

JURNAL ILMIAH SAINS & TEKNOLOGI

Lindawati

Peranan BOD biosensor untuk proses optimasi pengolahan limbah sintetik di SBR

Tri Windono, Christina Avanti, Purnomo Hadi Wibowo, Maya Dwiyantri, Budipratiwi

Uji Efektivitas In Vitro Dan In Vivo Perlindungan Terhadap Sinar Matahari Sediaan Krim O/w Dan W/o Yang Mengandung Kombinasi Rutin Dan Etil Para Metoksisinamat

Ni Luh Dewi Aryani

Penetapan Nilai Parameter Lipofilisitas (Log P, Jumlah Tetapan π Hansch Dan Tetapan f Rekker) Asam Pipemidat

Harry Santosa

Kadar Asam Amino Pada Berbagai Kondisi Telur Itik

Yon Haryono

Rancang Bangun Mesin Pres Genteng Sistem Mekanik Dengan Menggunakan Transmisi Ulir Trapesium

Hudiyo Firmanto, Susila Candra, Thomas Widiyatmoko

Studi tentang Pengaruh Parameter Pemesinan dan Luas Penampang Bidang Potong terhadap Sifat Mampu Mesin baja AISI 1045 pada Pemesinan dengan EDM

Lieke Riadi, Akbarningrum Fatmawati, Dewi Anna S.

Produksi Rhamnolipid Oleh Pseudomonas Aeruginosa Dalam Kultur Batch Dengan Medium Denitrifikasi

PENETAPAN NILAI PARAMETER LIPOFILISITAS (LOG P, JUMLAH TETAPAN π HANSCH DAN TETAPAN F REKKER) ASAM PIPEMIDAT

Ni Luh Dewi Aryani
Fakultas Farmasi Universitas Surabaya

Abstract

Lipophilicity is the most often used physicochemical property in quantitative structure-activity relationships (QSAR) studies because it is related to the absorption across biological membrane and the distribution between body fluid and lipid-rich phase of drugs. Its quantitative descriptor is the octanol-water partition coefficient (usually expressed as log P). The 1-octanol-water partition coefficient of pipemidic acid was determined by an experimental using the shake-flask method and by calculating from π Hansch and f Rekker constant. The values of logarithmic intrinsic partition coefficient (IPC) and apparent partition coefficient (APC) of pipemidic acid were $-2,03 \pm 0,25$ and $-3,932 \pm 0,25$. The values of logarithmic partition coefficient, which were obtained by calculating of π Hansch and f Rekker constant were $-1,65$ and $-1,981$, respectively.

Keywords: Pipemidic acid, log P, π Hansch, f Rekker

PENDAHULUAN

Sistem kelas biofarmasi (Biopharmaceutics Classification System) membagi jenis obat berdasarkan kelarutannya dalam air, permeabilitas intestin dan disolusi produk obat. Meskipun koefisien partisi bukan merupakan satu-satunya faktor yang dapat menggambarkan permeabilitas suatu senyawa ke dalam membran intestinal, kulit, atau jaringan yang lain, tetapi koefisien partisi adalah faktor kunci yang menentukan permeabilitas obat melalui penghalang lipid atau membran biologis (Shargel, 1999). Selain itu koefisien partisi adalah parameter lipofilisitas yang berguna untuk interaksi suatu obat dengan makro molekul, enzim dan reseptor obat.

Sifat lipofilisitas obat adalah sifat kelarutan obat dalam fase lemak dan fase air (Soekardjo, 1995). Kelarutan obat dalam suatu pelarut tertentu dipengaruhi oleh struktur kimia obat tersebut. Oleh karena itu nilai log koefisien partisi (log P) sering digunakan sebagai parameter yang menghubungkan antara struktur kimia obat dan aktivitas biologis (Siswandono, 1995). Nilai log P yang besar menunjukkan lipofilisitas yang besar, dengan demikian senyawa akan mudah menembus membran biologis dan sebaliknya.

