

# SKRIPSI

IKA IGREA BUDI RAHAYU

HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF  
N-(4-TRIFLUOROMETILBENZOIL)SEFALEKSIN  
DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29213



F2 8307  
Bor  
h

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
BAGIAN KIMIA FARMASI  
SURABAYA  
2006



Lembar Pengesahan

**HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF  
N-(4-TRIFLUOROMETILBENZOIL)SEFALEKSIN  
DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

**SKRIPSI**

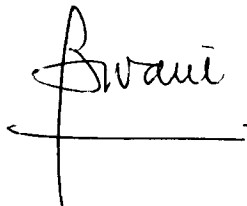
Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi  
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga  
2006

Oleh :

**IKA IGREA BUDI RAHAYU**  
NIM. 050210191 E

Skripsi ini telah disetujui  
Tanggal 25 September 2006

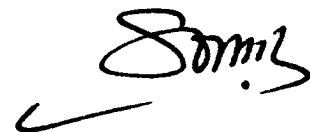
Pembimbing Utama



Drs. Bambang Tri Purwanto, MS.

NIP. 131470996

Pembimbing Serta



Drs. Robby Sondakh, MS.

NIP. 130355370

*Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah  
dan kebenarannya, maka semuanya itu  
akan ditambahkan kepadamu.*

*Sebab itu janganlah kamu kuatir akan  
hari besok, karena hari besok mempunyai  
kesusahannya sendiri.*

*Kesusahan sehari cukuplah untuk  
sehari.*

*(Matius 6: 33-34)*

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur saya panjatkan kepada Yesus Kristus karena atas karunia-Nya maka saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF N-(4-TRIFLUOROMETILBENZOIL)SEFALEKSIN DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29213”** dengan sebaik-baiknya.

Skripsi ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Skripsi ini merupakan pengalaman berharga bagi saya untuk memahami suatu konsep penelitian.

Dalam proses penelitian dan pengerjaan skripsi ini hingga selesai, selain karena karunia Yesus Kristus juga banyak bantuan yang sangat berharga dari berbagai pihak. Atas bantuan yang diberikan, maka pada kesempatan ini dengan setulus hati saya ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Siswando, Apt., MS., selaku Kepala Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Bapak Drs. Bambang Tri Purwanto, MS., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Robby Sondakh, MS., selaku Dosen Pembimbing serta yang telah memberikan saran dan masukan bagi kesempurnaan skripsi ini.
4. Bapak Drs. Ahmad Toto Poernomo, MSi., Apt. dan Dr. Marcellino Rudyanto, MSi., Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang berguna bagi perbaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar Laboratorium Kimia Medisinal yang telah memberikan saran dan pengarahan dalam melakukan penelitian ini, serta seluruh Dosen di Fakultas Farmasi yang telah memberikan bantuan selama saya menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi.
6. Ibu Dra. Asri Darmawati, MS., selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan selama masa pendidikan saya.

7. Bapak Tukijo dan Bapak Tanto, selaku laboran di Laboratorium Kimia Medisinal atas bantuan tenaga selama saya mengerjakan skripsi.
8. Papa, Mama, dan Eyang Timas atas kasih sayang, doa, dorongan semangat, pengertian dan kesabaran dalam mendidik saya.
9. Eyin, adikku yang selalu mengganggu saat saya mengerjakan skripsi.
10. Teman-temanku di Karang Menjangan 8 (mbak Har, mbak Eni, Nina, Anna, mbak Umi) yang selama ini saling berbagi cerita, pengalaman dan keluh kesah.
11. Teman sejawatku Iis dan Ocha yang selama ini saling membantu dalam kerja skripsi.
12. Temanku di “Rumah Pelangi” yaitu Hepfi dan Wuri yang membantu sekaligus mengganggu dengan keonarannya.
13. Teman- temanku senasib sepenanggungan yaitu Cepi, Meta, Indah, Pegi, mbak Di, mbak Muthel dan Heni yang telah memberikan keceriaan selama masa kuliah.
14. Semua teman-teman skripsi di Laboratorium Kimia Medisinal atas dorongannya dalam penyelesaian skripsi ini.
15. Kukuh Pribadi dan keluarga yang telah memberikan cinta, pengertian, dukungan dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
16. Semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini.

Meskipun hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, saya tetap berharap bahwa hasil penelitian ini dapat bermanfaat khususnya bagi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Surabaya, September 2006

Penulis



## RINGKASAN

Penyakit infeksi oleh bakteri, menduduki peringkat teratas penyebab kematian terutama pada negara berkembang, sehingga penggunaan antibiotika untuk mengatasi infeksi banyak digunakan. Antibiotika yang mempunyai struktur kimia dengan cincin  $\beta$ -laktam merupakan kelas senyawa dominan untuk kemoterapi infeksi bakteri. Sefaleksin merupakan salah satu antibiotika golongan  $\beta$ -laktam yang banyak digunakan.

*N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin merupakan modifikasi struktur turunan sefaleksin generasi pertama. Pemasukan gugus 4-trifluorometilbenzoil pada gugus amino primer struktur sefaleksin dapat meningkatkan lipofilitas dan sifat elektronik senyawa.

Penurunan kadar senyawa aktif dapat mengakibatkan pemberian dosis yang tidak tepat sehingga aktivitas antibakterinya berkurang. Keadaan tersebut menyebabkan terjadinya penurunan efek terapi dan meningkatkan kemungkinan terjadinya resistensi bakteri terhadap suatu antibiotika.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui hubungan linier antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Penelitian ini dilakukan dengan membuat larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu kamar, 50°C, 60°C, 70°C, dan 80°C untuk mendapatkan berbagai kadar.

Penetapan kadar secara kimia dilakukan dengan metode iodometri. Pada metode ini terjadi proses hidrolisis senyawa dalam suasana alkalis, sehingga iodium yang ditambahkan dapat bereaksi dengan produk hasil hidrolisis. Perbedaan penggunaan sebelum dan sesudah hidrolisis sebanding dengan jumlah *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang masih aktif.

Uji aktivitas secara mikrobiologi dilakukan dengan metode difusi silinder dengan menggunakan media Antibiotika-1. Aktivitas antibakteri senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin ditunjukkan dengan diameter daerah hambatan.

Hasil penelitian dan analisis data menggunakan uji regresi pada  $\alpha = 0,05$  menunjukkan adanya hubungan linier yang bermakna antara kadar *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Hubungan ini dinyatakan dengan persamaan garis regresi  $y = 0,1524x + 9,136$ .

## ABSTRACT

### **Correlation Between the Concentration of the Active Compound *N*-(4-trifluoromethylbenzoyl)cephalexin with Antibacterial Activity to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

This research was done to find the correlation between the concentration of active compound *N*-(4-trifluoromethylbenzoyl)cephalexin (with heat treatment) by iodometric method and antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Determination the concentration of the active compound was done chemically and antibacterial activity was done microbiologically to determine the existence of linear relation among both. Determination the concentration of active compound was done by iodometric method. Antibacterial activity assay of *N*-(4-trifluoromethylbenzoyl)cephalexin was determined by agar diffusion method using metal cylinder. Antibiotic 1 was used as test media. The antibacterial activity was expressed as inhibition area diameter.

The result of this research showed that different temperature give different concentration of active compound. Higher temperature caused the lower concentration of active compound. The result of data analysis used regression test at  $\alpha = 0,05$  showing the existence of significant linear relation between the concentration of active compound *N*-(4-trifluoromethylbenzoyl)cephalexin by iodometric method (variable x) and inhibition area diameter to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (variable y). This relation is expressed with the equation  $y = 0,152x + 9,136$  ( $n = 5$ ;  $r = 0,984$  ;  $F = 93,674$ ).

**Keyword :**

*N*-(4-trifluoromethylbenzoyl)cephalexin  
Iodometric method  
Antibacterial activity  
*Staphylococcus aureus*

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RINGKASAN.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Tentang Sefaleksin.....	6
2.1.1 Sifat Fisika Kimia Sefaleksin.....	7
2.1.2 Stabilitas Sefaleksin.....	7
2.1.3 Mekanisme Aksi Sefaleksin.....	8
2.2 Tinjauan Tentang <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin.....	9
2.3 Penetapan Kadar Sefaleksin.....	10
2.3.1 Metode Titrasi Iodometri.....	10
2.3.2 Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	13
2.3.3 Metode Kromatografi Kertas.....	13
2.3.4 Metode Kromatografi Kolom.....	13
2.3.5 Metode Elektroforesis.....	13
2.3.6 Metode Kolorimetri.....	13
2.3.7 Metode Spektroskopi Ultra Violet.....	14
2.3.8 Metode Kromatografi Lapis Tipis.....	14



2.4 Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.4.1 Morfologi.....	14
2.4.2 Biakan.....	14
2.4.3 Sifat Pertumbuhan.....	15
2.4.4 Resistensi.....	15
2.5 Uji Aktivitas Secara Mikrobiologi.....	15
2.5.1 Metode Dilusi.....	16
2.5.2 Metode Difusi.....	16
<b>BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>19</b>
3.1 Uraian Kerangka Konseptual.....	19
3.2 Skema Kerangka Konseptual.....	21
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
4.1 Bahan-Bahan.....	22
4.2 Alat-Alat.....	22
4.3 Pemeriksaan Kualitatif Terhadap <i>N</i> -(4-trifluorometil- benzoil)sefaleksin.....	23
4.3.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	23
4.3.2 Pemeriksaan Jarak Lebur.....	23
4.3.3 Pemeriksaan Dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	23
4.4 Penetapan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluorometil- benzoil)sefaleksin.....	23
4.4.1 Pembuatan Larutan Uji <i>N</i> -(4-trifluorometil- benzoil)sefaleksin.....	23
4.4.2 Pembuatan Larutan Pereaksi .....	24
4.4.3 Penetapan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluoro- metilbenzoil)sefaleksin.....	25
4.4.4 Rumus Perhitungan Kadar Senyawa Aktif.....	26
4.4.5 Replikasi.....	26
4.5 Rancangan Penelitian.....	27
4.6 Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	28
4.6.1 Pewarnaan Gram.....	28
4.6.2 Tes Katalase.....	28

4.7 Uji Aktivitas Antibakteri <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil) sefaleksin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	28
4.7.1 Pembuatan Media Antibiotika 1.....	28
4.7.2 Penyiapan Bakteri Uji.....	28
4.7.3 Penentuan Aktivitas Antibakteri.....	29
4.7.4 Replikasi.....	29
4.8 Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri dari Larutan Uji.....	30
4.9 Analisis Data.....	30
<b>BAB V. HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>32</b>
5.1 Identifikasi <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin.....	32
5.2 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	32
5.3 Hasil Penetapan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin Secara Iodometri.....	33
5.4 Hasil Penentuan Diameter Daerah Hambatan Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	36
5.5 Hubungan Antara Kadar Rata-rata Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang Ditetapkan Secara Iodometri dengan Diameter Daerah Hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	37
<b>BAB VI. PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
<b>BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>44</b>
7.1 Kesimpulan.....	44
7.2 Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN 1.....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN 2.....</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN 3.....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN 4.....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN 5.....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN 6.....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN 7.....</b>	<b>55</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Hasil pemeriksaan kualitatif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin.....	32
Tabel 5.2 Hasil identifikasi dan data pustaka <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	33
Tabel 5.3 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu kamar (31°C) selama 3 jam.....	33
Tabel 5.4 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu 50°C selama 3 jam.....	34
Tabel 5.5 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu 60°C selama 3 jam.....	34
Tabel 5.6 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil) sefaleksin pada suhu 70°C selama 3 jam.....	35
Tabel 5.7 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu 80°C selama 3 jam.....	35
Tabel 5.8 Diameter daerah hambatan larutan uji <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dalam berbagai suhu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	37
Tabel 5.9 Hubungan antara kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan rata-rata diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	38

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Struktur Dasar Sefalosporin.....	2
Gambar 2.1 Rumus Molekul Sefaleksin.....	6
Gambar 2.2 Reaksi Penghambatan Enzim Transpeptidase oleh Antibiotika $\beta$ -laktam.....	9
Gambar 2.3 Struktur Molekul <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)- sefaleksin.....	10
Gambar 2.4 Reaksi Penetapan Kadar Sefaleksin Secara Iodometri.....	12
Gambar 5.1 Kurva hubungan antara suhu dengan kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin.....	36
Gambar 5.2 Kurva persamaan garis regresi antara kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1 Contoh Perhitungan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin Secara Iodometri.....	48
LAMPIRAN 2 Perhitungan Uji Regresi dan Uji F antara Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dengan Aktivitas Antibakterinya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	49
LAMPIRAN 3 Tabel Harga $r$ .....	49
LAMPIRAN 4 Tabel Harga F pada $\alpha = 0.05$ .....	52
LAMPIRAN 5 Surat Keterangan Hasil Pemeriksaan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin.....	53
LAMPIRAN 6 Sertifikat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	54
LAMPIRAN 7 Contoh Diameter Daerah Hambatan Larutan Uji <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	55



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

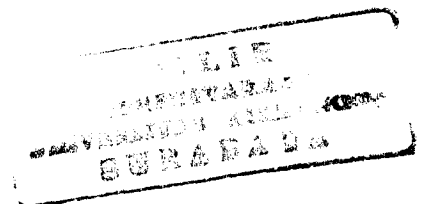
Jenis penyakit yang semakin bervariasi saat ini, mendorong adanya penelitian untuk mengembangkan berbagai senyawa obat yang telah ada atau merancang senyawa obat baru. Penelitian tersebut dimaksudkan untuk mendapatkan senyawa obat baru yang memiliki aktivitas tinggi dengan pemberian dosis kecil dan mempunyai toksisitas rendah.

