

SKRIPSI

FIRSTIA RIF'ATUL CHUMAIDAH

HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF N-BENZOIL SEFRADIN DAN AKTIVITAS TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

FF 134/06

Chu
h



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2005**

Lembar Pengesahan

**HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF
N-BENZOIL SEFRADIN DAN AKTIVITAS
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29293**

SKRIPSI

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

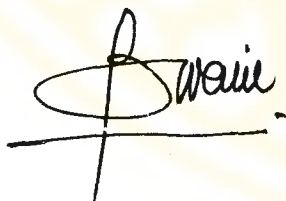
2005

Oleh :

Firstia Rifatul Chumaidah
NIM : 050112381

Skripsi ini telah disetujui
tanggal
20 September 2005

Pembimbing Utama



Drs. Bambang Tri Purwanto, MS.
NIP. 131470996

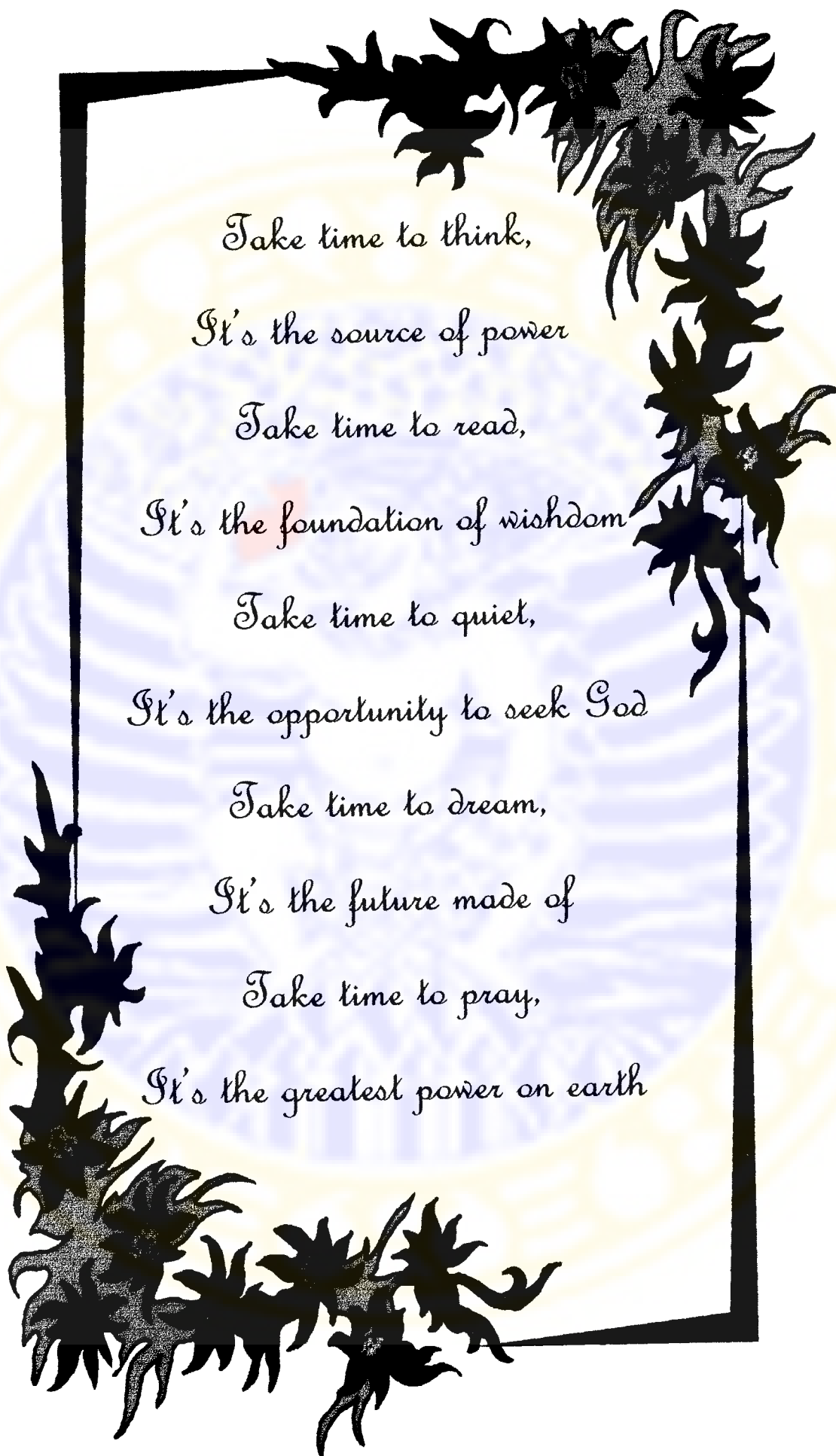
Pembimbing Serta



Drs. Robby Sondakh, MS.
NIP. 130877634



*Allah-Sah yang
meninggikan langit tanpa
tiang (sebagaimana) yang
kamu lihat, kemudian Dia
bersemayam di atas 'Arsy,
dan menundukkan matahari
dan bulan. Masing-masing
bersabda hingga waktu yang
ditentukan. Allah mengatur
urusan (makhluk-Nya),
menjelaskan tanda-tanda
(kebesaran-Nya), supaya
kamu meyakini pertemuan
dengan Tuhanmu.
3. Ar Ra'd: 2*



Take time to think,

It's the source of power

Take time to read,

It's the foundation of wisdom

Take time to quiet,

It's the opportunity to seek God

Take time to dream,

It's the future made of

Take time to pray,

It's the greatest power on earth

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim. Assalammu 'alaikum wa rahmatullah.

Segala puji syukur dipanjatkan hanya kepada Allah SWT atas rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"HUBUNGAN ANTARA KADAR SENYAWA AKTIF N-BENZOIL SEFRADIN DAN AKTIVITAS TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 29293"**.

Selama pengerjaan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan yang sangat berharga dari berbagai pihak. Atas bantuan yang telah diberikan, maka dalam kesempatan ini dengan setulus hati penulis ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Bambang Soekardjo, SU., Kepala Laboratorium Kimia Medisinal Jurusan Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Bapak Drs. Bambang Tri Purwanto, MS., Staf Pengajar Laboratorium Kimia Medisinal Jurusan Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Robby Sondakh, MS., Staf Pengajar Laboratorium Kimia Medisinal Jurusan Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, selaku Dosen Pembimbing Serta yang telah memberikan saran dan masukan bagi kesempurnaan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si. dan Bapak Drs. Marcellino Rudyanto, M.S., Ph.D., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang berguna bagi perbaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar Laboratorium Kimia Medisinal yang telah membantu memberikan saran dan pengarahan dalam melakukan penelitian ini, serta semua Dosen di Fakultas Farmasi yang telah memberikan bantuan selama penulis menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi.
6. Ibu Dra. Soemartina S., MARS, selaku Dosen Wali yang selalu memberikan saran dan pertimbangan.

7. Bapak Tukijo dan Bapak Tanto, para laboran di Lab. Kimia Medisinal atas bantuan tenaga selama penulis bekerja, serta para laboran di Lab. Mikrobiologi dan di Lab. Analisis Kimia.
8. Ibu dan Abah atas kasih sayang, doa, dorongan semangat, serta kesabaran dalam mendidik nanda selama ini.
9. Rinja, adikku yang menyenangkan tapi juga menyebalkan, atas cerita-cerita lucunya yang selalu menghiburku selama ini, dan pinjaman komputernya.
10. Teman-temanku : Poppy, Chopii, Dwi, Pipit, Ita yang selama ini saling berbagi cerita, pengalaman, dan keluh kesah.
11. Partnerku Ira, Nining, dan Prita yang selama ini saling membantu dalam kerja skripsi.
12. Semua teman-teman skripsi di Lab. Medisinal, Lab. Kimia Sintesis, dan Lab. Bioteknologi.
13. Teman-teman Lyn P : Etik, Dian, Dhe-dew, Whida atas cerita-cerita lucunya, dan saran-sarannya, semoga kita bisa pulang bareng seperti dulu lagi.
14. Semua teman-teman anak wali Bu Ina.
15. Semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini.

Tiada kesempurnaan kecuali Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Wassalammu 'alaikum wa rahmatullah.

Surabaya, September 2005

Penulis

RINGKASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC.

Penelitian ini dilakukan dengan membuat larutan uji *N*-Benzoil sefradin pada berbagai suhu yaitu suhu kamar, 50° C, 60° C, 70° C, dan 80° C.

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menentukan kadar senyawa *N*-Benzoil sefradin dengan metode iodometri.

Pada penentuan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin secara iodometri terjadi proses hidrolisis senyawa dalam suasana alkalis, sehingga iodium yang ditambahkan dapat berinteraksi dengan produk hasil hidrolisis. Perbedaan penggunaan iodium sebelum dan sesudah hidrolisis sebanding dengan jumlah *N*-Benzoil sefradin yang masih aktif.

Tahap kedua adalah melakukan uji aktivitas antibakteri senyawa *N*-Benzoil sefradin dengan metode difusi silinder. Sebagai media pertumbuhan digunakan media Antibiotika-1.

Hasil penelitian dan analisis data menggunakan uji regresi pada $\alpha = 0,05$ menunjukkan adanya hubungan linier yang bermakna antara kadar *N*-Benzoil sefradin secara iodometri (variabel x) dengan diameter daerah hambatan (variabel y). Hubungan ini dinyatakan dengan persamaan garis $y = 0,387 x - 4,085$ ($n = 5$; $r = 0,887$; $F = 11,112$).

ABSTRACT

A research with the objective to explain relation between the concentration of active compound *N*-Benzoyl cephradine (with heat treatment) by iodometric method and inhibition area diameter to *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 has been done.

Determination the concentration of active compound was done chemically and antibacterial activity was done microbiologically to determine the existence of linear relation among both. Determination the concentration of active compound was done by iodometric method. While determination microbiologically was done by cylinder diffusion method using Antibiotika-1 media.

Result of data analysis and research use regression test at $\alpha = 0.05$ showing the existence of significant linear relation between the concentration of active compound *N*-Benzoyl cephradine by iodometric method (variable x) and inhibition area diameter to *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 (variable y). This relation is expressed with the equation $Y = 0.387 X - 4.085$ ($n = 5$; $r = 0.887$; $F = 11.112$).

Keyword :

N-Benzoyl cephradine
Iodometric method
Antibacterial activity

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RINGKASAN.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tentang Sefradin.....	5
2.1.1 Sifat Fisika Kimia Sefradin.....	5
2.1.2 Stabilitas Sefradin.....	7
2.1.3 Mekanisme Kerja Sefradin.....	7
2.1.4 Tinjauan Tentang <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	10
2.2 Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.2.1 Morfologi dan Identifikasi.....	10
2.2.2 Biakan dan Sifat-Sifat Pertumbuhan.....	11
2.2.3 Resistensi.....	11
2.3 Penetapan Kadar Turunan Sefalosporin.....	11
2.4 Penentuan Aktivitas Mikrobiologis.....	13
2.4.1 Metode Dilusi.....	13
2.4.2 Metode Difusi.....	13

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	16
BAB IV METODE PENELITIAN.....	18
4.1 Bahan-Bahan.....	18
4.1.1 Bahan-bahan Untuk Penetapan Kadar Secara Iodometri.....	18
4.1.2 Bahan-bahan Untuk Penentuan Aktivitas Secara Mikrobiologis.....	18
4.2 Alat-Alat.....	18
4.3 Definisi Operasional.....	19
4.4 Cara Pelaksanaan.....	19
4.4.1 Pemeriksaan Kualitatif <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	19
4.3.1.1 Pemeriksaan organoleptis.....	19
4.3.1.2 Pemeriksaan Jarak Lebur.....	19
4.4.2 Pembuatan Larutan Uji <i>N</i> -Benzoil sefradin Untuk Penetapan Kadar Secara Iodometri Dan Mikrobiologis.....	20
4.4.3 Penetapan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin Secara Iodometri.....	20
4.4.3.1 Pembuatan Larutan Baku Primer Kalium Iodat.....	20
4.4.3.2 Pembuatan Larutan Natrium Tiosulfat 0,01 N	20
4.4.3.3 Pembuatan Larutan Asam Sulfat 2 N.....	20
4.4.3.4 Pembuatan Indikator Larutan Amilum.....	20
4.4.3.5 Pembakuan Larutan Natrium Tiosulfat Dengan Larutan Primer Kalium Iodat.....	21
4.4.3.6 Pembuatan Larutan Iodium 0,01 N.....	21
4.4.3.7 Pembakuan Larutan Iodium Dengan Larutan Natrium Tiosulfat.....	21
4.4.3.8 Pembuatan Larutan NaOH 1 N.....	21
4.4.3.9 Pembuatan Larutan Asam Klorida 1 N.....	21
4.4.3.10 Pembuatan Larutan Dapar Kalium Hidrogen	