Terdapat beberapa metode untuk mengukur nilai koefisien partisi, salah satunya adalah metode penggojokan dengan menggunakan sistem dua pelarut yang tidak saling campur.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada metode penggojokan adalah (Sardjoko, 1992; Martin, dkk, 1995) :

Jika suatu senyawa berupa asam atau basa, fase air harus menggunakan dapar yang kuat sehingga pH larutan selalu terjaga tetap. Larutan dapar harus mempunyai pH paling sedikit tiga unit dari pKa senyawa yang tak terionkan. Ini berarti 99,9% molekul dalam fase air dalam bentuk tak terionkan, sehingga akan diperoleh nilai koefisien partisi sejati (IPC). Nilai IPC ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$IPC = \frac{[HA]_o}{[HA]_w} = \frac{C_o}{C_w} \quad (1)$$

$[HA]_o = C_o$ adalah kadar molar zat dalam fase minyak, dan $[HA]_w =$ kadar molar zat yang tidak terionkan dalam air.

Secara khusus pengukuran koefisien partisi asam karbosilat dilakukan dengan HCl 0,1 N sebagai fase air, untuk turunan amina digunakan NaOH 0,1 N atau 0,01 N

Senyawa harus stabil dalam suasana yang dipilih

Penentuan nilai koefisien partisi senyawa yang bereaksi dengan air membentuk ion, ditentukan dengan persamaan:

$$APC = \frac{[HA]_o}{[HA]_w + [A^-]_w} \quad (2)$$

APC adalah koefisien partisi nyata, $[A^-]_w =$ kadar molar zat yang terionisasi dalam air yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan Henderson-Hasselbalch, sebagai berikut:

$$\text{Persen terionisasi} = \frac{100}{1 + \text{antilog} (pKa - pH)}$$

$$K_a = \frac{[H_3O^+].[A^-]}{[HA]} \quad (4)$$

Kadar molar zat yang terionisasi dalam air (A^-)_w pada persamaan 4 disubstitusikan ke dalam persamaan 2, sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut:

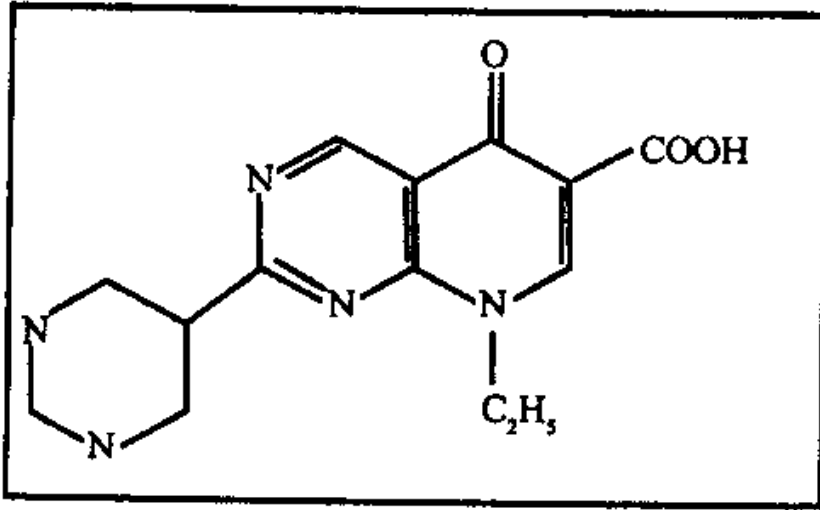
$$APC = \frac{IPC[H_3O^+]}{[H_3O^+] + K_a} \quad (5)$$