Penyakit infeksi oleh bakteri, menduduki peringkat teratas penyebab kematian terutama pada negara berkembang. Di Indonesia pun pada dewasa ini penyakit infeksi masih menduduki tempat teratas di antara penyakit-penyakit lain. Infeksi terjadi bila mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan berbagai gangguan fisiologis normal tubuh, sehingga timbul penyakit infeksi (Wattimena, 1991). Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki toksisitas selektif setinggi mungkin, sehingga obat tersebut harus bersifat sangat toksik untuk mikroba tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Ganiswara, 1995).

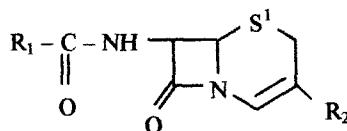
Salah satu obat anti mikroba yang banyak digunakan adalah antibiotika. Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi atau bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan toksisitasnya pada manusia relatif kecil. Penemuan penisilin oleh Sir Alexander Fleming pada tahun 1929 merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senyawa dengan daya antiinfeksi yang menakjubkan (Gilman, 1991).

Antibiotika yang mempunyai struktur kimia dengan cincin  $\beta$ -laktam merupakan kelas senyawa dominan untuk kemoterapi infeksi bakteri dengan cara menghambat proses biosintesis peptidoglikan (Martin, 1982). Antibiotika  $\beta$ -laktam terbagi menjadi tiga golongan yaitu golongan penisilin, sefalosporin dan  $\beta$ -laktam non klasik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Sefalosporin merupakan salah satu jenis antibiotik yang digunakan untuk pengobatan terhadap bakteri yang resisten terhadap penisilin. Sefalosporin banyak



digunakan karena memiliki aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri penghasil penisilinase daripada golongan penisilin. Golongan sefalosporin akan menghasilkan efek bakterisida pada mikroba yang sedang membelah, sedangkan terhadap mikroba yang tidak sedang membelah, praktis tidak dipengaruhi, walaupun ada pengaruhnya hanya sebagai bakteriostatika. Mekanisme kerja sefalosporin adalah dengan menghambat sintesa dinding sel mikroba (Ganiswara, 1995). Sefalosporin mempunyai struktur dasar sebagai berikut :



Gambar 1.1  
Struktur Dasar Sefalosporin

Antibiotika golongan sefalosporin diisolasi dari *Cephalosporium acremonium* oleh Brotzu pada tahun 1948 dari lepas pantai Sardinia. Filtrat kultur jamur tersebut diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* in vitro dan pengobatan *Staphylococcus* infeksi maupun demam thypoid pada manusia. Jamur ini menghasilkan 3 macam antibiotik yaitu sefalosporin P, N dan C. Dari ketiga antibiotik tersebut kemudian dikembangkan berbagai derivat sefalosporin semisintetik (Gilman, 1991).

Senyawa semisintetik turunan sefalosporin berdasarkan sistem generasi dibagi menjadi empat kelompok yaitu sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga, dan keempat (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Sefaleksin termasuk dalam sefalosporin generasi pertama (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Sefaleksin merupakan salah satu antibiotika yang beredar di Indonesia dan efektif terhadap bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, dan *Pneumococcus sp.*, dan Gram negatif seperti *E.coli*, *N.gonorrhoea*, *P.mirabilis* dan *N.influenzae*. Sefaleksin merupakan turunan sefalosporin yang dapat diberikan secara oral karena mengandung gugus  $\alpha$ -amino yang menyebabkan senyawa tahan terhadap asam lambung. Sefaleksin dengan pemberian per-oral diabsorpsi secara cepat oleh saluran cerna (90%), kadar plasma tertinggi dicapai dalam 1 jam, dengan waktu paruh 1 jam (Ganiswara,

1995). Makanan dalam lambung tidak mengganggu absorpsinya, tetapi memperlambat tercapainya kadar puncak. Sefaleksin bekerja sebagai bakterisida dengan menghambat biosintesis dinding sel bakteri.

Reaksi asilasi pada gugus amino sefaleksin dengan gugus 4-trifluorometilbenzoi klorida dari turunan benzoi klorida merupakan modifikasi struktur turunan sefaleksin generasi pertama yang telah dilakukan dan menghasilkan *N*-(4-trifluorometilbenzoi) sefaleksin. Pemasukan gugus 4-trifluorometilbenzoi pada gugus amino primer struktur sefaleksin akan meningkatkan lipofilitas dan sifat elektronik senyawa sehingga akan mempengaruhi distribusi dan proses interaksi senyawa dengan reseptor. Peningkatan sifat lipofilik akan meningkatkan penembusan senyawa ke dalam membran biologis sehingga jumlah senyawa yang berinteraksi dengan reseptor menjadi lebih besar, sedangkan peningkatan sifat elektronik akan mempengaruhi proses penembusan senyawa ke dalam membran biologis, tetapi pengaruh utamanya adalah memperkuat ikatan senyawa dengan reseptor (Hardjono, 2002).

Stabilitas suatu larutan sefaleksin bergantung pada pH, dalam media basa terjadi degradasi dengan cepat dan tetap stabil dalam kondisi sedikit asam. Selain itu degradasi sefaleksin juga dapat disebabkan oleh adanya panas, sinar UV pada panjang gelombang 260 nm, dan enzim  $\beta$ -laktamase yang dihasilkan oleh bakteri (Florey, 1975 ; Dinner, 1977). Dampak penurunan kadar senyawa aktif adalah pemberian dosis yang tidak tepat, sehingga aktivitas antibakterinya berkurang, keadaan ini menyebabkan efek terapi menurun dan adanya kemungkinan resistensi bakteri terhadap antibiotika (Martin, 1982). Oleh karena itu perlu dilakukan analisis secara kuantitatif terhadap senyawa aktif sefaleksin.

Metode penetapan kadar senyawa aktif sefaleksin dalam sediaan dapat dilakukan secara kimia. Penetapan kadar secara kimia mempunyai kelebihan praktis, cepat dan hasilnya lebih teliti karena variabel yang mempengaruhi hasil lebih sedikit. Sedangkan uji aktivitas secara mikrobiologi mempunyai kelebihan yaitu lebih peka dan hasilnya lebih menunjukkan adanya aktivitas biologi yang sebenarnya.

Metode analisis kimia haruslah dapat menunjukkan kadar senyawa aktif yang dapat mencerminkan aktivitas mikroba. Aktivitas sefaleksin sebagai

antibakteri hanya dapat terjadi bila cincin  $\beta$ -laktam belum terurai atau dalam bentuk senyawa aktifnya (Martin, 1982).

Analisis kuantitatif antibiotika sefaleksin dapat dilakukan dengan metode titrasi iodometri, spektrofotometri UV, kolorimetri, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kertas, kromatografi kolom, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Florey, 1975).

Senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin merupakan senyawa baru yang belum mempunyai pembanding, sehingga untuk melakukan penetapan kadar *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin tidak dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri UV dan kromatografi cair kinerja tinggi karena kedua metode ini memerlukan pembanding. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode iodometri. Metode iodometri mempunyai kelebihan yaitu tidak memerlukan pembanding (Connors, 1982). Selain itu metode iodometri merupakan metode yang sesuai untuk penetapan kadar sebagian besar senyawa antibiotika yang mengandung cincin  $\beta$ -laktam seperti sefaleksin (Anonim, 1995<sup>a</sup>).

Untuk mengetahui aktivitas biologis dari senyawa aktif yang belum terurai dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara nyata. Senyawa aktif dengan struktur yang masih utuh akan memberikan aktivitas yang optimal secara mikrobiologi. Ada dua metode umum yang digunakan untuk penentuan aktivitas antibakteri dari sefaleksin yaitu metode difusi dan metode dilusi. Dalam penelitian ini digunakan metode difusi yang dinyatakan dalam diameter daerah hambatan. Metode ini mempunyai beberapa keuntungan yaitu ekonomis, praktis, mudah dilaksanakan, cukup teliti dan reliabilitas tinggi untuk teknik in vitro.

Uji aktivitas mikrobiologi pada penelitian ini dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-positif yang peka terhadap sefaleksin dan tidak patogen. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin maka dilakukan uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Sehubungan dengan hal ini, maka diperlukan penelitian hubungan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dengan aktivitas mikrobiologinya.



## 1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

Apakah ada hubungan linier antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya hubungan linier antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

## 1.4 Hipotesis Penelitian

Ada hubungan linier antara kadar senyawa aktif *N*-(4 trifluorometilbenzoil)-sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat hasil penelitian ini adalah memberikan sumbangan informasi mengenai hubungan antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.



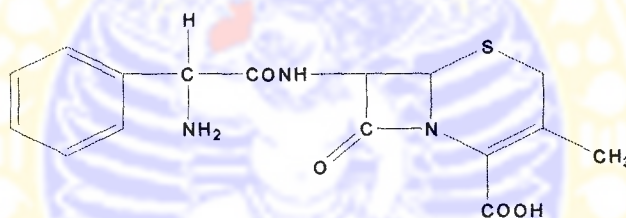
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Tentang Sefaleksin

Sefaleksin merupakan suatu senyawa semisintetik dari generasi pertama sefalosporin yang dapat diberikan melalui per oral karena mengandung gugus  $\alpha$ -amino yang menyebabkan senyawa tersebut tahan terhadap asam lambung (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Sefaleksin mempunyai dua bentuk isomer yaitu D-isomer dan L-isomer. D-isomer memiliki aktivitas biologis yang lebih tinggi dari pada L-isomer (Florey, 1975).

Nama kimia sefaleksin adalah asam 7 $\alpha$ -(D-amino- $\alpha$ -fenilasetamida)-3-metilsempemkarboksilat (Martin, 1982). Dengan rumus kimia  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  dan massa relatif 347,40 (Anonim, 1995). Gambar rumus molekul sefaleksin dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.1  
Rumus Molekul Sefaleksin

Sefaleksin terutama digunakan untuk pengobatan infeksi saluran seni karena sedikit diikat oleh protein plasma dan sebagian besar diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk tidak berubah. Sefaleksin dapat digunakan untuk pengobatan infeksi pada sistem kardiovaskular, saluran nafas, kulit dan jaringan lunak (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Kebanyakan sefalosporin diekskresi dalam bentuk utuh melalui ginjal dengan proses sekresi tubuli, oleh karena itu dosisnya harus dikurangi pada penderita insufisiensi ginjal. Ikatannya dengan protein plasma 10-15%, mempunyai waktu paruh 0,9 jam dan diekskresi dalam urine 90%. Makanan dalam lambung tidak mengganggu absorpsinya, tetapi memperlambat tercapainya kadar

puncak. Efek samping yang mungkin terjadi adalah reaksi alergi, anafilaksis dengan spasme bronkus dan urtikaria. Dosis oral sefalekssin untuk orang dewasa adalah 25-50 mg/kg BB sehari yang dibagi dalam 4 dosis. Dalam keadaan gagal ginjal, dosis obat harus disesuaikan (Ganiswara, 1995).

### **2.1.1 Sifat Fisika Kimia Sefaleksin**

Sefaleksin merupakan serbuk hablur, berwarna putih sampai hampir putih dengan bau khas. Kelarutannya yaitu sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol, kloroform dan eter (Anonim, 1995). Larutan 0,5% sefaleksin dalam air mempunyai pH 4,0-5,5 (Parfitt, 1999). Sedangkan 5% suspensi sefaleksin dalam air mempunyai pH 3,0-5,5 (Anonim, 1990).