Ftalat.....	22
4.4.3.11 Penetapan Volume Natrium Tiosulfat dari Senyawa <i>N</i> -Benzoil sefradin yang Tidak Didegradasi.....	22
4.4.3.12 Penetapan Volume Natrium Tiosulfat dari Senyawa <i>N</i> -Benzoil sefradin yang Didegradasi.....	22
4.4.3.13 Rumus Perhitungan Kadar Senyawa Aktif.....	24
4.4.3.14 Replikasi.....	24
4.4.4 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.4.4.1 Pewarnaan Kuman.....	24
4.4.4.2 Tes Koagulase.....	25
4.4.4.3 Tes pada Agar Garam Manitol.....	25
4.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	25
4.4.5.1 Pembuatan Media Antibiotika-1.....	25
4.4.5.2 Penyiapan Bakteri Uji.....	25
4.4.5.3 Penentuan Aktivitas Antibakteri.....	26
4.4.5.4 Replikasi.....	26
4.4.6 Analisa Data.....	28
BAB V HASIL PENELITIAN.....	30
5.1 Hasil Penetapan Kadar Senyawa Aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin Secara Iodometri.....	30
5.2 Hasil Penentuan Diameter Daerah Hambatan Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	33
5.3 Hubungan Antara Kadar Rata-rata Senyawa Aktif <i>N</i> -Benzoil Sefradin yang Ditetapkan secara Iodometri dengan Diameter Daerah Hambatan Terhadap <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 29293.....	34
BAB VI PEMBAHASAN.....	36
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
7.1 Kesimpulan.....	41
7.2 Saran.....	41

DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN 1.....	46
LAMPIRAN 2.....	47
LAMPIRAN 3.....	48
LAMPIRAN 4.....	49
LAMPIRAN 5.....	50
LAMPIRAN 6.....	51
LAMPIRAN 7.....	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II.1 Stabilitas sefradin dalam dapar fosfat pada suhu kamar.....	7
Tabel II.2 Perbedaan struktur polimer dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif.....	8
Tabel V.1 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin pada suhu kamar (31° C) selama 3 jam.....	30
Tabel V.2 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin pada pemanasan Suhu 50° C selama 3 jam.....	31
Tabel V.3 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 60° C selama 3 jam.....	31
Tabel V.4 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 70° C selama 3 jam.....	32
Tabel V.5 Hasil penetapan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 80° C selama 3 jam.....	32
Tabel V.6 Diameter daerah hambatan larutan uji <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam berbagai suhu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	34
Tabel V.7 Hubungan antara kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur molekul sefradin.....	6
Gambar 2.2 Struktur molekul <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	10
Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian.....	17
Gambar 4.1 Skema penentuan kadar senyawa aktif secara iodometri.....	23
Gambar 4.2 Skema uji aktivitas antibakteri dari larutan uji.....	27
Gambar 5.1 Kurva hubungan antara suhu dengan kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	33
Gambar 5.2 Kurva persamaan garis regresi antara kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Contoh perhitungan kadar senyawa <i>N</i> -Benzoil sefradin secara iodometri.....	46
Lampiran 2 Perhitungan uji regresi dan uji F antara kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin dengan aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	47
Lampiran 3 Tabel harga <i>r</i>	48
Lampiran 4 Tabel harga <i>F</i> pada derajat kepercayaan 95 %.....	49
Lampiran 5 Contoh gambar diameter daerah hambatan <i>N</i> -Benzoil sefradin pada suhu 80° C terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	50
Lampiran 6 Surat keterangan hasil pemeriksaan <i>N</i> -Benzoil sefradin.....	51
Lampiran 7 Sertifikat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29293.....	52

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan penyakit utama yang pada umumnya sering terjadi pada penduduk negara berkembang, termasuk Indonesia. Hal ini kerap kali menimbulkan berbagai masalah. Hingga saat ini, antibiotika merupakan kelompok obat yang sering digunakan untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh mikroorganisme.

Penemuan penisilin secara kebetulan oleh Sir Alexander Fleming pada tahun 1929, merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senyawa dengan daya anti-infeksi yang menakjubkan, yang sekarang dikenal sebagai antibiotika. Florey dan Chain dengan kerabat kerjanya pada tahun 1940, di Oxford, mencoba menggunakan senyawa antibiotika yang ditemukan oleh Fleming dalam pengobatan dan sejak saat itulah antibiotika penting dalam dunia kedokteran. (Martin, 1982)

Antibiotika yang mengandung cincin β -laktam dalam strukturnya, merupakan golongan dominan zat yang sekarang digunakan untuk kemoterapi terhadap infeksi bakteri. Antibiotika yang pertama kali digunakan dalam terapi adalah penisilin. (Martin, 1982). Namun dalam penggunaan penisilin ini, telah banyak bakteri yang resisten.

Turunan sefalosporin adalah senyawa bakterisid dengan indeks terapi tinggi, efektif untuk pengobatan infeksi *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* yang telah tahan terhadap penisilin, *E. coli* dan *P. mirabilis*. (Siswandono, 1995). Selain itu hingga saat ini sefalosporin merupakan obat alternatif untuk penisilin bagi yang tidak tahan penisilin. (Ganiswara, 1995)

Turunan sefalosporin didapatkan dari hasil isolasi ekstrak jamur *Cephalosporium acremonium* yang dilakukan oleh Brotzu pada tahun 1948, dari jamur ini dapat diisolasi tiga antibiotika yaitu sefalosporin P, N, dan C. (Hardman, 2001). Dari senyawa sefalosporin C kemudian dilakukan modifikasi molekul untuk mendapatkan turunan sefalosporin yang digunakan sekarang ini. Banyak senyawa semisintetik turunan sefalosporin yang didapat sebagai hasil reaksi antara

asam 7-aminosefalosporinat (7-ACA), suatu produk hidrolisis sefalosporin C, dengan gugus atau senyawa yang sesuai. (Siswandono, 1995)

Sefalosporin merupakan antibiotika β -laktam yang secara struktur dan farmakologi berhubungan dengan penisilin. Pada sefalosporin, cincin β -laktam dihubungkan dengan cincin dihidrotiazin. Cincin inilah yang membedakan antara sefalosporin dengan penisilin. Pada penisilin, cincin β -laktam dihubungkan dengan cincin tiazolidin. Dengan cara pemutusan bagian asam D- α -aminoadipat dari sefalosporin C, akan terjadi asam 7-aminosefalosporinat (7-ACA). Senyawa yang mengandung 7-ACA relatif stabil terhadap asam dan sangat resisten terhadap penisilinase. (Hardman, 2001)

Turunan sefalosporin dibagi menjadi empat generasi berdasarkan spektrum aktivitasnya. Sefradin merupakan turunan sefalosporin generasi pertama. Turunan ini tahan terhadap β -laktamase luar sel yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* tetapi tidak tahan bila dihasilkan oleh bakteri Gram negatif. Sehingga aktivitas antibakteri turunan ini lebih sempit dibandingkan turunan sefalosporin generasi berikutnya.

Sefradin memiliki kemiripan secara struktur kimia dan spektrum antibakteri dengan sefalekssin, yaitu aktif terhadap bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, dan *Pneumococcus sp.* Senyawa ini tahan terhadap asam lambung karena mengandung gugus α -amino. Pada pemberian secara per oral, sefradin cepat diserap oleh saluran cerna ($\pm 95\%$) sehingga kadar puncak dalam plasma tercapai setelah 1 jam. (Kalman, 1990; Siswandono, 1995)

Dari beberapa kelebihan di atas, telah dilakukan usaha pengembangan struktur sefradin dengan disintesis senyawa baru turunan sefradin di Laboratorium Kimia Medisinal, yaitu N-Benzoil sefradin. Senyawa ini diharapkan memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik. Senyawa N-Benzoil sefradin bersifat lebih asam dibandingkan dengan senyawa induknya yaitu sefradin, karena adanya gugus benzoil pada gugus amina primer rantai samping. Selain bersifat lebih asam, dengan substitusi benzoil pada gugus amina primer sefradin, akan meningkatkan lipofilitas senyawa, yaitu semakin panjang rantai atom C semakin lipofil, sehingga lebih mudah menembus membran sel bakteri.

Cincin β -laktam merupakan kunci aktivitas biologis bagi antibiotika β -laktam. (Martin, 1982). Selama proses pembuatan, penyimpanan, dan transportasi memungkinkan terjadinya pembukaan cincin β -laktam sehingga perlu dilakukan penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin. Senyawa β -laktam dikatakan aktif apabila memberikan aktivitas antibakteri dimana cincin β -laktam masih utuh. Selain itu senyawa *N*-Benzoil sefradin merupakan senyawa baru yang belum pernah ditentukan kadar dan aktivitasnya, sehingga penetapan kadar dan aktivitas antibakteri perlu dilakukan untuk senyawa ini. Penetapan kadar turunan sefalosporin secara kimia dikembangkan dari metode-metode yang digunakan untuk penetapan kadar dari penisilin yang didasarkan pada adanya cincin β -laktam dalam molekul. Penetapan kadar turunan sefalosporin secara kimia dapat dilakukan antara lain dengan metode iodometri, spektrofotometri UV, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dan kolorimetri. (Yamana, 1976)

Senyawa *N*-Benzoil sefradin merupakan senyawa baru yang belum mempunyai senyawa pembanding, sehingga metode spektrofotometri UV dan kromatografi cair kinerja tinggi kurang sesuai untuk penetapan kadar *N*-Benzoil sefradin karena kedua metode ini memerlukan senyawa pembanding. Metode terpilih yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode iodometri. Metode iodometri merupakan metode yang sesuai untuk penetapan kadar sebagian besar senyawa antibiotika yang mengandung cincin β -laktam seperti sefradin. (Anonim, 1995^a). Selain itu juga metode iodometri mempunyai keuntungan yaitu tidak diperlukannya pembanding. (Connors, 1969).

Aktivitas (potensi) antibiotika dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambatnya terhadap mikroba. Suatu penurunan aktivitas anti mikroba juga akan dapat menunjukkan perubahan kecil yang tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas. (Anonim, 1995^a)

Ada dua metode umum yang dapat digunakan, yaitu metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi ada beberapa cara yaitu dengan menggunakan cakram kertas, silinder atau cekungan sebagai pecadang antibiotika. (Wattimena, 1991). Metode yang dipilih adalah metode difusi, dimana metode ini berdasarkan difusi

antibiotika dari silinder yang dipasang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri atau lempeng, sehingga mikroba yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau zona di sekeliling silinder yang berisi larutan antibiotika. Metode ini mempunyai beberapa keuntungan, di antaranya adalah lebih praktis, mudah dilaksanakan, ekonomis dibandingkan metode dilusi dan cukup teliti.

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang tergolong bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang peka terhadap antibiotika golongan β -laktam termasuk sefradin. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa *N*-Benzoil sefradin maka dilakukan uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

Apakah ada hubungan linier antara kadar *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan linier antara kadar *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.