Nilai logaritma koefisien partisi (log P) suatu obat selain dapat ditentukan secara percobaan, juga dapat ditentukan secara perhitungan teoritis. Penentuan nilai log P secara perhitungan teoritis dapat dilakukan dengan metode penjumlahan tetapan π dari Hansch-Fujita dan metode penjumlahan tetapan f dari Rekker-Mannhold. Metode penjumlahan tetapan π dari Hansch-Fujita dilakukan dengan cara memecah struktur senyawa tersebut menjadi gugusnya dan menjumlahkan tetapan π masing-masing gugus tersebut. Metode penjumlahan tetapan f dari Rekker dilakukan dengan cara memecah struktur senyawa tersebut menjadi fragmen-fragmennya dan menjumlahkan tetapan f masing-masing fragmen tersebut (Hansch, 1971; Rekker, 1977).

Pada penelitian ini dilakukan penentuan nilai parameter lipofilisitas (log P) asam pipemidat secara percobaan dengan metode penggojokan dan secara teoritis melalui metode penjumlahan tetapan π Hansch-Fujita dan f Rekker. Asam pipemidat adalah suatu turunan kuinolon yang digunakan untuk pengobatan infeksi saluran urin (Reyn-

old, 1989). Asam pipemidat memiliki rumus struktur molekul seperti yang disajikan pada gambar 1 (Budavari, 1989).

Gambar 1 : Rumus struktur asam pipemidat



Nilai parameter lipofilisitas yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi tentang karakteristik fisikokimia asam pipemidat, sehingga dapat diperkirakan penembusannya lewat membran biologis dan distribusi antar kompartemen tubuh, serta dapat digunakan untuk pengembangan formulasi sediaan farmasi.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat

- Asam pipemidat anhidrat (PT. New Interbat)
- HCL, NaOH, KH₂PO₄, Na asetat, 1-oktanol, metanol, asam asetat glacial, asam fosfat (masing-masing dalam derajat p.a, E Merck)
- Spektrofotometer Double Beam Hitachi 557, pH meter, alat-alat gelas

Metode Penelitian

Pembuatan Larutan dapar HCl pH 2 jenuh - Oktanol

Pelarut yang digunakan saling dijenuhkan satu dengan yang lain, cara penjenjuhannya adalah sebagai berikut : larutan dapar fosfat ditambah oktanol dalam volume sama dan campuran itu kemudian disonifikasi selama 30 menit dan selanjutnya didiamkan semalam. Setelah terjadi pemisahan yang jelas, kedua cairan tersebut dipindahkan ke tempat yang berbeda.

Pembuatan Larutan Baku Asam Pipemidat

Asam pipemidat sebesar 50,0 mg dilarutkan dengan menggunakan pelarut dapar HCL pH 2 jenuh oktanol sampai 100,0 mL. Kemudian dipipet 5,0 mL dan diencerkan dengan pelarut dapar HCL pH 2 jenuh oktanol 50,0 mL sehingga diperoleh kadar 50,0 µg/mL. Larutan tersebut diencerkan kemudian dengan pelarut dapar HCL pH 2 jenuh oktanol sehingga diperoleh larutan baku asam pipemidat dengan kadar 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) pemitat

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengamati nilai serapan 4 kadar larutan baku asam pipemidat pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

Pembuatan Kurva Baku Asam Pipemidat

Masing-masing larutan baku asam pipemidat diamati serapannya pada λ_{maks} . Kemudian dibuat kurva yang menyatakan hubungan antara serapan dan kadar.

Penentuan Nilai Koefisien Partisi Asam Pipemidat dalam Oktanol-Larutan Dapar HCl pH 2

Penentuan nilai koefisien partisi dilakukan dengan mencampurkan 4,0 µg/mL larutan asam pipemidat dalam dapar HCl pH 2 jenuh oktanol sebanyak 25,0 ml dengan 100,0 mL oktanol yang jenuh dengan dapar HCl dalam corong pisah. Goyok selama ± 30 menit dan didiamkan semalam. kemudian dipisahkan antara fase air dan fase oktanol. Asam pipemidat yang ada dalam fase air ditentukan kadarnya menggunakan spektrofotometer lembayung ultra pada λmaks. Kadar dalam fase oktanol diperoleh dari selisih kadar awal dan kadar dalam fase air. Kadar asam pipemidat dalam fase air dan oktanol yang didapat digunakan untuk menentukan nilai koefisien partisi sejati (IPC) dan koefisien partisi nyata (APC).

