

UJI PENGARUH LAMANYA PENYIMPANAN PADA  
SUHU KAMAR TERHADAP DAYA HAMBAT  
SUSPENSI AMPISILIN SECARA  
MIKROBIOLOGIS



OLEH

SARCE MAKABA

93 03 146

|                 |              |
|-----------------|--------------|
| No. Pengantar:  | 28 Juli 2001 |
| No.:            | fak. MIPA    |
| ke.:            | 1 etr        |
| Temp.:          | Hadiah       |
| No. Inventaris: | 01 07 28 128 |
| No. Film:       | 1A0844       |



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2000

# SKRIPSI

OLEH

SARCE MAKABA

93 03 146



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2000

**UJI PENGARUH LAMANYA PENYIMPANAN PADA  
SUHU KAMAR TERHADAP DAYA HAMBAT  
SUSPENSI AMPISILIN SECARA  
MIKROBIOLOGIS**

**OLEH**

**SARCE MAKABA**

**93 03 146**

*SKRIPSI*

*Untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana*

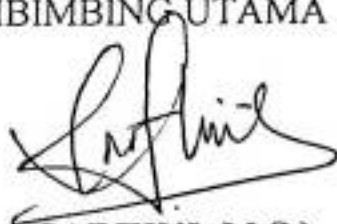
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2000**

UJI PENGARUH LAMANYA PENYIMPANAN PADA  
SUHU KAMAR TERHADAP DAYA HAMBAT  
SUSPENSI AMPISILIN SECARA  
MIKROBIOLOGIS

Disetujui oleh :

PEMBIMBING UTAMA




(Dra. SARTINI, M.S.)

PEMBIMBING PERTAMA



(Drs. ISKANDAR SUDIRMAN)

PEMBIMBING KEDUA



(Dra. ALIYAH, M.S.)

Pada Tanggal :

2000

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke'hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkat kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu. Dra. Sartini, M.S. selaku pembimbing utama dan penasehat akademik.
2. Bapak Drs. Iskandar Sudirman, selaku pembimbing pertama.
3. Ibu Dra. Aliyah, M.S. selaku pembimbing kedua.

yang telah meluangkan waktu, memberi petunjuk dan menyumbangkan pikiran serta tenaga dari mulai saat perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

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

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
3. Bapak/Ibu pimpinan Laboratorium di lingkungan Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
4. Bapak/Ibu dosen Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, khususnya Jurusan Farmasi.

5. Seluruh staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
6. Semua pihak yang tidak dapat disebut satu persatu yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian sampai rampungnya tulisan ini.

Dengan penuh rasa hormat dan terima kasih penulis tujukan kepada Ayahanda Y.B. Makaba dan Ibunda Dina, Yohan, Irma, Amsel atas kasih sayangnya serta doanya. Serta rekanku Yus, Susi, Kendek atas segala bantuan dan dorongan yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, tetapi penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberi manfaat bagi pembaca dan masyarakat pada umumnya.

Makassar, Januari 2000

Penulis

## ABSTRAK

Pengaruh lamanya penyimpanan suspensi ampisilin pada suhu kamar telah diteliti secara mikrobiologis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui lamanya penyimpanan suspensi ampisilin setelah ditambahkan air.

Penelitian ini meliputi pencampuran suspensi kering ampisilin patent dan ampisilin generik dengan air kemudian disimpan dalam suhu kamar

Pengujian daya hambat suspensi ampisilin dilakukan setelah lama penyimpanan 0, 1, 3, 5, 7, 9 dan 11 hari secara mikrobiologis dengan menggunakan metode difusi agar menggunakan mikroba uji Staphylococcus aureus. Pengukuran zona hambatan dari suspensi ampisilin terhadap mikroba uji dilakukan setelah lama inkubasi selama 24 jam.

Hasil penelitian menunjukkan penurunan daya hambat suspensi ampisilin yang disimpan pada suhu kamar dari hari ke 0 sampai hari ke 11 turun secara perlahan-lahan.

Hasil analisis statistika dengan menggunakan rancangan faktorial terhadap daya hambat pertumbuhan mikroba uji memperlihatkan antara hari (lama penyimpanan) dengan daya hambat pertumbuhan mikroba uji sangat berbeda nyata pada taraf 1%.

Sesuai dengan ketentuan *Shelf life* sediaan, maka suspensi ampisilin dalam penelitian ini yang disimpan pada suhu kamar stabil sampai hari ke-5. *Shelf life* untuk ampisilin paten 91,74% dan ampisilin generik 93,16%.

## ABSTRACT

The effect of storage duration at room temperature of dry ampicillin suspension had been investigated microbiologically. The aim of this investigation was to determine the storage duration of dry ampicillin suspension after added by water.

These investigations involved the mixing of dry suspension of Ampicillin paten and generic with water, and then this was mixture had were been stored at room temperature.

The examination of the inhibitive capabilities suspensions of ampicillin were carried out at storage duration of 0,1, 3, 5, 7, 9 and 11 days, microbiologically, using the diffusion method on agar media for which use the experimental microbe were *Staphylococcus aureus*. The measurement of the inhibition zones of ampicillin suspension was made after the duration of 24-hour incubation.

Result of this research showed the decreased inhibitive capabilities Ampicillin suspension stored at room temperature from 0<sup>th</sup> day to 11<sup>th</sup> days slowly to go down.

Result of the statistical analysis, by using the factorial design, on the inhibitive capability against the growth of experimental bacteria, showed that there was a significant difference of the degree of 1% between that day (storage duration) with the inhibitive capability the growth of experimental microbe .

In accordance to standard *Shelf life* the suspension of ampicillin, which was in investigation stored at room temperature, dosage forms, were stable on the 5<sup>th</sup> days. The *Shelf life* of paten ampicillin dosage form was 91.74% and the generic one 93.16 %.



## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH .....                              | iv      |
| ABSTRAK .....  | vi      |
| ABSTRACT .....   | vii     |
| DAFTAR ISI .....                                       | viii    |
| DAFTAR TABEL .....                                     | x       |
| DAFTAR GAMBAR .....                                    | xi      |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                  | xii     |
| BAB I PENDAHULUAN .....                                | 1       |
| BAB II POLA PENELITIAN .....                           | 3       |
| BAB III TINJAUAN PUSTAKA .....                         | 6       |
| III.1 Uraian Suspensi .....                            | 6       |
| III.2 Uraian <i>Shelf- life</i> .....                  | 7       |
| III.3 Uraian Anpasilin .....                           | 8       |
| III.4 Pengujian Daya Hambat Secara Mikrobiologis ..... | 13      |
| III.5 Kultur Mikroba Uji .....                         | 15      |
| III.6 Uraian Bakteri Uji .....                         | 17      |
| BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN .....                    | 19      |
| IV.1 Alat dan Bahan .....                              | 19      |
| IV.2 Sterilisasi Alat .....                            | 19      |
| IV.3 Pembuatan Medium .....                            | 20      |

|   |           |
|---|-----------|
| IV.4 Pengambilan Sampel .....   | 21        |
| IV.5 Penyiapan Bakteri Uji .....  | 22        |
| IV.6 Peremajaan bakteri Uji .....                                       | 22        |
| IV.7 Pembuatan Suspensi Bakteri .....                                   | 22        |
| IV.8 Penyiapan Sampel .....   | 22        |
| IV.9 Pengujian Daya Hambat Ampisilin dengan Metode<br>Difusi Agar ..... | 23        |
| <b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                 | <b>25</b> |
| V.1 Hasil Penelitian .....  | 25        |
| V.2 Pembahasan Hasil .....  | 26        |
| <b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                | <b>29</b> |
| VI.1 Kesimpulan .....   | 29        |
| VI.2 Saran .....  | 29        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>   | <b>32</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel |   | Halaman |
|-------|---|---------|
| 1     | Diameter Zona Hambatan Suspensi Ampisilin yang Disimpan Pada Suhu Kamar Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pada Masa Inkubasi 24 Jam .....                         | 32      |
| 2     | Persentase Penurunan Rata-rata Daya Hambat Suspensi Ampisilin yang Disimpan Pada Suhu Kamar Terhadap Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> Pada Masa Inkubasi 24 Jam ..... | 33      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Histogram hubungan anantara lama penyimpanan terhadap diameter hambatan rata-rata pada pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .....          | 44      |
| 2. Histogram hubungan anantara lama penyimpanan terhadap persentase daya hambat rata-rata terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 45      |
| 3. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-0 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam .    | 46      |
| 4. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-1 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam .    | 47      |
| 5. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-3 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam      | 48      |
| 6. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-5 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam      | 49      |
| 7. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-7 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam      | 50      |
| 8. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-9 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam      | 51      |
| 9. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-11 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah masa inkubasi 24 jam     | 52      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran  | Halaman |
|---|---------|
| A. HASIL ANALISIS STATISTIK DAERAH ZONA HAMBATAN<br>SUSPENSI AMPISILIN MENGGUNAKAN RANCANGAN<br>FACTORIAL .....           | 34      |
| B. PERHITUNGAN PRESENTASE PENURUNAN DAYA HAMBAT<br>SUSPENSI AMPISILIN TERHADAP BAKTERI UJI<br>STAPHYLOCOCCUS AUREUS ..... | 42      |
| C. SKEMA KERJA .....  | 53      |



## BAB I

### PENDAHULUAN

Penemuan Penisilin secara kebetulan oleh Alexander Fleming (1) pada tahun 1928, merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senyawa dengan daya anti infeksi yang menakjubkan, yang sekarang dikenal dengan nama antibiotik. Florey dan Chain (2) pada tahun 1940 berhasil mengisolasinya dari biakan permukaan *Penicillium notatum* dan aplikasi klinis pertama dilakukan pada tahun 1941. Kemudian pada tahun 1961 baru ditemukan ampisilin secara sintetis.

