

KKS  
KK  
FF 769/  
/95  
Soe  
s

**SKRIPSI**

**FENNY SOEDARMADJI**

**STUDI HUBUNGAN ANTARA NILAI LOGARITMA  
KOEFSIEN PARTISI DENGAN NILAI  $R_M$  DARI  
BEBERAPA TURUNAN PENISILIN DALAM  
SISTEM OKTANOL-DAPAR FOSFAT pH 7,4**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1995**

STUDI HUBUNGAN ANTARA NILAI LOGARITMA KOEFISIEN PARTISI  
DENGAN NILAI  $R_H$  DARI BEBERAPA TURUNAN PENISILIN DALAM  
SISTEM OKTANOI.-DAPAR FOSFAT pH 7,4

S K R I P S I

DIBUAT UNTUK MEMENUHI SYARAT MENCAPAI GELAR  
SARJANA SAINS PADA FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

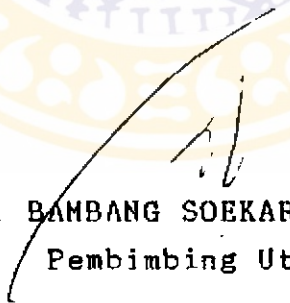
1995


oleh :


FENNY SOEDARMADJI

059011174

disetujui oleh :

  
DR. BAMBANG SOEKARDJO, SU  
Pembimbing Utama

  
Drs. ROBBY SONDAKH, MS  
Pembimbing Serta

  
Drs. BAMBANG TRI PURWANTO, MS  
Pembimbing Serta

## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini guna memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar sarjana sains pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada :

- a. Bapak DR. Bambang Soekardjo, SU selaku pembimbing utama dan Bapak Drs. Robby Sondakh, M $\Phi$  serta Bapak Drs. Bambang Tri Purwanto, MS selaku pembimbing serta yang selalu bersedia memberikan bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.
- b. Bapak Kepala Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan seluas-luasnya kepada penulis dalam menggunakan fasilitas laboratorium.
- c. Bapak Drs. Harjana, MSc., Bapak Drs. Soedarto, Ibu Dra. Moetobingatoen H.S., dan Ibu Dra. Soemartina S., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
- d. Segenap staf pengajar yang dengan rela hati membantu penyusunan skripsi ini.
- e. PT. Bernofarm Laboratories Sidoarjo; PT. Meiji Indonesia Pharmaceutical Industries Bangil, Pasuruan;

PT. Smith Kline Beecham Pharmaceuticals Jakarta; dan Perum Indofarma Cibitung, Bekasi yang telah memberikan bahan penelitian beserta sertifikat analisisnya untuk penelitian ini.

f. Papa dan mama tercinta yang telah memberikan dorongan semangat dan doa restu selama pendidikan hingga selesainya skripsi ini, juga saudara-saudara saya.

g. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini.

Akhirnya skripsi yang sederhana ini penulis persembahkan kepada almamater Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dengan harapan dapat bermanfaat.

Surabaya, Januari 1995

Penyusun

## DAFTAR ISI

	Hal.
<b>PRAKATA</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>RINGKASAN</b> .....	xiii
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1. Latar Belakang Permasalahan .....	1
2. Permasalahan .....	6
3. Tujuan Penelitian .....	6
4. Hipotesis .....	6
5. Manfaat Penelitian .....	7
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b>	
1. Hubungan Antara Lipofilitas dengan Aktivitas Biologis .....	8
2. Tinjauan Tentang Koefisien Partisi .....	10
3. Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis Fase Balik .....	15
4. Tinjauan Tentang Penisilin .....	17
4.1. Tinjauan tentang amoksisilin trihidrat .....	19
4.2. Tinjauan tentang ampicilin trihidrat .....	20
4.3. Tinjauan tentang kloksasilin	

natrium .....	22
4.4. Tinjauan tentang flukloksasilin	
natrium .....	24
4.5. Tinjauan tentang dikloksasilin	
natrium .....	25
<b>BAB III : METODE PENELITIAN</b>	
1. Bahan .....	27
2. Alat .....	28
3. Metode Penelitian	
3.1. Analisis kualitatif terhadap bahan penelitian	
3.1.1. Pemeriksaan organoleptis.....	28
3.1.2. Analisis reaksi warna .....	28
3.1.3. Penentuan titik lebur .....	29
3.2. Penentuan nilai log P dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4	
3.2.1. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4 .....	29
3.2.2. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol .....	30
3.2.3. Pembuatan larutan baku turunan penisilin .....	30
3.2.4. Penentuan panjang gelombang maksimum .....	31
3.2.5. Pembuatan kurva baku turunan penisilin .....	31

3.2.6. Penentuan logaritma koefisien partisi turunan penisilin .....	31
3.3. Penentuan nilai $R_M$	
3.3.1. Pembuatan larutan impregnasi atau pelapis .....	32
3.3.2. Impregnasi lempeng kromatografi	32
3.3.3. Penentuan nilai $R_M$ turunan penisilin .....	33
3.4. Analisis data .....	33
<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN</b>	
1. Uji Kualitatif Turunan Penisilin	
1.1. Uji organoleptis .....	37
1.2. Reaksi warna .....	38
1.3. Penentuan titik lebur turunan penisilin .....	38
2. Penentuan Nilai Logaritma Koefisien Partisi Turunan Penisilin	
2.1. Penentuan panjang gelombang maksimum .....	39
2.2. Pembuatan kurva baku	
2.2.1. Kurva baku larutan amoksisilin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol .....	45
2.2.2. Kurva baku larutan ampisilin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol .....	47

## DAFTAR TABEL

TABEL	Hal.
1. Hasil uji organoleptis dari beberapa turunan penisilin .....	37
2. Hasil uji reaksi warna dari beberapa turunan penisilin .....	38
3. Hasil penentuan titik lebur dari beberapa turunan penisilin .....	38
4. Panjang gelombang maksimum turunan penisilin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol .	39
5. Nilai serapan larutan baku amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 272 nm .....	45
6. Nilai serapan larutan baku ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 256 nm .....	47
7. Nilai serapan larutan baku kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 272 nm .....	49
8. Nilai serapan larutan baku flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 273 nm .....	51
9. Nilai serapan larutan baku dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 274 nm .....	53
10. Nilai log P dari amoksisilin dalam sistem n-okta-	



nol-dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 272 nm .....	55
11. Nilai log P dari ampisilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7.4 pada panjang gelombang maksimum 256 nm .....	56
12. Nilai log P dari kloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 272 nm .....	57
13. Nilai log P dari flukloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 273 nm .....	58
14. Nilai log P dari dikloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 274 nm .....	59
15. Nilai $R_M$ amoksisilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	60
16. Nilai $R_M$ ampisilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	62
17. Nilai $R_M$ kloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	64
18. Nilai $R_M$ flukloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	66
19. Nilai $R_M$ dikloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	68
20. Nilai log P dan nilai RM dari beberapa turunan penisilin .....	70

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Hal.
1. Struktur umum turunan penisilin .....	18
2. Struktur kimia amoksisilin trihidrat .....	19
3. Struktur kimia ampisilin trihidrat .....	21
4. Struktur kimia kloksasilin natrium .....	22
5. Struktur kimia flukloksasilin natrium .....	24
6. Struktur kimia dikloksasilin natrium .....	25
7. Hubungan antara serapan larutan baku amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang .....	40
8. Hubungan antara serapan larutan baku ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang .....	41
9. Hubungan antara serapan larutan baku kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang .....	42
10. Hubungan antara serapan larutan baku flukloksasi- lin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol da- ri dua kadar terhadap panjang gelombang .....	43
11. Hubungan antara serapan larutan baku dikloksasi- lin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang .....	44
12. Kurva baku larutan amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang	

	maksimum 272 nm .....	46
13.	Kurva baku larutan ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 256 nm .....	48
14.	Kurva baku larutan kloksasilin dalam dapar fos- fat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 272 nm .....	50
15.	Kurva baku larutan flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelom- bang maksimum 273 nm .....	52
16.	Kurva baku larutan dikloksasilin dalam dapar fos- fat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 274 nm .....	54
17.	Kurva baku larutan amoksisilin dalam pelarut cam- puran oktanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	61
18.	Kurva baku larutan ampisilin dalam pelarut cam- puran oktanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	63
19.	Kurva baku larutan kloksasilin dalam pelarut cam- puran oktanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	65
20.	Kurva baku larutan flukloksasilin dalam pelarut campuran oktanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	67
21.	Kurva baku larutan dikloksasilin dalam pelarut campuran oktanol-dapar fosfat pH 7,4 .....	69
22.	Kurva hubungan antara nilai log P dengan ni- lai $R_M$ dari beberapa turunan penisilin .....	72

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Hal.
I. Perhitungan uji regresi antara logaritma koefisien partisi dengan nilai $R_M$ dari amoksisisilin, ampicilin, kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin .....	86
II. Uji anova untuk persamaan garis regresi $Y = 0,4081 X - 0,0523$ .....	87
III. Perhitungan perkiraan kesalahan standar variabel Y terhadap variabel X pada $Y = 0,4081 X - 0,0523$ .....	89
IV. Tabel harga koefisien korelasi pada derajat kepercayaan 5% dan 1% .....	90
V. Tabel distribusi F pada derajat kepercayaan 5%.	91
VI. Sertifikat analisis amoksisilin .....	92
VII. Sertifikat analisis ampicilin .....	93
VIII. Sertifikat analisis kloksasilin .....	94
IX. Sertifikat analisis flukloksasilin .....	95
X. Sertifikat analisis dikloksasilin .....	96

## RINGKASAN

Aktivitas biologis senyawa obat ditentukan antara lain oleh struktur kimianya. Kelarutan relatif obat dalam lemak/air (koefisien partisi) merupakan sifat kimia fisika yang dipengaruhi oleh struktur kimia senyawa obat yang memegang peranan penting dalam hubungannya dengan laju perjalanan obat melewati berbagai membran biologis.

Telah dilakukan penentuan parameter lipofilik yaitu nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$  serta penentuan hubungan antara nilai  $\log P$  dengan nilai  $R_M$  dari lima macam senyawa turunan penisilin yang mempunyai aktivitas antimikroba yaitu amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin.

Nilai  $\log P$  dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 diperoleh dengan membagi kadar senyawa dalam fase n-oktanol dengan kadar senyawa dalam fase dapar fosfat pH 7,4. Kadar senyawa dalam fase n-oktanol didapat dengan menghitung selisih antara kadar senyawa mula-mula dengan kadar senyawa dalam fase dapar fosfat pH 7,4. Sedangkan kadar senyawa mula-mula dan kadar senyawa dalam fase dapar fosfat pH 7,4 didapatkan dari pengukuran dengan spektrofotometer.

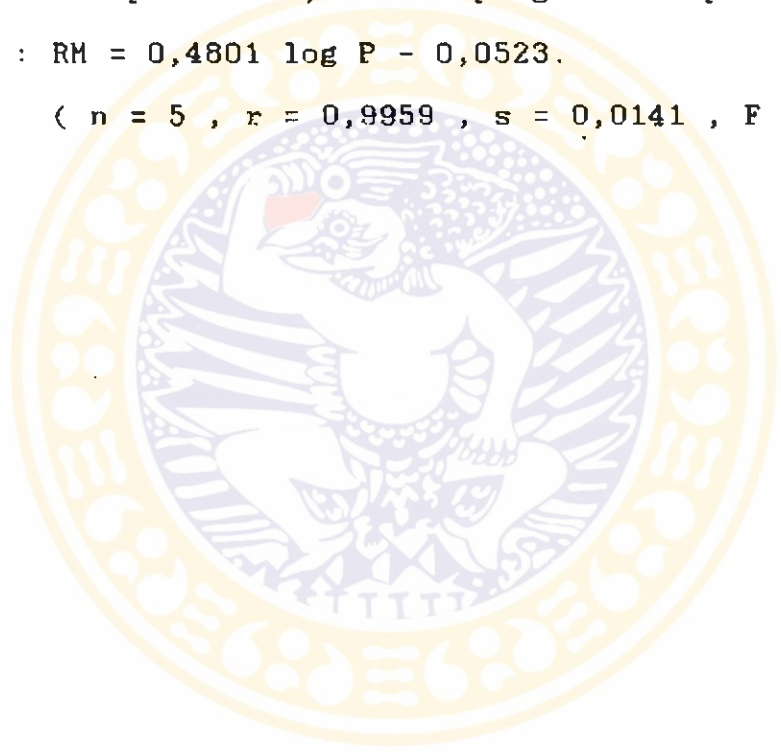
Nilai  $R_M$  diperoleh dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis fase balik dengan menggunakan fase diam n-oktanol yang diimpregnasikan pada lempeng

kromatografi dan fase gerak dapar fosfat pH 7,4-metanol.

Hubungan antara nilai log P dan nilai  $R_M$  dihitung dengan metode statistika yaitu dengan menentukan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) dan persamaan garis regresi yang didapat dievaluasi dengan menggunakan uji anova dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

Dari hasil penelitian diperoleh adanya hubungan linier antara nilai log P dengan nilai  $R_M$  dari senyawa obat turunan penisilin, di samping itu diperoleh garis regresi :  $R_M = 0,4801 \log P - 0,0523$ .

(  $n = 5$  ,  $r = 0,9959$  ,  $s = 0,0141$  ,  $F = 396,5$  )



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1. Latar Belakang Permasalahan

Aktivitas biologis senyawa obat dapat dinyatakan secara kuantitatif dengan suatu parameter kimia fisika, yang dapat dilakukan karena adanya perbedaan sifat kimia fisika yang diakibatkan oleh adanya perbedaan struktur molekul. Struktur molekul menentukan sifat kimia dan juga aktivitas biologis (1).

Pada tahun 1960 Corwin Hansch (2,3) dan kawan-kawan memelopori pendekatan hubungan struktur dan aktivitas biologis obat secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat kimia fisika. Parameter-parameter tersebut adalah (2,4) :

- a. Parameter lipofilik antara lain : logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ), tetapan  $\Pi$  dari Hansch, tetapan  $f$  dari Rekker dan parameter kromatografi ( $R_M$ ).
- b. Parameter elektronik antara lain : tetapan disosiasi ( $pK_a$ ), tetapan  $\sigma$  dari Hammett tetapan  $\sigma^*$  dari Taft, tetapan  $i$  dari Charton dan tetapan  $F$  dan  $R$  dari Swain dan Lupton.
- c. Parameter sterik antara lain : tetapan  $E_s$  dari Taft, parakhor  $[P]$ , tetapan sterik dari Charton ( $U$ ), berat molekul ( $MW$ ), refraksi molar ( $MR$ ), tetapan sterik dari Hancock ( $E_{sc}$ ) dan tetapan dimensi van der Waals

(rav) dari Kutter dan Hansch.

Absorpsi suatu obat dari saluran cerna dan penembusan ke membran dapat bersifat aktif dan pasif. Perjalanan obat menembus berbagai membran biologis sangat dipengaruhi oleh sifat kimia fisika obat itu sendiri yaitu kelarutan obat dalam lemak/air (koefisien partisi) (3,5,6,7).

Faktor lain yang mempengaruhi penembusan obat melalui membran biologis adalah pH larutan, tetapan disosiasi ( $pK_a$ ), ikatan obat dengan protein, kecepatan aliran darah dan mekanisme transportasi (8,9).

Koefisien partisi adalah perbandingan konsentrasi suatu senyawa dalam fase lemak dan dalam fase air. Koefisien partisi merupakan salah satu parameter fisiko kimia untuk mempelajari hubungan struktur dan aktivitas dalam sistem biokimia yang paling sering digunakan. Makin besar nilai  $\log P$  suatu senyawa berarti konsentrasi senyawa dalam fase lemak semakin besar (lipofilitasnya tinggi) dan sebaliknya. Metoda baku pengukuran nilai  $\log P$  adalah metode penggojokan, dengan menggunakan sistem dua pelarut yang tidak saling campur. Kelemahan metode ini antara lain: peka terhadap adanya cemar dalam senyawa yang diselidiki; berbagai senyawa yang sukar larut dalam air atau sangat mudah larut dalam air, mudah menguap, dan mengalami asosiasi atau disosiasi sulit dilaksanakan; jarak  $\log P$  yang



dapat dilakukan -2 hingga 4 dan reproduisibilitasnya biasanya rendah (10,11,12).

Koefisien partisi merupakan petunjuk yang berguna untuk mengetahui kemampuan absorpsi terhadap suatu obat dalam tubuh. Pada penentuan nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) digunakan pelarut oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dimana pH 7,4 merupakan pendekatan pH cairan tubuh/plasma darah (8,10,13). Selanjutnya,  $\log P$  yang dimaksudkan dalam naskah ini adalah  $\log P$  dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4.

Boyce dan Milborrow (14,15) menggunakan metode kromatografi lapis tipis fase balik sebagai parameter sifat lipofilitas untuk meneliti perubahan struktur dari obat dengan aktivitas biologisnya. Parameter lipofilik dengan metode kromatografi lapis tipis fase balik dinyatakan dengan  $R_M$ . Nilai  $R_M$  yang tinggi menunjukkan lipofilitas yang tinggi sebaliknya nilai  $R_M$  yang rendah menunjukkan lipofilitas yang rendah.

Pada penentuan nilai  $R_M$  dengan metode kromatografi lapis tipis fase balik digunakan fase diam yang bersifat non polar dan fase gerak yang bersifat polar. Penggunaan fase diam yang lipofil dimaksudkan untuk pendekatan sistem membran tubuh, sedangkan fase gerak yang bersifat hidrofil untuk pendekatan dari sistem cairan tubuh (7,14).

Penentuan nilai lipofilitas dengan menggunakan  $R_M$

yang dikaitkan dengan aktivitas biologis telah dilakukan oleh Biagi dan kawan-kawan terhadap turunan ester steroida pada tahun 1971 (16,17).

Keuntungan metode kromatografi lapis tipis fase balik adalah dapat dilakukan secara cepat dan murah, deteksi letak bercak kromatogram sederhana, tidak memerlukan metode pemurnian, dapat dilakukan secara simultan untuk beberapa sampel dan dapat dilakukan setiap laboratorium karena hanya menggunakan peralatan yang sederhana (12).

Dibandingkan dengan cara penentuan nilai log P yang sudah umum digunakan untuk pengukuran lipofilitas, maka cara penentuan  $R_M$  jauh lebih mudah dan lebih cepat, terutama untuk senyawa yang lipofilitasnya sangat tinggi atau sangat rendah. Dengan mencari hubungan antara nilai log P dan nilai  $R_M$ , maka nilai log P dari suatu senyawa dapat ditentukan hanya dengan menentukan nilai  $R_M$ . Bila nilai  $R_M$  suatu senyawa diketahui dapat ditentukan berapa nilai log P dari senyawa tersebut (17).

Bila ada hubungan antara nilai log P dengan nilai  $R_M$ , maka hubungannya bersifat linier, tidak akan terjadi hubungan yang bersifat parabolik. Nilai  $R_M$  dihubungkan dengan nilai log P melalui persamaan sebagai berikut :

$$\log P = \log K + R_M$$

K adalah suatu tetapan yang tergantung pada sistem lapis tipis (12,14).

Hubungan ini dapat terjadi pada sistem yang mempunyai kondisi yang mirip terutama dari proses yang terjadi, yaitu proses partisi, juga sangat dipengaruhi oleh pH dan pKa dari senyawa.

Pada penelitian ini dipilih senyawa antibiotika karena antibiotika merupakan obat yang terbanyak digunakan untuk mengatasi infeksi, dimana infeksi merupakan masalah yang terbanyak dihadapi oleh dunia kesehatan di negara-negara sedang berkembang. Jumlah korban yang meninggal karena penyakit-penyakit infeksi masih menduduki peringkat tertinggi (18).

Menurut Waksman, antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan dan bahkan menghancurkan mikroorganisme lain (3). Dipilih turunan penisilin karena sejauh ini penisilin merupakan antibiotika yang paling luas penggunaannya untuk mengatasi berbagai penyakit infeksi (19).

Turunan-turunan dari penisilin didapatkan dengan modifikasi kimia struktur penisilin. Adanya perbedaan struktur dari turunan penisilin akan menyebabkan perbedaan sifat kimia fisika obat yang akan berpengaruh terhadap aktivitas biologis obat (3,19,20,21).

## 2. Permasalahan

Dari uraian di atas, permasalahan yang timbul adalah:

- a. Berapakah nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) dan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.
- b. Bagaimana hubungan antara nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) dengan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.

## 3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Menentukan nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) dan nilai modifikasi retardasi ( $R_M$ ) dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.
- b. Mencari hubungan antara nilai  $\log P$  dengan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.

## 4. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan di atas, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Ada hubungan yang linier antara nilai logaritma

koefisien partisi ( $\log P$ ) dengan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.

#### 5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

- a. Memberikan data-data nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) dan nilai  $R_M$  dari turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4.
- b. Dari persamaan regresi yang diperoleh dapat diketahui hubungan nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$ , juga dapat digunakan untuk menghitung nilai  $\log P$  senyawa lain bila nilai  $R_M$ -nya diketahui.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Hubungan Antara Lipofilitas dengan Aktivitas Biologis

Sebagian besar obat diabsorpsi secara difusi pasif, dimana transportasinya tergantung pada harga pKa obat, pH larutan dan kelarutan obat bentuk tak terionkan dalam lemak untuk dapat menembus membran biologis (8).

Pentingnya sifat terlarut dan masalah transpor suatu senyawa terhadap aktivitas biologis menunjukkan betapa pentingnya tetapan hidrofobik. Parameter koefisien partisi dapat menunjukkan apakah ada afinitas dari senyawa tersebut dengan lipida atau dengan bagian hidrofobik dari protein. Senyawa tersebut di satu pihak harus ditransportasikan antar kompartemen dalam waktu tertentu, di lain pihak senyawa tersebut harus mampu berinteraksi dengan reseptor. Bila suatu senyawa terlalu hidrofil maka senyawa tersebut akan sulit menembus jaringan lipida, sebaliknya bila suatu senyawa terlalu lipofil maka senyawa tersebut akan terikat pada sel-sel lipida (4,14).

Lipofilitas mempunyai kegunaan yaitu meramalkan kemampuan absorpsi obat dalam usus, lambung, rongga bukal, dan kulit, juga sebagai petunjuk untuk

penyimpanan obat dalam lemak, walaupun harus diingat bahwa transpor obat dipengaruhi juga oleh mekanisme transpor yang lain selain cara difusi pasif (8,22).

Hansch dan kawan-kawan telah berhasil menurunkan hubungan antara aktivitas biologis dengan nilai log P dalam oktanol-air yang dinyatakan dengan rumus (4,14):

$$\log A = \log 1/C = a \log P + b$$

dimana:

log A = logaritma aktivitas biologis relatif

log P = logaritma koefisien partisi

C = kadar obat yang diperlukan untuk menimbulkan respon biologis

a, b = tetapan yang didapat dari garis regresi

Dari persamaan di atas terlihat bahwa hubungan antara nilai log P dengan aktivitas biologis bersifat linier.

Hansch juga mengembangkan hubungan tersebut dengan menggunakan harga koefisien partisi yang jumlahnya banyak, ternyata ditemukan hubungan yang parabolik dan dirumuskan sebagai berikut:

$$\log A = \log 1/C = - a (\log P)^2 + b (\log P) + c$$

dimana:

a, b dan c adalah tetapan-tetapan yang didapat dari penggunaan metode least square (4,14).

