

PENGARUH pH DAN SUHU STERILISASI TERHADAP PERURAIAN  
KLORAMFENIKOL DALAM SEDIAAN TETES MATA

HASRIANI

H 511 96 029



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	26-11-02
Asal Dari	Fak. MIPA
Banyaknya	1 ek.
Harga	Hadiah
No. Inventaris	021126.180
No. Kls.	

JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR

2001

# SKRIPSI

*Oleh :*

HASRIANI

11 511 26 029



JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2001

**PENGARUH pH DAN SUHU STERILISASI TERHADAP  
PERURAIAN KLORAMFENIKOL DALAM SEDIAAN TETES MATA**

**OLEH :**  
**HASRIANI**  
**H 511 96 029**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada  
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin*

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2001**

PENGARUH pH DAN SUHU STERILISASI TERHADAP  
PERURAIAN KLORAMFENIKOL DALAM SEDIAAN TETES MATA

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama



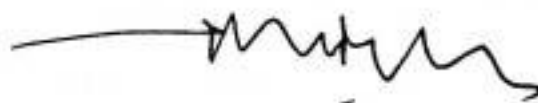
(Drs. Iskandar Sudirman)

Pembimbing Pertama



(Dra. Sartini, MSi)

Pembimbing Kedua



(Drs. M. Natsir Djide, MS)

Makassar,

2001

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puja dan puji sudah sepantasnya dihaturkan dihadapan Allah SWT yang Maha Suci dan Maha Tinggi, karena berkat taufiq, hidayah dan inayahnya jualah maka penulisan skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi pada fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Apa yang tersirat masih sulit dituliskan dengan jelas, dan apa yang tersurat juga belum tentu dapat dipahami dengan baik baik oleh para pembaca. Semua itu adalah perwujudan kekurangan yang ada pada penulis. Untuk itu kritik dan saran dari berbagai pihak masih penulis harapkan demi perbaikan penulisan dimasa yang akan datang.

Tidaklah berlebihan kiranya bahwa penulisan ini dapat terwujud juga karena bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat yang sedalam-dalamnya dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Drs. Iskandar Sudirman selaku pembimbing utama, Ibu Dra. Sartini, M.Si selaku pembimbing pertama dan Bapak Drs. M. Natsir Djide, M.S selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini juga tak lupa penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Pembantu Dekan I, II dan III Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
4. Bapak Kepala Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
6. Seluruh staf dan karyawan Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
7. Rekan-rekan se-angkatan Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
8. Sahabat-sahabatku, Icha, Dian, Mala, Nisa', Rani, Wiwin, Uni, dan Hasna.
9. Seluruh akhwat di Forum Studi Ulul Albaab Universitas Hasanuddin, akhwat di KKI Qaulan Karimah dan seluruh staf PPSDI Azkiyah.
10. Terkhusus kepada adik-adikku tersayang, Hasna, Hasni, dan Ana.

Selanjutnya skripsi ini kupersembahkan kepada kedua orang tuaku tercinta yang telah menanamkan nilai-nilai luhur, kedisiplinan, dan rasa tanggung jawab sebagai pedoman hidup penulis. pengertian, kesabaran dan berbagai pengorbanan

lainnya yang penulis tak mampu menuliskannya yang kesemuanya itu sangat berguna bagi penulis dalam rangka penyelesaian penulisan ini.

Akhirnya kepada Allah SWT jualah penulis memohonkan dan berdo'a semoga budi baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat imbalan yang berlipat ganda. Dan semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dan syafaat bagi siapa saja yang membacanya. Amin.

Makassar, Juli 2001

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pH dan suhu sterilisasi terhadap peruraian kloramfenikol dalam sediaan tetes mata. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pH dan suhu sterilisasi yang memberikan peruraian kloramfenikol paling kecil.

Pada penelitian ini, sediaan tetes mata kloramfenikol 0,5% dibuat dengan pH yang bervariasi, yaitu: 6; 6,5; 7 dan 7,5 kemudian disterilkan pada 100 °C selama 30 menit dan suhu 115 °C selama 30 menit. Jumlah kloramfenikol yang terurai ditentukan secara mikrobiologis dengan metode difusi, menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Analisis data secara statistik menggunakan rancangan faktorial terhadap diameter zone hambatan, memperlihatkan adanya pengaruh yang nyata dari pH dan suhu sterilisasi terhadap peruraian kloramfenikol. Pengujian selanjutnya, menggunakan uji Duncan memperlihatkan bahwa pada pH 6 dengan suhu sterilisasi 100 °C selama 30 menit merupakan pH dan suhu sterilisasi yang memberikan peruraian kloramfenikol paling kecil dalam sediaan tetes mata kloramfenikol.



## ABSTRACT

The influence of pH and sterilization temperature on chloramphenicol dissociation in eye drops had been investigated. The aim of this investigation was to determine the pH and sterilization temperature which gave the minimum dissociated of chloramphenicol.

Chloramphenicol eye drops of 0.5 % were prepared in various pH viz. 6; 6.5; 7; and 7.5 which were then sterilized by autoclaving at three sterilization temperatures viz. 100 °C for 30 minutes and 115 °C for 30 minutes. The amount of dissociated chloramphenicol was determined microbiologically by diffusion method using *Staphylococcus aureus*.

Statistically analysis using factorial design on diameter of inhibition zone, indicate significant differences of pH and sterilization temperatures on the chloramphenicol dissociation. Duncan test showed that eye drops prepared at pH 6 and sterilized at 100 °C for 30 minutes gave the minimum dissociated chloramphenicol.



## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. POLA PENELITIAN	3
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA	
III.1 Uraian Umum	5
III.2 Penentuan Potensi Antibiotik	8
III.3 Uraian Bahan Yang Digunakan	9
III.4 Uraian Bakteri	15
BAB IV. PELAKSANAAN PENELITIAN	
IV.1 Alat dan Bahan	16
IV.2 Sterilisasi Alat	18
IV.3 Rancangan Formula	18
IV.4 Pembuatan Tetes Mata Kloramfenikol	19
IV.5 Penetapan Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Agar	20
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
V.1 Hasil Penelitian	23
V.2 Pembahasan	23
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
VI.1 Kesimpulan	27
VI.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
I Hasil pengukuran diameter zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan tetes mata .....	23
II. Rancangan formula tetes mata kloramfenikol untuk volume 100 ml .....	30



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diameter zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan uji yang disterilkan pada suhu $100^{\circ}$ C selama 30 menit terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam .....	31.
2. Diameter zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan uji yang disterilkan pada suhu $115^{\circ}$ C selama 30 menit terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam .....	32.
3. Diameter zona hambatan larutan blanko .....	33.
4. Daya hambat kloramfenikol pada berbagai pH dan suhu sterilisasi terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Skema Kerja .....	35
B. Hasil analisis secara statistik hasil pengukuran zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan tetes mata .....	36
C. Hasil perhitungan prosentase peruraian kloramfenikol dalam sediaan tetes mata .....	46

## BABI

### PENDAHULUAN

Tetes mata adalah sediaan steril berupa larutan atau suspensi digunakan pada mata, dengan cara meneteskan obat pada selaput lendir mata sekitar kelopak mata dan kelopak mata (1). Jenis-jenis obat yang dipakai pada mata di antaranya adalah zat antiinflamasi, midriatik, dan antimikroba. Salah satu anti mikroba yang digunakan secara topikal pada mata adalah kloramfenikol (2).

Kloramfenikol secara topikal digunakan pada mata untuk infeksi konjungtiva bagian luar dan radang selaput mata yang disebabkan oleh *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella lacrimata*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus haemolyticus* (3).

Dalam larutan air, kloramfenikol sangat stabil pada rentang pH yang lebar. Hidrolisis tidak terjadi pada pH 2 sampai 7, pada suhu kamar (4,5). Kestabilan maksimum adalah pada pH 6 (4). Broadhurst, dan kawan-kawan (4) melaporkan bahwa kloramfenikol paling stabil dalam wadah borat dengan pH 6 setelah sterilisasi pada suhu 100°C selama 30 menit. Sediaan tetes mata kloramfenikol mempunyai pH yang berbeda-beda dengan jarak pH sekitar 7 sampai 7.5 (5).

Hind dan Goñan mengatakan bahwa pH dimana obat mata mencapai stabilitas maksimumnya apabila terletak jauh di bawah pengaruh fisiologisnya (pH air mata). Dalam kondisi semacam ini larutan obat dapat diberi wadah berkapasitas rendah dan pH yang terletak antara kestabilan optimum dan pH dimana aksi terapeutik maksimum (6).