Sefaleksin dikenal dalam bentuk sefaleksin anhidrat, monohidrat, dihidrat, bentuk garam natrium dan garam lisinat (Parfitt, 1999). Larutan sefaleksin dalam air pada suhu kamar akan mengkristal berubah menjadi dihidrat, namun akan berubah menjadi bentuk monohidrat jika berada pada kelembaban relatif dibawah 70% (Lund, 1994). Penyimpanan dilakukan pada wadah tertutup, terlindung dari cahaya dan pada suhu tidak lebih dari 30°C (Anonim, 1995).

### **2.1.2 Stabilitas Sefaleksin**

Stabilitas sefaleksin dalam bentuk larutan bergantung pada pH, cepat terdegradasi dalam media basa dan akan tetap stabil dalam kondisi asam lemah. Pada suhu 25°C dalam rentang pH 3-5, aktivitas tidak hilang dalam 72 jam. Pada pH 6 dan pH 7 (suhu 25°C), laju degradasinya masing-masing 3% dan 18% tiap 24 jam, sedangkan pada suhu rendah hanya sedikit terdegradasi pada rentang pH 3-7 setelah 72 jam. Sefaleksin dalam dapar asam hidroklorida (pH 1,2) pada suhu 37°C akan kehilangan 5% aktivitasnya dalam 24 jam, sedangkan dalam dapar fosfat (pH 6,5), aktivitasnya hilang sebanyak 45%. Sefaleksin dapat terdegradasi oleh asam kuat, basa kuat dan sinar UV pada panjang gelombang 260 nm. Stabilitas sefaleksin juga dipengaruhi oleh pemanasan, oleh karena itu sebaiknya disimpan pada suhu tidak lebih dari 30°C. Selain itu beberapa enzim  $\beta$ -laktamase atau sefalosporinase dapat mempercepat degradasi sefaleksin (Anonim, 1979; Lund, 1994).

Larutan sefaleksin yang dipanaskan 75°C pada pH 3,3 selama 90 menit, akan membentuk dua produk utama yaitu 3-hidroksi-4-metil-2(5H)-tiofenon dan 3-formil-3,6-dihidro-2,5(1H,4H)-pirazidione (Dinner, 1977).

### 2.1.3 Mekanisme Aksi Sefaleksin

Sefaleksin merupakan bakterisida yang memiliki mekanisme dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri seperti halnya antibiotika  $\beta$ -laktam lain. Dinding sel mikroba berfungsi untuk perlindungan yang sangat dibutuhkan dan merupakan organel yang paling bertanggung jawab memelihara sifat karakteristik bentuk masing-masing jenis bakteri.

Sebagian besar kandungan yang ada didalam dinding sel bakteri adalah peptidoglikan yang menentukan bentuk kekakuan yang dibutuhkan untuk melindungi bakteri dari perobekan osmotik (Martin, 1982). Kekakuan dan kekuatan peptidoglikan disebabkan oleh rangka dasar struktur dan ditulang punggung oleh rantai oligosakarida yang dihubungkan bersama-sama melalui rantai cabang peptida pendek (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

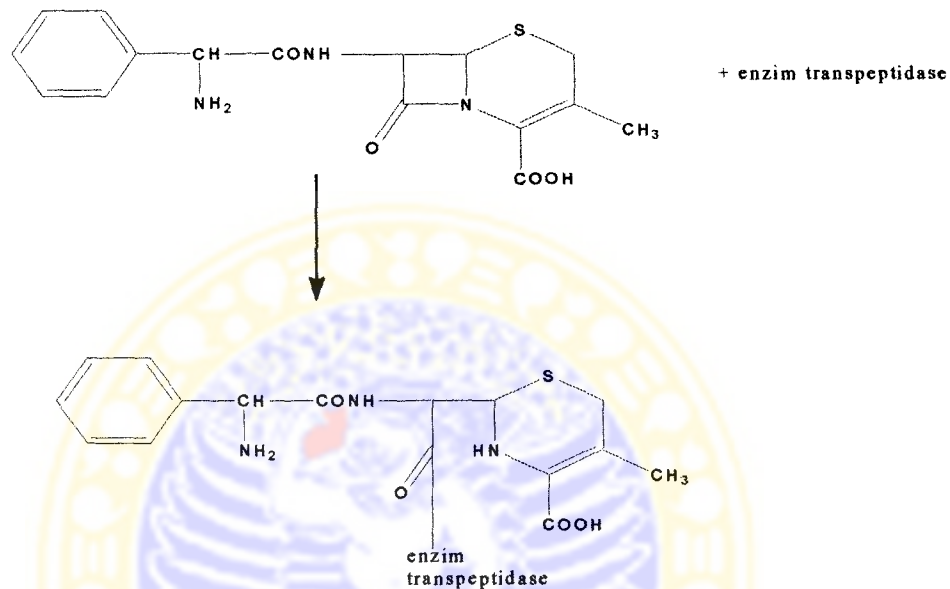
Bakteri Gram positif umumnya mempunyai rantai peptidoglikan yang cukup tebal (50-100 lapisan molekul) yang melingkupi membran sel, berlawanan dengan bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan hanya 1 atau 2 lapis molekul (ketebalan 15-20 nm) yang dilingkupi oleh suatu membran terluar lipopolisakarida yang lunak dan halus (Martin, 1982).

Pada tingkat molekul, mekanisme kerja antibiotik  $\beta$ -laktam ditunjukkan oleh adanya serangan nukleofil dari enzim transpeptidase pada karbonil cincin  $\beta$ -laktam yang bermuatan positif, menyebabkan terjadinya hambatan biosintesis peptidoglikan. Hal ini menyebabkan dinding sel menjadi lemah dan mudah pecah atau lisis karena adanya tekanan turgor dari dalam sehingga bakteri mengalami kematian (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Mekanisme aksi antibiotika  $\beta$ -laktam pada bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* mula-mula ditunjukkan dengan proses penembusan membran terluar selubung bakteri pasif melalui saluran porin. Kemudian antibiotik masuk melalui dinding sel, melewti periplasma dan mencapai sasaran, yaitu enzim serin protease yang terdapat pada sitoplasma.

Enzim inilah yang bertanggung jawab terhadap biosintesis dinding sel (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Sefaleksin hanya dapat membunuh bakteri pada fase pertumbuhan dan tidak dapat mempengaruhi bakteri yang dalam bentuk aktif. Sefaleksin dari golongan antibiotik  $\beta$ -laktam dan antibiotika lain yang menghambat biosintesis dinding sel bakteri bersifat khas dan mempunyai toksisitas yang selektif terhadap bakteri.



Gambar 2.2

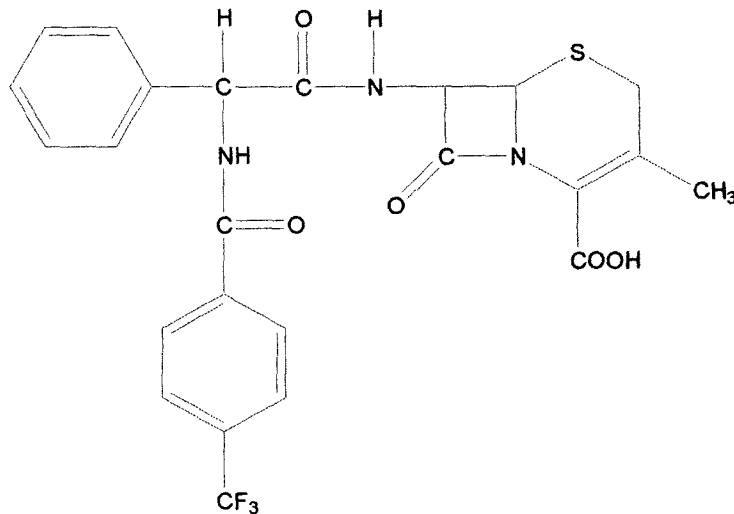
Reaksi Penghambatan Enzim Transpeptidase oleh Antibiotika  $\beta$ -laktam

## 2.2 Tinjauan Tentang *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

Senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin merupakan senyawa baru hasil sintesis turunan *N*-benzoilsefaleksin. Senyawa ini mempunyai bentuk amorf, berwarna putih tulang dan mempunyai bau khas. Larut dalam aseton, kloroform dan dimetilsulfoksida (DMSO). Berat molekulnya adalah 518,011 dan mempunyai titik lebur pada suhu 208-210°C.

Sebagai senyawa turunan *N*-benzoilsefaleksin, senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dibanding sefaleksin. Struktur molekul *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dapat dilihat pada gambar 2.2 (Hardjono, 2002).





Gambar 2.3  
Struktur Molekul *N*-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksin

## 2.3 Penetapan Kadar Sefaleksin

### 2.3.1 Metode Titrasi Iodometri

Metode ini berdasarkan fakta bahwa molekul sefaleksin yang utuh tidak mengkonsumsi iodium, tetapi produk sefaleksin dari hidrolisis alkali bereaksi sebaliknya. Hidrolisis alkali sefaleksin menghasilkan pemotongan cincin  $\beta$ -laktam kemudian ditambahkan larutan iodium sehingga terjadi iodisasi pada pH asam (pH 4,5 dapar fosfat). Iodium ditambahkan pada jumlah berlebih, kelebihan iodium akan dititrasi dengan natrium tiosulfat dan sebagai indikatornya digunakan amilum. Perbedaan volume natrium tiosulfat yang digunakan untuk mentitrasi sefaleksin sebelum dihidrolisis dan setelah dihidrolisis ekuivalen dengan kelebihan iodine yang setara dengan kadar senyawa aktif. Variasi waktu hidrolisis, suhu, pH larutan iodium dan konsentrasi sefaleksin dapat mempengaruhi konsumsi iodium (Florey, 1975; Yamana, 1976).

Penetapan kadar secara titrasi iodometri memungkinkan terjadinya kesalahan yang timbul karena:

a. Oksidasi udara ( $O_2$ )

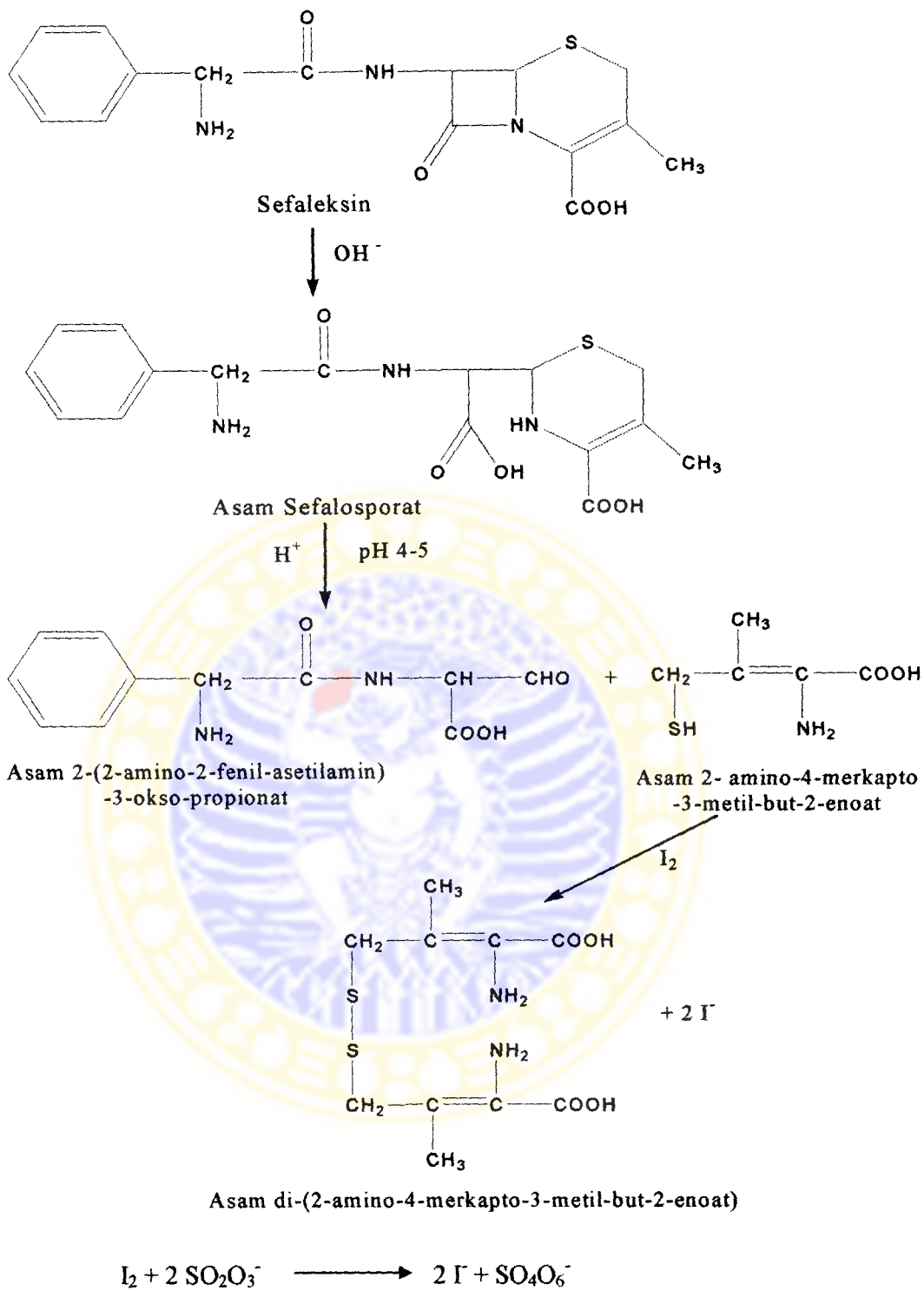
Iodium secara perlahan-lahan akan teroksidasi oleh udara dalam suasana asam. Dengan bertambahnya konsentrasi ion hidrogen, laju oksidasi akan meningkat pula.