Dari kedua rumus di atas berarti peningkatan aktivitas biologis sebanding/sejalan dengan peningkatan

lipofilitas, selanjutnya akan dicapai harga yang maksimum dan peningkatan lipofilitas berikutnya akan mengakibatkan penurunan aktivitas biologis.

## 2. Tinjauan Tentang Koefisien Partisi

Bila kedalam suatu sistem, yang terdiri dari dua lapisan zat cair yang tidak larut satu dalam yang lain, contohnya pelarut organik non polar dengan air, ditambahkan suatu zat lain yang larut dalam kedua zat cair tersebut, maka dalam keadaan setimbang, potensial kimia zat terlarut dalam kedua fase itu sama. Dalam termodinamika, potensial kimia zat terlarut dinyatakan dalam persamaan (14):

$$u_1 = u_1^\circ + k T \ln C_1$$

$$u_2 = u_2^\circ + k T \ln C_2$$

dimana :

$C_1$  = konsentrasi zat terlarut dalam fasa pelarut organik.

$C_2$  = konsentrasi zat terlarut dalam fasa air.

$T$  = temperatur.

$k$  = suatu tetapan (konstanta Boltzman)  
konsentrasi gas per molekul.

$u_1^\circ$  dan  $u_2^\circ$  = potensial kimia pada  $C_1 = C_2 = 0$ .

$u_1$  dan  $u_2$  = potensial kimia pada konsentrasi tertentu

Bila dalam keseimbangan maka persamaannya menjadi:



$$u_1 = u_2$$

$$u_1^\circ + k T \ln C_1 = u_2^\circ + k T \ln C_2$$

$$\ln \frac{C_1}{C_2} = \frac{u_2^\circ - u_1^\circ}{k T}$$

Pada suhu tertentu  $u_1$  dan  $u_2$  merupakan tetapan, jadi:

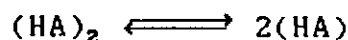
$$\ln \frac{C_1}{C_2} = \text{tetap}$$

sehingga,

$$\frac{C_1}{C_2} = \text{tetap} = P$$

Persamaan di atas dikenal sebagai hukum distribusi, yang menyatakan bahwa bila suatu zat dilarutkan dalam sistem yang terdiri dari dua fasa cair yang tidak saling campur, maka pada suhu tertentu dan dalam keseimbangan, perbandingan konsentrasi zat tersebut dalam kedua fasa tetap. Tetapan P disebut koefisien partisi atau koefisien distribusi (10).

Bila zat tersebut (seperti asam benzoat) mengalami asosiasi pada pelarut organik (pada benzena) dan berada sebagai molekul sederhana dalam fasa air, maka kesetimbangan antara molekul sederhana (HA) dengan molekul terasosiasi  $(HA)_n$  dalam pelarut organik (dimana HA sebagian besar berada dalam bentuk molekul ganda dalam pelarut organik) adalah :



dan tetapan kesetimbangan yang menyatakan disosiasi dari molekul terasosiasi ke dalam molekul sederhana

dalam pelarut organik adalah :

$$K_d = \frac{[HA]^2}{[(HA)_2]}$$

$$\text{atau } [HA] = \sqrt{K_d} \cdot \sqrt{[(HA)_2]}$$

$C_0$  dapat menggantikan  $[(HA)_2]$  dimana  $C_0$  adalah konsentrasi molar total zat terlarut dalam lapisan organik.

Persamaannya dapat ditulis

$$[HA] = \text{tetapan} \times \sqrt{C_0}$$

Koefisien distribusi selalu dinyatakan dalam bentuk zat sederhana yang umum untuk kedua fasa yaitu  $[HA]_w$  dan  $[HA]_o$ . Dalam sistem di atas tetapan distribusi atau koefisien partisi dapat ditulis

$$P = \frac{\sqrt{C_0}}{C_w}$$

dimana  $C_w$  menyatakan konsentrasi molar total dari molekul sederhana dalam fasa air  $[HA]_w$  (23).

Bila zat tersebut mengalami dissosiasi pada pelarut kedua maka persamaannya:

$$P = \frac{C_0'}{C_w(1-\alpha)}$$

dimana  $\alpha$  = derajat ionisasi (8,23).

Koefisien partisi dapat dianggap sebagai (8):

- a. ukuran afinitas relatif obat untuk dua pelarut yang tidak tercampurkan
- b. indeks perbandingan daya kelarutan dalam berbagai pelarut

c. parameter dari kecepatan relatif pemisahan dari satu fasa ke fasa yang lain

Pada umumnya dengan peningkatan polaritas obat akibat adanya ionisasi, adanya gugus hidroksil, karboksil dan golongan amino maka kelarutan dalam air akan lebih meningkat daripada kelarutan dalam lemak, akibatnya koefisien partisi lemak/air turun. Penurunan polaritas obat akibat adanya gugus metil atau metilen dan lainnya menghasilkan penurunan kelarutan dalam air dan peningkatan koefisien partisi lemak/air (8).

Perubahan pH dalam fasa air mengubah derajat disosiasi elektrolit. Bagian non disosiasi lebih banyak larut dalam fasa non polar daripada bagian disosiasinya. Oleh karena itu dengan peningkatan pH, koefisien partisi obat-obat yang bersifat asam menurun dan obat-obat yang bersifat basa meningkat. pH mempunyai pengaruh terhadap penetrasi dan absorpsi elektrolit lemah yang ditranspor oleh difusi pasif karena pH cairan fisiologis pada tempat absorpsi akan menentukan jumlah non disosiasi (8).

Untuk pelarut non polar yang paling sering digunakan pada penelitian koefisien partisi ialah oktanol (2,10). Keuntungan pemakaian oktanol (n-oktanol) adalah (2,9,12):

a. Oktanol mempunyai rantai hidrokarbon yang panjang

sehingga bersifat non polar dan gugus hidroksi yang bersifat polar yang mana sifat kepolaran oktanol ini mendekati kepolaran membran biologis.

- b. Oktanol mempunyai struktur yang tetap, tidak berubah dengan adanya penambahan solut. Stabil secara kimia, tidak mudah menguap, tekanan uap yang sangat rendah, kelarutan dalam air yang kecil, dan toksisitas rendah sehingga kurang berbahaya bagi peneliti.
- c. Adanya ikatan hidrogen menyebabkan oktanol bersifat donor dan akseptor.
- d. Oktanol tidak mengabsorpsi sinar ultra violet sehingga tidak mengganggu penetapan kadar obat.

Selain oktanol, pelarut organik lain yang dapat digunakan adalah: dietil eter, kloroform, butanol, minyak zaitun, benzena dan heptana.

Pelarut polar yang paling sering digunakan adalah air yang didapar pada pH 7,4 sebagai pendekatan model dari cairan biologis (2,10,13).

Collander dan Smith menunjukkan hubungan koefisien partisi bila digunakan pasangan pelarut yang berbeda dengan rumus (11,13):

$$\log P_1 = a \log P_2 + b$$

dimana

a dan b = suatu konstanta.

$P_1$  dan  $P_2$  = koefisien partisi dari obat dalam pasangan

pelarut yang berbeda.

### 3. Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis Fase Balik

Kromatografi lapis tipis fase balik adalah kromatografi lapis tipis dengan fase diam adalah senyawa yang bersifat non polar dan fase gerak adalah senyawa yang bersifat polar. Kromatografi lapis tipis fase balik berlawanan sistemnya dengan kromatografi lapis tipis, dimana pada kromatografi lapis tipis sebagai fase diam adalah senyawa yang polar. Jadi disini yang terbalik adalah hubungan polaritas antara fase diam dan fase gerak (14,17,24).

Pada kromatografi lapis tipis fase balik, komponen cuplikan yang bersifat paling polar akan terelusi terlebih dahulu dan pada jenis kromatografi ini, air yang justru polaritasnya tinggi mempunyai kekuatan sebagai eluen yang paling lemah (24).

Fase diam yang umum digunakan pada kromatografi lapis tipis fase balik adalah parafin cair dalam petroleum eter, atau dapat juga dengan minyak silikon atau oktanol yang dilarutkan dalam eter yang diimpregnasikan pada silika gel. Selain silika gel, dapat juga digunakan poliamida sebagai pendukung fasa diam. Sebagai fase gerak adalah air, air-metanol, air-etanol atau air-aseton. Ada beberapa cara impregnasi yang dapat

dilakukan yaitu mencampur impregtan dalam adsorben sebelum lempeng kromatografi dibuat, mengelusi atau mencelupkan lempeng kromatografi dalam impregtan, impregtan disemprotkan pada lempeng kromatografi atau impregtan diuapkan pada lempeng kromatografi (24).

Kromatografi lapis tipis fase balik adalah salah satu cara untuk menentukan koefisien partisi dari senyawa-senyawa sehingga dapat menunjukkan sifat lipofilitasnya. Sifat lipofilitas ini dinyatakan dengan nilai  $R_M$  (13,14).

$$R_M = \log \left( \frac{1}{R_F} - 1 \right)$$

dimana:

$$R_F = \frac{\text{jarak yang ditempuh solut}}{\text{jarak yang ditempuh solven}}$$

$R_M$  = modifikasi retardasi

$R_F$  = faktor retardasi

Proses pemisahan yang terjadi pada kromatografi lapis tipis fase balik adalah proses partisi antara fase diam dan fase gerak. Fase diam berfungsi sebagai penghambat dan fase gerak sebagai pembawa solut sekaligus sebagai penggerak solut yang bergerak sepanjang fase diam dengan kecepatan yang konstan (24).

Pada kromatografi fasa balik, suatu senyawa yang memiliki nilai  $R_M$  yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa tersebut polaritasnya rendah atau sifat lipofilitasnya

tinggi. Senyawa dengan sifat lipofilitas yang rendah akan mempunyai nilai log P yang rendah (24).

Untuk fragmen dari suatu senyawa dapat pula dinyatakan dengan nilai  $\Delta R_M$ , yang diperoleh dari :

$$\Delta R_M = R_{MX} - R_{MH}$$

$R_{MX}$  adalah nilai  $R_M$  untuk turunan dengan gugus pengganti (substituen), sedangkan  $R_{MH}$  adalah nilai  $R_M$  untuk molekul induk (11,17).

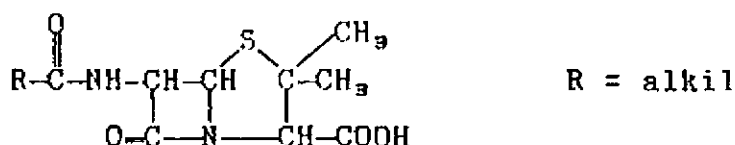
Keuntungan penggunaan metode kromatografi lapis tipis fase balik yaitu (12):

1. Bahan yang diperlukan relatif sedikit
2. Cara pelaksanaannya cepat
3. Dapat untuk menentukan senyawa dengan nilai log P yang sangat tinggi atau rendah

#### 4. Tinjauan Tentang Penisilin

Penisilin adalah antibiotika pertama yang ditemukan oleh Fleming pada tahun 1929. Penisilin yang digunakan dalam pengobatan terbagi dalam penisilin alam dan penisilin semisintetik. Penisilin alam diekstraksi dari biakan *Penicillium chrysogenum*, sedangkan yang semisintetik diperoleh dengan cara mengubah struktur kimia penisilin alam atau dengan cara sintesis dari inti penisilin yaitu asam 6-aminopenisilamat (6-APA). 6-APA dapat diperoleh dengan memecah rantai samping

sebagai bahan dasar untuk penisilin semisintetik (3,19,20,21,25,26).



Gambar 1. Struktur umum turunan penisilin

Penisilin merupakan asam organik, terdiri dari inti siklik dengan satu rantai samping. Inti siklik terdiri dari cincin tiazolidin dan cincin betalaktam. Rantai samping merupakan gugus amino bebas yang dapat mengikat berbagai jenis radikal. Dengan mengikat berbagai radikal pada gugus amino bebas tersebut akan diperoleh berbagai jenis penisilin (turunan-turunannya) (19,20).

Cincin  $\beta$ -laktam adalah syarat mutlak untuk aktivitasnya, jika cincin ini terbuka karena pengaruh enzim  $\beta$  laktamase (penisilinase), maka aktivitasnya lenyap. Beberapa penisilin akan berkurang aktivitas antimikrobanya dalam suasana asam sehingga penisilin kelompok ini harus diberikan secara parenteral. Penyebab utama menurunnya absorpsi oral penisilin adalah peruraian terkatalis asam dalam lambung. Radikal tertentu pada gugus amino inti 6-APA dapat mengubah sifat kerentanan terhadap asam, terhadap penisilinase, serta spektrum sifat antimikroba (3,25,27).

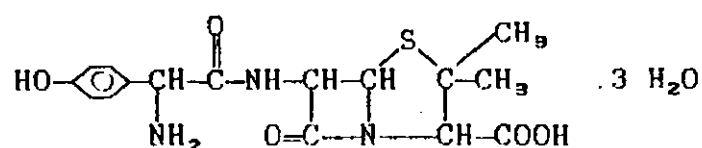


Pada penelitian ini digunakan ampisilin, amoksisilin, kloksasilin, dikloksasilin dan flukloksasilin dimana ampisilin dan amoksisilin merupakan turunan penisilin dengan spektrum antimikroba yang luas dan tahan terhadap asam, sedangkan kloksasilin, dikloksasilin dan flukloksasilin merupakan turunan penisilin dengan spektrum antimikroba yang sempit dan tahan terhadap penisilinase (19,20).

Mekanisme kerja penisilin adalah dengan menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba. Terhadap mikroba yang sensitif, penisilin akan menghasilkan efek bakterisid pada mikroba yang sedang aktif membelah. Mikroba dalam keadaan metabolik tidak aktif (tidak membelah), praktis tidak dipengaruhi oleh penisilin, walaupun ada pengaruhnya hanya bersifat bakteristatik (19,20,25).

#### 4.1. Tinjauan tentang amoksisilin trihidrat

Amoksisilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap asam, mempunyai spektrum antimikroba yang luas dan mempunyai rumus molekul  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ .



Gambar 2. Struktur kimia amoksisilin trihidrat (35)

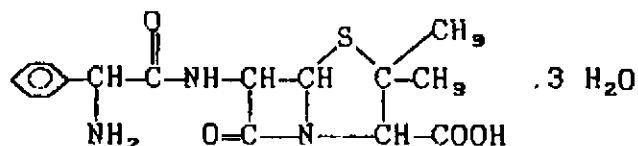
Nama kimia amoksisilin adalah  $\alpha$ -amino-p-hidroksi benzilpenisilin (30).

Amoksisilin trihidrat mempunyai rumus molekul  $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ . Amoksisilin trihidrat berbentuk serbuk hablur sangat halus, putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, larut dalam 400 bagian air, dalam 1000 bagian etanol dan dalam 200 bagian metanol, praktis tidak larut dalam eter, kloroform dan minyak noda. Larutan 0,2% dalam air pH 3,5 hingga 5,5 (28,31). Amoksisilin trihidrat mempunyai berat molekul 419,4. Amoksisilin mempunyai konstanta disosiasi (pKa) sebesar 2,4; 7,4; 9,6 (33).

Amoksisilin mempunyai fungsi terapi yang sama seperti ampisilin (28). Amoksisilin cepat terserap jika diberikan per oral, didistribusikan merata ke seluruh jaringan tubuh. Dibandingkan dengan ampisilin, pemberian dosis yang sama dapat menghasilkan kadar plasma puncak hingga 2 kali lebih besar (28,31).

#### 4.2. Tinjauan tentang ampisilin trihidrat

Ampisilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap asam, mempunyai spektrum antimikroba yang luas dan mempunyai rumus molekul  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ .



Gambar 3. Struktur kimia ampisilin trihidrat (20,29)

Nama kimia ampisilin adalah D(-)- $\alpha$ -aminobenzil penisilin (30).

Ampisilin trihidrat mempunyai rumus molekul  $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$ . Berbentuk serbuk hablur sangat halus, putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, rasa pahit. Larutan 0,25% dalam air pH 3,5 hingga 5,5. Larut dalam 150 bagian air, praktis tidak larut dalam aseton, etanol, eter, kloroform dan minyak noda (28,31). Ampisilin trihidrat mempunyai berat molekul 403,4 dan melebur pada suhu  $204^{\circ}C$  dengan dekomposisi, penghilangan warna dan pelepasan gas (28,32). Ampisilin mempunyai konstanta disosiasi (pKa) sebesar 2,5 (-COOH); 7,3 (-NH<sub>2</sub>) pada suhu  $25^{\circ}C$  (33).

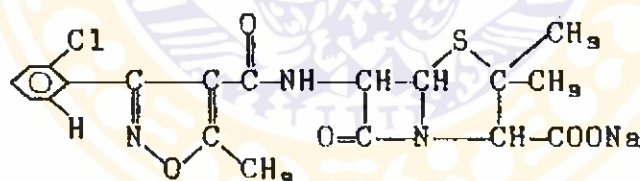
Ampisilin digunakan untuk mengobati infeksi saluran pernafasan seperti pneumonia dan bronkitis, efektif terutama jika penyebabnya adalah *Haemophilus influenzae*, meskipun terbukti strain yang resisten tampak meningkat. Tidak efektif jika digunakan pada pneumonia mikoplasma dan infeksi yang disebabkan oleh jasad renik penghasil penisilinase. Juga digunakan untuk mengobati infeksi saluran kemih yang dise-

babkan oleh *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* dan *Streptococcus faecalis*, pengobatan gonorrhoea dan meningitis yang disebabkan *Listeria monocytogenes* (28,31).

Ampisilin relatif stabil dalam sekresi asam lambung dan terserap baik dari saluran cerna setelah pemberian per oral. Penyerapannya dipengaruhi oleh makanan. Dalam sirkulasi ampisilin terikat pada protein plasma hingga 20% (28,31).

#### 4.3. Tinjauan tentang kloksasilin natrium

Kloksasilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap penisilinase, mempunyai spektrum antimikroba yang sempit dan mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{18}ClN_5O_5S$ .



Gambar 4. Struktur kimia kloksasilin natrium (20,35)

Nama kimia kloksasilin adalah [3-(o-kloro-fenil)-5-metil-4-isoksazolil]penisilin (30).

Kloksasilin natrium mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{17}ClN_5NaO_5S \cdot H_2O$ . Berbentuk serbuk hablur higroskopik, putih, tidak berbau, rasa sangat pahit, larut dalam 2,5 bagian air, dalam 30 bagian etanol

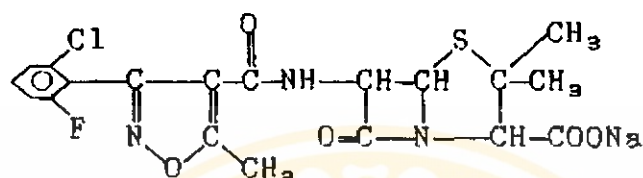
dan dalam 500 bagian kloroform. Larutan 10% dalam air pH 5 hingga 7. Larutan yang mengandung 2,5% hingga 20% akan kehilangan aktivitasnya lebih kurang 5% jika disimpan 7 hari pada suhu rendah, jika disimpan pada suhu 25°C selama 4 hari kehilangan aktivitasnya menjadi lebih kurang 15% (28,31). Kloksasilin natrium mempunyai berat molekul 475,9 dan melebur mulai suhu 170°C dengan dekomposisi (berubah jadi coklat) (28,32,34). Kloksasilin mempunyai konstanta disosiasi (pKa) sebesar 2,7 pada suhu 25°C (33).

Kloksasilin digunakan untuk terapi infeksi yang disebabkan stafilokokus yang resisten terhadap benzil penisilin, juga untuk infeksi campur yang disebabkan streptokokus dan stafilokokus, jika stafilokokus resisten terhadap penisilin. Kadang-kadang dikombinasi dengan ampisilin untuk terapi infeksi yang disebabkan jasad renik gram negatif penghasil  $\beta$  laktamase, karena kloksasilin dapat menghambat kerusakan ampisilin (28,31).

Kloksasilin diserap melalui saluran cerna, tetapi penyerapannya berkurang dengan adanya makanan dalam lambung atau usus halus. Lebih kurang 94% kloksasilin dalam sirkulasi terikat pada protein plasma (28,31).

#### 4.4. Tinjauan tentang flukloksasilin natrium

Flukloksasilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap penisilinase, mempunyai spektrum antimikroba yang sempit dan mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{17}ClFN_3O_5S$ .



Gambar 5. Struktur kimia flukloksasilin natrium (20)

Nama kimia flukloksasilin adalah 3-(2-kloro-6-fluorofenil)-5-metil-4-isoksazolilpenisilin (30).

Flukloksasilin natrium mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S \cdot H_2O$ . Berbentuk serbuk hablur putih, khas pahit, larut dalam 1 bagian air, 8 bagian aseton dan dalam 8 bagian etanol. Larutan 10% dalam air mempunyai pH lebih kurang 6 (28,31). Berat molekul flukloksasilin natrium adalah 493,9. Flukloksasilin mempunyai konstanta disosiasi ( $pK_a$ ) sebesar 2,7 (33).

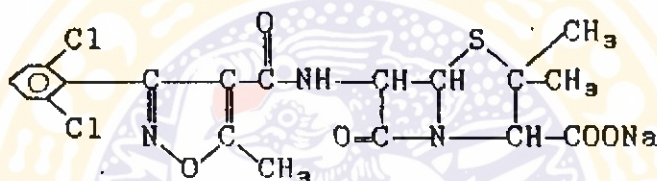
Flukloksasilin digunakan untuk terapi infeksi stafilocokus yang resisten terhadap benzil penisilin, juga untuk infeksi streptokokus campur dan stafilocokus yang resisten terhadap penisilin (28,31).

Flukloksasilin seperti dikloksasilin natrium, lebih mudah diserap dari saluran cerna dibandingkan terhadap kloksasilin natrium. Penyerapan dihambat

oleh makanan dalam lambung atau usus halus. Lebih kurang 95% flukloksasilin dalam sirkulasi terikat pada protein plasma (28,31).

#### 4.5. Tinjauan tentang dikloksasilin natrium

Dikloksasilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap penisilinase, mempunyai spektrum antimikroba yang sempit dan mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_5S$ .



Gambar 6. Struktur kimia dikloksasilin natrium (20)

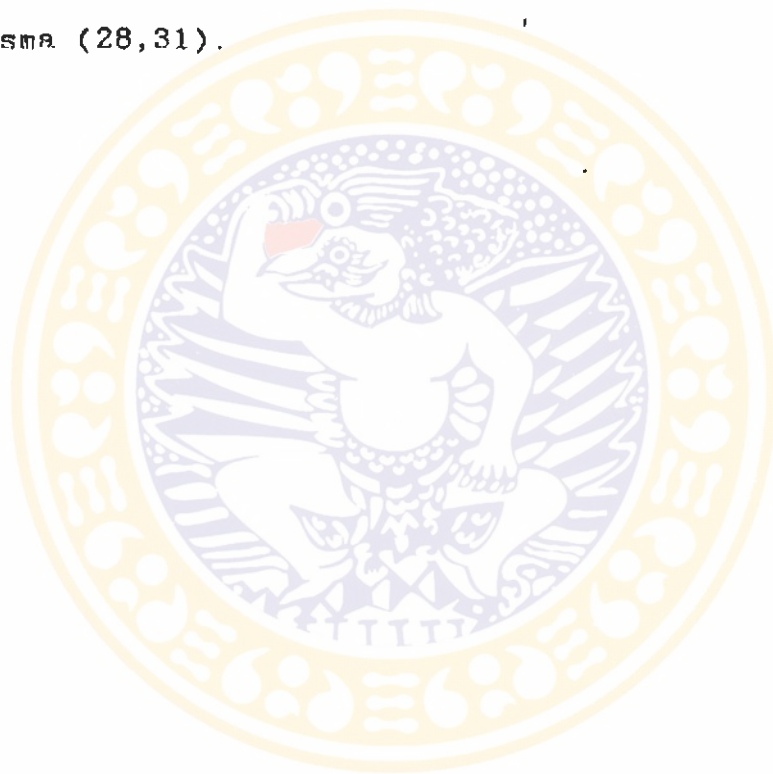
Nama kimia dikloksasilin adalah 3-(2,6-diklorofenil)-5-metil-4-isoksazolil-penisilin (30).

