

CHLORAMPHENICOL

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

**SKRIPSI**



**MELIANA SUSANTI**

**VALIDASI METODE BIOAUTOGRAFI UNTUK  
PENETAPAN KADAR Kloramfenikol**

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

FF.106/10



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
DEPARTEMEN KIMIA FARMASI  
SURABAYA  
2008**

## RINGKASAN

### VALIDASI METODE BIOAUTOGRAFI UNTUK PENETAPAN KADAR Kloramfenikol

Penggunaan kloramfenikol pada sampel produk pertanian dan peternakan ditujukan untuk mencegah penyakit yang disebabkan bakteri. Kandungan residu kloramfenikol yang tinggi dalam produk-produk tersebut dapat membahayakan kesehatan konsumen.

Kontrol terhadap residu kloramfenikol dapat dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik itu dengan metode kimia atau metode mikrobiologi. Metode kimia yang sering digunakan untuk analisis kloramfenikol adalah KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Secara mikrobiologi dilakukan uji aktivitas. Tetapi dengan metode kimia tersebut hanya akan diperoleh jumlah kandungan kloramfenikol saja, sedangkan uji aktivitas harus dilakukan tersendiri.

Metode alternatif yang sederhana dan murah untuk menetapkan kadar residu kloramfenikol adalah bioautografi. Metode bioautografi merupakan metode gabungan antara KLT dengan uji aktivitas. Dengan bioautografi dapat ditentukan jumlah residu sekaligus diketahui bagaimana aktivitas kloramfenikol. Dari kromatogram KLT dapat diketahui jumlah komponen dalam sampel berdasarkan jumlah noda. Sedangkan dari bioautogram dapat diketahui informasi jumlah komponen yang memiliki aktivitas daya hambat terhadap mikroba uji, baik kualitatif maupun kuantitatif.

Untuk dapat diaplikasikan pada produk pertanian dan peternakan, metode bioautografi untuk determinasi kloramfenikol perlu divalidasi. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan metode bioautografi untuk penetapan kadar kloramfenikol mempunyai harga parameter validasi memenuhi syarat yang ditentukan. Parameter validasi yang digunakan meliputi linearitas, akurasi, presisi, dan limit deteksi.

Pada uji bioautografi digunakan larutan kloramfenikol p.a. dalam aseton, ditotolkan pada fase diam silika gel F<sub>254</sub> sebanyak 6 µL. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : metanol (80 : 20). Sedangkan bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* ATCC 25922, dengan media pertumbuhan *Nutrient Agar* dan suhu inkubasi 37°C.

Hasil uji validasi didapatkan hubungan linear antara logaritma konsentrasi dengan diameter zona hambat pada konsentrasi kloramfenikol antar 100 ppm hingga 200 ppm. Persamaan regresi linear yang dihasilkan adalah  $Y = 2.8468X - 4.3655$ , dengan harga  $r = 0.9615$ , dan  $V_{x_0} = 1.8129\%$ . Harga akurasi dan presisi berturut-turut adalah  $96.2348\% \pm 4.7746$  dan  $2.8939\% \pm 2.3477$ . Harga limit deteksi adalah 0.06 µg.

Harga parameter-parameter validasi tersebut memenuhi persyaratan yang ditentukan, sehingga dapat disimpulkan metode bioautografi dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar kloramfenikol.

Untuk memudahkan pengukuran diameter zona hambat pada uji bioautografi, diperlukan ukuran koloni mikroba uji yang homogen, sehingga batas zona hambat dapat diamati dengan jelas. Oleh karena itu, disarankan agar media

perbenihan bioautografi divortex lebih lama sehingga homogen, tetapi tidak sampai memadat kembali.

#### Validation of Bioautography Method for Determination of Chloramphenicol Concentration

A color bioautography method has been developed for determination of chloramphenicol concentration. Validation of bioautography method include sensitivity, linearity, accuracy, precision, and detection limit. Thin layer chromatography on kieselgel 60 has been carried out by integrallite gel F<sub>254</sub> as a stationary phase, chloroform-methanol (80:20) as a mobile phase, and acetone as chloramphenicol solvent. *Escherichia coli* ATCC 25922 as a bacterial test, and Poinsett Agly as the media. The response was found to be linear at the amount of chloramphenicol from 20-100 ppm and 200 ppm, with regression equation line is  $Y = 2.8467X - 4.2435$ ,  $r = 0.9999$ , and  $r_{95\%} = 1.8129\%$ . Accuracy and precision are 97.248% and 2.247%, respectively. The detection limit value of chloramphenicol concentration parameter value was agreement with the value of 10 ppm.

Keyword: chloramphenicol



## ABSTRACT

### Validation of Bioautography Method for Determination of Chloramphenicol Concentration

Contact bioautography method has been developed for determination of chloramphenicol concentration. Validation of bioautography method include parameter linearity, accuracy, precision, and detection limit. Thin Layer Chromatography chloramphenicol has been carried out by using silica gel F<sub>254</sub> as a stationary phase, chloroform : methanol (80 : 20) as a mobile phase, and aseton as chloramphenicol solvent. *Escherichia coli* ATCC 25922 as a bacterial test, and Nutrient.Agar as the media. The response was found to be linear at the amount of chloramphenicol between 100 ppm and 200 ppm, with regression equation line is  $Y = 2.8468X - 4.3655$ ,  $r$  value = 0.9615, and  $V_{x_0} = 1.8129\%$ . Accuracy and precision are  $96.2348\% \pm 4.7746$  and  $2.8939\% \pm 2.3477$ , respectively. The detection limit value is 0.06  $\mu\text{g}$ . As conclusion, validation parameters value was incorrected with references, so this method can be apply.

Keyword : chloramphenicol, bioautography, validation