Kehilangan potensi kloramfenikol karena proses hidrolisis akan meningkat dengan pemanasan. Sterilisasi pada suhu  $115^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit akan menyebabkan kehilangan potensi sebesar 10 % (7) atau mengalami degradasi 10 sampai 15 % (4). Sterilisasi pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit memberikan peruraian sebesar 4 %, sedangkan sterilisasi bersama bakterisida pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dengan pendinginan yang cepat memberikan peruraian 3 – 4 % (4,7).

Peningkatan suhu sterilisasi dan peningkatan pH yang menyebabkan peningkatan proses hidrolisis kloramfenikol, apakah juga akan menyebabkan semakin menurunnya aktivitas antibakteri dari kloramfenikol. Berdasarkan pernyataan di atas maka permasalahan yang timbul adalah pada pH berapa dan cara sterilisasi yang bagaimana tetes mata kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri paling baik untuk melawan mikroorganisme penyebab infeksi pada mata, dengan mempertimbangkan kenyamanan pasien. Untuk memecahkan masalah tersebut maka dirancang tetes mata kloramfenikol pada berbagai pH dan suhu sterilisasi yang berbeda.

Aktivitas antibakteri dari tetes mata kloramfenikol akan ditentukan dengan cara mengukur daya hambat yang diberikan oleh sediaan uji pada bakteri yang peka dan sesuai. Pada pengujian ini digunakan metode difusi, menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh pH dan suhu sterilisasi terhadap aktivitas antibakteri dalam sediaan tetes mata. Tujuannya adalah untuk menentukan pH optimum dan suhu sterilisasi yang memberikan aktivitas antibakteri relatif paling besar.

## BAB II

### POLA PENELITIAN

#### II.1 Rancangan Formula

Formula dirancang dalam bentuk tetes mata dengan pH dan suhu sterilisasi yang divariasikan, mengandung kloramfenikol basa, asam borat, borax, benzalkonium klorida, dinatrium EDTA, dan air untuk diinjeksi

#### II.2 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat yang sudah dicuci disterilkan sesuai dengan yang disyaratkan.

Bahan yang digunakan telah memenuhi syarat kefarmasian.

#### II.3 Pembuatan Tetes Mata kloramfenikol

Rancangan tetes mata dibuat dengan konsentrasi kloramfenikol 0,5% dan diisikan dalam vial 10 ml dengan dapar borat pada pH 6; 6,5; 7 dan 7,5 kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 115<sup>0</sup>C selama 30 menit, dan pada suhu 100<sup>0</sup>C selama 30 menit.

#### II.4 Penetapan Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Agar

##### II.4.1 Pembuatan Medium

Disiapkan medium pembenihan glukosa nutrien agar untuk *Staphylococcus aureus*.



#### II.4.2 Penyiapan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*

Diinokulasikan satu ose biakan mikroba uji pada medium agar miring, medium pembenihan glukosa nutrien agar pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

#### II.4.3 Pembuatan larutan Dapar Borat pH 6; 6,5; dan 7,5

#### II.4.4 Pembuatan larutan Pembanding Kloramfenikol 50 ppm

#### II.4.5 Pembuatan Larutan Uji Kloramfenikol 50 ppm

#### II.4.6 Uji Daya Hambatan Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*

### II.5 Pengumpulan dan Analisis Data

Data dikumpulkan dari hasil pengukuran diameter zona hambatan setelah masa inkubasi 24 jam, selanjutnya dianalisis secara statistik.

### II.6 Pembahasan Hasil

Hasil dibahas sesuai dengan data yang telah dianalisis

### II.7 Pengambilan Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat ditemukan pH tetes mata dan suhu sterilisasi yang memberikan aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap mikroba uji yang digunakan secara in vitro. Dengan asumsi bahwa makin besar aktivitas antibakteri, makin kecil peruraian yang terjadi

## BAB III

### TINJAUAN PUSTAKA

#### III.1 Uraian Umum

Tetes mata adalah cairan steril berupa larutan atau suspensi digunakan pada mata, dengan cara meneteskan obat pada selaput lendir mata sekitar kelopak mata dan kelopak mata (1). Jenis-jenis obat yang dipakai pada mata diantaranya adalah zat antiinflamasi, miolitik, dan antimikroba. Salah satu zat antimikroba yang digunakan secara topikal pada mata adalah kloramfenikol (2).

Faktor-faktor yang penting dalam pembuatan tetes mata (8) adalah :

##### a. Konsentrasi ion $H^+$ (pH) dan pendapar

Konsentrasi ion  $H^+$  (pH) didefinisikan sebagai ukuran asam atau basa dari suatu zat (10,8). Larutan dapar ialah larutan yang dapat mempertahankan perubahan pH, meskipun ke dalam larutan ditambahkan asam atau basa. Sedangkan kapasitas dapar adalah kemampuan dari larutan untuk mempertahankan perubahan pH. Semakin kecil perubahan pH yang disebabkan penambahan sejumlah asam atau basa, maka semakin besar kapasitas dapar dari suatu larutan (3,10).

Dapar digunakan dalam suatu larutan untuk mata karena salah satu atau semua alasan berikut ini :

1. Untuk mengurangi ketidaknyamanan pasien
2. Untuk menjamin stabilitas obat



### 3. Untuk meningkatkan aktivitas terapeutik bahan obat

pH air mata normal memiliki kemampuan dapar yang rendah. Untuk kenyamanan sepenuhnya suatu larutan maka harus mempunyai pH yang sama dengan pH cairan mata (2).

Cairan mata mempunyai pH 7,4 - 7,7. Sedangkan rentang pH larutan tetes mata yang masih dapat diterima oleh mata tanpa mengiritasi antara pH 4,5 - 8,5. Dengan demikian larutan tetes mata sebaiknya menggunakan dapar dengan kapasitas rendah (3,8).

Kebanyakan obat termasuk yang dipakai dalam larutan untuk mata aktivitas terapeutiknya tinggi pada pH yang mengandung molekul tak terion. Tapi pH yang mempunyai aktivitas tertinggi bisa juga merupakan pH dimana obat paling tidak stabil. Untuk alasan inilah maka biasanya digunakan dapar untuk memberikan aktivitas yang lebih besar dan sekaligus menjaga kestabilan obat (2).

Menurut Hind dan Goyan, stabilitas obat tetes mata umumnya berada di bawah pH cairan mata, sehingga dalam membuat obat mata diusahakan pH terletak antara pH di mana obat paling stabil dan pH dimana aktivitas terapeutik obat paling tinggi (6).

#### b. Tonisitas

Cairan lakrimal mempunyai tekanan osmosis yang sama dengan tekanan osmosis darah yaitu isoosmosis dengan larutan NaCl 0,9%. Secara umum dapat menyatakan bahwa larutan obat mata yang isotoni dengan cairan lakrimal menghindari terjadinya iritasi pada membran mukosa mata (3,11)

### c. Sterilisasi

Sterilisasi adalah proses pembunuhan atau penghilangan mikroorganisme. Sedangkan steril merupakan suatu keadaan bebas dari mikroorganisme secara menyeluruh (11).

Sterilisasi merupakan syarat yang paling-penting dengan mempertimbangkan mekanisme pertahanan tubuh (8,9). Air mata tidak seperti darah, tidak mengandung antibodi atau mekanisme yang menghasilkan antibodi oleh karena itu mekanisme pertahanan utama melawan infeksi mata adalah aksi pencucian air mata yang sederhana (12). Organisme yang paling berbahaya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Infeksi mata dari organisme ini dapat menyebabkan kebutaan (9).

Sterilisasi dengan menggunakan uap air bertekanan atau yang dikenal dengan autoklaf adalah lebih efektif dan umumnya merupakan cara sterilisasi yang baik. Sterilisasi dengan cara ini dapat membunuh spora bakteri dengan jalan koagulasi protein sel (3,11).

### d. Kejernihan (3)

Larutan tetes mata harus jernih bebas dari zarah asing, serat dan filamen. Adanya partikel-partikel ini dapat menimbulkan infeksi yang serius.

### e. Viskositas (3)

USP membolehkan penggunaan bahan penambah kekentalan untuk memperpanjang waktu kontak dengan mata sehingga meningkatkan absorpsi obat dan aktivitasnya.