Ampisilin merupakan antibiotik yang berspektrum luas, stabil terhadap asam, dapat diberikan secara oral dan diabsorpsi dari saluran cerna yang akan mencapai kadar darah puncak dalam waktu 2 jam dan mudah dieksresikan tanpa berubah melalui ginjal (1).

Ampisilin adalah derivat penisilin yang mempunyai dua cincin yaitu cincin tiazolidin dan cincin betalaktam. Kedua cincin ini yang berperan dalam hal stabilitas dan aktivitas anti mikroba. Jika salah satu cincin tersebut dibuka, maka aktivitas anti mikrobaanya menurun atau hilang sama sekali.

Ampisilin dalam air dapat mengalami peruraian karena cincin beta laktam yang sangat reaktif, terutama terhadap hidrolisis dan sifat peruraiannya dipengaruhi oleh pH larutan, karena gugus karbonil beta laktam mudah diserang elektrofilik dan hidrofilik dari air terutama ion hidoksida.

Untuk mempertahankan kestabilan ampisilin, sediaan sirup ampisilin dibuat dalam bentuk kering yang dalam penggunaannya hanya menambahkan sejumlah air tertentu. Sirup kering ampisilin yang telah ditambahkan air ini dapat bertahan baik selama 7 hari pada suhu kamar (4).

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka permasalahan yang timbul adalah sejauh mana pengaruh lamanya penyimpanan pada suhu kamar suspensi ampisilin setelah dicampur dengan air terhadap daya anti bakteri.

Untuk memecahkan masalah tersebut, maka telah dilakukan pengujian daya hambat dari suspensi ampisilin setelah dicampur dengan air yang disimpan pada suhu kamar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan setelah penyimpanan pada hari ke 0, 1, 3, 5, 7, 9 dan hari ke 11, menggunakan metode difusi agar berlapis dan daerah hambat yang terjadi di sekeliling pencadangan diamati dan diukur, dengan asumsi semakin besar daya hambat yang dihasilkan terhadap bakteri uji, semakin kuat daya anti bakterinya.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui batas lama penyimpanan pada suhu kamar dari suspensi ampisilin setelah dicampur dengan air.

## BAB II

### POLA PENELITIAN

#### II.1 Alat dan Bahan

Alat-alat dan bahan-bahan yang akan digunakan disiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

#### II.2 Cara Kerja

##### II.2.1 Sterilisasi Alat-alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan sesuai dengan metode masing-masing.

##### II.2.2 Pembuatan Medium

Dibuat medium nutrien agar (NA) sebagai media peremajaan mikroba uji dan medium glukosa nutrien agar (GNA) sebagai media pengujian daya hambat.

##### II.2.3 Pengambilan Sampel

Sampel berupa sirup kering ampisilin generik berlogo dan paten masing-masing sebanyak tiga botol dengan nomor "batch" yang sama, yang diperoleh dari apotek.

##### II.2.4 Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*.



### II.2.5 Peremajaan Mikroba Uji

Satu osc bakteri uji dari biakan murni diinokulasikan ke dalam medium NA miring, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 × 24 jam.

### II.2.6 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri Uji yang telah diremajakan disuspensikan dengan NaCl 0,9% steril. Diukur pada transmittan 25%.

### II.2.7 Penyiapan Sampel

Sirup kering ampisilin ditambah air suling steril sampai 60 ml. Kemudian disimpan pada suhu kamar selama 11 hari.

### II.2.8 Pengujian daya hambat suspensi ampicillin

#### a. Pengenceran suspensi ampicillin

Suspensi diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diperlukan.

#### b. Pengujian daya hambat

Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar berlapis menggunakan pencadang dan dilakukan masing-masing dalam 7 cawan petri steril. Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 × 24 jam.

## II.3 Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan mengukur daerah hambat di sekeliling pencadang.

#### **II.4 Pengumpulan dan Pengolahan Data**

Data dari hasil pengamatan dikumpulkan, dan ditabulasi kemudian diolah secara statistika menggunakan rancangan faktorial.

#### **II.5 Pembahasan Hasil**

Pembahasan hasil penelitian didasarkan atas data yang diperoleh.

#### **II.6 Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pembahasan.

## BAB III

### TINJAUAN PUSTAKA

#### III.1 Uraian Umum Suspensi

Suspensi adalah suatu sediaan cair yang mengandung partikel padat tidak larut yang terdispersi dalam fase cair. Zat yang terdispersi harus halus dan tidak boleh cepat mengendap. Jika dikocok perlahan-lahan endapan harus segera terdispersi kembali. Dapat mengandung zat untuk menjamin stabilitas suspensi. Kekentalan suspensi tidak boleh terlalu tinggi agar sediaan mudah dikocok dan dituang. (9,11)

Suspensi ada yang dipasarkan dalam bentuk sirup kering yang disebut juga sebagai suspensi oral, dimana cairan pembawanya ditambahkan pada saat akan digunakan untuk membentuk dispersi cairan (5). Banyak hal yang menyebabkan dibuat suspensi dalam bentuk kering, salah satunya adalah obat yang tidak stabil secara kimia dalam larutan tetapi stabil jika disuspensikan. Selain itu banyak pasien yang lebih suka obat bentuk cair daripada bentuk padat (tablet/kapsul) dari obat yang sama, sebab lebih mudah menelan cairan, fleksibel dalam pemberian dosis, juga lebih aman dan menyenangkan dalam pemberian dosis terhadap orang dewasa dan anak-anak. Bagian terpenting adalah bahan pensuspensi merupakan preparat dalam air dengan pembawa yang

mengandung flavor dan pemanis yang memberikan rasa yang menyenangkan terhadap pasien (11).

Suspensi oral antibakteri mencakup sediaan-sediaan antibiotik. Biasanya bahan-bahan antibiotik tidak stabil bila berada dalam pembawa air untuk waktu lama. Dilihat dari stabilitasnya, bahan obat dengan bentuk tidak larut dalam suspensi berair atau sebagai serbuk kering untuk diencerkan sangat menarik. Kebanyakan dari obat-obat yang dibuat sebagai campuran kering untuk suspensi oral adalah obat-obat antibiotik termasuk ampisilin (11).

### III.2 Uraian '*Shelf-life*' Obat

*Shelf life* ( $t_{10\%}$ ) ialah waktu dimana obat yang terurai maksimum 10% dari konsentrasi awalnya. Ini merupakan kondisi terjadinya peruraian sebesar 10 % (3,4)

*Shelf life* ( $t_{10\%}$ ) untuk suatu obat pada kondisi penggunaan bisa dihitung dari persamaan kinetik yang tepat dan konstanta laju peruraian diperoleh dari persamaan Arrhenius. Untuk suatu proses penggunaan orde pertama, *Shelf life* dihitung dari :

$$t_{10\%} = \frac{-\ln 0,90}{K_1} = \frac{0,105}{K_1}$$

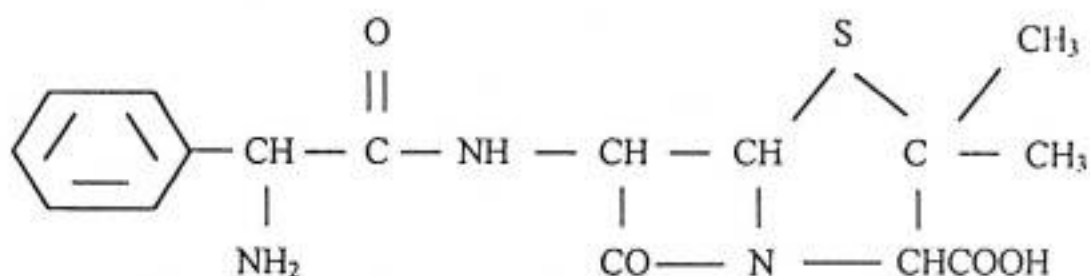
Dimana  $t_{10\%}$  adalah waktu 10% peruraian yang terjadi dengan konstanta peruraian orde pertama yang tampak  $K_1$  seringkali perlu untuk

mengemukakan profil laju pH sebagai suatu plot pH terhadap data "Shelf-life" (19).

### III.3 Uraian Ampisilin

Ampisilin adalah turunan Penisilin yang dibuat secara semisintetis dengan rumus molekul  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$  dan bobot molekul 349,41.

Struktur Ampisilin adalah :



Nama Kimia : Asam 6-(D- $\alpha$ -Aminofenilasetamido) penisilat, D- $\alpha$ -Aminobenzil Penisilin, 4-5-6-(D-2-Amino-2-fenil asetamido) - 3,3 - dimetil 7-oxo-4-tia-1-azabisiklo-(3,2,0)-heptane-2 karboksilat (1,4,9,12,13).

#### III.3.1 Sifat-sifat Fisika Ampisilin (11,13)

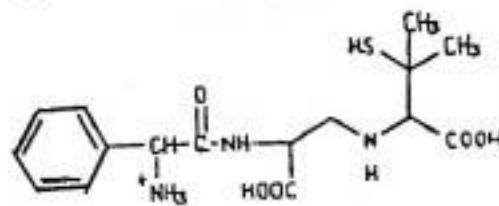
Serbuk kristal, putih tidak berbau atau hampir tidak berbau, rasa pahit. Larut dalam 150 bagian air, praktis tidak larut dalam etanol (95%) P, kloroform, eter, aseton dan minyak lemak. Kristalin trihidrat tidak berwarna atau sedikit kuning.

