

**SKRIPSI**

**SETYO PRIHATININGTYAS**

**STUDI KINETIKA PERURAIAN  
N-2,4-DIKLOROBENZOILSEFALEKSIN DENGAN  
PENGARUH SUHU MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET  
PADA pH 8,00**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
BAGIAN KIMIA FARMASI  
SURABAYA**

**2004**

**i**

**Lembar Pengesahan**

**STUDI KINETIKA PERURAIAN  
N-2,4-DIKLOROBENZOILSEFALEKSIN DENGAN  
PENGARUH SUHU MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET  
PADA pH 8,00**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**Setyo Prihatiningtyas  
NIM : 050012241**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama**

**Dra. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si, Apt  
NIP.132011698**

**Pembimbing Serta**

**Pembimbing Serta**

**Prof. Dr. H. Purwanto, Apt  
NIP.130541900**

**Drs. Suko Hardjono, M.S, Apt  
NIP.130937973**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur serta terima kasih saya panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala anugerah dan lindungan-Nya sehingga skripsi dengan judul **STUDI KINETIKA PERURAIAN N-2,4-DIKLOROBENZOILSEFALEKSIN DENGAN PENGARUH SUHU MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET PADA pH 8,00** dapat terselesaikan dengan sebaik-baiknya.

Dengan selesainya penyusunan skripsi ini, saya ingin mengucapkan terima kasih yang setulus-setulusnya kepada :

1. Dra. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing utama yang dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan dan dorongan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. H. Purwanto, Apt selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan saran dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Drs. Suko Hardjono, MS, Apt selaku dosen pembimbing serta yang telah memberi masukan yang berharga sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik.
4. Rektor Universitas Airlangga yang memberikan segala fasilitas selama menjalani pendidikan maupun pelaksanaan penelitian.
5. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menjalani pendidikan.
6. Prof. Dr. Siswandono, MS, Apt selaku Kepala Bagian Kimia Farmasi atas segala bimbingan serta fasilitas yang diberikan.
7. Dr. rer.nat. H. M. Yuwono, MS, Apt dan Dr. H. Hadi Siswono, Apt selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan dan saran demi perbaikan skripsi ini.
8. Seluruh dosen yang telah mendidik dan membimbing selama menjalani pendidikan di Fakultas Farmasi ini.
9. Dra. Hj. Sri Poedjiarti, MS, Apt selaku dosen wali yang dengan sabar selalu memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.

10. Keluargaku yang sudah memberikan dukungan, doa, dan dorongan semangat dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Mel, Nike, Avry, Nia, Pitri, Andre, Rizka, dan Nuri yang sudah membantu kelancaran penulisan skripsi ini.
12. Teman-teman angkatan 2000 dan semua pihak yang telah banyak memberikan bantuan baik secara langsung atau tidak langsung.

Penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu segala kritik dan saran dari semua pihak sangat diharapkan demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kefarmasian.

Surabaya, Agustus 2004

Penyusun

## RINGKASAN

### STUDI KINETIKA PERURAIAN N-2,4-DIKLOROBENZOILSEFALEKSIN DENGAN PENGARUH SUHU MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET PADA pH 8,00

Setyo Prihatiningtyas

Dalam pengembangan suatu bahan obat, salah satu faktor yang perlu diperhatikan selain aktivitas farmakologis adalah stabilitas bahan obat. Stabilitas bahan obat merupakan tahap awal penentuan baik atau tidaknya bahan obat tersebut untuk dibuat suatu sediaan, sehingga dapat digunakan dengan aman dan efektif (Connors, *et al.*, 1986).

Untuk obat-obat antibiotika diperlukan stabilitas dalam jangka waktu yang cukup lama sehingga penurunan aktivitas yang terjadi tidak cukup besar, yang akan berpengaruh pada efek farmakologisnya (Martin, 1984). Antibiotika yang mempunyai struktur kimia dengan cincin  $\beta$ -laktam merupakan senyawa pilihan pertama untuk kemoterapi infeksi bakteri. Antibiotika golongan  $\beta$ -laktam bekerja dengan cara menghambat proses biosintesis peptidoglikan dinding sel bakteri. Salah satu golongan antibiotika  $\beta$ -laktam adalah turunan sefalosporin.

Sefaleksin adalah turunan sefalosporin generasi pertama yang aktif terhadap bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif. Adanya gugus  $\alpha$ -amino menyebabkan sefaleksin stabil terhadap asam lambung (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Peruraian sefaleksin dapat terjadi karena adanya pengaruh pH, suhu, enzim  $\beta$ -laktamase dan sinar ultraviolet yang dapat membuka cincin  $\beta$ -laktam sehingga sefaleksin kehilangan aktivitasnya (Yamana dan Tsuji, 1976).

Telah dilakukan modifikasi struktur sefaleksin dan dihasilkan senyawa baru turunan sefaleksin yaitu N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Senyawa ini mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar secara *in vitro* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan dengan sefaleksin (Hardjono, 2002). Namun demikian stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin belum diketahui. Stabilitas senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin perlu diketahui agar dapat ditentukan apakah senyawa tersebut dapat digunakan atau dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan obat.

Pada penelitian ini stabilitas senyawa ditentukan berdasarkan parameter kinetika peruraian yang meliputi  $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $E_a$ . Permasalahan yang muncul adalah bagaimana pengaruh suhu terhadap kinetika peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00 ditinjau dari harga  $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $E_a$ . Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan parameter kinetika peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00.

Penentuan parameter kinetika N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dilakukan dengan mengamati peruraian senyawa dalam larutan dapar fosfat pH 8,00 yang reaksinya dipercepat dengan pemanasan pada suhu 60, 70, 80, dan 90° C selama 3

jam.. Dari hasil penentuan kadar setiap waktu tersebut dapat dibuat kurva hubungan antara  $\log C_t/C_0$  vs t. Harga k dan  $t_{1/2}$  dihitung berdasarkan kurva tersebut. Sedangkan harga  $E_a$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin diperoleh dari data k pada berbagai suhu melalui kurva hubungan  $\log k$  vs  $1/T$ .

Pemeriksaan kuantitatif untuk menentukan kadar senyawa dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet karena menurut menggunakan metode ini sefalosporin yang utuh cincin  $\beta$ -laktamnya memberikan serapan pada sekitar 260 nm sehubungan dengan adanya gugus  $O=CNC=C$ . (Yamana dan Tsuji, 1976).

Dari hasil penelitian diperoleh harga k senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 60, 70, 80, dan 90 ° C berturut-turut adalah  $0,315 \times 10^{-3}$ /menit,  $0,620 \times 10^{-3}$ /menit,  $1,10 \times 10^{-3}$ /menit, dan  $2,160 \times 10^{-3}$ /menit. Harga  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 60, 70, 80, dan 90 ° C berturut-turut adalah 36,67 jam, 18,63 jam, 10,41 jam, dan 5,35 jam. Harga  $E_a$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin adalah 15,265 kkal/mol. Harga k,  $t_{1/2}$  dan  $t_{90}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 30°C adalah  $0,032 \cdot 10^{-3}$ /menit, 15 hari dan 2 hari.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suhu mempengaruhi kinetika peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Peningkatan suhu menyebabkan nilai k N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin semakin besar dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin semakin kecil.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan dilakukan pengamatan peruraian senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam larutan dengan berbagai macam pH serta peruraian senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam pembawa yang lain atau berada dalam suatu bentuk sediaan tertentu. Metode spektrofotometri ultraviolet kemungkinan juga dapat digunakan untuk penelitian kinetika peruraian senyawa turunan sefaleksin lain.

## ABSTRACT

### **Study of Degradation Kinetics of N-2,4-Dichlorobenzoylcephalexin by Temperature Influence Using Ultraviolet Spectrophotometric Method at pH 8,00**

This research is to determine the stability of N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin using degradation kinetics principle by measuring parameters such as reaction rate constant ( $k$ ), half life ( $t_{1/2}$ ) dan activation energy ( $E_a$ ). The degradation kinetics of N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin was studied by elevated temperature method at pH 8,00 using temperature 60, 70, 80 dan 90°C for 3 hours. The intact compound was analyzed using ultraviolet spectrophotometric method. This method was based on UV absorption band near 260 nm due to O=CNC=C linkage, the disappearance of this band absorption is characteristic of  $\beta$ -lactam opening. The result shows that degradation kinetic N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin is influenced by temperature. At higher temperature,  $k$  value of N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin is bigger, whereas  $t_{1/2}$  value of N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin is smaller.  $k$ ,  $t_{1/2}$  and  $t_{90}$  value of N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin at 30°C is  $0,032 \cdot 10^{-3}$ /minute, 15 days and 2 days. It is suggested to study N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin's degradation kinetic in various pH. It is also necessary to determine stability of N-2, 4-dichlorobenzoylcephalexin in another matrix or in the dosage forms. It is better to keep N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin in the room temperature or lower.

Keyword : N-2,4-dichlorobenzoylcephalexin, degradation kinetics, ultraviolet spectrophotometric method.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RINGKASAN.....	v
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1. Latar Belakang.....	1
2. Rumusan Masalah.....	4
3. Tujuan Penelitian.....	4
4. Hipotesa.....	4
5. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
1. Tinjauan Tentang Sefalosporin.....	5
2. Tinjauan Tentang Sefaleksin.....	6
3. Tinjauan Tentang N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	8
4. Penentuan Stabilitas Kimia Senyawa.....	9
4.1. Laju reaksi dan orde reaksi.....	9
4.2. Penentuan waktu paruh ( $t_{1/2}$ ).....	11
4.3. Penentuan $Q_{10}$ .....	11
4.4. Penentuan batas umur simpan ( $t_{90}$ ).....	12
4.5. Penentuan energi aktivasi ( $E_a$ ).....	13
5. Penentuan Kadar Senyawa Dengan Cincin $\beta$ -Laktam	
5.1. Metode spektrofotometri ultraviolet.....	14
5.2. Metode kromatografi cair kinerja tinggi.....	14
5.3. Metode kolorimetri.....	15



5.4. Metode iodometri.....	15
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL.....	17
BAB IV. METODE PENELITIAN	
1. Bahan.....	19
2. Alat.....	19
3. Rancangan Penelitian.....	19
4. Pemeriksaan Kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	21
5. Penentuan Kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin Secara Spektrofotometri Ultraviolet	
5.1. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 8,00.....	21
5.2. Pembuatan larutan baku.....	21
5.3. Penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih.....	22
5.4. Pembuatan kurva baku.....	22
5.5. Pembuatan larutan uji.....	22
5.6. Penetapan kadar larutan uji.....	23
5.7. Replikasi.....	23
6. Analisa Data	
6.1. Penentuan order reaksi.....	24
6.2. Penentuan nilai tetapan laju reaksi (k) dan waktu paruh ( $t_{1/2}$ ).....	24
6.3. Penentuan nilai energi aktivasi ( $E_a$ ).....	25
6.4. Penentuan nilai koefisien korelasi (r).....	25
BAB V. HASIL PENELITIAN	
1. Pemeriksaan Kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	27
2. Penentuan Kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet	
2.1. Penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih.....	28
2.2. Pembuatan kurva baku.....	29
2.3. Penentuan kadar larutan uji, harga k dan $t_{1/2}$	
2.3.1. Suhu 60°C.....	30
2.3.2. Suhu 70°C.....	32
2.3.3. Suhu 80°C.....	34
2.3.4. Suhu 90°C.....	36

2.4. Harga k dan $t_{1/2}$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada tiap suhu.....	37
2.5. Penentuan harga energi aktivasi ( $E_a$ ) N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	38
BAB VI. PEMBAHASAN.....	40
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
1. Kesimpulan.....	43
2. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	46

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1. Faktor $Q_{10}$ yang penting untuk setiap interval $10^{\circ}\text{C}$ sekitar suhu kamar ( $25^{\circ}\text{C}$ ) dan nilai $E_a$ yang berkaitan.....	12
IV.1. Tabel kadar senyawa sebelum dan sesudah pemanasan pada suhu $60^{\circ}\text{C}$ .....	24
IV.2. Variabel x dan y pada persamaan kurva baku dan persamaan regresi.....	25
IV.3. Tabel ANOVA regresi linier.....	26
V.1. Hasil pemeriksaan kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	27
V.2. Nilai serapan larutan baku N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada $\lambda = 262 \text{ nm}$ .....	29
V.3. Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoil sefaleksin suhu $60^{\circ}\text{C}$ dengan berbagai waktu pada $\lambda = 262 \text{ nm}$ .....	30
V.4. Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin suhu $70^{\circ}\text{C}$ dengan berbagai waktu pada $\lambda = 262 \text{ nm}$ .....	32
V.5. Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin suhu $80^{\circ}\text{C}$ dengan berbagai waktu pada $\lambda = 262 \text{ nm}$ .....	34
V.6. Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin suhu $90^{\circ}\text{C}$ dengan berbagai waktu pada $\lambda = 262 \text{ nm}$ .....	36
V.7. Harga k dan $t_{1/2}$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	37
V.8. Hasil perhitungan harga k N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada berbagai suhu.....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur molekul sefalosporin.....	5
2.2. Struktur molekul sefaleksin.....	7
2.3. Interaksi $\beta$ -laktam dengan enzim transpeptidase.....	8
2.4. Struktur molekul N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	8
3.1. Skema kerangka konseptual.....	18
4.1. Skema rancangan penelitian.....	20
5.1. Spektra larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	28
5.2. Spektra larutan sefaleksin.....	28
5.3. Kurva hubungan kadar dengan serapan larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada $\lambda = 262$ nm.....	29
5.4. Kurva hubungan waktu vs $\log C_t/C_0$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu $60^\circ\text{C}$ .....	31
5.5. Kurva hubungan waktu vs $\log C_t/C_0$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu $70^\circ\text{C}$ .....	33
5.6. Kurva hubungan waktu vs $\log C_t/C_0$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu $80^\circ\text{C}$ .....	35
5.7. Kurva hubungan waktu vs $\log C_t/C_0$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu $90^\circ\text{C}$ .....	37
5.8. Kurva hubungan waktu vs $\log C_t/C_0$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 60, 70, 80 dan $90^\circ\text{C}$ .....	38
5.9. Kurva hubungan $1/T$ vs $\log k$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	39

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Spektra UV N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	46
2. Perhitungan persamaan kurva baku N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	47
3. Perhitungan persamaan regresi antara $\log C_t/C_o$ vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 60°C.....	48
4. Perhitungan persamaan regresi antara $\log C_t/C_o$ vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 70°C.....	49
5. Perhitungan persamaan regresi antara $\log C_t/C_o$ vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C.....	50
6. Perhitungan persamaan regresi antara $\log C_t/C_o$ vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 90°C.....	51
7. Perhitungan persamaan regresi antara $\log k$ vs $1/T$ larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	52
8. Tabel koefisien korelasi ( $r$ ).....	53
9. Tabel F ( $\alpha = 0,05$ ).....	54
10. Spektrum IR N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	55
11. Sertifikat analisis N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.....	56
12. Sertifikat analisis sefaleksin.....	57



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang

Di negara yang sedang berkembang penyakit infeksi oleh bakteri menduduki ranking tinggi dalam urutan penyakit yang diderita oleh penduduk dan merupakan penyakit yang menjadi penyebab kematian cukup besar. Penanggulangan penyakit infeksi pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik (Hardjono, 2002).

