

POTENSI 2-(FENILETIL)-OKTANOAT DALAM PENINGKATAN SENSITIVITAS ANTIBIOTIK INH, SM DAN ETA TERHADAP *M.tuberculosis* STRAIN H37Rv

Noviar Syamsuryah S, Sulistiani Jarre, Nur Asmi

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Email: noviarsyamsuryahs@yahoo.com

Email: sulistiani.jarre@yahoo.com

Email: n.asmi@rocketmail.com

Abstrak

Sintesis 2-feniletil oktanoat dari 2-fenil etanol dan asam oktanoat menggunakan metode refluks Dean Stark Trap dengan variasi perbandingan konsentrasi. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas 2-feniletil-oktanoat terhadap peningkatan sensitivitas antibiotik Isoniazid, Streptomisin dan Etionamid pada M.tuberculosis strain H37Rv dengan metode Minimum Inhibitor Concentration (MIC) menggunakan medium MGIT.

Key word: 2-feniletil-oktanoat, M. tuberculosis, antibiotik, MIC.

1. PENDAHULUAN

Tuberculosis adalah penyakit infeksi yang terutama disebabkan oleh *mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis ditularkan melalui pernapasan yang dihembuskan penderitanya, dan kemudian dihisap oleh orang lain (Martony dan Rendro,2005).

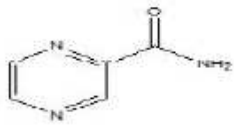
Resistensi obat pada Tuberkulosis (TB) menjadi kesulitan utama pada pengobatan TB. Berdasarkan peningkatan dari aktivitas tuberkulosis, maka ditemukan suatu metode yang berguna menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Metode tersebut dikenal dengan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah bahan antimikrobia yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara kasat mata. Resistensi pada kuman TBC juga memacu perkembangan penelitian obat antituberkulosis. Sebelumnya telah ditemukan senyawa ester *prodrug* yang dapat berfungsi sebagai antituberkulosis dengan konsentrasi daya hambat $\pm 90 \%$ (Foroumadi dkk, 2006, Mao dkk, 2010).

Berdasarkan ulasan di atas, diketahui bahwa suatu ester tertentu dapat berperan sebagai obat antituberkulosis baik dalam bentuk ester sebenarnya maupun dalam bentuk kombinasi dengan obat antituberkulosis lainnya. Adapun senyawa 2-(feniletil)-butirat dan etionamid diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* H37Rv (Weber dkk, 2008). Maka pada penelitian ini, dilakukan sintesis senyawa 2-(feniletil)-oktanoat untuk meningkatkan sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *M. tuberculosis* di mana antibiotik yang digunakan tergolong obat lini pertama yaitu isoniazid (INH) dan streptomisin dan lini kedua yaitu etionamid (ETA).

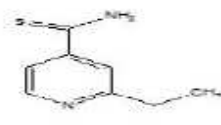
Mycobacterium tuberculosis, pertama kali ditemukan oleh Robert Koch tahun 1882, termasuk Ordo *Actinomycetales*, Familia *Mycobacteriaceae*, Genus *Mycobacterium* dan mempunyai banyak spesies. Penyakit yang ditularkan oleh basil tersebut dikenal dengan sebutan TBC atau Tb-paru. Kuman TBC masuk ke

paru-paru melalui pernafasan (aerosol) (Girsang, 2002).

Isoniazid (INH) adalah obat antituberkulosis yang paling poten. INH (Gambar 1) bekerja pada enzim yang berperan dalam penyusunan asam mikolat (Mycek dkk, 2001). Sebagian besar basil-basil tuberkel dihambat oleh streptomisin (Gambar 3), *in vitro*. Seluruh populasi basil-basil tuberkel mengandung beberapa mutan yang resisten-streptomisin (Katzung, 2004).

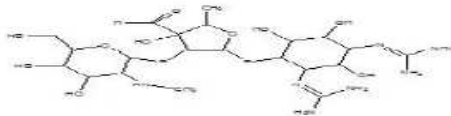


Gambar. 1 Isoniazid



Gambar. 2

Etionamid



Gambar. 3 Streptomisin

Etionamid (Gambar 2) secara kimia berhubungan dengan isoniazid. Etionamid bekerja dengan cara menghambat sintesis protein, menghambat biosintesis asam mikolat dan mempengaruhi membran sel. (Arbex dkk, 2010; Katzung, 2004). Konsentrasi hambat minimum (MIC) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme terlihat setelah inkubasi semalam. MIC paling sering digunakan sebagai alat penelitian untuk menentukan aktivitas *in vitro* antimikroba baru (Andrews, 2001).

