

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tuberkulosis

Tuberkulosis masih merupakan penyakit yang sangat luas di dapatkan di negeri yang sedang berkembang seperti Indonesia, baik pada anak maupun pada orang dewasa yang juga dapat menjadi sumber infeksi. Menurut penyelidikan WHO dan Unicef di daerah Yogyakarta 0,6% penduduk menderita tuberkulosis positif dalam dahaknya. Dengan perbedaan prevalensi antara di kota dan desa masing-masing 0,5-0,8% dan 0,3-0,4%. Tuberkulosis primer biasanya mulai secara perlahan-lahan, sehingga sukar menentukan saat timbulnya gejala pertama. Kadang terdapat demam yang tidak diketahui sebabnya dan sering disertai tanda-tanda infeksi saluran nafas bagian atas. Oleh karena itu bila ditemukan gejala seperti tersebut diatas biasanya tidak dipikirkan kearah diagnosis tuberkulosis. Hal ini dapat dihindarkan dengan melakukan uji tuberkulin. Tuberkulosis pada anak harus di obati sedini mungkin dan setepatnya untuk menghindari komplikasi yang berat dan reinfeksi pada waktu dewasa (Anonim, 1985).

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium Tuberculosis* dan *Mycobacterium Bovis* (sangat jarang disebabkan oleh *Mycobacterium Avium*). *Mycobacterium Tuberculosis* ditemukan oleh Robert Koch dalam tahun 1882. Basil tuberkulosis dapat hidup dan tetap virulen beberapa minggu dalam keadaan kering, tetapi dalam cairan mati pada suhu 60° C dalam 15-20 menit (Anonim, 1985)

Penularan *Mycobacterium Tuberculosis* biasanya melalui udara, hingga sebagian besar focus primer tuberkulosis terdapat dalam paru. Selain melalui udara penularan dapat peroral misalnya minum susu yang banyak mengandung basil tuberkulosis, biasanya *Mycobacterium Bovis*. Dapat juga terjadi dengan kontak langsung misalnya melalui luka atau lecet di kulit Tuberkulosis Congenital sangat jarang di jumpai. Selain *Mycobacterium Tuberculosis* perlu juga dikenal golongan mycobacterium lain yang dapat menyebabkan kelainan yang menyerupai tuberkulosis. Golongan ini disebut

Mycobacterium Atipic atau disebut juga *Unclassified Mycobacterium*. Runyon (1959) membagi *mycobacterium atipic* menjadi 4 golongan :

1. Golongan fotokromogen, misalnya *M. kansasii* yang dapat menyebabkan penyakit didalam dan diluar paru seperti tuberculosis.
2. Golongan skotokromogen, misalnya *M. scrofulaceum* yang dapat menyebabkan adenitis servikalis pada anak.
3. Golongan nonfotokromogen, misalnya *M. intracellulare* (battey strains), yang dapat menyebabkan penyakit paru seperti tuberculosis.
4. Golongan rapid growers, misalnya *M. fortuitum* yang dapat menyebabkan abses *M. smegmantes* merupakan saprofit pada smegma.

B. Patogenesis dan Patologi

Masuknya basil tuberculosis dalam tubuh tidak selalu menimbulkan penyakit. Terjadinya infeksi dipengaruhi oleh virulensi dan banyaknya basil tuberculosis serta daya tahan tubuh manusia. Basil tuberculosis masuk ke dalam paru melalui udara dan dengan masuknya basil tuberculosis maka akan terjadi eksudasi dan konsolidasi yang terbatas dan disebut fokus primer. Basil tuberculosis akan menyebar dengan cepat melalui saluran getah bening menuju kelenjar regional yang kemudian akan mengadakan reaksi eksudasi. Fokus primer, limfangitis dan kelenjar getah bening regional yang membesar, membentuk kompleks primer. Bersamaan dengan terbentuknya kompleks primer terjadi hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein yang dapat diketahui dari uji tuberkulin. Waktu antara terjadinya infeksi sampai terbentuknya kompleks primer di sebut masa inkubasi

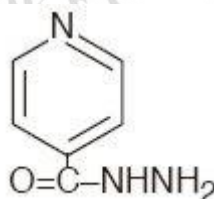
Pada anak lesi dalam paru dapat terjadi dimana pun, terutama di periferi dekat pleura. Lebih banyak terjadi dilapangan bawah paru di banding dengan lapangan atas, sedangkan pada orang dewasa atas paru merupakan tempat predileksi. Pembesaran kelenjar regional lebih banyak terdapat pada anak di banding orang dewasa. Pada anak penyembuhan terutama kearah klasifikasi, sedangkan pada orang dewasa terutama kearah fibrosis. Penyebaran hematogen lebih banyak terjadi pada bayi dan anak kecil.