#### III.3.2 Kestabilan Ampisilin (4)

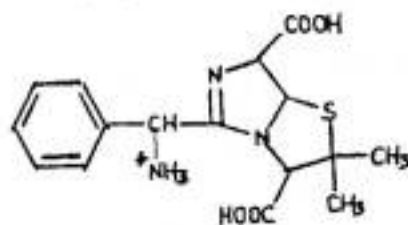
Ampisilin peka terhadap hidrolisis di daerah cincin beta laktam. Profil laju pH menampakkan hidrolisis terkatalisis asam

dan basa spesifik. Stabilitas maksimumnya pada pH 5,8. Dikarenakan terjadi dimerisasi, laju degradasinya meningkat dengan meningkatnya konsentrasi awal. Penambahan alkohol ke dalam larutan ampisilin menunjukkan stabilitas. Interkonversi hidrat-hidrat harus dicegah agar terjadinya perubahan ketersediaan hayati dapat dihindarkan. Laju dekomposisi ampisilin meningkat sejalan dengan kenaikan konsentrasi dekstrosa dan karbohidrat dalam larutan.

Penyebab degradasi ampisilin yang paling berperan adalah terjadinya pemecahan hidrolitik dari cincin  $\beta$ -laktam. Dalam larutan asam atau netral ampisilin terurai menjadi asam  $\alpha$ -aminobenzilpenamaldik dan asam  $\alpha$ -aminobenzilpenilik.



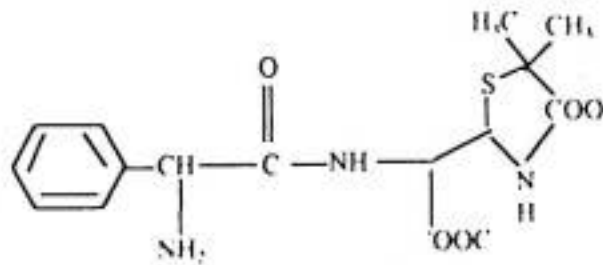
asam  $\alpha$ -aminobenzilpenamaldik



asam  $\alpha$ -aminobenzilpenilik



Dalam larutan basa akan terbentuk produk berikut :



Asam  $\alpha$  - amino benzilpenisilat

Ampisilin tidak resisten terhadap penisilinase yaitu suatu enzim bakterial yang menginaktifkan penisilin yang kemudian diberi nama penisilinase nonspesifik, yang terdiri atas 2 tipe umum, yaitu beta laktamase dan asilase. Yang terpenting adalah beta laktamase, yaitu enzim yang mengkatalisis pembukaan hidrolitik cincin beta laktam penisilin.

Penisilin semisintetis seperti ampisilin umumnya efektif melawan baksil gram negatif seperti *Escherichia*, *Klebsiela*, *Hemophilis*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus nonindol*.

### III.3.3 Sifat Farmakologi (11,12,13)

Ampisilin merupakan penisilin semisintetis yang dalam konsentrasi rendah paling efektif terhadap beberapa bakteri

gram negatif seperti *E. Coli*, *Hemophylus influenzae*, *Proteus mirabilis* dan beberapa jenis dari *Salmonella*, *Shigella* dan *Neisseria*.

Mekanisme aksinya adalah mengganggu sintesis mukopeptida yang penting untuk pembentukan dinding sel bakteri. Ampisilin dieksresikan dengan cepat sebagai produk ketabolik dalam urin, ditemukan dalam konsentrasi tinggi di empedu dan direabsorpsi kembali di usus halus. Ampisilin diekskresi dalam bentuk utuh.

Ampisilin merupakan antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap bakteri gram (-) dan (+). Ampisilin juga secara klinik efektif terhadap infeksi yang disebabkan oleh strain bakteri yang sensitif, dan kadang-kadang terhadap *Aerobacter*, dan *Klebsiela*, terbanyak pada infeksi *Pseudomonas* yang resisten. Kemungkinan juga efektif terhadap infeksi *Streptococcus faecalis* dan *Diplococcus pneumoniae*. Komplikasi antara tractus respiratoris dan bronkhitis kronis merupakan salah satu indikasi penting untuk profilaksis dan terapeutik ampisilin.



Ampisilin stabil terhadap asam dan tidak mengiritasi jaringan, Toksitasnya rendah. Absorpsi dikurangi oleh adanya makanan. Ampisilin dengan cepat dinaktifkan oleh gentamicin, sehingga tidak boleh diberikan bersama-sama.

Gugus-gugus amino terprotonkan secara penuh dalam medium asam mempunyai pKa 7,3 dan terprotonkan secara penuh dalam medium asam yang menjelaskan stabilitas ampisilin terhadap hidrolisis asam dan tidak stabil terhadap hidrolisis basah.

Ampisilin menyebabkan reaksi alergi, seperti pruritus, urtikaria, eosinofilis, demam, edema, angioneurotik dan syok anafilaksis, juga menyebabkan gangguan gastrointestinal seperti kembung, kejang, diare, mual, muntah dan sakit perut.

Dosis ampisilin tergantung pada kondisi penyakit, fungsi ginjal dan umur penderita. Dosis lazim peroral untuk dewasa 250 – 500 mg tiap enam jam untuk infeksi tractus respiratoris, jaringan kulit dan lunak. Dosis 500 mg tiap 6 jam untuk infeksi tractus urinari dan grastointestinal. Dosis sebesar 1 g dibutuhkan untuk bakteri gram (-) yang lebih kuat.

Anak-anak di bawah umur 12 tahun diberikan 100-200 mg/kg BB per hari yang dibagi tiap 6 - 8 jam, tetapi tidak melebihi dosis rata-rata dewasa per hari, kecuali dalam keadaan tidak umum. Pengobatan mungkin dilanjutkan selama 4 minggu atau lebih jika perlu misalnya pada demam tifoid dan bronkhitis kronis.

#### III.3.4 Sifat Farmakokinetik (16)

Adanya makanan dalam saluran cerna akan menghambat absorpsi ampisilin, tetapi hambatan tersebut tidak mempengaruhi kadar obat dalam plasma darah. Ampisilin didistribusikan meluas di dalam tubuh. Pengikatan oleh protein plasma hanya 20 % Ampisilin yang masuk ke dalam empedu dalam bentuk aktif akan mengalami sirkulasi entero hepatic, tetapi yang dieksresi melalui tinja jumlahnya cukup tinggi.

### III.4 Pengujian Daya Hambat Secara Mikrobiologis (17,18)

#### III.4.1 Metode Pengenceran

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran. Penghambatan pertumbuhan (berkurangnya kekeruhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroba

dapat diukur dengan alat fotokolorimeter. Prinsip kerjanya yaitu cahaya yang mengenai sel-sel mikroorganisme di dalam sampel suspensi mikroba akan dihamburkan, sedangkan cahaya yang lolos (diteruskan) setelah melewati suspensi mikroba akan mengaktifkan fototabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jumlah sel di dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, dan makin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

#### III.4.2 Metode Difusi

##### a. Difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding.

##### b. Difusi dengan mangkuk pipih

Cara ini sama dengan silinder pipih. Perbedaannya di sini menggunakan 1 lubang yang dibuat langsung pada medium.

##### c. Difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya dengan garis tengah 0,7 – 1 cm

yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

d. Difusi Kirby Bauer

Cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring, dan cawan petri yang digunakan berukuran 150x15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai konsentrasi larutan contoh.

e. Difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby Bauer. Perbedaannya pada cara ini menggunakan 2 lapis agar, lapisan pertama *base layer* tidak mengandung mikroba, sedangkan lapisan kedua *seed layer* mengandung mikroba.

### III.5 Kultur Bakteri Uji (18)

Bakteri di alam terdapat dalam keadaan tidak murni bercampur dengan jenis bakteri lain. Kerap kali bakteri patogen hidup bersama-sama dengan bakteri saproba. Oleh karena itu, untuk mempelajari sifat-sifat dari bakteri termasuk sifat pertumbuhan, morfologi dan fisiologi harus dipisahkan satu dengan yang lainnya sehingga terbentuk suatu kultur murni bakteri yaitu suatu biakan yang terdiri atas sel-sel dari satu spesies

atau satu galur bakteri. Untuk tujuan ini digunakan media yang telah disterilkan, baik media cair maupun padat dan pengerjaannya dilakukan secara aseptik.

### III.5.1 Kultur Cair

Cara ini yang paling sederhana yaitu menyimpan di dalam suatu media cair pada suhu dan waktu inkubasi tertentu yang tergantung pada jenis mikroba yang diinginkan. Media yang digunakan adalah media yang dapat memacu pertumbuhan mikroba yang diinginkan.

Pertumbuhan mikroba dalam media cair dapat dilihat dalam bentuk kekeruhan, pertumbuhan pada permukaan dan sedimen. Kultur cair dapat disimpan dengan cara dibekukan atau dikeringkan.