Reaksi esterifikasi adalah reaksi kesetimbangan, salah satu teknik untuk mencapai reaksi ke arah ester adalah

menggunakan salah satu zat pereaksi yang murah secara berlebihan. Teknik lain adalah membuang salah satu produk dari dalam campuran reaksi misalnya dengan destilasi air secara azeotropik (Fessenden dan Fessenden, 1982).

2. METODE

a. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah asam oktanoat p.a (Merck), 2-feniletanol p.a (Merck), H₂SO₄ p.a., Benzen, NaHCO₃ 5%, Na₂SO₄ anhidrat p.a, akuades, streptomisin, isoniazid, etionamid, BD BBLTM MGITTM AST SIRE System, medium midlebrook dan kultur *M. tuberculosis* H37Rv.

b. Alat Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah labu alas bulat leher tiga, kondensor, termometer 100oC, thermometer 200oC, aspirator air, penangas air, penangas minyak, statif + klem, neraca analitik, refraktometer ATAGO, FTIR SHIMADZU, NMR JEOL, *heating stirrer*, pipet mikro, lampu UV, almari steril, inkubator, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

c. Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan pada tahun 2013 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin dan Laboratorium NECHRI Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo.

d. Metode Pendekatan

1. Sintesis 2-feniletil oktanoat

Sebanyak 0,050 mol senyawa 2-feniletanol, asam oktanoat 0,100 mol, dan H₂SO₄ pekat 20 tetes dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher tiga yang dilengkapi dengan kondenser udara dan termometer 350 °C. Campuran ditambahkan benzena secukupnya, diaduk dan direfluks dengan menggunakan Dean Stark Trap. Campuran

didinginkan dalam ice bath, kemudian dicuci dengan campuran 20 mL aquadest, kemudian dicuci dengan 20 mL NaHCO₃ 5 %, lalu dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat, didekantasi lalu didestilasi. Distilat yang diperoleh diukur indeks biasanya dengan refraktometer. Hasil yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer FTIR dan H-NMR. Prosedur ini diulangi dengan menggunakan perbandingan 0,100 mol 2-feniletanol dan 0,050 mol asam oktanoat (2:1), 0,15 mol 2-feniletanol dan 0,05 mol asam oktanoat (3:1) serta 0,05 mol 2-feniletanol dan 0,15 mol asam oktanoat (1:3).

Inokulum *M. tuberculosis*

Kultur *M. tuberculosis* H37Rv ditumbuhkan ditumbuhkan pada media cair Middlebrook 7H9 dengan kompleks OADC pada 37°C dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan 4 mL PBS lalu dimasukkan dalam tabung steril.

Metode Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Uji dengan media MGIT diawali dengan memberi label pada 9 tabung MGIT yang telah berisi masing-masing 4 mL BBL Middlebrook 7H9 Broth ditambah 500 µL OADC dan 500 µL inokulum. Tabung A ditambahkan 1 mL

DMSO, tabung B ditambahkan dengan 450 µL SM 10 µg/mL dan 550 µL DMSO (konsentrasi akhir SM 0,75 µg/mL), tabung C ditambahkan dengan 600 µL SM 10 µg/mL dan 400 µL DMSO (konsentrasi akhir SM 1 µg/mL), tabung D ditambahkan dengan 0,15 µL 2-feniletil oktanoat dan 1 mL DMSO (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 0,1 mM), tabung E ditambahkan dengan 450 µL SM 10 µg/mL, 550 µL DMSO dan 0,15 µL 2-feniletil oktanoat (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 1 mM; SM 0,75 µg/mL), tabung F ditambahkan dengan 600 µL SM 10 µg/mL, 400 µL DMSO dan 0,15 µL 2-feniletil oktanoat (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 1 mM; SM 1 µg/mL),