Dikloksasilin natrium mempunyai rumus molekul  $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S \cdot H_2O$ . Berbentuk serbuk hablur, tidak berwarna, pahit, sangat mudah larut dalam air, larut dalam metanol, tidak larut dalam eter (28,31). Dikloksasilin natrium mempunyai berat molekul 510,3 dan melebur mulai suhu  $215^{\circ}C$  dengan dekomposisi (berubah jadi hitam) (28,32).

Dikloksasilin digunakan untuk terapi infeksi stafilokokus yang resisten terhadap benzil penisilin, untuk terapi streptokokus campur atau pneumokokus dan

infeksi stafilokokus yang resisten terhadap penisilin (28,31).

Dikloksasilin mudah diserap pada pemberian per oral, tetapi dihambat makanan dalam lambung dan usus halus. Penyerapan dikloksasilin lebih besar dibandingkan terhadap kloksasilin atau oksasilin. Lebih kurang 96% dikloksasilin terikat kuat pada protein plasma (28,31).





### BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 1. Bahan

Amoksisilin trihidrat	(P.T. Sandoz Biochemie Farma Indonesia)
Ampisilin trihidrat	(P.T. Medifarma Laboratories Inc.)
Kloksasilin Natrium	(P.T. Meiji Indonesian Phar- maceutical Industries)
Flukloksasilin Natrium	(P.T. Smith Kline Beecham Pharmaceuticals)
Dikloksasilin Natrium	(Pharmachim)
n-Oktanol p.a	(E.Merck)
Eter p.a	(E.Merck)
Metanol p.a	(E.Merck)
Natrium dihidrogen fosfat p.a	(E.Merck)
Dinatrium hidrogen fosfat p.a	(E.Merck)
Hidroksilamin hidroklorid	
Natrium hidroksida	
Asam hidroklorid	
Ferri klorida	
Kalium kupri tartrat	
Air suling	

## 2. Alat

Neraca analitis Sartorius 2472

Spectrophotometer Hitachi dual wavelength double beam type 557

Peralatan penentuan titik leleh (Electrothermal)

Bejana kromatografi

Lempeng kromatografi silika gel 60 GF 254 (E.Merck)

Lampu UV Topcon PUV-1

Alat-alat gelas

pH meter Fisher Accumet model 230 A

## 3. Metode Penelitian

### 3.1. Analisis kualitatif terhadap bahan penelitian

#### 3.1.1. Pemeriksaan organoleptis

Meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa.

#### 3.1.2. Analisis reaksi warna

Untuk menentukan adanya turunan penisilin dapat dilakukan analisis reaksi warna sebagai berikut (32):

- a. Dilarutkan 5,0 mg zat dalam 3,0 ml air, ditambah 0,1 g hidroksilamin hidroklorid, 1,0 ml natrium hidroksida (80 g/l) dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1,3 ml asam hidroklorid (70 g/l) dan 10 tetes ferri klorid (25 g/l).
- b. Dilarutkan 10 mg zat dalam 1,0 ml air dan ditambahkan 2,0 ml campuran dari 2,0 ml kalium

kupri tartrat dan 6,0 ml air.

- c. Dilarutkan 5 mg zat dalam 1,0 ml air dan ditambahkan 1-2 tetes ferri klorid (25 g/l).

Untuk membedakan masing-masing turunan penisilin, selanjutnya dilakukan penentuan titik lebur masing-masing bahan.

### 3.1.3. Penentuan titik lebur

Sedikit bahan digerus halus kemudian dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang salah satu ujungnya tertutup, selanjutnya pipa kapiler dimasukkan ke dalam alat penentuan titik lebur (Electrothermal) dan diamati suhu dimana bahan tersebut mulai melebur sampai semua bahan melebur.

## 3.2. Penentuan nilai log P dalam sisten oktanol-dapar fosfat pH 7,4 (10,12,13)

### 3.2.1. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4

Ditimbang natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) sebanyak 0,21 gram, kemudian ditambah air suling sampai larut.

Ditimbang dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) sebanyak 1,91 gram, kemudian ditambah air suling sampai larut.

Kedua larutan tersebut dicampur, ditambah air suling sampai 100 ml.

Diuji pH dengan pH meter.

### 3.2.2. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Ke dalam corong pisah dimasukkan 100 ml dapar fosfat pH 7,4 lalu dimasukkan pula oktanol sebanyak 100 ml ke dalamnya. Digojog selama 15 menit. Campuran didiamkan selama 24 jam. Kemudian lapisan n-oktanol dan dapar fosfat pH 7,4 dipisahkan.

### 3.2.3. Pembuatan larutan baku turunan penisilin

Dibuat larutan baku untuk tiap-tiap turunan penisilin yang digunakan dalam penelitian yaitu larutan baku dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol.

Tiap-tiap turunan penisilin yang digunakan dalam penelitian ini diperlakukan sebagai berikut:

Ditimbang dengan seksama masing-masing turunan penisilin sebanyak 50 mg, dan dilarutkan dengan menggunakan pelarut dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol sampai 50 ml. Kemudian diencerkan dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol sampai diperoleh kadar larutan baku masing-masing dengan rentang antara 100 sampai dengan 500  $\mu\text{g/ml}$  tergantung kadar masing-masing bahan.

#### 3.2.4. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengamati nilai serapan tiap-tiap larutan baku turunan penisilin dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 200-380 nm.

#### 3.2.5. Pembuatan kurva baku turunan penisilin

Diamati serapan masing-masing larutan baku turunan penisilin pada panjang gelombang maksimum. Dari hasil pengamatan dibuat kurva dan persamaan garis regresi yang menyatakan hubungan kadar larutan baku tiap-tiap turunan penisilin dengan serapan pada panjang gelombang maksimum.

Untuk blangko digunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol.

#### 3.2.6. Penentuan logaritma koefisien partisi turunan penisilin

Ditimbang dengan seksama masing-masing 50 mg turunan penisilin, kemudian masing-masing diperlakukan sebagai berikut :

Zat dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol sampai 100 ml. Dipipet 10 ml masukkan dalam labu ukur, diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol sampai 25 ml, sehingga

diperoleh larutan turunan penisilin dengan konsentrasi 200µg/ml. Kemudian dipipet 20 ml, dimasukkan ke dalam corong pisah. Ditambahkan juga ke dalam corong pisah tersebut n-oktanol jenuh dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 20 ml. Digojog selama 15 menit kemudian didiamkan selama 24 jam. Fase n-oktanol dan dapar fosfat pH 7,4 dipisahkan. Serapan fasa air (dapar fosfat pH 7,4) diamati pada panjang gelombang maksimum. Untuk blangko digunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol.

Percobaan dilakukan dengan replikasi 5 kali.

$C_o$  = kadar sampel dalam fasa n-oktanol

$C_w$  = kadar sampel dalam fasa air

$$\text{Koefisien partisi (P)} = \frac{C_o}{C_w}$$

### 3.3. Penentuan nilai $R_M$ (12)

#### 3.3.1. Pembuatan larutan impregnasi atau pelapis (36)

3 ml n-oktanol jenuh dapar fosfat pH 7,4 ditambah eter sampai 100 ml, kemudian diaduk sampai homogen.

#### 3.3.2. Impregnasi lempeng kromatografi

Lempeng kromatografi dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan larutan impregnasi yaitu larutan 3% n-oktanol jenuh dapar fosfat pH 7,4 dalam eter. Didiamkan selama 24 jam, kemudian diangkat dan dikeringkan.

### 3.3.3. Penentuan nilai $R_M$ turunan penisilin

Fase diam yang dipakai yaitu 3% n-oktanol jenuh dalam eter yang dilapiskan pada lempeng kromatografi dari silika gel 60 GF 254. Bejana kromatografi dijenuhkan dengan fase gerak. Untuk fase gerak digunakan campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4 dengan lima macam konsentrasi metanol yaitu 30% v/v, 35% v/v, 40% v/v, 45% v/v, dan 50% v/v.

Masing-masing turunan penisilin dilarutkan dalam metanol lalu ditotolkan pada lempeng kromatografi. Lempeng kromatografi tersebut kemudian dimasukkan dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan fase gerak. Didiamkan sampai eluen naik  $\pm 15$  cm lalu dikeringkan. Setelah kering noda dilihat di bawah lampu ultra violet. Untuk masing-masing konsentrasi metanol dilakukan replikasi sebanyak 5 kali.

### 3.4. Analisis data (37,38)

Dari hasil pengamatan akan diperoleh dua variabel yaitu:

- variabel x : nilai log P dari amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, flukloksasilin dan dikloksasilin.
- variabel y : nilai  $R_M$  dari amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, flukloksasilin dan dikloksasilin.

Selanjutnya data tersebut dimasukkan dalam tabel

berikut :

Penisilin	x	y	xy	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
Amoksisilin					
Ampisilin					
Kloksasilin					
Dikloksasilin					
Flukloksasilin					
	$\Sigma x$	$\Sigma y$	$\Sigma xy$	$\Sigma x^2$	$\Sigma y^2$

Nilai log P dan nilai R<sub>M</sub> dari masing-masing turunan penisilin ditentukan nilai rata-ratanya dan standar deviasinya:

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}{n - 1}}$$

SD = standar deviasi

x = nilai log P atau nilai R<sub>M</sub>

n = jumlah sampel

Untuk mengetahui ada tidaknya korelasi linier antara variabel x dengan variabel y dilakukan perhitungan koefisien korelasi.

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

r = koefisien korelasi

n = jumlah sampel

Jika harga r<sub>hitung</sub> > r<sub>tabel</sub> maka dapat disim-



pulkan terdapat korelasi linier antara variabel  $x$  dengan variabel  $y$ , untuk selanjutnya dapat dibuat persamaan garis regresinya dengan rumus sebagai berikut :

$$y = bx + a$$

dimana

$$b = \frac{n \cdot \Sigma xy - (\Sigma x) \cdot (\Sigma y)}{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$a = \frac{\Sigma y - b \cdot \Sigma x}{n}$$

Untuk mengevaluasi persamaan garis regresi, digunakan uji Anova pada  $\alpha = 0,05$  dengan :

$H_0$  : tidak ada korelasi linier antara  $x$  dan  $y$

$H_a$  : ada korelasi linier antara  $x$  dan  $y$

Sumber Variasi	derajat bebas	SS	MS	F Hitung
Regresi linier	1	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\frac{\Sigma(y_c - y)^2}{\Sigma(y - y_c)^2 / n - 2}$
Residual	$n - 2$	$\Sigma(y - y_c)^2$	$\Sigma(y - y_c)^2 / n - 2$	
Total	$n - 1$	$\Sigma(y - \bar{y})^2$		

dimana :

$y_c$  = nilai  $y$  yang didapat dari persamaan garis regresi

$\bar{y}$  = nilai  $y$  rata-rata

$n$  = jumlah sampel

Apabila harga  $F_{hitung} > F_{tabel}$  maka  $H_0$  ditolak atau dapat dikatakan bahwa persamaan garis regresi

yang didapat cukup representatif untuk menggambarkan korelasi linier antara variabel  $x$  dengan variabel  $y$  (37,38).



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### 1. Uji Kualitatif Turunan Penisilin

##### 1.1. Uji organoleptis

Dari hasil uji organoleptis yang dilakukan untuk turunan penisilin diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 1.

Tabel 1  
Hasil uji organoleptis dari turunan penisilin

Turunan Penisilin	Bentuk	Bau	Rasa	Warna
Amoksisilin	serbuk hablur	tidak berbau	tidak berasa	putih
Ampisilin	serbuk hablur	tidak berbau	pahit	putih
Kloksasilin	serbuk hablur	tidak berbau	sangat pahit	putih
Flukloksasilin	serbuk hablur	tidak berbau	khas pahit	putih
Dikloksasilin	serbuk hablur	tidak berbau	pahit	putih

Keterangan : sesuai dengan pustaka (28,31)

## 1.2. Reaksi warna

Tabel 2  
Hasil uji reaksi warna dari turunan penisilin

Turunan Penisilin	Reaksi		
	zat+hidroksilamin HCl+NaOH+HCl+FeCl <sub>3</sub>	zat+KCu Tartrat	zat+ FeCl <sub>3</sub>
Amoksisilin	larutan jernih merah ungu	larutan ungu	larutan ungu kuning
Ampisilin	larutan jernih merah ungu	larutan ungu	larutan kuning
Kloksasilin	larutan jernih merah ungu	larutan biru muda	endapan putih kuning
Flukloksasilin	larutan jernih merah ungu	larutan biru muda	endapan kuning hijau
Dikloksasilin	larutan jernih merah ungu	larutan biru muda	endapan hijau kuning

Keterangan : sesuai dengan pustaka (32)

## 1.3. Penentuan titik lebur turunan penisilin

Tabel 3  
Hasil penentuan titik lebur dari turunan penisilin

Turunan Penisilin	Titik lebur (°C)	Pustaka (°C)
Amoksisilin	207 - 210	-
Ampisilin	204 - 205	204
Kloksasilin	170 - 173	170
Flukloksasilin	205 - 208	-
Dikloksasilin	213 - 216	215

## 2. Penentuan Nilai Logaritma Koefisien Partisi Turunan Penisilin

### 2.1. Penentuan panjang gelombang maksimum

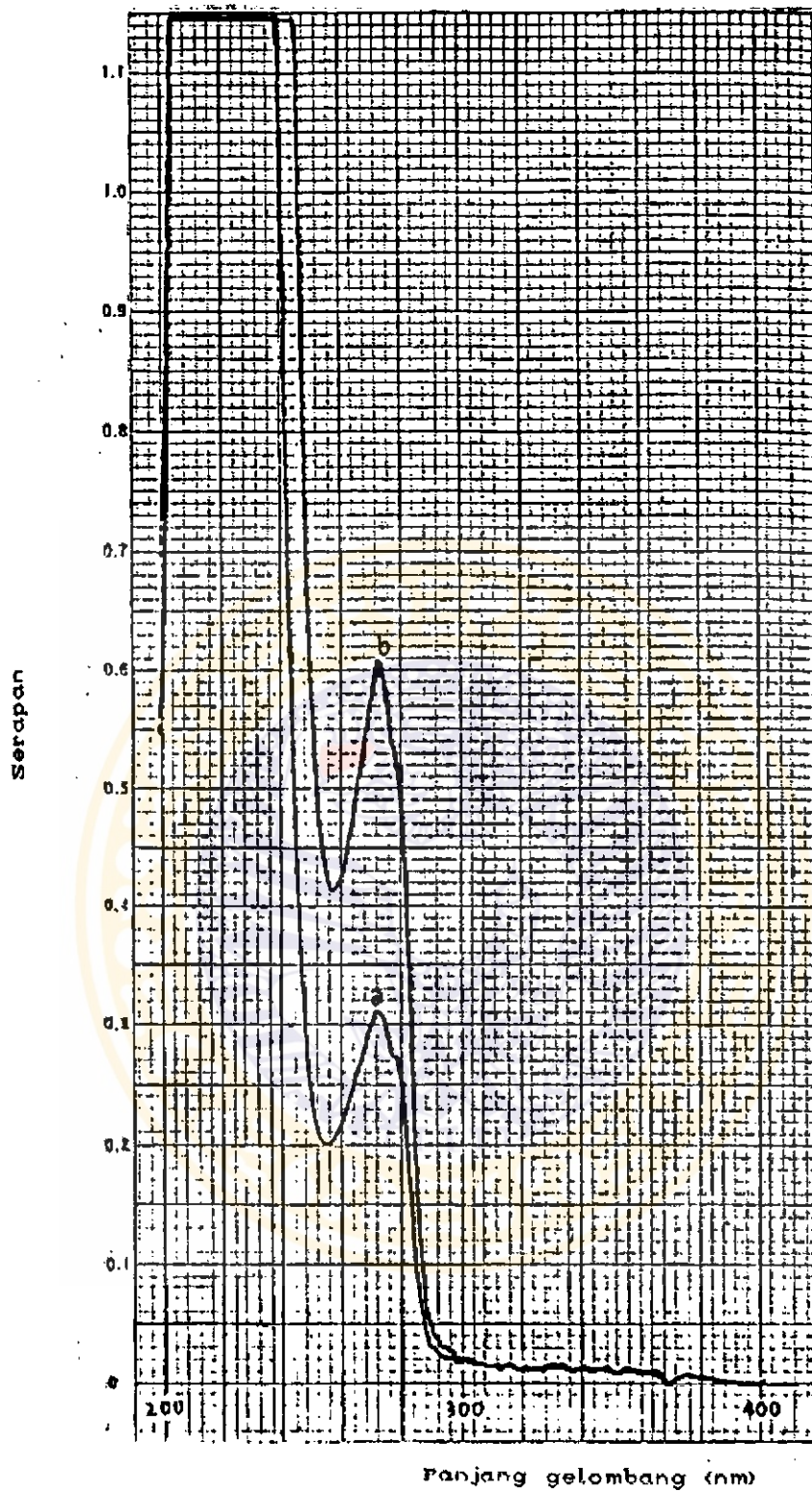
Hubungan antara serapan dengan panjang gelombang turunan penisilin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol ditunjukkan oleh spektrogram pada gambar 7 sampai gambar 11.

Dari spektrogram tersebut dapat ditentukan panjang gelombang masing-masing turunan penisilin seperti yang terlihat pada tabel 4.

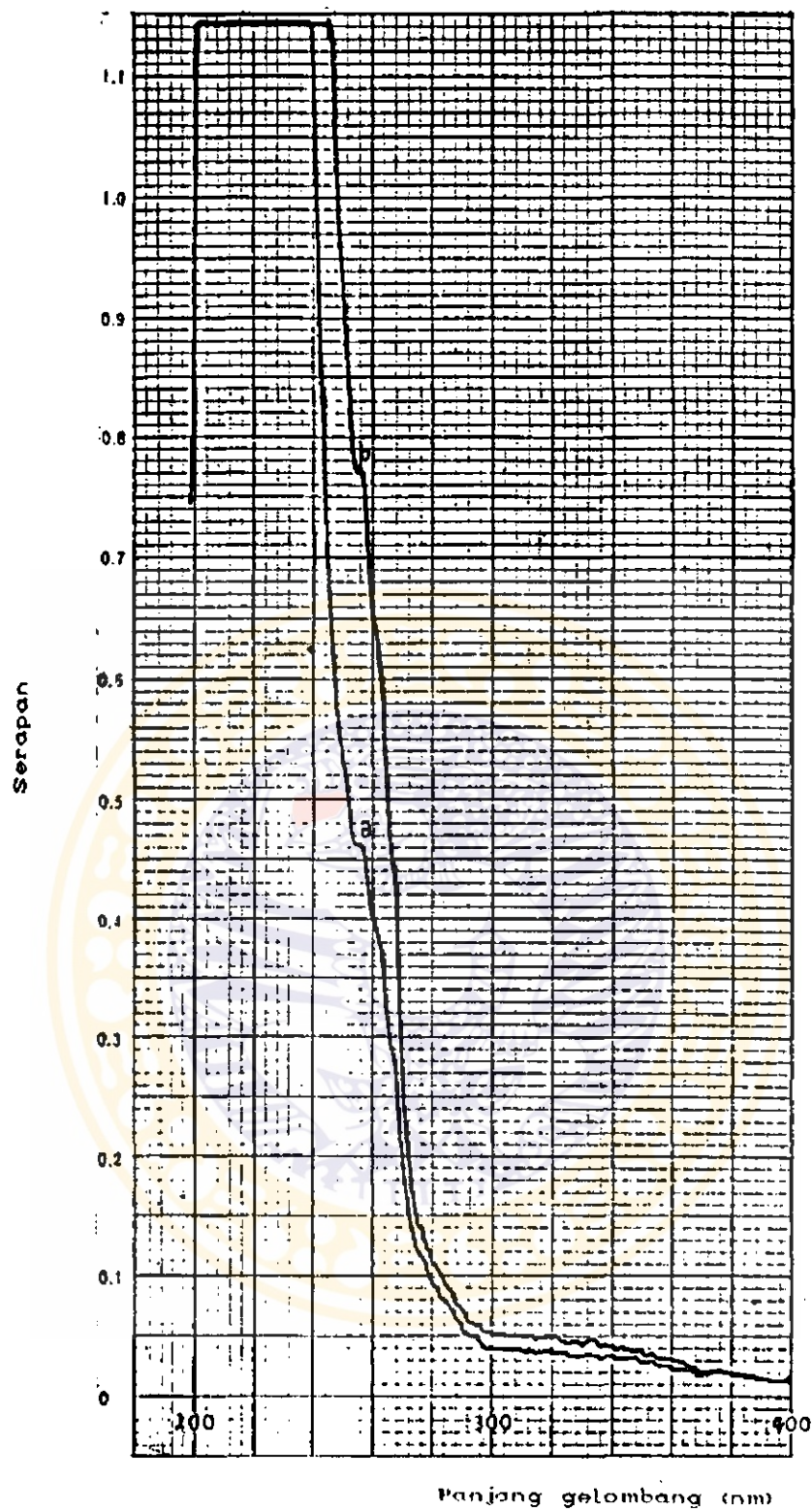
Tabel 4  
Panjang gelombang maksimum turunan penisilin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Turunan Penisilin	Panjang gelombang maksimum (nm)
Amoksisilin	272
Ampisilin	256
Kloksasilin	272
Flukloksasilin	273
Dikloksasilin	274

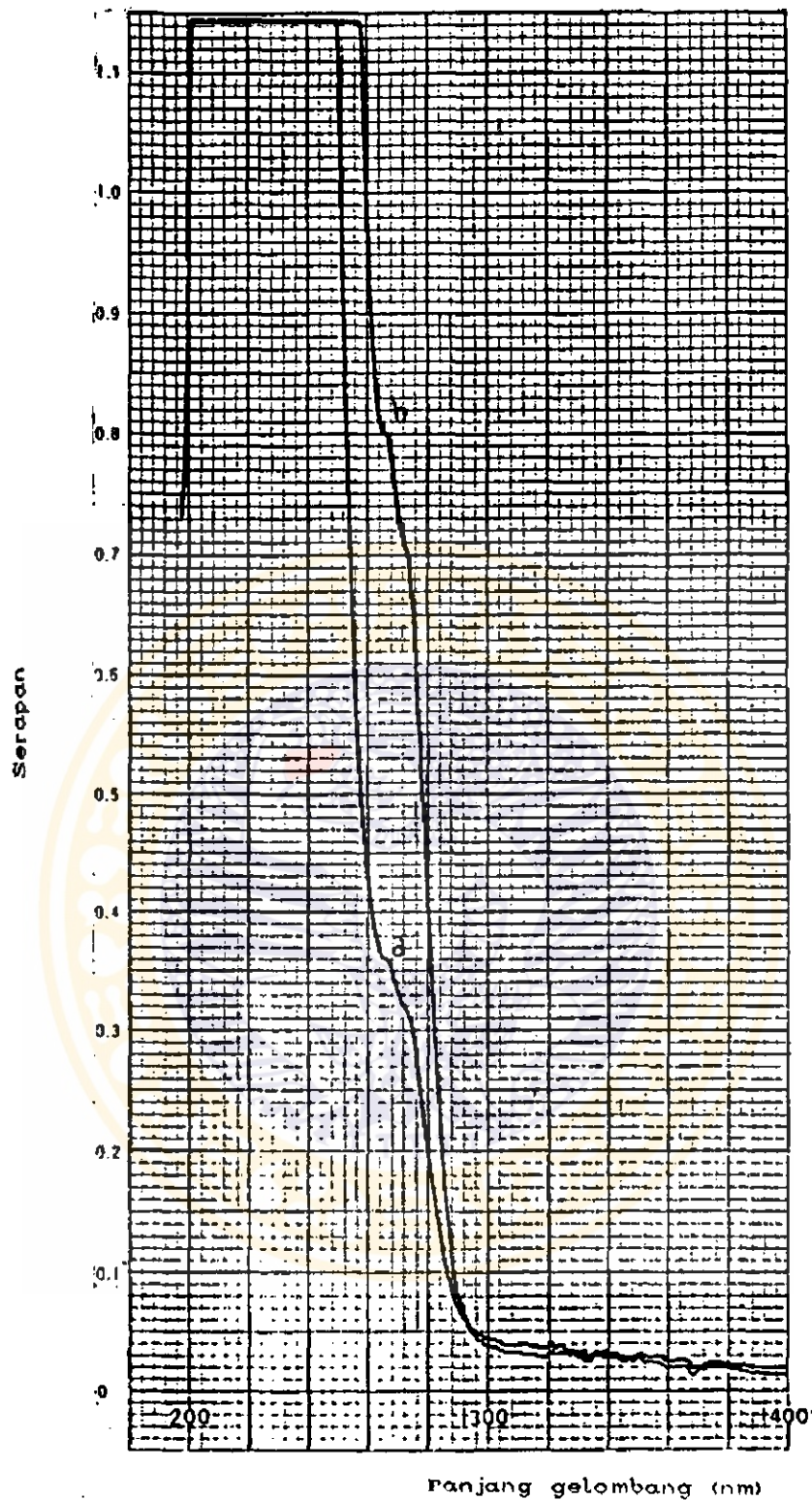
Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa panjang gelombang maksimum dari masing-masing turunan penisilin di atas 240 nm, hal ini sesuai karena pada penelitian ini digunakan larutan dapar fosfat jenuh n-oktanol dimana pada panjang gelombang di bawah 240 nm oktanol akan memberikan serapan (12).