### III.5.2 Biakan Agar Miring dan Agar Tegak

Agar miring merupakan suatu bentuk medium yang digunakan untuk membiakkan mikroba terutama yang bersifat aerob dan aerob fakultatif. Pada biakan ini bentuk pertumbuhan dan pembentukan warna mudah diamati. Inokulasi bakteri pada agar miring yaitu dengan cara menggoreskan jarum ose secara zig-zag. Sedangkan agar tegak dengan cara menusukkan loop pada bagian tengah tabung.

### III.5.3 Biakan Agar Cawan

Kultur mikroba uji dapat dibiakkan dengan cara menginokulasikan pada agar cawan, kemudian penyebaran kultur di atas agar dilakukan dengan pertolongan ose atau batang gelas. Tujuan penyebaran kultur adalah memisahkan sel-sel mikroba satu dengan lainnya, sehingga setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu masing-masing sel akan tumbuh dan berkembang biak membentuk kumpulan sel atau koloni yang dapat terlihat oleh mata.

### III.6 Uraian Bakteri Uji

#### a. Sistematika (10,20)

|         |   |                              |
|---------|---|------------------------------|
| Divisi  | : | Protophyta                   |
| Klas    | : | Schizomycetes                |
| Ordo    | : | Eubacteriales                |
| Famili  | : | Micrococcaceae               |
| Genus   | : | Staphylococcus               |
| Species | : | <i>Staphylococcus aureus</i> |

#### b. Sifat dan Morfologi (10,20)

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat, bergaris tengah 0,5 – 5  $\mu\text{m}$ , terdapat bergerombol seperti buah anggur, satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, tidak

tahan asam. Di atas perbenihan padat berupa koloni bulat dengan diameter 1 – 2 mm sedikit cembung, amorf dan tidak transparan. *Staphylococcus aureus* biasanya terdapat di atas permukaan kulit, saluran pernapasan bagian atas, saluran kencing, mulut, hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru dan selaput lendir lainnya. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 10 – 45°C. Suhu pertumbuhan optimumnya 37°C, pada pH 7,0 – 7,5.

## BAB IV

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### IV.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah : *Laminar Air Flow* (Linvirco), otoklaf (Portable), timbangan kasar (O'haus), inkubator (Memmert), cawan petri, ose, pencadang, mistar geser, batang pengaduk, spoit, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, oven (Elektrolux), pinset, lampu spiritus, tangas air dan botol penyemprot.

Bahan-bahan yang digunakan adalah : Sirup kering ampisilin paten, sirup kering ampisilin generik, bakteri *Staphylococcus aureus*, larutan NaCl fisiologis 0,9%, alkohol 70%, NaOH 40%, HCl 1%, agar (Merck), pepton (Difco), glukosa (Merck), NaCl (Merck), sari daging (Difco), dan air suling.

#### IV.2 Sterilisasi Alat-alat (5,6)

Alat-alat yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari kaca seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia dan pencadang dididihkan dengan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  1% selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan air suling dan selanjutnya direndam dalam HCL 1% selama 30 menit. Kemudian dicuci kembali dengan air suling dan dikeringkan. Tabung reaksi, gelas ukur.



erlenmeyer, disumbat dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Alat ukur disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan pencadangan dan alat gelas lainnya disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam.

### IV.3 Pembuatan Medium (7,8)

#### 1. Medium Nutrien Agar (NA) dengan komposisi :

- Ekstrak beef            3 g
  - Pepton                    5 g
  - Agar                      15 g
  - Air suling sampai    1000 ml
- pH 7,0

Cara membuatnya :

Bahan-bahan tersebut di atas dilarutkan dalam air suling kemudian dipanaskan sampai semua bahan larut dan pH-nya diatur. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambah air suling sampai volume 1000 ml. Selanjutnya disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### 2. Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA)

Komposisi:

- Glukosa                    10 g
- Ekstrak Beef            5 g

- Pepton 10 g
  - NaCl 2,5 g
  - Agar 15 g
  - Air suling sampai 1000 ml
- pH 7,0

Cara membuatnya :

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air suling, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan semua bahan larut. Selanjutnya pH diatur dengan HCl 5 N sampai diperoleh pH 5,7. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. Disaring dengan kapas, dan medium tersebut disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dibiarkan hingga suhunya mencapai 45 - 50° C. Selanjutnya pH diatur kembali dengan menambahkan NaOH 40% steril sampai diperoleh pH 7,0 yang dilakukan dalam *Laminar Air Flow*

#### IV.4 Pengambilan Sampel

Sampel berupa sirup kering ampicilin paten dan generik berlogo masing-masing sebanyak 3 botol dengan nomor *batch* yang sama. Semua sampel diperoleh dari apotek.

#### IV.5 Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Unhas.

#### IV.6 Peremajaan Bakteri Uji

Diambil 1 ose mikroba uji dari biakan murni, kemudian diinokulasikan dalam medium nutrien agar (NA) miring dan diinkubasikan pada suhu 37° C selama 1x24 jam.

#### IV.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji dari medium NA miring disuspensikan dengan bantuan 1 ml larutan NaCl 0,9% steril ke permukaan 250 ml media agar dalam botol Roux. Suspensi bakteri uji disebarakan ke atas permukaan agar secara merata dengan bantuan butir kaca steril. Diinkubasikan pada 37°C selama 1x24 jam. Setelah diinkubasi, dibuat suspensi persediaan dengan mengumpulkan bakteri yang ada di permukaan ke dalam 50 ml larutan NaCl 0,9% steril, kemudian diukur pada transmitan 25%.

#### IV.8 Penyiapan Sampel

Sirup kering ampisilin paten dan generik masing-masing ditambah air suling steril sampai sedikit di bawah tanda, dikocok dan didiamkan selama 5 menit agar terdispersi sempurna, kemudian

ditambahkan lagi air suling steril secukupnya sampai tanda (60 ml) dan dikocok. Kemudian disimpan pada suhu kamar.

#### **IV.9 Pengujian Daya Hambat Ampisilin dengan Metode Difusi Agar Berlapis**

##### **IV.9.1 Pengenceran sampel uji**

Suspensi ampisilin yang telah dicampur dengan air suling steril dipipet sebanyak 0,5 ml, kemudian diencerkan dengan air suling steril sampai 25 ml.

##### **IV.9.2 Pengujian daya hambat ampisilin**

Disiapkan 7 cawan petri steril untuk pengamatan selama 11 hari penyimpanan yaitu hari ke 0, 1, 3, 5, 7, 9 dan hari ke 11. Pertama-pertama dibuat lapisan I (*base layer*) yaitu medium GNA yang telah mencair dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Kemudian dibuat lapisan II (*seed layer*), yaitu dibuat inokulasi bakteri uji dengan persentase mikroba uji 25%. Selanjutnya inokulum dituang di atas lapisan I, dan GNA dihomogenkan dengan cara cawan petri digoyang-goyangkan dan dibiarkan memadat. Pencadangan dengan diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm dan tinggi 10 mm diletakkan secara aseptik di atas permukaan agar yang telah diinokulasikan mikroba uji. Di dalam masing-masing cawan petri terdapat 6

pencadang. Tiga pencadang untuk suspensi ampisilin generik dan tiga pencadang untuk suspensi ampisilin paten. Suspensi sampel diambil sebanyak 0,2 ml dan dimasukkan secara aseptik ke dalam pencadang, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Selanjutnya daerah hambatan yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran dikumpulkan, ditabulasi dan diolah secara statistika menggunakan rancangan faktorial.



## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### V.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian daya hambat suspensi ampisilin paten dan generik yang disimpan pada suhu kamar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi 24 jam memberikan hasil sebagai berikut:

Diameter zona hambatan rata-rata yang dihasilkan oleh suspensi ampisilin paten berturut-turut : pada hari ke-0 sebesar 2,30 cm, hari ke-1 sebesar 2,15 cm, hari ke-3 sebesar 2,12, hari ke-5 sebesar 2,11 cm, hari ke-7 sebesar 2,00 cm, hari ke-9 sebesar 1,94 cm, dan pada hari ke-11 sebesar 1,73 cm. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Diameter zona hambatan rata-rata yang dihasilkan oleh suspensi ampisilin generik berturut-turut sebagai berikut : pada hari ke-0 sebesar 2,34 cm, hari ke-1 sebesar 2,21 cm, hari ke-3 sebesar 2,19 cm, hari ke-5 sebesar 2,18 cm, hari ke-7 sebesar 2,10 cm, hari ke-9 sebesar 1,97 cm, dan hari ke-11 sebesar 1,92 cm. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Persentase penurunan daya hambat suspensi ampisilin paten adalah sebagai berikut: pada hari ke-0 sebesar 0%, hari ke-1 sebesar 6,52%, hari ke-3 sebesar 7,83%, hari ke-5 sebesar 8,26%, hari ke-7 sebesar 13,04%, hari ke-9

sebesar 15,65%, dan pada hari ke-11 sebesar 24,78%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Persentase penurunan daya hambat suspensi ampisilin generik adalah sebagai berikut: pada hari ke-0 sebesar 0%, hari ke-1 sebesar 5,56%, hari ke-3 sebesar 6,41%, hari ke-5 sebesar 6,84%, hari ke-7 sebesar 10,26%, hari ke-9 sebesar 15,81%, dan hari ke-11 sebesar 17,95% (Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2).