Golongan antibiotik yang sering digunakan untuk penanggulangan penyakit infeksi adalah golongan  $\beta$ -laktam, yaitu turunan penisilin dan sefalosporin (Hardjono, 2002). Sefalosporin berasal dari fungus *Cephalosporium acremonium* yang diisolasi pada tahun 1948 oleh Brotzu (Gan dan Istiantoro, 1995).

Turunan sefalosporin berdasarkan sistem generasi dibagi menjadi empat kelompok, yaitu generasi pertama, kedua, ketiga dan keempat. Sefalosporin generasi pertama diperkenalkan untuk penggunaan klinik antara tahun 1960 dan 1970, contohnya sefadroksil, sefazolin, sefase tril, sefaleksin, sefaloridin, sefalotin, sefapirin, sefradin.

Sefaleksin efektif terhadap bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* dan *Pneumococcus sp.*, dan bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*, *N. gonorrhoea*, *K. pneumonia*, *P. mirabilis* dan *H. influenzae* (Soekardjo *et al.*, 2000).

Sebagai turunan sefalosporin, sefaleksin memiliki spektrum yang lebih luas dan lebih stabil terhadap enzim  $\beta$ -laktamase (Katzung, 1998). Sefaleksin memiliki gugus  $\alpha$ -amino yang menyebabkan sefaleksin stabil terhadap asam lambung (Martin, 1984).

Dalam usaha meningkatkan aktivitas antibakteri dari sefaleksin telah dilakukan modifikasi struktur dengan cara mereaksikan turunan benzoil klorida dengan gugus N-amino dari sefaleksin. Modifikasi struktur ini menghasilkan beberapa turunan sefaleksin diantaranya N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin (Hardjono, 2002).

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas terhadap N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dibandingkan dengan sefaleksin (Hardjono, 2002). Hal ini ditunjukkan oleh nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yang lebih rendah daripada sefaleksin yaitu 62,5 µg/ml. Sedangkan nilai KHM dari sefaleksin yaitu 250 µg/ml. Dengan demikian senyawa hasil modifikasi, N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa obat.

Dalam rangka pengembangan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin menjadi senyawa obat, maka perlu dilakukan penelitian mengenai stabilitasnya karena senyawa yang aktivitas terapeutiknya tinggi tidak akan banyak bermanfaat bila stabilitasnya rendah.

Suatu obat harus cukup stabil sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama, di mana obat tidak berubah menjadi zat tidak berkhasiat atau racun. Oleh sebab itu, seorang ahli farmasi harus mengetahui potensi ketidakstabilan dari obat yang dibuatnya (Martin *et al.*, 1993).

Stabilitas sefaleksin sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH, temperatur, sinar ultraviolet dan enzim β-laktamase. Sefaleksin akan terdegradasi dalam suasana pH netral, basa dan dalam suasana pH asam dengan laju yang berbeda. Adanya gugus aminobenzil menyebabkan sefaleksin relatif stabil terhadap asam. Degradasi sefaleksin sebagai turunan sefalosporin mengikuti kinetika reaksi order satu (Yamana dan Tsuji, 1975 ; Lund, 1994).

Reaksi peruraian atau degradasi suatu senyawa yang dapat mengakibatkan ketidakstabilan dapat dipengaruhi oleh suhu. Suhu dapat meningkatkan reaksi satu atau lebih senyawa. Peningkatan suhu sebesar 10°C dapat meningkatkan kecepatan reaksi dua kali lipat atau lebih. Makin cepatnya laju suatu reaksi akibat peningkatan suhu menunjukkan bahwa suhu mempengaruhi laju atau kecepatan reaksi (Martin *et al.*, 1993 ; Maron dan Lando, 1974). Belum diketahui pengaruh suhu terhadap reaksi peruraian turunan sefaleksin. Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian mengenai stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin akibat pengaruh suhu.



Kinetika kimia merupakan cabang ilmu kimia fisik yang menekankan pada studi tentang kecepatan reaksi kimia suatu senyawa. Kecepatan reaksi kimia adalah kecepatan penurunan konsentrasi reaktan yang dapat diketahui melalui pengamatan terhadap konsentrasi senyawa yang bereaksi pada tiap waktu. Studi kinetika tentang suatu reaksi pada umumnya dilakukan pada suhu konstan. Senyawa yang kinetika peruraiannya akan diamati ditetapkan komposisinya terlebih dulu kemudian suhunya dibuat konstan dengan menggunakan termostat. Penurunan konsentrasi senyawa tersebut diukur sebagai fungsi waktu. Dari data kadar senyawa pada tiap waktu dapat ditarik suatu kesimpulan tentang kinetika peruraian senyawa tersebut. Pengaruh suhu terhadap kecepatan reaksi dapat diketahui dengan melakukan prosedur di atas secara berulang-ulang pada beberapa suhu (Maron dan Lando, 1974).

Parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui kinetika peruraian senyawa adalah  $t_{1/2}$  (waktu paruh),  $k$  (tetapan laju reaksi) dan  $E_a$  (energi aktivasi) (Connors *et al.*, 1992 ; Lachman *et al.*, 1994). Harga  $k$  dapat diperoleh dari nilai slope grafik hubungan  $\log C_t/C_0$  versus  $t$ . Harga  $t_{1/2}$  dapat ditentukan dari harga  $k$ . Sedangkan harga  $E_a$  diperoleh dari nilai slope grafik hubungan  $\log k$  versus  $1/T$ . Untuk mengetahui parameter-parameter tersebut, maka larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin akan mendapat perlakuan yaitu pemanasan selama waktu tertentu (60,90,120, 150 dan 180 menit) pada berbagai suhu ( $60^\circ$ ,  $70^\circ$ ,  $80^\circ$  dan  $90^\circ\text{C}$ ). Suasana larutan dijaga pada pH tetap (pH 8,00). Terjadinya peruraian pada setiap waktu dapat diketahui dengan mengamati kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yang masih utuh setelah perlakuan.

Metode yang dapat digunakan untuk penetapan kadar sefaleksin antara lain metode spektrofotometri ultraviolet (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Sykes dan Brush, 1995), kromatografi cair kinerja tinggi (Yamana dan Tsuji, 1976), kolorimetri (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Marrelli, 1975) dan iodometri (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Sykes dan Brush, 1995). Pada penelitian ini digunakan metode spektrofotometri ultraviolet sebab dengan menggunakan metode ini sefalosporin yang utuh cincin  $\beta$ -laktamnya memberikan serapan pada sekitar 260 nm sehubungan dengan adanya gugus  $\text{O}=\text{CNC}=\text{C}$ . Bila tidak memberikan serapan pada panjang gelombang tersebut, maka hal itu berarti bahwa cincin  $\beta$ -laktamnya

telah terbuka (Yamana dan Tsuji, 1976). Dengan demikian terjadinya peruraian senyawa turunan sefaleksin dapat diamati pada panjang gelombang tersebut.

## **2. Rumusan Masalah**

Dari uraian di atas, maka permasalahannya adalah bagaimana pengaruh suhu terhadap parameter kinetika peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00 ditinjau dari harga  $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $E_a$  ?

## **3. Tujuan Penelitian**

Menentukan parameter kinetika peruraian ( $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $E_a$ ) N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00 dengan adanya pengaruh suhu.

## **4. Hipotesa**

Peningkatan suhu dapat meningkatkan  $k$  dan menurunkan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00.

## **5. Manfaat Penelitian**

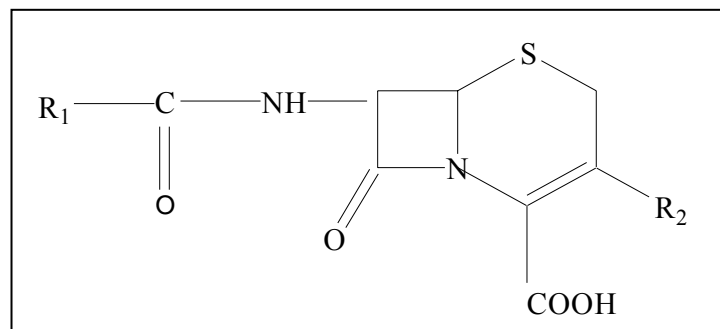
Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data mengenai stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yang dapat digunakan sebagai dasar penentuan cara penyimpanan yang baik dan pemilihan bentuk sediaan yang sesuai bagi senyawa senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Bagi perkembangan ilmu kimia medisinal, data stabilitas ini digunakan sebagai dasar pertimbangan untuk pengembangan menjadi senyawa obat baru.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan Tentang Sefalosporin

Sefalosporin merupakan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam. Secara struktural, sefalosporin memiliki inti berupa asam 7-aminosefalosporinat yang merupakan kompleks cincin  $\beta$ -laktam dan cincin dihidrotiazin.



Gambar 2.1. Struktur molekul sefalosporin

Sefalosporin dibagi menjadi empat generasi berdasarkan aktivitas antimikrobanya yang secara tidak langsung juga sesuai dengan urutan masa pembuatannya, yaitu :

(1). Sefalosporin generasi pertama

Sebagian besar turunan ini diperkenalkan untuk penggunaan klinik antara tahun 1960 dan 1970.

Contoh : sefadroksil, sefazolin, sefase-tril, sefaleksin, sefaloridin, sefalotin, sefapirin, sefradin.

(2). Sefalosporin generasi kedua

Turunan ini diperkenalkan untuk penggunaan klinik sekitar akhir tahun 1970.

Contoh : sefaklor, sefamandol, sefamandol nafat, sefotetan di-Na, sefbupera-razon, sefmetazol, sefoksitin, sefuroksim Na dan sefuroksim aksetil.

(3). Sefalosporin generasi ketiga

Turunan ini diperkenalkan untuk penggunaan klinik pada tahun 1980.

Contoh : sefmenoksim HCl, sefiksim, sefodizim, sefotaksim Na, seftadizim, sefminox.

#### (4). Sefalosporin generasi keempat

Turunan ini diperkenalkan untuk penggunaan klinik pada tahun 1995. Spektrum antibakterinya lebih luas dibanding generasi sebelumnya. Turunan ini aktif terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif yang telah resisten, lebih tahan terhadap  $\beta$ -laktamase dan aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Contoh : sefepim dan sefpirom.

Dewasa ini sefalosporin yang lazim digunakan dalam pengobatan telah mencapai generasi keempat. Sefalosporin aktif terhadap kuman gram positif dan kuman gram negatif, tetapi spektrum antimikroba masing-masing derivat bervariasi (Gan dan Istiantoro, 1995 ; Soekardjo *et al.*, 2000). Pada umumnya, sefalosporin generasi pertama memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik terhadap bakteri gram positif. Sedangkan sefalosporin generasi selanjutnya menunjukkan adanya peningkatan aktivitas terhadap bakteri gram negatif (Katzung, 1998).

Sefalosporin memiliki kemiripan dengan penisilin dalam hal struktur, mekanisme aksi, spektrum antimikroba dan toksisitas (Katzung, 1998). Seperti halnya penisilin, sefalosporin bersifat bakterisidal yang bekerja dengan cara menghambat reaksi enzimatik yang diperlukan untuk menghasilkan dinding sel bakteri yang stabil (Jeffery *et al.*, 1996). Dibandingkan penisilin, sefalosporin lebih stabil terhadap bakteri penghasil  $\beta$ -laktamase dan biasanya memiliki spektrum antimikroba yang lebih luas (Katzung, 1998).

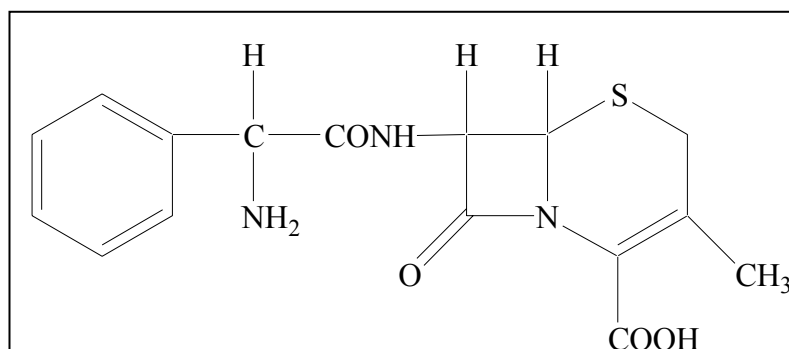
## 2. Tinjauan Tentang Sefaleksin

Sefaleksin merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi pertama. Secara *in vitro*, sefalosporin generasi pertama memperlihatkan spektrum antimikroba yang terutama aktif terhadap kuman gram positif. Keunggulan sefalosporin generasi pertama dibandingkan penisilin adalah aktivitasnya terhadap bakteri penghasil  $\beta$ -laktamase (Gan dan Istiantoro, 1995 ; Katzung, 1998).

Mekanisme aksi sefaleksin sama dengan antibiotik golongan sefalosporin yang lain yaitu menghambat sintesa dinding sel bakteri.

Sefaleksin memiliki beberapa nama kimia, diantaranya adalah 7- $\alpha$ -(D-amino- $\alpha$ -phenylacetamido)-3-methyl-cephem-carboxylic acid (Martin, 1984).

Sefaleksin dikenal dalam bentuk sefaleksin anhidrat, monohidrat, natrium sefaleksin dan sefaleksin hidroklorida (Parfitt, 1999). Rumus molekul sefaleksin adalah  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  (dalam bentuk anhidrat) dan  $C_{16}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$  (dalam bentuk monohidrat). Berat molekul sefaleksin adalah 347.39 (dalam bentuk anhidrat) dan 365.4 (dalam bentuk monohidrat) (Parfitt, 1999).