Gambar 7. Hubungan antara serapan larutan baku amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang.  
a = 100 µg/ml ; b = 200 µg/ml

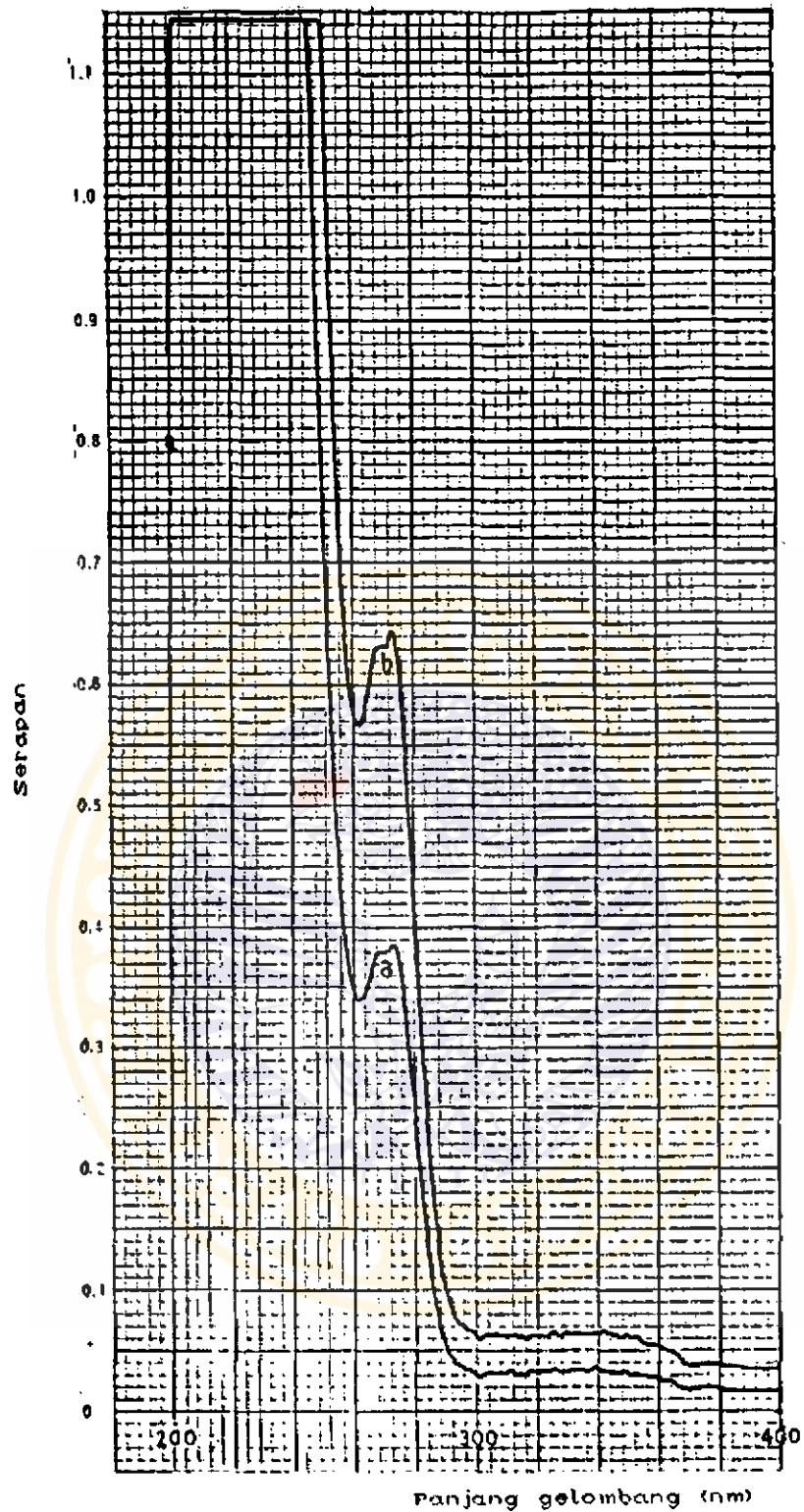


Gambar 8. Hubungan antara serapan larutan baku ampicilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang.  
 $a = 400,8 \mu\text{g/ml}$  ;  $b = 801,6 \mu\text{g/ml}$

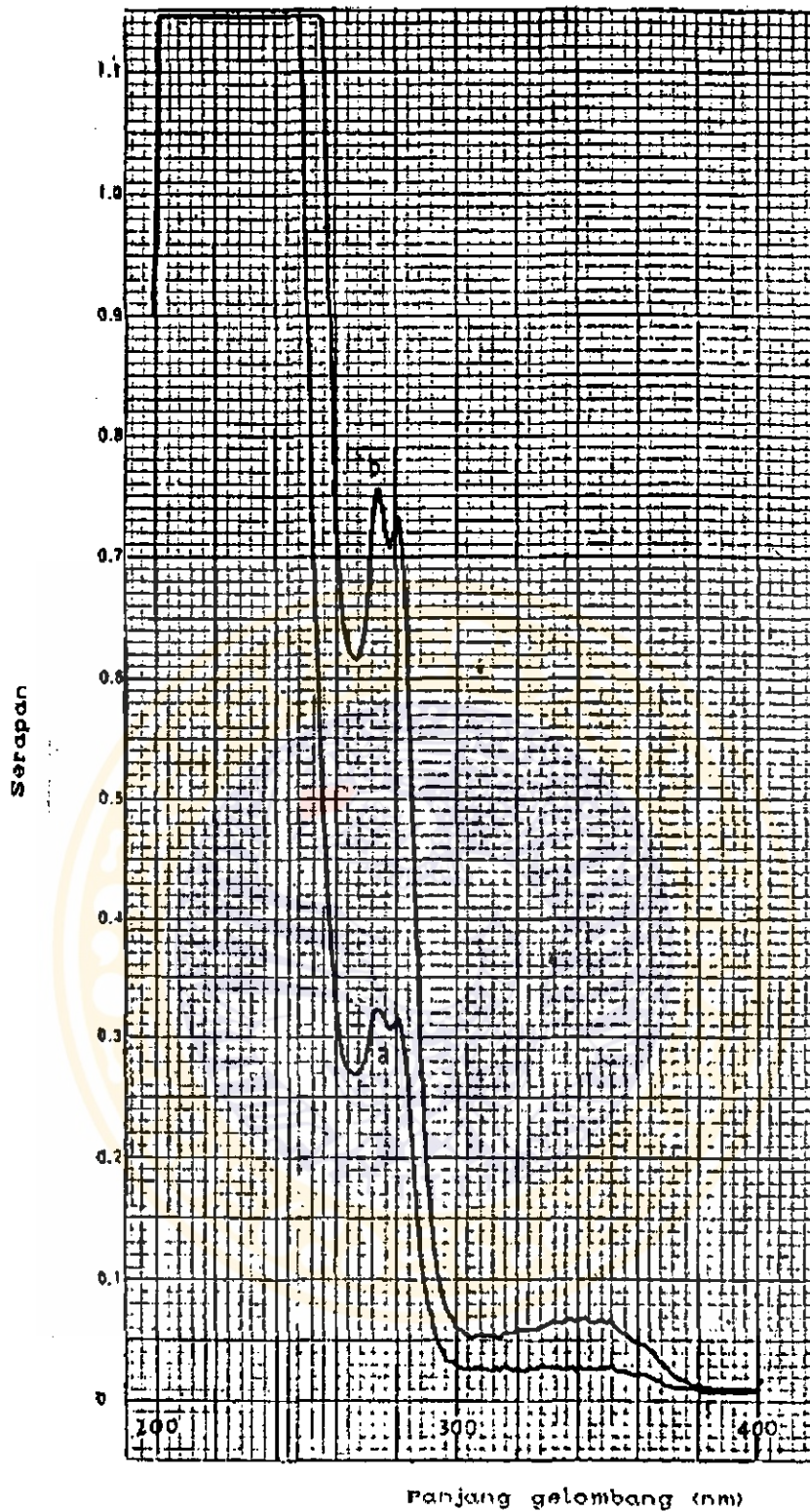


Gambar 9. Hubungan antara serapan larutan baku kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang.  
a = 200 µg/ml ; b = 600 µg/ml





Gambar 10. Hubungan antara serapan larutan baku flu-kloksasilin dalam depar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang.  
a = 150 µg/ml ; b = 250 µg/ml



Gambar 11. Hubungan antara serapan larutan baku dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dari dua kadar terhadap panjang gelombang.  
 a = 200 µg/ml ; b = 500 µg/ml

## 2.2. Pembuatan kurva baku turunan penisilin

### 2.2.1. Kurva baku larutan amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Hasil pengamatan serapan larutan baku amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dapat dilihat pada tabel 5.

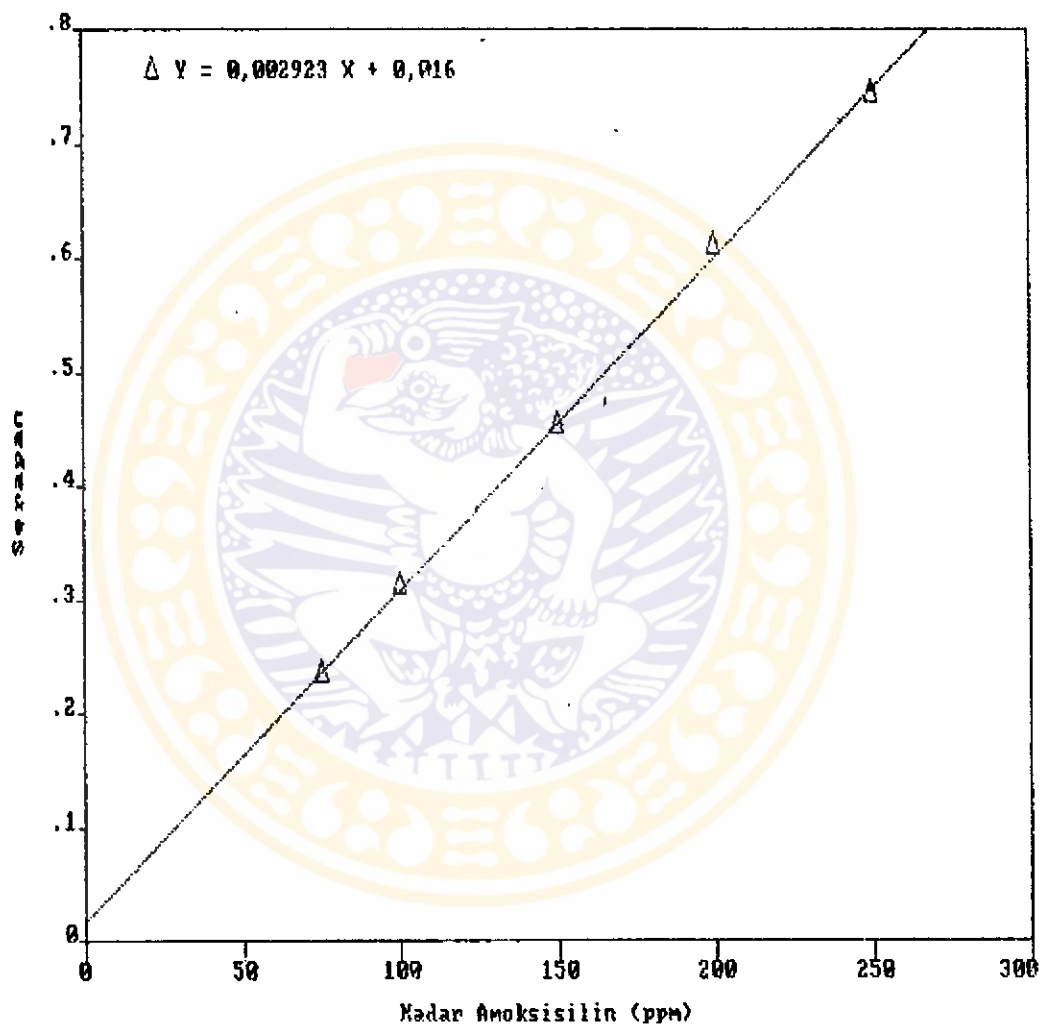
Tabel 5  
Nilai serapan larutan baku amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 272 nm

Kadar amoksisilin ( $\mu\text{g/ml}$ )=(X)	Serapan	Rata-rata serapan (Y)
75	0,236	0,232
75	0,232	
75	0,229	
100	0,313	0,310
100	0,308	
100	0,309	
150	0,440	0,452
150	0,467	
150	0,449	
200	0,609	0,609
200	0,609	
200	0,610	
250	0,739	0,741
250	0,742	
250	0,742	

Dari data di atas diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9996. Harga  $r$  tabel 0,05 ( $\alpha$ ) = 0,878. Dengan demikian  $r$  hitung >  $r$  tabel 0,05 ( $\alpha$ ). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa

ada korelasi linier antara kadar amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dengan serapan.

Persamaan garis regresi kurva baku yang diperoleh yaitu  $Y = 2,923 \cdot 10^{-9} X + 0,016$  dan digambarkan pada gambar 12.



Gambar 12. Kurva baku larutan amoksisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 272 nm.

### 2.2.2. Kurva baku larutan ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Hasil pengamatan serapan larutan baku ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dapat dilihat pada tabel 6.

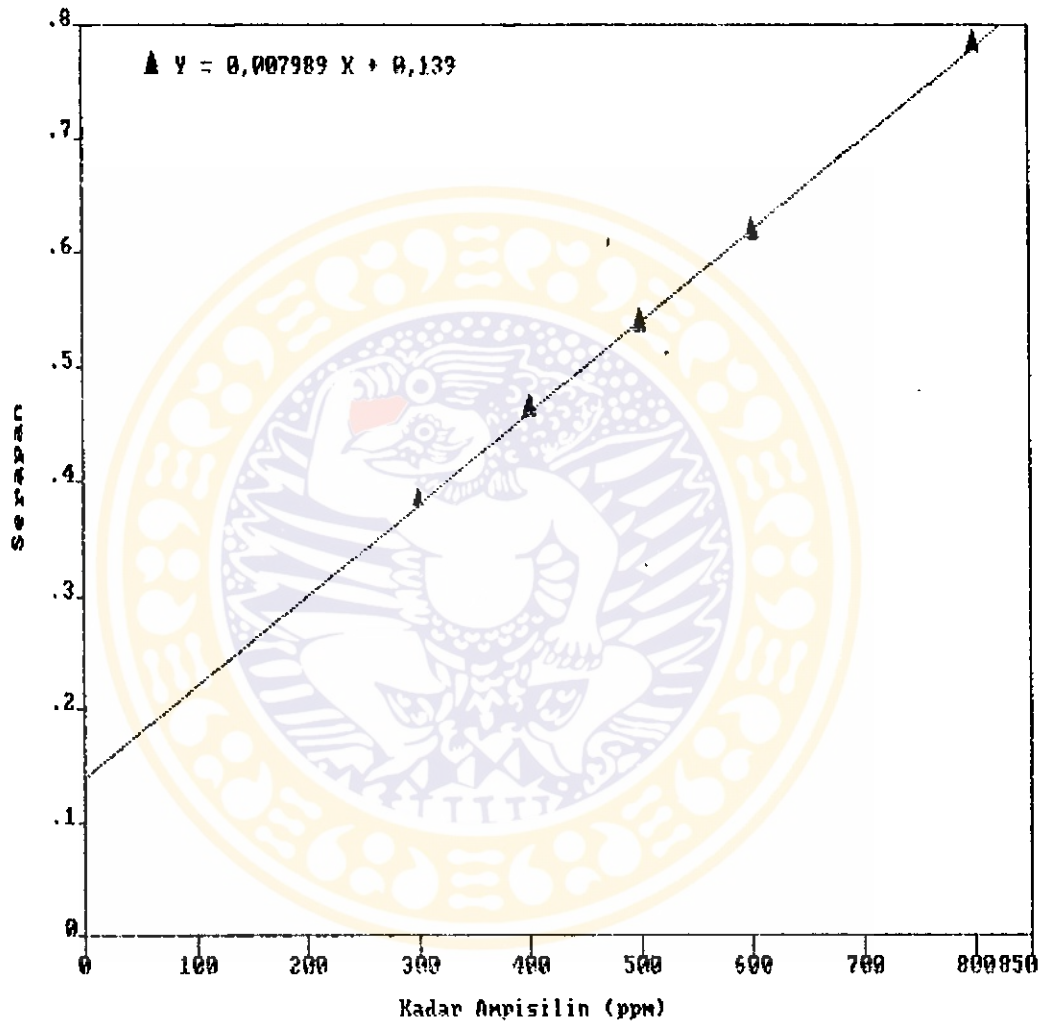
Tabel 6  
Nilai serapan larutan baku ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 256 nm

Kadar ampisilin ( $\mu\text{g/ml}$ )=(X)	Serapan	Rata-rata serapan (Y)
300,6	0,380	0,380
300,6	0,374	
300,6	0,385	
400,8	0,470	0,462
400,8	0,462	
400,8	0,465	
501,0	0,540	0,536
501,0	0,524	
501,0	0,544	
601,2	0,619	0,616
601,2	0,620	
601,2	0,610	
801,6	0,782	0,782
801,6	0,779	
801,6	0,785	

Dari data di atas diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9998. Harga  $r$  tabel 0,05 (3) = 0,878. Dengan demikian  $r$  hitung >  $r$  tabel 0,05 (3). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara kadar ampisilin dalam

dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dengan serapan.

Persamaan garis regresi kurva baku yang diperoleh yaitu  $Y = 7,989 \cdot 10^{-9} X + 0,139$  dan digambarkan pada gambar 13.



Gambar13. Kurva baku larutan ampisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 256 nm.

### 2.2.3. Kurva baku larutan kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Hasil pengamatan serapan larutan baku kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dapat dilihat pada tabel 7.

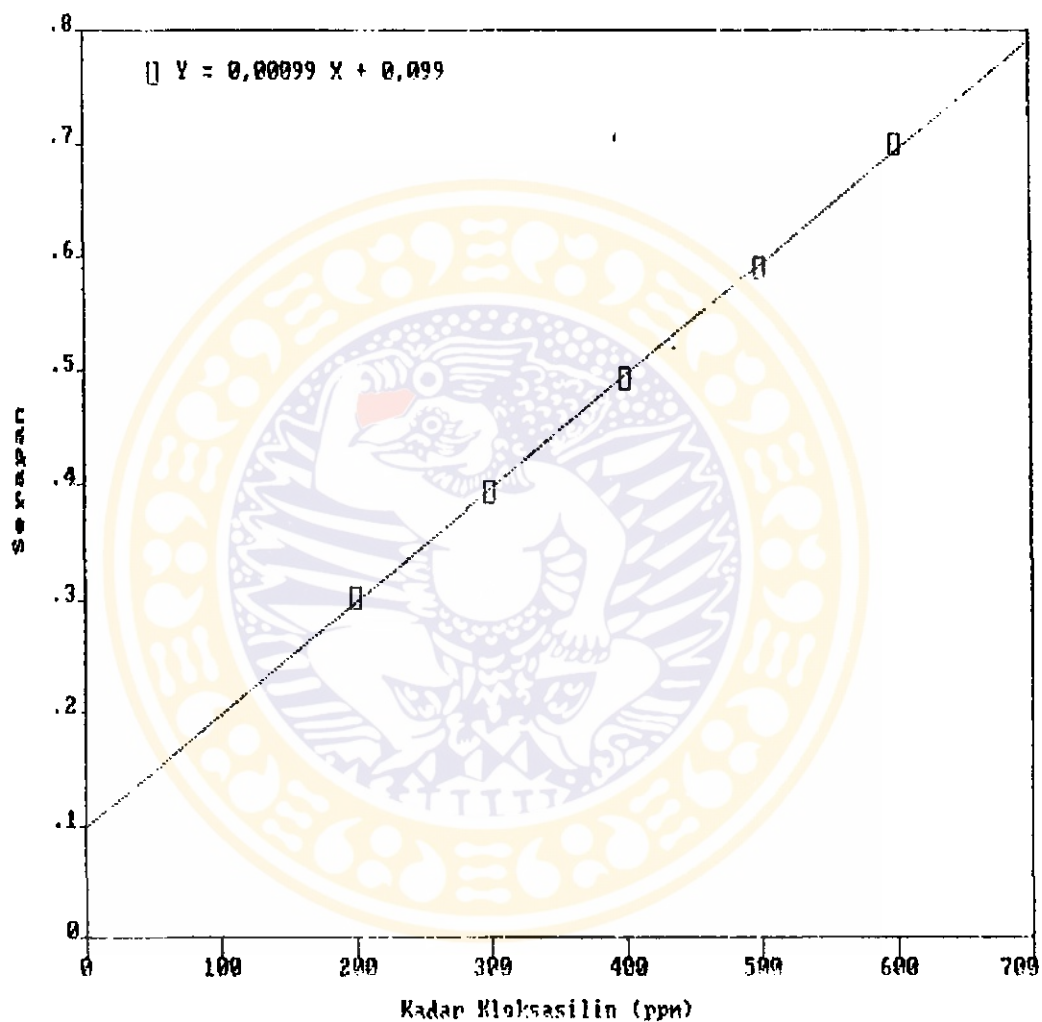
Tabel 7  
Nilai serapan larutan baku kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 272 nm

Kadar kloksasilin ( $\mu\text{g/ml}$ )=(X)	Serapan	Rata-rata serapan (Y)
200	0,320	0,302
200	0,293	
200	0,293	
300	0,392	0,392
300	0,396	
300	0,387	
400	0,506	0,491
400	0,488	
400	0,479	
500	0,589	0,590
500	0,593	
500	0,589	
600	0,712	0,698
600	0,692	
600	0,690	

Dari data di atas diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9995. Harga  $r$  tabel 0,05 (3) = 0,878. Dengan demikian  $r$  hitung >  $r$  tabel 0,05 (3). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara kadar kloksasilin dalam

dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dengan serapan.