Penentuan Sifat Lipofilisitas dengan Metode Penjumlahan tetapan π dari Hansch-Fujita

Jumlah tetapan dari π Hansh untuk asam pipemidat dihitung dengan cara memecah struktur senyawa tersebut menjadi gugusnya.

$\text{Log P (asam pipemidat)} = \text{log P (pirimidin)} + \pi (\text{NCH}_2\text{CH}_3)\text{Ar} + \pi (\text{C}=\text{CH}) + \pi (\text{COOH}) \text{Ar} + \pi (\text{CO})\text{Ar} + \text{Log P (piperazin)} + 1 \text{ rantai cabang} + \text{Ikatan H intra-molekul}$

Penentuan Sifat Lipofilisitas dengan Metode Penjumlahan tetapan f dari Rekker-Mannhold

Jumlah tetapan f dari Rekker untuk asam pipemidat dihitung dengan cara memecah struktur senyawa tersebut menjadi fragmen-

fragmennya.

$\text{Log P (asam pipemidat)} = f (\text{pirimidin}) - 3. f (\text{H}) + f (\text{COOH})\text{Ar} + f (\text{C}=\text{CH}-\text{CO})\text{Ar} + f (\text{piperazin}) - f (\text{H}) + 2 f (\text{C}) + 5 f (\text{H}) + 2. \text{CM}$

CM adalah tetapan aneh sebesar 0,214

Analisis Data

Nilai log P yang didapat dari penjumlahan tetapan π Hansch-Fujita dan tetapan f Rekker-Mannhold masing-masing dibandingkan dengan nilai log IPC percobaan dengan menggunakan metode statistik uji t satu sampel.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penentuan kadar asam pipemidat dalam fase air dilakukan pada panjang gelombang 274 nm, karena merupakan panjang gelombang maksimum asam pipemidat, seperti yang disajikan pada gambar 2.

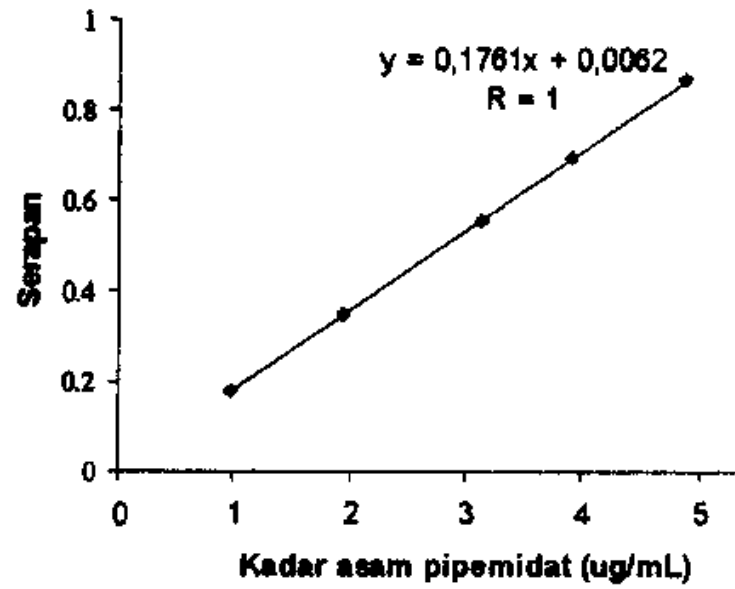
Penentuan kadar asam pipemidat dalam fase air ditentukan pada λ maks yaitu 274 nm, karena:

a. Perubahan serapan untuk setiap satuan kadar adalah paling besar pada λ maks sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang tinggi.