Dalam tubuh seorang penderita dengan tuberkulosis aktif, di duga terdapat 3 macam populasi basil tuberkulosis yang masih dapat di obati. Sebagian besar adalah basil yang berkembang aktif dan terdapat ekstraseluler. Basil ini cepat resisten dan memerlukan sedikitnya dua obat bakterisid. Kemudian basil yang tumbuh lambat atau intermiten dan terdapat di dalam makrofag dengan PH asam. Populasi lainnya ialah basil yang tumbuh lambat atau intermiten dalam daerah kaseosa dengan PH netral. Rifampisin bekerja bakterisidal terhadap ketiga jenis populasi basil tersebut di atas. Rifampisin dengan dosis 10 – 15 mg/kgbb/hari diberikan sekali sehari peroral pada saat lambung kosong. Rifampisin biasanya di berikan Selama 6 – 9 bulan.

Obat TBC umumnya dibagi dalam obat – obat primer dan obat – obat sekunder yakni seperti :

1. INH (Isoniazid)

INH (Isoniazid) bekerja bakterisidal terhadap basil yang berkembang aktif ekstraseluler dan basil di dalam makrofag. Dosis INH adalah 10 – 20 mg/kgbb/hari dengan maksimum 750 mg/hari, di berikan tiap hari selama 1 – 3 bulan kemudian dapat dilanjutkan 2 – 3 kali seminggu selama 1 – 3 bulan lagi (Depkes RI, 1985)



Gambar 1. Struktur Isoniazid(Depkes RI, 1985)

Rumus molekul : $C_6H_7N_3O$ pemerian hablur putih atau tidak berwarna atau serbuk hablur putih, putih, tidak berbau, perlahan lahan di pengaruhi oleh udara dan cahaya. Kelarutan mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, sukar larut dalam kloroform dan dalam eter. Jarak lebur antara 170° dan 173°

Isoniazid di absorpsi dengan mudah per oral. Absorpsi terganggu jika di minum bersama makan, terutama karbohidrat, atau antasida yang

mengandung aluminium. INH berdifusi ke dalam seluruh cairan tubuh, sel sel tubuh dan bahan kaseosa (jaringan nekrotik seperti keju); kadarnya dalam cairan kira – kira sama dengan kadarnya dalam serum. Jaringan yang terinfeksi cenderung menahan obat tersebut lebih lama. Obat tersebut mudah menembus sel sel pejamu dan efektif terhadap basil basil yang sedang tumbuh dalam sel. INH mengalami N asetilasi dan hidrolisis, yang menghasilkan produk produk tidak aktif, asetilasi di atur secara genetik : trait asetilator cepat bersifat autosomal dominan. Terdapat distribusi bimodal dari asetilator cepat dan asetilator lambat (Mary *et al*, 2001).

Mekanisme kerjanya berdasarkan terganggunya sintesa *Mycolic Acid*, yang diperlukan untuk membangun dinding bakteri. Isoniazid masih tetap merupakan obat kemoterapi terpenting terhadap berbagai tipe tuberkulosa dan selalu sebagai multiple terapi dengan rifampisin dan pirazinamid (Tjay *et al*, 2007).

2. Pirazinamid

Pirazinamid bekerja bakterisidal terhadap basil intraseluler. Dosis pirazinamid adalah 30 – 35 mg/kgbb/hari, peroral 2 kali sehari selama 4 – 6 bulan (Depkes RI, 1985)



Gambar 2. Struktur Pirazinamid (Depkes RI, 1985)

Rumus molekul : $C_5H_5N_3O$ pemerian serbuk hablur, putih hingga praktis putih, tidak berbau, atau praktis tidak berbau. Kelarutan agak sukar larut dalam air, sukar larut dalam etanol, dalam eter dan dalam kloroform. Jarak lebur antara 188° dan 191° .