Gambar 2.2. Struktur molekul sefaleksin

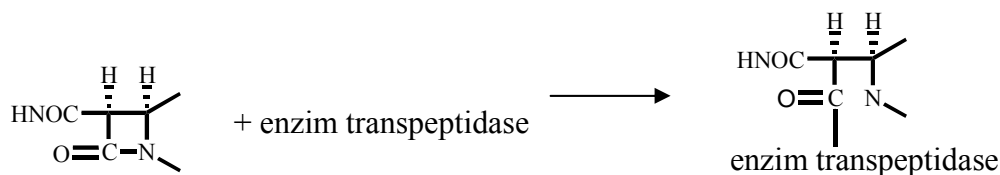
Sefaleksin merupakan serbuk hablur, berwarna putih atau hampir putih. Sefaleksin larut dalam 100 bagian air, praktis tidak larut dalam etanol, dalam eter dan dalam kloroform. Larutan 0.5% sefaleksin dalam air mempunyai pH 4,0-5,5 dan suspensi 5% sefaleksin dalam air mempunyai pH 3,0-5,5 (Parfitt, 1999).

Stabilitas larutan sefaleksin sangat dipengaruhi oleh pH, temperatur dan sinar ultra lembayung. Larutan atau suspensi sefaleksin akan terdegradasi dengan cepat dalam suasana netral atau basa, tetapi tetap stabil dalam suasana asam. Stabilitas optimum sefaleksin dicapai pada pH 4,5 (Lund, 1994).

Beberapa organisme penghasil enzim  $\beta$ -laktamase atau sefalosporinase dapat mempercepat degradasi sefaleksin karena terjadi pembukaan cincin  $\beta$ -laktam (Lund, 1994).

Adanya gugus aminobenzil menyebabkan sefaleksin relatif stabil terhadap asam. Degradasi sefaleksin juga dapat disebabkan oleh adanya panas, asam dan basa kuat serta sinar UV (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Martin, 1984).

Interaksi  $\beta$ -laktam dengan enzim  $\beta$ -laktamase atau sefalosporinase menyebabkan sefaleksin tidak dapat berinteraksi dengan enzim transpeptidase dari mikroorganisme sehingga sefaleksin tidak aktif lagi.



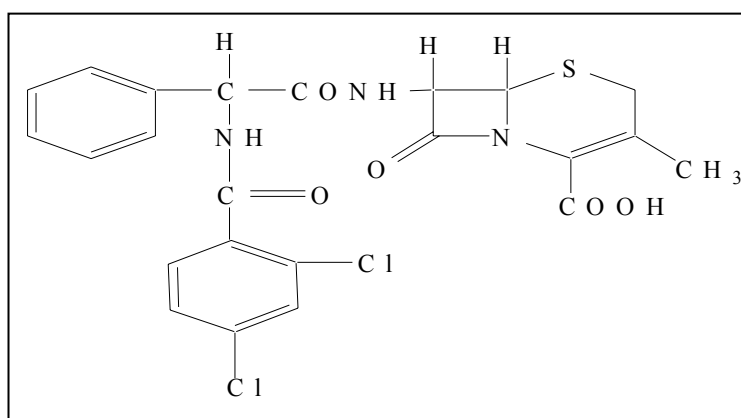
Gambar 2.3. Interaksi  $\beta$ -laktam dengan enzim transpeptidase

Suatu proses degradasi kinetika order pertama yang signifikan dari sefaleksin telah diobservasi pada temperatur  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $60^{\circ}\text{C}$ , dan  $80^{\circ}\text{C}$  setelah 3 hari, 4 jam, dan 1 jam. Kurang dari 10% degradasi terjadi pada temperatur  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ , dan  $25^{\circ}\text{C}$ . Proses degradasi ini terjadi dalam sebuah kontainer tertentu dan diamati selama 90 hari. Degradasi sefaleksin karena faktor fotokimia mengikuti kinetika orde satu dan diprediksikan  $t_{50\%}$ -nya adalah 259 hari dan 305 hari (Lund, 1994).

Suhu penyimpanan sefaleksin tidak lebih dari  $30^{\circ}\text{C}$  karena pada suhu di atas  $30^{\circ}\text{C}$  akan menyebabkan degradasi (Parfitt, 1999).

### 3. Tinjauan Tentang N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin merupakan senyawa baru turunan sefaleksin yang disintesa dengan cara mereaksikan turunan benzoil klorida dengan gugus N-amino dari sefaleksin.



Gambar 2.4. Struktur molekul N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin berbentuk amorf, berwarna putih kekuningan dan memiliki bau yang khas. Kelarutannya dalam aseton, kloroform dan dimetilsulfoksida (DMSO). Titik lebur N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin adalah

189-191°C. Larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam pelarut metanol yang diperiksa menggunakan spektrofotometer UV memberikan serapan maksimal pada panjang gelombang 204 dan 238. Harga  $R_{f1}$  dan  $R_{f2}$  dari N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin adalah 0,14 dan 0,70 (Hardjono, 2002). Sebagai turunan sefaleksin, maka N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin diharapkan mempunyai aktivitas dan mekanisme aksi yang sama dengan sefaleksin.

N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 yang lebih tinggi dibanding sefaleksin. Sebagai senyawa baru turunan sefaleksin, N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin belum memiliki data mengenai stabilitasnya. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini akan ditentukan stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.

#### 4. Penentuan Stabilitas Kimia Bahan Obat

Reaksi peruraian berlangsung pada laju tertentu dan bersifat kimiawi. Kondisi yang berpengaruh antara lain konsentrasi reaktan, temperatur, pH, radiasi, dan katalisator. Untuk mempelajari reaksi-reaksi tersebut secara efektif dan efisien diperlukan penerapan prinsip kinetika kimia (Lachman *et al.*, 1994).

Dengan mengukur harga tetapan laju reaksi ( $k$ ), energi aktivasi ( $E_a$ ), dan waktu paruh ( $t_{1/2}$ ), maka kita dapat memprediksikan stabilitas suatu obat.

##### 4.1. Laju reaksi dan order reaksi

Seringkali pengaruh konsentrasi reaktan terhadap laju reaksi dapat diketahui dari order reaksinya. Sebagian besar senyawa farmasi terurai menurut reaksi yang dapat dianggap berorder nol, order pertama atau order pertama semu, meskipun banyak dari senyawa tersebut terurai dengan mekanisme yang rumit (Lachman *et al.*, 1994).

Secara garis besar order reaksi menentukan bentuk profil waktu-konsentrasi suatu obat, sedangkan tetapan laju menentukan arah slope-nya. Definisi order secara keseluruhan adalah jumlah eksponen dari konsentrasi dalam persamaan laju reaksi (Connors *et al.*, 1992).

Laju reaksi dapat dinyatakan sebagai penurunan konsentrasi reaktan pada setiap waktu ( $-dC_r/dt$ ) atau peningkatan konsentrasi produk pada setiap waktu ( $dC_p/dt$ ) (Maron dan Lando, 1974).

Menurut hukum aksi massa, laju suatu reaksi kimia sebanding dengan hasil kali dari konsentrasi molar reaktan yang masing-masing dipangkatkan dengan angka yang menunjukkan jumlah molekul dari zat-zat yang ikut serta dalam reaksi. Dalam reaksi :



laju reaksinya adalah :

$$k(A)^a(B)^b$$

k adalah konstanta laju.

Laju berkurangnya masing-masing komponen reaksi diberikan dalam bentuk jumlah mol ekuivalen masing-masing komponen yang ikut serta dalam reaksi (Martin *et al.*, 1993).

Dari hukum aksi massa, suatu garis lurus didapat bila laju reaksi diplot sebagai fungsi dari konsentrasi reaktan dipangkatkan dengan bilangan tertentu. Order reaksi keseluruhan adalah jumlah pangkat konsentrasi-konsentrasi yang menghasilkan sebuah garis lurus. Order bagi tiap reaktan adalah pangkat dari tiap konsentrasi reaktan (Martin *et al.*, 1993).

Bila data dari suatu studi stabilitas mengikuti reaksi order nol, maka grafik C (konsentrasi) versus t (waktu) merupakan garis lurus dengan kelandaian/slope adalah k. Nilai k menyatakan jumlah obat yang terurai per satuan waktu. (Martin *et al.*, 1993 ; Connors *et al.*, 1992 ; Lachman *et al.*, 1994).

Bila laju reaksi tergantung pada pangkat satu konsentrasi suatu reaktan tunggal (laju =  $kC_a$ ), reaksinya dianggap sebagai order pertama. Dalam reaksi jenis ini, suatu zat terurai langsung menjadi satu atau beberapa kali reaksi ( $A \rightarrow$  hasil). Laju reaksi berbanding langsung dengan konsentrasi zat yang bereaksi, dan secara matematis dapat dinyatakan sebagai berikut :

Laju pengurangan konsentrasi :

$$-\frac{dC_a}{dt} = kC_a$$

Melalui integral dari  $t_0$  sampai  $t_t$  diperoleh :

$$\ln C_t = \ln C_0 - kt$$

$$\text{atau } \log C_t = \log C_0 - kt/2,303$$

dalam bentuk eksponensial :

$$C = C_0 \cdot e^{-kt}$$



$$C = C_0 \cdot 10^{-kt/2,303}$$

Bila dibuat grafik logaritma konsentrasi obat terhadap waktu, maka akan didapatkan garis dengan slope =  $-kt/2,303$ .

Untuk reaksi order pertama, k menyatakan fraksi zat yang bereaksi dalam satu satuan waktu dan dapat dinyatakan dalam kebalikan detik, menit, atau jam. Misalnya bila nilai k 0,001  $\text{det}^{-1}$ , zat itu terurai dengan laju 0.1% per detik. (Maron dan Lando, 1974 ; Martin *et al.*, 1993 ; Connors *et al.*, 1992 ; Lachman *et al.*, 1994).

#### 4.2. Penentuan waktu paruh ( $t_{1/2}$ )

Waktu paruh adalah waktu yang dibutuhkan untuk meluruh atau hilangnya suatu zat menjadi separuhnya, yakni waktu di mana a berkurang menjadi  $\frac{1}{2}$  a (Martin *et al.*, 1993).

Besarnya  $t_{1/2}$  suatu obat suatu obat tergantung pada order Dengan mensubstitusi harga  $C_t = C_0/2$  ke dalam persamaan laju reaksi pada masing-masing order, maka akan didapatkan harga  $t_{1/2}$  sebagai berikut :

$$\text{Orde nol} \quad : t_{1/2} = 0,5 C_0/k$$

$$\text{Orde pertama} \quad : t_{1/2} = 0,693/k$$

(Maron dan Lando, 1974 ; Martin *et al.*, 1993 ; Connors *et al.*, 1992).

#### 4.3. Penentuan $Q_{10}$

Suatu metode perkiraan yang mudah dan sering digunakan untuk estimasi efek suhu terhadap laju reaksi adalah dengan memperhatikan perbandingan tetapan laju reaksi  $k_{T1}/k_{T2}$  pada dua macam suhu, yaitu  $T_1$  dan  $T_2$ . Pendekatan ini didasarkan pada hasil diskusi yang dilakukan oleh Simonelli dan Dresback.

$Q_{10}$  merupakan faktor naiknya tetapan laju reaksi setiap terjadi kenaikan suhu sebesar  $10^\circ\text{C}$  dan dirumuskan sebagai berikut :

$$Q_{10} = \frac{k_{(T+10)}}{k_T}$$

Bila energi aktivasi sudah diketahui, maka besarnya  $Q_{10}$  dari senyawa tersebut dapat diperoleh sebagai berikut :

$$Q_{10} = \frac{k_{(T+10)}}{k_T} = \exp\left(\frac{Ea}{R} \cdot \frac{1}{T+10}\right) - \frac{1}{T}$$

Energi aktivasi untuk obat yang mengalami dekomposisi biasanya terletak antara 12-24 kkal/mol, khususnya berkisar antara 10-20 kkal/mol dan nilai  $Q_{10} = 2, 3$  atau  $4$  untuk menyatakan estimasi  $Q_{10}$  masing-masing sebagai rendah, rata-rata dan tinggi pada saat nilai  $E_a$  tidak diketahui (tabel 1).

Untuk berbagai perubahan suhu  $\Delta T = T_2 - T_1$ , digunakan persamaan :

$$Q_{\Delta T} = \frac{k_{(T + \Delta T)}}{k_T} = Q_{10}^{(\Delta T/10)}$$

Tabel II.1

Faktor  $Q_{10}$  yang penting untuk setiap interval  $10^\circ\text{C}$  sekitar suhu kamar ( $25^\circ\text{C}$ ) dan nilai  $E_a$  yang berkaitan

$Q_{10}$ ( $20 - 30^\circ\text{C}$ )	$E_a$ (kkal/mol)
2,0	12,2
3,0	19,4
4,0	24,5

$Q = 4$  merupakan estimasi terbesar yang paling layak untuk mendorong terjadinya kenaikan laju reaksi (dengan menaikkan suhu) dan sebaliknya  $Q = 2$  merupakan estimasi terkecil yang paling layak untuk mendorong terjadinya penurunan laju reaksi (dengan menurunkan suhu). Bila pernyataan stabilitas produk diambil pada suhu kamar, maka  $Q_{10} = 4$  merupakan estimasi maksimal terhadap penurunan batas umur simpan dengan naiknya suhu dan  $Q_{10} = 2$  merupakan estimasi yang tepat terhadap kenaikan batas umur simpan dengan turunnya suhu (Connors *et al.*, 1992).

#### 4.4. Penentuan batas umur simpan ( $t_{90}$ )

Batas umur simpan suatu obat ( $t_{90}$ ) biasanya ditentukan sebagai kurun waktu di mana kadar obat turun hingga mencapai 90% dari kadar awal, ini merupakan kondisi terjadinya dekomposisi sebesar 10%.

Besarnya  $t_{90}$  juga tergantung pada order reaksinya. Dengan mensubstitusi harga  $C_t = 0,9 C_0$  ke dalam persamaan laju reaksi pada masing-masing order, maka akan didapatkan  $t_{90}$  sebagai berikut :

$$\text{Order nol} \quad : t_{90} = 0,1 C_0/k$$

$$\text{Order pertama} : t_{90} = 0,105/k$$

Perbedaan suhu penyimpanan suatu bahan obat dapat menyebabkan perubahan batas waktu penyimpanan ( $t_{90}$ ) dari bahan obat tersebut. Oleh sebab itu, perlu dilakukan koreksi  $t_{90}$  apabila terjadi perubahan suhu penyimpanan dengan menggunakan persamaan berikut :

$$t_{90} = \frac{t_{90}(T_1)}{Q_{10}^{(\Delta T/10)}}$$

Di mana

$t_{90}(T_1)$  : batas umur simpan pada suhu  $T_1$

$t_{90}(T_2)$  : batas umur simpan pada suhu  $T_2$

$Q_{10}$  : faktor naiknya tetapan laju setiap terjadi kenaikan suhu sebesar  $10^\circ\text{C}$

$\Delta T$  : perubahan suhu ( $T_2 - T_1$ )

Dari persamaan ini dapat diketahui bahwa  $\Delta T (T_2 - T_1)$  akan menurunkan batas umur simpan (Connors *et al.*, 1992).