1.4 Hipotesis Penelitian

Ada hubungan linier antara kadar *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan sumbangan informasi untuk penelitian mengenai perkembangan turunan antibiotika sefradin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Sefradin

Sefradin merupakan antibiotika turunan sefalosporin generasi pertama yang berdasarkan pada spektrum aktivitasnya. Seperti turunan sefalosporin generasi pertama yang lainnya, sefradin aktif secara *in vitro* melawan bakteri kokki Gram positif aerob tetapi kurang aktif melawan bakteri Gram negatif. (McEvoy, 2002). Keunggulan sefradin dari penisilin ialah aktivitasnya terhadap bakteri penghasil penisilinase. (Ganiswara, 1995)

Secara struktur, khasiat dan penggunaannya, sefradin mempunyai banyak kemiripan dengan sefaleksin. (Tjay, 1991). Sefradin digunakan untuk pengobatan infeksi saluran kemih karena *E. Coli*, *Klebsiella*, dan *Proteus* indol negatif, infeksi saluran pernapasan bagian atas dan bawah baik akut maupun kronis karena *Streptococcus pneumoniae*, *H. influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*, kulit dan jaringan lunak yang ringan sampai sedang (Brumfitt, 1990; Kalman, 1990; Martin, 1982; Morin, 1982; Reynolds, 1982; Tjay, 1991). Sefradin mempunyai kinerja farmakokinetik serta keamanan yang baik, sehingga menjadikannya sebagai obat pilihan. (Morin, 1982). Selain itu sefradin sering digunakan sebagai obat pilihan bila terdapat alergi terhadap penisilin. (Kalman, 1990; Ganiswara, 1995; Tjay, 1991)

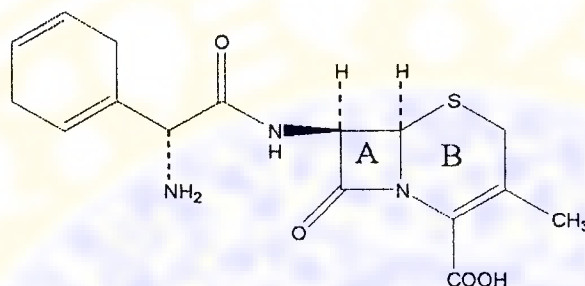
Sefradin dapat diberikan secara per oral, IM atau IV. Karena absorpsi melalui saluran cerna sangat cepat dan lengkap, maka kadar plasma yang dapat dicapai mendekati pemberian IM yaitu sekitar 10 – 18 µg/ml sesudah pemberian 0,5 g per oral atau secara IM. (Ganiswara, 1995; Hardman, 2001). Selain itu sefradin stabil terhadap asam lambung. (Florey, 1975; Yamana, 1976; Hardman, 2001). Absorpsi sefradin dihambat dengan adanya makanan. (Reynolds, 1982)

2.1.1 Sifat Fisika Kimia Sefradin

Sefradin merupakan antibiotika semisintetik turunan sefalosporin. (McEvoy, 2002). Nama kimia sefradin adalah :

Asam (7R)-7-(α -D-sikloheksa-1,4-dienilglisilamino)-3-metil-3-sefem-4-karboksilat. (Reynolds, 1982)

Rumus molekul : $C_{16}H_{19}N_3O_4S$



Gambar 2.1 Struktur molekul sefradin

Keterangan :

A = cincin β -laktam

B = cincin dihidrothiazin

Massa relatif sefradin :

- Bentuk anhidrat : 349,41
- Bentuk monohidrat : 367,43
- Bentuk dihidrat : 385,45

Sefradin anhidrat

- Berat Molekul : 349,41
- Pemerian : serbuk kristal berwarna putih sampai krem, berbau khas. Larutan 1 % dalam air mempunyai pH 3,5-6.
- Kelarutan : 1 g dalam 50 ml air pada pH 6; 1 g dalam 70 ml metanol; sedikit larut dalam pH asam atau netral; larut bebas dalam propilen glikol; sukar larut dalam aseton; praktis tidak larut dalam alkohol, kloroform, dan eter.
- Penyimpanan : disimpan pada suhu tidak lebih dari 30° C, terlindung dari cahaya (Reynolds, 1982), dalam wadah tertutup rapat (McEvoy, 2002).

2.1.2 Stabilitas Sefradin

Sefradin bentuk padatan mudah mengalami oksidasi sehingga cincin sikloheksadiena berubah menjadi cincin benzena. Mekanisme yang jelas belum diketahui. Oksidasi menjadi sefaleksin dapat dicegah atau diminimalkan dengan penyimpanan pada suhu yang rendah. Dehidrasi sebagian atau seluruhnya pada sefradin dihidrat dipengaruhi oleh berbagai kondisi dan pengeringan pada suhu tinggi.

Sefradin agak sensitif terhadap cahaya, ketika terpapar oleh cahaya ultraviolet, serbuk sefradin berubah warna menjadi kuning tetapi tidak menurunkan bioaktivitasnya.

Dalam larutan, sefradin cukup stabil pada pH 4 dan di bawahnya, dan stabilitasnya akan menurun seiring dengan peningkatan pH. Pada tabel berikut terdapat stabilitas sefradin dalam dapar fosfat pada suhu kamar.

Tabel II.1

Stabilitas sefradin dalam dapar fosfat pada suhu kamar.

pH larutan	Persen bioaktivitas				
	2 hari	4 hari	7 hari	10 hari	14 hari
4,0	95,9	105,1	99,3	99,3	95,2
6,0	73,0	86,9	69,5	30,2	18,5
8,0	67,1	43,1	24,5	13,4	10,9
10,0	64,0	41,1	25,2	13,3	11,7

Cincin β -laktam sefradin cukup tahan terhadap penisilinase, tetapi segera terbuka dengan adanya sefalosporinase. (Florey, 1975)

2.1.3 Mekanisme Kerja Sefradin

Sefradin mempunyai aktivitas bakterisid dengan mekanisme kerja menghambat D-alanin-transpeptidase, yang mengakibatkan pita glikan dari dinding sel yang baru disintesis tidak dapat menyatu dan dengan demikian dinding sel tak mendapatkan stabilitas yang diperlukan. (Mutschler, 1991)

Dinding sel bakteri adalah struktur yang kompleks dan berfungsi terutama sebagai selubung untuk melindungi protoplasma dan memberikan bentuk karakteristik bakteri. Komposisi struktur polimer dinding sel bakteri Gram positif berbeda dengan bakteri Gram negatif. Perbedaan struktur polimer dinding sel bakteri dapat dilihat pada tabel. (Siswandono, 1995)

Tabel II.2

Perbedaan struktur polimer dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Polimer	Gram positif	Gram negatif
Peptidoglikan	50-100 lapis	1-2 lapis
Asam teikoat	+	-
Asam teikuronat	+	-
Lipopolisakarida	-	+
Lipoprotein	-	+
Fosfolipid	-	+
Protein	+/-	+
Polisakarida	+/-	-

Peptidoglikan merupakan makromolekul penting untuk kehidupan bakteri, yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Peptidoglikan mempunyai peran penting dalam memelihara keutuhan dinding dan bentuk sel karena mempunyai kisi-kisi struktur melintang dan berhubungan sangat erat. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung 50-100 lapis peptidoglikan, sedang Gram negatif hanya terdiri dari 1-2 lapis. Penghambatan biosintesis peptidoglikan menyebabkan hilangnya kekuatan dan kekakuan dinding sel sehingga sel mengalami kematian. (Siswandono, 1995)

Kekuatan dan kekakuan peptidoglikan disebabkan oleh rangka dasar struktur, ditulangpungungi oleh rantai oligosakarida yang dihubungkan bersama-sama melalui rantai cabang peptida pendek. Rantai glikan mengandung residu yang dapat dipergantikan yaitu *N*-asetilglukosamin dan asam *N*-asetilmuramat. Residu muramil diganti dengan rantai peptida yang mengandung residu pengganti,

yaitu L dan D asam-asam amino. Rangkaian asam amino dari salah satu peptida adalah L-alanin-D-asam glutamat-L-alanin-D-alanin. (Siswandono,1995)

Kemiripan antara bagian struktur sefalosporin dengan bagian tertentu dari asam *N*-asetil-muramat, D-alanil-D-alanin dan L-alanil-D-asam glutamat, sering digunakan untuk menjelaskan mekanisme kerja antibiotika β -laktam. Tahap akhir sintesis dinding sel bakteri adalah reaksi hubungan melintang antar unit-unit peptidoglikan nasen dengan katalisator enzim transpeptidase. Karena turunan sefalosporin mempunyai bagian struktur yang mirip dengan gugus ujung D-alanil-D-alanin dari bagian pentapeptida unit peptidoglikan nasen, maka turunan tersebut dapat menghambat kerja enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim melalui ikatan kovalen, sehingga mencegah pembentukan dinding sel bakteri. (Siswandono, 1995)

Protein enzim pada sintesis peptidoglikan, yang aktivitas enzimnya hilang karena terikat pada antibiotika β -laktam, disebut protein pengikat penisilin (*Penicillin Binding Protein*, PBP). (Kalman, 1990). Paling sedikit 7 protein semacam ini ada pada bagian dalam membran bakteri. PBP 1 yang mempunyai bagian A dan B, berperan untuk perpanjangan sel bakteri. Antibiotika β -laktam yang terikat pada PBP 1B akan menyebabkan lisis mikroba dengan cepat. Sedangkan senyawa yang terutama terikat pada PBP 2 akan menyebabkan terbentuknya bentuk sel bundar yang stabil. Pada pembentukan ikatan antibiotika β -laktam pada PBP 3 akan terbentuk sel berbentuk filamen. Ikatan senyawa sefradin terutama terjadi pada PBP 3. (Mutschler, 1991)

Berbeda-bedanya tempat kerja menunjukkan bahwa pada penggunaan kombinasi 2 antibiotika β -laktam mungkin terjadi kerja sinergis, jika antibiotika menghambat reaksi transpeptidase pada berbagai tempat yaitu dengan berikatan dengan berbagai protein pengikat penisilin. (Mutschler, 1991)

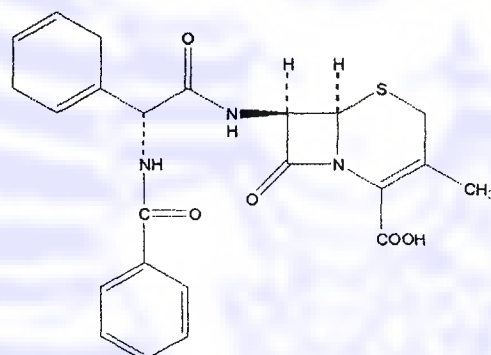
Dinding sel bakteri Gram positif berbeda dengan Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun lebih banyak atas peptidoglikan (50-100 lapis), sedangkan bakteri Gram negatif terdiri atas 1-2 lapis. Hal ini dapat menjelaskan mengapa banyak turunan β -laktam yang tidak sensitif terhadap bakteri Gram negatif.

Untuk menunjukkan kerja pada bakteri Gram negatif, seperti *E. coli* atau *P. aeruginosa*, antibiotika β -laktam pertama-tama harus menembus membran terluar selubung bakteri secara difusi pasif melalui saluran yang terbentuk oleh protein. Sesudah menembus membran terluar, antibiotika β -laktam masuk melalui dinding sel, melewati ruang periplasma dan mencapai sasaran, yaitu enzim serin protease yang terdapat pada membran terdalam (sitoplasma). Enzim inilah yang bertanggung jawab terhadap biosintesis dinding sel. Pengaruh pada biosintesis dinding sel merupakan kerja bakterisid utama dari antibiotika β -laktam. (Siswandono, 1995)

2.1.4 Tinjauan Tentang *N*-Benzoil Sefradin

Senyawa ini adalah turunan sefradin yang dibuat melalui reaksi asilasi antara gugus amino *N*-sefradin dengan benzoil klorida.

BM = 453,51



Gambar 2.2 Struktur molekul *N*-Benzoil sefradin

2.2 Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Morfologi dan Identifikasi

Stafilokokus adalah sel-sel berbentuk bola dengan diameter sekitar 1 μm dan tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan seperti anggur. Pada biakan cair tampak juga kokus tunggal, berpasangan, berbentuk tetrad, dan berbentuk rantai. Stafilokokus tidak bergerak, tidak membentuk spora, menghasilkan katalase, bersifat fakultatif anaerob dan biasanya *unencapsulated*. (Brooks, 1991; Gillespie, 1994)

2.2.2 Biakan dan Sifat-sifat Pertumbuhan

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteri dalam keadaan aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37° C dengan pH optimum 7,5, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25° C).

Pada media padat, koloni yang terbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna kuning emas. Stafilokokus memfermentasi karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghasilkan gas. (Brooks, 1991)

2.2.3 Resistensi

Staphylococcus aureus relatif resisten terhadap pengeringan, panas (bakteri ini tahan terhadap suhu 50° C selama 30 menit), dan terhadap natrium klorida 9% tetapi mudah dihambat oleh zat-zat kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3%.