## V.2 Pembahasan Hasil

Dari hasil uji statistika menggunakan rancangan faktorial memperlihatkan bahwa pada perlakuan H (lama penyimpanan) ada perbedaan yang sangat nyata antara hari dengan daya hambat suspensi ampisilin pada pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dari harga  $F$  hitung lebih besar dari harga  $F$  tabel baik pada taraf kepercayaan 5% ( $17,58 > 2,57$ ) maupun pada taraf kepercayaan 1% ( $17,58 > 3,81$ ) (Dapat dilihat pada Lampiran A). Ini berarti bahwa lama penyimpanan atau penambahan hari memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap daya hambat suspensi ampisilin pada pertumbuhan bakteri uji.

Pada perlakuan S (sediaan) memperlihatkan  $F$  hitung lebih besar daripada  $F$  tabel, pada derajat kepercayaan 5% ( $FH 7,69 > 4,32$ ), sedangkan pada derajat kepercayaan 1%  $F$  hitung lebih kecil daripada  $F$

tabel ( $7,69 < 8,02$ ). Hal ini berarti bahwa sediaan berpengaruh pada daya hambat suspensi ampisilin terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada derajat kepercayaan 5%.

Hasil analisis selanjutnya dengan uji Duncan memperlihatkan adanya perbedaan yang nyata antara hari dengan diameter hambatan suspensi ampisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Begitu pula hasil analisis untuk masing-masing suspensi ampisilin paten dan generik memperlihatkan ada perbedaan yang nyata antara hari dengan diameter daerah hambatan dari suspensi ampisilin.

Diameter hambatan dari suspensi ampisilin setelah dipersentase mengalami penurunan yaitu dari hari ke-0 sampai hari ke-5 penurunannya kurang dari 10%, sedangkan hari ke-7 sampai ke-11 persentase penurunannya lebih dari 10%. Penurunan potensi antibiotika yang masih diperkenankan adalah bila tidak lebih dari 10% batas *Shelf-life* (20). Jika penurunannya melebihi 10% dari kontrol atau pembandingan, maka zat aktif tidak efektif lagi menghambat mikroba. Jadi yang memenuhi batas *Shelf-life* adalah penyimpanan sampai hari ke-5 yaitu ampisilin paten menurun aktivitasnya sekitar 8,26% dan ampisilin generik sebesar 6,84% (Dapat dilihat pada Tabel 2).

Selain lamanya penyimpanan, suhu juga mempengaruhi kestabilan suspensi ampisilin. Menurut pustaka (4) suspensi ampisilin dapat dipertahankan kestabilannya selama 7 hari pada suhu kamar (suhu



21°C). Dalam penelitian ini suspensi ampisilin stabil hanya sampai hari ke-5 saja. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam penelitian ini suhu laboratorium lebih tinggi dari 21°C yaitu rata-rata 30°C.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Lamanya penyimpanan dan suhu sangat berpengaruh terhadap aktivitas anti bakteri dari suspensi ampisilin.
2. Suspensi ampisilin paten maupun generik yang disimpan pada suhu kamar yang memenuhi syarat *Shelf life* adalah suspensi yang disimpan sampai hari ke-5.

#### VI.2 Saran

1. Suspensi ampisilin yang disimpan pada suhu kamar sebaiknya tidak digunakan lebih dari 5 hari
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan lebih dari satu bakteri uji.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Wilson, C.D., et all., (1982), "Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry", 18<sup>th</sup> ed, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 346, 352.
2. Tarigan, P., (1987), "Petunjuk Praktikum Teknologi Fermentasi". Pusat Antar Universitas Bioteknologi, ITB Bandung. 116
3. Ansel, H. C., (1980), "Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi", Edisi IV, Terjemahan Ibrahim, F., Universitas Indonesia Press, Jakarta. 163, 354-355.
4. Connors, K. A., Amidon, G.L., Stella, J.V., (1987), "Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi", Cetakan Pertama, Terjemahan Gunawan, IKIP Press, Semarang, 12, 178.
5. Parrott, E.L.,(1970), "Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics", Burger Publishing Company, Minneapolis, 274.
6. Dwijoseputro, D., (1980), "Dasar-dasar Mikrobiologi", Djambatan, Malang, 40-43.
7. Bacto Laboratory, (1977), "The Bacto of Culture Media ingredientstang Other Laboratory Services", 3 rd edition, Bacto Laboratory, Detroit, Michigan.
8. Difco Laboratory, (1984), "Difco Manual, Dehidrat Culture Media and Reagent for Microbiology", Tenth edition, Difco Laboratory, Detroit, Michigan.
9. Ditjen POM., (1995), "Farmakope Indonesia", Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 17, 891-898.
10. Bonang, G., dan Koeswardono, E.S., (1982), "Mikrobiologi Kedokteran", PT. Gramedia, Jakarta, 17-18.
11. Ditjen POM., (1979), "Farmakope Indonesia", Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 32, 90, 91, 772.
12. American Medical Association, (1966), "New Drugs, Evaluated by A.M.A Council on Drugs", Edisi Tahun 1966, Chicago, 9, 11, 14.
13. Doerge, R.F., (1982), "Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik", Edisi VII, Bagian I, Terjemahan oleh Fatah, A.M, IKIP Semarang Press, Semarang, 243, 247.

14. Ryan, S.A. dan Clayton, B.D. (1977), "Handbook of Practical Pharmacology", The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 3.5.
15. Gringanz, A., (1978), "Drugs, How They Act and Why", The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 100, 101.
16. Ganiswara, S.G. (Eds) . (1995), "Farmakologi dan Terapi", edisi IV, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, 624-630.
17. Hunter, P., "General Microbiology the Student's Text Book", The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 153, 155, 163, 200.
18. Cappucino, J.G., dan Sherman, N., (1987), "Microbiology A Laboratory Manual", Addison-Wesley Publishing Company, Massachussets, 53-57.
19. Lachman, L. Leiberman H.A. Kanig, J.L., (1989), "Teori dan Praktek Farmasi Industri I", Edisi Ketiga, Terjemahan Siti Suyatmi, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 420.
20. Sneath, P.H.A., *et. al.*, (1986), "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", vol 2, Williams and Wilkins, Sydney, 1013-1015.

TABEL 1

Diameter Zona Hambatan Suspensi Ampisilin yang Disimpan pada Suhu kamar Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Masa Inkubasi 24 Jam

|         |           | Diameter Zona Hambatan Suspensi Ampisilin (cm) |                |                |           |                |                |                |           |
|---------|-----------|--|----------------|----------------|-----------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| Hari ke | Pertakuan | A  |                |                |           | B              |                |                |           |
|         |           | A <sub>1</sub>                                 | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | Rata-rata | B <sub>1</sub> | B <sub>2</sub> | B <sub>3</sub> | Rata-rata |
| 0       |           | 2,40   | 2,23           | 2,26           | 2,30      | 2,30           | 2,36           | 2,36           | 2,34      |
| 1       |           | 2,16   | 2,13           | 2,17           | 2,15      | 2,26           | 2,16           | 2,20           | 2,21      |
| 3       |           | 2,06   | 2,16           | 2,13           | 2,12      | 2,19           | 2,20           | 2,18           | 2,19      |
| 5       |           | 2,03   | 2,16           | 2,13           | 2,11      | 2,13           | 2,26           | 2,16           | 2,18      |
| 7       |           | 1,93   | 2,03           | 2,03           | 2,00      | 2,03           | 2,10           | 2,10           | 2,10      |
| 9       |           | 1,96   | 2,00           | 1,86           | 1,94      | 1,96           | 2,00           | 1,96           | 1,97      |
| 11      |           | 1,56   | 2,00           | 1,63           | 1,73      | 1,96           | 1,86           | 1,93           | 1,92      |

Keterangan :

A = Suspensi Ampisilin Paten

A<sub>1</sub> – A<sub>3</sub> = Perlakuan 1 - 3

B = Suspensi Ampisilin Generik

B<sub>1</sub> – B<sub>3</sub> = Perlakuan 1 - 3

TABEL 2

Perhitungan Persentase Penurunan Daya Hambat Suspensi Ampisilin yang Disimpan pada Suhu kamar Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* Pada Masa Inkubasi 24 Jam

| Hari ke | Penurunan Daya Hambat Suspensi Ampisilin (%) |       |
|---------|--|-------|
|         | A  | B     |
| 0       | 0  | 0     |
| 1       | 6,52   | 5,56  |
| 3       | 7,83   | 6,41  |
| 5       | 8,26   | 6,84  |
| 7       | 13,04  | 10,26 |
| 9       | 15,65  | 15,81 |
| 11      | 24,78  | 17,95 |

Keterangan :