### III.2. Penentuan Potensi Antibiotik

Aktivitas (potensi) antibiotik dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambatnya terhadap mikroba. Suatu penurunan aktivitas antimikroba juga akan dapat menunjukkan perubahan kecil, yang tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas (14).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan berdasarkan kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup. Keberhasilan metode ini sangat tergantung pada spesifikasi mikroorganisme yang dipilih, jika mikroorganismenya resisten terhadap antibiotik yang diuji maka akan menimbulkan hasil penentuan aktivitas antibiotik (13).

Ada beberapa macam metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas mikrobiologis yaitu ;

#### I. Metode dilusi

Prinsip ini adalah suatu seri pengenceran larutan antibiotik dalam media pertumbuhan yang dimulai dari konsentrasi tinggi sampai rendah. Media pertumbuhan tersebut kemudian diinokulasi dengan mikroba uji dalam jumlah tertentu. Setelah inkubasi akan tampak adanya pertumbuhan kuman. Metode ini dapat menentukan Konsentrasi Hambat Minimal dan konsentrasi bunuh minimal.

## 2. Metode difusi

Metode ini berdasarkan difusi antibiotik dari pencadang ke dalam media yang telah ditanami mikroba uji. Setelah inkubasi akan tampak adanya daerah jernih di sekeliling pencadang dan daerah keruh mengelilingi daerah jernih tersebut. Daerah jernih menunjukkan daerah dimana terjadi hambatan pertumbuhan kuman. Diameter daerah jernih ini dikenal dengan sebutan diameter daerah hambatan. Diameter daerah hambatan akan sebanding dengan konsentrasi antibiotik dalam pencadang (14, 15, 16, 17).

### III.3 Uraian Bahan Yang Digunakan

#### III.3.1 Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas, yang diisolasi pertama kali oleh Ehrlich dan kawan-kawan pada tahun 1947 dari *Streptococcus Venezuelae* (18).

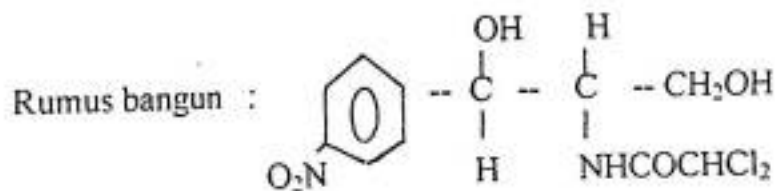
Kloramfenikol bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein bakteri dengan cara mengikat diri pada ribosom 50S, dengan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase, yang berperan sebagai katalisator dalam pembentukan ikatan peptida pada proses sintesa kuman (18).

Stereokimia kloramfenikol sangat berperan terhadap aktifitas antibakteri, karena kloramfenikol mempunyai dua pusat kiral, maka dapat membentuk 4 isomer, yaitu: (-) treo, (-) eritro, (+) treo, dan



(+) eritro. Dari keempat isomer tersebut yang aktif sebagai antibakteri hanya D – (-) treo. (5,19,20).

Kloramfenikol digunakan dalam pengobatan untuk infeksi bakteri gram negatif, bakteri gram positif, beberapa ricketsia dan virus, tetapi tidak aktif melawan khamir, jamur dan protozoa. Adapun jenis mikroba yang efektif dilawan oleh kloramfenikol antara lain: *Escherichia coli*, *Salmonella typhose*, *Haemophilus influenzae*, *Nisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Moraxella lacunata*, dan *Streptococcus hemolyticus* (3).



Rumus kimia :  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$

Berat molekul : 323,1

Nama kimia: D (-)-threo-2-dichlorasetami-do-1-p-nitrofenil propana-1,3-diol

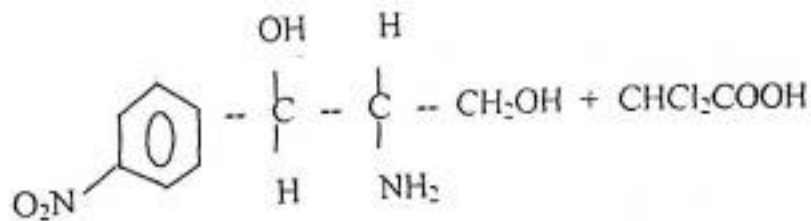
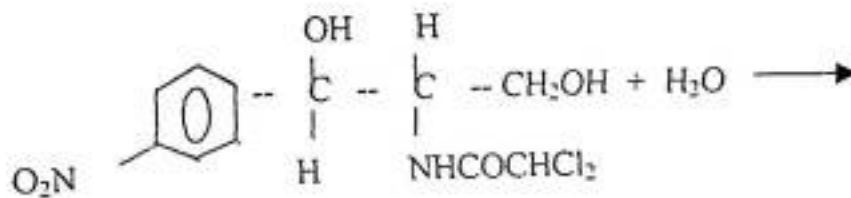
Sinonim: Chloramphenicol, amphicol, chemicetin, chlomycol, chloromycetin, ciplamycetin, chloramicol (21).

Pemerian: Berupa hablur halus putih keabu-abuan atau putih kekuningan, berbentuk jarum atau lempeng memanjang, rasa sangat pahit, tidak berbau, jarak lebur  $149\text{--}153^\circ\text{C}$ . Satu bagian larut dalam 400 bagian air, 2,5 bagian alkohol,

dalam 7 bagian propilen glikol, mudah larut dalam aseton, tidak larut dalam benzen, petroleum eter dan minyak tumbuhan. Larutan jenuh mempunyai pH 4,5 – 7,5 (1,7).

**Kegunaan:** Sebagai antiinfeksi pada konjungtiva bagian luar, radang kelopak mata, antimikroba pada infeksi saluran kencing, pneumonia, meningitidis dan tifus.

**Stabilitas:** Dalam larutan meskipun lambat, namun mengalami reaksi hidrolitik. Kecepatan reaksi ini tergantung pada pH, panas dan cahaya. jalur utama degradasi kloramfenikol adalah hidrolisis ikatan anida membentuk amina yang sesuai yaitu 1-(p-nitrofenil)-2 amino propan -1,3-diol dan asam dikloroasetat



### III.3.2 Asam Borat

Rumus kimia:  $\text{H}_3\text{BO}_3$

Berat molekul: 61,83

Sinonim: Boric acid, boracid acid, acidum boricum, borsaure (5,21).



**Pemerian:** Asam borat berupa hablur halus dan ringan, tidak berbau, tidak berwarna, atau kristal putih mengkilap dan rasa agak asam, pahit kemudian manis. Satu bagian larut dalam 20 bagian air, dalam 3,6 bagian air mendidih, dalam 16 bagian alkohol, 4 bagian gliserol, sedikit larut dalam minyak menguap, praktis tidak larut dalam eter (1,14).

**Incompatibilitas:** Dengan alkali karbonat hidroksida (21)

**Kegunaan:** Sebagai dapar (7,22).

### III.3.3 Boraks

**Rumus kimia:**  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

**Berat molekul:** 381,87

**Sinonim:** Purified borax, sodium borate, natriitetraboras, sodium baborate, natrium boricum, sodium pyroborat (21,22).

**Pemerian:** Berupa hablur transparan tidak berwarna atau serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa asin dan basa, dalam udara kering merapuh. Satu bagian larut dalam 20 bagian air, dalam kurang dari 1 bagian air panas, dalam 1 bagian gliserol, praktis tidak larut dalam alkohol (1,22).

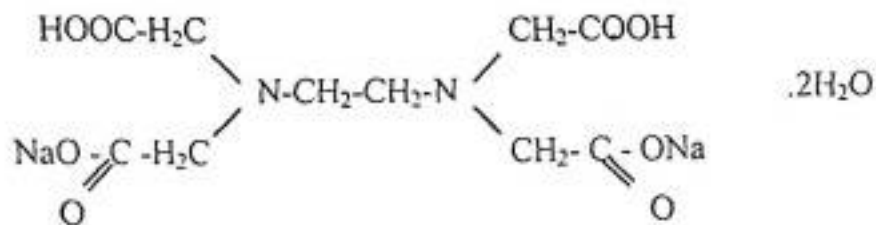
**Incompatibilitas:** Dengan merkuri klorida, gram logam, asam mineral (22)

**Kegunaan:** Sebagai dapar yang dikombinasi dengan asam borat.



### III.3.4 Dinatrium EDTA

Rumus bangun:



Berat molekul: 372,24

Rumus kimia:  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Nama kimia: Dinatrium etilendiamin tetra asetat dihidrat.