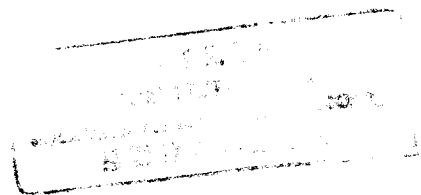
b. Penguapan iodium

Larutan iodium mudah menguap dengan naiknya temperatur. Penguapan iodium dapat diabaikan bila proses titrasi dilakukan pada suhu kamar dan disimpan pada wadah tertutup serta mampu mengurangi pengaruh cahaya (Kolthoff, 1952).





Gambar 2.4  
Reaksi Penetapan Kadar Sefaleksin Secara Iodometri



### 2.3.2 Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Metode ini digunakan untuk mempelajari kinetika degradasi pada beberapa sefalosporin. Untuk sefaleksis, sebagai fase diam digunakan resin penukar ion dan sebagai fase gerak digunakan larutan natrium difosfat 0,02 N yang diatur pH-nya sampai pH 6,5 dengan natrium hidroksida. Jika dibandingkan dengan metode kromatografi lapis tipis, metode ini menunjukkan hasil yang serupa (Yamana dan Tsuji, 1976).

### 2.3.3 Metode Kromatografi Kertas

Metode ini menggunakan fase gerak sistem pelarut butanol : asam asetat : air (3:1:1) dan untuk fase geraknya digunakan kertas Whatman no.1. metode kromatografi kertas dapat digunakan untuk pemisahan campuran sefaleksis dengan sefalosporin. Hasilnya dapat diperiksa dibawah sinar ultraviolet atau dimasukan dalam larutan ninhidrin (Florey, 1975).

### 2.3.4 Metode kromatografi Kolom

Metode ini berguna untuk menentukan kadar 7-ADCA (7-aminodesacetoxycephalosporinic acid) dan fenilglisin dalam sefaleksis (Florey, 1975).

### 2.3.5 Metode Elektroforesis

Metode ini digunakan untuk mengetahui adanya pengotor dalam sefaleksis. Prosedurnya berdasarkan interaksi antara 7-ADCA dengan ninhidrin dibawah kondisi kontrol untuk menghasilkan gugus kromofor yang spesifik (Florey, 1975).

### 2.3.6 Metode Kolorimetri

Metode ini didasarkan pada reaksi pemutusan cincin  $\beta$ -laktam oleh hidroksilamin (pH 7.0) untuk membentuk asam hidroksamat yang dapat membentuk kompleks berwarna dengan ion ferri. Warna yang terjadi diukur dengan alat Auto Analyzer (Florey, 1975).

### 2.3.7 Metode Spektroskopi Ultra Violet

Metode ini menggunakan prinsip serapan maksimum pada panjang gelombang tertentu yang spesifik untuk tiap senyawa. Sefaleksin memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 262 nm karena memiliki gugus kromofor ( $O=CNC=C-$ ). Apabila cincin  $\beta$ -laktam pecah, maka tidak ada serapan pada panjang gelombang tersebut (Yamana dan Tsuji, 1976; Florey, 1975).

### 2.3.8 Metode Kromatografi Lapis Tipis

Metode ini menggunakan silika gel, selulosa, kertas kromatogram sebagai fase diamnya dan sebagai fase geraknya digunakan campuran pelarut dengan perbandingan tertentu. Penampak noda yang dipakai adalah sinar ultra violet, ninhidrin, iodoplatina, alkali permanganat dan asam fosfomolibdat (Florey, 1975).

## 2.4 Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam familia Micrococaceae dan jarang menimbulkan penyakit. Bakteri ini dapat ditemukan pada kulit dan membran mukosa pada mamalia dan burung (Gillespie, 1994).

### 2.4.1 Morfologi

Bakteri ini termasuk kokus Gram negatif yang bersifat fakultatif anaerob. *Staphylococcus aureus* bersifat non motil, katalase positif dan tidak membentuk spora. Kebanyakan hidup bergerombol (seperti anggur), tetapi beberapa diantaranya ada yang tunggal dan ada yang berpasangan. Koloni dalam media padat berbentuk bulat, halus dan berkilauan. Berwarna abu-abu sampai kuning keemasan (Gillespie, 1994; Jawetz, 1991).

### 2.4.2 Biakan

Bakteri ini tumbuh dengan mudah pada kebanyakan pembiakan bakteriologi pada kondisi aerobik maupun mikroaerobik. Pertumbuhan paling cepat terjadi pada suhu 37°C, sedangkan pertumbuhan pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Setelah pembiakan selama 24 jam 37°C pada nutrient agar, agar susu atau agar darah, terbentuk koloni sirkular dengan diameter 1-3 mm.

dengan permukaan halus, berkilau, relatif buram, pigmen kuning keemasan, pH optimum 7,5. Pigmen tidak dihasilkan pada pembiakan aerobik atau pada kaldu.

Media selektif yang digunakan untuk pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu agar manitol yang mengandung NaCl 7,5% atau kaldu yang mengandung NaCl 10% (Gillespie, 1994; Jawertz, 1991).

#### 2.4.3 Sifat Pertumbuhan

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat meragi karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Bakteri ini relatif tahan terhadap pengeringan, panas (50°C selama 30 menit) dan 9% NaCl serta dihambat oleh heksaklorofen 3% (Jawetz, 1991).

#### 2.4.4 Resistensi

Resistensi *Staphylococcus aureus* karena adanya produksi enzim  $\beta$ -laktamase yang disintesis didalam dinding sel dan dilepaskan secara ekstraseluler. Enzim  $\beta$ -laktamase mengkatalis pembukaan cincin  $\beta$ -laktam sehingga sefaleksin tidak aktif lagi. Pada bakteri Gram positif, produk  $\beta$ -laktamase akan diekskresi secara ekstraseluler. Pada bakteri Gram negatif, produk  $\beta$ -laktamase diekskresi pada ruang periplasmik. Ruang periplasmik adalah ruang antara peptidoglikan yang mengelilingi membran sitoplasma dengan membran luar yang sangat hidrofobik. Letak  $\beta$ -laktamase ini akan melindungi bakteri Gram negatif (Gilman, 1991; Jawetz, 1996).

#### 2.5 Uji Aktivitas Secara Mikrobiologi

Potensi atau aktivitas suatu antibiotika dapat diketahui melalui uji aktivitas secara mikrobiologi, berdasarkan atas kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup. Suatu penurunan aktivitas antimikroba juga dapat menunjukkan perubahan kecil yang tidak ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas (Anonim, 1995<sup>a</sup>). Keberhasilan uji aktivitas tidak hanya ditentukan oleh jenis antibiotika, tetapi spesifikasi kuman juga sangat menentukan keberhasilannya. Metode yang



lazim digunakan untuk uji aktivitas antibiotika ada dua macam, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz, 1996).

### 2.5.1 Metode Dilusi

Prinsip metode dilusi adalah suatu seri pengenceran larutan antibiotik didalam media pertumbuhan yang dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah. Kuman ditanam pada suatu media dalam jumlah tertentu. Setelah diinkubasi akan tampak hambatan pertumbuhan. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambatan minimal dan konsentrasi bakterisid minimal (Lim, 1998). Berdasarkan media yang digunakan, metode dilusi dapat dibedakan menjadi:

➤ Metode dilusi cair

Suatu seri tabung berisi media cair, masing-masing tabung mengandung antibiotika dengan kadar yang berbeda. Isolat bakteri ditanamkan kedalam setiap tabung dan dikontrol dengan tetap. Setelah tabung diinkubasi, hambatan pertumbuhan ditentukan dengan melihat kekeruhan masing-masing tabung. Konsentrasi hambat minimal secara makroskopis adalah konsentrasi dengan pengenceran tertinggi yang tetap jernih (Lim, 1998; Black, 1999).

➤ Metode dilusi padat

Suatu seri lempeng berisi agar, masing-masing mengandung antibiotika dengan konsentrasi yang berbeda. Isolat bakteri ditanam dalam lempeng agar. Setelah inkubasi akan terlihat kadar hambat minimal (Lim, 1998).

### 2.5.2 Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan menuang media agar cair dan inokulum bakteri uji kedalam cawan petri kemudian dibiarkan memadat. Selanjutnya diatas media tersebut diletakan pencadang yang diisi dengan larutan yang akan diuji aktivitasnya.

Metode ini berdasarkan pada difusi antibiotika dari pencadang ke dalam media yang telah ditanami bakteri uji. Setelah masa inkubasi pada suhu kamar,

akan tampak daerah jernih yang dikelilingi daerah keruh. Daerah jernih adalah daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Daerah ini menunjukkan terjadinya hambatan pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai daerah hambatan. Daerah hambatan berbanding lurus dengan konsentrasi antibiotik dalam pencadang. Makin luas daerah hambatan berarti makin besar pula aktivitas senyawa uji terhadap bakteri yang digunakan. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap besarnya diameter daerah hambat adalah (Jawetz, 1991):

- a. Komposisi dan pH kandungan media
- b. Ketebalan media dalam lempeng
- c. Suhu dan waktu inkubasi
- d. Ukuran inokulum
- e. Laju difusi antibiotika

Berdasarkan pencadang yang digunakan, metode ini dapat dibedakan menjadi:

➤ Metode difusi cakram

Metode ini menggunakan kertas sebagai pencadang. Kertas dijenuhkan dengan larutan antibiotika dan diletakan pada permukaan media uji. Kekurangan dari media ini yaitu kandungan antibiotika tidak dapat diprediksi dengan tepat karena produk kertas yang bervariasi (Bonang dan Enggar, 1982).

➤ Metode difusi lempeng silinder

Metode ini menggunakan silinder logam atau gelas sebagai pencadang yang diisi dengan larutan uji antibiotik dan ditanam pada media uji. Jumlah larutan antibiotik dapat diatur untuk menjamin tersedianya antibiotik dalam pencadang selama waktu inkubasi. Metode ini merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam antibiotik (Rawlins, 1988).

➤ Metode difusi cetak lubang

Metode ini menggunakan pencadang berupa lubang dengan diameter 4-6 mm. Lubang yang terbentuk diisi dengan larutan antibiotik dengan kadar larutan tertentu.

Metode terpilih dalam penelitian ini adalah metode difusi silinder dengan beberapa pertimbangan yaitu lebih praktis, relatif mudah dilaksanakan, rentang

konsentrasi antibiotika lebih luas dari pada metode dilusi, cukup teliti dan memiliki reliabilitas tinggi untuk tehnik in vivo (Anonim, 1995<sup>b</sup>, 1990; Black, 1999).



## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1 Uraian Kerangka Konseptual

Sefalosporin merupakan suatu antibiotik  $\beta$ -laktam yang mempunyai aktivitas yang mirip penisilin. Keunggulannya jika dibandingkan dengan penisilin adalah ketahanannya terhadap enzim penisilinase. Sebagai antibiotik turunan sefalosporin generasi pertama, sefaleksin dapat digunakan untuk pengobatan terhadap infeksi bakteri yang resisten terhadap penisilin (Gilman, 1991).

Untuk meningkatkan aktivitasnya, telah dikembangkan senyawa turunan sefaleksin, salah satunya adalah senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang mempunyai aktivitas lebih besar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dibandingkan sefaleksin.