#### 4.5. Penentuan energi aktivasi (Ea)

Sejumlah faktor lain selain konsentrasi dapat mempengaruhi kecepatan reaksi, diantaranya adalah temperatur. Kecepatan berbagai reaksi bertambah kira-kira dua atau tiga kalinya tiap kenaikan  $10^\circ\text{C}$ . Pengaruh temperatur terhadap laju ini diberikan dengan persamaan yang pertama kali dikemukakan oleh Arrhenius :

$$k = A \cdot e^{-E_a/RT}$$

$$\log k = \log A - \left( \frac{E_a}{2,303} \cdot \frac{1}{RT} \right)$$

di mana :

k : laju reaksi

A : tetapan Arrhenius

Ea : energi aktivasi

R : tetapan gas (1,987 kal/mol °K)

T : temperatur absolut (t°C + 273) °K

Tetapan A dan Ea dapat dicari dengan menentukan k pada berbagai temperatur dan memplot 1/T terhadap log k. Harga slope = -Ea/2,303R dan intersep pada sumbu tegak adalah log A. Bila menggunakan data t<sub>1/2</sub>, maka akan diperoleh persamaan sebagai berikut :

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k}$$

$$\text{Log } t_{1/2} = \text{log } 0,693 - \text{log } k$$

$$\text{Log } t_{1/2} = \text{log } 0,693 - \text{log } A + \left( \frac{Ea}{2,303} \times \frac{1}{RT} \right)$$

(Martin *et al.*, 1993).

## 5. Penentuan Kadar Senyawa Dengan Cincin β-Laktam

### 5.1. Metode spektrofotometri ultraviolet

Metode ini didasarkan pada perubahan spektrum yang diakibatkan oleh pemutusan ikatan β-laktam dalam sefalosporin (Sykes dan Brush, 1995).

Sefalosporin yang utuh memberikan serapan pada sekitar 260 nm sehubungan dengan adanya gugus O=CNC=C dan bila tidak memberikan serapan pada panjang gelombang tersebut, maka itu berarti bahwa cincin β-laktamnya telah terbuka (Yamana dan Tsuji, 1976).

### 5.2. Metode kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC)

Metode ini digunakan untuk mempelajari kinetika degradasi dari beberapa sefalosporin. Untuk sefaleksin dan turunannya digunakan resin penukar ion sebagai fase diam dan fase geraknya adalah larutan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.02 M yang diatur pHnya pada pH 8,5 dengan NaOH (Yamana dan Tsuji, 1976).

### 5.3. Metode kolorimetri

Metode ini digunakan untuk menganalisa antibiotik yang memiliki struktur  $\beta$ -laktam seperti penisilin dan sefalosporin. Dasar reaksi metode ini ialah pemutusan cincin  $\beta$ -laktam oleh hidroksilamin (pH 7,0) untuk membentuk asam hidroksamat yang akan berikatan dengan ion Ferri dan menghasilkan suatu kompleks berwarna. Warna yang dihasilkan diukur menggunakan alat automatic analyzer. Serapannya diamati pada panjang gelombang 510 nm (Marrelli, 1975 ; Yamana dan Tsuji, 1976).

### 5.4. Metode iodometri

Metode ini dapat digunakan untuk menganalisa sefalosporin atau penisilin dalam bentuk utuh. Prinsip metode ini adalah adanya reaksi yang terjadi antara iodium dengan sefalosporin ataupun penisilin yang telah terhidrolisa. Iodium ditambahkan dalam jumlah berlebih dan kelebihan iodium ini dititrasi dengan natrium tiosulfat yang mengandung indikator amilum. Perbedaan volume natrium tiosulfat yang digunakan sebelum dan sesudah hidrolisa ekuivalen dengan kelebihan iodium. Dan kelebihan iodium ini setara dengan kadar senyawa aktif dari sefalosporin ataupun penisilin (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Sykes dan Brush, 1995).

Metode ini juga didasarkan fakta bahwa molekul sefalosporin yang utuh tidak mereduksi iodium, tetapi sebaliknya pada hasil pemutusan cincin  $\beta$ -laktam dari sefalosporin yaitu sefalosporoat (Sykes dan Brush, 1995). Hal yang sama diharapkan berlaku juga terhadap N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin sebagai turunan sefaleksin.

Pada penetapan kadar secara iodometri ada dua sumber utama kesalahan yang mungkin timbul yaitu :

#### (1). Pengaruh oksidasi udara ( $O_2$ )

Iodium dalam suasana asam secara perlahan teroksidasi oleh oksigen. Kecepatannya bertambah dengan bertambahnya konsentrasi ion hidrogen dan bertambah besar jika terkena cahaya matahari langsung dan karena adanya senyawa-senyawa yang bersifat katalitik, misalnya ion Cu.

(2). Pengaruh penguapan iodium

Iodium dalam larutan akan mudah menguap dengan naiknya temperatur. (Kolthoff dan Sandell, 1952).

Analisa sefalosporin secara iodometri terbukti kurang dapat diandalkan bila dibandingkan dengan penisilin sebab reaksi antara  $\beta$ -laktamase dengan sefalosporin lebih rumit. Hasil reaksi pertama dari penyerangan  $\beta$ -laktamase terhadap sefalosporin adalah suatu sefalosporoat. Senyawa ini biasanya tidak stabil dan mengalami fragmentasi (Yamana dan Tsuji, 1976 ; Sykes dan Brush, 1995).

### BAB III

## KERANGKA KONSEPTUAL

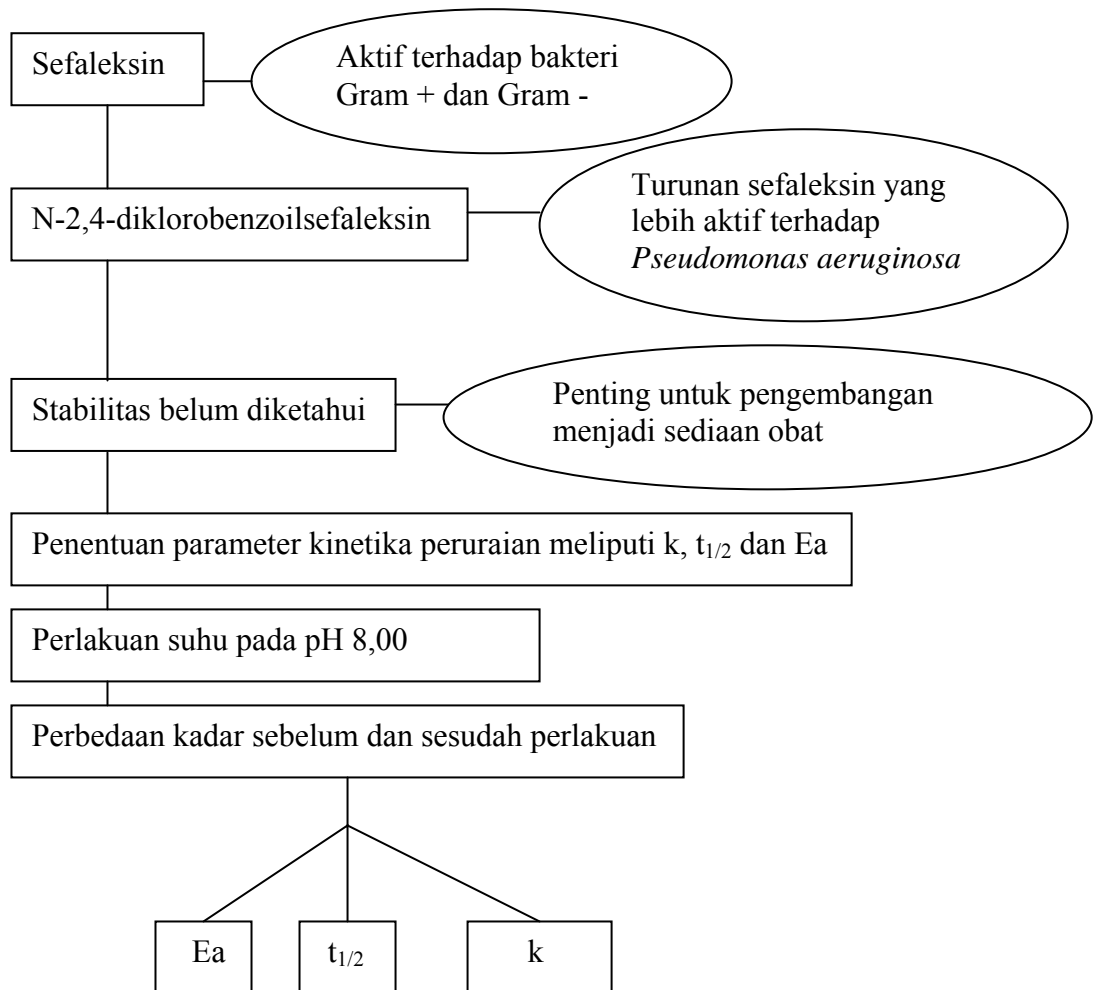
Sefaleksin merupakan turunan sefalosporin generasi pertama yang memiliki spektrum yang lebih luas dan lebih stabil terhadap enzim  $\beta$ -laktamase. Adanya gugus  $\alpha$ -amino menyebabkan sefaleksin stabil terhadap asam lambung. Sefaleksin efektif terhadap banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin merupakan turunan sefaleksin yang memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada sefaleksin terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Sebagai senyawa baru, N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin belum diketahui stabilitasnya. Data stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin perlu diketahui untuk menunjang pemanfaatannya sebagai bahan obat. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian mengenai stabilitas N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.

Parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui stabilitas senyawa adalah  $k$  (tetapan laju reaksi),  $t_{1/2}$  (waktu paruh) dan  $E_a$  (energi aktivasi). Untuk mengetahui nilai dari parameter tersebut, maka N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin akan mendapatkan perlakuan yaitu pemanasan pada berbagai macam suhu yang dilakukan pada suasana pH yang tetap selama waktu tertentu. Kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin setelah mendapat perlakuan akan diamati dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet.

Pada penelitian ini digunakan metode spektrofotometri ultraviolet sebab dengan menggunakan metode ini sefalosporin yang utuh cincin  $\beta$ -laktamnya memberikan serapan pada sekitar 260 nm sehubungan dengan adanya gugus  $O=CNC=C$ . Bila tidak memberikan serapan pada panjang gelombang tersebut, maka hal itu berarti bahwa cincin  $\beta$ -laktamnya telah terbuka (Yamana dan Tsuji, 1976). Dengan demikian terjadinya peruraian senyawa turunan sefaleksin dapat diamati pada panjang gelombang tersebut.

Dari penelitian ini akan diperoleh data kadar senyawa dalam bentuk utuh setiap waktu pada berbagai macam suhu yang dapat digunakan untuk menghitung nilai  $k$  dan  $t_{1/2}$ .  $E_a$  ditentukan menggunakan data beberapa nilai  $k$  pada berbagai suhu dengan membuat grafik hubungan  $\log k$  versus  $1/T$ .



Gambar 3.1. Skema kerangka konseptual



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1. Bahan**

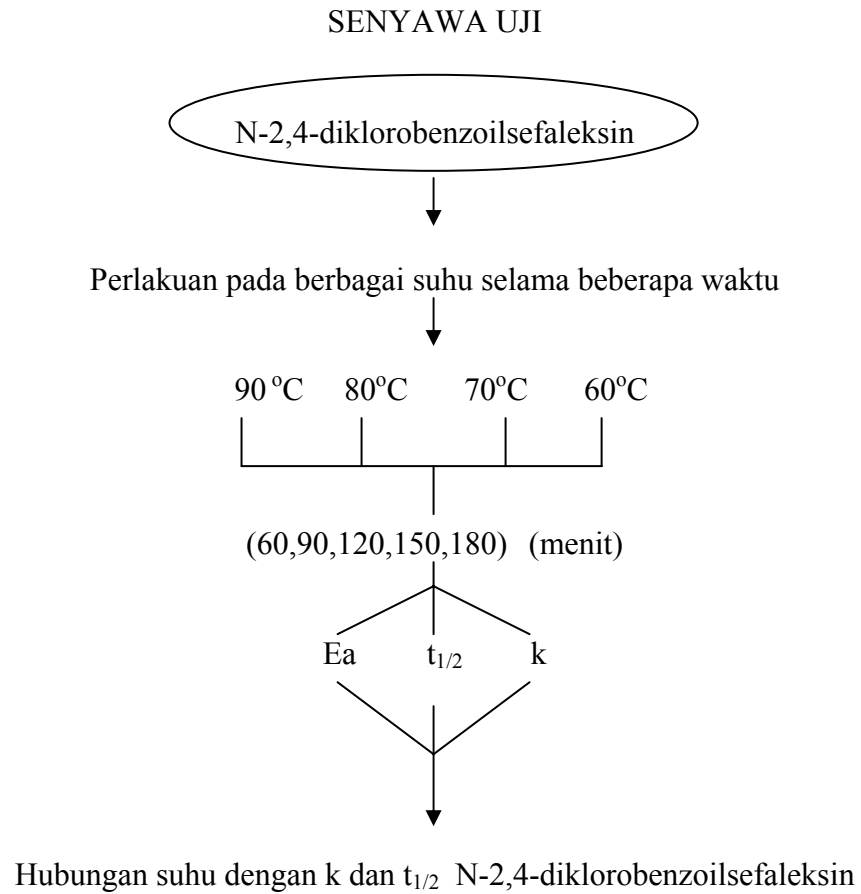
- (1). N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin (Laboratorium Kimia Medisinal)
- (2). Sefaleksin monohidrat pharmaceutical grade (PT. Meiji Indonesia)
- (3). Natrium hidroksida p.a (E. Merck)
- (4). Kalium dihidrogenfosfat p.a (E. Merck)
- (5). Air suling

#### **2. Alat**

- (1). Termostat  
(Julabo Circulator Type EM-12B)
- (2). Spektrofotometer ultraviolet  
(Diode Array HP 8452 A)
- (3). Neraca analitik  
(Sartorius 2472)
- (4). Alat pencatat waktu/stopwatch
- (5). Alat gelas

#### **3. Rancangan Penelitian**

N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin akan diberi perlakuan yaitu pemanasan pada empat macam suhu ( $60^{\circ}\text{C}$ ,  $70^{\circ}\text{C}$ ,  $80^{\circ}\text{C}$  dan  $90^{\circ}\text{C}$ ) selama waktu tertentu (60, 90, 120, 150 dan 180 menit).