A = Suspensi Ampisilin Paten

B = Suspensi Ampisilin Generik

## LAMPIRAN A

HASIL ANALISIS STATISTIKA  
 DIAMETER ZONA HAMBATAN SUSPENSI AMPISILIN  
 MENGGUNAKAN RANCANGAN FAKTORIAL 7 X 2 REPLIKASI 3

| Hari      | A     | B     | Jumlah |
|-----------|-------|-------|--------|
| 0         | 2,40  | 2,30  |        |
|           | 2,23  | 2,36  |        |
|           | 2,26  | 2,36  |        |
| Jumlah    | 6,89  | 7,02  | 13,91  |
| Rata-rata | 2,30  | 2,34  |        |
| 1         | 2,16  | 2,26  |        |
|           | 2,13  | 2,16  |        |
|           | 2,17  | 2,20  |        |
| Jumlah    | 6,46  | 6,62  | 13,08  |
| Rata-rata | 2,15  | 2,21  |        |
| 3         | 2,06  | 2,19  |        |
|           | 2,16  | 2,20  |        |
|           | 2,13  | 2,18  |        |
| Jumlah    | 6,35  | 6,57  | 12,92  |
| Rata-rata | 2,12  | 2,19  |        |
| 5         | 2,03  | 2,13  |        |
|           | 2,16  | 2,26  |        |
|           | 2,13  | 2,16  |        |
| Jumlah    | 6,32  | 6,55  | 12,87  |
| Rata-rata | 2,11  | 2,18  |        |
| 7         | 1,93  | 2,03  |        |
|           | 2,03  | 2,10  |        |
|           | 2,03  | 2,10  |        |
| Jumlah    | 5,99  | 6,23  | 12,22  |
| Rata-rata | 2,00  | 2,10  |        |
| 9         | 1,96  | 1,96  |        |
|           | 2,00  | 2,00  |        |
|           | 1,86  | 1,96  |        |
| Jumlah    | 5,82  | 5,92  | 11,74  |
| Rata-rata | 1,94  | 1,97  |        |
| 11        | 1,56  | 1,96  |        |
|           | 2,00  | 1,86  |        |
|           | 1,63  | 1,93  |        |
| Jumlah    | 5,19  | 5,75  | 10,94  |
| Rata-rata | 1,73  | 1,92  |        |
| Total     | 43,02 | 44,66 | 87,68  |

Keterangan :

A = Suspensi Ampisilin Paten

B = Suspensi Ampisilin Generik



$$\begin{aligned} \text{Jk Rata-rata} &= \frac{(87,68)^2}{7 \times 2 \times 3} \\ &= 183,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk Total} &= (2,4)^2 + (2,23)^2 + \dots + (1,93)^2 + 183,04 \\ &= 184,271 - 183,04 \\ &= 1,231 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk perlakuan} &= \frac{(6,89)^2 + (7,02)^2 + \dots + (5,75)^2}{3} - 183,04 \\ &= 184,08 - 183,04 \\ &= 1,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk hari (H)} &= \frac{(13,91)^2 + (13,08)^2 + \dots + (10,94)^2}{3 \times 2} - 183,04 \\ &= 183,99 - 183,04 \\ &= 0,95 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk sediaan (5)} &= \frac{(43,02)^2 + (44,66)^2}{7 \times 3} - 183,04 \\ &= 183,11 - 183,04 \\ &= 0,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk [HS]} &= \text{Jk perlakuan} - \text{jk hari} - \text{jk sediaan} \\ &= 1,04 - 0,95 - 0,07 \\ &= 0,02 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jk Galat} &= \text{jk total} - \text{jk perlakuan} \\ &= 1,231 - 1,04 \\ &= 0,191 \end{aligned}$$



TABEL ANAVA

| Sumber Keragaman | DB | JK    | KR     | FH      | FT   |      |
|------------------|----|-------|--------|---------|------|------|
|                  |    |       |        |         | 5 %  | 1%   |
| Hari ( H )       | 6  | 0,95  | 0,16   | 17,58** | 2,57 | 3,81 |
| Sediaan ( S )    | 1  | 0,07  | 0,07   | 7,69 *  | 4,32 | 8,02 |
| [ HS ]           | 13 | 0,02  | 0,0015 | 0,16    | 2,25 | 3,17 |
| Galat            | 21 | 0,191 | 0,0091 | .       |      |      |
| T o t a l        | 41 | 1,231 |        |         |      |      |

Keterangan :

DB = derajat bebas

JK = jumlah kuadrat

KR = kuadrat rata-rata

FH = faktor hitung

FT = faktor tabel

[ HS ] = interaksi hari x sediaan

Ketentuan :

1. Jika F hitung > dari F tabel pada taraf 1 %, maka perbedaan perlakuan sangat nyata (pada hasil F hitung ditandai dengan dua tanda \*)
2. Jika F hitung > dari F tabel pada taraf 5 % tetapi < dari F tabel pada taraf 1 % maka perbedaan perlakuan dikatakan nyata (pada F hitung ditandai dengan suatu tanda \*)
3. Jika F hitung < dari F tabel pada taraf 5 % maka perbedaan perlakuan dikatakan tidak nyata.

Analisis antar hari terhadap daya hambat dilakukan dengan uji Duncan.

DB = 21

| I            | 2            |
|--------------|--------------|
| 1% JN<br>JNT | 4,02<br>0,22 |
| 5% JN<br>JNT | 2,95<br>0,16 |

$$\begin{aligned} \text{JNT (1 \% )} &= 4,02 \times \sqrt{0,0091/3} \\ &= 4,02 \times 0,055 \\ &= 0,22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT (5 \% )} &= 2,95 \times \sqrt{0,0091/3} \\ &= 2,95 \times 0,055 \\ &= 0,16 \end{aligned}$$

Uji antar hari terhadap daya hambat pada bakteri uji Staphylococcus aureus

| Hari      | A    | B    | C    | D    | E    | F    | G    |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|
| Rata-rata | 2,32 | 2,18 | 2,16 | 2,15 | 2,04 | 1,96 | 1,82 |

## Perbandingan Menghasilkan

| HARI  | SELISIH | JNT  |      | KETERANGAN |
|-------|---------|------|------|------------|
|       |         | 0,05 | 0,01 |            |
| A - B | 0,14    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| A - C | 0,16    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| A - D | 0,17    | 0,16 | 0,22 | S          |
| A - E | 0,28    | 0,16 | 0,22 | SS         |
| A - F | 0,36    | 0,16 | 0,22 | SS         |
| A - G | 0,5     | 0,16 | 0,22 | SS         |
| B - C | 0,02    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| B - D | 0,03    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| B - E | 0,12    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| B - F | 0,22    | 0,16 | 0,22 | S          |
| B - G | 0,36    | 0,16 | 0,22 | SS         |
| C - D | 0,01    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| C - E | 0,12    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| C - F | 0,20    | 0,16 | 0,22 | S          |
| C - G | 0,34    | 0,16 | 0,22 | SS         |
| D - E | 0,11    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| D - F | 0,19    | 0,16 | 0,22 | S          |
| D - G | 0,33    | 0,16 | 0,22 | SS         |
| E - F | 0,08    | 0,16 | 0,22 | NS         |
| E - G | 0,22    | 0,16 | 0,22 | S          |
| F - G | 0,14    | 0,16 | 0,22 | NS         |

## Keterangan :

A = Hari ke 0

B = Hari ke 1

C = Hari ke 3

D = Hari ke 5

E = Hari ke 7

F = Hari ke 9

G = Hari ke 11

JN = Jarak Nyata

JNT = Jarak Nyata Terkecil

S = Signifikan

SS = Sangat Signifikan

NS = Non Signifikan

Analisis antar hari terhadap daya hambat dilakukan dengan Uji Duncan

$$DB = 21$$

$$S_{Yi} = \sqrt{\frac{KR \text{ Galat}}{n}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,0091}{3}}$$

$$= 0,055$$

| Jarak                 | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      |
|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| JN = r 0,05 ( p,28 )  | 2,95   | 3,10   | 3,18   | 3,25   | 3,30   | 3,34   |
| JNT = r 0,05 ( p,28 ) | 0,1392 | 0,1459 | 0,1502 | 0,1536 | 0,1565 | 0,1584 |

$$R_2 = r_{0,05} (2,21) = (2,95) (0,055) = 0,162$$

$$R_3 = r_{0,05} (3,21) = (3,10) (0,055) = 0,171$$

$$R_4 = r_{0,05} (4,21) = (3,18) (0,055) = 0,175$$

$$R_5 = r_{0,05} (5,21) = (3,25) (0,055) = 0,179$$

$$R_6 = r_{0,05} (6,21) = (3,30) (0,055) = 0,182$$

$$R_7 = r_{0,05} (7,21) = (3,34) (0,055) = 0,184$$

Urutan rata-rata pengamatan daya hambat suspensi ampisilin patent dari nilai yang terkecil makin lama makin besar

|                    |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| <b>Hari</b>        | 11   | 9    | 7    | 5    | 3    | 1    | 0    |
| <b>Rata – rata</b> | 1,73 | 1,94 | 2,00 | 2,11 | 2,12 | 2,15 | 2,30 |

### Perbandingan Menghasilkan

| Hari   | Jarak | Selisih |                | Ket. |
|--------|-------|---------|----------------|------|
| 0 – 11 | 7     | 0,57    | $0,57 > 0,184$ | S    |
| 0 – 9  | 6     | 0,36    | $0,36 > 0,182$ | S    |
| 0 – 7  | 5     | 0,31    | $0,31 > 0,179$ | S    |
| 0 – 5  | 4     | 0,19    | $0,19 > 0,175$ | S    |
| 0 – 3  | 3     | 0,18    | $0,18 > 0,171$ | S    |
| 0 – 1  | 2     | 0,15    | $0,15 > 0,162$ | S    |
| 1 – 11 | 6     | 0,42    | $0,42 > 0,182$ | S    |
| 1 – 9  | 5     | 0,21    | $0,21 > 0,179$ | S    |
| 1 – 7  | 4     | 0,16    | $0,16 < 0,175$ | S    |
| 1 – 5  | 3     | 0,04    | $0,04 < 0,171$ | NS   |
| 1 – 3  | 2     | 0,03    | $0,03 < 0,162$ | NS   |
| 3 – 11 | 5     | 0,39    | $0,39 > 0,179$ | S    |
| 3 – 9  | 4     | 0,18    | $0,18 > 0,175$ | S    |
| 3 – 7  | 3     | 0,13    | $0,13 < 0,171$ | NS   |
| 3 – 5  | 2     | 0,01    | $0,01 < 0,162$ | NS   |
| 5 – 11 | 4     | 0,38    | $0,38 > 0,175$ | S    |
| 5 – 9  | 3     | 0,17    | $0,17 > 0,171$ | S    |
| 5 – 7  | 2     | 0,12    | $0,12 < 0,162$ | NS   |
| 7 – 11 | 3     | 0,26    | $0,26 > 0,171$ | S    |
| 7 – 9  | 2     | 0,05    | $0,05 < 0,162$ | NS   |
| 9 – 11 | 2     | 0,21    | $0,21 > 0,162$ | S    |

|    | 0 | 1  | 3  | 5  | 7  | 9  | 11 |
|----|---|----|----|----|----|----|----|
| 0  | - | S  | S  | S  | S  | S  | S  |
| 1  | S | -  | NS | NS | NS | S  | S  |
| 3  | S | NS | -  | NS | NS | S  | S  |
| 5  | S | NS | NS | -  | NS | NS | S  |
| 7  | S | NS | NS | NS | -  | NS | S  |
| 9  | S | S  | S  | NS | NS | -  | S  |
| 11 | S | S  | S  | S  | S  | S  | -  |