Aktivitas sefaleksin sebagai antibakteri hanya dapat terjadi bila cincin  $\beta$ -laktam belum terurai atau dalam bentuk senyawa aktif. Sefaleksin dapat terurai selama penyimpanan karena pengaruh suhu dan kelembaban, sehingga kadar senyawa aktif yang terkandung menjadi berkurang dan menyebabkan pemberian dosis yang tidak tepat. Keadaan ini mengakibatkan penurunan efek terapi dan meningkatkan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotika. Oleh karena itu maka perlu dilakukan analisis secara kuantitatif terhadap kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin.

Metode penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin ini digunakan metode iodometri. Metode ini dapat digunakan untuk menetapkan cincin  $\beta$ -laktam yang merupakan gugus penentu aktivitas antibakteri dari *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin. Untuk memperoleh sampel dengan kadar sefaleksin yang berbeda-beda dapat dilakukan dengan pemanasan pada berbagai suhu. Apabila cincin  $\beta$ -laktam terurai karena pemanasan, maka aktivitas antibakterinya juga akan hilang. Iodium ditambahkan pada sampel dalam jumlah berlebih, kelebihan iodium akan dititrasi dengan natrium tiosulfat dan sebagai indikatornya digunakan amilum. Perbedaan volume natrium tiosulfat yang

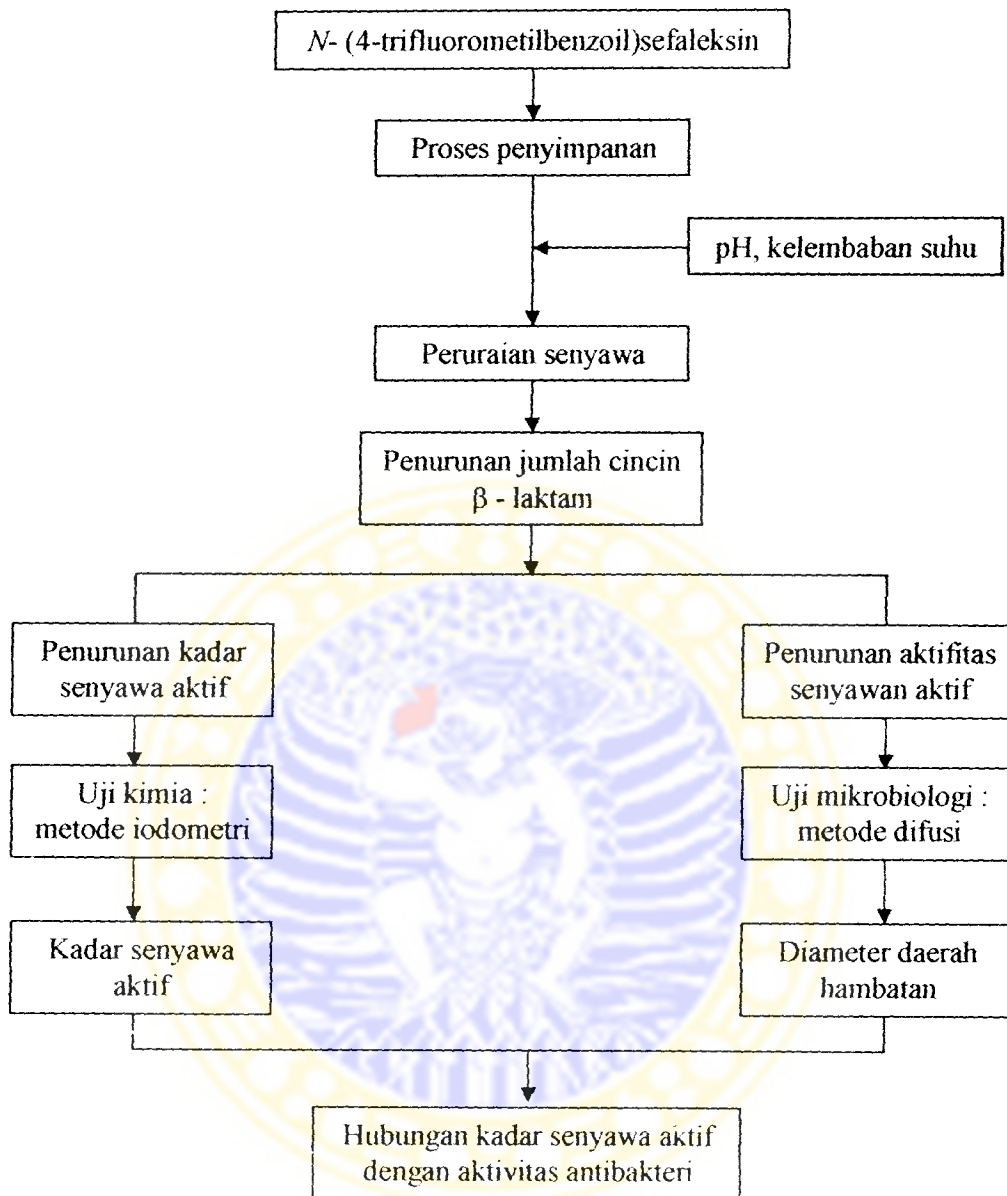
digunakan ekuivalen dengan kelebihan iodine. Kelebihan iodine ini setara dengan kadar senyawa aktif (Jawetz, 1996).

Untuk mengetahui apakah kadar yang diperoleh secara iodometri tersebut mencerminkan kadar senyawa aktif secara biologis, maka dilakukan penentuan potensi antibakterinya dengan uji mikrobiologi. Penentuan aktivitas antibakteri dari *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dilakukan dengan metode difusi lempeng silinder yang dinyatakan dengan daerah hambatan (Jawetz, 1996). Semakin besar diameter daerah hambatan maka makin tinggi kadar senyawa aktif.





### 3.2 Skema Kerangka Konseptual



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Bahan-Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini :

- *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin (Lab Kimia Medisinal)
- Metanol p.a (Riedel-de Haën)
- Natrium asetat p.a (Riedel-de Haën)
- Iodium p.a (Kimia Farma)
- Natrium tiosulfat p.a (Merck)
- Kalium iodat p.a (Riedel-de Haën)
- Kalium iodida p.a (Ferak)
- Asam klorida p.a (Merck)
- Natrium hidroksida p.a (Merck)
- Asam sulfat p.a (Riedel-de Haën)
- Asam asetat glasial p.a (Merck)
- Amilum soluble p.a (Merck)
- Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUD dr. Soetomo, Surabaya)
- Media antibiotika-I (Oxoid)
- Larutan NaCl isotonis steril (Otsuka)

#### **4.2 Alat-Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Thermostatic Bath (Julabo EM)
- Perangkat alat titrasi
- Perangkat alat uji mikrobiologis
- Autoklaf (All American)
- Inkubator (Memmert model no. 8540)
- pH meter (Fisher accument 230 A)

- Spectronic 20
- Neraca analitik (Sartorius)
- Neraca mikro (Shimadzu LM 20)
- Jangka sorong (Chuan Brand)
- Melting point apparatus (Electrothermal MEL TEMP)

### 4.3 Pemeriksaan Kualitatif terhadap *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

#### 4.3.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, warna dan bau.

#### 4.3.2 Pemeriksaan Titik Lebur

Bahan yang berbentuk serbuk sekitar 1mg dimasukkan dalam pipa kapiler gelas dengan diameter kurang lebih 1mm dan tinggi 8 cm, kemudian ujung yang lain ditutup. Sampel diusahakan mencapai ujung kapiler yang tertutup dengan cara diketuk-ketuk. Pipa kapiler dipasang pada tempatnya dan penangas dipanaskan secara perlahan-lahan. Titik lebur *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin sekitar 187-190°C (Hardjono, 2002).

#### 4.3.3 Pemeriksaan Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sampel dengan kadar tertentu dilarutkan dalam aseton. Kemudian dilakukan KLT dengan fasa gerak :

1. aseton : metanol : kloroform = 1:1:3
2. aseton : etanol : kloroform = 2:2:1

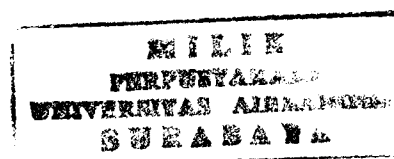
Fasa diam : silika gel 60 GF 254

Penampak : lampu UV 254 nm

### 4.4 Penetapan Kadar Senyawa Aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

#### 4.4.1 Pembuatan Larutan Uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

Ditimbang secara seksama 10 mg *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin, larutkan dalam pelarut campur methanol : air (4:1) sampai volume 10.0 ml (1000 mg/liter). Larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dipanaskan pada suhu konstan 50°C selama 3 jam. Pemanasan dihentikan, segera



didinginkan dalam es. Prosedur di atas dilakukan pada suhu konstan 60°C, 70°C dan 80°C. Dibuat juga larutan uji tanpa pemanasan atau pada suhu kamar (28-31°C).

#### 4.4.2 Pembuatan Larutan Pereaksi

- Pembuatan larutan baku primer kalium iodat 0,02 N  
Ditimbang seksama 0,00357 g kalium iodat (BM 214,02) dan larutkan dalam aquadest, dipindah secara kuantitatif pada labu ukur 50,0 ml dan ditambahkan aquadest sampai garis tanda (Anonim, 1979).
- Pembuatan larutan natrium tiosulfat 0,02 N  
Ditimbang 2,482 g natrium tiosulfat kemudian dilarutkan dalam air yang telah bebas CO<sub>2</sub> hingga 500 ml (Anonim, 1979).
- Pembuatan larutan asam sulfat 2 N  
Encerkan 0,5 ml asam sulfat P dengan air sampai volume 10,0 ml.
- Pembuatan indikator amilum  
Ditimbang 500 mg amilum soluble, gerus dengan 5 ml air, ditambahkan air sampai 100 ml sambil diaduk. Dididihkan selama beberapa menit dan disaring (Anonim, 1979).
- Pembuatan larutan natrium tiosulfat dengan larutan baku primer kalium iodida  
Larutan kalium iodat dipipet 5,0 ml ditambah 2,5 ml asam sulfat 2 N dan 75 mg kalium iodida, dititrasi dengan larutan baku natrium tiosulfat, ditambahkan indikator amilum sampai warna biru tepat hilang. Penambahan indikator amilum dilakukan mendekati titik akhir titrasi (Basset, 1987).
- Pembuatan larutan iodium 0,02 N  
Kalium iodida ditimbang 1,8 g, dilarutkan dalam 30-40 ml air suling dalam labu iodine 500 ml kemudian ditambahkan 1,269g iodium. Air suling ditambahkan sampai volume 500 ml dan dikocok kuat agar iodine benar-benar larut (Basset, 1987).

- **Pembakuan larutan iodium dengan larutan natrium tiosulfat**  
Dipipet 10,0 ml larutan iodium dan dimasukkan ke dalam labu iodine. Kemudian dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat sampai warna biru tepat hilang. Pemberian indikator amilum saat akan mencapai titik akhir titrasi (Basset, 1987).
- **Pembuatan larutan NaOH 1N**  
Ditimbang 40 g NaOH P kemudian dilarutkan dalam aquadest dan ditambahkan aquadest sampai 1000,0 ml (Anonim, 1979).
- **Pembuatan larutan HCl 1N**  
Encerkan 1 ml asam klorida P dengan aquadest sampai volume 10,0 ml (Anonim, 1979).
- **Pembuatan larutan dapar asetat**  
Larutkan 13,6 g natrium asetat P dan 6 g asam asetat glasial P dalam 250,0 ml air. Aduk sampai larut dan homogen.

#### **4.4.3 Penetapan Kadar Senyawa Aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksin**

- **Bagian A**  
Dimasukan 2,0 ml larutan uji dalam labu iodium. Kemudian ditambahkan 10,0 ml larutan dapar asetat dan 10,0 ml larutan iodium. Diamkan 15 menit. Titrasi dengan larutan natrium tiosulfat sampai warna biru tepat hilang. Sebagai indikatornya adalah larutan amilum. Volume natrium tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi dinyatakan dengan A.  
Dilakukan dengan cara yang sama pada larutan sampel yang telah mengalami pemanasan pada suhu 50°C, 60°C, 70°C dan 80°C.
- **Bagian B**  
Dimasukan 2,0 ml larutan uji dalam labu iodium. Kemudian ditambahkan 1 ml NaOH 1 N didiamkan selama 5 menit. Ditambahkan 10,0 ml larutan dapar asetat, 2ml asam klorida 1 N dan 10,0 ml larutan iodium, biarkan selama 15 menit. Titrasi dengan natrium tiosulfat sampai warna biru tepat hilang. Untuk indikatornya digunakan larutan amilum. Volume natrium tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi dinyatakan dengan B.



Dilakukan dengan cara yang sama pada larutan sampel yang telah mengalami pemanasan pada suhu 50°C, 60°C, 70°C dan 80°C.

