

PENETAPAN KURVA STANDAR SENYAWA TETRA HIDROXY ETHYL DISULPHATE (THES) DALAM PLASMA MARMUT (*Cavia porcellus*) MENGGUNAKAN KCKT

Tuti Handayani Zainal, Elly wahyudin dan Yusnita Rifai

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

ABSTRAK

Tetra hydroxy ethyl disulphate (THES) merupakan kandidat obat baru sebagai antibiotik yang memiliki mekanisme kerja yaitu ligan sulfat yang ada pada THES akan mengikat peptidoglikan yang ada pada dinding sel bakteri menyebabkan kerusakan pada membran dinding sel bakteri. Senyawa THES ini sangat potensial untuk mengatasi resistensi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kurva regresi linier dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan pada bulan Mei- September 2018. Penelitian ini menggunakan marmut jantan dengan bobot 400-600 gram. Pengambilan plasma darah marmut melalui vena cava. Pengukuran kadar THES dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*) menggunakan instrumen HPLC pada panjang gelombang 254 nm, fase gerak Asetonitril : Buffer fosfat dan fase diam ODS C18 dengan laju alir 1mL/menit. Hasil penelitian menunjukkan seri konsentrasi THES dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*) 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40, mg/L, dan 50 mg/L berturut- turut diperoleh luas area kromatogram 37878, 27582, 82582, 111490, 157286 sehingga koefisien korelasi THES dalam plasma secara in vitro sebesar $r = 0.91$ dengan persamaan $y = 3227,2x - 13454$ dan diperoleh waktu retensi 2,3 menit. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi kadar THES dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*) memenuhi uji linieritas dalam matriks biologis.

Kata Kunci :

Tetra hydroxy ethyl disulfate, HPLC, antibiotik.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang sering terjadi di masyarakat. Masalah kesehatan tersebut membutuhkan antibiotika. Sehingga antibiotika sangat sering digunakan oleh masyarakat. Penggunaan antibiotika secara irrasional ini menyebabkan banyak bakteri yang mengalami resistensi antibiotika. Pada beberapa penelitian penggunaan antibiotik di rumah sakit ditemukan persentase mencapai 80% penggunaan antibiotik tidak didasarkan pada indikasi [1]. Penggunaan antibiotik secara irrasional ini menimbulkan berbagai masalah dalam pengobatan penyakit infeksi dan kerugian secara ekonomi. Olehnya itu dibutuhkan antibiotik baru untuk mengatasi resistensi antibiotika yang ampuh dan dengan harga yang memadai [2].

Resistensi adalah kemampuan bakteri untuk menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Resistensi dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu: bakteri merusak enzim yang diproduksi antibiotik; bakteri mengubah reseptor sel target antibiotik; mengubah sifat fisiko-kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri; perubahan sifat dinding sel bakteri yang menyebabkan antibiotik tidak dapat menembus dinding sel; melalui mekanisme transport aktif ke luar sel antibiotik dikeluarkan kembali oleh sel bakteri [3].

Tetra hydroxy ethyl disulphate (THES) merupakan obat baru yang sebagai antibiotik yang memiliki mekanisme kerja membunuh bakteri pada membran dinding sel. Senyawa hasil sintesis EDTA bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri dengan cara mengikat peptidoglikan yang

ada pada dinding sel bakteri dengan ligan sulfat yang ada pada THES [4].

Penelitian terhadap senyawa baru ini Tetra hydroxy ethyl disulphate (THES) masih perlu dikembangkan. Sehingga dilakukan penelitian ini guna menentukan kurva regresi linier dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*). Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penentuan konsentrasi kurva standar senyawa tetra hidroxy ethyl disulphate (THES) dalam plasma marmut (*cavia porcellus*) menggunakan HPLC.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, hair dryer, kanula, labu tentukur, magnetic stirrer, mikropipet 100-1000 μ l, needle, penyaring UFLC, sonikator, sentrifuse, spoit, timbangan analitik, tip mikropipet, tabung sentrifuge, stopwatch, ultra fast liquid chromatography (UFLC), vial autosampler, vortex.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, aquadest pro injeksi, asetonitril, buffer phosphate, methanol grade HPLC, tabung EDTA dan senyawa *Tetra Hidroxy Ethil Di Sulphate* (THES).