Urutan rata-rata pengamatan daya hambat suspensi ampisilin generik dari nilai yang terkecil makin lama makin besar

|                    |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| <b>Hari</b>        | 11   | 9    | 7    | 5    | 3    | 1    | 0    |
| <b>Rata – rata</b> | 1,92 | 1,97 | 2,10 | 2,18 | 2,19 | 2,21 | 2,34 |

Perbandingan Menghasilkan :

| <b>Hari</b> | <b>Jarak</b> | <b>Selisih</b> |                 | <b>Keterangan</b> |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|-------------------|
| 0 – 11      | 7            | 0,42           | $0,57 > 0,184$  | S                 |
| 0 – 9       | 6            | 0,37           | $0,36 > 0,182$  | S                 |
| 0 – 7       | 5            | 0,24           | $0,31 > 0,179$  | S                 |
| 0 – 5       | 4            | 0,16           | $0,19 > 0,175$  | S                 |
| 0 – 3       | 3            | 0,15           | $0,18 > 0,171$  | S                 |
| 0 – 1       | 2            | 0,13           | $0,15 < 0,162$  | NS                |
| 1 – 11      | 6            | 0,29           | $0,42 > 0,182$  | S                 |
| 1 – 9       | 5            | 0,24           | $0,21 > 0,179$  | S                 |
| 1 – 7       | 4            | 0,11           | $0,16 < 0,175$  | NS                |
| 1 – 5       | 3            | 0,03           | $0,04 < 0,171$  | NS                |
| 1 – 3       | 2            | 0,02           | $0,03 < 0,162$  | NS                |
| 3 – 11      | 5            | 0,27           | $0,39 > 0,179$  | S                 |
| 3 – 9       | 4            | 0,22           | $0,18 > 0,175$  | S                 |
| 3 – 7       | 3            | 0,09           | $0,13 < 0,171$  | NS                |
| 3 – 5       | 2            | 0,01           | $0,01 < 0,162$  | NS                |
| 5 – 11      | 4            | 0,26           | $0,38 > 0,175$  | S                 |
| 5 – 9       | 3            | 0,21           | $0,17 > 0,171$  | S                 |
| 5 – 7       | 2            | 0,08           | $0,12 < 0,162$  | NS                |
| 7 – 11      | 3            | 0,18           | $0,26 > 0,171$  | S                 |
| 7 – 9       | 2            | 0,13           | $0,05 < 0,162$  | NS                |
| 9 – 11      | 2            | 0,05           | $0,005 < 0,162$ | NS                |

|    | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>3</b> | <b>5</b> | <b>7</b> | <b>9</b> | <b>11</b> |
|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| 0  | -        | NS       | NS       | NS       | S        | S        | S         |
| 1  | NS       | -        | NS       | NS       | NS       | S        | S         |
| 3  | NS       | NS       | -        | NS       | NS       | S        | S         |
| 5  | NS       | NS       | NS       | -        | NS       | S        | S         |
| 7  | S        | NS       | NS       | NS       | -        | NS       | S         |
| 9  | S        | S        | S        | S        | NS       | -        | NS        |
| 11 | S        | S        | S        | S        | S        | NS       | -         |

## LAMPIRAN B

### CONTOH PERHITUNGAN PERSENTASE PENURUNAN DAYA HAMBAT SUSPENSI AMPISILIN TERHADAP BAKTERI UJI *Staphylococcus aureus* PADA MASA INKUBASI 24 JAM

Rumus :

$$Y = \frac{X_0 - X}{X_0} \times 100\%$$

Dimana :

- $X_0$  = Diameter zona hambatan suspensi ampisilin pada hari ke 0.  
 $X$  = Diameter zona hambatan suspensi ampisilin pada hari ke- n.

#### I. Suspensi Ampisilin Paten (A)

##### 1. Hari ke-0

Diameter hambatan pada hari ke-0 = 2,30 cm

$$Y = \frac{2,30 - 2,30}{2,30} \times 100\%$$

$$= 0\%$$

##### 2. Hari ke-1

Diameter hambatan pada hari ke-0 = 2,30 cm

Diameter hambatan pada hari ke-1 = 2,15 cm

$$Y = \frac{2,30 - 2,15}{2,30} \times 100\%$$

$$= 6,25\%$$

## II. Suspensi Ampisilin Generik (B)

### 1. Hari ke-0

Diameter hambatan pada hari ke-0 = 2,34 cm

$$Y = \frac{2,34 - 2,34}{2,34} \times 100\%$$

$$= 0\%$$

### 2. Hari ke-1

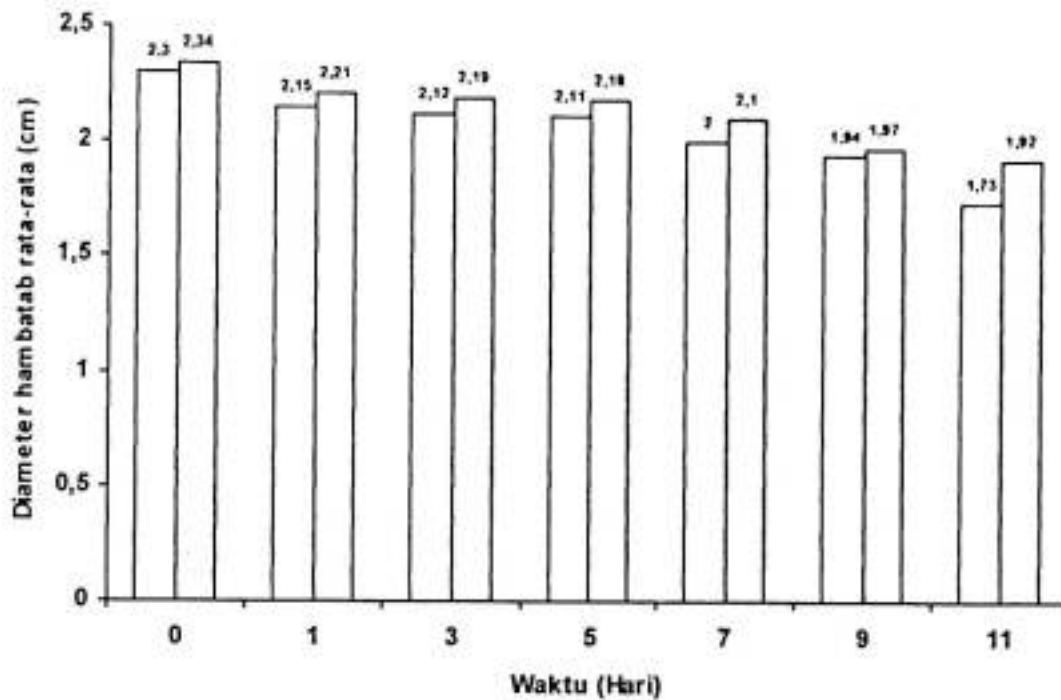
Diameter hambatan pada hari ke-0 = 2,34 cm