Persamaan garis regresi kurva baku yang diperoleh yaitu  $Y = 9,900 \cdot 10^{-4} X + 0,099$  dan digambarkan pada gambar 14.



Gambar 14. Kurva baku larutan kloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 272 nm.



#### 2.2.4. Kurva baku larutan flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Hasil pengamatan serapan larutan baku flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dapat dilihat pada tabel 8.

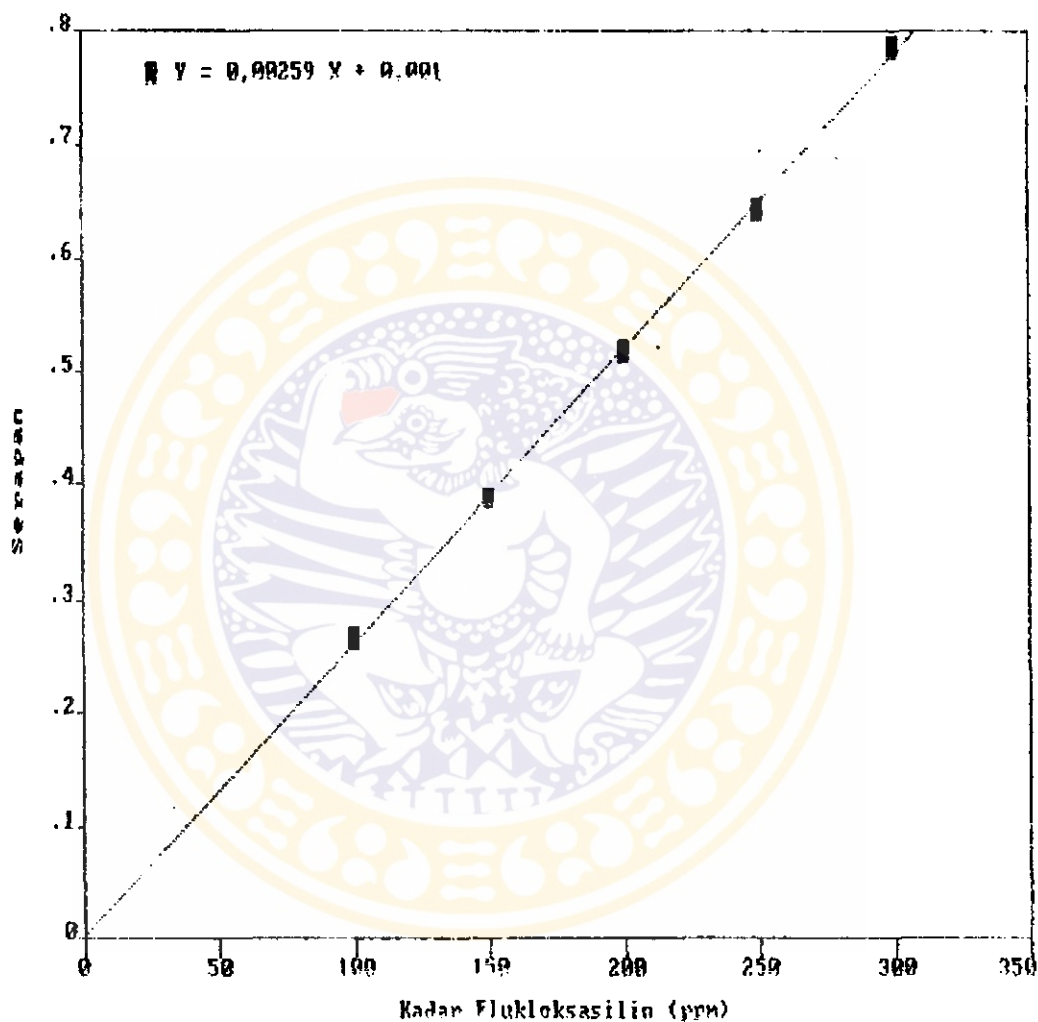
Tabel 8  
Nilai serapan larutan baku flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 273 nm

Kadar flukloksasilin ( $\mu\text{g/ml}$ )=(X)	Serapan	Rata-rata serapan (Y)
100	0,270	0,266
100	0,267	
100	0,261	
150	0,387	0,385
150	0,373	
150	0,396	
200	0,526	0,518
200	0,510	
200	0,518	
250	0,644	0,642
250	0,636	
250	0,646	
300	0,775	0,785
300	0,784	
300	0,795	

Dari data di atas diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9996. Harga  $r$  tabel 0,05 ( $\alpha$ ) = 0,878. Dengan demikian  $r$  hitung >  $r$  tabel 0,05 ( $\alpha$ ). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara kadar flukloksasilin

dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dengan serapan.

Persamaan garis regresi kurva baku yang diperoleh yaitu  $Y = 2,590 \cdot 10^{-9} X + 0,001$  dan digambarkan pada gambar 15.



Gambar15. Kurva baku larutan flukloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 273 nm.

### 2.2.5. Kurva baku larutan dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol

Hasil pengamatan serapan larutan baku dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dapat dilihat pada tabel 9.

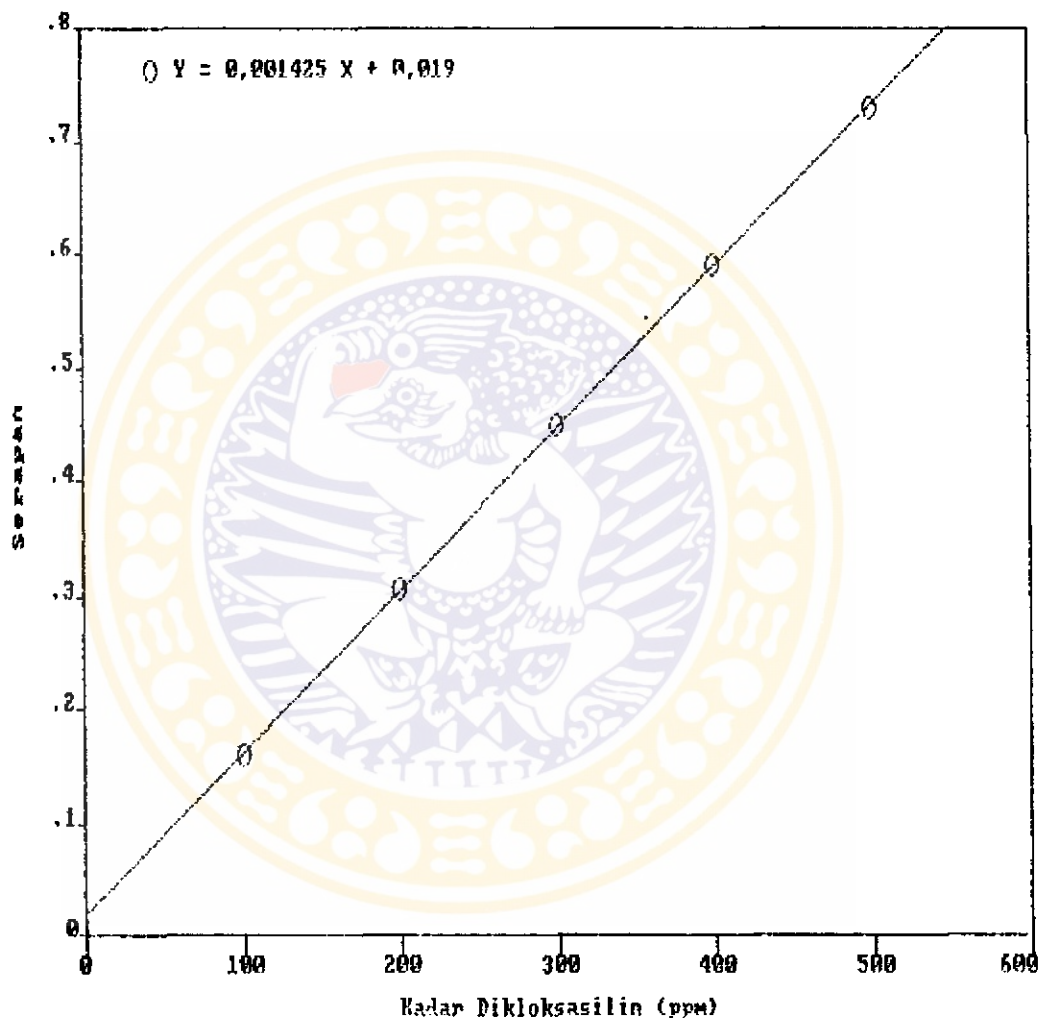
Tabel 9  
Nilai serapan larutan baku dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang maksimum 274 nm

Kadar dikloksasilin ( $\mu\text{g/ml}$ )=(X)	Serapan	Rate-rata serapan (Y)
100	0,158	0,160
100	0,161	
100	0,161	
200	0,305	0,305
200	0,308	
200	0,301	
300	0,446	0,449
300	0,452	
300	0,449	
400	0,585	0,590
400	0,595	
400	0,591	
500	0,730	0,730
500	0,726	
500	0,734	

Dari data di atas diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9999. Harga  $r$  tabel 0,05 (3) = 0,878. Dengan demikian  $r$  hitung >  $r$  tabel 0,05 (3). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa ada korelasi linier antara kadar dikloksasilin

dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol dengan serapan.

Persamaan garis regresi kurva baku yang diperoleh yaitu  $Y = 1,425 \cdot 10^{-3} X + 0,019$  dan digambarkan pada gambar 16.



Gambar 16. Kurva baku larutan dikloksasilin dalam dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol pada panjang gelombang 274 nm.

### 2.3. Penentuan nilai log P turunan penisilin

Perhitungan kadar dilakukan berdasarkan persamaan garis regresi kurva baku. Hasil penetapan kadar dan nilai log P dari amoksisilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10  
Nilai log P dari amoksisilin  
dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4  
pada panjang gelombang maksimum 272 nm

Re- pli- kasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$P=C_0/C_w$	log P
	$C_{\text{awal}}$	$C_w$	$C_0$		
1	101,608	98,700	2,908	0,0295	-1,530
2	102,634	99,384	3,250	0,0327	-1,485
3	101,095	98,187	2,908	0,0296	-1,529
4	101,608	99,042	2,566	0,0259	-1,587
5	101,950	99,213	2,737	0,0276	-1,559
Log P rata-rata				: -1,538	
SD				: 0,0361	

Keterangan :

$C_{\text{awal}}$  = Kadar sampel mula-mula

$C_w$  = Kadar sampel dalam fase dapar fosfat pH 7,4

$C_0$  = Kadar sampel dalam fase n-oktanol

Hasil penetapan kadar dan nilai log P dari ampisilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11  
Nilai log P dari ampisilin  
dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4  
pada panjang gelombang maksimum 256 nm

Re- pli- kasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$P=C_0/C_w$	log P
	$C_{\text{awal}}$	$C_w$	$C_0$		
1	199,650	190,887	8,763	0,0459	-1,338
2	201,527	192,139	9,388	0,0489	-1,311
3	202,779	192,765	10,014	0,0519	-1,285
4	199,024	190,887	8,137	0,0426	-1,371
5	200,901	191,513	9,388	0,0490	-1,310
Log P rata-rata			:	-1,323	
SD			:	0,0327	

Keterangan :

$C_{\text{awal}}$  = Kadar sampel mula-mula

$C_w$  = Kadar sampel dalam fase dapar fosfat pH 7,4

$C_0$  = Kadar sampel dalam fase n-oktanol

Hasil penetapan kadar dan nilai log P dari kloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12  
Nilai log P dari kloksasilin  
dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4  
pada panjang gelombang maksimum 272 nm

Re- pli- kasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$P=C_o/C_w$	log P
	$C_{\text{awal}}$	$C_w$	$C_o$		
1	401,515	370,202	31,313	0,0846	-1,073
2	402,525	370,707	31,818	0,0858	-1,067
3	400,000	369,192	30,808	0,0834	-1,079
4	401,010	368,687	32,323	0,0877	-1,057
5	403,030	372,727	30,303	0,0813	-1,090
Log P rata-rata : -1,073					
SD : 0,0125					

Keterangan :

$C_{\text{awal}}$  = Kadar sampel mula-mula,

$C_w$  = Kadar sampel dalam fase dapar fosfat pH 7,4

$C_o$  = Kadar sampel dalam fase n-oktanol

Hasil penetapan kadar dan nilai log P dari flukloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13  
 Nilai log P dari flukloksasilin  
 dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4  
 pada panjang gelombang maksimum 273 nm

Re- pli- kasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$P=C_o/C_w$	log P
	$C_{\text{awal}}$	$C_w$	$C_o$		
1	202,896	182,239	20,657	0,1134	-0,945
2	201,931	182,046	19,885	0,1092	-0,962
3	202,510	181,853	20,657	0,1136	-0,945
4	201,737	179,151	22,586	0,1261	-0,899
5	202,703	180,309	22,394	0,1242	-0,906
Log P rata-rata : -0,931					
SD : 0,0274					

Keterangan :

$C_{\text{awal}}$  = Kadar sampel mula-mula

$C_w$  = Kadar sampel dalam fase dapar fosfat pH 7,4

$C_o$  = Kadar sampel dalam fase n-oktanol



Hasil penetapan kadar dan nilai log P dari dikloksasilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14  
Nilai log P dari dikloksasilin  
dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4  
pada panjang gelombang maksimum 274 nm

Re- pli- kasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$P=C_o/C_w$	log P
	$C_{\text{awal}}$	$C_w$	$C_o$		
1	501,053	407,368	93,685	0,2300	-0,638
2	500,702	409,123	91,579	0,2238	-0,650
3	502,807	409,123	93,684	0,2290	-0,640
4	502,456	414,737	87,719	0,2115	-0,675
5	502,456	407,368	95,088	0,2334	-0,632
Log P rata-rata : -0,647					
SD : 0,0169					

Keterangan :

$C_{\text{awal}}$  = Kadar sampel mula-mula

$C_w$  = Kadar sampel dalam fase dapar fosfat pH 7,4

$C_o$  = Kadar sampel dalam fase n-oktanol

### 3. Hasil Penentuan Nilai $R_M$ dari Beberapa Turunan Penisilin

Percobaan dilakukan dengan mengubah-ubah konsentrasi metanol untuk mendapatkan harga  $R_M$  penisilin.

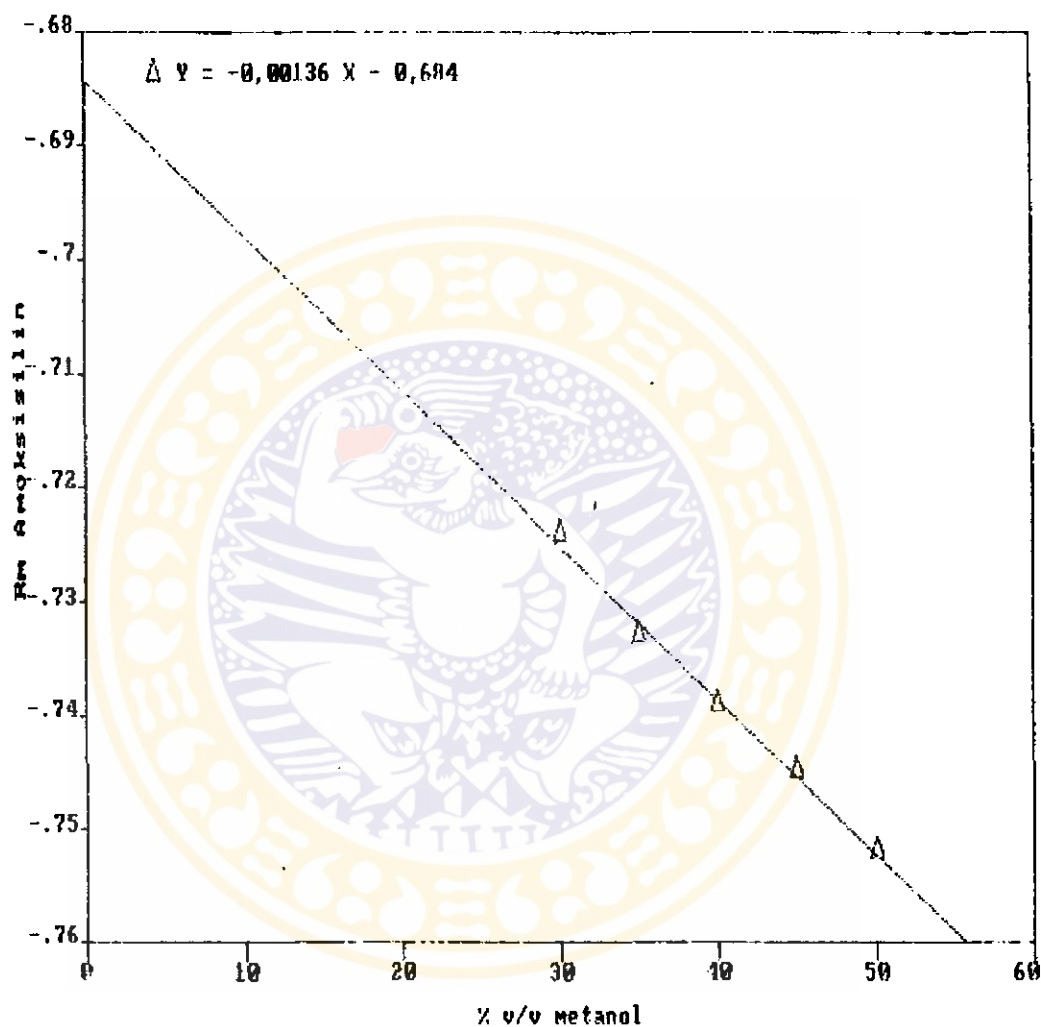
3.1. Penentuan nilai  $R_M$  amoksisilin

Tabel 15  
 Nilai  $R_M$  amoksisilin dalam pelarut campuran  
 metanol-dapar fosfat pH 7,4

% metanol (v/v)	$R_F$	$\frac{1}{R_F} - 1$	$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$	$R_M$ rata-rata
30,0	0,8333	0,2000	-0,699	-0,724
	0,8438	0,1851	-0,733	
	0,8380	0,1933	-0,714	
	0,8491	0,1777	-0,750	
	0,8406	0,1896	-0,722	
35,0	0,8449	0,1836	-0,736	-0,733
	0,8375	0,1940	-0,712	
	0,8438	0,1851	-0,733	
	0,8544	0,1704	-0,769	
	0,8380	0,1933	-0,714	
40,0	0,8415	0,1884	-0,725	-0,739
	0,8553	0,1692	-0,772	
	0,8438	0,1851	-0,733	
	0,8500	0,1765	-0,753	
	0,8375	0,1940	-0,712	
45,0	0,8469	0,1808	-0,743	-0,745
	0,8522	0,1734	-0,761	
	0,8418	0,1879	-0,726	
	0,8469	0,1808	-0,743	
	0,8500	0,1765	-0,753	
50,0	0,8491	0,1777	-0,750	-0,752
	0,8469	0,1808	-0,743	
	0,8553	0,1692	-0,772	
	0,8469	0,1808	-0,743	
	0,8500	0,1765	-0,753	

Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresinya adalah :  $Y = -1,36.10^{-3} X - 0,684$ . Dan diperoleh harga  $r = 0,997$ . Harga  $r$  tabel  $0,05 = 0,878$  sehingga  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel. Dengan demikian korelasi antara variabel X dan variabel Y linier.

Dari persamaan regresi ini pula dapat ditentukan nilai  $R_{M0}$ -nya, yaitu nilai  $R_M$  saat konsentrasi metanol ( $X$ ) = 0;  $Y = -0,684$ ; jadi nilai  $R_{M0} = -0,684$ .