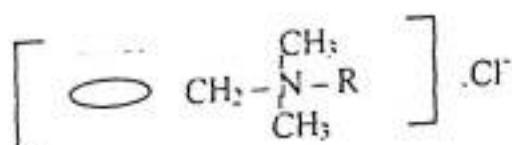
Sinonim: Disodium edetat, disodium dihydrogen edetat, editic acid disodium salt, sodium edetat, disodium edethamil, tetracemin dinatrium, endrate disodium, titriplex III disodium dihydrogen sthylen diamine. (21,22)

Pemerian: Berupa serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa sedikit asam. Satu bagian larut dalam 11 bagian, sedikit larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter. (1,14,22).

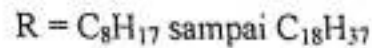
Kagunaan: Sebagai penghelat, yang membentuk kompleks dengan logam divalen dan logam trivalen. (22)

### III.3.4 Benzalkonium Klorida

Rumus bangun:



Rumus kimia:  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{R}^+ \text{Cl}^-$



Berat molekul: 360

Sinonim: Zephiran chloride, zephirol, germitol, roccal, benirol, unuclen, rodalon, germinal, drapolex, drapolen, paralkan (21).

Pemerian: Berupa potongan yang menyerupai gelatin, warna putih atau putih kekuningan, bau aromatik, rasa sangat pahit, sangat larut dalam air, alkohol, aseton, sedikit larut dalam benzen, agak sukar larut dalam eter, larutan dalam air bersifat agak alkali dan berbusa kuat jika dikocok. (14,21).

Incompatibilitas: Dengan deterjen anionik, seperti sabun, membentuk endapan putih dengan beberapa asam. Garam logam berat dan nitrat pada konsentrasi tinggi. (11,21).

Kegunaan: Sebagai Pengawet.

### III.3.6 Air Untuk Injeksi

Rumus kimia:  $H_2O$

Berat molekul: 18

Sinonim: Aqua pro injectione, aqua purificata, purified water, water for injectione (5,22).

Kegunaan: Sebagai pelarut sediaan steril.

### III.4 Uraian Bakteri

#### 1. Morfologi

Bakteri *Staphylococcus aureus* ini termasuk bakteri familia Mikroccaceae yang bersifat anaerob fakultatif, berbentuk bulat atau coccus dan merupakan bakteri gram positif.

Bakteri ini berdiameter 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$ , terdapat tunggal atau berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Bersifat non motil dan tidak diketahui adanya stadium istirahat. Suhu optimum sekitar 35 – 40<sup>0</sup>C, tumbuh lebih cepat dan banyak dalam keadaan aerob serta terutama berasosiasi dengan kulit dan kelenjar.

#### 2. Sistematik :

Kerajaan : Protista

Divisi : Protohyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriaceae

Suku : Micrococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus aureus*

## BAB IV

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### IV.1 Alat dan Bahan

##### IV.1.1 Alat-alat yang digunakan

1. Otoklaf
2. Oven Listrik
3. Lemari Laminar Air Flow
4. Lemari Es
5. Timbangan Analitik (Chyo)
6. Timbangan Kasar
7. Cawan Petri
8. Gelas Ukur
9. Erlenmeyer
10. Labu Ukur
11. Pipet Volum
12. Pencadang Silinder
13. Spektronic 20 (Milton Roy Company)
14. Inkubator
15. Semprit Injeksi
16. Ose
17. Jangka Sorong (Sunlon)
18. Lampu Spritus

19. pH Meter (Hanna)
20. Gelas Piala
21. Penangas Air
22. Tabung Reaksi
23. Termometer 100<sup>0</sup>C
24. pH Universal
25. Vial dan Penutup Digunakan

#### IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

1. Air Suling
2. Air Untuk Injeksi
3. Kloramfenikol (PT. Phapros)
4. Bakteri *Staphyococcus aureus*
5. Benzalkonium Klorida (Merck)
6. Asam Borat (Merck)
7. Borax (Merck)
8. Dinatrium EDTA (Merck)
9. Alkohol 70% teknik
10. Spiritus
11. Natrium Klorida (Merck)
12. Natrium Hidroksida 0,1 N
13. Asam Klorida 0,1 N
14. Glukosa

15. Extract Beef (Difco)
16. Pepton (Oxoid)
17. Agar (Merck)

#### IV.2 Sterilisasi Alat

Semua alat-alat yang terbuat dari kaca seperti cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi pipet volum, labu takar, erlenmeyer, botol Roux, gelas piala, vial, penutup karet, dan pencadang direndam dalam larutan deterjen panas selama 30 menit, kemudian alat-alat tersebut dicuci dengan air suling hingga bebas deterjen selanjutnya direndam dengan HCl 0,1 N panas selama 30 menit dan dicuci kembali dengan air suling serta dibilas dengan air suling dan dikeringkan dengan oven atau sinar matahari langsung. Tabung reaksi, erlenmeyer, vial, disumbat dengan kapas dan dibungkus kertas perkamen lalu diikat dengan benang. Cawan petri, pencadang dibungkus dengan kertas perkamen dan disterilkan dalam oven pada suhu  $170^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Sedangkan pipet volum, labu takar, gelas ukur, penutup karet disterilkan dengan cara autoklavisasi pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit.

#### IV.3 Rancangan Formula

Dibuat 4 formula tetes mata kloramfenikol yang mengandung kloramfenikol 0,5%, dapat borat, dinatrium EDTA, Benzalkonium klorida, dan air untuk injeksi dengan pH 6; 6,5; 7 dan 7,5. Rancangan formula lengkap dapat dilihat pada tabel 1.

#### IV.4 Pembuatan Tetes Mata Kloramfenikol

1. Masing-masing bahan ditimbang sesuai kebutuhan
2. Pembuatan dapar borat

Larutan dapar borat dapat dibuat dengan melarutkan 1,5 g asam borat dan 0,00597 g borax dengan air untuk injeksi sampai 75 ml untuk pembuatan pH 6. Demikian juga untuk pembuatan pH yang lain, kebutuhan asam borat sama tetapi kebutuhan borax 0,0187 untuk pH 6,5, 0,0592 g untuk pH 7, dan 0,1873 g untuk pH 7,5. Apabila pH belum sesuai dapat ditambahkan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N.

3. Untuk setiap formula dibuat sesuai dengan bahan yang dirancang yaitu 0,5 g kloramfenikol, 3 ml benzalkonium klorida 0,001% dan 0,05 g Dinatrium EDTA, 25 ml air untuk injeksi, dibuat dengan pemanasan tidak lebih dari 50°C. Larutan ini dimasukkan kedalam 75 ml larutan dapar borat, dicek pH-nya dan dimasukkan secara kualitatif dalam labu takar 100 ml dan dicukupkan volumenya dengan dapar borat hingga tanda.
4. Larutan kemudian disaring dan dimasukkan dalam vial 10 ml yang telah bebas alkali, ditutup dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 115°C selama 30 menit, dan pada suhu 100°C selama 30 menit.



## IV.5 Penetapan Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Agar

### IV.5.1 Pembuatan Medium GNA (Glukosa Nutrien Agar)

Komposisi:

Glukosa	10 g
Extract beef	5 g
Pepton	10 g
NaCl	2,5 g
Agar	15 g
Air Suling	1000 ml
pH	7,0

Cara Pembuatan:

Ditimbang 10 g glukosa, 5 extract beef, pepton 10 g, NaCl 2,5 g, agar 15 g, dan dilarutkan dalam air suling sekitar 500 ml kemudian dipanaskan hingga larut. Selanjutnya ditambahkan air suling hingga volume sekitar 950 ml, dicek pH 7,0 kemudian volume dicukupkan hingga 1000 ml dan disterilkan pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dengan tekanan 2 atmosfer dalam autoklaf.

### IV.5.2 Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari koleksi Mikrobiologi Farmasi, Laboratorium Farmasetik, Jurusan farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin.

Diinokulasikan secara medium agar miring, medium Nutrien Agar suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Kemudian suspensi mikroba uji dibuat

dengan cara memasukkan larutan garam fisiologis 0,9% steril ke dalam medium agar miring Nutrien Agar (NA) dan permukaan agar yang ditumbuhi mikroba dikumpulkan dan diukur transmitannya 25% terhadap blangko Natrium Klorida P pada panjang gelombang 580 nm.