Pemilihan Hewan Uji

Penelitian eksperimental ini menggunakan hewan uji marmut (*Cavia porcellus*) jantan dengan bobot badan rata-rata 400 gram. Hewan uji diadaptasikan selama 7 hari dalam laboratorium dengan memantau pola makan, keadaan fisik dan

Masuk 05-11-2018

Revisi 25-12-2018

Diterima 02-01-2019

Korespondensi

Elly Wahyudin

ellywahyudins@gmail.com

Copyright

© 2018 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas

Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

02-01-2019

Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id>

[/index.php/mff](http://index.php/mff)



aktivitas yang baik sebelum perlakuan.

Pembuatan Larutan Baku

Sebanyak 10 mg THES dilarutkan dengan aqua pro injeksi dalam labu tentukur 10 ml, kemudian dicukupkan sampai volume batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 1000 bpj sebagai larutan stok (5). Kemudian dibuat seri konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan memipet dari larutan stok THES sebanyak masing-masing 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, dan 500 µL dan dicukupkan volumenya hingga batas labu tentukur [5].

Penyiapan sampel uji (analit)

Cuplikan darah dari hewan uji marmut dimasukkan dalam tabung EDTA lalu disentrifugasi dengan kecepatan 25000 rpm selama 15 menit kemudian endapannya dipisahkan dengan cara enap tuang dan sampel plasma yang diperoleh dimasukkan kedalam freezer 20°C sebelum diekstraksi dan dianalisa.

Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku yang telah dibuat, masing-masing sebanyak 100 µl ditambahkan kedalam 50 µl plasma dan 400 µl asetoneitril grade HPLC sebagai pengendap protein. Masing-masing sampel plasma divortex selama 5 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit. Diambil 20 µL masing-masing dari supernatan dan disaring menggunakan penyaring khusus UFLC dan disuntikkan sebanyak 20 µL ke dalam UFLC, dengan fase diam ODS C18 dengan suhu kolom 30°C fase gerak berupa asetoneitril : bufer fosfat dengan daya alir 1mL/menit. Luas area dari kromatogram sampel yang diperoleh digunakan untuk menentukan kurva baku THES dalam plasma dan urin.

Interpretasi Data

Nilai luas area yang diperoleh dari masing-masing sampel plasma kemudian diplot terhadap seri konsentrasi THES dalam bentuk kurva dengan menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel*. Berdasarkan kurva tersebut, dapat ditentukan regresi linier senyawa THES dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Instrument analisis kini banyak digunakan guna memenuhi kebutuhan industri dan pengembangan obat baru. Salah satunya teknik kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Prinsip kerja KCKT atau lebih dikenal HPLC (*high performance liquid chromatography*) adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap komponen senyawa yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam senyawa [6].

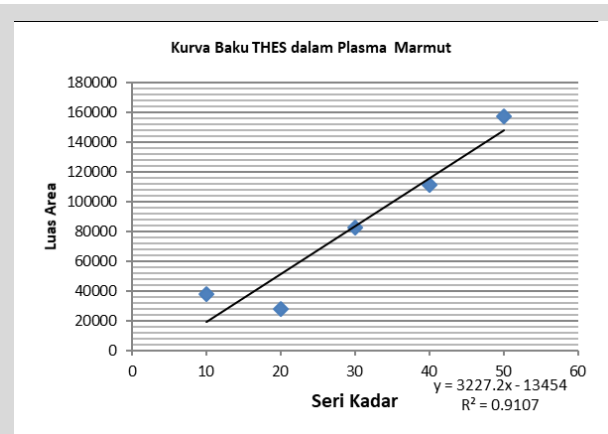
Pada penelitian ini menggunakan KCKT fase terbalik (*reverse phase column*), dimana fase diam berupa silika dimodifikasi ODS 18 dan fase gerak berupa asetoneitril: buffer fosfat yang sifatnya polar. Kromatografi fasa terbalik melibatkan fasa gerak polar (aqueous). Akibatnya, molekul-molekul hidrofobik cenderung teradsorpsi pada fasa diam hidrofobik, dan molekul-molekul hidrofilik dalam fasa gerak akan melewati kolom dan terelusi lebih dulu. Dengan kata lain, sampel yang masuk dalam kolom akan didorong oleh fase gerak sehingga senyawa yang terkandung dalam sampel akan dianalisis. Senyawa non polar dalam sampel akan lebih lama melewati kolom. Sementara senyawa polar akan melewati kolom lebih cepat. Perbedaan tingkat kepolaran ini mengakibatkan waktu retensi berbeda pada senyawa polar dan senyawa kurang polar. Pemilihan fase gerak sangat berpengaruh terhadap senyawa-senyawa yang ada dalam