Resistensi bakteri ini terhadap antibiotika β -laktam terjadi karena membentuk β -laktamase. (Brooks, 1991)

2.3 Penetapan Kadar Turunan Sefalosporin

Penetapan kadar turunan sefalosporin, dalam hal ini adalah sefradin, dapat dilakukan dengan metode HPLC, spektrofotometri ultraviolet, iodometri, dan asam hidroksamat. (Yamana, 1976)

Metode yang terpilih adalah iodometri karena metode ini sesuai untuk penetapan kadar sebagian besar senyawa antibiotika yang mengandung cincin β -laktam. (Anonim, 1995^a)

Prinsip dari metode iodometri adalah menentukan kadar antibiotika turunan penisilin dengan memasukkan gugus iodium setelah hidrolisis dalam suasana alkalis. Dasar metode ini adalah bahwa iodium tidak berinteraksi dengan bentuk utuh antibiotika turunan penisilin, tetapi berinteraksi dengan produk hasil hidrolisis. Perbedaan penggunaan iodium sebelum dan sesudah hidrolisis sebanding dengan jumlah antibiotika turunan penisilin yang masih aktif. (Connors, 1969)

Karena sefradin mempunyai struktur molekul yang hampir sama dengan turunan penisilin yaitu mempunyai cincin β -laktam, maka sefradin dapat juga ditentukan kadarnya dengan cara iodometri seperti di atas.

Pada metode ini senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dihidrolisis dalam suasana basa dengan penambahan natrium hidroksida dan didiamkan selama 20 menit. Kemudian diasamkan dengan dapar ftalat pH 4,5, ditambah iodium dan dibiarkan selama 20 menit. Kelebihan iodium dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat standar. Untuk mengetahui *N*-Benzoil sefradin yang telah terurai sebelum dihidrolisis, maka larutan uji *N*-Benzoil sefradin langsung ditambah dengan iodium, kelebihan iodium dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat standar. Hasil pengurangan volume larutan natrium tiosulfat sebelum dan setelah hidrolisis menunjukkan volume iodium yang setara dengan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin. Sebagai indikator digunakan larutan amilum dan ditambah mendekati titik akhir titrasi. Titik akhir titrasi ditandai dengan warna biru larutan tepat hilang. (Connors, 1982; Anonim, 1995^b)

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

- 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. (Kolthoff, 1952)

- Pengaruh penguapan iodium

Iodium dalam larutan mudah menguap dengan naiknya temperatur. Penguapan iodium dapat diabaikan jika titrasi dilakukan pada temperatur kamar dan dengan penambahan kalium iodida sebanyak 4%, disimpan dalam wadah tertutup rapat yang mampu mengurangi pengaruh cahaya. (Kolthoff, 1952)

2.4 Penentuan Aktivitas Mikrobiologis

Aktivitas (potensi) antibiotika dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan daya hambatnya terhadap mikroba. Suatu penurunan aktivitas antimikroba juga akan dapat menunjukkan perubahan kecil yang tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas. (Anonim, 1995^a)

Berbagai metode penentuan aktivitas mikrobiologi sebagai berikut :

2.4.1 Metode Dilusi

Prinsip dari metode ini adalah suatu seri pengenceran larutan antibiotika dalam media pertumbuhan bakteri dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah. Isolat bakteri ditanam dalam media, dikontrol dengan tepat, dan diinkubasi. Setelah inkubasi akan terlihat hambatan pertumbuhan. Metode dilusi ini dapat menentukan konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bakterisidal minimum. (Edberg, 1980; Lim, 1998). Berdasarkan media yang digunakan, metode dilusi dapat dibedakan menjadi :

- Metode dilusi cair

Suatu seri tabung berisi media cair yang mengandung antibiotika dengan konsentrasi yang berbeda. Isolat bakteri diinokulasi ke dalam setiap tabung tes, dikontrol dengan tepat dan diinkubasi. Setelah inkubasi, konsentrasi antibiotika paling kecil yang memperlihatkan hambatan pertumbuhan yang ditandai dengan kekeruhan disebut konsentrasi hambat minimum. (Edberg, 1980; Lim, 1998; Gennaro, 1995)

- Metode dilusi padat

Suatu seri lempeng agar padat yang mengandung antibiotika dengan konsentrasi yang berbeda. Isolat bakteri ditanam dalam lempeng agar. Setelah inkubasi akan terlihat konsentrasi hambat minimum. (Edberg, 1980)

2.4.2 Metode difusi

Metode ini didasarkan pada difusi antibiotika dari pencadangan ke dalam media yang ditanami bakteri uji. Setelah inkubasi akan tampak daerah jernih di

sekeliling pencadang dan daerah keruh mengelilingi daerah jernih tersebut. Daerah jernih menunjukkan daerah dimana terjadi hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter daerah jernih di sekeliling pencadang yang dikenal dengan diameter daerah hambatan ini sebanding dengan konsentrasi antibiotika dalam pencadang. (Black, 1999)

Beberapa faktor yang mempengaruhi diameter daerah hambatan adalah (Brooks, 1991) :

- Komposisi dan pH kandungan media
- Ketebalan media dalam lempeng
- Temperatur dan waktu inkubasi
- Ukuran inokulum
- Laju difusi antibiotika melawan laju pertumbuhan kuman

Berdasarkan pencadang yang digunakan, metode difusi dapat dibedakan menjadi :

- Metode difusi cakram
Metode ini menggunakan kertas sebagai pencadang yang telah dijenuhkan dengan antibiotika. Kemudian kertas ini diletakkan pada permukaan agar. (Black, 1999; Edberg, 1980)
- Metode difusi silinder
Metode ini menggunakan pencadang silinder logam atau gelas yang berisi larutan antibiotika dengan kadar tertentu. Jumlah larutan antibiotika dapat diatur sehingga menjamin tersedianya antibiotika dalam pencadang selama waktu inkubasi. (Brooks, 1991; Gennaro, 1995)
- Metode difusi cetak lubang
Metode ini menggunakan pencadang lubang pada media dengan diameter 4-6 mm. Lubang yang terbentuk diisi dengan larutan antibiotika dengan kadar tertentu. (Brooks, 1991)

Sebagai metode terpilih untuk menentukan aktivitas mikrobiologis *N*-Benzoil sefradin adalah metode difusi silinder. Metode ini mempunyai beberapa

keuntungan yaitu lebih praktis, mudah dilaksanakan, ekonomis dibandingkan metode dilusi dan cukup teliti.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

Golongan antibiotika yang sering digunakan adalah antibiotika turunan β -laktam, yaitu penisilin dan sefalosporin. Turunan sefalosporin merupakan obat alternatif untuk penisilin bagi yang tidak tahan penisilin. Sefradin merupakan senyawa semi sintetik dari generasi pertama sefalosporin. Sefradin dapat diberikan secara per oral karena mengandung gugus α -amino yang menyebabkan senyawa stabil terhadap asam lambung.

Selama proses pembuatan sediaan hingga pengadaan obat sampai ke tangan konsumen memerlukan waktu yang lama. Dalam penyimpanan tersebut, sefradin dapat mengalami peruraian yaitu pemutusan cincin β -laktam yang menyebabkan terjadinya penurunan kadar senyawa aktif sehingga pemberian dosis menjadi tidak tepat, selanjutnya akan terjadi penurunan efek terapi atau efek terapi yang diinginkan tidak tercapai.

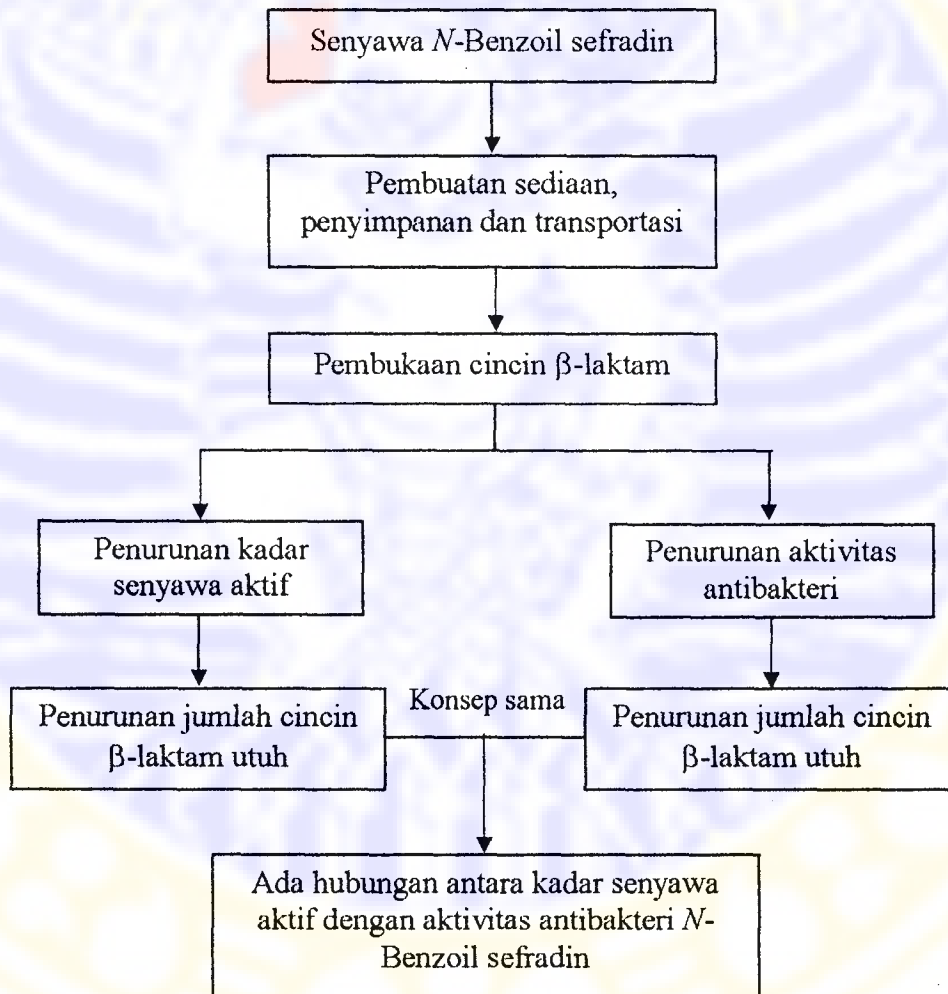
Untuk mendapatkan senyawa turunan baru sefradin yang memiliki stabilitas dan aktivitas lebih baik, dilakukan sintesis senyawa turunan sefradin. Salah satu senyawa hasil sintesis yang dilakukan oleh Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga adalah senyawa *N*-Benzoil sefradin. Sintesis dilakukan dengan penambahan gugus benzoil pada gugus *N*-amino dari sefradin.

Sebagai senyawa turunan sefradin, *N*-Benzoil sefradin ini juga dapat mengalami keadaan yang sama seperti senyawa induknya yaitu terjadi degradasi karena mengalami proses pembuatan sediaan, penyimpanan maupun transportasi.

Apabila cincin β -laktam terbuka, maka terjadi penurunan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin sehingga pemberian dosis menjadi tidak tepat. Sebagai turunan sefradin, aktivitas *N*-Benzoil sefradin ditentukan oleh bentuk struktur inti β -laktam karena hanya dalam bentuk utuh cincin β -laktam akan menghasilkan aktivitas sebagai antibakteri. Jika cincin ini terbuka maka aktivitasnya akan hilang. Penurunan jumlah cincin β -laktam utuh akan menyebabkan penurunan efek terapi yaitu aktivitas antibakteri atau efek yang diinginkan tidak tercapai.

Ada persamaan konsep antara kadar senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri yaitu sama-sama berdasarkan jumlah cincin β -laktam utuh, dimana makin banyak cincin β -laktam yang utuh maka makin besar kadar senyawa aktif dan aktivitas antibakteri *N*-Benzoil sefradin. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada hubungan yang linier antara kadar senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri.