Gambar 17. Kurva baku larutan amoksisilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4

3.2. Penentuan nilai  $R_M$  ampisilin

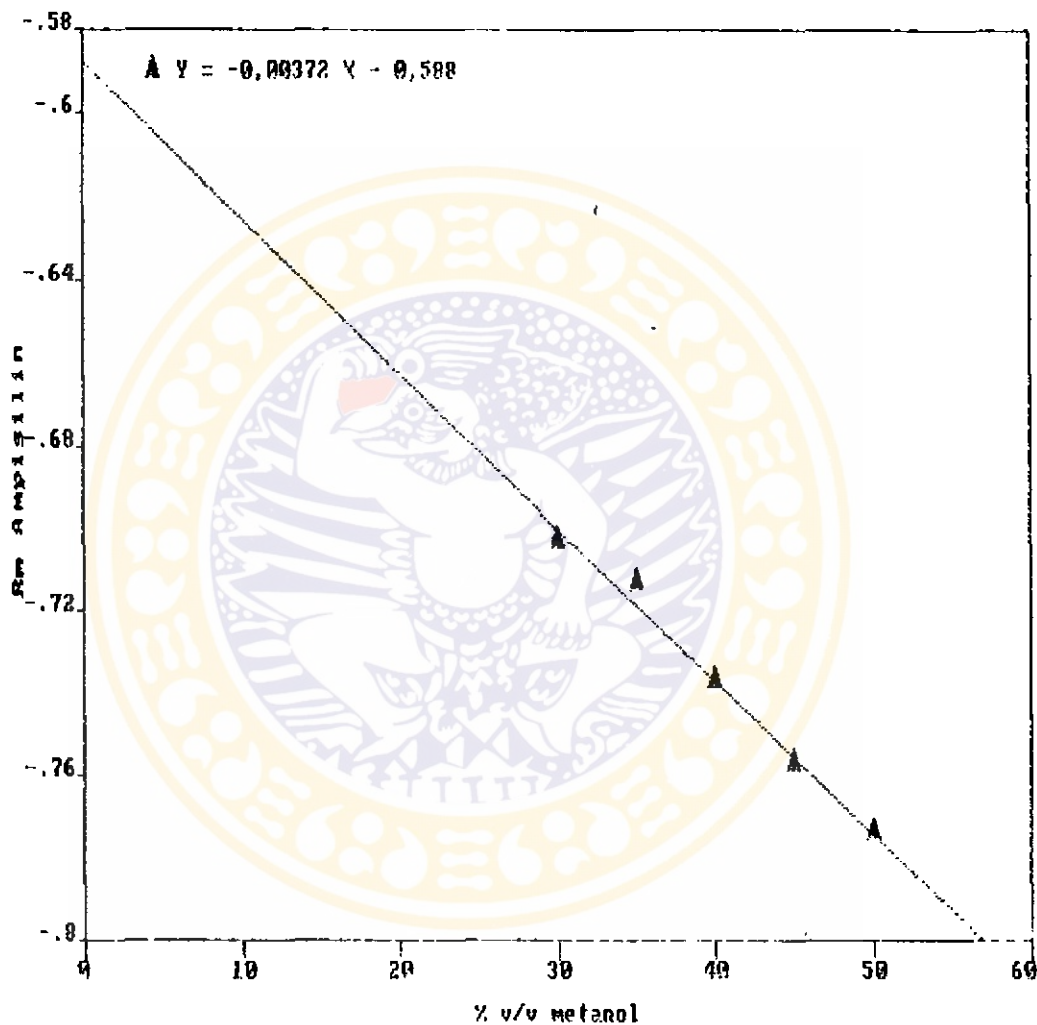
Tabel 16  
 Nilai  $R_M$  ampisilin dalam pelarut campuran  
 metanol-dapar fosfat pH 7,4

% metanol (v/v)	$R_F$	$\frac{1}{R_F} - 1$	$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$	$R_M$ rata-rata
30,0	0,8354	0,1970	-0,706	-0,703
	0,8312	0,2031	-0,692	
	0,8386	0,1925	-0,716	
	0,8360	0,1982	-0,707	
	0,8312	0,2031	-0,692	
35,0	0,8375	0,1940	-0,712	-0,713
	0,8449	0,1836	-0,736	
	0,8278	0,2083	-0,681	
	0,8375	0,1940	-0,712	
	0,8416	0,1896	-0,722	
40,0	0,8442	0,1846	-0,734	-0,737
	0,8418	0,1879	-0,726	
	0,8375	0,1940	-0,712	
	0,8462	0,1818	-0,740	
	0,8553	0,1692	-0,772	
45,0	0,8509	0,1752	-0,756	-0,757
	0,8449	0,1836	-0,738	
	0,8544	0,1704	-0,769	
	0,8508	0,1754	-0,756	
	0,8536	0,1715	-0,766	
50,0	0,8608	0,1617	-0,791	-0,774
	0,8526	0,1729	-0,762	
	0,8500	0,1765	-0,753	
	0,8621	0,1600	-0,796	
	0,8544	0,1704	-0,769	

Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresinya adalah :  $Y = -3,72 \cdot 10^{-3} X - 0,588$ . Dan diperoleh harga  $r = 0,994$ . Harga  $r$  tabel  $0,05 (9) = 0,878$  sehingga  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel. Dengan demikian korelasi antara variabel X dan variabel Y adalah

linier.

Dari persamaan regresi ini pula dapat ditentukan nilai  $R_{MO}$ -nya, yaitu nilai  $R_M$  saat konsentrasi metanol ( $X$ ) = 0;  $Y = -0,588$ ; jadi nilai  $R_{MO} = -0,588$ .



Gambar 18. Kurva baku larutan ampicilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4

3.3. Penentuan nilai  $R_M$  kloksasilin

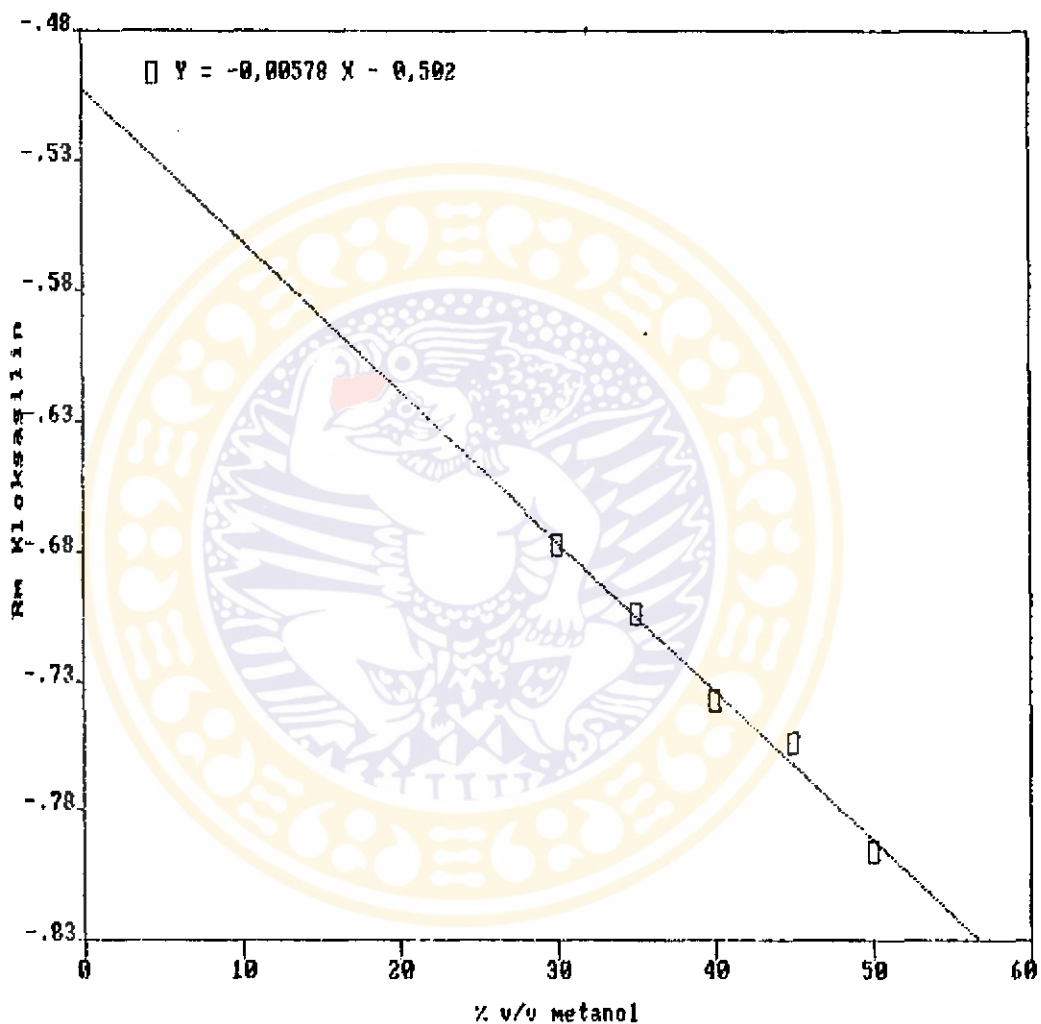
Tabel 17  
 Nilai  $R_M$  kloksasilin dalam pelarut campuran  
 metanol-dapar fosfat pH 7,4

% metanol (v/v)	$R_F$	$\frac{1}{R_F} - 1$	$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$	$R_M$ rata-rata
30,0	0,8250	0,2121	-0,673	-0,677
	0,8281	0,2076	-0,683	
	0,8333	0,2000	-0,699	
	0,8250	0,2121	-0,673	
	0,8188	0,2213	-0,655	
35,0	0,8355	0,1969	-0,706	-0,703
	0,8418	0,1879	-0,726	
	0,8312	0,2031	-0,692	
	0,8354	0,1970	-0,706	
	0,8281	0,2076	-0,683	
40,0	0,8438	0,1851	-0,733	-0,737
	0,8506	0,1756	-0,755	
	0,8406	0,1896	-0,722	
	0,8438	0,1851	-0,733	
	0,8474	0,1801	-0,744	
45,0	0,8500	0,1765	-0,753	-0,754
	0,8491	0,1777	-0,750	
	0,8503	0,1761	-0,754	
	0,8522	0,1734	-0,761	
	0,8498	0,1767	-0,753	
50,0	0,8636	0,1579	-0,802	-0,796
	0,8616	0,1606	-0,794	
	0,8679	0,1522	-0,818	
	0,8562	0,1680	-0,775	
	0,8608	0,1617	-0,791	

Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresinya adalah :  $Y = -5,78 \cdot 10^{-9} X - 0,502$ . Dan diperoleh harga  $r = 0,994$ . Harga  $r$  tabel  $0,05 (9) = 0,878$  sehingga  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel. Dengan demikian korelasi antara variabel X dan variabel Y adalah

linier.

Dari persamaan regresi ini pula dapat ditentukan nilai  $R_{M0}$ -nya, yaitu nilai  $R_M$  saat konsentrasi metanol ( $X$ ) = 0;  $Y = -0,502$ ; jadi nilai  $R_{M0} = -0,502$ .



Gambar 19. Kurva baku larutan kloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4

3.4. Penentuan nilai  $R_M$  flukloksasilin

Tabel 18  
 Nilai  $R_M$  flukloksasilin dalam pelarut campuran  
 metanol-dapar fosfat pH 7,4

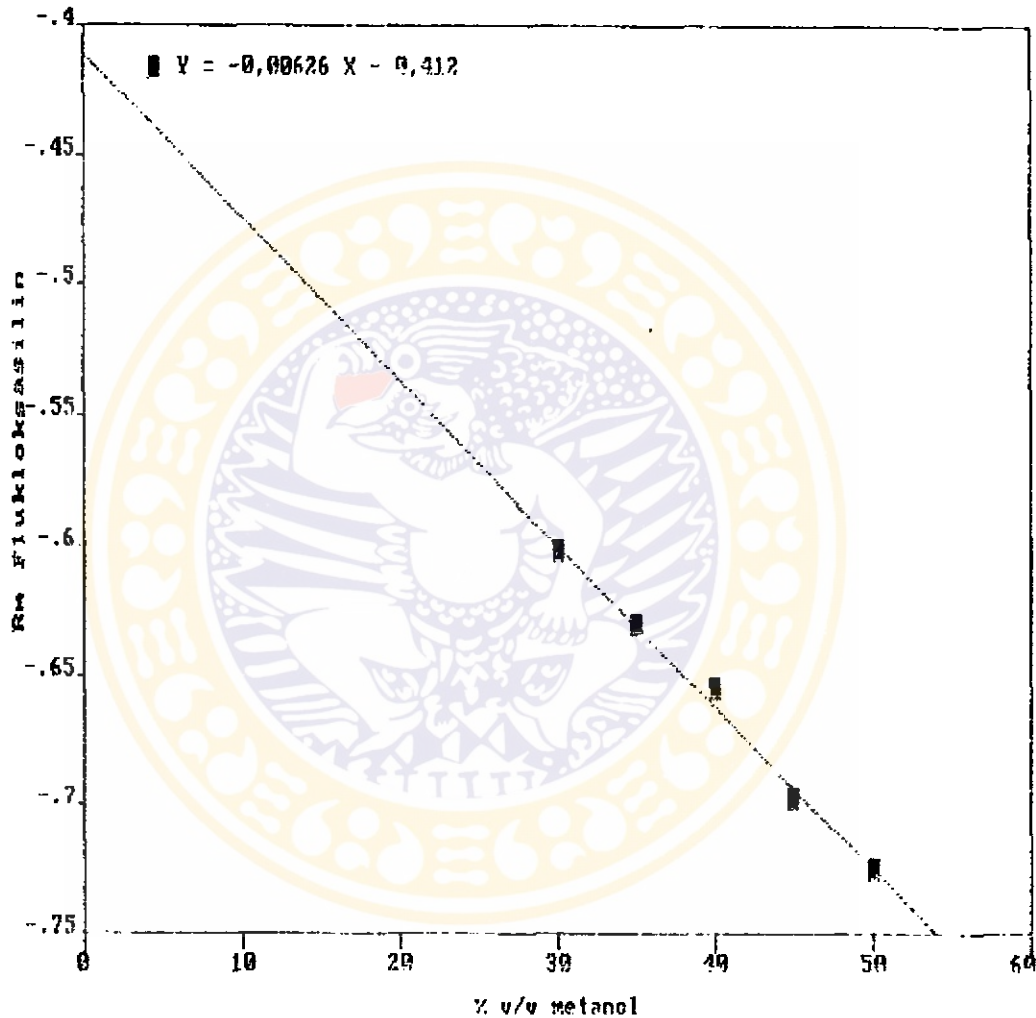
% metanol (v/v)	$R_F$	$\frac{1}{R_F} - 1$	$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$	$R_M$ rata-rata
30,0	0,8000	0,2500	-0,602	-0,602
	0,8050	0,2422	-0,616	
	0,8000	0,2500	-0,602	
	0,7938	0,2598	-0,585	
	0,8013	0,2480	-0,606	
35,0	0,8062	0,2404	-0,619	-0,631
	0,8062	0,2404	-0,619	
	0,8228	0,2154	-0,667	
	0,8101	0,2344	-0,630	
	0,8062	0,2404	-0,619	
40,0	0,8239	0,2137	-0,670	-0,655
	0,8176	0,2231	-0,652	
	0,8188	0,2213	-0,655	
	0,8156	0,2261	-0,648	
	0,8176	0,2231	-0,652	
45,0	0,8323	0,2015	-0,696	-0,698
	0,8344	0,1985	-0,702	
	0,8291	0,2061	-0,686	
	0,8375	0,1940	-0,712	
	0,8323	0,2015	-0,696	
50,0	0,8500	0,1765	-0,753	-0,725
	0,8354	0,1970	-0,706	
	0,8438	0,1851	-0,733	
	0,8375	0,1940	-0,712	
	0,8406	0,1896	-0,722	

Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresinya adalah :  $Y = -6,26 \cdot 10^{-3} X - 0,412$ . Dan diperoleh harga  $r = 0,996$ . Harga  $r$  tabel  $0,05 (9) = 0,878$  sehingga  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel. Dengan demikian korelasi antara variabel X dan variabel Y adalah



linier.

Dari persamaan regresi ini pula dapat ditentukan nilai  $R_{M0}$ -nya, yaitu nilai  $R_M$  saat konsentrasi metanol ( $X$ ) = 0;  $Y = -0,412$ ; jadi nilai  $R_{M0} = -0,412$ .



Gambar20. Kurva baku larutan flukloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4

3.5. Penentuan nilai  $R_M$  dikloksasilin

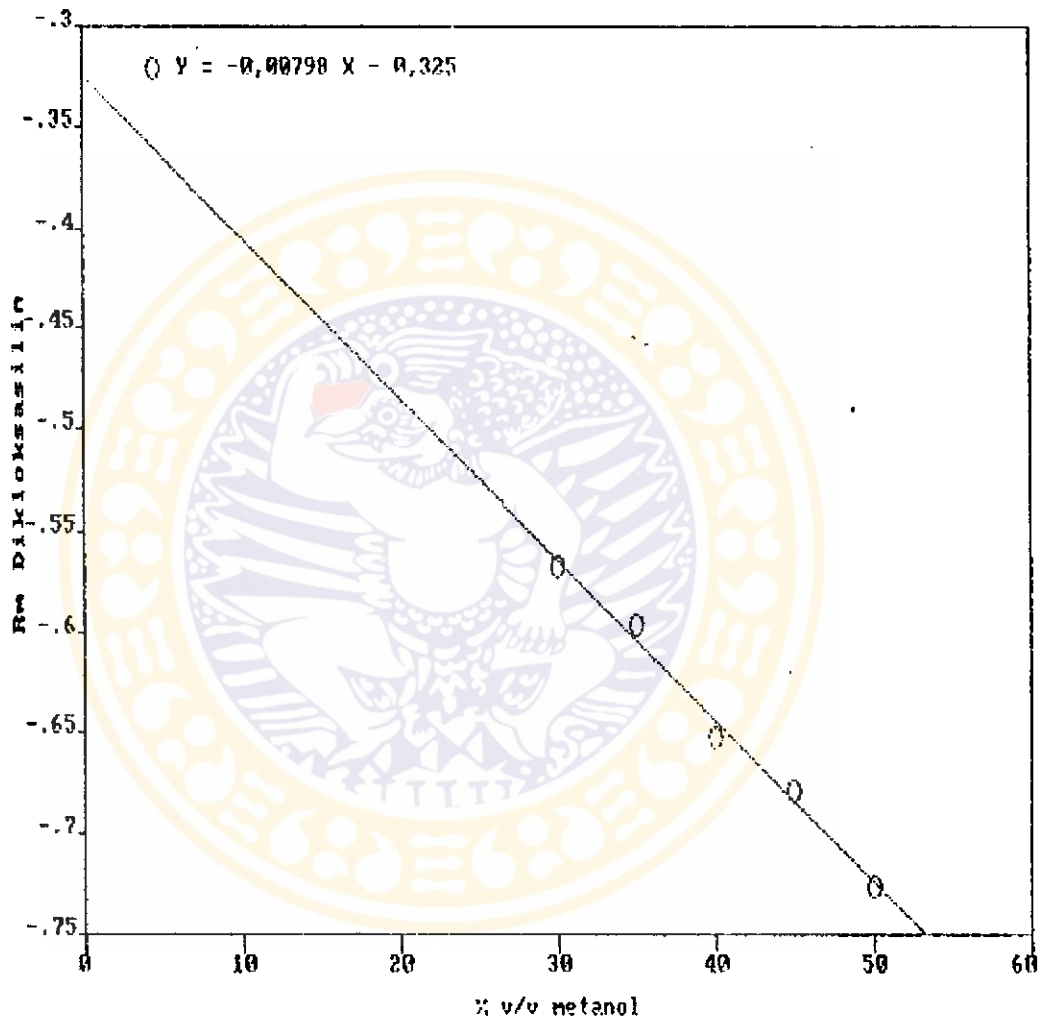
Tabel 19  
 Nilai  $R_M$  dikloksasilin dalam pelarut campuran  
 metanol-dapar fosfat pH 7,4

% metanol (v/v)	$R_F$	$\frac{1}{R_F} - 1$	$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$	$R_M$ rata-rata
30,0	0,7875	0,2698	-0,569	-0,568
	0,7943	0,2590	-0,587	
	0,7729	0,2938	-0,532	
	0,7875	0,2698	-0,569	
	0,7924	0,2618	-0,582	
35,0	0,7938	0,2598	-0,585	-0,596
	0,8000	0,2500	-0,602	
	0,7950	0,2579	-0,589	
	0,7987	0,2520	-0,599	
	0,8013	0,2480	-0,606	
40,0	0,8188	0,2213	-0,655	-0,652
	0,8094	0,2355	-0,628	
	0,8239	0,2137	-0,670	
	0,8228	0,2154	-0,667	
	0,8139	0,2287	-0,641	
45,0	0,8228	0,2154	-0,667	-0,679
	0,8270	0,2092	-0,679	
	0,8354	0,1970	-0,706	
	0,8270	0,2092	-0,679	
	0,8219	0,2167	-0,664	
50,0	0,8416	0,1882	-0,725	-0,726
	0,8474	0,1801	-0,744	
	0,8385	0,1926	-0,715	
	0,8481	0,1791	-0,747	
	0,8333	0,2000	-0,699	

Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresinya adalah :  $Y = -7,98 \cdot 10^{-3} X - 0,325$ . Dan diperoleh harga  $r = 0,995$ . Harga  $r$  tabel  $0,05 (3) = 0,878$  sehingga  $r$  hitung  $>$   $r$  tabel. Dengan demikian korelasi antara variabel X dan variabel Y adalah

linier.

Dari persamaan regresi ini pula dapat ditentukan nilai  $R_{M0}$ -nya, yaitu nilai  $R_M$  saat konsentrasi metanol ( $X$ ) = 0;  $Y = -0,325$ ; jadi nilai  $R_{M0} = -0,325$ .



Gambar 21. Kurva baku larutan dikloksasilin dalam pelarut campuran metanol-dapar fosfat pH 7,4

#### 4. Penentuan Hubungan antara Nilai Log P dengan Nilai $R_M$ dari Turunan Penisilin

Hasil penentuan hubungan antara nilai log P dengan nilai  $R_M$  dari turunan penisilin dapat dilihat pada tabel 20.

Tabel 20  
Nilai log P dan nilai  $R_M$  dari turunan penisilin dalam sistem n-oktanol-dapar fosfat pH 7,4

Turunan Penisilin	Log P	$R_M$
Amoksisilin	-1,538	-0,684
Ampisilin	-1,323	-0,588
Kloksasilin	-1,073	-0,502
Flukloksasilin	-0,931	-0,412
Dikloksasilin	-0,647	-0,325

Untuk menentukan hubungan antara nilai log P dengan nilai  $R_M$  dari turunan penisilin dilakukan perhitungan koefisien korelasi ( $r$ ) dimana log P sebagai variabel X dan  $R_M$  sebagai variabel Y.

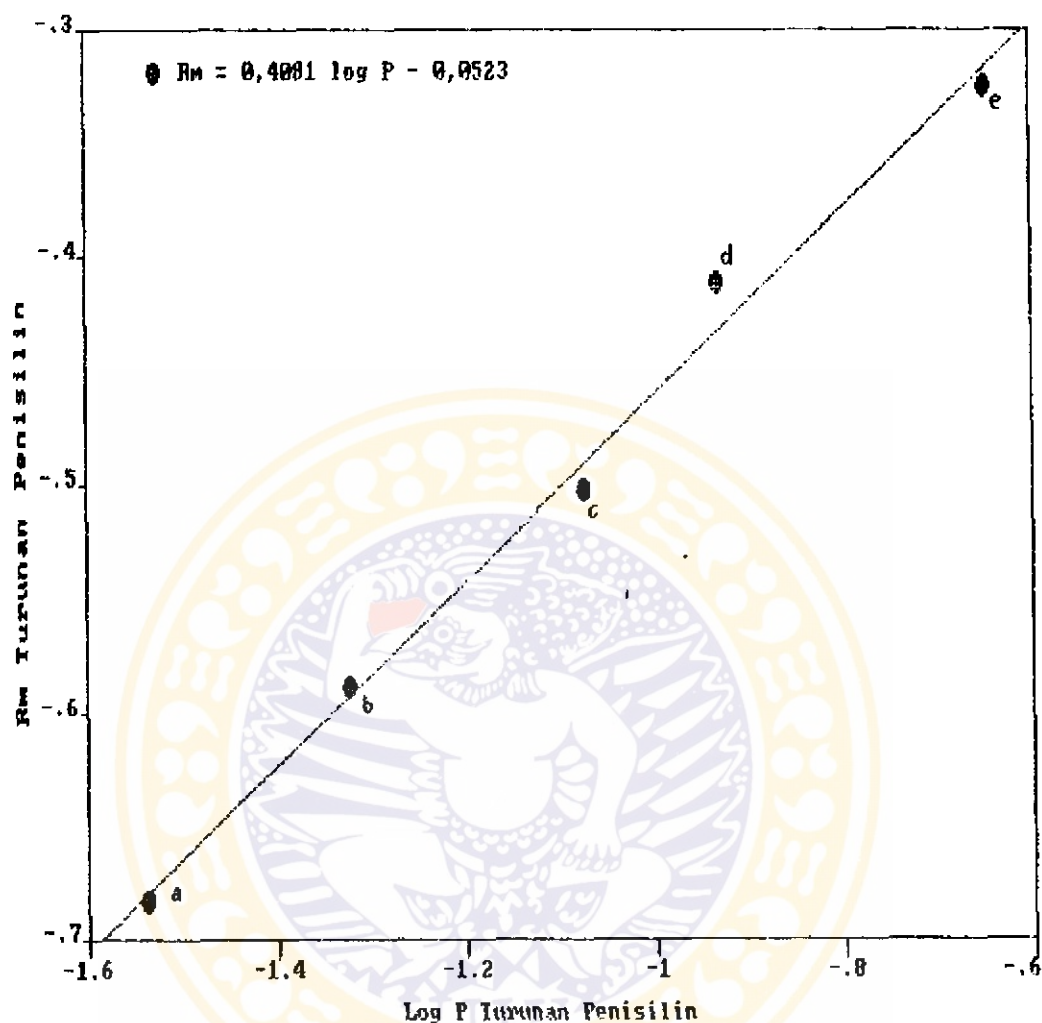
Dari data di atas diperoleh persamaan garis regresi :  $Y = 0,4081 X - 0,0523$ . Harga  $r$  yang didapatkan = 0,9959, sedangkan harga  $r$  tabel = 0,878. Jadi  $r$  hitung >  $r$  tabel, berarti persamaan garis regresi menyatakan hubungan yang linier antara log P dan  $R_M$ . (Perhitungan pada lampiran I).