Gambar 4.1. Skema rancangan penelitian

#### 4. Pemeriksaan Kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

Pemeriksaan kualitatif yang dilakukan terhadap N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin adalah uji organoleptis dan kromatografi lapis tipis. Uji organoleptis meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa. Untuk kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan eluen aseton : metanol : kloroform dengan perbandingan 1:1:3.

#### 5. Penentuan Kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet

##### 5.1. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 8,00

- (1). Ditimbang  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  13,6000 gram kemudian dilarutkan dalam air suling hingga 500,0 ml dan didapatkan larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M.
- (2). Ditimbang NaOH 4,0000 gram kemudian dilarutkan dalam air suling hingga 500,0 ml dan didapatkan larutan NaOH 0,2 N.
- (3). Diambil 50,0 ml larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M (no.1) kemudian ditambah larutan NaOH 0,2 N (no.2) secukupnya hingga mencapai pH 8,00. Setelah itu ditambah air suling hingga 200,0 ml.

##### 5.2. Pembuatan larutan baku

Dibuat larutan baku induk N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin 1.000 ppm dengan cara menimbang N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin sebanyak 0,0500 gram. Kemudian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dilarutkan dalam larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga 50,0 ml. Dari larutan baku induk ini selanjutnya dibuat larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dengan kadar 50 dan 100 ppm.

Dari larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin 50 ppm ini dipipet sejumlah volume tertentu dan diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga diperoleh larutan baku kerja dengan konsentrasi 15 dan 25 ppm. Caranya adalah sebagai berikut :

15 ppm : dipipet 3,0 ml larutan 50 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda.

25 ppm : dipipet 5,0 ml larutan 50 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda.

Dari larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin 100 ppm ini dipipet sejumlah volume tertentu dan diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga

diperoleh larutan baku kerja dengan konsentrasi 20, 30 dan 40 ppm. Caranya adalah sebagai berikut

20 ppm : dipipet 2,0 ml larutan baku induk 100 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda.

30 ppm : dipipet 3,0 ml larutan baku induk 100 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda.

40 ppm : dipipet 4,0 ml larutan baku induk 100 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda.

### **5.3. Penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih**

Pada penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih ini digunakan dua macam larutan baku kerja N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yaitu larutan baku kerja 20 dan 30 ppm.

Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 200-300 nm. Sebagai blanko digunakan larutan dapar fosfat pH 8,00. Sebagai pembanding bentuk spektra, dilakukan juga pengamatan terhadap larutan sefaleksin.

### **5.4. Pembuatan kurva baku**

Larutan baku kerja N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin 15, 20, 25, 30 dan 40 ppm diamati serapannya pada panjang gelombang maksimum N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Sebagai blanko digunakan larutan dapar fosfat pH 8,00.

Dibuat kurva baku hubungan antara kadar (x) dan serapan (y) sehingga didapatkan persamaan garis regresi dan koefisien korelasinya.

### **5.5. Pembuatan larutan uji**

- (1). Ditimbang N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin 0,0500 g kemudian dilarutkan dalam dapar fosfat pH 8,00 hingga 25,0 ml (2.000 ppm). Kemudian larutan dipipet 1,0 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda. Didapatkan larutan uji 20 ppm. Khusus untuk larutan uji yang akan dipanaskan pada suhu 90°C, dibuat larutan uji dengan cara memipet larutan sebanyak 5,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan larutan dapar

fosfat pH 8,00 hingga garis tanda (1000 ppm). Selanjutnya dari larutan 1000 ppm dipipet 3,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 8,00 hingga garis tanda. Didapatkan larutan uji 30 ppm.

- (2). Larutan uji tersebut dipipet 10,0 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama waktu tertentu (60, 90, 120, 150 dan 180 menit).
- (3). Reaksi peruraian dihentikan segera dengan mendinginkan larutan uji dalam air es. Larutan uji siap untuk ditetapkan kadarnya.
- (4). Dilakukan tahapan kerja yang sama (no. 1-3) untuk pemanasan pada suhu 70°C, 80°C dan 90°C.

#### **5.6. Penetapan kadar larutan uji**

Larutan uji yang sudah siap untuk ditetapkan kadarnya diamati serapannya pada panjang gelombang pengamatan terpilih N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin. Sebagai blanko digunakan larutan dapar fosfat pH 8,00.

#### **5.7. Replikasi**

Tahapan kerja pembuatan larutan uji (5.5) dan penetapan kadar larutan uji (5.6) dilakukan tiga kali replikasi.

### **6. Analisa Data**

Dari hasil pengamatan akan diperoleh kadar rata-rata senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam bentuk utuh setiap waktu pada berbagai macam suhu. Pada setiap suhu akan diperoleh lima macam kadar sesuai dengan lamanya pemanasan pada suhu tersebut yaitu 60, 90, 120, 150 dan 180 menit.

Berikut ini adalah contoh tabel data hasil pengamatan kadar senyawa sebelum dan sesudah pemanasan pada suhu 60°C. Selanjutnya dibuat tabel yang sama terhadap kadar senyawa sebelum dan sesudah pemanasan pada suhu 70°C, 80°C dan 90°C.

Tabel IV.1

Tabel kadar senyawa sebelum dan sesudah pemanasan pada suhu 60°C

Suhu (°C)	Waktu (menit)	C <sub>o</sub>	C <sub>o</sub> rata-rata	C <sub>t</sub>	C <sub>t</sub> rata-rata	C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	
60	60							
	90							
	120							
	150							
180								

### 6.1. Penentuan order reaksi

Proses degradasi sefaleksin mengikuti kinetika orde pertama (Lund, 1994). Untuk mengetahui apakah peruraian senyawa turunan sefaleksin ini juga mengikuti reaksi order satu, maka harus dibuktikan adanya hubungan linier antara  $\log C_t/C_o$  dengan  $t$  (waktu).

### 6.2. Penentuan nilai tetapan laju reaksi (k) dan waktu paruh ( $t_{1/2}$ )

Hubungan linier antara logaritma kadar rata-rata ( $\log C_t/C_o$ ) dengan waktu pemanasan ( $t$ ) menunjukkan bahwa reaksi degradasi mengikuti kinetika order pertama. Tetapan laju reaksi ( $k$ ) diperoleh dari nilai slope pada persamaan regresi linier hubungan  $\log C_t/C_o$  versus  $t$ .

$$\text{Slope} = \frac{-k}{2,303} \quad \Longrightarrow \quad k = -\text{slope} \times 2,303$$

Dengan mengetahui  $k$ , maka dapat dihitung nilai  $t_{1/2}$  (waktu paruh) pada berbagai suhu menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$t_{1/2} \text{ (waktu paruh)} = \frac{0,693}{k}$$

### 6.3. Penentuan nilai energi aktivasi (Ea)

Berdasarkan nilai k tiap suhu dapat dibuat kurva hubungan log k versus 1/T. Energi aktivasi (Ea) diperoleh dari nilai slope pada persamaan regresi linier hubungan log k versus 1/T (Connors et al., 1992).

$$\text{Slope} = \frac{-Ea}{2,303 R} \implies Ea = - \text{slope} \times 2,303 R$$

### 6.4. Penentuan nilai koefisien korelasi (r)

Untuk mengetahui adanya korelasi linier antara variabel x dan y, maka dilakukan perhitungan koefisien korelasi menggunakan persamaan :

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x \sum y)}{\sqrt{[n \sum x^2 - (\sum x)^2] [n \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

Di mana : r = koefisien korelasi

n = jumlah sampel

Tabel IV.2  
Variabel x dan y pada persamaan kurva baku dan persamaan regresi

Variabel	Persamaan kurva baku	Persamaan regresi I	Persamaan regresi II
x	kadar	waktu	1/T
y	serapan	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log k

Jika harga r hitung lebih besar daripada r tabel, maka dapat diambil kesimpulan bahwa ada korelasi linier antara variabel x dan y. Selanjutnya dapat dibuat persamaan garis dengan menggunakan persamaan garis regresi sebagai berikut :

$$y = bx + a$$

Di mana : a = intersep

b = slope

Untuk mengevaluasi persamaan garis regresi tersebut dapat digunakan uji ANOVA pada  $\alpha = 0,05$  dengan ketentuan sebagai berikut :

Ho = tidak ada hubungan linier yang bermakna antara variabel x dan y

Ha = ada hubungan linier yang bermakna antara variabel x dan y

Tabel IV.3  
Tabel ANOVA regresi linier

Sumber variasi	Derajat bebas	SS	MS	F hitung
Regresi linier	1	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\frac{\Sigma(y_c - y)^2}{\Sigma(y_i - y_c)^2/n-2}$
Residual	n - 2	$\Sigma(y_i - y_c)^2$	$\Sigma(y_i - y_c)^2/n - 2$	
Total	n - 1	$\Sigma(y_i - y)^2$		

Di mana : SS = sum square atau jumlah kuadrat

MS = mean square atau rata-rata jumlah kuadrat

y = nilai y rata-rata

$y_c$  = nilai y yang diperoleh dari persamaan regresi

n = jumlah sampel

Bila harga F hitung lebih besar daripada F tabel, maka  $H_0$  ditolak atau dapat dikatakan bahwa ada hubungan linier yang bermakna antara variabel x dan y.



## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 1. Pemeriksaan Kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

Pemeriksaan kualitatif yang dilakukan terhadap N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin meliputi pemeriksaan organoleptis dan kromatografi lapis tipis. Hasil pemeriksaan kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dapat dilihat pada tabel V.1.

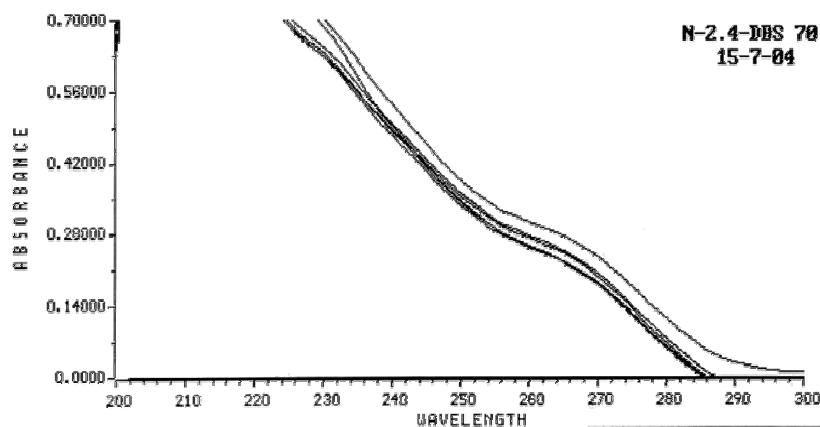
Tabel V.1  
Hasil pemeriksaan kualitatif N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

Pemeriksaan	N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin	
	Hasil Pengamatan	Pustaka (Hardjono,2002)
Organoleptis		
a. Bentuk	Amorf	Amorf
b. Warna	Putih	Putih
c. Bau	Khas antibiotik Pahit	Khas -
d. Rasa		
Kromatografi Lapis Tipis Aseton : metanol : kloroform (1:1:3)	1 noda	1 noda

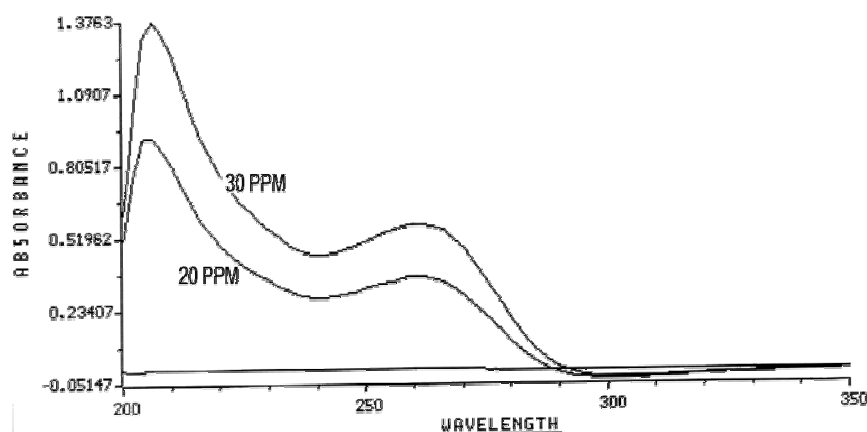
## 2. Penentuan Kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet

### 2.1. Penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih

Penentuan panjang gelombang pengamatan terpilih dilakukan dengan mengukur serapan larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dengan kadar 20 ppm dan 30 ppm. Berdasarkan spektra pada gambar 5.1, dipilih panjang gelombang 262 nm sebagai panjang gelombang pengamatan sebab panjang gelombang 262 nm merupakan panjang gelombang senyawa yang mengandung cincin  $\beta$ -laktam. Hal ini juga tampak pada spektra sefaleksin sebagai senyawa induknya.



Gambar 5.1. Spektra larutan N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin kadar 20 dan 30 ppm



Gambar 5.2. Spektra larutan sefaleksin kadar 20 dan 30 ppm

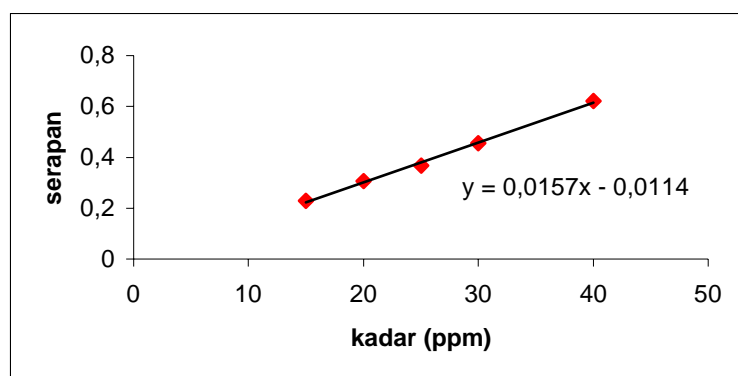
## 2.2. Pembuatan kurva baku

Hasil pengamatan nilai serapan larutan baku N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada berbagai kadar dapat dilihat pada tabel V.2.