Hubungan antara kadar senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri, dapat dihubungkan dalam suatu kurva aktivitas yang menunjukkan kesetaraan hubungan antara kadar senyawa aktif dengan aktivitas *N*-Benzoil sefradin. Kerangka konsep penelitian secara diagramatis dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 BAHAN-BAHAN

4.1.1 Bahan-bahan Untuk Penetapan Kadar Secara Iodometri

- 1) Amilum soluble p.a (Merck)
- 2) Asam sulfat p.a (Riedel-de-Haen)
- 3) Asam klorida p.a (Riedel-de-Haen)
- 4) *N*-Benzoil sefradin (diperoleh dari Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya)
- 5) Iodium p.a (Kimia Farma)
- 6) Kalium iodida p.a (Ferak)
- 7) Kalium iodat p.a (Riedel-de Haen)
- 8) Kalium hidrogen ftalat p.a (Merck)
- 9) Natrium hidroksida p.a (Merck)
- 10) Natrium tiosulfat p.a (Merck)
- 11) Metanol p.a (Merck)

4.1.2 Bahan –bahan Untuk Penentuan Aktivitas Secara Mikrobiologis

- 1) *N*-Benzoil sefradin (diperoleh dari Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya)
- 2) Natrium klorida isotonis (Otsuka)
- 3) Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 (Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo, Surabaya)
- 4) Media Antibiotika-1 (Oxoid)

4.2 ALAT-ALAT

- 1) Thermostatic Bath (Julabo EM)
- 2) Perangkat alat titrasi
- 3) Perangkat alat uji mikrobiologis
- 4) *Electrothermal Melting Point Apparatus*
- 5) Autoklaf (All American)

- 6) Inkubator (Mettler model no. 8540)
- 7) Jangka sorong (Chuan Brand)
- 8) pHmeter (Fischer accumet 230 A)
- 9) spectronic 20 (Bausch and Lomb)
- 10) Neraca analitik (Sartorius)
- 11) Neraca mikro (Direct Reading Micro Balance Shimadzu Type LM-20 No. 60008)
- 12) *Laminar Air Flow Cabinet* (Kottermann 8580)

4.3 DEFINISI OPERASIONAL

Yang dimaksud kadar senyawa aktif *N*-benzoil sefradin ialah kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri. Sedangkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 ialah aktivitas antibakteri *N*-Benzoil sefradin yang ditentukan secara difusi silinder yang digambarkan dengan diameter daerah hambatan.

4.4 CARA PELAKSANAAN

4.4.1 Pemeriksaan Kualitatif *N*-Benzoil sefradin

4.4.1.1 Pemeriksaan Organoleptis

Meliputi pemeriksaan warna, bentuk, dan bau.

4.4.1.2 Pemeriksaan Jarak Lebur

Dimasukkan kurang lebih 1 mg serbuk *N*-Benzoil sefradin ke dalam pipa kapiler gelas dengan diameter ± 1 mm dan tinggi ± 8 cm yang ditutup salah satu ujungnya. Sampel diusahakan mencapai ujung yang ditutup dengan cara diketuk-ketuk. Pipa kapiler tersebut selanjutnya diletakkan di tempat pada *melting point apparatus*. Kemudian diamati temperatur saat sampel mulai melebur sampai melebur seluruhnya.

4.4.2 Pembuatan Larutan Uji *N*-Benzoil sefradin Untuk Penetapan Kadar Secara Iodometri dan Mikrobiologi

- Ditimbang seksama 10,0 mg senyawa, larutkan dalam pelarut metanol-air (metanol : air = 2 : 3) sampai volume 10,0 ml (1000 mg/liter).
- Larutan uji dipanaskan pada suhu konstan 50° C selama 3 jam.
- Pemanasan dihentikan dan segera didinginkan.
- Lakukan pemanasan dengan cara yang sama pada larutan sampel pada suhu 60° C, 70° C, dan 80° C. Lakukan juga perlakuan pada suhu kamar (31° C).

4.4.3 Penetapan Kadar Senyawa Aktif *N*-Benzoil sefradin Secara Iodometri

4.4.3.1 Pembuatan Larutan Baku Primer Kalium Iodat

Ditimbang kurang lebih 178,4 mg Kalium Iodat P dan dilarutkan dalam air suling sampai volume 500,0 ml.

4.4.3.2 Pembuatan Larutan Natrium Tiosulfat 0,01 N (Anonim, 1979)

Ditimbang kurang lebih 2,482 g Natrium Tiosulfat dan dilarutkan dalam air suling sampai volume 1000,0 ml.

4.4.3.3 Pembuatan Larutan Asam Sulfat 2 N

Diencerkan 1 ml asam sulfat P dengan air suling sampai volume 10,0 ml.

4.4.3.4 Pembuatan Indikator Larutan Amilum (Anonim, 1979)

Ditimbang 0,05 g Amilum Soluble dan dilarutkan dalam 5 ml air suling. Ditambahkan air suling sambil terus diaduk hingga volume 10 ml. Dididihkan selama beberapa menit, didinginkan dan disaring.

4.4.3.5 Pembakuan Larutan Natrium Tiosulfat Dengan Larutan Baku Primer Kalium Iodat

Dipipet 5,0 ml larutan Kalium Iodat ditambah 2,5 ml Asam Sulfat 2 N dan 75 mg Kalium Iodida. Ditambahkan indikator amilum dan dititrasi dengan larutan baku Natrium Tiosulfat sampai biru tepat hilang. Penambahan indikator amilum dilakukan saat akan mencapai titik akhir titrasi.

4.4.3.6 Pembuatan Larutan Iodium 0,01 N (Anonim, 1979)

Kalium Iodida P ditimbang 1 g, dilarutkan dalam 30-40 ml air suling dalam labu takar bersumbat 500,0 ml. Ditambahkan 635 mg Iodium P lalu dimasukkan dalam labu takar bersumbat yang berisi larutan Kalium Iodida P. Ditambahkan air suling sampai volume 500,0 ml dan dikocok kuat agar Iodium benar-benar larut.

4.4.3.7 Pembakuan Larutan Iodium Dengan Larutan Natrium Tiosulfat

Dipipet 5,0 ml larutan Iodium dan dimasukkan dalam erlenmeyer bertutup. Dititrasi dengan larutan Natrium Tiosulfat sampai warna biru tepat hilang. Pemberian indikator larutan amilum dilakukan saat akan mencapai titik akhir titrasi.

4.4.3.8 Pembuatan Larutan NaOH 1 N (Anonim, 1979)

Dilarutkan 40 g Natrium Hidroksida P dalam air suling sampai volume 1000,0 ml.

4.4.3.9 Pembuatan Larutan Asam Klorida 1 N

Diencerkan 1 ml Asam Klorida P dengan air suling sampai volume 10,0 ml.

4.4.3.10 Pembuatan Larutan Dapar Kalium Hidrogen Ftalat (Connors, 1969)

Dilarutkan 60 gram kalium hidrogen ftalat dan 80 ml NaOH 1 N dalam air secukupnya untuk membuat 1000,0 ml.

4.4.3.11 Penetapan Volume Natrium Tiosulfat dari Senyawa *N*-Benzoil sefradin yang Tidak Didegradasi (Yamana, 1976)

Dimasukkan 2,0 ml larutan uji (1000 mg/liter) dalam erlenmeyer bertutup. Ditambahkan 2 ml larutan dapar Kalium Hidrogen Ftalat dan 10,0 ml larutan Iodium 0,01 N. Tutup erlenmeyer dan biarkan selama 20 menit terlindung dari cahaya. Titrasi dengan larutan Natrium Tiosulfat 0,01 N menggunakan indikator larutan amilum, sampai warna biru tepat hilang. Volume Natrium Tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi dinyatakan dengan A.

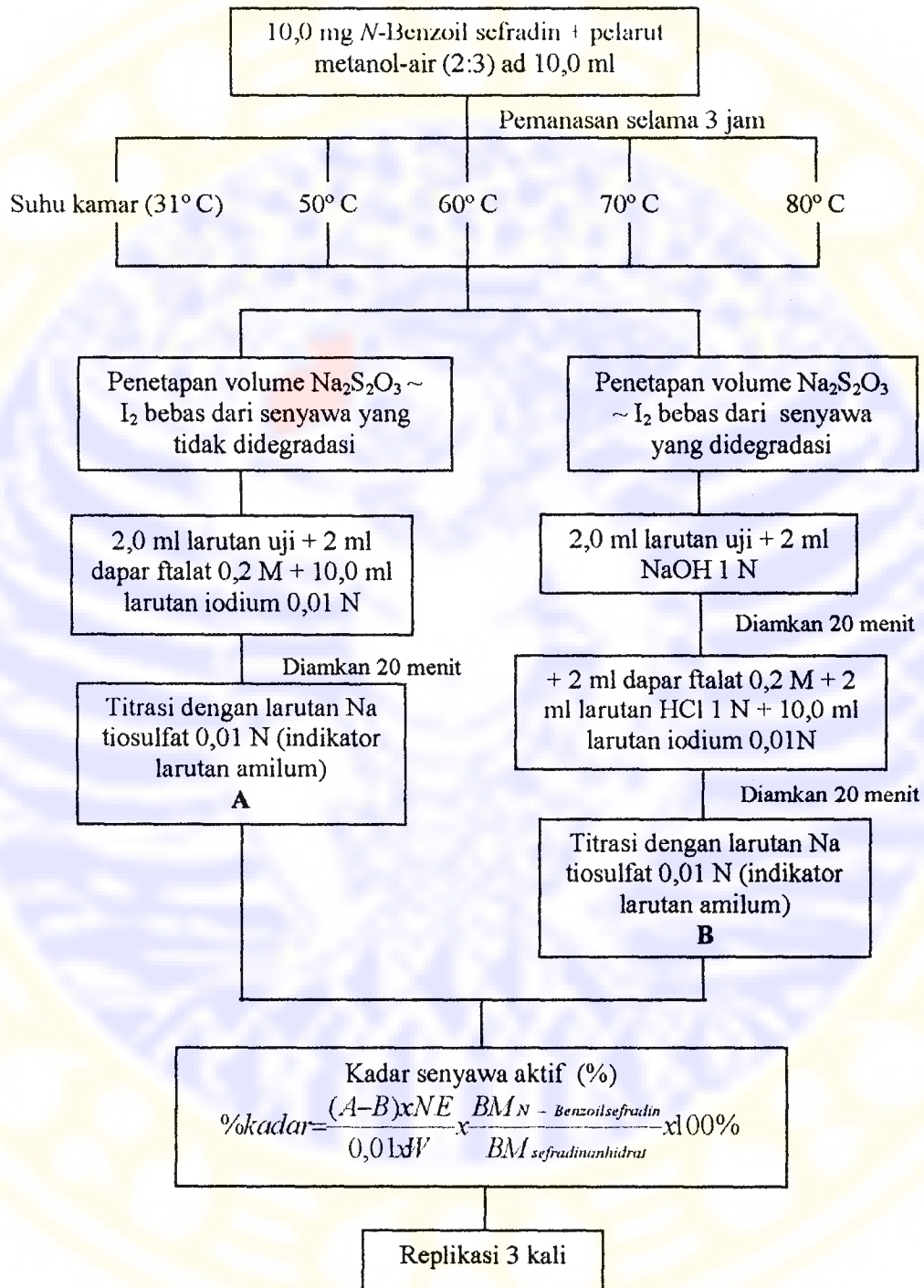
Lakukan dengan cara yang sama pada larutan sampel yang telah mengalami perlakuan pemanasan pada suhu 50° C, 60° C, 70° C, dan 80° C.

4.4.3.12 Penetapan Volume Natrium Tiosulfat dari Senyawa *N*-Benzoil sefradin yang Didegradasi (Yamana, 1976)

Dimasukkan 2,0 ml larutan uji (1000 mg/liter) ke dalam erlenmeyer bertutup. Ditambahkan 2 ml Natrium Hidroksida 1 N dan biarkan selama 20 menit. Tambahkan 2 ml larutan dapar Kalium Hidrogen Ftalat, 2 ml Asam Klorida 1 N dan 10,0 ml larutan Iodium 0,01 N. Tutup erlenmeyer dan biarkan selama 20 menit terlindung dari cahaya. Titrasi dengan larutan Natrium Tiosulfat 0,01 N menggunakan indikator larutan amilum, sampai warna biru tepat hilang. Volume Natrium Tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi dinyatakan dengan B.

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

Skema penentuan kadar senyawa aktif secara iodometri ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Skema penentuan kadar senyawa aktif secara iodometri

4.4.3.13 Rumus Perhitungan Kadar Senyawa Aktif

$$\% \text{kadar} = \frac{(A - B) \times N \times E}{0,01 \times W} \times \frac{BM_{N\text{-Benzoil sefradin}}}{BM_{\text{sefradin anhidrat}}} \times 100\%$$

dimana,

A = volume Natrium Tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi Iodium bebas dari senyawa yang tidak didegradasi (ml)

B = volume Natrium Tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi Iodium bebas dari senyawa yang didegradasi (ml)

N = normalitas larutan Natrium Tiosulfat (N)

E = kesetaraan tiap 0,01 N larutan Iodium dengan 0,842 mg senyawa sefradin anhidrat

W = kandungan *N*-Benzoil sefradin dalam 2,0 ml larutan uji (mg)

$$BM_{\text{sefradin anhidrat}} = 349.41$$

$$BM_{N\text{-Benzoil sefradin}} = 453.51$$

4.4.3.14 Replikasi

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

4.4.4 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

4.4.4.1 Pewarnaan Kuman (Benson, 1998)

Suspensi kuman dalam air suling steril pada gelas obyek dikeringkan di udara terbuka dan difiksir dengan cara melewatkan gelas obyek di atas api lampu spiritus beberapa kali. Kristal violet dituang pada gelas obyek dan dibiarkan selama 20 detik. Sisa kristal violet dituang dan diganti dengan larutan lugol, biarkan selama 1 menit, lalu cuci dengan air suling. Warna yang terbentuk dihilangkan dengan alkohol 95% selama 10-20 detik, segera bilas dengan air, lalu safranin dituangkan selama 20 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.

