, 2004). Defisiensi ringan terhadap seng juga terjadi di Amerika yang disebabkan oleh kaum vegetarian, kecanduan alkohol, penyakit liver dan ginjal. Selain itu defisiensi seng disebabkan pula karena kesalahan diet nutrisi, kehamilan, laktasi dan proses penuaan (Darmono, 2001).

Seng merupakan komponen yang penting dari berbagai enzim, paling sedikit 25-20 metaloenzim mengandung seng. Kebutuhan gizi yang dianjurkan bagi seng adalah 3-5 mg/hari untuk bayi, 10 mg/hari untuk anak-anak dan 15 mg/hari untuk orang dewasa. Tambahan sebanyak 5 mg/hari (total 20 mg/hari) direkomendasikan selama kehamilan dan tambahan 10 mg/hari (total 25 mg/hari) untuk ibu selama menyusui. Kebutuhan seng pada anak bertambah pada saat mereka memasuki masa remaja (Muchtadi, 1993).