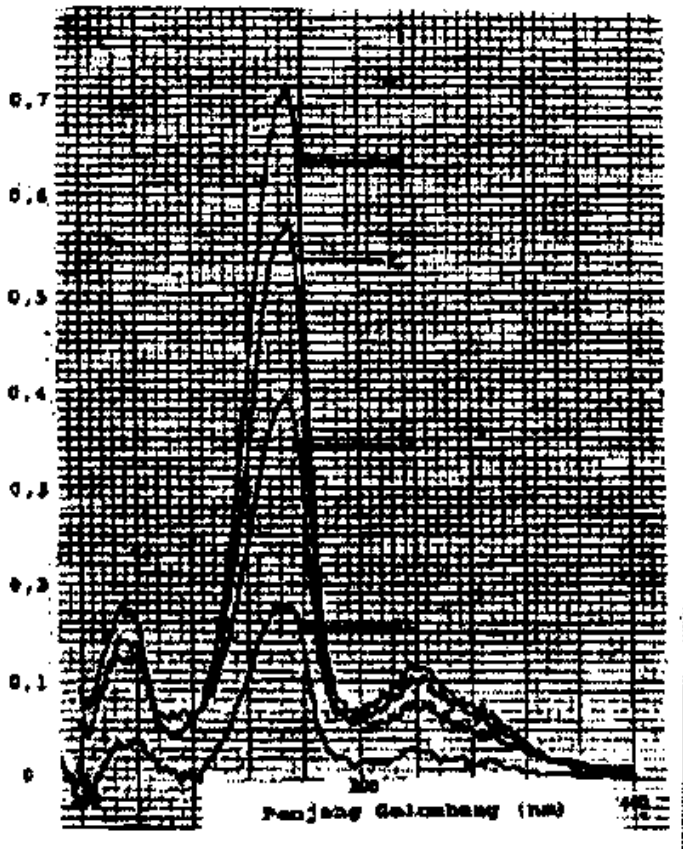
b. Pengukuran ulang serapan pada λ maks akan memberikan kesalahan yang relatif kecil.

Hasil pengamatan serapan larutan baku asam pipemidat dari beberapa kadar dalam pelarut dapar HCL pH 2,0 jenuh oktanol dengan metode spektrofotometri dibuat kurva yang menggambarkan hubungan kadar terhadap serapan, seperti yang disajikan pada gambar 3. Persamaan garis regresi

kurva tersebut adalah $Y=0,1761 + 0,0062$ dengan harga koefisien korelasi (r) adalah 1. Harga koefisien korelasi tersebut lebih besar dari harga koefisien korelasi tabel untuk $n = 5$, degree of freedom (df) = 3, dan derajat kepercayaan 95% yaitu $r = 0,878$. Dengan demikian persamaan garis regresi yang diperoleh dapat dinyatakan sebagai persamaan garis linear hubungan antara kadar dan serapan dan selanjutnya dapat digunakan untuk penentuan kadar asam pipemidat dalam fase air.



Gambar 3. Kurva baku larutan asam pipemidat dalam dapar HCl jenuh 1-oktanol pada λ maks 274 nm



Gambar 2. Kurva serapan larutan baku asam pipemidat dalam pelarut dapar HCl pH 2 jenuh 1-oktanol terhadap panjang gelombang pada berbagai kadar.