4.4.4.2 Tes Koagulase (Brooks, 1991)

Pada 0,5 ml biakan kuman dalam media cair ditambah 0,5 ml plasma, diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. *Staphylococcus aureus* menunjukkan reaksi yang positif yaitu dengan terbentuknya gumpalan dalam waktu 1-4 jam.

4.4.4.3 Tes pada Agar Garam Manitol (Boyd, 1980)

Staphylococcus aureus ditanam pada media agar garam manitol. Diinkubasi pada temperatur 37° C selama 24 jam. *Staphylococcus aureus* menunjukkan lingkaran kuning di sekeliling pertumbuhan pada media agar garam manitol.

4.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri N-Benzoil sefradin

4.4.5.1 Pembuatan Media Antibiotika-1

Media antibiotika-1 ditimbang sebanyak 27 g dan dilarutkan dalam 1 liter air, biarkan selama 15 menit. Kemudian dididihkan sampai terbentuk larutan yang jernih. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 18 ml dan kemudian media disterilkan di autoklaf selama 30 menit pada suhu 115° C.

4.4.5.2 Penyiapan Bakteri Uji

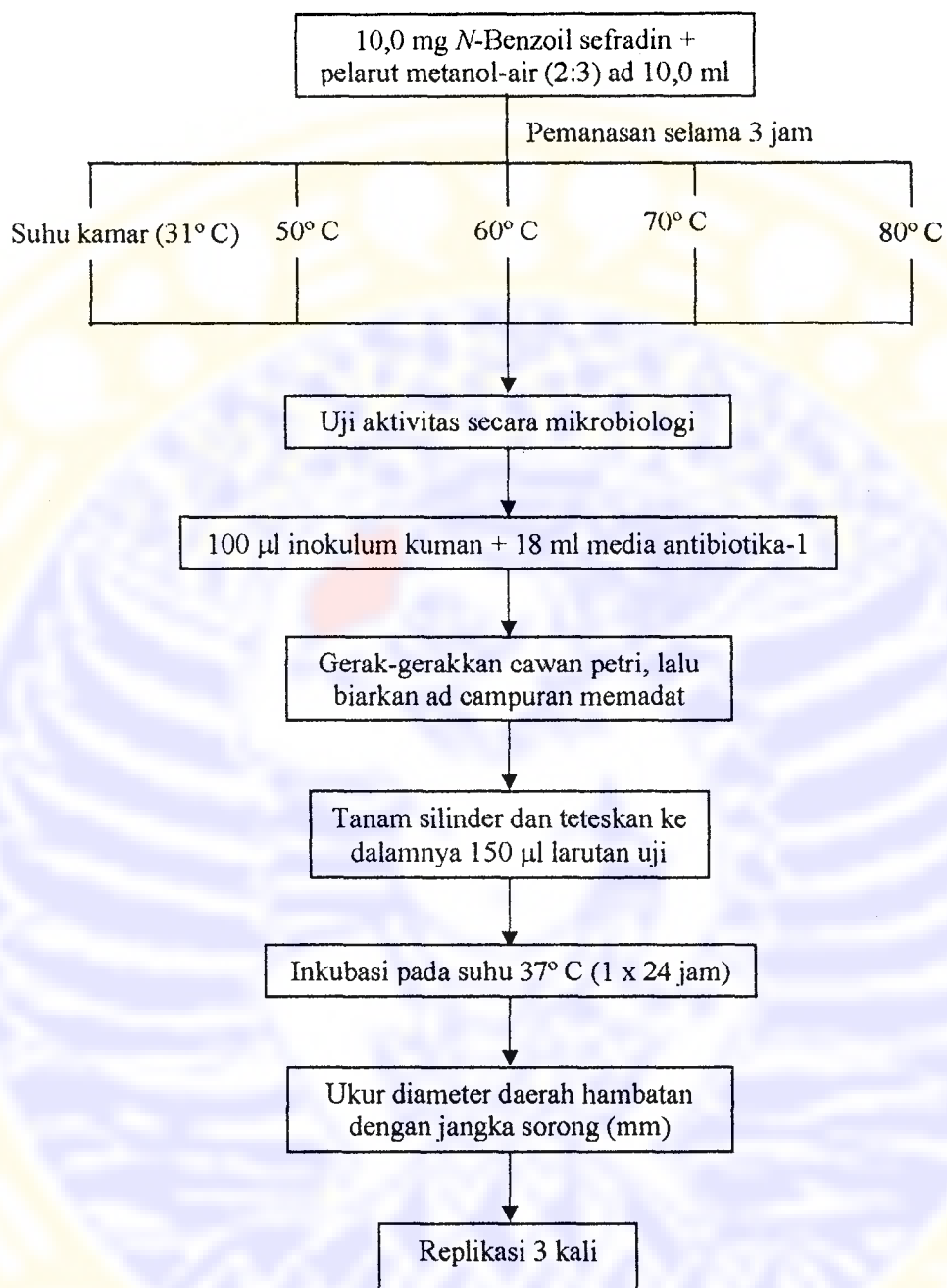
Biakan mikroba ditanam di permukaan media antibiotika-1 miring dalam tabung reaksi secara merata. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Satu ose koloni mikroba dari biakan padat disuspensikan dalam larutan natrium klorida isotonis sebanyak 5 ml dan dikocok. Serapan suspensi kuman diukur dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 580 nm sedemikian rupa sehingga dengan pengenceran tertentu diperoleh transmittan 25%. Sebagai blanko digunakan larutan natrium klorida P 0,9%.

4.4.5.3 Penentuan Aktivitas Antibakteri

- Ke dalam cawan petri dengan diameter 9 cm dimasukkan secara aseptis 100 μ l inokulum kuman (dilakukan orientasi sehingga didapatkan sejumlah inokulum bakteri yang dapat memberikan daerah hambatan yang jelas terlihat).
- Media antibiotika-1 steril sebanyak 18 ml suhu 42-50° C dituang ke dalam cawan petri yang berisi inokulum bakteri.
- Campuran media agar dan inokulum bakteri dibuat homogen dengan menggerakkan cawan petri beberapa kali secara teratur lalu dibiarkan memadat.
- Silinder logam diletakkan pada permukaan agar yang telah memadat.
- Isikan larutan uji 4.3.2 ke dalamnya sebanyak 150 μ l.
- Cawan petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 x 24 jam.
- Diameter daerah hambatan diukur dengan mengukur daerah jernih di sekeliling silinder dengan menggunakan jangka sorong.

4.4.5.4 Replikasi

Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada tahap penimbangan.



Gambar 4.2 Skema uji aktivitas antibakteri dari larutan uji

4.4.6 Analisa Data

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

- Variabel x : kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dari larutan uji yang ditetapkan secara iodometri, setelah mengalami degradasi pada berbagai suhu (% b/b).
- Variabel y : diameter daerah hambatan pertumbuhan senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin setelah mengalami degradasi pada berbagai suhu (mm).

Untuk mengetahui ada tidaknya korelasi linier antara variabel x dan y dilakukan uji regresi dan perhitungan koefisien korelasi dengan menggunakan komputer SPSS 11.5 (analisis regresi linier) pada $\alpha = 0,05$.

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

$$Y = bX + a$$

Untuk mengevaluasi persamaan garis digunakan uji F (ANOVA) pada $\alpha = 0,05$ dengan menggunakan program komputer SPSS 11.5, dengan :

H_0 : tidak ada hubungan yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293.

H_a : ada hubungan yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara

iodometri dengan aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293.

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

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penetapan Kadar Senyawa Aktif *N*-Benzoil sefradin Secara Iodometri

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

Tabel V.1

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada suhu kamar (31° C) selama 3 jam

No.	Kandungan <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na ₂ S ₂ O ₃ (N)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang diperoleh (% b/b)
			A	B	
1.	1,9970	0,0104	8,75	7,80	54,07
2.	1,9560	0,0103	8,85	7,90	54,67
3.	1,9980	0,0099	8,90	7,85	56,86
% kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin = 55,20 ± 1,47					

Tabel V.2

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 50° C selama 3 jam

No.	Kandungan <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na ₂ S ₂ O ₃ (N)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang diperoleh (% b/b)
			A	B	
1.	2,0500	0,0102	8,80	7,80	54,38
2.	2,0820	0,0103	8,80	7,80	54,07
3.	2,0330	0,0099	8,80	7,75	55,88
% kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin = 54,78 ± 0,97					

Tabel V.3

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 60° C selama 3 jam

No.	Kandungan <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na ₂ S ₂ O ₃ (N)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang diperoleh (% b/b)
			A	B	
1.	1,9944	0,0104	8,40	7,50	51,29
2.	2,0500	0,0102	8,80	7,90	50,49
3.	2,0550	0,0103	8,80	7,85	52,04
% kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin = 51,27 ± 0,77					

Tabel V.4

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 70° C selama 3 jam

No.	Kandungan <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na ₂ S ₂ O ₃ (N)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang diperoleh (% b/b)
			A	B	
1.	2,0310	0,0104	8,30	7,50	44,77
2.	1,9836	0,0103	8,70	7,90	45,40
3.	2,0340	0,0099	8,65	7,80	45,21
% kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin = 45,13 ± 0,32					

Tabel V.5

Hasil penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada pemanasan suhu 80° C selama 3 jam

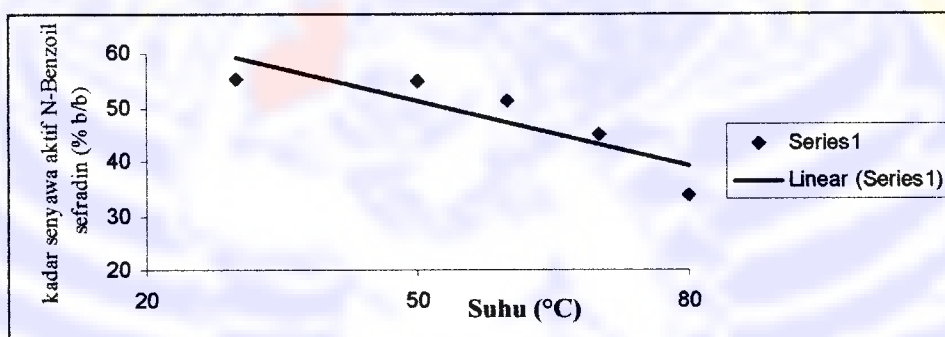
No.	Kandungan <i>N</i> -Benzoil sefradin dalam 2,0 ml sampel (mg)	Normalitas Na ₂ S ₂ O ₃ (N)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ yang dibutuhkan untuk titrasi (ml)		Kadar senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin yang diperoleh (% b/b)
			A	B	
1.	2,0086	0,0102	8,55	7,95	33,30
2.	2,0240	0,0103	8,60	8,00	33,37
3.	2,0172	0,0099	8,50	7,85	34,86
% kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin = 33,84 ± 0,88					

Dimana :

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

B = volume natrium tiosulfat yang dibutuhkan untuk titrasi iodium setelah larutan uji *N*-Benzoil sefradin dihidrolisis.

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



Gambar 5.1 kurva hubungan antara suhu dengan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin

5.2 Hasil Penentuan Diameter Daerah Hambatan Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

Hasil penentuan diameter daerah hambatan larutan uji *N*-Benzoil sefradin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 tercantum pada tabel berikut ini.