Tabel V.2  
Nilai serapan larutan baku N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada  $\lambda = 262$  nm

Kadar larutan baku (ppm)	Serapan
15	0,22876
20	0,30711
25	0,36667
30	0,45500
40	0,62143

Dari data pada tabel V.2 dapat dihitung persamaan garis hubungan kadar vs serapan. Dari hasil perhitungan (Lampiran 2) diperoleh persamaan :  $y = 0,0157x - 0,0114$ , dengan harga koefisien korelasi ( $r$ ) hitung = 0,998 dan F hitung = 941,535. Harga  $r$  tabel ( $df = 4, \alpha = 0,05$ ) = 0,811 dan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 10,13, maka  $r$  hitung lebih besar daripada  $r$  tabel dan F hitung lebih besar dari F tabel. Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara kadar N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dengan nilai serapan yang ditetapkan secara spektrofotometri.



Gambar 5.3. Kurva hubungan kadar dengan serapan larutan N-2,4- diklorobenzoilsefaleksin pada  $\lambda = 262$  nm

### 2.3. Penentuan kadar larutan uji, harga k dan $t_{1/2}$

Penentuan kadar larutan uji dilakukan pada suhu 60, 70, 80 dan 90°C masing-masing selama 60, 90, 120, 150 dan 180 menit. Hasil penentuan kadar ini dapat digunakan untuk menghitung harga k dan  $t_{1/2}$  dari N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada tiap suhu diatas.

#### 2.3.1. Suhu 60°C

Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin pada suhu 60°C dapat dilihat pada tabel V.3.

Tabel V.3  
Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin  
suhu 60°C dengan berbagai waktu pada  $\lambda = 262 \text{ nm}$

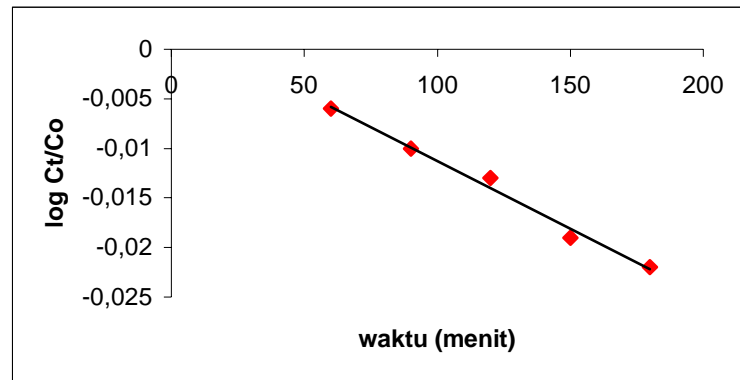
Suhu (°C)	t (menit)	C <sub>o</sub>	C <sub>o</sub> rata-rata	C <sub>t</sub>	C <sub>t</sub> rata-rata	C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>
60	60	21,139	22,434	20,758	22,115	0,986	-0,006
		23,686		23,381			
		22,478		22,207			
	90	21,139	22,434	20,567	21,923	0,977	-0,010
		23,686		23,158			
		22,478		22,043			
	120	21,139	22,434	20,384	21,741	0,969	-0,013
		23,686		23,118			
		22,478		21,720			
	150	21,139	22,434	20,173	21,475	0,957	-0,019
		23,686		22,639			
		22,478		21,614			
	180	21,139	22,434	20,003	21,339	0,951	-0,022
		23,686		22,581			
		22,478		21,432			

Keterangan : Co = kadar mula-mula (ppm)

C<sub>t</sub> = kadar setelah t menit (ppm)

Dari hasil perhitungan (Lampiran 3) , persamaan regresi antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub> yang didapatkan adalah :  $y = -1,4 \cdot 10^{-4} x + 2,4 \cdot 10^{-3}$ , dengan harga koefisien korelasi (r) hitung = 0,994 dan F hitung = 265,421. Harga r tabel (dB = 4,  $\alpha = 0,05$ ) = 0,811 dan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 10,13, maka r hitung lebih

besar daripada  $r$  tabel dan  $F$  hitung lebih besar dari  $F$  tabel . Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara waktu dengan  $\log C_t/C_0$ . Kurva persamaan regresi dapat dilihat pada gambar 5.4.



Gambar 5.4. Kurva hubungan waktu vs  $\log C_t/C_0$   
N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $60^\circ\text{C}$

Adanya hubungan linier antara waktu dengan  $\log C_t/C_0$  menunjukkan bahwa reaksi peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $60^\circ\text{C}$  mengikuti kinetika reaksi order satu. Oleh sebab itu, perhitungan harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin menggunakan persamaan pada order satu.

#### Penentuan harga $k$ dan $t_{1/2}$

Dari persamaan diatas kemudian dihitung harga tetapan laju reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $60^\circ\text{C}$  dengan rumus  $k = -\text{slope} \times 2,303$  dan harga  $t_{1/2}$  yaitu  $0,693/k$ . Harga  $k$  yang diperoleh sebesar  $0,315 \cdot 10^{-3}/\text{menit}$  dan harga  $t_{1/2}$  sebesar 36,67 jam.

### 2.3.2. Suhu 70°C

Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 70°C dapat dilihat pada tabel V.4.

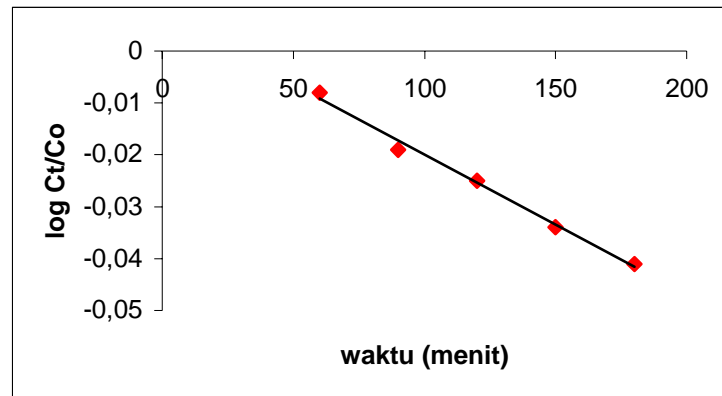
Tabel V.4  
Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin  
suhu 70°C dengan berbagai waktu pada  $\lambda = 262 \text{ nm}$

Suhu (°C)	t (menit)	C <sub>o</sub>	C <sub>o</sub> rata-rata	C <sub>t</sub>	C <sub>t</sub> rata-rata	C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>
70	60	16,139	16,915	15,941	16,596	0,981	-0,008
		17,286		17,073			
		17,319		16,774			
	90	16,139	16,915	15,756	16,181	0,957	-0,019
		17,286		16,471			
		17,319		16,625			
	120	16,139	16,915	15,548	15,973	0,944	-0,025
		17,286		16,056			
		17,319		16,316			
	150	16,139	16,915	15,086	15,647	0,925	-0,034
		17,286		15,789			
		17,319		16,065			
	180	16,139	16,915	14,830	15,378	0,909	-0,041
		17,286		15,505			
		17,319		15,800			

Keterangan : C<sub>o</sub> = kadar mula-mula (ppm)

C<sub>t</sub> = kadar setelah t menit (ppm)

Dari hasil perhitungan (Lampiran 4) , persamaan regresi antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub> yang didapatkan adalah :  $y = -2,7 \cdot 10^{-4} x + 7,0 \cdot 10^{-3}$ , dengan harga koefisien korelasi (r) hitung = 0,996 dan F hitung = 385,491. Harga r tabel (dB = 4,  $\alpha = 0,05$ ) = 0,811 dan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 10,13, maka r hitung lebih besar daripada r tabel dan F hitung lebih besar dari F tabel . Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub>. Kurva persamaan regresi dapat dilihat pada gambar 5.5.



Gambar 5.5. Kurva hubungan waktu vs log  $C_t/C_0$   
N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 70°C

Adanya hubungan linier antara waktu dengan log  $C_t/C_0$  menunjukkan bahwa reaksi peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 70°C mengikuti kinetika reaksi order satu. Oleh sebab itu, perhitungan harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin menggunakan persamaan pada order satu.

#### Penentuan harga $k$ dan $t_{1/2}$

Dari persamaan diatas kemudian dihitung harga tetapan laju reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 70°C dengan rumus  $k = -\text{slope} \times 2,303$  dan harga  $t_{1/2}$  yaitu  $0,693/k$ . Harga  $k$  yang diperoleh sebesar  $0,620 \cdot 10^{-3}/\text{menit}$  dan harga  $t_{1/2}$  sebesar 18,63 jam.

### 2.3.3. Suhu 80°C

Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C dapat dilihat pada tabel V.5.

Tabel V.5  
Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin  
suhu 80°C dengan berbagai waktu pada  $\lambda = 262 \text{ nm}$

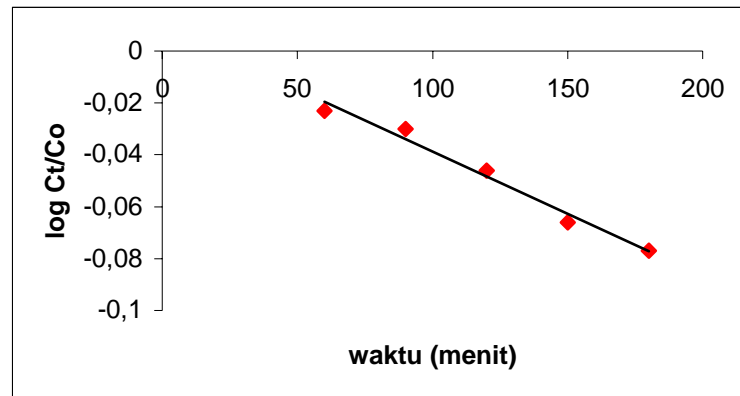
Suhu (°C)	t (menit)	C <sub>o</sub>	C <sub>o</sub> rata-rata	C <sub>t</sub>	C <sub>t</sub> rata-rata	C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>
80	60	19,849	19,344	19,131	18,357	0,949	-0,023
		18,515		17,598			
		19,667		18,343			
	90	19,849	19,344	18,740	18,034	0,932	-0,030
		18,515		17,208			
		19,667		18,154			
	120	19,849	19,344	18,576	17,410	0,900	-0,046
		18,515		16,838			
		19,667		16,815			
	150	19,849	19,344	17,876	16,617	0,859	-0,066
		18,515		16,360			
		19,667		15,616			
	180	19,849	19,344	17,550	16,190	0,837	-0,077
		18,515		15,911			
		19,667		15,110			

Keterangan : C<sub>o</sub> = kadar mula-mula (ppm)

C<sub>t</sub> = kadar setelah t menit (ppm)

Dari hasil perhitungan (Lampiran 5) , persamaan regresi antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub> yang didapatkan adalah :  $y = -4,8 \cdot 10^{-4}x + 9,2 \cdot 10^{-3}$ , dengan harga koefisien korelasi (r) hitung = 0,990 dan F hitung = 142,679. Harga r tabel (dB = 4,  $\alpha = 0,05$ ) = 0,811 dan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 10,13, maka r hitung lebih besar daripada r tabel dan F hitung lebih besar dari F tabel . Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub>. Kurva persamaan regresi dapat dilihat pada gambar 5.6.





Gambar 5.6. Kurva hubungan waktu vs log  $C_t/C_0$   
N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C

Adanya hubungan linier antara waktu dengan log  $C_t/C_0$  menunjukkan bahwa reaksi peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C mengikuti kinetika reaksi order satu. Oleh sebab itu, perhitungan harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin menggunakan persamaan pada order satu.

#### Penentuan harga $k$ dan $t_{1/2}$

Dari persamaan diatas kemudian dihitung harga tetapan laju reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C dengan rumus  $k = -\text{slope} \times 2,303$  dan harga  $t_{1/2}$  yaitu  $0,693/k$ . Harga  $k$  yang diperoleh sebesar  $1,110 \cdot 10^{-3}/\text{menit}$  dan harga  $t_{1/2}$  sebesar 10,41 jam.

### 2.3.4. Suhu 90°C

Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 80°C dapat dilihat pada tabel V.6.

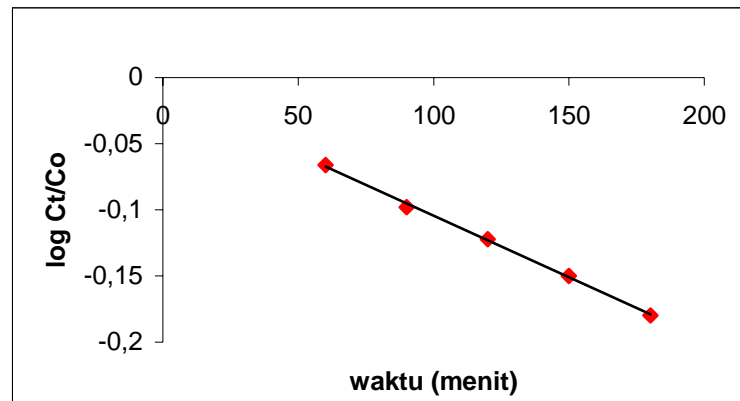
Tabel V.6  
Hasil penentuan kadar larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin  
suhu 90°C dengan berbagai waktu pada  $\lambda = 262 \text{ nm}$

Suhu (°C)	t (menit)	C <sub>o</sub>	C <sub>o</sub> rata-rata	C <sub>t</sub>	C <sub>t</sub> rata-rata	C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>	Log C <sub>t</sub> /C <sub>o</sub>
90	60	27,470	26,894	23,785	23,116	0,860	-0,066
		27,512		23,254			
		25,701		22,310			
	90	27,470	26,894	22,101	21,479	0,799	-0,098
		27,512		21,597			
		25,701		20,738			
	120	27,470	26,894	20,497	20,285	0,754	-0,122
		27,512		20,894			
		25,701		19,464			
	150	27,470	26,894	19,898	19,051	0,708	-0,150
		27,512		18,785			
		25,701		18,471			
180	27,470	26,894	18,347	17,753	0,660	-0,180	
	27,512		17,717				
	25,701		17,194				

Keterangan : C<sub>o</sub> = kadar mula-mula (ppm)

C<sub>t</sub> = kadar setelah t menit (ppm)

Dari hasil perhitungan (Lampiran 6) , persamaan regresi antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub> yang didapatkan adalah :  $y = -9,3 \cdot 10^{-4} x - 1,1 \cdot 10^{-2}$ , dengan harga koefisien korelasi (r) hitung = 0,999 dan F hitung = 1837,500. Harga r tabel (dB = 4,  $\alpha = 0,05$ ) = 0,811 dan harga F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 10,13, maka r hitung lebih besar daripada r tabel dan F hitung lebih besar dari F tabel . Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara waktu dengan log C<sub>t</sub>/C<sub>o</sub>. Kurva persamaan regresi dapat dilihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7. Kurva hubungan waktu vs  $\log C_t/C_o$   
N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $90^\circ\text{C}$

Adanya hubungan linier antara waktu dengan  $\log C_t/C_o$  menunjukkan bahwa reaksi peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $90^\circ\text{C}$  mengikuti kinetika reaksi order satu. Oleh sebab itu, perhitungan harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin menggunakan persamaan pada order satu.