Pirazinamid adalah suatu obat anti tuberkulosis sintetik peroral yang efektif dan bersifat bakterisidal yang di gunakan bersama sama dengan isoniazid dan rifampin. Pirazinamid bersifat bakterisidal terhadap organisme yang aktif membelah diri. Pirazinamid harus di hidrolisis secara

enzimatik menjadi asam pirazinoat yang merupakan bentuk aktif dari pirazinamid. Beberapa strain yang resisten tidak memiliki pirazinamidase yang cukup. Tetapi, cara kerja pirazinamid tidak diketahui. Pirazinamid aktif terhadap basil tuberkulosis dalam lingkungan asam lisosom dan dalam makrofag. Pirazinamid berdistribusi ke seluruh tubuh dan masuk ke cairan serebrospinal, obat ini juga mengalami metabolisme yang hebat (Mary *et al*, 2001).

Spektrum kerjanya sangat sempit dan hanya meliputi *M. tuberculosis*. Mekanisme kerjanya berdasarkan pengubahannya menjadi asam pirazinat oleh enzim *pyrazinamidase* yang berasal dari basil TBC (Tjay *et al*, 2007).

Tabel 1. Jenis dan obat dosis TBC anak

Jenis obat	BB <10 kg	BB 10 – 20 kg	BB 20 – 33 kg
Isoniazid	50 mg	100 mg	200 mg
Rifampisin	75 mg	150 mg	300 mg
Pirazinamid	150 mg	300 mg	600 mg

Berdasarkan rekomendasi IDAI

C. Stabilitas

Stabilitas adalah kemampuan dari suatu produk obat untuk tetap dalam spesifikasi yang telah ditetapkan untuk memastikan identitasnya, kualitas dan kekuatan, serta kemurnian.

Validasi metode yang digunakan untuk menentukan parameter fisik yang dapat digunakan :

1. Penampilan dan bentuk

Tes ini dilakukan secara visual dan dijelaskan dalam istilah kualitatif seperti padat, cair, suspensi, dll.

2. Warna

Metode standar digunakan untuk menentukan warna cairan transparan dan dapat dideskripsikan secara visual yang disebut Munsell Sistem D-1535.

3. Bau

Uji ini dilakukan secara organoleptis.

4. Keasaman dan alkalinitas, PH

Keasaman dan dan kebasaaan di tentukan oleh titrasi dengan asam standar atau alkali sesuai dengan CIPAC metode MT 31.

Sebuah perubahan PH pada penyimpanan dapat memberikan indikasi ketidakstabilan zat aktif atau produk.

5. Keterbasahan

Keterbatasan produk padat yang diencerkan untuk di gunakan (misal bubuk dapat di basahi, bubuk larut air, butiran larut air, dan butiran dispersible) untuk mamastikan produk yang dibasahi sebelum digunakan (APVMA, 2005).

Masalahstabilitas fisik yang terdapat dalam formulasi Obat Anti Tuberkulosis yakni perubahan kekuatan obat, peningkatan tingkat degradasi produk, perubahan dalam profil disolusi, dan kelembaban.Masalah ketersediaan hayati dari OAT mulai dilakukan adanya penelitian kembali tahun 1989 yang mengamati bahwa satu dari tiga obat mengandung rifampisin dan isoniazid.Dan keempat obat mengandung rifampisin, isoniazid, dan pirazinamid memiliki plasma lebih rendah yang signifikan terhadap konsentrasi rifampisin.Banyak upaya yang telah dibuat oleh WHO dan lembaga internasional lainnya untuk mengatasi masalah ini.Penelitian intesif telah dilakukan oleh lembaga independen india beberapa tahun terakhir ini tentang alasan khusus yang menjelaskan tentang ketersediaan hayati dan stabilitas masalah OAT dan menunjukan bahwa masalah ini muncul karena adanya interaksi obat antara rifampisin dan isoniazid pada saat kondisi perut yang kosong. Dan secara signifikan hilangnya obat sebelum penyerapan karena rifampisin terhidrolisis di bawah kondisi asam menjadi 3-formylrifampicin, yang bereaksi lebih lanjut dengan isoniazid untuk membentuk isonicotinyl hydrazone (HYD) yang kemudian dikonversikan kembali ke bentuk isoniazid dan 3-formylrifampicin, dan menyebabkan hilangnya rifampisin.

Penelitian lain juga menunjukan bahwa terjadinya kehilangan rifampisin setelah penyimpanan pada PH 2 selama 1 jam pada 37°C dapat

menjadi tes sederhana pada formulasi tertentu yang dapat menunjukkan masalah bioavailabilitas (Singh *et al*, 2006)

Stabilitas akan menentukan usia guna (shelf life) dari sediaan. Data stabilitas yang di gunakan untuk menetapkan usia guna sediaan adalah data stabilitas pada suhu kamar.