tabung G ditambahkan dengan 0,30 µL 2-feniletil oktanoat dan 1 mL DMSO (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 0,2 mM), tabung H ditambahkan dengan 450 µL SM 10 µg/mL, 550 µL DMSO dan 0,30 µL 2-feniletil oktanoat (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 0,2 mM; SM 0,75 µg/mL), tabung I ditambahkan dengan 600 µL SM 10 µg/mL, 400 µL DMSO dan 0,30 µL 2-feniletil oktanoat (konsentrasi akhir 2-feniletil oktanoat 0,2 mM; SM 1 µg/mL). Tabung selanjutnya ditutup rapat, dikocok, bagian luar tabung dibersihkan dengan desinfektan tuberkulosidal, dan diinkubasi pada temperatur 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengamati tabung MGIT di bawah sinar UV, pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari adanya fluorosensi tabung di bawah sinar UV akibat berkurangnya kadar oksigen di dalam tabung yang diakibatkan oleh pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Pengamatan dilakukan setiap hari mulai hari ke-3 sampai hari ke-14. Setelah itu dilakukan pewarnaan untuk memastikan yang tumbuh adalah bakteri TB. Dilakukan hal yang sama untuk INH konsentrasi akhir 1 dan 2 µg/mL dengan konsentrasi 2-feniletil oktanoat 0,1 mM dan 0,2 mM. Untuk ETA konsentrasi akhir 0,5 dan 0,75 µg/mL dengan konsentrasi 2-feniletil oktanoat 1mM dan 2 mM.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis dengan perbandingan mol 1:2

Sintesis 2-feniletil oktanoat dari 0,05 mol (5,97 mL) 2-feniletanol ditambahkan dengan 0,1 mol (15,84 mL) asam oktanoat lalu ditambahkan benzene kemudian di reflux dengan metode dean stark trap. Suhu reflux 86°C.

Hasil refluks berupa larutan berwarna kuning bening. Hasil reflux kemudian didinginkan dengan *ice bath*. Larutan berubah menjadi agak keruh kemungkinan disebabkan oleh adanya asam lemak dalam hal ini asam oktanoat yang membeku. Kemudian dicuci dengan akuades dan NaHCO₃ 5 % masing-masing 4 x 5 mL.

Selanjutnya hasil refluks dikeringkan dengan Na_2SO_4 . Rendamen yang diperoleh sebesar 82,54 %.

Sintesis dengan perbandingan mol 2:1

Sintesis 2-feniletil oktanoat dari 0,1 mol (11,94 mL) 2-feniletanol ditambahkan dengan 0,05 mol (7,92 mL) asam oktanoat kemudian di refluks.

Berbeda dengan sintesis sebelumnya, pada sintesis ini suhu refluks 95 °C dan berwarna kuning. Setelah dimurnikan dengan distilasi vakum dan dikarakterisasi dengan refraktometer, diperoleh rendemen sebesar 25,92%.

Pemurnian dan Karakterisasi

Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan distilasi vakum. Penangas yang digunakan adalah penangas minyak karena titik didih senyawa hasil sintesis tinggi yaitu 296°C begitu juga dengan asam Oktanoat dan 2-fenil etanol sebagai reaktan titik didihnya juga diatas 200 oC. Distilasi dilakukan dalam keadaan vakum untuk menurunkan titik didih senyawa hasil sintesis namun karena keterbatasan alat dalam laboratorium maka besarnya penurunan tekanan tidak dapat diketahui sehingga penurunan titik didih senyawa tidak dapat dihitung. Kondensor yang digunakan adalah kondensor udara. Distilat yang dihasilkan untuk sintesis dengan perbandingan mol 1:2, diperoleh 3 distilat dengan suhu uap mulai dari 43-85 °C. Selanjutnya 3 distilat dikarakterisasi dengan refraktometer. Pada sintesis dengan perbandingan mol 2:1, diperoleh 3 distilat yang dihasilkan dengan suhu uap 65-148 °C, distilat ini di karakterisasi dengan refraktometer.

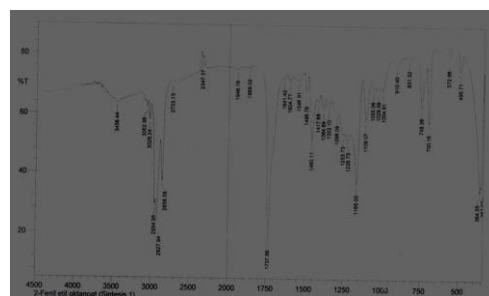
Karakterisasi

Tiga distilat hasil sintesis dengan perbandingan mol 1:2 dikarakterisasi dengan mengukur indeks biasanya menggunakan refraktometer. Hasilnya berturut-turut distilat

1: 1,4330; distilat 2: 1,4330; distilat 3: 1,4710 masing-masing pada 28°C . Jika dibandingkan dengan teori, yang paling mendekati adalah distilat 3.