Untuk menguji persamaan garis regresi dilakukan uji anova dengan membandingkan antara harga F hitung

dengan harga  $F$  tabel pada derajat kepercayaan 95 % atau  $\alpha = 0,05$ . Dari perhitungan didapatkan bahwa harga  $F$  hitung = 396,5; sedangkan harga  $F$  tabel = 10,13. Jadi harga  $F$  hitung lebih besar dari  $F$  tabel. (Perhitungan pada lampiran II). Ini artinya persamaan garis di atas cukup representatif untuk menggambarkan korelasi yang linier antara nilai  $\log P$  dengan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin yang diteliti.

Dari perhitungan perkiraan kesalahan standar variabel  $Y$  terhadap variabel  $X$  pada lampiran III diperoleh harga  $S_{y/x} = 0,0141$ .

Hubungan antara nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4 yang diteliti ditunjukkan oleh gambar 22.



Gambar22. Kurva hubungan antara nilai  $R_M$  dan nilai  $\log P$  dari beberapa turunan penisilin dalam sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4. a = amoksisilin; b = ampicilin; c = kloksasilin; d = flukloksasilin; e = dikloksasilin.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Sifat lipofilitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan beberapa cara antara lain dengan menentukan  $\log P$  (logaritma koefisien partisi), tetapan  $n$  dari Hansch, tetapan  $f$  dari Rekker dan nilai  $R_M$  (modifikasi retardasi). Dalam praktek di laboratorium yang biasa dilakukan adalah penentuan nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$ .

Pada penelitian ini, langkah awal yang dilakukan adalah uji kualitatif dari turunan penisilin yang digunakan yang meliputi uji organoleptis, reaksi warna dan penentuan titik lebur. Pemeriksaan ini dilakukan untuk membuktikan bahwa bahan yang diteliti tersebut memang merupakan obat turunan penisilin. Dan dari hasil pemeriksaan tersebut diperoleh hasil bahwa turunan penisilin yang digunakan telah memenuhi syarat sesuai dengan pustaka.

Pada penentuan nilai  $\log P$ , penetapan kadar zat terlarut menggunakan metode spektrofotometri dan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum dari tiap larutan turunan penisilin yang diteliti. Alasan dilakukannya pengukuran kadar pada panjang gelombang maksimum adalah : (39)

1. Perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang paling

tinggi.

2. Di sekitar panjang gelombang maksimum bentuk kurva serapannya adalah datar sehingga hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.
3. Pengukuran ulang serapan pada panjang gelombang maksimum (wave length setting) akan memberikan kesalahan yang relatif kecil.

Pada penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan turunan penisilin dalam dapar fosfat pH 7,4 dapat terlihat bahwa puncak-puncak yang didapatkan semua di atas panjang gelombang 240 nm. Hal ini penting karena pada penelitian digunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 jenuh n-oktanol, dimana n-oktanol memberikan serapan pada panjang gelombang di bawah 240 nm, karena itu digunakan panjang gelombang di atas 240 nm untuk pengamatan (12).

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, paling sedikit harus menggunakan dua macam kadar. Dari dua macam kadar tersebut dapat disimpulkan bahwa panjang gelombang maksimum yang dipilih adalah tepat, hal ini dapat dilihat pada profil kurva hubungan antara kadar zat dan serapan, dimana puncak dari kromatogram terletak pada panjang gelombang yang sama dan tidak mengalami pergeseran panjang gelombang.

Pada penentuan nilai log P digunakan sistem n-oktanol/dapar fosfat pH 7,4 karena sistem ini sangat umum digunakan dan mirip dengan membran biologis. Hal ini



sesuai dengan kutipan dari Seeman tentang data koefisien partisi membran/dapar dan koefisien partisi n-oktanol/air dimana diperoleh persamaan :

$$\log PM/A = 0,846 \log P_{okt} - 0,041$$

$$(n = 57, r = 0,97, s = 0,25)$$

Hubungan ini sangat baik, mengingat banyaknya variasi senyawa yang digunakan (termasuk di dalamnya golongan gas mulia, alkohol, senyawa basa, fenol, barbiturat, quinon, dan lokal anestesi) dan luasnya rentang harga koefisien partisi (>6 unit log P oktanol). Hal ini secara langsung mendukung penggunaan sistem n-oktanol/air sebagai model yang utama untuk menghubungkan permeasi membran atau aktivitas biologis dengan struktur kimia dari bermacam-macam senyawa obat (40).

Pada penelitian ini, nilai log P yang didapatkan adalah nilai log P tampak (koefisien distribusi), yaitu nilai log P pada sistem oktanol-dapar fosfat pH 7,4 bukan nilai log P sesungguhnya. Untuk mendapatkan nilai log P sesungguhnya (koefisien partisi) dapat dilakukan dengan menghitung  $\alpha$  atau derajat ionisasi.

Demikian juga dengan penentuan nilai  $R_M$  digunakan fase diam n-oktanol yang diimpregnasikan pada lempeng kromatografi yang kemudian diekspansi dengan larutan dapar fosfat pH 7,4-metanol, dimana penggunaan cara ini dapat memberikan hasil berupa noda-noda yang baik dan jelas. Penggunaan metanol sebagai pelarut campuran dimaksudkan

untuk membantu proses eluasi. Dengan mengubah-ubah konsentrasi metanol, maka didapatkan nilai  $R_{M0}$  yaitu nilai  $R_M$  dimana konsentrasi metanol adalah 0.

Larutan dapar fosfat pH 7,4 dan n-oktanol yang digunakan harus dalam keadaan jenuh satu sama lain. Hal ini perlu diperhatikan karena sebenarnya n-oktanol dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 masih dapat saling campur meskipun jumlahnya sangat sedikit. Jika hal ini tidak dilakukan, maka mungkin saja terjadi perubahan hasil penelitian secara bermakna.

Dari hasil penelitian diperoleh data nilai lipofilitas ( $\log P$  dan  $R_M$ ) terkecil dari turunan penisilin yang diteliti adalah amoksisilin, selanjutnya ampisilin, kloksasilin, flukloksasilin, dan yang terbesar adalah dikloksasilin. Bila dikaitkan dengan struktur kimianya dapat dijelaskan sebagai berikut :

amoksisilin dan ampisilin mempunyai struktur kimia yang hampir sama, sedangkan kloksasilin mempunyai struktur kimia yang hampir sama dengan flukloksasilin dan dikloksasilin.

perbedaan struktur kimia amoksisilin dan ampisilin terletak pada gugus hidroksi pada gugus benzil yang dimiliki oleh amoksisilin, ampisilin mempunyai gugus benzil, sedangkan amoksisilin mempunyai gugus fenil; adanya gugus hidroksi inilah yang menyebabkan amoksisilin lebih polar (memiliki nilai  $\log P$  dan  $R_M$  yang lebih

rendah) daripada ampisilin.

kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin mempunyai lipofilitas yang lebih tinggi daripada ampisilin dan amoksisilin, karena ketiganya memiliki gugus isoksazolil yang menyebabkan lipofilitasnya bertambah besar, karena itu kloksasilin mempunyai nilai lipofilitas yang lebih besar dibandingkan ampisilin yang tidak memiliki gugus isoksazolil.

perbedaan kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin terletak pada substituen yang terdapat pada inti benzena dimana kloksasilin memiliki satu substituen Cl dan satu H, flukloksasilin memiliki satu substituen Cl dan satu substituen F, sedangkan dikloksasilin memiliki dua substituen Cl; semua substituen tersebut memiliki posisi yang sama pada inti benzena yaitu posisi 2 dan 6.

adanya substituen Cl dan F dapat meningkatkan lipofilitas suatu senyawa, tetapi menurut f Rekker substituen Cl memberikan sumbangan lipofilitas yang lebih besar daripada substituen F, oleh karena itu flukloksasilin lebih lipofil bila dibandingkan dengan kloksasilin tetapi kurang lipofil bila dibandingkan dengan dikloksasilin.

Dari hasil penelitian, terlihat bahwa nilai log P mempengaruhi aktivitas. Hal ini dikarenakan log P berkaitan erat dengan proses absorpsi dari suatu bahan

obat. Karena itulah amoksisilin cepat terserap jika diberikan per oral dan didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Dibandingkan ampisilin, pemberian dosis yang sama dapat menghasilkan kadar plasma puncak hingga 2 kali lebih besar karena adanya gugus hidroksi pada inti benzen amoksisilin menyebabkan berkurangnya sifat kebasaan dari gugus amina, sehingga pada lambung yang memiliki pH asam, amoksisilin banyak terdapat dalam bentuk molekul dan mudah menembus membran biologis. Demikian pula flukloksasilin dan dikloksasilin lebih mudah diserap dari saluran cerna dibandingkan terhadap kloksasilin karena lebih lipofil berarti lebih mudah menembus membran saluran cerna (28).

Perbedaan penggunaan amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin berdasar pada resistensinya terhadap enzim  $\beta$  laktamase yang dihasilkan oleh bakteri dan spektrum antimikrobanya. Amoksisilin dan ampisilin tidak tahan terhadap enzim  $\beta$  laktamase tetapi memiliki spektrum antimikroba yang luas, sedangkan kloksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin tahan terhadap enzim  $\beta$  laktamase tetapi spektrum antimikrobanya sempit.

Pada penelitian hubungan antara nilai log P dan nilai  $R_M$  dari turunan penisilin ini didapatkan persamaan garis regresi :  $R_M = 0,4081 \log P - 0,0523$ . Dengan adanya persamaan garis regresi tersebut diharapkan dapat lebih memudahkan dalam penelitian selanjutnya dalam mengubah nilai lipofilitas suatu senyawa obat dari nilai  $R_M$  menjadi nilai

log P. Ini disebabkan karena pada penentuan sifat lipofilitas ( $\log P$ ), para peneliti cenderung menggunakan metode penentuan nilai  $R_M$  karena metode ini mempunyai beberapa keuntungan antara lain membutuhkan waktu yang relatif lebih singkat, kesalahan yang terjadi lebih sedikit dan dapat digunakan untuk sampel dalam jumlah yang sedikit. Selain itu, satu lempeng kromatografi dapat digunakan untuk beberapa sampel.

Dari hasil yang didapat dari penelitian ini belum dapat menjawab hubungan struktur dan aktivitas secara mendalam dari turunan penisilin yang digunakan, karena pendekatan hubungan struktur dan aktivitas biologis obat banyak dipengaruhi oleh parameter-parameter kimia fisika yang lain, yaitu parameter elektronik dan parameter sterik.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1. Kesimpulan

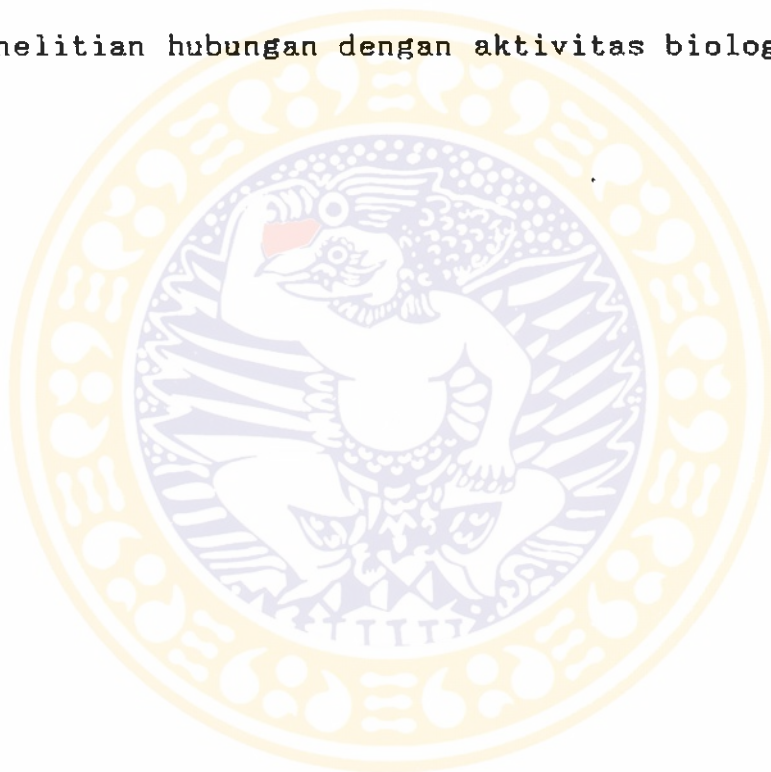
Dari hasil penelitian studi hubungan antara nilai logaritma koefisien partisi ( $\log P$ ) dengan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin diambil kesimpulan :

1. Nilai  $\log P$  dari turunan penisilin yang diteliti adalah sebagai berikut : amoksisilin  $-1,538 \pm 0,0381$ ; ampisilin  $1,323 \pm 0,0327$ ; kloksasilin  $-1,073 \pm 0,0125$ ; flukloksasilin  $-0,931 \pm 0,0274$ ; dan dikloksasilin  $-0,647 \pm 0,0169$ .
2. Nilai  $R_{MO}$  dari turunan penisilin yang diteliti adalah sebagai berikut : amoksisilin  $-0,684$ ; ampisilin  $-0,588$ ; kloksasilin  $-0,502$ ; flukloksasilin  $-0,412$ ; dan dikloksasilin  $-0,325$ .
3. Ada hubungan yang linier antara nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$  dari beberapa turunan penisilin yang diteliti dan digambarkan dengan persamaan garis regresi :
 
$$Y = 0,4081 X - 0,0523.$$
 (  $n = 5$ ,  $r = 0,9959$ ,  $s = 0,0141$ ,  $F = 398,5$  )

#### 2. Saran

Sebagai langkah lanjut dari penelitian ini maka disarankan :

1. Menggunakan persamaan regresi yang diperoleh untuk menghitung nilai  $\log P$  dan nilai  $R_M$  dari senyawa lain, terutama untuk menghitung nilai  $\log P$  dari senyawa yang telah diketahui nilai  $R_M$ -nya dari penelitian.
2. Untuk memperluas variasi senyawa perlu dilakukan penelitian dengan senyawa penisilin yang lain.
3. Dari data yang telah diperoleh dapat dilakukan penelitian hubungan dengan aktivitas biologis.



## DAFTAR PUSTAKA

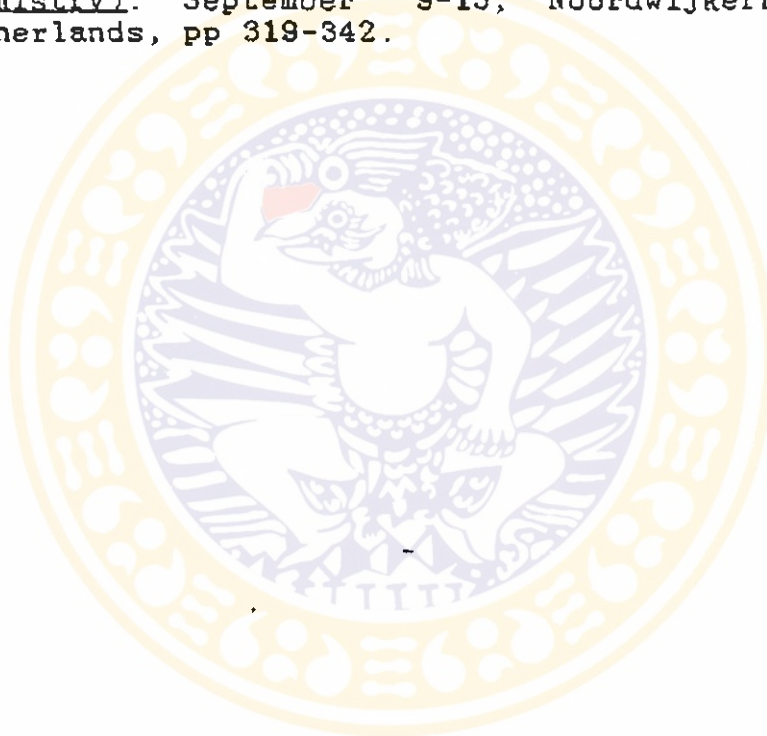
1. Soekardjo B, Gunawan D, Hadinoto Sri H. 1983. Korelasi Kuantitatif Aktivitas Biologis dengan Beberapa Tetapan Kimia Fisika dari Senyawa Fenol dan Turunannya. Dalam: Proceedings Kongres Nasional XI Kongres Ilmiah IV ISFI. Jakarta. hal 417-420.
2. Siswandono, Hardjono S. 1990. Hubungan Struktur dan Aktivitas Biologis Obat. Buletin ISFI. 20(1-2). hal 1-17.
3. Daniel TC, Jogersen EC. 1982. Physicochemical Properties in Relation to Biological Action. In: Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 8th edition; J.B. Lippincot Company: Philadelphia, pp 5-38, 225-247.
4. Purchel WP, Bass GE, Clayton JM. 1983. Strategy of Drug Design: A Guide to Biological Activity; John Wiley & Son Inc.: New York, pp 38-42, 126-142.
5. Hansch C, Dunn III WJ. 1972. Linear Relationships between Lipophilic Character and Biological Activity of Drugs. J. Pharm. Sci. 61(1). pp 1-10.
6. Pou HW, Lien EJ. 1980. Effects of Different Buffer Species on Partition Coefficient of Drug Used in Quantitative Structure Activity Relationships. J. Pharm. Sci. 69(6). pp 662-667.
7. Scherrer RA, Howard SM. 1977. Use of Distribution Coefficients in Quantitative Structure-Activity Relationships. J. Pharm. Sci. 20(1). pp 53-59.
8. Ritschel WA. 1986. Hand Book of Basic Pharmacokinetics. 3rd edition; Drug Intelligence Publications. Inc.: Hamilton, pp 18-23, 71-76.
9. Leo AJ. 1967. Some Advantage of Calculating Octanol-Water Partition Coefficients. J. Pharm. Sci. 76(2). pp 7-8.
10. Coulson CJ. 1968. Molecular Mechanism of Drug Action. 1st edition; Taylor & Francis: London, pp 7-8.
11. Hansch C. 1971. Quantitative Structure Activity Relationships in Drug Action. In: Drug Design. Vol I; Academic Press: New York, pp 270-309.



12. Sardjoko. 1993. Rancangan Obat. Edisi 1; Gadjah Mada University Press: Yogyakarta, hal 84-86, 158-162, 165-167.
13. Smith HJ, Williams H. 1988. Introduction to The Principles of Drug Design. 2nd edition; Wright PSG: Boston, pp 249-251, 282-285.
14. Rekker RF. 1977. The Hydrophobic Fragmental Constant. Volume I; Elsevier Scientific Publishing Company: New York, pp 1-103.
15. Biagi GL, et.al. 1975. Rm Values of Steroids as an Expression of Their Lipophilic Character in Structure-Activity Studies. Journal of Medicinal Chemistry. 18(9). pp 873-883.
16. Biagi GL, Barbaro AM, Guerra MC. 1971. Relationship between Rm Values and Biological Activity of Steroid Esters. Experientia. 27. pp 918-919.
17. Soekardjo B. 1987. Aplikasi Kromatografi Lapisan Tipis Fase Balik pada Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas. Referat Jurusan Kimia Farmasi. Fakultas Farmasi Unair. hal 1-12.
18. Edberg SC, Berger SA. 1983. Antibiotics and Infection. Churchill Livingstone Inc.: New York, p iv.
19. Jawetz E. 1989. Penisilin dan Sefalosporin. Dalam: Katzung BG (Ed.). Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 3; Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta, hal 615-622.
20. Gan VHS, Istiantoro YH. 1991. Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotik Betalaktam Lainnya. Dalam: Gan S (Ed.). Farmakologi dan Terapi. Edisi 3; Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta, hal 563-579.
21. Smith CM, Reynard AM. 1992. Text Book of Pharmacology. 1st edition; W.B. Saunders Co.: Philadelphia, pp 817-827.
22. Lien EJ. 1987. SAR Side Effects and Drug Design. Marcel Dekker Inc.: New York, pp 25-32.
23. Martin AN, Swarbick J, Cammarata A. 1969. Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Science. 2nd edition; Lea and Febiger: Philadelphia, pp 315-317.
24. Kantasubrata J. 1986. Kromatografi Fasa Terbalik. Warta Kimia Analitik. tahun I no 2. hal 4-8.

25. Tan HT, Rahardja K. 1986. Obat-obat Penting, Khasiat dan Penggunaannya. Edisi 4; Percetakan Jayakarta: Jakarta, hal 107-114.
26. Bose AK, et al. 1974. Studies on  $\beta$ -Lactams. Anti bacterial Activity of Monocyclic B-Lactams. Journal of Medicinal Chemistry. 17(5). pp 541-544.
27. Edwards ML, Bambury RE, Ritter HW. 1977.  $\beta$ -Lactam Antibiotics Derived from Nitrogen Heterocyclic Acetic Acids. 1. Penicillin Derivatives. Journal of Medicinal Chemistry. 20(4). pp 560-563.
28. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1984. Yademe-kum Farmakoterapi Indonesia. Edisi I. Jakarta, hal 38-40, 45-48.
29. Ivashkiv E. Ampicillin. 1973. In: Florey K (Ed.). Analytical Profiles of Drug Substances. Vol 2; Academic Press: New York, pp 1-61.
30. Budavari S, ed. 1989. The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 11th edition; Merck and Co. Inc.: New Jersey, pp 91, 93, 378, 486, 643.
31. Reynold JEF, ed. 1982. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 28th edition; The Pharmaceutical Press: London, pp 1089-1098, 1148-1150, 1154-1155, 1164-1165.
32. World Health Organization. 1986. Basic Tests for Pharmaceutical Substances. WHO Publications: Geneva, pp 19, 48-49, 58-59.
33. Moffat AC. 1986. Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2nd edition; The Pharmaceutical Press: London, pp 348-349, 351, 488, 621.
34. Bhattacharyya PK, Cort WM. 1973. Amoxicillin. In: Florey K (Ed.). Analytical Profiles of Drug Substances. Vol 7; Academic Press : New York, pp 19-41.
35. Mays DL. 1975. Cloxacillin Sodium. In: Florey K (Ed.). Analytical Profiles of Drug Substances. Vol 4; Academic Press: New York, pp 113-136.
36. Hafkensheid TL. 1986. Influences of Mobile Phase Methanol Content and Solute Character on Relationships between Reversed-Phase Liquid Chromatographic Retention and Hydrophobic-Lipophilic Parameters of Aromatic Compounds. Journal of Chromatographic Science. 24(7). pp 307-316.