Keterangan: a = 0,987 $\mu\text{g/mL}$, b = 2,181 $\mu\text{g/mL}$, c = 3,205 $\mu\text{g/mL}$, d = 4,00 $\mu\text{g/mL}$

Penentuan nilai koefisien partisi asam pipemidat dilakukan dalam oktanol-dapar HCL pH 2. Penggunaan oktanol sebagai fase nonpolar karena beberapa alasan sebagai berikut: 1) oktanol mengandung rantai hidrokarbon panjang yang bersifat nonpolar dan gugus hidroksi yang bersifat polar, sebagai pendekatan model membrane biologis, 2) oktanol bersifat inert dan toksisitasnya rendah sehingga kurang berbahaya bagi peneliti, 3) oktanol tidak memberikan serapan yang berarti pada panjang gelombang lembayung ultra. (Siswandono, 1995; Sardjoko, 1992). Fase air yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan dapar HCL pH 2, karena nilai pKa asam pipemidat adalah 5,50 (Aryani dkk, 2005) sehingga pada pH tersebut semua asam pipemidat terdapat dalam bentuk tidak terionisasi. Dengan demikian nilai koefisien partisi sejati (IPC) asam pipemidat oktanol-dapar HCl pH 2 dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan 2, dan hasilnya seperti yang disajikan pada tabel 1. Penentuan nilai koefisien partisi nyata (APC) pada pH

7,4 yang merupakan pH fisiologis cairan tubuh dilakukan dengan menggunakan persamaan 5, dan hasilnya seperti yang disajikan pada tabel 1.

Tabel. Nilai Koefisien Partisi Asam Pipemidat

Replikasi	Kadar			IPC	Log IPC	APC	Log APC
	C _{awal}	C _o	C _w				
1	4,160	0,076	3,858	0,020	-1,708	2,434x10 ⁻⁴	-3,614
2	4,347	0,017	4,279	0,004	-2,401	4,942 x10 ⁻⁵	-4,306
3	4,296	0,050	4,097	0,012	-1,916	1,510 x10 ⁻⁴	-3,821
4	4,381	0,041	4,217	0,010	-2,012	1,209 x10 ⁻⁴	-3,917
5	3,659	0,028	3,546	0,008	-2,099	9,909 x10 ⁻⁵	-4,004
			Rerata		-2,027	Rerata	-3,932
			Simpangan Baku		0,254	Simpangan Baku	0,254

Hasil perhitungan nilai lipofilisitas teoritis dengan menggunakan metode penjumlahan tetapan π Hansch-Fujita adalah -1,65, dan secara penjumlahan tetapan f Rekker-Mannhold adalah -1,981.

Nilai koefisien partisi asam pipemidat yang diperoleh dari hasil percobaan dan dengan cara perhitungan kemudian dianalisis dengan uji t. Hasil yang didapat menunjukkan ada perbedaan antara nilai log P percobaan dengan log P perhitungan menurut cara Hansh-Fujita. Penyebab perbedaan ini adalah tidak diperhatikannya nilai lipofilisitas atom hidrogen ($\pi(H) = 0$), sehingga nilai CH, CH₂, CH₃ adalah sama dan hasilnya sangat menyimpang apabila digunakan untuk menghitung senyawa, terutama yang berbobot molekul rendah. Di samping itu perhitungan nilai li-

pofilisitas pada metode Hansch-fujita adalah dengan cara memecah struktur senyawa berdasarkan gugus-gugusnya. Berdasarkan strukturnya asam pipemidat mempunyai senyawa induk (gugus induk) pirid-pirimidin, tetapi pada perhitungan ini senyawa induk yang digunakan adalah pirimidin. Hal ini karena nilai lipofilisitas pirid-pirimidin tidak ditemukan dalam pustaka. Sedangkan dari hasil uji t antara nilai lipofilisitas secara teoritis menurut f Rekker-Mannhold dengan nilai log P secara percobaan ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, hal ini karena:

Pada perhitungan nilai f Rekker dilakukan faktor-faktor koreksi dengan adanya efek sterik, ataupun adanya efek konformasi.

Nilai f Rekker telah mengalami penyempurnaan-penyempurnaan yang terakhir kali

disempurnakan pada tahun 1992. Pada penyempurnaan yang terakhir ini terdapat perbedaan yang paling mencolok pada harga CM yaitu dari 0,289 menjadi 0,219.