Secara teori indeks bias 2-feniletil oktanoat adalah 1,4790 pada 20 oC. Hasil pengukuran indeks bias untuk sintesis dengan perbandingan mol 2:1 berturut-turut distilat 1: 1,5075; distilat 2:1,4830; distilat 3: 1,4790 masing-masing pada 28°C. Jika dibandingkan dengan teori, yang paling mendekati adalah distilat 3. Secara teori indeks bias 2-feniletil oktanoat adalah 1,4790 pada 20 °C. Hasil pengukuran indeks bias untuk sintesis dengan perbandingan mol 3:1 berturut-turut distilat 1: 1,5225; distilat 2: 1,5122; distilat 3: 1,5014 masing-masing pada 28,4°C. Jika dibandingkan dengan teori, distilat yang dihasilkan masih belum murni, karena itu dilakukan pengulangan.

Karakterisasi untuk sintesis dengan perbandingan mol 1:2 dan 2:1 telah mendekati kemurnian jika dibanding dengan sintesis pada perbandingan mol 3:1 dan 1:3. Karena itu untuk mengetahui kemurnian dari senyawa hasil sintesis dengan perbandingan mol 1:2 dan 2:1 adalah benar senyawa ester 2-feniletil oktanoat dilakukan lagi karakterisasi dengan spektrofotometer IR, adapun datanya sebagai berikut:



Gambar 4. Hasil FTIR senyawa ester hasil sintesis.



Gambar 5. Hasil Sintesis

4. KESIMPULAN

Pada tahapan sintesis perbandingan (1:2) atau dengan konsentrasi asam yang lebih besar diperoleh rendamen reaksi sebanyak 82,54%. Sintesis (2:1) dengan rendamen sebesar 25,92%. Pengaruh ester 2-feniletil oktanoat hasil sintesis dengan kombinasi antibiotic terhadap *M.tuberculosis* belum dapat diketahui.

5. REFERENSI

- Andrews, J. M., 2001, Determination of Minimum Inhibitory Concentrations, *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*, **48** (1), hal. 5-16.
- Fessenden, R. J. dan Joan S. Fessenden, 1982, *Kimia Organik* Jilid 2, diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta.
- Foroumadi, A., Kargar, Z., Sakhteman, A., Sharifzadeh, Z., Feyzmohammadi, R., Kazemi, M., dan Abbas Shafiee, 2006, Synthesis and antimycrobacterial activity of some alkyl [5-(nitroaryl)-1,2,4-thiadiazol-2-ylthiol]propionates, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16** (5), hal. 1164-1167.
- Girsang, M., 2002, Pengobatan Dasar Penderita TBC, *Cermin Dunia Kedokteran*, No.137, hal 6-8.
- Katzung, 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik* Buku 3 Edisi 8, diterjemahkan oleh Bagian Farmakologi Fakultas

Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.

- Martony, O. dan Hendro, 2006, Efektivitas Pengobatan Strategis Dots dan Pemberian Telur Terhadap Penyembuhan dan Peningkatan Status Gizi Penderita TB Paru di Kecamatan Lubuk Pakam Tahun 2005, *Jurnal Ilmiah PANNMED*, Vol.1 No 1, hal 38-43.
- Mao, J., Yuan, H., Wang, Y., Wan, B., Pak, Dennis, He, R., dan Scott G. Franzblau, 2010, Synthesis and antituberculosis activity of novel mefloquine-isoxazole carboxylic esters as prodrugs, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20** (3), hal. 1263-1268.
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C., dan Bruce D. Fisher, 2001, *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*, diterjemahkan oleh Prof. dr. H. Azwar Agoes, Widya Medika, Jakarta.
- Weber, W., Schoenmakers, R., Keller, B., Gitzinger, M., Grau, T., Baba, M., M., Sander, P., dan Martin Fussenegger, 2008, A Synthetic Mammalian Gene Circuit Reveals Antituberculosis Compounds, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105** (29), hal 9994-9998.