sampel. Optimasi perbandingan fase gerak asetoneitril : buffer fosfat adalah 7:3 dengan panjang gelombang 254 nm diperoleh waktu retensi THES 2,3 menit.

Nilai korelasi merupakan nilai yang menunjukkan kekuatan dan arah hubungan linier yang dilambangkan dengan nilai "r". Semakin nilai r mendekati 1, maka kedekatan sampel uji semakin bagus. Luas area dari kromatogram analit dihubungkan dengan seri konsentrasi THES dalam plasma dalam bentuk kurva. Nilai regresi linier THES dalam plasma adalah 0,91, nilai ini menunjukkan linearitas semakin mendekati 1 dinyatakan memenuhi kriteria uji linearitas.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kurva baku Plasma Marmut dengan Tetra Hydroxyl Ethyl di-Sulphate (THES)

No	Seri Kadar (µg/mL)	Luas Area
1	10	37878
2	20	27582
3	30	82582
4	40	111490
5	50	157286



Gambar 1. Kurva Baku THES dalam Plasma Marmut (*Cavia porcellus*)

KESIMPULAN

Koefisien korelasi kurva baku THES dalam plasma sebesar $r = 0.91$ dengan persamaan $y = 33227,2x - 13454$ dapat disimpulkan bahwa kadar THES sebagai kurva standar THES dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*) memenuhi uji linieritas dalam matriks biologis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada pembimbing Ibu Prof. Elly Wahyudin, DEA, Apt. dan Ibu Yusnita Rifai, S. Si., M.Pharm., PhD., Apt. Terima kasih pula kepada keluarga tercinta dan semua pihak atas do'a, dukungan dan segala bentuk bantuan kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Hadi U, Duerink, D.o., Lestari, dkk. 2009. *Audit Of Antibiotic Prescribing in Two Governmental Teaching Hospital in Indonesia*. Clinical Microbiology and Infection.
- Sri Mulyani. 2013. *Kimia dan Bioteknologi Dalam Resistensi Antibiotik*. Program Studi Kimia Jurusan FMIPA. Surakarta
- Karl Drlica, David S. Perlin. 2011. *Antibiotic Resistance: Understanding and Responding to an Emerging Crisis*. Emergency Infectious Disease. NCBI
- Haryono, wardoyo, 2015. *Tetra Hidroxy Ethyl di-Sulfate*. Nitricide, Tangerang.
- Muhammad Tang. 2017. *Skripsi : Validasi Metode Analisis Penentuan kadar Senyawa Tetra Hydroxy Ethyl Disulphate (THES) Menggunakan Metode UFLC*. Farmasi Unhas, Makassar

6. Karl Drlica, David S. Perlin. 2011. Antibiotic Resistance: Understanding and Responding to an Emerging Crisis. *Emergency Infectious Disease*. NCBI

Sitasi artikel ini: Zainal TH, Wahyudin E, Rifai R. Penetapan Kurva Standar Senyawa Tetra Hidroxy Ethyl Disulphate (THES) dalam Plasma Marmut (*Cavia porcellus*) Menggunakan KCKT. *MFF* 2018;22(3):90-92