#### Penentuan harga $k$ dan $t_{1/2}$

Dari persamaan diatas kemudian dihitung harga tetapan laju reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu  $90^\circ\text{C}$  dengan rumus  $k = -\text{slope} \times 2,303$  dan harga  $t_{1/2}$  yaitu  $0,693/k$ . Harga  $k$  yang diperoleh sebesar  $2,160 \cdot 10^{-3}/\text{menit}$  dan harga  $t_{1/2}$  sebesar 5,35 jam.

#### 2.4. Harga $k$ dan $t_{1/2}$ N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada tiap suhu

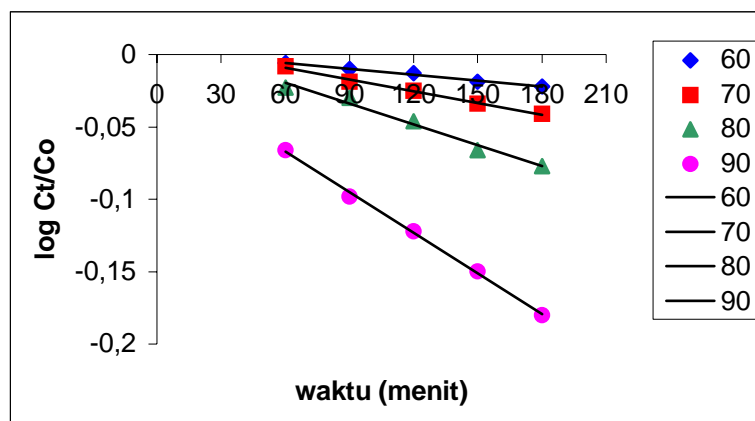
Data harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin setiap suhu dapat dilihat pada tabel V.7.

Tabel V.7  
Harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada tiap suhu

Suhu ( $^\circ\text{C}$ )	$k$ ( $10^{-3}/\text{menit}$ )	$t_{1/2}$ (jam)
60	0,315	36,67
70	0,620	18,63
80	1,110	10,41
90	2,160	5,35

### 2.5. Penentuan harga energi aktivasi ( $E_a$ ) N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

Energi aktivasi ( $E_a$ ) dapat dihitung dari persamaan regresi antara  $1/T$  dan  $\log k$ , dimana  $E_a = -\text{slope} \times 2,303 \times 1,987 \text{ kal/mol K}$ .

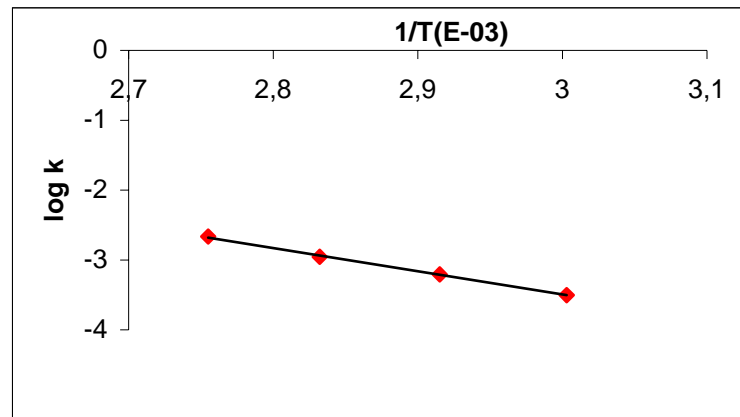


Gambar 5.8. Kurva hubungan waktu vs  $\log C_t/C_o$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 60, 70, 80 dan 90°C

Tabel V.8  
Hasil perhitungan harga k  
N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada berbagai suhu

Suhu (°C)	Suhu (°K) (°C + 273)	1/T (10 <sup>-3</sup> )	k (10 <sup>-3</sup> /menit)	Log k
60	333	3,003	0,315	-3,502
70	343	2,915	0,620	-3,208
80	353	2,832	1,110	-2,955
90	363	2,755	2,160	-2,666

Dari data pada tabel V.8, dapat dibuat suatu persamaan regresi antara  $1/T$  dengan  $\log k$  (Lampiran 7) yaitu :  $y = -3335,907 x + 6,512$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) hitung = 0,999 dan  $F$  hitung = 1326,942. Harga  $r$  tabel ( $df = 3, \alpha = 0,05$ ) = 0,878 dan harga  $F$  tabel ( $\alpha = 0,05$ ) = 18,51. Maka  $r$  hitung lebih besar daripada  $r$  tabel dan  $F$  hitung lebih besar dari  $F$  tabel. Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara  $1/T$  dengan  $\log k$ . Kurva persamaan regresi dapat dilihat pada gambar 5.9.



Gambar 5.9. Kurva hubungan  $1/T$  vs  $\log k$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

Dari persamaan tersebut dapat dihitung harga  $E_a$  untuk N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yaitu :  $E_a = 15,265$  (Kkal/mol).

Disamping itu, dari persamaan regresi tersebut dapat pula dihitung harga  $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $t_{90}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu ruang ( $30^\circ$ ) yaitu  $k$  sebesar  $0,032 \cdot 10^{-3}$ /menit,  $t_{1/2}$  sebesar 15 hari dan  $t_{90}$  sebesar 2 hari.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk menentukan parameter kinetika peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada pH 8,00 dengan adanya pengaruh suhu. Dari penelitian ini akan diperoleh harga k (tetapan laju reaksi),  $t_{1/2}$  (waktu paruh) dan  $E_a$  (energi aktivasi) dari senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.

Senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin merupakan senyawa baru hasil sintesis yang monografinya belum tercantum dalam pustaka. Untuk pemeriksaan kualitatif terhadap N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin dilakukan uji organoleptis dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil dari kedua uji ini menunjukkan bahwa senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin telah memenuhi spesifikasi yang tercantum dalam sertifikat analisisnya (Lampiran 11). Untuk melengkapi pemeriksaan kualitatif terhadap senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin, maka dilampirkan juga spektrum infra merahnya (Lampiran 10).

Peruraian sefaleksin dapat terjadi karena pengaruh pH, suhu, sinar UV dan enzim  $\beta$ -laktamase. Pada penelitian ini, pengamatan peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin sebagai senyawa turunan sefaleksin dilakukan pada kondisi pH 8,00 yang diperoleh dengan menggunakan larutan dapar fosfat 0,2 M. Pada kondisi pH basa ini, peruraian senyawa terjadi pada cincin  $\beta$ -laktam. Untuk mengetahui kinetika peruraian senyawa, dilakukan pemanasan terhadap larutan uji pada berbagai suhu dengan interval waktu tertentu. Cara pemanasan dipilih dalam penelitian ini karena dapat mempercepat peruraian senyawa sehingga kinetika peruraian senyawa tersebut dapat diamati selama interval waktu yang telah ditentukan sebelumnya. Selain itu cara pemanasan merupakan cara yang sederhana dan tidak memerlukan bahan tambahan dan peralatan khusus karena untuk menjaga kestabilan suhu hanya perlu menggunakan termostat.

Pemanasan larutan uji N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dilakukan pada suhu 60, 70, 80 dan 90°C. Pada setiap suhu, larutan uji dipanaskan selama 60, 90, 120, 150 dan 180 menit.. Pemanasan larutan uji dilakukan pada beberapa suhu yang berbeda dengan tujuan untuk mendapatkan penurunan kadar senyawa yang

bermakna antar waktu dan suhu percobaan sehingga parameter kinetika peruraian dari larutan uji dapat dihitung. Setelah pemanasan, larutan uji segera didinginkan dalam air es dengan tujuan untuk mencegah degradasi lebih lanjut dari larutan uji.

Untuk penetapan kadar larutan uji atau pemeriksaan kuantitatif terhadap N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dipilih metode spektrofotometri ultraviolet sebab dengan menggunakan metode ini sefalosporin yang utuh cincin  $\beta$ -laktamnya secara khas memberikan serapan pada sekitar 260 nm sehubungan dengan adanya gugus  $O=CNC=C$  (Yamana dan Tsuji, 1976). Oleh sebab itu, metode ini dapat digunakan untuk mengamati kinetika peruraian dari N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin sebagai turunan sefalosporin yang struktur kimianya mengandung cincin  $\beta$ -laktam.

Panjang gelombang pengamatan yang terpilih untuk N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin adalah 262 nm karena pada panjang gelombang tersebut menunjukkan adanya serapan gugus  $O=CNC=C$ , yaitu suatu gugus yang dimiliki oleh senyawa yang mengandung cincin  $\beta$ -laktam. Hal ini juga terlihat pada spektra UV sefaleksin sebagai senyawa induknya.

Proses degradasi sefaleksin mengikuti kinetika orde pertama (Lund, 1994). Untuk mengetahui apakah peruraian senyawa turunan sefaleksin ini juga mengikuti reaksi order satu, maka harus dibuktikan adanya hubungan linier antara  $\log C_t/C_0$  dengan  $t$  (waktu). Dari hasil penelitian ini, kinetika reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin mengikuti kinetika order satu. Hal ini dapat dilihat dari adanya hubungan linier antara  $\log C_t/C_0$  vs waktu pada berbagai suhu. Hubungan linier ini ditunjukkan dengan harga  $r$  hitung yang lebih besar dari  $r$  tabel dan harga  $F$  hitung yang lebih besar dari  $F$  tabel. Selanjutnya penentuan harga  $k$  dan  $t_{1/2}$  juga mengikuti kinetika order satu. Harga  $k$  dapat dihitung dari nilai slope persamaan garis tersebut yang dikalikan dengan 2,303 dan  $t_{1/2} = 0,693/k$ .

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan laju reaksi peruraian senyawa uji. Hal ini dapat dilihat dari slope persamaan regresi  $\log C_t/C_0$  vs waktu ( $t$ ) yang makin meningkat dengan meningkatnya suhu dan bila diamati menunjukkan kemiringan garis yang lebih curam.

Dari harga  $k$  selanjutnya dapat dihitung harga  $t_{1/2}$ . Berlawanan dengan  $k$ , harga  $t_{1/2}$  lebih kecil pada suhu yang lebih tinggi. Hal ini berarti bahwa pada suhu yang lebih tinggi waktu yang dibutuhkan senyawa untuk terurai akan lebih cepat.

Dari harga  $k$  yang diperoleh pada tiap suhu dapat dihitung harga energi aktivasi ( $E_a$ ) ditentukan dari nilai slope persamaan regresi antara  $\log k$  vs  $1/T$  ( $K^{-1}$ ) yang dikalikan dengan 2,303 dan 1,982 kal/mol K. Hubungan linier ini ditunjukkan dengan harga  $r$  hitung yang lebih besar dari  $r$  tabel dan harga  $F$  hitung yang lebih besar dari  $F$  tabel. Harga  $E_a$  yang diperoleh adalah 15,265 kkal/mol. Harga  $E_a$  senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin termasuk dalam range energi aktivasi senyawa obat yang mengalami dekomposisi yang biasanya terletak antara 12-24 kkal/mol, khususnya berkisar antara 10-20 kkal/mol (Connors *et.al*, 1992). Dari persamaan regresi tersebut juga dapat dihitung harga  $k$ ,  $t_{1/2}$  dan  $t_{90}$  senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu ruang ( $30^\circ C$ ) yaitu  $k$  sebesar  $0,032 \cdot 10^{-3}$ /menit,  $t_{1/2}$  sebesar 15 hari dan  $t_{90}$  sebesar 2 hari.

Dengan demikian senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan obat selain karena aktivitas antibakterinya terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang lebih besar daripada senyawa induknya (Hardjono, 2002).

Mengingat harga  $t_{1/2}$  senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yang cukup besar sehingga penurunan kadarnya tidak terlalu besar, kiranya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peruraian N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin yang diamati kondisi pH yang berbeda-beda, dalam matrix yang lain atau dalam suatu bentuk sediaan obat.



## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :  
Harga parameter kinetika reaksi N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam larutan dapar pH 8,00 pada berbagai suhu adalah adalah :

- Pada suhu 60°C harga  $k = 0,315 \cdot 10^{-3}$ /menit dan harga  $t_{1/2} = 36,67$  jam
- Pada suhu 70°C harga  $k = 0,620 \cdot 10^{-3}$ /menit dan harga  $t_{1/2} = 18,63$  jam
- Pada suhu 80°C harga  $k = 1,110 \cdot 10^{-3}$ /menit dan harga  $t_{1/2} = 10,41$  jam
- Pada suhu 90°C harga  $k = 2,160 \cdot 10^{-3}$ /menit dan harga  $t_{1/2} = 5,35$  jam
- Harga  $E_a$  yang diperoleh adalah 15,265 Kkal/mol

Peningkatan suhu dapat meningkatkan  $k$  dan menurunkan  $t_{1/2}$  N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin.

#### 2. Saran

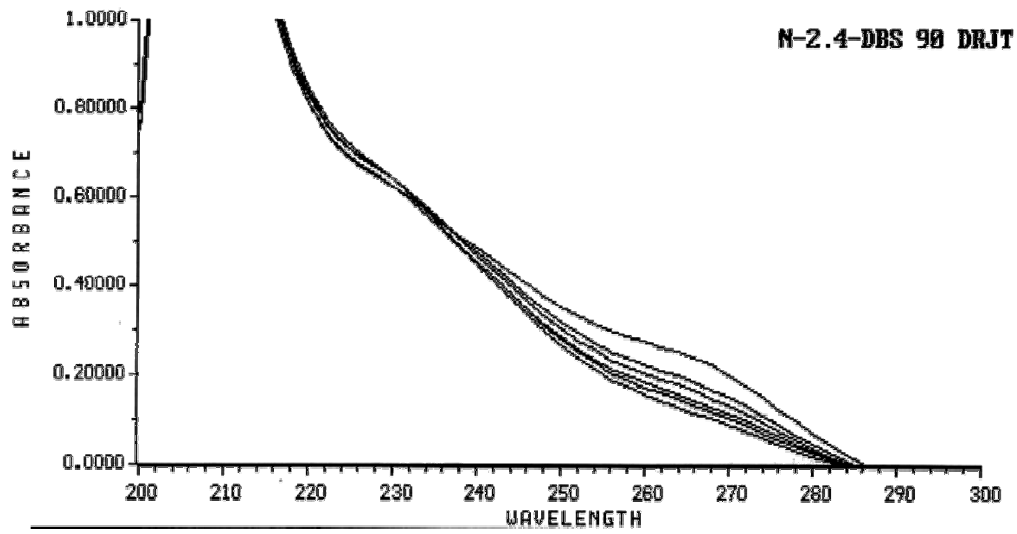
Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, disarankan untuk menyimpan senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam ruangan bersuhu dingin atau lebih rendah dari suhu kamar. Perlu juga dilakukan penelitian peruraian senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam bentuk sediaan tertentu baik padat, cair maupun setengah padat serta penelitian kinetika peruraian senyawa N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin dalam kondisi pH yang berbeda-beda.