#### **IV.5.3 Pembuatan Larutan Pembanding Kloramfenikol 50 ppm**

Sediaan tetes mata kloramfenikol 0,5% dengan pH 6 dipipet 1 ml dan dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan dicukupkan dengan air suling hingga tanda, diperoleh larutan pembanding kloramfenikol 50 ppm

#### **IV.5.4 Pembuatan Larutan Uji Kloramfenikol 50 ppm**

Sediaan tetes mata kloramfenikol dengan berbagai pH. dipipet 1 ml dan dimasukkan dalam tabung takar 100 ml dan dicukupkan dengan air suling hingga tanda. Diperoleh larutan uji kloramfenikol 50 ppm. Lalu larutan ini dimasukkan dalam vial dan disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 115°C selama 30 menit dan disterilisasi dengan uap air mengalir pada suhu 100°C selama 30 menit.

#### **IV.5.5 Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus***

Disiapkan cawan petri steril dan kedalamnya dituangkan 15 ml medium agar steril dan dibiarkan memadat. Di dalam wadah lain ditambahkan 0.5 ml suspensi mikroba uji ke dalam 5 ml medium agar lalu dihomogenkan. Selanjutnya dituangkan ke dalam cawan yang telah berisi medium yang telah memadat. Dihomogenkan dengan cara menggoyangkan-goyangkan cawan petri, dan dibiarkan setengah padat.

Kemudian diletakkan 4 pencadangan steril ke atas medium yang setengah padat tersebut dan diberi tanda sesuai dengan pH-nya masing-masing.

#### **IV.5.6 Pengukuran Zona Hambatan**

Setelah diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, diukur zona hambatan yang dihasilkan dari masing-masing pH dan suhu sterilisasi dengan 3 kali replikasi. Demikian juga dengan larutan pembanding.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### V.1 Hasil Penelitian

Dari hasil pengukuran zone hambatan dari sediaan tetes mata kloramfenikol yang dibuat pada berbagai pH 6, pH 6,5, pH 7, pH 7,5 dan disterilkan pada suhu 115°C selama 30 menit, dan suhu 100°C selama 30 menit, maka diperoleh hasil penelitian seperti yang tercantum pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter (mm) Zona Hambatan Kloramfenikol Dalam Sediaan Tetes Mata

PH \ Suhu	100°C, 30 menit	115°C, 30 menit	Jumlah
6,0	18,57	14,43	
	17,25	15,86	
	15,05	15,37	
Jumlah	50,87	45,6	96,53
Rata-rata	16,96	15,22	32,18
6,5	15,37	13,53	
	17,43	14,53	
	14,22	15,23	
Jumlah	47,02	43,29	90,31
Rata-rata	15,67	14,43	30,10
7,0	14,18	12,22	
	16,06	15,54	
	14,36	12,83	
Jumlah	44,60	40,59	85,19
Rata-rata	14,87	13,53	28,40
7,5	12,16	10,41	
	14,85	13,17	
	14,53	14,72	
Jumlah	42,54	38,29	79,83
Rata-rata	13,87	12,76	26,63
Jumlah rata-rata	61,37	55,94	
Rata-rata	15,34	13,95	
Jumlah total	184,03	167,83	351,86



## V.2 Pembahasan

Hasil analisis secara statistik menggunakan rancangan faktorial terhadap diameter zone hambatan kloramfenikol, memperlihatkan pengaruh yang sangat nyata antara pH 6; 6,5 ; 7 dan 7,5. Hal ini dapat diketahui dengan melihat  $F_{hitung}$  lebih besar dari pada  $F_{tabel}$  pada taraf kepercayaan 5%. Sedangkan untuk suhu sterilisasi, memperlihatkan pengaruh yang nyata antara larutan uji yang disterilkan pada suhu 100°C, selama 30 menit dan pada suhu 115°C selama 30 menit. Hal ini dapat diketahui dengan melihat  $F_{hitung} > F_{tabel}$  pada taraf 5%. Dan juga memperlihatkan tidak adanya pengaruh interaksi antara suhu sterilisasi dan pH. Hal ini dapat diketahui dengan melihat  $F_{hitung} < F_{tabel}$  pada taraf 5%.

Analisis selanjutnya dengan uji Duncan pada taraf 5%, memperlihatkan adanya perbedaan pengaruh yang nyata antara sediaan tetes mata pH 6 dan pH 7, antara pH 7,5 dan pH 6 dan pH 7,5. Sedangkan antara pH 6 dengan pH 6,5 dengan pH 7, pH 7 dengan pH 7,5 tidak menunjukkan perbedaan pengaruh.

Untuk melihat secara jelas hasil percobaan maka kita dapat melihat grafik seperti pada gambar 4. Dari gambar tersebut terlihat bahwa semakin meningkat pH, kurva semakin menurun yang menunjukkan bahwa peningkatan pH menyebabkan penurunan daya hambat sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin meningkat pH semakin besar proses degradasi yang terjadi, sehingga jumlah kloramfenikol yang utuh atau tidak terdegradasi semakin kecil yang menyebabkan kloramfenikol yang berinteraksi dengan bakteri uji semakin berkurang sehingga daya hambat yang diberikan lebih kecil. Dari gambar

tersebut juga terlihat bahwa sediaan yang disterilkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit memberikan daya hambat yang lebih besar daripada sediaan yang disterilkan pada suhu  $115^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Hal ini disebabkan karena terjadinya hidrolisis kloramfenikol pada suhu sterilisasi  $100^{\circ}\text{C}$  lebih kecil, sehingga jumlah kloramfenikol yang masih utuh lebih besar yang mengakibatkan semakin besarnya daya hambat yang diberikan. Sebaliknya pada suhu sterilisasi  $115^{\circ}\text{C}$ , jumlah kloramfenikol yang terhidrolisis yaitu senyawa 1-(p-nitrofenil)-2-aminopropan 1,3 – diol, lebih besar sehingga memberikan daya hambat lebih kecil. Jadi kesimpulannya bahwa peningkatan suhu sterilisasi akan menyebabkan peningkatan degradasi kloramfenikol akibat hidrolisis yang dapat dilihat dengan semakin kecilnya daya hambat yang diberikan hal ini sesuai dengan teori (4) bahwa kehilangan potensi kloramfenikol paling kecil pada suhu sterilisasi  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit.

Dari hasil perhitungan prosentase peruraian kloramfenikol dalam sediaan tetes mata, terlihat bahwa peruraian kecil terjadi pada sediaan tetes mata dengan pH 6 yang disterilkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  dengan peruraian 2,36% dan peruraian paling besar diperlihatkan oleh sediaan dengan pH 7,5 yang disterilkan pada suhu  $115^{\circ}\text{C}$ , selama 30 menit, yaitu sebesar 26,54%. Hal ini disebabkan karena terjadinya hidrolisis kloramfenikol pada sediaan dengan pH 6 dan suhu sterilisasi  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit lebih kecil, sehingga jumlah kloramfenikol yang tidak terdegradasi atau masih utuh lebih besar yang menyebabkan semakin banyak yang berinteraksi dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* sehingga



memberikan daya hambat yang lebih besar. Sebaliknya pada sediaan dengan pH 7,5 dan suhu sterilisasi 115°C jumlah kloramfenikol yang terhidrolisis yaitu senyawa 1-(p-nitrofenil)-2 aminopropan 1,3-diol, lebih besar sehingga memberikan daya hambat lebih kecil. Hal ini sesuai dengan teori Broadhurts (4) bahwa kloramfenikol paling stabil dalam dapar borat pH 6 setelah sterilisasi pada suhu 100°C selama 30 menit.

Jadi dari hasil analisis dan perhitungan di atas, dapat disimpulkan bahwa sediaan tetes mata yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling besar adalah sediaan dengan pH 6, yang disterilkan pada suhu 100°C selama 30 menit, sebab pada kondisi tersebut kloramfenikol paling stabil sehingga peruraiannya paling kecil.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

1. Makin tinggi pH dan suhu sterilisasi makin besar peruraian kloramfenikol dalam sediaan tetes mata.
2. Dari hasil perhitungan prosentase peruraian kloramfenikol dalam sediaan tetes mata, maka dapat disimpulkan bahwa peruraian yang paling kecil diperoleh jika sediaan obat dibuat dengan pH 6 dan disterilkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit.