Tabel V.6

Diameter daerah hambatan larutan uji *N*-Benzoil sefradin dalam berbagai suhu terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

Suhu	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Rata-rata
	1	2	3	
Kamar (31° C)	19,81	20,00	16,28*	19,91 ± 0,09
50° C	16,50	16,40	16,70	16,53 ± 0,15
60° C	14,00	14,10	14,90	14,33 ± 0,49
70° C	11,56	11,72	12,14	11,81 ± 0,30
80° C	10,00	9,92	10,24	10,05 ± 0,17

*data tidak dipakai karena tidak memenuhi aturan 4.0D dari uji rejeksi data (Day, Jr., R. A., Underwood, A. L., 1974. Quantitative Analysis, 3rd edition, Englewood Cliffs : Prentice-Hall, Inc.)

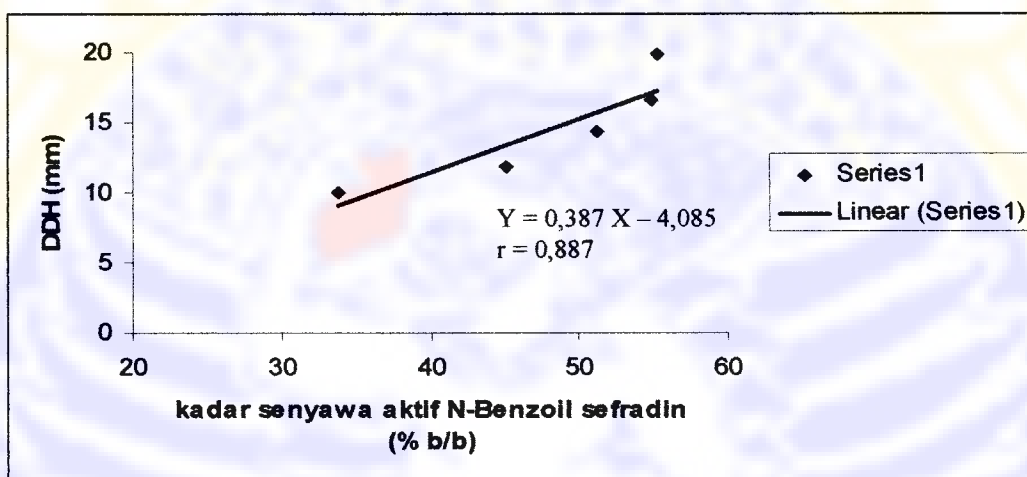
5.3 Hubungan antara Kadar Rata-rata Senyawa Aktif *N*-Benzoil sefradin yang Ditetapkan secara Iodometri dengan Diameter Daerah Hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

Tabel V.7

Hubungan antara kadar rata-rata senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

No.	Perlakuan larutan uji pada suhu (° C)	Kadar rata-rata senyawa aktif <i>N</i> -Benzoil sefradin	Diameter daerah hambatan (mm)
		(%) X	Y
1.	31	55,20	19,91
2.	50	54,78	16,53
3.	60	51,27	14,33
4.	70	45,13	11,81
5.	80	33,84	10,05

Berdasarkan data-data tersebut, maka dapat dihitung koefisien korelasi antara variabel x dan variabel y dengan menggunakan uji regresi. Dari hasil perhitungan (lihat lampiran) diperoleh harga r hitung = 0,887 dan harga r tabel ($\alpha = 0,05$; $dB = 3$) = 0,878. Maka r hitung $>$ r tabel, dengan demikian ada hubungan linier antara variabel x dan variabel y . Hubungan linier tersebut dapat dinyatakan dengan persamaan $Y = 0,387 X - 4,085$. Kurva persamaan regresi tersebut dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Kurva persamaan garis regresi antara kadar senyawa aktif *N-Benzoil sefradin* yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

Setelah didapatkan persamaan garis regresi, maka untuk mengevaluasi persamaan tersebut digunakan uji distribusi F dengan program komputer SPSS 11.5, dimana hipotesis nol menyatakan tidak ada hubungan antara variabel x dengan variabel y , dan sebaliknya dengan hipotesis alternatif menyatakan ada hubungan bermakna antara variabel x dengan variabel y .

Berdasarkan hasil analisis data dalam lampiran didapat bahwa harga F hitung = 11,112. sedangkan harga F tabel ($\alpha = 0,05$; $dB = 3$) = 10,13. Karena harga F hitung $>$ F tabel, maka hipotesis nol ditolak dan hipotesis alternatif diterima sehingga dapat dinyatakan ada hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N-Benzoil sefradin* yang ditetapkan secara iodometri dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293.

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini tidak dilakukan uji kualitatif pada *N*-Benzoil sefradin dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 karena telah disertakan surat keterangan dari ketua tim peneliti sintesis turunan sefradin dan dari instalasi mikrobiologi klinik RSUD Dr. Soetomo.

Pada penelitian ini dilakukan penimbangan 10,0 mg dengan neraca mikro Shimadzu type LM-20 no. 60008 yang ada di LDB (Laboratorium Dasar Bersama) Universitas Airlangga. Penimbangan 10,0 mg ini untuk masing-masing perlakuan suhu. Hal ini dilakukan karena ketika penelitian dilakukan dengan penimbangan 50,0 mg untuk dibagi menjadi 5 bagian untuk masing-masing perlakuan suhu, didapatkan kadar yang tidak menurun sesuai dengan kenaikan suhu. Hal ini mungkin dikarenakan zat uji kurang homogen ketika dilarutkan dalam pelarut dan ketika dibagi untuk masing-masing perlakuan suhu, sehingga ketika dilakukan uji kualitatif dengan iodometri kadar yang didapat tidak menurun sesuai dengan kenaikan suhu.

Penelitian ini dilakukan untuk uji kuantitatif secara iodometri dan uji aktivitas antibakteri secara difusi silinder. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan secara *in vitro* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293.

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan bahan, *N*-Benzoil sefradin, dalam pelarut campur metanol-air dengan perbandingan metanol : air = 2 : 3. *N*-Benzoil sefradin merupakan senyawa yang sukar larut dalam air, namun lebih larut dalam pelarut metanol. Tetapi karena sifat metanol yang mudah menguap dan larutan uji harus dipanaskan untuk mendapatkan kadar senyawa aktif yang berbeda-beda, maka dibuat larutan campuran metanol-air untuk mengurangi kemungkinan terjadinya penguapan saat pemanasan.

Untuk mendapatkan larutan uji dengan kadar senyawa aktif yang berbeda-beda, dilakukan pemanasan larutan uji *N*-Benzoil sefradin selama 3 jam pada suhu 50° C, 60° C, 70° C, dan 80° C dan pendinginan pada suhu kamar (31° C) selama 3 jam.

Perlakuan ini merupakan suatu metode yang lazim digunakan untuk secara cepat memprediksikan stabilitas suatu obat. Dengan metode kenaikan suhu ini, kita dapat menganalogikan keadaan obat yang kita teliti dengan keadaan obat pada waktu penyimpanannya. Pemanasan juga bertujuan untuk mendapatkan campuran senyawa yang aktif dan senyawa yang tidak aktif. Yang dimaksud dengan senyawa aktif adalah *N*-Benzoil sefradin dengan struktur molekul yang masih utuh, yang masih memiliki cincin β -laktam utuh, sehingga dapat memberikan aktivitas antibakteri. *N*-Benzoil sefradin yang terdegradasi akibat pemanasan tidak dapat memberikan aktivitas antibakteri, karena cincin β -laktam *N*-Benzoil sefradin yang telah putus.

Dalam percobaan ini waktu pemanasan dibatasi sampai 3 jam untuk masing-masing suhu dengan perbedaan suhu sebesar 10°C dengan asumsi bahwa waktu tersebut cukup panjang untuk mendapatkan berbagai kadar senyawa aktif yang perbedaannya jelas. Pemanasan tidak dilakukan pada suhu 40°C dengan asumsi bahwa dengan suhu tersebut tidak terdapat perbedaan yang cukup besar dengan hasil dari pendiaman pada suhu kamar (31°C).

Setelah pemanasan selama 3 jam selesai, larutan uji segera dimasukkan ke dalam wadah yang berisi es untuk mencegah degradasi larutan uji lebih lanjut.

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

Metode iodometri merupakan metode yang cocok digunakan untuk menetapkan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin, karena prinsip dari metode ini adalah iodium berikatan dengan cincin β -laktam dari *N*-Benzoil sefradin yang telah putus.

Pada pelaksanaan metode iodometri ada beberapa hal yang harus diperhatikan, antara lain ketika larutan uji sudah ditambah larutan iodium, wadah harus ditutup untuk menghindari penguapan iodium, selain itu juga wadah harus terlindung dari cahaya matahari, supaya iodium tidak teroksidasi, sehingga tidak terjadi kesalahan volume natrium tiosulfat ketika titrasi.

Dari hasil penentuan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin secara iodometri diperoleh kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dalam larutan uji yang mengalami pendiaman pada suhu kamar selama 3 jam adalah 55,20 %. Diperkirakan perlakuan pendiaman pada suhu kamar selama 3 jam akan menyebabkan degradasi *N*-Benzoil sefradin dari struktur yang masih utuh menjadi bentuk yang tidak utuh dalam jumlah yang cukup besar sehingga diperoleh persen kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang sedikit.

Dengan kenaikan suhu pemanasan, maka kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dalam larutan uji akan semakin menurun. Dimana kadar terendah yaitu 33,84 % akibat pemanasan pada suhu 80° C selama 3 jam. Dari hasil yang diperoleh membuktikan bahwa pemanasan menyebabkan makin banyak cincin β -laktam yang putus sehingga berpengaruh pada kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin karena kadar senyawa aktif ditentukan oleh jumlah cincin β -laktam yang utuh.

Penentuan diameter daerah hambatan dilakukan dengan metode difusi silinder dengan menggunakan media Antibiotika-1 sebagai media pertumbuhan bakteri. Dalam mendapatkan jumlah inokulum bakteri yang sesuai, tidak dilakukan orientasi dengan mengubah-ubah jumlah inokulum bakteri, karena ketika dilakukan percobaan dengan menggunakan jumlah inokulum bakteri 100 μ l dapat menghasilkan diameter daerah hambatan yang cukup jelas dan mudah diamati yaitu ditandai dengan batas diameter daerah jernih dan keruh di sekeliling silinder yang jelas.

Dilakukan perbandingan waktu inkubasi antara 1 x 24 jam dengan 2 x 24 jam. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa waktu inkubasi 1 x 24 jam menunjukkan diameter daerah hambatan yang jelas. Sedangkan waktu inkubasi 2 x 24 jam menunjukkan hasil yang sama, sehingga dipilih waktu inkubasi 1 x 24 jam untuk efisiensi waktu.

Pada penentuan diameter daerah hambatan ada beberapa hal yang harus diperhatikan, antara lain volume media yang dituang ke dalam cawan petri harus seragam dengan cara diukur dulu sebelumnya dengan gelas ukur, kemudian peletakan silinder logam diperhatikan agar silinder logam tidak berimpit dengan

alas cawan petri. Hal ini dilakukan agar diameter yang dihasilkan bisa seragam untuk masing-masing perlakuan suhu.

Dari hasil penentuan diameter daerah hambatan senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin pada larutan uji dengan pemanasan pada suhu yang bervariasi diperoleh bahwa larutan uji hasil pemanasan pada suhu yang lebih tinggi menghasilkan diameter daerah hambatan yang lebih kecil. Hal ini menunjukkan bahwa pemanasan menyebabkan makin banyak cincin β -laktam yang putus sehingga berpengaruh pada aktivitas antibakteri *N*-Benzoil sefradin karena aktivitas antibakterinya ditentukan oleh jumlah cincin β -laktam yang utuh.

Selain itu dari hasil penentuan diameter daerah hambatan terdapat hasil yang bervariasi untuk satu macam suhu. Hal ini mungkin dikarenakan sifat bakteri yang sulit diprediksi, sehingga terdapat variasi pada diameter daerah hambatan larutan uji *N*-Benzoil sefradin.

Penentuan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ini mungkin belum bisa menggambarkan aktivitas antibakteri *N*-Benzoil sefradin secara keseluruhan. Sehingga perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *N*-Benzoil sefradin terhadap bakteri Gram positif lainnya seperti *Streptococcus sp.*, *Pneumococcus sp.*, dan lain sebagainya untuk mengetahui aktivitas dan selektivitasnya.