#### 4.4.4 Rumus Perhitungan Kadar Senyawa Aktif

$$\% \text{ kadar} = \frac{(A-B) \times N \times E}{0,02 \times W} \times \frac{BM \ b}{BM \ a} \times 100 \%$$

keterangan,

N = normalitas larutan natrium tiosulfat

E = kesetaraan tiap 0,02 N larutan iodium dengan 1,761 mg sefaleksin monohidrat

W = jumlah senyawa aktif *N*-(4- trifluorometilbenzoil)sefaleksin dalam 2,0 ml larutan uji.

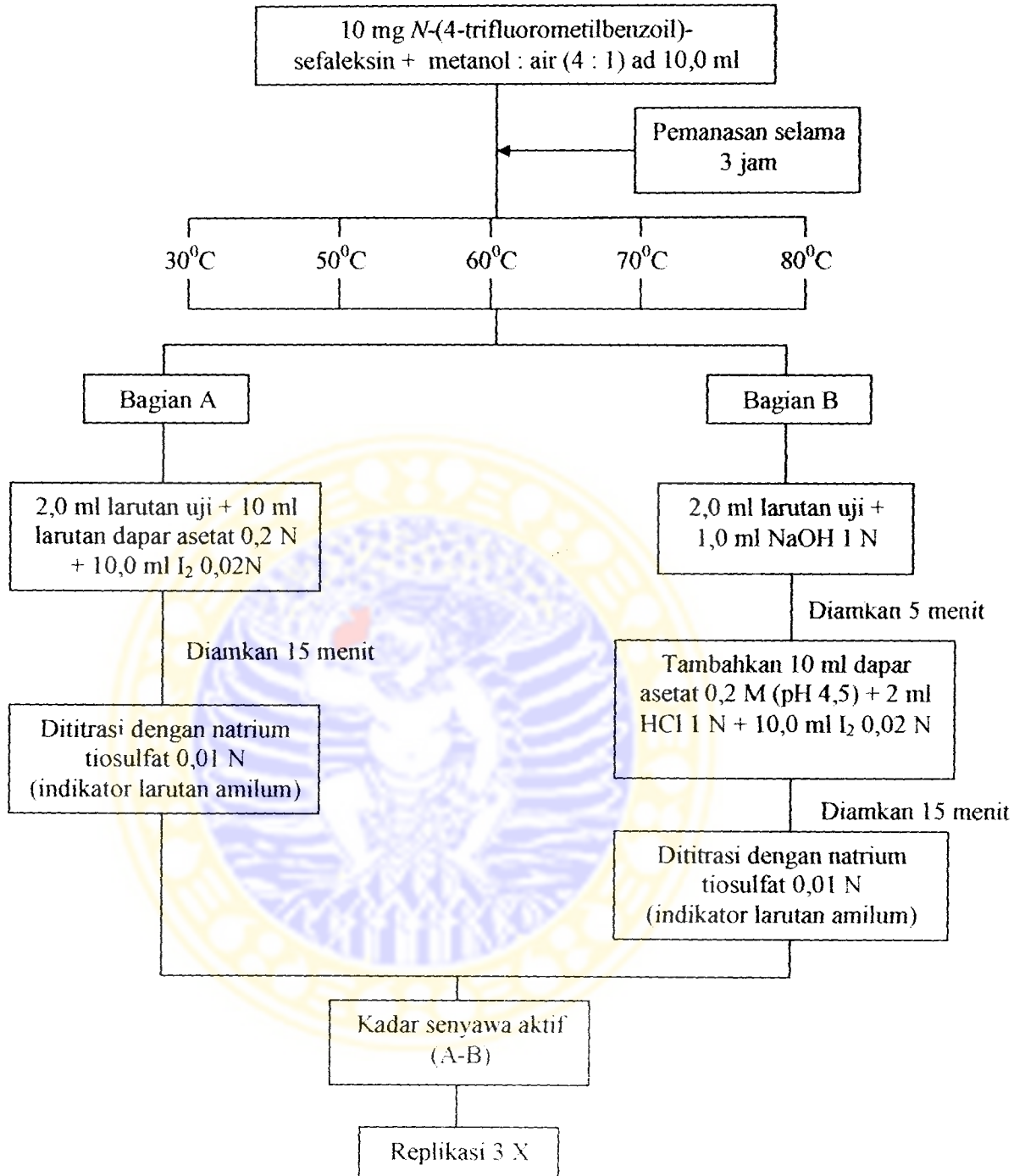
BM *a* = BM sefaleksin monohidrat = 365,40

BM *b* = BM *N*-(4- trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 518,011

#### 4.4.5 Replikasi

Penetapan kadar dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali pada tahap penimbangan.

#### 4.5 Rancangan Penelitian



## **4.6 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

### **4.6.1 Pewarnaan Gram**

Suspensi kuman dalam air suling steril pada gelas obyek dikeringkan di udara terbuka dan difiksir dengan cara melewatkan gelas obyek diatas lampu spiritus beberapa kali. Kristal violet dituang pada gelas obyek dan dibiarkan selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan diganti dengan larutan lugol, diamkan selama 2 menit dan dicuci dengan air suling. Warna yang terbentuk dihilangkan dengan alkohol 95 % selama 20-30 detik, segera bilas dengan air. Lalu sefranin dituang selama 10-30 detik. Sisa sefranin dibilas dengan air. Bila berwarna biru ungu berarti termasuk bakteri Gram positif (Jawetz, 1991).

### **4.6.2 Tes Katalase**

Pada biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dalam media cair ditambahkan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Reaksi positif adanya enzim katalase ditunjukkan dengan terjadinya gelembung udara dalam larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% (Perscott *et al*, 2002)

## **4.7 Uji Aktivitas Antibakteri *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

### **4.7.1 Pembuatan Media Antibiotika 1**

Media antibiotika 1 ditimbang sebanyak 27 g dan dilarutkan dalam 1 liter air, biarkan selama 15 menit. Kemudian dididihkan sampai terbentuk larutan yang jernih. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 18 ml dan kemudian media disterilkan di autoklaf 121°C selama 15 menit.

### **4.7.2 Penyiapan Bakteri Uji**

Biakan bakteri ditanam pada media antibiotika 1 dalam tabung reaksi secara merata, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Satu ose koloni bakteri dari biakan padat disuspensikan dalam larutan natrium klorida isotonis sebanyak 5 ml dan dikocok. Serapan suspensi bakteri

diukur dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 580 nm sedemikian rupa sehingga dengan pengenceran tertentu diperoleh transmittan 25% ( Anonim, 1995). Sebagai blanko digunakan larutan natrium klorida isotonis.

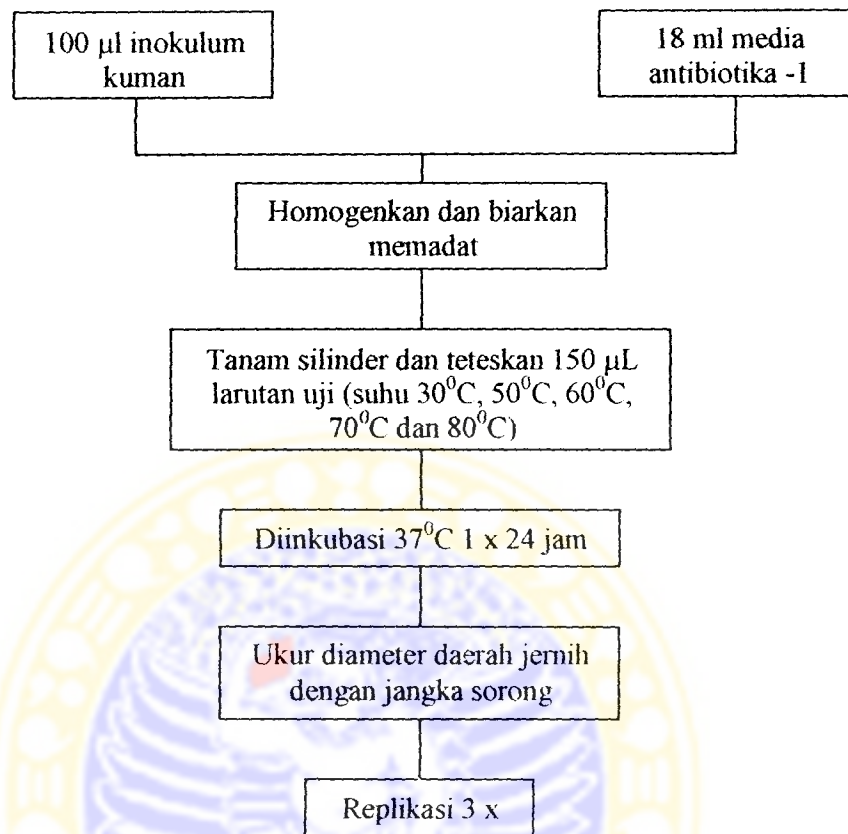
#### 4.7.3 Penentuan Aktivitas Antibakteri

- Inokulum kuman 100  $\mu$ l dimasukkan ke dalam cawan petri dengan diameter 9 cm secara aseptis.
- Media antibiotik-1 steril sebanyak 18 ml suhu 45-50°C dituang ke dalam cawan petri yang berisi inokulum bakteri.
- Campuran media dan inokulum bakteri dibuat homogen dengan menggerakkan cawan petri beberapa kali secara teratur lalu dibiarkan memadat.
- Larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin diteteskan kedalam silinder logam sebanyak 150  $\mu$ l.
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam
- Diameter daerah hambatan diperoleh dengan cara mengukur diameter daerah hambatan dengan menggunakan jangka sorong.

#### 4.7.4 Replikasi

Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

#### 4.8 Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri dari Larutan Uji



#### 4.9 Analisa Data

Dari hasil pengamatan pada masing-masing larutan uji akan diperoleh 2 variabel, yaitu :

- Variabel x = kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dari larutan uji yang ditetapkan secara iodometri, setelah mengalami degradasi pada berbagai suhu (% b/b).
- Variabel y = diameter daerah hambatan rata-rata.

Untuk mengetahui ada tidaknya korelasi linier antara variabel x dan variabel y dilakukan uji regresi dan perhitungan koefisien korelasi dengan menggunakan program komputer SPSS (analisis regresi linier) pada  $\alpha = 0,05$ .



Jika  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi linier antara variabel  $x$  dan variabel  $y$  sehingga untuk selanjutnya dapat dibuat persamaan regresi :

$$Y = b x + a$$

Untuk mengevaluasi persamaan garis digunakan uji F (ANOVA) pada  $\alpha = 0,05$  dengan menggunakan program komputer SPSS, dengan :

$H_0$  : tidak ada hubungan yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATTC 29213.

$H_a$  : ada hubungan bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktifitas antibakteri yang dinyatakan dengan daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATTC 29213.

Bila  $F$  hitung  $>$   $F$  tabel, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima atau dapat dinyatakan ada hubungan yang bermakna antara variabel  $x$  dan variabel  $y$ , dan persamaan garis regresi yang didapat cukup representatif untuk menggambarkan korelasi linier antara variabel  $x$  dan variabel  $y$ .

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Identifikasi *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

Pemeriksaan kualitatif yang dilakukan terhadap *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin meliputi pemeriksaan organoleptis, penentuan jarak lebur dan kromatografi lapis tipis. Hasil pemeriksaan kualitatif terhadap *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil pemeriksaan kualitatif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan	Data Pustaka
1	Organoleptis a. Bentuk b. Warna c. Bau d. Rasa	Amorf Putih tulang Khas Pahit	Amorf Putih tulang Khas Pahit (Hardjono, 2002)
2	Jarak lebur	208-210°C	208-210°C (Hardjono, 2002)
3	KLT - aseton : metanol : kloroform = 1:1:3 - aseton : etanol : kloroform = 2:2:1	Terdapat 1 noda Terdapat 1 noda	Terdapat 1 noda (Sertifikat analisis) Terdapat 1 noda (Sertifikat analisis)

#### 5.2 Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Hasil identifikasi dan data pustaka *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 tercantum dalam tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil identifikasi dan data pustaka *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

No	Pemeriksaan	Hasil Pengamatan	Data Pustaka
1	Pewarnaan Gram	Bakteri berwarna ungu	Bakteri berwarna ungu (Benson, 1998)
2	Tes katalase	Terjadi gelembung udara	Terjadi gelembung udara (Perscott <i>et al</i> , 2002)

### 5.3 Hasil Penetapan Kadar Senyawa Aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin Secara Iodometri

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara iodometri pada suhu kamar dan dari hasil pemanasan pada suhu 50°C, 60°C, 70°C dan 80°C selama 3 jam dapat dilihat pada tabel-tabel di bawah ini.