#### VI.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang peruraian kloramfenikol pada berbagai pH dengan menggunakan bakteri yang lebih peka dan sesuai.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, (1979), "Farmakope Indonesia", Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 10.
2. Ansel, H.C., (1989), "Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi", Edisi IV, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 555.
3. Gennaro, A.R., et.al., (eds), (1985) "Remington's Pharmaceutical Science, Mark Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1152,1243.
4. Connors, K. A., et.al., (1985), "Chemical Stability of Pharmaceuticals", 2<sup>th</sup>Ed., A Wiley-Interscience Publication, USA, 328, 329, 333, 334.
5. Reynolds, J.E.F., (ed), (1978), "Martindalle The Extra Pharmacopeia", 27<sup>th</sup>Ed, The Pharmaceutical Science Press, London, 203, 1107, 1110.
6. Martin Analysis, et.al., (1990), Terjemahan oleh Yosita dan Iis Aisyah, "Farmasi Fisik", Edisi III, Universitas Indonesia, Jakarta, 481.
7. Reynolds, J.E.F., (ed), (1993), "Martindalle The Extra Pharmacopeia", 30<sup>th</sup>Ed, The Pharmaceutical Science Press, London, 142.
8. Martin, W., (1971), "Dispensi of Medication., 7<sup>th</sup> Ed. Mack Publishing Company, Easton, USA. 290, 880.
9. Turco, King, R.E., (1974), "Sterile Dosage Form" 2<sup>nd</sup> Ed, Lea and Febinger", Philedhelphia. 357.
10. Parrot, E.W., (1986). "Pharmaceutical Technology", Fundamental Pharmacy, Burges Publishing Company Co, Minneapolis, Iowa, 2214, 216, 290.
11. Jenkins, G.L., et.al., (1987), "Scoville's The Art of Compounding", Mack Publishing Co., Mc. Graw Hill Book Co. Inc, New York, 403, 407.
12. Sprowls, J.B., (1970), " Prescription Pharmacy", 2<sup>nd</sup> Ed, JB Lippincont, 181.
13. Atmajaya, S., (1988). " Analisis Mikrobiologi Obat Makanan dan Minuman", Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Tehnologi Bandung, 54. 71.
14. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, (1995), "Farmakope Indonesia", Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 851.

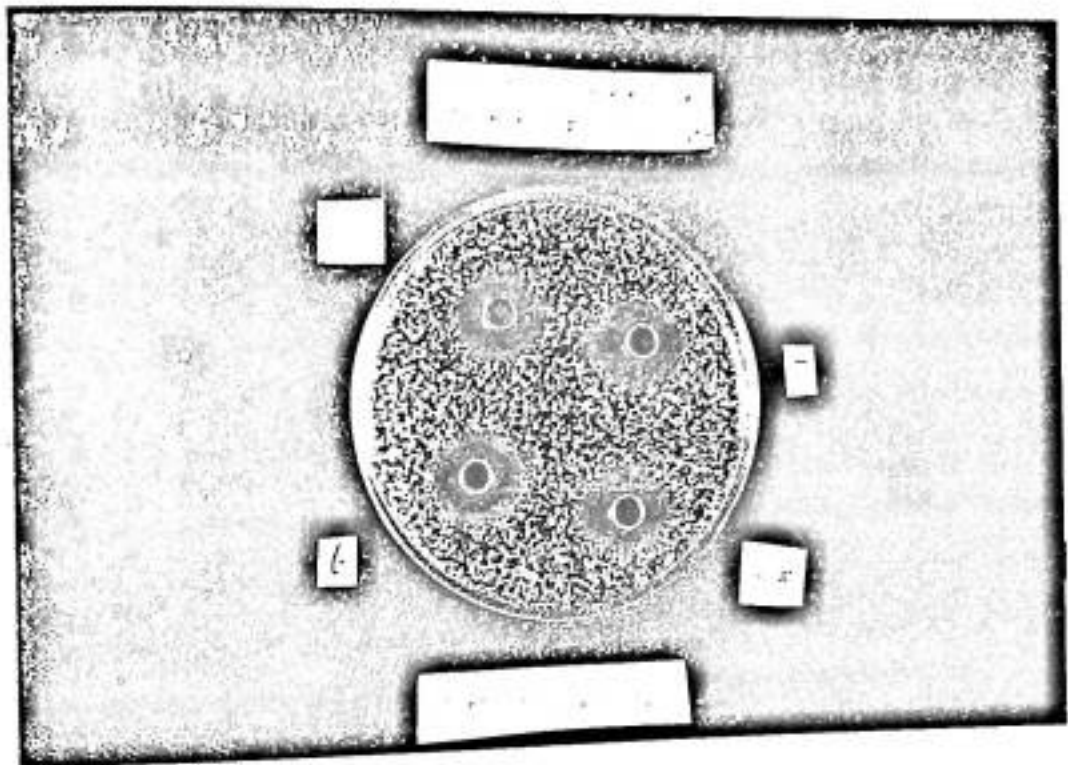
15. Cappucino, J.G., Sherman, N., (1983), "Microbiology A Laboratory Manual", Addison Wesley Publishing Company, Canadam, 263, 264, 266.
16. Kavanagh, F., (1963), "Analytical Microbiology", Academic Press, New York, 272, 274 - 276.
17. Dwidjosaputro, D., (1987), "Dasar-Dasar Mikrobiologi", Penerbit Djambatan, Surabaya, 65, 115, 116, 128.
18. Ganiswara, S.G., (1995), "Farmakologi dan Terapi", Edisi V, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta, 657.
19. Siswandono, B.S., (1995). "Kimia Medisinal", Airlangga University Press, Surabaya, 384.
20. Doerge, R.F., (1991), "Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry". 9<sup>th</sup> Ed, JB Lippincott, 304.
21. Windholz. M., (Ed.), (1983), "The Merck Index", 10<sup>th</sup>Ed, Merck and Co. Inc., Rohway, 1006.
22. Reynolds, J.E.F., (ed), (1990), "Martindalle The Extra Pharmacopeia", 28<sup>th</sup>Ed, The Pharmaceutical Science Press, London, 337, 383, 1136, 1137, 1670.