Nilai lipofilisitas atom hidrogen diperhitungkan, karena berdasarkan penyelidikan Nys dan Rekker ternyata nilai lipofilisitas atom hidrogen tidak sama dengan nol.

Nilai lipofilisitas suatu senyawa menurut metode f Rekker didapat dari memecah menjadi fragmen-fragmennya, jadi penggunaan pirimidin sebagai salah satu fragmen dalam perhitungan dapat diterapkan.

Berdasarkan hal di atas, maka secara perhitungan teoritis penentuan nilai log koefisien partisi asam pipemidat lebih sesuai menggunakan metode f Rekker daripada metode π Hansch.

Nilai Log P asam pipemidat yang kecil menunjukkan asam pipemidat bersifat hidrofil, akibatnya asam pipemidat sangat mudah larut dalam fase polar pada suasana asam. Hal ini sangat menguntungkan mengingat asam pipemidat digunakan untuk terapi pada infeksi saluran kemih, karena kadar dalam ginjal dan cairan prostat menjadi cukup tinggi.

KESIMPULAN

Nilai logaritma koefisien partisi sejati (log IPC) secara percobaan dan logaritma koefisien partisi nyata (log APC) pada pH 7,4 asam pipemidat masing-masing adalah -2,027 dan -3,932. Secara perhitungan teoritis penentuan nilai log koefisien partisi asam pipemidat lebih sesuai menggunakan metode f Rekker daripada metode π Hansch, karena nilai log IPC secara percobaan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai log P yang dihitung menggunakan metode f Rekker.

SARAN

Disarankan agar dilakukan uji koefisien partisi nyata pada pH fisiologis yaitu 7,4 secara percobaan dan dilakukan sintesis senyawa turunan asam pipemidat. Kemudian senyawa hasil sintesis tersebut dilakukan uji karakteristik fisikokimianya dan dibandingkan dengan karakteristik fisikokimia asam pipemidat, selanjutnya dilakukan uji farmakokinetika dan farmakologi sehingga didapat suatu senyawa obat yang memiliki efek terapi yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryani N. L. D., Soekardjo B., Purwanto B.T., Susilowati R. 2005. Penetapan Nilai Keasaman (pKa) Asam Pipemidat Secara Spektrofotometri Lembayung Ultra, *Artocarpus Media Pharmaceutics Indonesia*, vol. 5 No. 1 Maret : 33 – 39
- Budavari S, ed. 1989. *The Merck Index An Encyclopedia of Chemical, Drugs and Biological* 11ed. USA : Merk and Co.
- Hansch C. 1971. Quantitative Structure Activity Relationship in Drug Action in: Ariens J. ed. *Drug Design*, Volume 1, 270 – 309, New York, : Academic Press
- Martin A., Swarbick J., and Cammarata A.1995. *Physical Pharmacy*, 4th ed,237-239. Philadelphia : Lea and Febiger.
- Rekker RF. 1977. The Hydrofobic Fragmental Constant and Its Applications of Partition Coefficient of Organic Structure in the Octanol Water System, 1 – 103, Amsterdam : Elsevier Scientific Publishing Company.
- Reynold JEF, ed. 1989. *Martindale The Extra Pharmacopeia*, 28th ed, 1053, London : The Pharmaceutical Press.
- Sardjoko. 1992. *Rancangan Obat*, 259 - 263, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Shargel L., and Yu, A.B.C. 1999. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 4th ed, 99-128, 247-279 , Norwalk, : Appleton-Century-Crofts.
- Siswandono, Soekardjo B. 1995. *Kimia Medisinal*, 111 -120, 292 - 296, Surabaya : Airlangga University Press.
- Soekardjo Bambang. 1995. Penentuan Kadar Senyawa Aktif pada Sediaan Obat Atas Dasar Hubungan Struktur dengan Aktivitas Biologi, *Jurnal Ilmiah Widya Mandala*, ed no. 003, 77 – 80.