Metode spektrofotometri ultraviolet yang telah digunakan dalam penelitian ini, kemungkinan dapat juga digunakan untuk meneliti kinetika peruraian senyawa turunan sefaleksin yang lain.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim, 1986. *Basic Test for Pharmaceutical Substances*, Genewa : The World Health Organization, p.36-37.
- Anonim, 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi ke-4, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal.179-180, 1210.
- Anonim, 2002. *The United States of Pharmacopeia*, Ed.25<sup>th</sup>, Vol.2, Rockville : United States Pharmacopeia Convention Inc., p.364, 1861-1862, 1938.
- Budavari, S., 1996. *The Merck Index An Encyclopedia of Chemical Drugs and Biologicals*, Ed.12<sup>th</sup>, New Jersey : Merck and Co.Inc., p.328, 1264.
- Connors, K.A., Amidon, G.L., Stela V.J. dan Gunawan, D., 1992. *Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi Buku Pegangan bagi Tenaga Farmasi*, Terjemahan, Edisi ke-2, Semarang : IKIP Semarang Press, hal.3-30, 621-627.
- Daniel, W.W., 1995. *Biostatistics A Foundation for Analysis In The Health Sciences*, Ed.6<sup>th</sup>, New York : John Willey and Sons Inc., p.368-377.
- Gan, V.H.S. dan Istiantoro, Y.H., 1995. Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotika Betalaktam lainnya, dalam : Ganiswarna, S.G. (editor), *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-4, Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal.622-642.
- Hardjono, S., 2002. *Sintesis Senyawa Baru Turunan Benzoil-N-Sefaleksin untuk Meningkatkan Aktivitas Antibakteri terhadap Pseudomonas Aeruginosa*, Riset Unggulan Terpadu VIII Bidang Ilmu Kimia dan Proses, Kementerian Riset dan Tehnologi Republik Indonesia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, hal.1-49.
- Jeffery, S.L., Theoharides, T.C., Meissner, H.C., Kisliuk, R.L., Keusch, G.T. dan Gorbach, S.L., 1996. Antimicrobial Chemotherapy, dalam : Theoharides, T.C. (editor), *Essentials of Pharmacology*, Ed.2<sup>nd</sup>, Boston : Little, Brown and Company, p.287-297.
- Katzung, B.G., 1998. *Basic and Clinical Pharmacology A Lange Medical Book*, Ed.7<sup>th</sup>, London : Prentice Hall International Limited , p.723-734.
- Kolthoff, I.M. dan Sandell, E.B., 1952. *Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, Ed.3<sup>rd</sup>, New York : The Macmillan Company, p.585-627.
- Lachman, L., Deluca, P. dan Akers, M.J., 1994. Prinsip Kinetika dan Uji Stabilitas, dalam : Lachman, L., Lieberman, H.A. dan Kanic, J.L. (editor), *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, Terjemahan, Edisi ke-3, Jakarta : Universitas Indonesia Press, hal.1514-1599.

- Lund, W., 1994. *The Pharmaceutical Codex Principles and Practice of Pharmaceutics*, Ed.12<sup>th</sup>, London : The Pharmaceutical Press, p.780-782.
- Maron, S.H. dan Lando J.B., 1974. *Fundamental of Physical Chemistry*, New York : Macmillan Publishing Co.Inc., p.673-715.
- Marrelli, L.P., 1975. Cephalexin, dalam : Florey, K. (editor), *Analytical Profiles of Drug Substances*, Vol.4, New York : Academic Press, p.23-43.
- Martin, A., Swarbick, J., Commarata, A. dan Yoshita, 1993. *Farmasi Fisik Dasar-Dasar Kimia Fisik dalam Ilmu Farmasetik*, Terjemahan, Edisi ke-3, Jakarta : Universitas Indonesia Press, hal.724-816.
- Martin, A.R., 1984. Antibiotika, dalam : Doerge, R.F. (editor), *Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*, Terjemahan, Semarang : IKIP Semarang Press, hal.231, 255, 260.
- Miller, J.C. dan Miller J.N., 1993. *Statistical for Analytical Chemistry*, Ed.3<sup>rd</sup>, New York : Ellis Horwood PTR Prentice Hall, p.33-35.
- Parfitt, K., 1999. *Martindale The Complete Drug Reference*, Ed.32<sup>nd</sup>, London : The Pharmaceutical Press, p.178.
- Richel, W.A., 1988, *Handbook of Basic Pharmacokinetics*, 3<sup>th</sup> Ed., Cincinate ; Drug Intelegence Publication inc., p.315.
- Soekarjo, B., Hardjono, S. dan Sondakh, R., 2000. Hubungan Struktur-Aktivitas Obat Antibiotika, dalam : Siswandono dan Soekarjo, B. (editor), *Kimia Medisinal*, Surabaya : Airlangga University Press, hal.109-130.
- Soedigdo S., Soedigdo P., 1977, *Pengantar Cara Statika Kimia*, Bandung ; Penerbit ITB Bandung, hal. 42.
- Sykes, R.B. dan Brush, K., 1995. Fisiologi, Biokimia dan Inaktivasi  $\beta$ -Laktamase, dalam : Morin, R.B dan Gorman, M. (editor), Mulyani, S., *Kimia dan Biologi Antibiotika  $\beta$ -Laktam*, Terjemahan, Vol.3, Semarang : IKIP Semarang Press, hal. 159-166.
- Usman, H. dan Akbar, R.P.S., 1995. *Pengantar Statistika*, Jakarta : Bumi Aksara, hal.152-153, 202-220.
- Yamana, T. dan Tsuji, A., 1976. Comparative Stability of Cephalosporins in Aqueous Solution : Kinetics and Mechanism of Degradation, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, No.11, Vol.65, p.1563-1573.

**LAMPIRAN 1**

**Spektra UV N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin pada suhu 90°C**

## LAMPIRAN 2

### Perhitungan persamaan kurva baku N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin

#### Regression

##### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: SERAPAN

##### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.998 <sup>a</sup>	.997	.996	.00981712

a. Predictors: (Constant), KADAR

##### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.091	1	.091	941.535	.000 <sup>a</sup>
	Residual	.000	3	.000		
	Total	.091	4			

a. Predictors: (Constant), KADAR

b. Dependent Variable: SERAPAN

##### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-1.1E-02	.014		-.814	.475
	KADAR	1.57E-02	.001	.998	30.684	.000

a. Dependent Variable: SERAPAN

### LAMPIRAN 3

Perhitungan persamaan regresi antara  $\log C_t/C_0$  vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin pada suhu 60°C

#### Regression

##### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LOGKADAR

##### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.994 <sup>a</sup>	.989	.985	.000796

a. Predictors: (Constant), WAKTU

##### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.000	1	.000	265.421	.001 <sup>a</sup>
	Residual	.000	3	.000		
	Total	.000	4			

a. Predictors: (Constant), WAKTU

b. Dependent Variable: LOGKADAR

##### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	2.40E-03	.001		2.248	.110
	WAKTU	-1.4E-04	.000	-.994	-16.292	.001

a. Dependent Variable: LOGKADAR

## LAMPIRAN 4

Perhitungan persamaan regresi antara  $\log C_t/C_0$  vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin pada suhu 70°C

### Regression

#### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.996 <sup>a</sup>	.992	.990	.001304

a. Predictors: (Constant), WAKTU

#### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.001	1	.001	385.941	.000 <sup>a</sup>
	Residual	.000	3	.000		
	Total	.001	4			

a. Predictors: (Constant), WAKTU

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	7.00E-03	.002		4.002	.028
	WAKTU	-2.7E-04	.000	-.996	-19.645	.000

a. Dependent Variable: LOGKADAR

## LAMPIRAN 5

Perhitungan persamaan regresi antara  $\log C_t/C_0$  vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin pada suhu 80°C

### Regression

#### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.990 <sup>a</sup>	.979	.973	.003812

a. Predictors: (Constant), WAKTU

#### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.002	1	.002	142.679	.001 <sup>a</sup>
	Residual	.000	3	.000		
	Total	.002	4			

a. Predictors: (Constant), WAKTU

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	9.20E-03	.005		1.799	.170
	WAKTU	-4.8E-04	.000	-.990	-11.945	.001

a. Dependent Variable: LOGKADAR



## LAMPIRAN 6

Perhitungan persamaan regresi antara  $\log C_t/C_0$  vs waktu larutan N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin pada suhu 90°C

### Regression

#### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.999 <sup>a</sup>	.998	.998	.002066

a. Predictors: (Constant), WAKTU

#### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.008	1	.008	1837.500	.000 <sup>a</sup>
	Residual	.000	3	.000		
	Total	.008	4			

a. Predictors: (Constant), WAKTU

b. Dependent Variable: LOGKADAR

#### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-1.1E-02	.003		-4.041	.027
	WAKTU	-9.3E-04	.000	-.999	-42.866	.000

a. Dependent Variable: LOGKADAR

## LAMPIRAN 7

### Perhitungan persamaan regresi antara log k vs 1/T larutan N-2,4-diklorobenzoil-sefaleksin

#### Regression

##### Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

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

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: LOGK

##### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.999 <sup>a</sup>	.998	.998	.016942

a. Predictors: (Constant), SUHU

##### ANOVA<sup>b</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.381	1	.381	1326.942	.001 <sup>a</sup>
	Residual	.001	2	.000		
	Total	.381	3			

a. Predictors: (Constant), SUHU

b. Dependent Variable: LOGK

##### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	6.512	.264		24.711	.002
	SUHU	-3335.907	91.577	-.999	-36.427	.001

a. Dependent Variable: LOGK

## LAMPIRAN 8

Tabel koefisien korelasi (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

Dikutip dari :

Soedigdo S., Soedigdo P., 1977, *Pengantar Cara Statika Kimia*, Bandung ; Penerbit ITB Bandung, hal. 42.

## LAMPIRAN 9

Tabel F ( $\alpha = 0,05$ )

$v_2$	$v_1$								
	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	2,79	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
~	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88

Dikutip dari :

Richel, W.A., 1988, *Handbook of Basic Pharmacokinetics*, 3<sup>th</sup> Ed., Cincinate ; Drug Intelegence Publication inc., p.315.

## **LAMPIRAN 10**

### **Spektrum IR N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin**

**LAMPIRAN 11****Sertifikat analisis N-2,4-diklorobenzoilsefaleksin****Laboratorium Kimia Medisinal**

Jurusan Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi

Universitas Airlangga

**Laporan Hasil Pemeriksaan Senyawa**

1. Nama senyawa : N-(2,4-diklorobenzoil)-Sefaleksin
2. Dibuat oleh : Drs. Suko Hardjono, MS.
3. Tanggal dibuat : 9 Juli 2001
4. Rendemen : 61,5 %
5. Pemeriksaan :

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1.	Pemerian/Organoleptis	Bentuk amorf, warna putih kekuningan, bau khas
2.	Jarak lebur	189-193°C
3.	Kelarutan	aseton, kloroform dan dimetilsulfoksida
4.	Uji KLT (2 eluen)	1 noda.
5.	Identifikasi UV	$\lambda$ maks = 204 dan 238 nm
6.	Identifikasi IR $\nu$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	3428 dan 3262 (-N-H); 3061 dan 2973 (-C-H); 1763 (-C=O $\square$ -laktam); 1717 (-C=O amida); 1640 (-C=O asam karboksilat); 1543 (-C-H aromatis) 1157 (-C-Cl aromatis)
7.	Identifikasi $^1\text{H}$ NMR $\delta$ (ppm)	1,983 , s, C-CH <sub>3</sub> ; 2,983-3,028, d, C-CH <sub>2</sub> ; 3,210-3,214, d, N-C-CH-S; 3,245-3,290, d, N-CH-C-S; 4,789-4,800, d, C-NH-C; 5,555-5,566, d, Ar-CH-N-; 5,631-5,649, d, C-NH-CO-Ar; 7,188-7,676, m, 2 Ar-H
8.	Kesimpulan :	Senyawa adalah N-(2,4-diklorobenzoil)-Sefaleksin

Surabaya, 14 Agustus 2001  
Laboratorium Kimia Medisinal  
Kepala,

Prof. Dr. Bambang Soekardjo, SU.  
NIP. 130355370

## LAMPIRAN 11

## Sertifikat analisis sefaleksin

Address for correspondence:  
International Division  
c/o Devika Towers  
Nehru Place  
New Delhi - 110 019, INDIA

Fax : (91-11) 26110633  
Telex : 031-66375  
Phone : 26437078-81  
Cable : RANBAXY

**RANBAXY**  
LABORATORIES LIMITED  
S.A.S. NAGAR (MOHALI)

## Certificate of Analysis

PRODUCT NAME : CEPHALEXIN BP/USP ( COMPACTED )  
(AS CEPHALEXIN MONOHYDRATE)

Batch No.	: 1360581	Report No.	: 36000329512
Mfg. Date	: December, 2003	Sampling Date	: 31.12.2003
Exp. Date	: November, 2007	Quantity	: 500.000 Kg.

Characteristics	Results	Specification
<b>RELATED SUBSTANCES</b>	Complies	To comply
7-ADCA	Less than 0.5 %	NMT 1.0 %
D (-) Alpha-Phenyl Glycine	Less than 0.5 %	NMT 1.0 %
Any other impurity	Less than 0.5 %	NMT 1.0 %
<b>RELATED COMPOUNDS</b>		
Individual related substance	0.05 % w/w	NMT 1.0 % w/w
Total related substances	0.17 % w/w	NMT 5.0 % w/w
<b>SULPHATED ASH</b>	0.04 % w/w	NMT 0.2 % w/w
<b>ASSAY</b>	98.5 % w/w	95.0 - 101.0% w/w of C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S calculated with reference to the anhydrous substance
<b>ASSAY ( USP )</b>	985 MCG/mg	950-1030 MCG/mg of C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S on anhydrous basis
<b>ADDITIONAL TESTS</b>		
BULK DENSITY-UNTAPPED	0.50 gm/ml	As per market requirement
BULK DENSITY - 350 TAPS	0.63 gm/ml	As per market requirement

Complies with respect to the specifications, as above

Date of Issue : 20.01.2004

  
Analyst

Page 2 of 2

  
Quality Assurance Manager