Panduan ICH membagi dunia dalam 4 zona iklim. Zona 1 : iklim sedang. Kondisi pengujian stabilitas yang di usulkan untuk ASEAN (oleh Indonesia) adalah : iklim sedang ; zona II : iklim subtropik dan mediteran ; Zona III : iklim panas dan kering ; dan Zona IV : iklim panas dan basah (humid). Uji stabilitas di percepat meliputi “ stress “ temperatur, kelembaban (1993), dan pencahayaan (Goeswin, 2006)

Berdasarkan kondisi pengujian stabilitas yang di usulkan oleh Negara Indonesia kepada ASEAN adalah (Goeswin, 2006) :

Tabel 2. Kondisi pengujian stabilitas

penelitian	kondisi penyimpanan
waktu sesungguhnya	30° C ± 2°C. Rh 70% ± 5%
dipercepat	40° C ± 2°C. Rh 75% ± 5%

Untuk melakukan evaluasi data stabilitas dan menetapkan usia guna (shelf life), dilakukan cara analisis regresi (statistik). Cara yang sesuai untuk menetapkan perkiraan waktu usia guna adalah dengan melakukan analisis secara kuantitatif dengan menentukan waktu yang paling awal pada limit kepercayaan 95% dari kurva regresi (Goeswin, 2006).

Untuk sediaan yang peka terhadap panas, diperlukan kondisi alternative pada suhu lebih rendah sehingga diperlukan penelitian jangka panjang yang lebih laman (misal supositoria). Perhatian khusus perlu pula ditekankan pada sediaan yang akan berubah secara fisik atau kimia pada kondisi penyimpanan temperature lebih rendah (misal suspensi atau emulsi). Jika digunakan kondisi temperature lebih rendah, maka penelitian stabilitas dipercepat harus dilakukan selama 6 bulan pada suhu 15°C diatas suhu

penyimpanan yang diperkirakan (dengan sendirinya dengan Rh yang sesuai dengan temperatur) (Goeswin, 2006).

Sebagai contoh, pada sediaan yang akan di simpan dalam lemari pendingin, penelitian stabilitas dipercepat harus dilakukan pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan Rh $60\% \pm 5\%$.(Goeswin, 2006).

Untuk sediaan yang akan disimpan pada lemari pendingin :

Tabel 3.kondisi penyimpanan pada lemari es

Penelitian	Kondisi penyimpanan	Periode waktu minimum
Waktu sesungguhnya	$5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$	12 bulan
Dipercepat	$25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ Rh $60\% \pm 5\%$	6 bulan

Untuk sediaan yang akan disimpan pada lemari beku (freezer).

Tabel 4.Kondisi penyimpanan pada freezer

Penelitian	Kondisi penyimpanan	Periode waktu minimum
Waktu sesungguhnya	$-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$	12 bulan

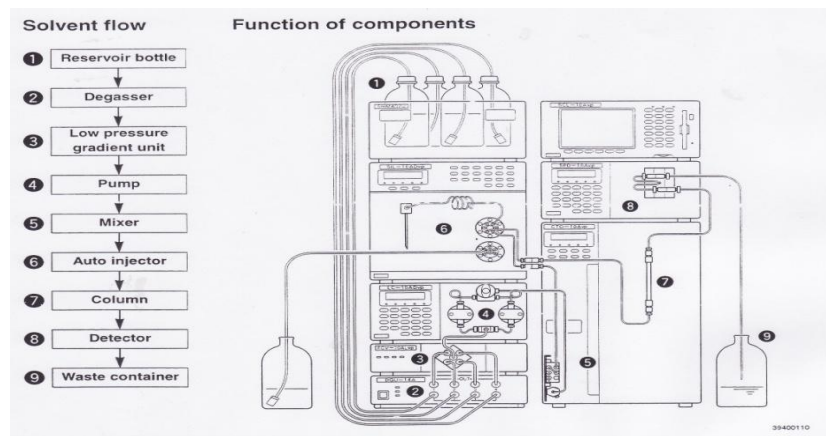
Sediaan yang akan disimpan pada suhu penyimpanan di bawah -20°C harus berdasarkan penelitian kasus per kasus (Goeswin, 2006).

D. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain : farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri – industri makanan (Gandjar *et al*, 2007).