Tabel 5.3 Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin pada suhu kamar (31°C) selama 3 jam

No	Kandungan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam 2,0 ml sampel  (mg)	Normalitas Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>  (N)	Volume Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk titrasi  (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)
			A	B	
1	2,0496	0,0208	9,60	8,85	95,01
2	2,0706	0,0208	8,30	7,45	96,01
3	2,0780	0,0204	9,90	9,10	98,03
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 96,63 ± 1,52					

Tabel 5.4 Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin pada suhu 50°C selama 3 jam

No	Kandungan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (N)	Volume Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)
			A	B	
1	2,0810	0,0202	9,75	9,05	84,82
2	2,0346	0,0202	9,65	8,95	86,75
3	2,0442	0,0204	9,15	8,45	87,20
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 86,26 ± 1,26					

Tabel 5.5 Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin pada suhu 60°C selama 3 jam

No	Kandungan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (N)	Volume Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)
			A	B	
1	2,0678	0,0189	7,75	7,10	74,16
2	2,0574	0,0189	8,25	7,60	74,53
3	2,0442	0,0204	9,40	8,80	74,74
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 74,48 ± 0,29					

Tabel 5.6 Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin pada suhu 70°C selama 3 jam

No	Kandungan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (N)	Volume Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)
			A	B	
1	2,0810	0,0202	9,75	9,20	66,64
2	2,0780	0,0204	9,50	8,95	67,40
3	2,0346	0,0202	9,70	9,15	68,16
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 67,40 ± 0,76					

Tabel 5.7 Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin pada suhu 80°C selama 3 jam

No	Kandungan <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (N)	Volume Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)
			A	B	
1	2,0638	0,0204	9,20	8,70	61,69
2	2,0428	0,0204	9,10	8,60	62,33
3	2,0370	0,0204	9,50	9,00	62,50
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 62,17 ± 0,43					

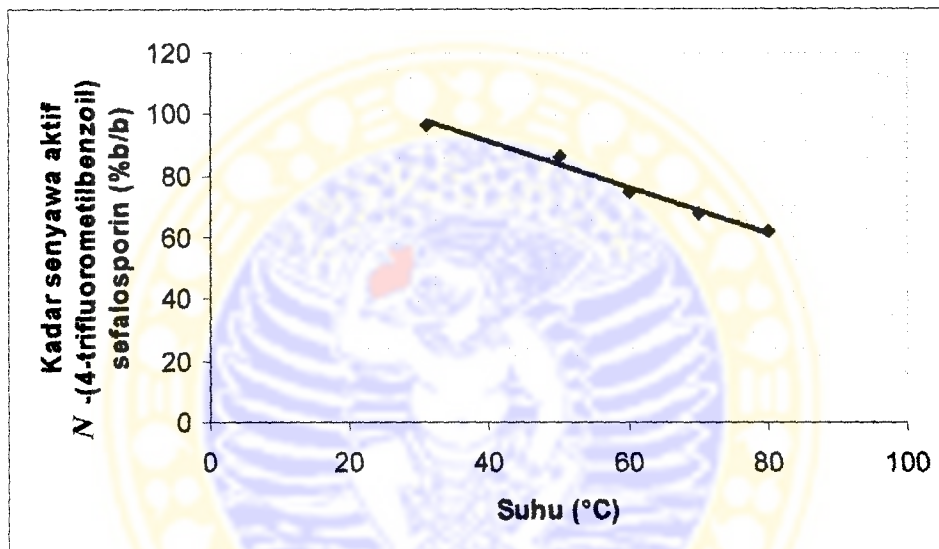


Dimana :

A = volume  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (natrium tiosulfat) yang dibutuhkan untuk titrasi iodium sebelum larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dihidrolisis.

B = volume  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (natrium tiosulfat) yang dibutuhkan untuk titrasi iodium setelah larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dihidrolisis.

Dari data-data tersebut di atas, maka dapat dikatakan bahwa dengan kenaikan suhu maka kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin menurun seperti yang terlihat dalam kurva di bawah ini.



Gambar 5.1  
Kurva hubungan antara suhu dengan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin

#### 5.4 Hasil Penentuan Diameter Daerah Hambatan Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Hasil penentuan diameter daerah hambatan larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 tercantum pada tabel berikut ini.

Tabel 5.8 Diameter daerah hambatan larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin dalam berbagai suhu terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 pada inkubasi selama 24 jam.

Suhu	Diameter Daerah Hambatan (mm)			
	1	2	3	Rata-rata
Kamar (31°C)	23,11	24,12	24,04	23,75 ± 0,56
50°C	22,24	22,13	21,96	22,11 ± 0,14
60°C	21,06	21,11	21,26	21,14 ± 0,10
70°C	19,14	19,12	19,84	19,37 ± 0,41
80°C	18,08	18,05	18,68	18,27 ± 0,36

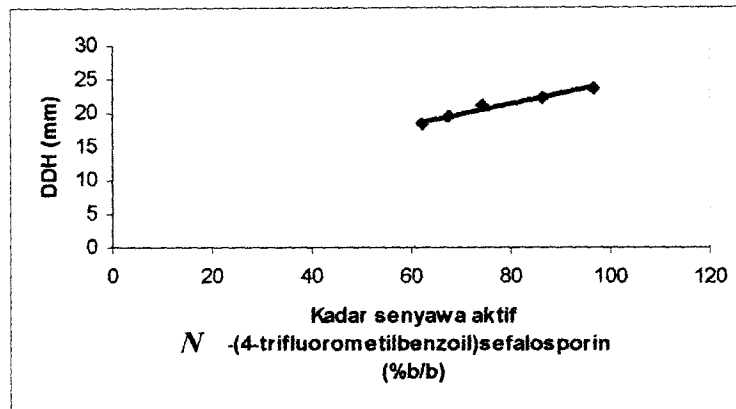
### 5.5 Hubungan Antara Kadar Rata-rata Senyawa Aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang Ditetapkan Secara Iodometri dengan Diameter Daerah Hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Hubungan antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin setelah pemanasan pada berbagai suhu yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dapat diketahui dengan menggunakan uji korelasi regresi. Sebagai variabel *x* adalah kadar rata-rata senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin setelah pemanasan pada berbagai suhu yang ditetapkan secara iodometri dan sebagai variabel *y* adalah rata-rata diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Tabel 5.9 Hubungan antara kadar rata-rata senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan rata-rata diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 pada inkubasi selama 24 jam

No	Perlakuan larutan uji pada suhu (°C)	Kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin (%b/b)	Rata-rata diameter daerah hambatan (mm)
		X	Y
1	31 (suhu kamar)	96,63	23,75
2	50	86,26	22,11
3	60	74,48	21,14
4	70	67,40	19,37
5	80	62,17	18,27

Berdasarkan data-data di atas, maka dapat dihitung koefisien korelasi antara variabel x dan variabel y dengan menggunakan uji regresi. Dari hasil perhitungan dengan menggunakan program SPSS for MS WINDOWS Release 13 diperoleh harga  $r = 0,984$  dan harga  $r$  tabel ( $\alpha = 0,05$ ;  $df = 3$ ) = 0,878. Maka didapatkan  $r$  hitung >  $r$  tabel, dengan demikian dapat diartikan bahwa ada korelasi linier antara variabel x dan variabel y. Korelasi tersebut dapat dinyatakan dalam persamaan garis regresi yaitu  $y = 0,152x + 9,136$ . Kurva persamaan regresi tersebut dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2

Kurva persamaan garis regresi antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Untuk mengevaluasi kelinieran persamaan garis regresi tersebut digunakan uji distribusi F, dimana hipotesis nol ( $H_0$ ) menyatakan tidak ada hubungan bermakna antara variabel x dan variabel y, dan hipotesis alternatif ( $H_a$ ) menyatakan ada hubungan bermakna antara variabel x dan variabel y.

Dari hasil analisis data dalam lampiran didapatkan bahwa harga F hitung = 93,674. Sedangkan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ;  $dB = 3$ ) = 10,13. Oleh karena F hitung > F tabel maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima, sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang digunakan dalam penelitian ini merupakan senyawa baru hasil modifikasi dari struktur turunan sefaleksin generasi pertama dengan mereaksikan gugus amino sefaleksin dengan gugus 4-trifluorometilbenzoil klorida yang menghasilkan *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin. Senyawa aktif ini didapatkan dari Laboratorium Kimia Medisinal dan telah dilengkapi dengan sertifikat analisis.

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang diperoleh dari Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya Instalasi/SMF/Bagian Mikrobiologi Klinik dan telah dilengkapi dengan sertifikat sehingga tidak dilakukan uji kualitatif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Dalam usaha untuk mendapatkan hubungan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara iodometri dengan aktivitas antibakterinya, diperlukan larutan uji dengan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang berbeda-beda. Untuk mendapatkan larutan uji dengan kadar yang berbeda dilakukan pemanasan senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada suhu yang berbeda-beda yaitu suhu 50°C, 60°C, 70°C, 80°C dan pendinginan pada suhu kamar (31°C) selama 3 jam.

Pemanasan dilakukan selama 3 jam untuk masing-masing suhu dengan perbedaan suhu sebesar 10°C dengan asumsi bahwa waktu tersebut cukup panjang untuk mendapatkan berbagai kadar senyawa aktif dengan perbedaan cukup besar. Dengan pemanasan diharapkan senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin akan mengalami peruraian sehingga didapatkan senyawa aktif dan senyawa tidak aktif. Yang dimaksud dengan senyawa aktif di sini adalah *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang masih memiliki cincin  $\beta$ -laktam utuh sehingga dapat memberikan aktivitas antibakteri. Sedangkan senyawa hasil degradasi dari *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin tidak lagi memiliki aktivitas antibakteri. Campuran inilah yang digunakan sebagai larutan uji dalam penelitian ini.



Untuk menghindari peruraian lebih lanjut, maka setelah selesai pemanasan selama 3 jam, larutan uji tersebut langsung didinginkan dalam wadah yang berisi es.

Penetapan kadar larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dilakukan dengan metode iodometri. Kelebihan dari metode ini adalah tidak memerlukan pembanding dan *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin adalah senyawa baru yang belum mempunyai pembanding. Prinsip dari metode ini adalah iodium hanya dapat berikatan dengan *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang memiliki cincin  $\beta$ -laktam yang sudah terpecah.

Pada metode iodometri, kadar senyawa aktif dalam larutan uji dapat diketahui dengan pengurangan volume titrasi A, yaitu volume titrasi larutan uji yang tidak dihidrolisis dengan NaOH 1N, dengan volume titrasi B, yaitu volume titrasi setelah larutan uji dihidrolisis dengan NaOH 1N.

Dari hasil penentuan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin secara iodometri didapatkan kadar tertinggi yaitu 96,63% dari pendiaman pada suhu kamar (31 °C) selama 3 jam. Dan kadar terendah yaitu 62,17% akibat pemanasan pada suhu 80 °C selama 3 jam. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dengan kenaikan suhu pemanasan, maka kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dalam larutan uji semakin menurun.

Penentuan diameter daerah hambatan dilakukan dengan metode difusi silinder dengan menggunakan media Antibiotika-1 sebagai media pertumbuhan bakteri. Konsentrasi inokulum bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dibuat dengan cara mengukur transmittan suspensi bakteri dalam larutan natrium klorida isotonis pada transmittan 25%, karena pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri optimal.

Pada penentuan diameter daerah hambatan ada beberapa hal yang harus diperhatikan, antara lain volume media yang dituang ke dalam cawan petri harus seragam dengan cara tabung reaksi dikalibrasi terlebih dahulu, kemudian peletakan silinder logam juga perlu diperhatikan agar silinder logam tidak berhimpit dengan alas cawan petri. Hal ini dilakukan agar diameter daerah hambatan yang dihasilkan bisa seragam untuk masing-masing perlakuan suhu.

Dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa semakin tinggi suhu menghasilkan diameter daerah hambatan yang semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa pemanasan menyebabkan makin banyak cincin  $\beta$ -laktam yang terpecah sehingga berpengaruh pada aktivitas antibakteri *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin karena aktivitas antibakterinya ditentukan oleh jumlah cincin  $\beta$ -laktam yang utuh.

Penentuan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ini belum bisa menggambarkan aktivitas antibakteri *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara keseluruhan, sehingga perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin terhadap bakteri Gram positif lainnya untuk mengetahui aktivitas dan selektivitasnya.