Untuk mengetahui hubungan antara kadar senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri dari senyawa *N*-Benzoil sefradin, maka dilakukan uji regresi dengan kadar senyawa aktif sebagai variabel x dan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293 sebagai variabel y . Uji regresi dilakukan menggunakan program komputer SPSS 11.5. Dari uji regresi diperoleh persamaan regresi $y = 0,387 x - 4,085$, dengan koefisien korelasi (r) = 0,887. Koefisien korelasi dari hasil perhitungan lebih besar daripada harga koefisien korelasi tabel (r tabel = 0,878). Ini berarti ada hubungan linier antara variabel x dengan variabel y , pada batas kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin 33,84% - 55,20%.

Untuk mengevaluasi persamaan garis digunakan uji F (ANOVA) pada $\alpha = 0,05$ dengan menggunakan program komputer SPSS 11.5 dan diperoleh harga F hitung = 11,112. Harga F hitung ini lebih besar daripada harga F tabel, $\alpha = 0,05$; $df = 3$, yaitu 10,13. Hal ini berarti bahwa persamaan garis regresi yang diperoleh

cukup representatif untuk menggambarkan korelasi linier antara variabel x dan variabel y.

Dengan asumsi bahwa hanya struktur senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang memberikan diameter daerah hambatan, maka hubungan yang diperoleh dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri mampu menggambarkan aktivitasnya. Larutan uji yang memiliki kadar senyawa aktif tinggi secara iodometri memberikan aktivitas mikrobiologi yang tinggi pula.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan ada hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293.

2. Saran

Dengan adanya hubungan linier yang bermakna antara kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin yang ditetapkan secara iodometri dengan aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293, maka untuk penelitian lebih lanjut dapat dilakukan suatu penetapan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin dan aktivitasnya hanya dengan metode kimia saja.

Perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri senyawa *N*-Benzoil sefradin pada bakteri Gram positif lain seperti *Streptococcus sp.*, *Pneumococcus sp.*, dan lainnya untuk mengetahui aktivitas dan selektivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979. *Farmakope Indonesia*, edisi III, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, p. 136-137, 694, 744, 746-749.
- Anonim, 1995^a. *Farmakope Indonesia*, edisi IV, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, p. 891-899, 1032.
- Anonim, 1995^b. *The United States of Pharmacopoeia*, 23rd edition, Rockville : The United States of Pharmacopoeia Convention Inc., p. 1690-1696.
- Benson, H. J., 1998. *Microbiological Applications*, Laboratory Manual in General Microbiology, 7th edition, Boston : McGraw-Hill Inc., p. 58-59
- Black, J. G., 1999. *Microbiology : Principles and Exploration*, 4th edition, New Jersey : Prentice-Hall Inc., p. 351-354.
- Boyd, R. F. and Marr, J. J., 1980. *Medical Microbiology*, Boston : Little Brown and company, p. 274, 282.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Ornston, L. N., Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1991. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*, 19th edition, New Jersey : Prentice Hall International Inc. p. 154-155, 194-199.
- Brumfitt, W., Hamilton-Miller, J. M. T., 1990. Comparative Study of Cephadrine and Amoxicillin-Clavulanate in the Treatment of Recurrent Urinary Tract Infections, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, Vol. 34, No. 9, p. 1803-1805. (diakses dari www.pubmedcentral.gov/pagerender.fcgi?artid=17193111&pageindex tanggal 11 September 2005).

- Connors, K. A., and Higuchi, T., 1969. Antibiotics. In : Takeru Higuchi, and Einar Brochmann-Hanssen (editor), *Pharmaceutical Analysis*, New York : Interscience Publisher, p. 597-599.
- Connors, K. A., 1982. *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, 3rd edition, New York : John Wiley and Sons, p. 80-87.
- Edberg, S. C., 1980. *Antibiotika dan Infeksi*, Jakarta : Universitas Indonesia, p. 199-208.
- Florey, K., 1975. Cephadrine. In : Klaus Florey (editor), *Analytical Profile of Drug Substances*, vol. IV, New York : Academic Press, p. 23-56.
- Ganiswara, V. H. S., and Iswantoro Y. H., 1995. Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotika Beta-Laktam Lainnya. In : Sulistia Gan (editor), *Farmakologi dan Terapi*, edisi 4, Jakarta : Bagian Farmakologi Universitas Indonesia, p. 636-642.
- Gennaro, A. R., 1995. *Remington : The Science and Practice of Pharmacy*, 19th edition, Easton, Pennsylvania : Mack Publishing company, p. 498.
- Gillespie, S., 1994. *Medical Microbiology Illustrated*, Oxford : Butter Worth-Heinemann ltd., p. 12-18
- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Gilman, A. G., 2001. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th edition, New York : McGraw-Hill companies, Inc., p. 1206-1213.
- Kalman, D., Barriere, S. L., 1990. Review of the Pharmacology, Pharmacokinetics, and Clinical Use of Cephalosporins, *Texas Heart Institute Journal*, Vol. 17, No. 3, p. 203-215. (diakses dari

www.pubmedcentral.gov/pagerender.fcgi?artid=324918&pageindex
tanggal 11 September 2005).

Kolthoff, I. M., and Sandell, E. B., 1952. *Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, 3rd edition, New York : The McMillan Company, p. 585-605.

Lim, D., 1998. *Microbiology*, 2nd edition, Boston : McGraw-Hill Inc., p. 132-133.

Martin, A. R., and Doerge, R. F., 1982. terjemahan oleh Fatah, A.M., *Buku Teks Wilson and Gisvold : Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*, Semarang : IKIP Semarang Press, p. 231, 254-257, 261.

McEvoy, G. K., 2002. *AHFS Drug Information*, Wisconsin : American Society of Health-System Pharmacists, Inc., p. 129, 139-141, 236.

Morin, R. B., and Gorman, M., 1982. *Kimia dan Biologi Antibiotik β -laktam*, volume 3, terjemahan Sri Mulyani, Semarang : IKIP Semarang Press, p. 151-196.

Mutschler, E., 1991. terjemahan Mathilda B. W., Anna S. R., *Dinamika Obat*, edisi 5, Bandung : ITB, p. 634-636, 643.

Reynolds, J. E. F., 1982. *Martindale : The Extra Pharmacopoeia*, 28th edition, London : Pharmaceutical Press, p. 1123-1125.

Siswandono, and Sukardjo B., 1995. *Kimia Medisinal*, Surabaya : Airlangga University Press, p. 369-375.

Tjay, T. H., and Rahardjo, K., 1991. *Obat-obat Penting, Khasiat dan Efek-efeknya*, edisi 4, Jakarta : Percetakan Jayakarta, p. 66, 74-77.

Wattimena, J. R., Nelly, C. S., Mathilda, B. W., Elin, Y. S., Andreanus, A. S., Anna, R. S., 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press, p. 101-103.

Yamana, T. and Tsuji, A., 1976. Comparative Stability of Cephalosporin in Aqueous Solution : Kinetics and Mechanism of Degradation. *Journal of Pharmaceutical Science*, vol. 65 no. 11, p. 1563-1565.

LAMPIRAN 1

Contoh perhitungan kadar senyawa aktif *N*-Benzoil sefradin secara iodometri :

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

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

Dari hasil titrasi pada suhu kamar :

Penimbangan = 9,985 g / 10,0 ml

(neraca mikro Shimadzu type LM-20 No. 60008)

W (kandungan *N*-Benzoil sefradin dalam 2,0 ml larutan uji) = 1,997 mg

Normalitas Na₂S₂O₃ = 0,0104 N

BM *N*-Benzoil sefradin = 453,51

BM sefradin = 349,41

E = kesetaraan tiap ml 0,01 N larutan iodium dengan 0,842 mg senyawa sefradin anhidrat

A = 8,75 ml

B = 7,80 ml

Kadar dihitung dari persamaan :

$$\begin{aligned} \% \text{kadar} &= \frac{(A - B) \times N \times E}{0,01 \times W} \times \frac{\text{BM}_{N\text{-Benzoil sefradin}}}{\text{BM}_{\text{sefradin anhidrat}}} \times 100\% \\ &= \frac{(8,75 - 7,80) \times 0,0104 \times 0,842}{0,01 \times 1,997} \times \frac{453,51}{349,41} \times 100\% \\ &= 54,07\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN 2

Perhitungan Uji Regresi dan Uji F antara Kadar Senyawa Aktif *N*-Benzoil sefradin dengan Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293

Regression

Variables Entered/Removed(b)

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	KADAR(a)	.	Enter

a All requested variables entered.

b Dependent Variable: DDH

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.887(a)	.787	.717	2.06971

a Predictors: (Constant), KADAR

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	47.602	1	47.602	11.112	.045(a)
	Residual	12.851	3	4.284		
	Total	60.453	4			

a Predictors: (Constant), KADAR

b Dependent Variable: DDH

Coefficients(a)

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-4.085	5.659		-.722	.523
	KADAR	.387	.116	.887	3.334	.045

a Dependent Variable: DDH

LAMPIRAN 3

Table Harga r

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

Dikutip dari :

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

LAMPIRAN 4

Tabel Harga F pada derajat kepercayaan 95 %

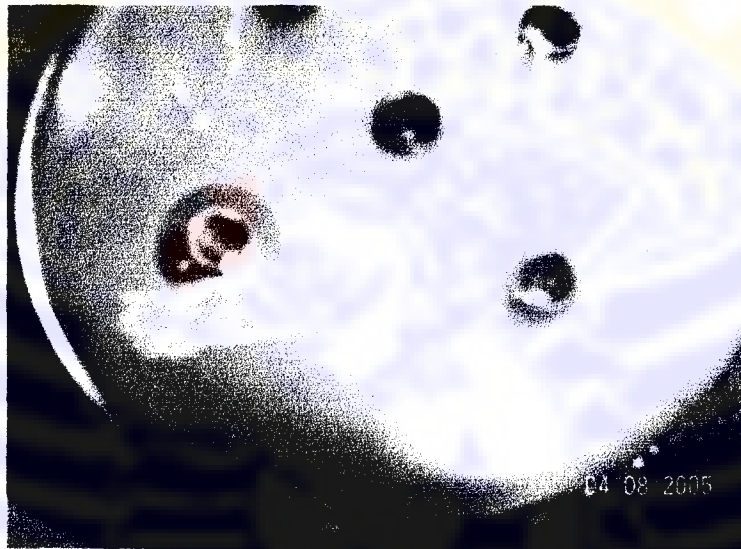
v ₂	v ₁								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77
6	5,99	5,14	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: Ritchel, W. A., 1988, Handbook of Basic Pharmacokinetics, 3rd ed.,

Cincinnati ; Drug Intelligence Publication inc., hal. 315.

LAMPIRAN 5

**Contoh Gambar Diameter Daerah Hambatan *N*-Benzoil sefradin pada Suhu
80° C terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29293**



LAMPIRAN 6

Surat Keterangan Hasil Pemeriksaan *N*-Benzoil sefradin

Laporan Hasil Pemeriksaan Senyawa

1. Nama senyawa : *N*-Benzoilsefradin
2. Dibuat oleh : Siswandono
3. Tanggal dibuat : 7 Juni 2003
4. Rendemen : 72,33 %
5. Pemeriksaan :

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1	Pemerian Organoleptis	Bentuk amorf, warna putih tulang, bau khas
2	Jarak lebur	150-152°C
3	Kelarutan	metanol, etanol, aseton, kloroform dan dimetilsulfoksida
4	Uji KLT (3 eluen)	1 noda
5	Identifikasi UV	λ maks = 204, 228 dan 281 nm
6	Identifikasi IR ν (cm ⁻¹)	3268 (-NH-CO), 3032 (-NH-C), 2928 (-C-H), 1771 (-C=O β -laktam), 1636 (-C=O amida), 1578 (-C=O asam karboksilat), 1524 dan 1485 (-C-H aromatis)
7	Identifikasi ¹ H-NMR δ (ppm)	7,437-7,886, m, (Ar-H), 5,694-5,738, d, (-S-N-CH-CO-), 5,040-5,192, m, (-C=CH-C), 3,754, t, (-C-CH-C), 3,498, d, (-N-CH-S-), 3,273-3,381, s, (H ₂ N-CH-CO-), 2,765, s, (-S-CH ₂ -C=), 2,123, d, (-C-CH ₂ -C=), 1,200, s, (-C-C-CH ₃)
8	Kesimpulan	Senyawa adalah <i>N</i> -benzoilsefradin

Surabaya, 2 Agustus 2005

Mengetahui
Kepala Bagian Kimia FarmasiProf. Dr. Siswandono, MS
NIP. 130809079

Ketua Tim Peneliti

Prof. Dr. Siswandono, MS
NIP. 13080979