Secara umum KCKT digunakan untuk memisahkan senyawa- senyawa organik, anorganik, ataupun senyawa biologis.selain itu beberapa keuntungan HPLC yang lain adalah dapat dilakukan pada suhu kamar, detektor yang digunakan dapat divariasikan, fase gerak dan kolom yang digunakan dapat dipakai berulang kali, dan memiliki ketepatan dan ketelitian yang relative tinggi (Mulja *et al*, 1995).

Keterbatasan metode KCKT adalah untuk mendapatkan resolusi yang baik sulit didapatkan pada sampel yang sangat kompleks (Gandjar *et al*, 2007).



Gambar 4. Instrument KCKT (Anonim, 2007).

Keterangan :

- | | |
|----------------------------------|-------------------|
| 1. Wadah fase gerak | 6. Tempat injeksi |
| 2. Penghilang gas | 7. Kolom |
| 3. Sistem gradien tekanan rendah | 8. Detektor |
| 4. Pompa | 9. Pembuangan |
| 5. Pencampur | |

Komponen – komponen penting dari KCKT :

1. Pompa

Fase gerak yang digunakan dalam HPLC ada 3 jenis antara lain : *Resiprocating Pumps*, *Displacement Pumps* (*Syringe Pumps*), *pneumonia Pumps* (*Constant Pressure Pumps*). Pada setiap pompa HPLC yang baik harus dapat melaksanakan sistem elusi menggunakan satu atau lebih macam pelarut antara lain :

a. Sistem elusi Isokratik

Komposisi campuran fase gerak yang digunakan memiliki perbandingan yang tetap (Mulja *et al*, 1995).

b. Sistem elusi Gradien

Komposisi campuran fase gerak yang digunakan perbandingan yang tidak tetap / berubah – ubah (Mulja *et al*, 1995).

2. Injektor

Merupakan tempat untuk pemasukan dan injeksi sampel yang dianalisis yang terdiri dari 3 macam sistem injektor pada HPLC antara lain :

- a. Injektor dengan memakai diafragma (Septum).
- b. Injektor tanpa septum.
- c. Injektor dengan pipa dosis (Mulja *et al*, 1995).

3. Kolom (column)

Kolom merupakan faktor penting dalam HPLC untuk menentukan keberhasilan atau gagalnya suatu analisis yang tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai (Gandjar *et al*, 2007).

Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

- a. Kolom fase normal : fase diam bersifat polar dan fase geraknya bersifat non polar (Mulja *et al*, 1995)
- b. Kolom fase terbalik : fase diam bersifat non polar dan fase geraknya bersifat polar (Mulja *et al*, 1995).

4. Detektor (Detector)

Detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Detektor yang baik memiliki sensitivitas yang tinggi, gangguan (noise) yang rendah, kisaran respons linier yang luas, dan memberi respons untuk semua tipe senyawa (Gandjar *et al*, 2006).

Dan Kromatografi dapat di bedakan atas berbagai macam tergantung pada pengelompokannya. Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi di bedakan menjadi 4 antara lain :

1. Partisi

Pada kromatografi ini, fase diam yang digunakan biasanya terikat pada fase terbalik dengan fase gerak yang bersifat polar. Pemisahannya didasarkan pada jenis dan jumlah gugus fungsi yang terdapat pada molekul – molekul cuplikan (Hendayana, 2006).

2. Adsorpsi

Pada kromatografi ini, sangat cocok digunakan untuk cuplikan – cuplikan yang larut dalam pelarut yang bersifat non polar dan kurang larut dalam pelarut yang mengandung air seperti pada kromatografi partisi. Kelebihan yang di miliki oleh kromatografi ini dibandingkan yang lain adalah kemampuannya untuk memisahkan campuran – campuran isomer (Hendayana, 2006).

3. Pertukaran ion

Fase gerak yang digunakan harus mampu melarutkan cuplikan sehingga mampu memberikan waktu retensi yang cocok dan berikatan dengan solut yang akhirnya mampu memberikan selektifitas yang tinggi. Sedangkan untuk fase diam yang digunakan berupa penukar ion asam sulfonat untuk kation atau penukar ion amin untuk anion (Hendayana, 2006).

4. Ekslusi

Pemisahan didasarkan pada ukuran molekul dari fase diam. Dan pada kromatografi ini dipengaruhi oleh perbedaan bentuk struktur dan ukuran molekul. Untuk fase gerak yang digunakan biasanya berupa cairan. Pada kromatografi ini tidak ada interaksi spesifik antara solut dengan fase diam (Gandjar *et al*, 2007).