Untuk mengetahui hubungan antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dilakukan uji regresi. Dimana kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin sebagai variabel *x* dan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sebagai variabel *y*. Uji regresi dilakukan pada program SPSS for MS WINDOWS Release13. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang digambarkan dengan persamaan garis regresi  $y = 0,1524x + 9,136$  dengan  $r = 0,984$ .

Untuk mengevaluasi kelinieran persamaan garis regresi tersebut digunakan uji distribusi *F* dan diperoleh  $F_{hitung} = 93,674$ . ( $n = 5$ ;  $\alpha = 0,05$ ;  $dB = 3$ ;  $r_{tabel} = 0,878$ ;  $F_{tabel} = 10,13$ ). Harga  $F_{hitung}$  lebih besar daripada  $F_{tabel}$ , sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Korelasi linier ini menunjukkan bahwa metode iodometri dapat digunakan untuk menetapkan kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang mampu menggambarkan aktivitas antibakterinya. Larutan uji yang memiliki kadar

senyawa aktif tinggi secara iodometri memberikan aktivitas mikrobiologi yang tinggi pula.



## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

Ada hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yang dinyatakan dengan persamaan  $y = 0,152x + 9,136$  ( $\alpha = 0,05$ ,  $r = 0,984$ ,  $F = 93,674$ ), dimana  $y$  adalah kadar senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin (% b/b) dan  $x$  adalah diameter daerah hambatan senyawa aktif *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

#### 7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas mikrobiologi senyawa *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin pada bakteri lain untuk mengetahui spektrum aktivitas dan selektivitasnya.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim, 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim, 1995<sup>a</sup>. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim, 1995<sup>b</sup>. *The United States of Pharmacopeia*, 23<sup>rd</sup> Edition, Rockville: The United States of Pharmacopeia Convention Inc., pp. 360-361.
- Basset, J., Denney, R.C., Jeffery, G.H., Mendham, J., 1987. *Vogel's Textbook Quantitative Inorganic Analysis*, 4<sup>th</sup> Edition, New York: Longman Inc., pp. 276-275.
- Black, G.J., 1999. *Microbiology Principles and Exploration*, 4<sup>th</sup> ed., New Jersey: Prentice Hall International Inc., pp. 351-354.
- Bonang, G., Enggar, S.K., 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*, Jakarta: PT. Gramedia, hal.12, 56-78.
- Connors, K.A., 1982. *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, 3<sup>rd</sup> Edition, New York: John Willey and Sons, pp. 512-532.
- Dinner, A., 1997. Cephalosporin Degradation, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 20, No. 7, pp. 277-278, 963-965.
- Florey, K., 1975, *Analytical Profiles of Drug Substance*, Vol. IV, New York: Academic Press, pp. 21-46.
- Ganiswara, S.E., 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal. 636-650.
- Gillespie, S., 1994. *Medical Microbiology*, terjemahan Butterworth-heinemann, pp. 12-19.
- Gilman, A.G., Goodman, L.S., and Gilman, A., 1991. *The Pharmacological Basic of Therapeutics*, 8<sup>th</sup> ed., New York: Mac Millan Pergamon Publishing Co Inc., pp. 1066-1068, 1085-1089, 1206-1210.



- Hardjono, S., 2002. Sintesis Senyawa Baru Turunan Benzoil-N-Sefaleksin Untuk Meningkatkan Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, **Laporan Riset Unggulan Terpadu VIII Bidang Ilmu Kimia dan Proses**, Jakarta: Kementrian Riset dan Teknologi Republik Indonesia Lembaga Ilmu Pengatahuan Indonesia, hal. 12,17,19.
- Lim, D., 1998. *Microbiology*, 2<sup>nd</sup> ed., Boston: WCB Mc Graw Hill, pp. 95-96, 132-133.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 1991. *Medical Microbiology*, 19<sup>th</sup> ed., London: Prentice Hall International Inc., pp. 194-197, 214-217, 224-226.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Gerard, B., 1996. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, terjemahan Nugroho, E., Edisi 20, Jakarta: CV. EGC, hal. 212-216.
- Kolthoff, I.M., Sandell, E.B., 1952. *Text Book of Quantitatif Inorganic Analysis*, 3<sup>rd</sup> ed., New York: The Macmillan Company, pp. 585-604.
- Lim, D., 1998. *Microbiology*, 2<sup>nd</sup> ed., Boston: WCB Mc Graw-Hill, pp.319-320, 528-529.
- Lund, W., 1994. *The Pharmaceutical Codex : Principles and Practice of Pharmaceutics*, 12<sup>th</sup> edition, London: The Pharmaceutical Press, pp. 780-782.
- Parfitt, K., 1999. *Martindale The Complete Drug Reference*, 32<sup>nd</sup> ed., London: Pharmacuetical Press, pp. 178.
- Presscott, L.M., Harey, J.P., Klein, D.A., 2002. *Microbiology*, 5<sup>th</sup> ed., Boston: Mc Graw-Hill Higher Education, pp. 835-837.
- Rawlins, E.A., 1988. *Bentley's Textbook of Pharmaceutics*, 8<sup>th</sup> ed., London: University Printing House, pp. 435, 602-603.
- Siswandono, Soekardjo, B., 2000. *Kimia Medisinal*, Surabaya: Airlangga University Press, hal. 110-136.
- Wattimena, J.R., Sugiarso, N.C., Widiyanto, M.B., Sukandar, E.Y., Soemardji, A.R., Setiadi, A.R., 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal 54, 101-111.

Yamana, T., Tsuji, A., 1976. Comparative Stability of Cephalosporins in Aqueous Solution, *Journal of Pharmaceutical Science*, Vol 65, No. 7, pp. 1563-1573.



## LAMPIRAN 1

**Contoh Perhitungan Kadar Senyawa Aktif**  
***N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin Secara Iodometri**

A = volume natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin sebelum dihidrolisis dengan NaOH (ml).

B = volume natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi larutan uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin setelah dihidrolisis dengan NaOH (ml).

Dari hasil titrasi pada suhu kamar :

Penimbangan = 10,248 mg / 10,0 ml

W (kandungan *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin dalam 2,0 ml larutan uji) = 2,0496 mg

Normalitas Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,0208 N

BM *N*-(4-trifluorometilbenzoil)sefaleksin = 518,011

BM sefaleksin monohidrat = 365,40

E = kesetaraan tiap 0,02 N larutan iodium dengan 1,761 mg sefaleksin monohidrat

A = 9,6 ml

B = 8,85 ml

Kadar dihitung dari rumus perhitungan kadar senyawa aktif :

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar} &= \frac{(A-B) \times N \times E}{0,02 \times W} \times \frac{BM \ b}{BM \ a} \times 100 \% \\ &= \frac{(9,6 - 8,85) \times 0,0208 \times 1,761}{0,02 \times 2,0496} \times \frac{518,011}{365,40} \times 100 \% \\ &= 95,01 \% \end{aligned}$$

## LAMPIRAN 2

**Perhitungan Uji Regresi dan Uji F antara Kadar Senyawa Aktif  
N-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksin dengan Aktivitas Antibakterinya  
terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

## Regression

## Correlations

		ddh	kadar
Pearson Correlation	ddh	1.000	.984
	kadar	.984	1.000
Sig. (1-tailed)	ddh	.	.001
	kadar	.001	.
N	ddh	5	5
	kadar	5	5

Variables Entered/Removed<sup>a</sup>

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar <sup>a</sup>	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: ddh

## Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics					Durbin-Watson
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change	
1	.984 <sup>a</sup>	.969	.959	.44213	.969	93.674	1	3	.002	2.138

a. Predictors: (Constant), kadar

b. Dependent Variable: ddh

**ANOVA<sup>a</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	18.312	1	18.312	93.674	.002 <sup>a</sup>
	Residual	.586	3	.195		
	Total	18.898	4			

a. Predictors: (Constant), kadar

b. Dependent Variable: ddh

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	95% Confidence Interval for B	
		B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
1	(Constant)	9.137	1.234		7.403	.005	5.209	13.065
	kadar	.152	.016	.984	9.679	.002	.102	.202

a. Dependent Variable: ddh





**LAMPIRAN 3****Tabel Harga r**

dB	P	
	0,05	0,01
1	0,997	1,00
2	0,950	0,990
3	0,878	0,959
4	0,811	0,917
5	0,754	0,874
6	0,707	0,834
7	0,666	0,798
8	0,632	0,765
9	0,602	0,735
10	0,576	0,708
11	0,553	0,684
12	0,532	0,661
13	0,514	0,641
14	0,497	0,623
15	0,482	0,606
16	0,468	0,590
17	0,456	0,575
18	0,444	0,561
19	0,433	0,549
20	0,432	0,537

## LAMPIRAN 4

Tabel Harga F pada  $\alpha = 0.05$  $\alpha = 0,05$ 

Denominator Degree of Freedom	Numerator Degree of Freedom								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
$\infty$	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

## LAMPIRAN 4

Tabel Harga F pada  $\alpha = 0.05$  $\alpha = 0,05$ 

Denominator Degrees of Freedom	Numerator Degree of Freedom								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
$\infty$	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

## LAMPIRAN 5

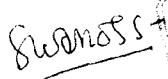
Surat Keterangan Hasil Pemeriksaan *N*-(4-trifluorometilbenzoi)sefaleksinLaporan Hasil Pemeriksaan Senyawa

1. Nama senyawa : *N*-(4-Trifluorometilbenzoi)sefaleksin  
 2. Dibuat oleh : Drs. Suko Hardjono, MS  
 3. Tanggal dibuat : 10 Agustus 2004  
 4. Rendemen : 57,3%  
 5. Pemeriksaan :

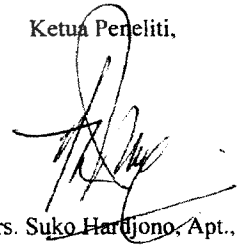
No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1.	Pemerian/Organoleptis	Bentuk amorf, warna putih tulang, bau khas
2.	Jarak lebur	208-210°C
3.	Kelarutan	etanol, aseton, dan dimetilsulfoksida
4.	Uji KLT(3 eluen)	1 noda.
5.	Identifikasi UV	$\lambda$ maks = 203 dan 219 nm
6.	Identifikasi IR $\nu$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	3258 (-N-H); 3065 dan 2951 (-C-H); 1773 (-C=O $\beta$ -laktam); 1701 dan 1672 (-C=O amida); 1645 (-C=O asam karboksilat); 1537 (-C-H aromatis) 1327 (-C-CF <sub>3</sub> )
7.	Identifikasi <sup>1</sup> H NMR $\delta$ (ppm)	2,099, s, C-CH <sub>3</sub> ; 3,20-3,30, d, C-CH <sub>2</sub> ; 3,40-3,50, d, N-C-CH-S; 4,933-4,948, d, N-CH-C-S; 4,984-4,989, d, C-NH-C; 5,082, d, Ar-CH-N-; 5,780, d, C-NH-CO-Ar; 7,383-8,123, m, 2 Ar-H
8.	Kesimpulan :	Senyawa adalah <i>N</i> -(4-Trifluorometilbenzoi)sefaleksin

Surabaya, 2 Maret 2006

Mengetahui:  
 Bagian Kimia Farmasi  
 Fakultas Farmasi Unair  
 Kepala,

  
 Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS.  
 NIP. 130809079

Ketua Peneliti,

  
 Drs. Suko Hardjono, Apt., MS.

## LAMPIRAN 6

### Sertifikat Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR  
RUMAH SAKIT UMUM Dr. SOETOMO SURABAYA  
INSTALASI/SMF/BIDANG/BAGIAN MIKROBIOLOGI KLINIK  
Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No.6 – 8 Surabaya, Telp.(031) 5501509

---

#### SERTIFIKAT KUMAN

Yang bertanda tangan dibawah ini kami :

N a m a : Kartuti Debora, dr,MS.,SpMK

NIP : 130676015

Jabatan : Kepala Instalasi Mikrobiologi Klinik

Menerangkan telah memberikan kuman :

STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 29213.

Kepada

N a m a Ika Igrea R.

NIM : 050210191 E

Untuk keperluan skripsi

Demikian harap maklum.

Surabaya, 13 Juni 2006



NIP. 130676015



## LAMPIRAN 7

### Contoh Diameter Daerah Hambatan Larutan Uji *N*-(4-trifluorometilbenzoil)-sefaleksin Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213



Keterangan :

- TK : larutan uji pada suhu kamar
- 50 : larutan uji dengan pemanasan pada suhu 50°C
- 60 : larutan uji dengan pemanasan pada suhu 60°C
- 70 : larutan uji dengan pemanasan pada suhu 70°C
- 80 : larutan uji dengan pemanasan pada suhu 80°C