37. Dougherty ER. 1990. Probability and Statistics for the Engineering, Computing and Physical Sciences. Prentice Hall Inc.: New Jersey, pp 556-591.
38. Clarke GM, Cooke D. 1983. A Basic Course in Statistics. 2nd edition; English Language Book Society/Edward Arnold: London, pp 342-361, 409.
39. Mulya M, Syahrani A. 1990. Aplikasi Analisis Spektrofotometri UV-VIS. Edisi 1; Mecphiso Grafika: Surabaya, hal 30.
40. Lien EJ. 1974. The Relationship between Chemical Structure and Drug Absorption, Distribution and Excretion. In: Maas J. (Ed.). Medicinal Chemistry IV (Proceedings of the 4th International Symposium on Medicinal Chemistry). September 9-13; Noordwijkerhout: The Netherlands, pp 319-342.



**LAMPIRAN I**  
**PERHITUNGAN UJI REGRESI ANTARA**  
**LOGARITMA KOEFISIEN PARTISI DENGAN NILAI R<sub>M</sub> DARI**  
**AMOKSISILIN, AMPISILIN, KLOKSASILIN**  
**FLUKLOKSASILIN, DAN DIKLOKSASILIN**

Replikasi	X	Y	XY	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
1	-1,538	-0,684	1,0520	2,3654	0,4679
2	-1,323	-0,588	0,7779	1,7503	0,3457
3	-1,073	-0,502	0,5386	1,1513	0,2520
4	-0,931	-0,412	0,3836	0,8668	0,1697
5	-0,647	-0,325	0,2103	0,4186	0,1056
Jumlah (Σ)	-5,512	-2,511	2,9624	6,5524	1,3409
Rata-rata	-1,1024	-0,5022			

$$b = \frac{n \cdot \Sigma XY - (\Sigma X) \cdot (\Sigma Y)}{n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2} = \frac{5 \times 2,9624 - (-5,512) \times (-2,511)}{5 \times 6,5524 - (-5,512)^2}$$

$$= \frac{0,9714}{2,3799} = 0,4081$$

$$a = Y - bX = (-0,5022) - 0,4081 \times (-1,1024) = -0,0523$$

$$r = \frac{n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{\sqrt{[n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2][n \cdot \Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2]}}$$

$$= \frac{5 \times 2,9624 - (-5,512) \times (-2,511)}{\sqrt{[5 \times 6,5524 - (-5,512)^2][5 \times 1,3409 - (-2,511)^2]}}$$

$$= \frac{14,812 - 13,841}{\sqrt{[32,762 - 30,382][6,7045 - 6,3051]}} = \frac{0,971}{\sqrt{0,9506}}$$

$$= 0,9959$$

**LAMPIRAN II**  
**UJI ANOVA UNTUK PERSAMAAN GARIS REGRESI**  
 **$Y = 0,4081 X - 0,0523$**

Sumber Variasi	derajat bebas	SS	MS	F Hitung
Regresi linier	1	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\Sigma(y_c - y)^2$	$\frac{\Sigma(y_c - y)^2}{\Sigma(y - y_c)^2 / n - 2}$
Residual	n-2	$\Sigma(y - y_c)^2$	$\Sigma(y - y_c)^2 / n - 2$	
Total	n-1	$\Sigma(y - \bar{y})^2$		

Dari lampiran I didapat harga  $\Sigma X$ ,  $\Sigma X^2$ ,  $\Sigma Y$ , dan  $\Sigma Y^2$ , di mana :

$$\begin{aligned} \Sigma(y_c - y)^2 &= b^2 \times \left[ \Sigma X^2 - \frac{(\Sigma X)^2}{n} \right] \\ &= (0,4081)^2 \times \left[ 6,5524 - \frac{(-5,512)^2}{5} \right] \\ &= 0,0793 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Sigma(y - \bar{y})^2 &= \Sigma Y^2 - \frac{(\Sigma Y)^2}{n} \\ &= 1,3408 - \frac{(-2,511)^2}{5} \\ &= 0,0799 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Sigma(y - y_c)^2 &= \Sigma(y - \bar{y})^2 - \Sigma(y_c - y)^2 \\ &= 0,0799 - 0,0793 \\ &= 0,0006 \end{aligned}$$

Sumber Variasi	derajat bebas	SS	MS	F Hitung
Regresi linier	1	0,0793	0,0793	396,5
Residual	3	0,0006	0,0002	
Total	4	0,0799		

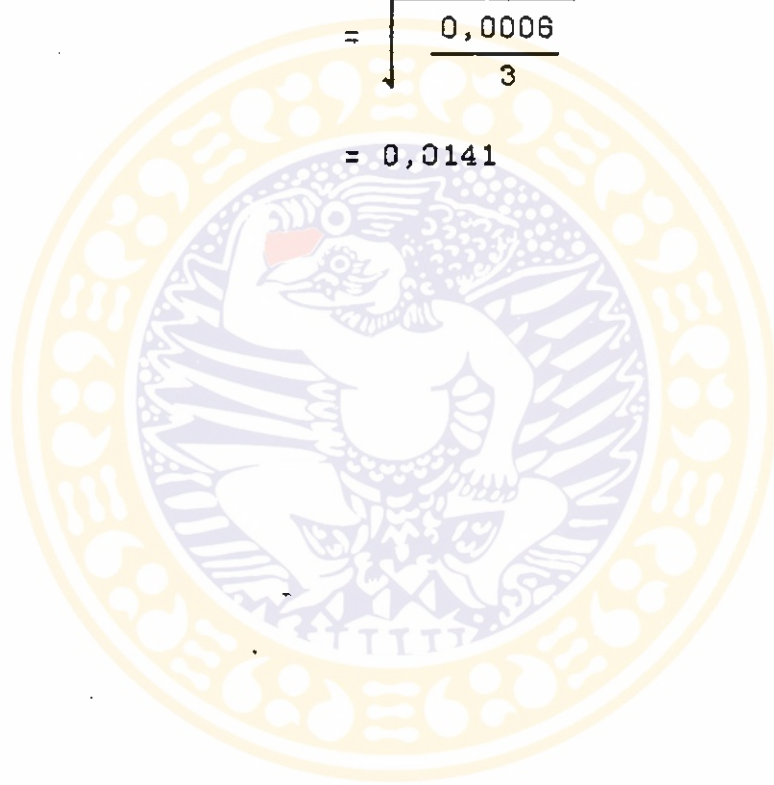
F tabel ( $\alpha=0,05$ ) adalah 10,13

F hitung > F tabel



**LAMPIRAN III**  
**PERHITUNGAN PERKIRAAN KESALAHAN STANDAR**  
**VARIABEL Y TERHADAP VARIABEL X**  
**PADA  $Y = 0,4081 X - 0,0523$**

$$\begin{aligned} S_{y/x} &= \sqrt{\frac{\sum(y-y_e)^2}{n-2}} \\ &= \sqrt{\frac{0,0006}{3}} \\ &= 0,0141 \end{aligned}$$



LAMPIRAN IV  
TABEL HARGA KOEFISIEN KORELASI  
PADA DERAJAT KEPERCAYAAN 5% DAN 1%

**TABLE A 11**  
**CORRELATION COEFFICIENTS AT THE 5% AND 1% LEVELS OF SIGNIFICANCE**

Degree of Freedom	5%	1%	Degree of Freedom	5%	1%
1	.997	1.000	24	.388	.496
2	.950	.990	25	.381	.487
3	.878	.959	26	.374	.478
4	.811	.917	27	.367	.470
5	.754	.874	28	.361	.463
6	.707	.834	29	.355	.456
7	.666	.798	30	.349	.449
8	.632	.765	35	.325	.418
9	.602	.735	40	.304	.393
10	.576	.708	45	.288	.372
11	.553	.684	50	.273	.354
12	.532	.661	60	.250	.325
13	.514	.641	70	.232	.302
14	.497	.623	80	.217	.283
15	.482	.606	90	.205	.267
16	.468	.590	100	.195	.254
17	.456	.575	125	.174	.228
18	.444	.561	150	.159	.208
19	.433	.549	200	.138	.181
20	.423	.537	300	.113	.148
21	.413	.526	400	.098	.128
22	.404	.515	500	.088	.115
23	.396	.505	1,000	.062	.081


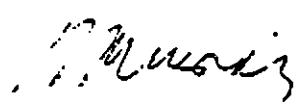
Portions of this table were taken from Table VA in *Statistical Methods for Research Workers* by permission of Professor R. A. Fisher and his publishers, Oliver and Boyd.





**LAMPIRAN V**  
**TABEL DISTRIBUSI F PADA DERAJAT KEPERCAYAAN 5%**

<i>F<sub>0.95</sub></i>									
Denominator Degree of Freedom	Numerator Degree of Freedom								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.35	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

LAMPIRAN VI  
SERTIFIKAT ANALISIS AMOKSISILIN

MAILING ADDRESS : P.O. BOX 1076 JAYAPURA 10010 INDONESIA	HEAD OFFICE : JL. TAMAN ABANG 8 19 JAKARTA 10160, INDONESIA TELEPHONE : (021) 360006 (10 LINES) TELEX : AAASB SANDOZ IA TELEFAX : (021) 372467	FACTORY : DESA KARANG ASIH TIMUR KECAMATAN CIBURUY KABUPATEN BOGOR, INDONESIA TELEPHONE : (021) 8753104 (3 LINES) TELEX : 40374 SIB IA TELEFAX : (021) 8753099
 <b>P.T. SANDOZ BIOCHEMIE FARMA INDONESIA</b>		
<b>C E R T I F I C A T E   O F   A N A L Y S I S</b>		
<hr/>		
<b>Product</b> <b>Batch No.</b> <b>Manufacture date</b> <b>Expiry date</b>	: : : :	<b>AMOXICILLIN TRIHYDRATE PULVERIZED</b> <b>06S Y 4B</b> <b>February 1994</b> <b>February 1998</b>
<hr/>		
<b>Appearance</b> <b>Odour</b> <b>Identity I.R.</b> <b>Optical Rotation (degree)</b> <b>Crystallinity</b> <b>Appearance of Solution (HCl)</b> <b>Appearance of Solution (Ammonia)</b> <b>pH</b> <b>Water content (%)</b> <b>Sulphated Ash (%)</b> <b>Heavy metals (ppm)</b> <b>Content Mercurimetric (%)</b> <b>Content HPLC (%)</b>	: : : : : : : : : : : :	<b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>Corresponds</b> <b>4.71</b> <b>13.19</b> <b>Less than 0.1</b> <b>Less than 20</b> <b>98.85</b> <b>99.25</b>
<hr/>		
We certify that the above mentioned product is in conformity with the requirements of BP 88, USP XXII.		
PT SANDOZ BIOCHEMIE FARMA INDONESIA <i>MS</i>		
 Ora. Syamsiah R. Syamsunu S.I.K. 1354 B Quality Assurance Manager		

**LAMPIRAN VII**  
**SERTIFIKAT ANALISIS AMPISILIN**

 <b>P.T. MEDIFARMA LABORATORIES, INC.</b> <small>JL. PATASELAM VEAW. 11.13 BLOK L KAWASAN INDUSTRI PULOADAMUS P. O. BOX 118 JAT PHONE : 488-8433      CAPEL : 08111113      TELEK : 48113 MED FARMA 1A</small>		
<b>CERTIFICATE OF ANALYSIS</b>		
Product	AMPICILLIN TRIHYDRATE - PULVERIZED	Lot No. ABUC-08088
Manufacturing Date	August 1995	Quantity -
Expiration Date	August 1998	Laboratory No. ANT-090710
Description:	SPECIFICATIONS	RESULTS
Description:	White to nearly white crystalline powder, almost odorless.	Conforms
Identification:	Give positive identity test for Ampicillin Trihydrate via TLC and IR Spectroscopy.	Conforms
Clarity of Solution	Clear and not more than slightly opalescent.	Conforms
Moisture Content	Not less than 10 % and not more than 15 % using Karl Fischer Method.	15.01 %
pH:	Not less than 5.5 and not more than 6 in aqueous solution containing 10 mg Ampicillin Trihydrate per ml.	6.29
Assay:	Not less than 95 % calculated on anhydrous basis.	
- Spectrophotometric		98.87 %
- HPLC		99.58 %
Heavy Metals	Not more than 20 ppm	Conforms
Sulphates Ash	Not more than 0.5 %	0.015 %
Bulk Density	Not more than 0.20 g/ml	0.57 g/ml
<b>QUALITY CONTROL DECISION:</b>		
Approved		
DATE September 20, 1995	Dr. D. S. Eda Quality Control Manager	

**LAMPIRAN VIII**  
**SERTIFIKAT ANALISIS KLOKSASILIN**



**P.T. MEIJI INDONESIAN PHARMACEUTICAL INDUSTRIES**

HEAD OFFICE : J. Tanah Abang II No. 4 Jakarta 10100, Phone : 3845884, 3846371, 372303, 373678, 373688  
 Cable Address : MEIIPHARM JAKARTA P.O. Box, 3811 Jakarta 10002 Telex : 46730 MEPI IA. Fax : 3467880  
 FACTORY : J. Mojopaton No. 1, Bangil 67163, East Java, Phone : (0343) 72215, 71102, Telex : 51447 MEPIIG IA  
 Fax : (0343) 71103


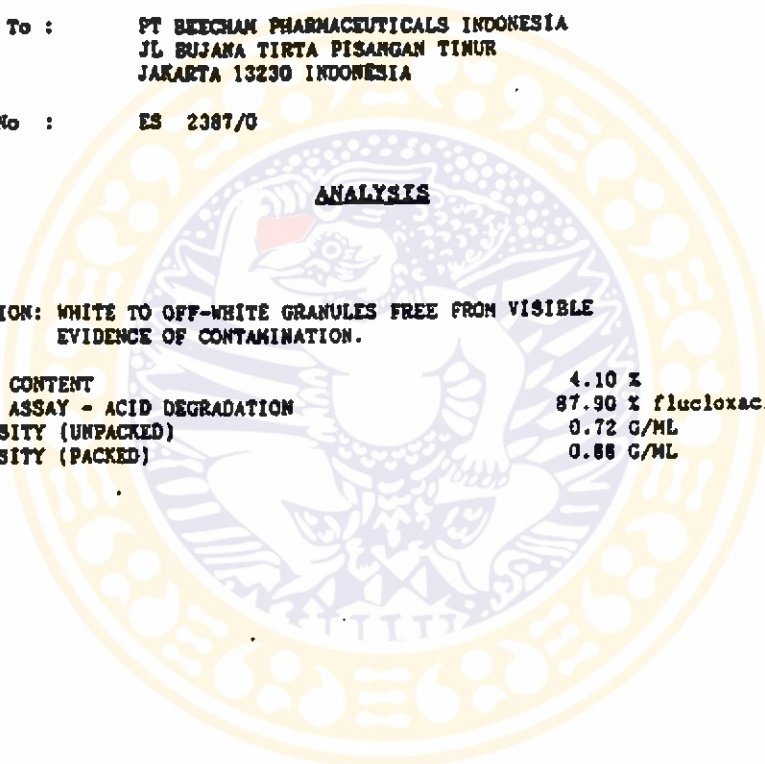

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Product : Cloxacillin Sodium ( Non Steril )  
 Lot No. : PICB - YK.37127  
 Manufacturing Date : December , 1993  
 Testing Date : March 23 , 1994  
 Expiration Date : December , 1996  
 Analysis :  
 Description : Conforms  
 Identification : Pass  
 Potency : 990 µg(pot)/mg  
 Moisture : 3.93 %  
 pH : 5.76  
 Toxicity : Pass  
 Decision : Pass

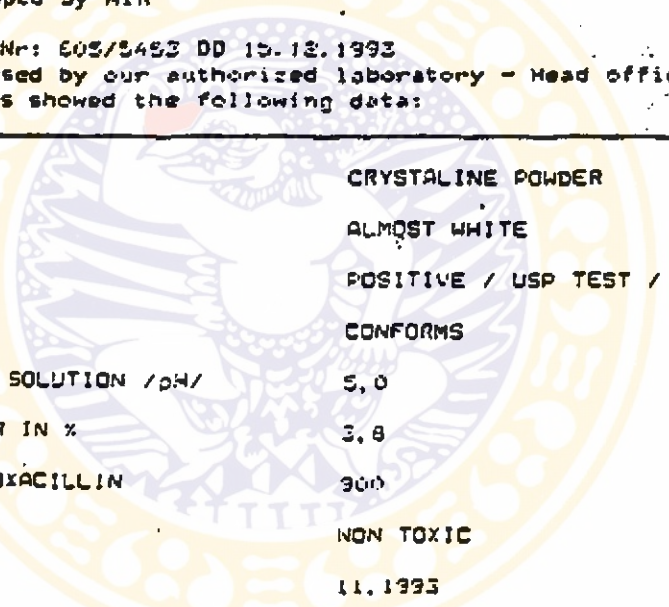
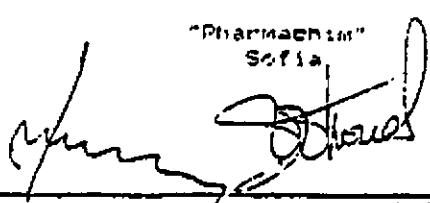


Dr. J. S. Santoso, Sibjantoro Apt.  
 Quality Assurance Manager.

**LAMPIRAN IX**  
**SERTIFIKAT ANALISIS FLUKLOKSASILIN**

	<b>Beecham Pharmaceuticals (Pte) Ltd</b> Factory: 28, Quality Road Jurong Industrial Estate Singapore 2281	Head Office: Jurong Town P.O. Box 78 Singapore 2107	Code : BEECHAM Name : BEECHAM NO 2167 Phone : 2264247 Telex : 2262711 Pg: 1
<b>CERTIFICATE OF ANALYSIS</b>		No: 00451/94	
<b>Product :</b>	<b>FLUCLOXACILLIN CFM QTY @ 100% PURITY</b>		
<b>Batch No :</b>	<b>7826</b>		
<b>Quantity :</b>	<b>14.940 KG @ 100% PURITY</b>		
<b>Supplied To :</b>	<b>PT BEECHAM PHARMACEUTICALS INDONESIA JL BUJANA TIRTA PISANGAN TINUR JAKARTA 13230 INDONESIA</b>		
<b>Invoice No :</b>	<b>ES 2387/0</b>		
<b>ANALYSIS</b>			
<b>DESCRIPTION: WHITE TO OFF-WHITE GRANULES FREE FROM VISIBLE EVIDENCE OF CONTAMINATION.</b>			
<b>MOISTURE CONTENT</b>	<b>4.10 %</b>		
<b>CHEMICAL ASSAY - ACID DEGRADATION</b>	<b>87.90 % flucloxacillin</b>		
<b>BULK DENSITY (UNPACKED)</b>	<b>0.72 G/ML</b>		
<b>BULK DENSITY (PACKED)</b>	<b>0.88 G/ML</b>		
			
<b>Manufacturing Date: 03/94</b>			
<b>Expiry Date: 31/03/97</b>			
<b>Date: 21/03/94</b>			
			 Director of Quality Assurance

**LAMPIRAN X**  
**SERTIFIKAT ANALISIS DIKLOKSASILIN**

<b>PHARMACHIM,</b> <b>16 OLLIENSKO CHAUDEE STR,</b> <b>SOFIA-1220 Bulgaria</b>	<b>Date: 15.12.1993</b>																				
<b>CERTIFICATE OF ANALYSIS</b>																					
<p>We, "PHARMACHIM", Sofia, Bulgaria, certify hereby that samples of:</p> <p><b>DICLOXACILLIN SODIUM MONOHYDRATE 100 KGS (PHARMACEUTICAL RAW MATERIAL EXPORT STANDART QUALITY) contract/order No. a. 67.143/IX/93 p dd sept. 1, 1993</b></p> <p>of the lot shipped by AIR          Batches. Nr: 10          As per Invoice Nr: 605/5453 DD 15.12.1993          have been analysed by our authorized laboratory - Head office, Sofia,          and the analysis showed the following data:</p>																					
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;"><b>APPEARANCE</b></td> <td><b>CRYSTALLINE POWDER</b></td> </tr> <tr> <td><b>COLOUR</b></td> <td><b>ALMOST WHITE</b></td> </tr> <tr> <td><b>IDENTITY</b></td> <td><b>POSITIVE / USP TEST /</b></td> </tr> <tr> <td><b>SOLUBILITY</b></td> <td><b>CONFORMS</b></td> </tr> <tr> <td><b>REACTION OF THE SOLUTION /pH/</b></td> <td><b>5,0</b></td> </tr> <tr> <td><b>CONTENT OF WATER IN %</b></td> <td><b>3,8</b></td> </tr> <tr> <td><b>CONTENT OF DICLOXACILLIN</b></td> <td><b>900</b></td> </tr> <tr> <td><b>TOXICITY</b></td> <td><b>NON TOXIC</b></td> </tr> <tr> <td><b>MFG. DATE</b></td> <td><b>11.1993</b></td> </tr> <tr> <td><b>EXP. DATE</b></td> <td><b>11.1996</b></td> </tr> </table>	<b>APPEARANCE</b>	<b>CRYSTALLINE POWDER</b>	<b>COLOUR</b>	<b>ALMOST WHITE</b>	<b>IDENTITY</b>	<b>POSITIVE / USP TEST /</b>	<b>SOLUBILITY</b>	<b>CONFORMS</b>	<b>REACTION OF THE SOLUTION /pH/</b>	<b>5,0</b>	<b>CONTENT OF WATER IN %</b>	<b>3,8</b>	<b>CONTENT OF DICLOXACILLIN</b>	<b>900</b>	<b>TOXICITY</b>	<b>NON TOXIC</b>	<b>MFG. DATE</b>	<b>11.1993</b>	<b>EXP. DATE</b>	<b>11.1996</b>	
<b>APPEARANCE</b>	<b>CRYSTALLINE POWDER</b>																				
<b>COLOUR</b>	<b>ALMOST WHITE</b>																				
<b>IDENTITY</b>	<b>POSITIVE / USP TEST /</b>																				
<b>SOLUBILITY</b>	<b>CONFORMS</b>																				
<b>REACTION OF THE SOLUTION /pH/</b>	<b>5,0</b>																				
<b>CONTENT OF WATER IN %</b>	<b>3,8</b>																				
<b>CONTENT OF DICLOXACILLIN</b>	<b>900</b>																				
<b>TOXICITY</b>	<b>NON TOXIC</b>																				
<b>MFG. DATE</b>	<b>11.1993</b>																				
<b>EXP. DATE</b>	<b>11.1996</b>																				
<p>L/C No. iml. kny. 0037.23/du dated October 06, 1993          Application number 009.021.0074          CCEN 2941.10.900</p>																					
<p><b>CONCLUSION:</b>          The lot of batches described          above is in conformity with          the requirements of: USP-XII</p>	<p>"Pharmachim" Sofia</p> 																				
fax: 32097/23090	fax: 333 130																				
	phone: 28501																				