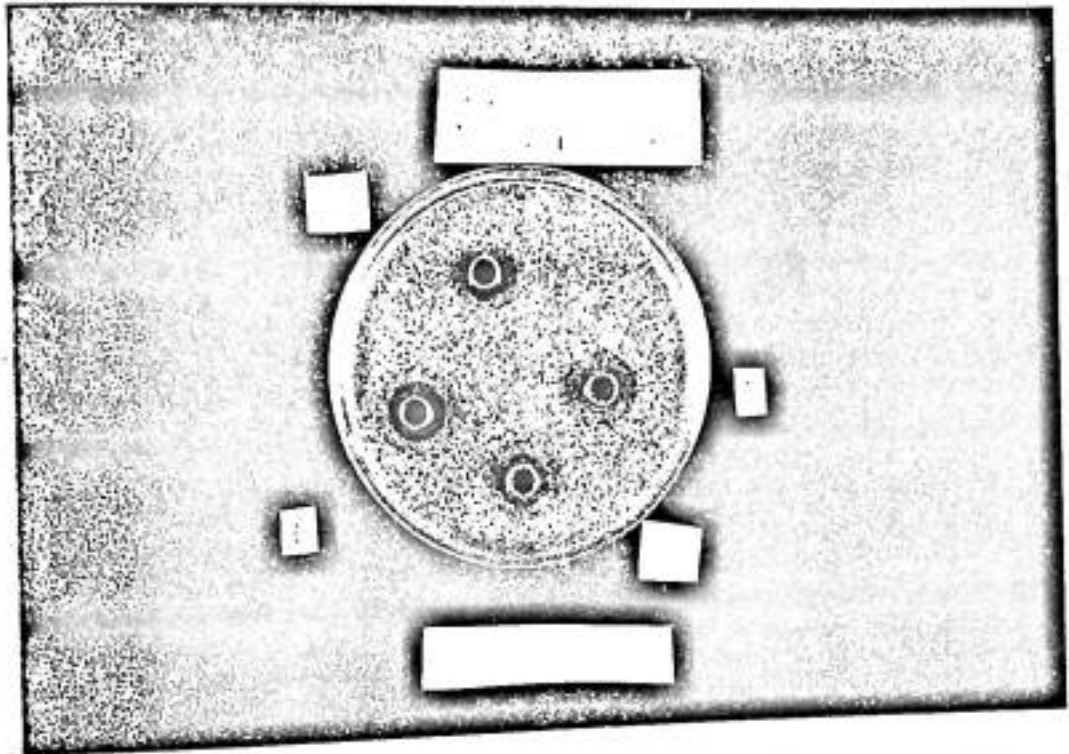
Table II

Rancangan formula Tetes Mata  
Kloramfenikol Untuk Volume 100 ml

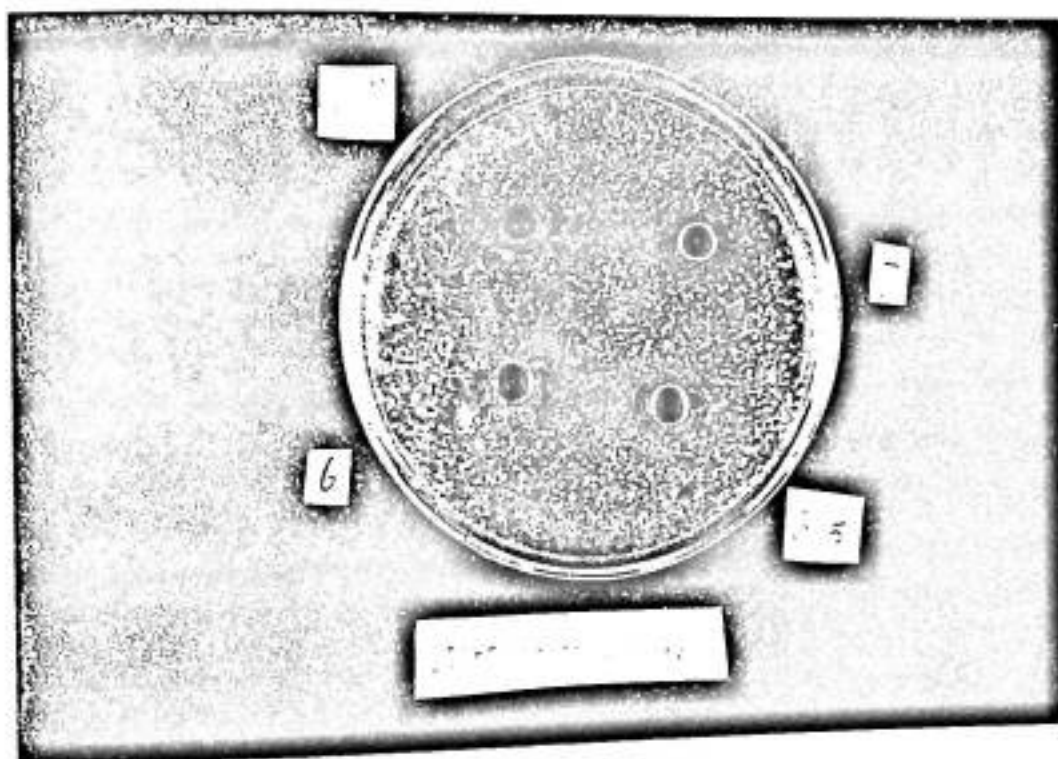
Bahan	Jumlah yang diperlukan			
	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 7.5
Kloramfenikol (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Asam Borat (g)	1,5	1,5	1,5	1,5
Boraks (g)	0,00597	0,0187	0,0592	0,1873
Na <sub>2</sub> EDTA (g)	0,05	0,05	0,05	0,05
Benzalkonium klorida (%)	0,01	0,01	0,01	0,01
Air untuk injeksi sampai (ml)	100	100	100	100



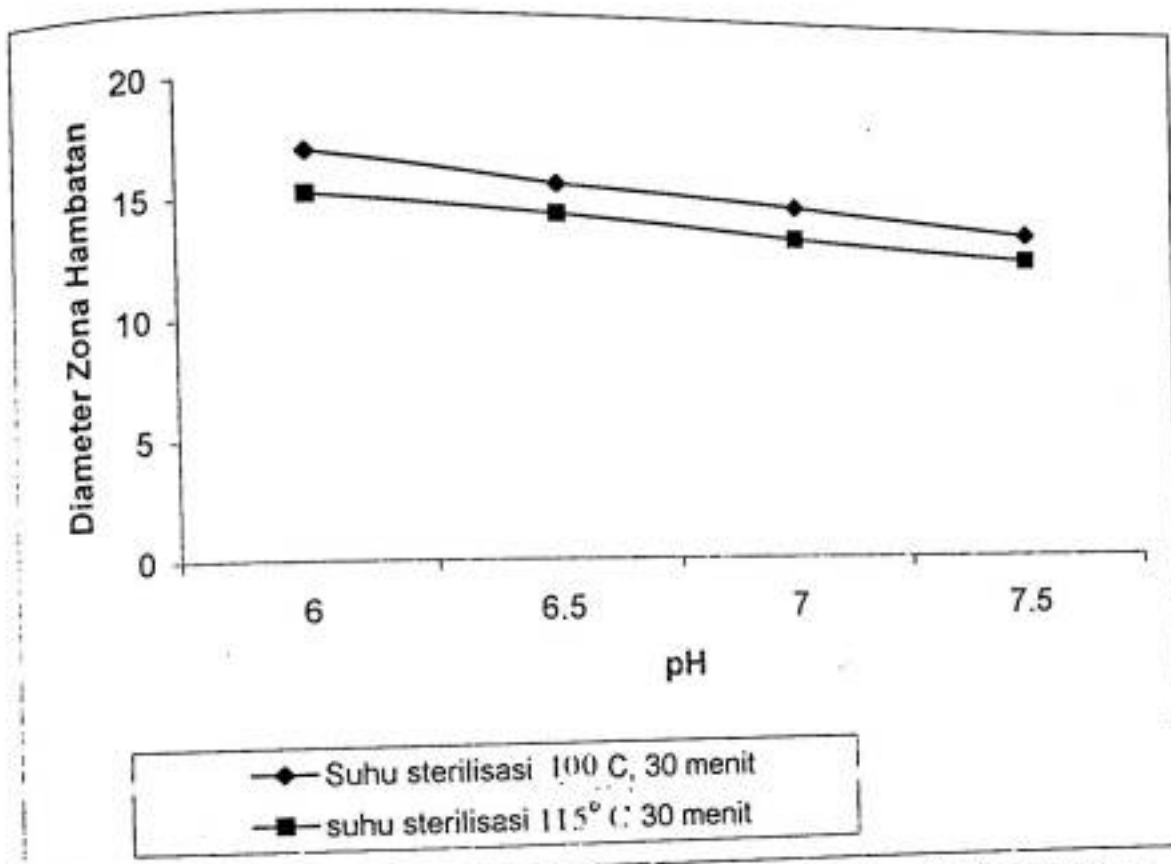
Gambar 1 : Diameter zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan uji yang disterilkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam



Gambar 2 : Diameter zona hambatan kloramfenikol dalam sediaan uji yang disterilkan pada suhu 115° C selama 30 menit terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam

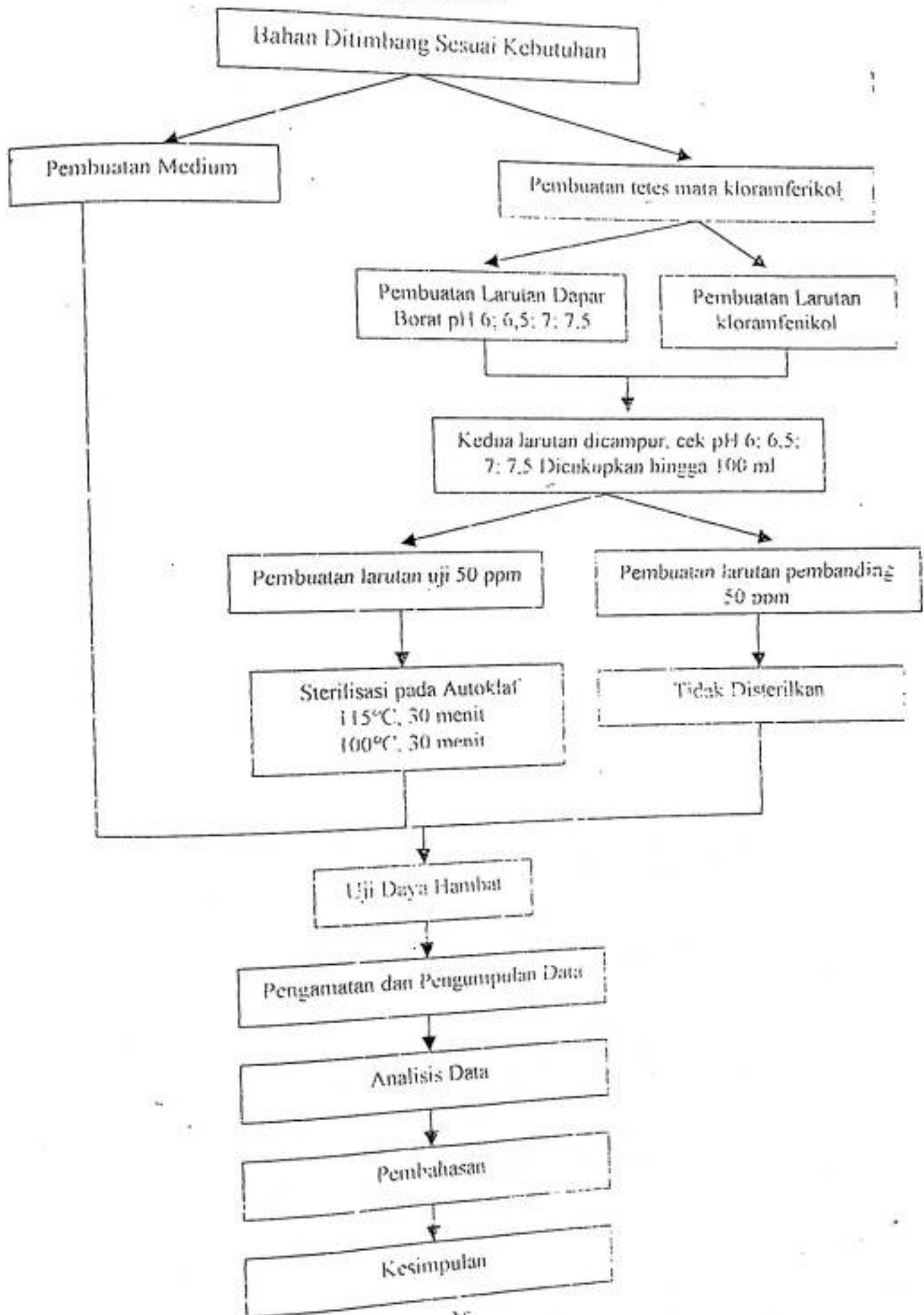


Gambar 3 : Diameter zona hambatan larutan blanko



Gambar 4. Daya hambat kloramfenikol pada berbagai pH dan suhu sterilisasi terhadap *Staphylococcus aureus*

## SKEMA KERJA





Lampiran B



Perhitungan Statistik Berdasarkan Tabel II

$$\begin{aligned}
 JK_{pH} &= \sum_{i=1}^a \frac{T_i^2}{bn} - \frac{T_{...}^2}{abn} \\
 &= \frac{96,53^2 + 90,31^2 + 85,19^2 + 79,83^2}{2 \times 3} - \frac{351,86^2}{24} \\
 &= 25,4564
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{sterilisasi} &= \sum_{j=1}^b \frac{T_j^2}{an} - \frac{T_{...}^2}{abn} \\
 &= \frac{184,03^2 + 167,83^2}{4 \times 3} - \frac{351,86^2}{24} \\
 &= 10,9350
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{PS} &= \sum_{j=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{T_{ij}^2}{n} - \sum_{i=1}^a \frac{T_i^2}{bn} - \sum_{j=1}^b \frac{T_j^2}{an} - \frac{T_{...}^2}{abn} \\
 &= \frac{50,87^2 - 45,66 + \dots + 38,29^2}{3} - 25,4564 - 10,935 - \frac{351,86^2}{24} \\
 &= 0,3480
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{total} &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y^2_{ijk} - \frac{T_{...}^2}{abn} \\
 &= 18,57^2 - 17,25^2 + \dots + 14,71^2 - \frac{351,86^2}{24} \\
 &= 73,080
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK galat} &= \text{JK total} - \text{JK pH} - \text{JK steril} - \text{JK PS} \\
 &= 73,080 - 25,4564 - 10,9350 - 0,348 \\
 &= 36,3406
 \end{aligned}$$

Tabel Anava

Sumber	DB	JK	KT	FH	F table	
					5 %	1 %
PH	3	25,4564	8,4855	3,3761*	3,24	5,29
Sterilisasi	1	10,9350	10,9350	4,8146*	4,49	8,53
PS	3	0,348	0,1160	0,0051 <sup>ns</sup>	3,24	5,29
Sisa	16	36,3406	2,2712			
Total	23	73,080				

Ketentuan :

1. Jika F hitung lebih besar dari F tabel pada taraf 1 %, maka perbedaan perlakuan sangat nyata, (pada hasil F hitung ditandai dengan dua tanda \*\*).
2. Jika F hitung lebih besar dari F tabel pada taraf 5 %, tetapi lebih kecil dari F tabel pada taraf 1 %, maka perbedaan perlakuan dinyatakan nyata (pada F hitung ditandai dengan satu tanda \*).
3. Jika F hitung lebih kecil dari F tabel pada taraf 5 %, maka perbedaan perlakuan dinyatakan tidak nyata (pada F hitung ditandai dengan satu tanda ns).

Kesimpulan :

1. Pada perlakuan dengan pH, F hitung lebih besar dari F tabel pada taraf 5 %, berarti ada perbedaan pengaruh yang nyata antara sediaan dengan pH 6; 6,5; 7 dan 7,5.
2. Pada perlakuan dengan suhu sterilisasi F hitung lebih besar dari F tabel pada taraf 5 %, berarti ada perbedaan pengaruh yang nyata antara sediaan dengan suhu sterilisasi 100°C dan 115°C.
3. Tidak ada pengaruh interaksi antara pH dan suhu sterilisasi.

Analisis antar pH dilakukan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 5 %

$$\begin{aligned} S_y &= \sqrt{\frac{KT_{gula}}{n}} \\ &= \sqrt{\frac{2,2712}{9}} \\ &= 0,502 \end{aligned}$$

$$JN = r_{0,05}(p, 16)$$

$$DB = 16$$

$$P = \text{Jarak}$$

$$JNT = JN \times S_y$$

Jarak	2	3	4
JN	3,000	3,15	3,23
JNT	1,506	1,581	1,621

Perbandingan antar pH

6-6,5 : Jarak 2 :  $16,09 - 15,05 = 1,04 < 1,506$  (ns)

6-7,0 : Jarak 3 :  $16,09 - 14,20 = 1,89 > 1,581$  (s)

6-7,5 : Jarak 4 :  $16,09 - 13,31 = 2,78 > 1,621$  (s)

6,5-7,0: Jarak 2:  $15,05 - 14,20 = 0,85 < 1,506$  (ns)

6,5-7,5: Jarak 3:  $15,05 - 13,31 = 1,74 > 1,581$  (s)

7,0-7,5: Jarak 2 :  $14,20 - 13,31 = 0,9 < 1,506$  (ns)

pH 7,5 7,0 7,0 6,5 6,5 6,0 7,5 6,0 6,0 7,0

## Lampiran C



### Perhitungan Peruraian Kloramfenikol Dalam Sediaan Tetes Mata

$$\% \text{Peruraian} = \frac{D_p - D_u}{D_p} \times 100\%$$

$D_p$  = Diameter daya hambat rata-rata dari sediaan pembanding = 17,37 mm

$D_u$  = Diameter daya hambat rata-rata dari sediaan uji

Sediaan yang disterilkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit

$$\text{pH 6 : } \frac{(17,37 - 16,96) \times 100 \%}{17,37} = 2,36 \%$$

$$\text{pH 6,5 : } \frac{(17,37 - 15,67) \times 100 \%}{17,37} = 9,78 \%$$

$$\text{pH 7 : } \frac{(17,37 - 14,87) \times 100 \%}{17,37} = 14,39 \%$$

$$\text{pH 7.5 : } \frac{(17,37 - 13,86) \times 100 \%}{17,37} = 20,21 \%$$

Sediaan yang disterilkan pada suhu  $115^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit

$$\text{pH 6 : } \frac{(17,37 - 15,22) \times 100 \%}{17,37} = 12,38 \%$$

$$\text{pH 6,5 : } \frac{(17,37 - 14,43) \times 100 \%}{17,37} = 16,93 \%$$

$$\text{pH 7} : \frac{(17,37 - 13,53) \times 100 \%}{17,37} = 21,1 \%$$

$$\text{pH 7,5} : \frac{(17,37 - 12,76) \times 100 \%}{17,37} = 26,54 \%$$