Diameter hambatan pada hari ke-1 = 2,21 cm

$$Y = \frac{2,34 - 2,21}{2,34} \times 100\%$$

$$= 5,56\%$$

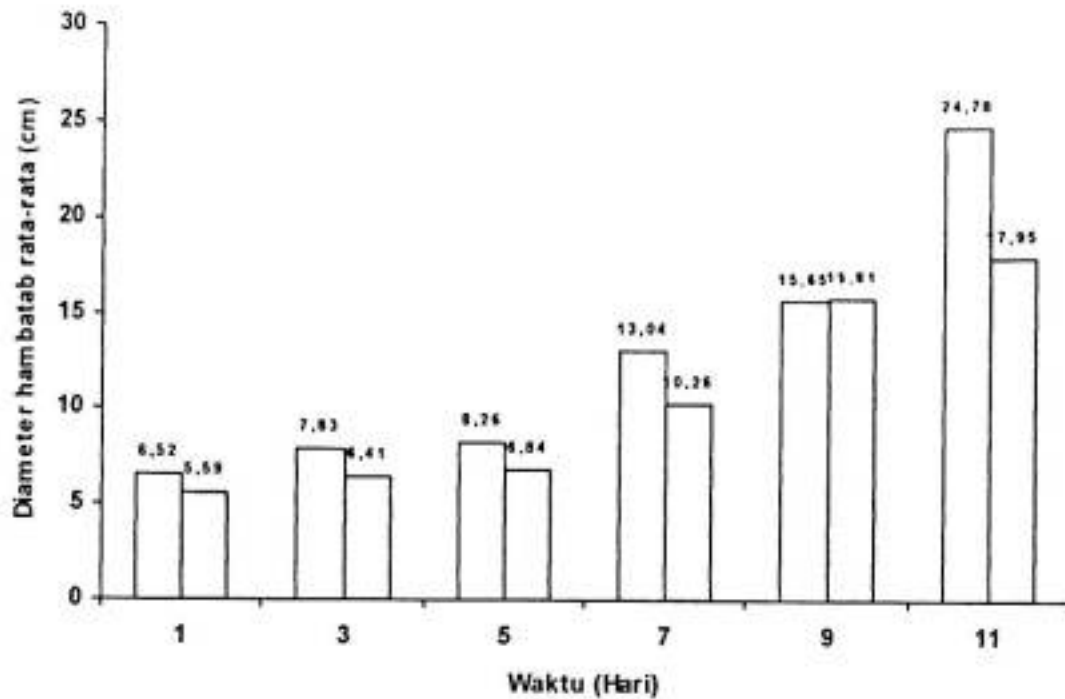




Gambar 1. Histogram hubungan antara lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap diameter hambatan rata-rata pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

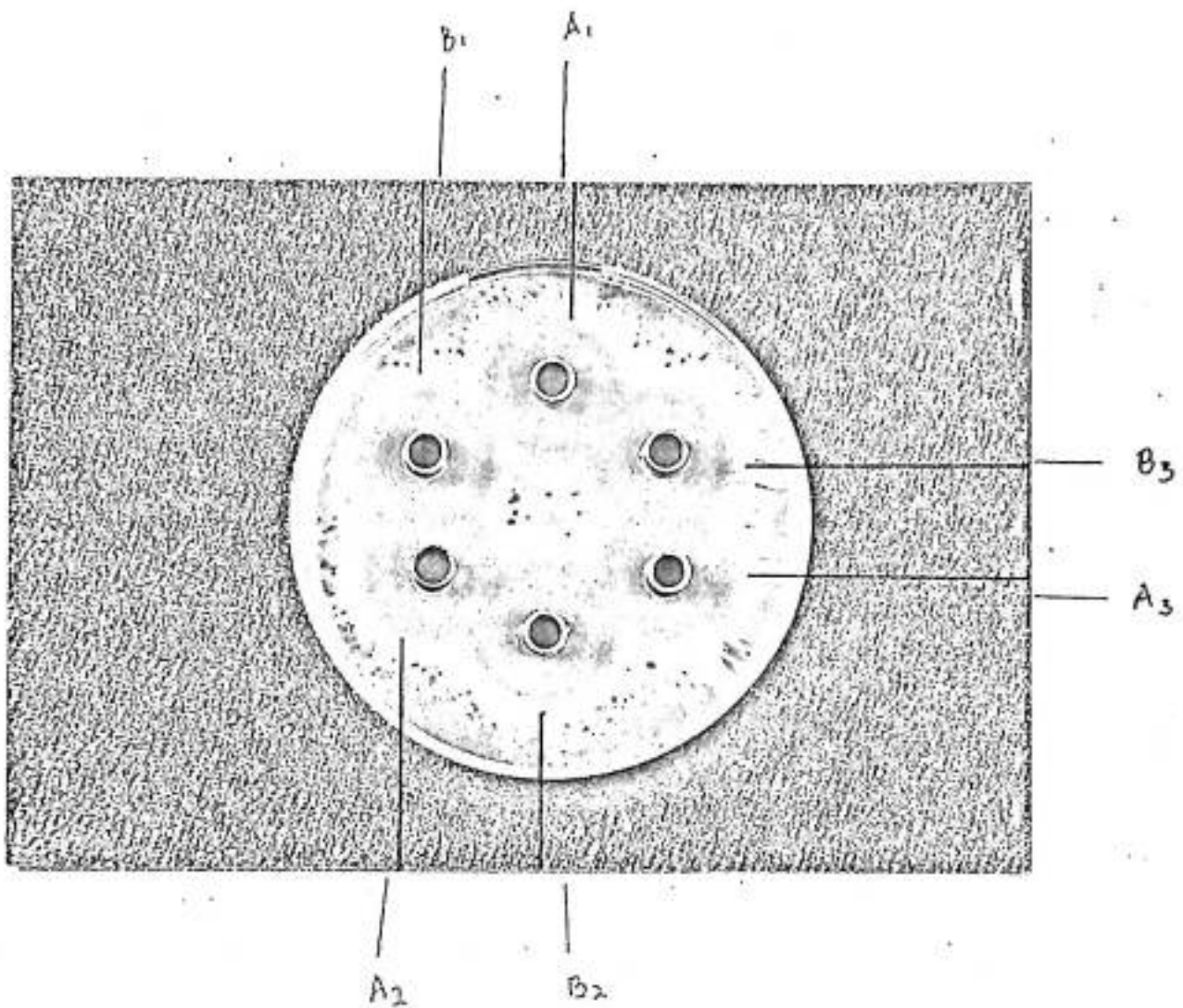
- = Suspensi Ampisilin Paten
- = Suspensi Ampisilin Generik



Gambar 2. Histogram hubungan antara lama penyimpangan pada suhu kamar terhadap penurunan persentase daya hambat rata-rata pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

- = Suspensi Ampisilin Paten
- = Suspensi Ampisilin Generik

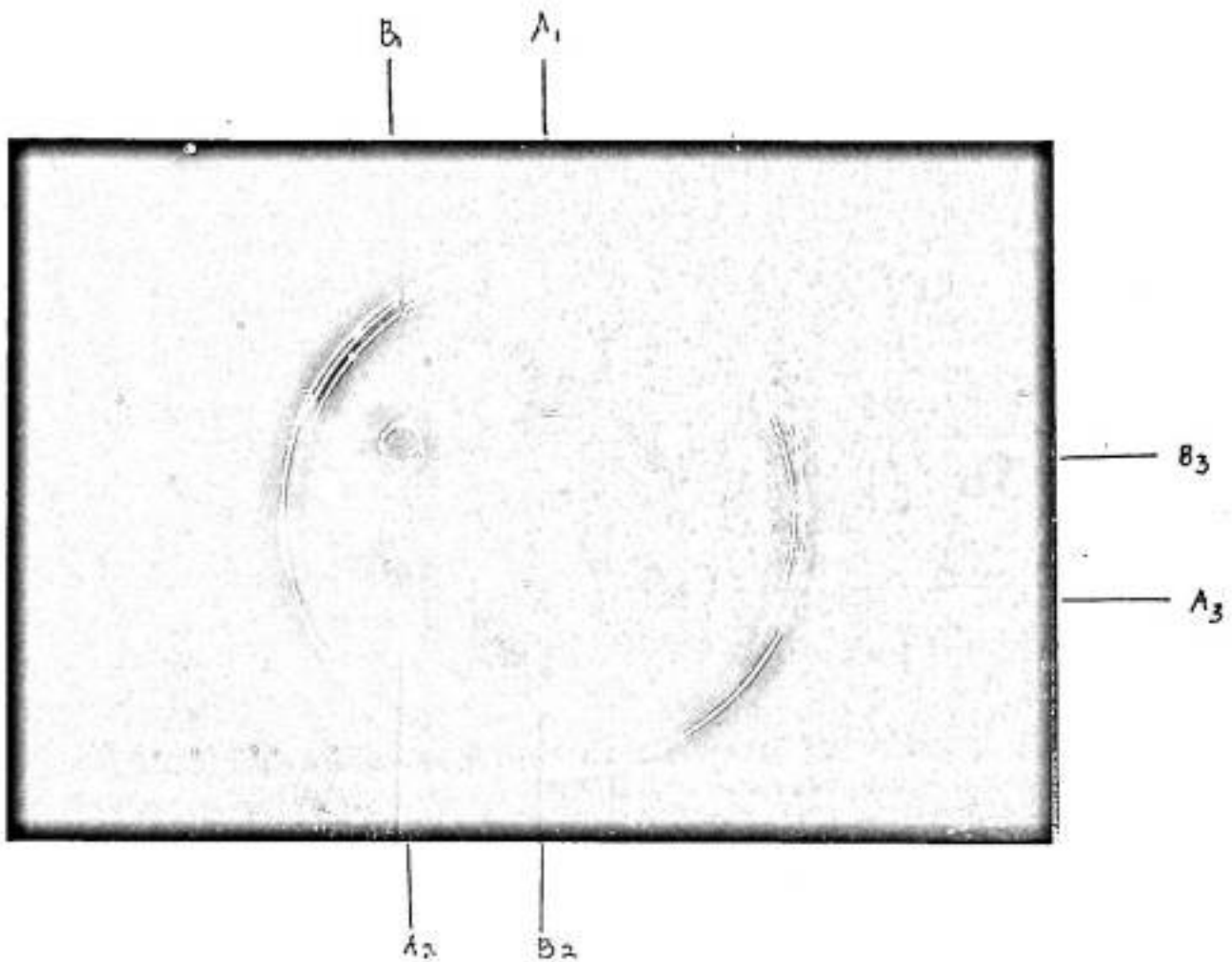


Gambar 3. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disiapkan pada hari ke-0 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

B = Suspensi Ampisilin generik

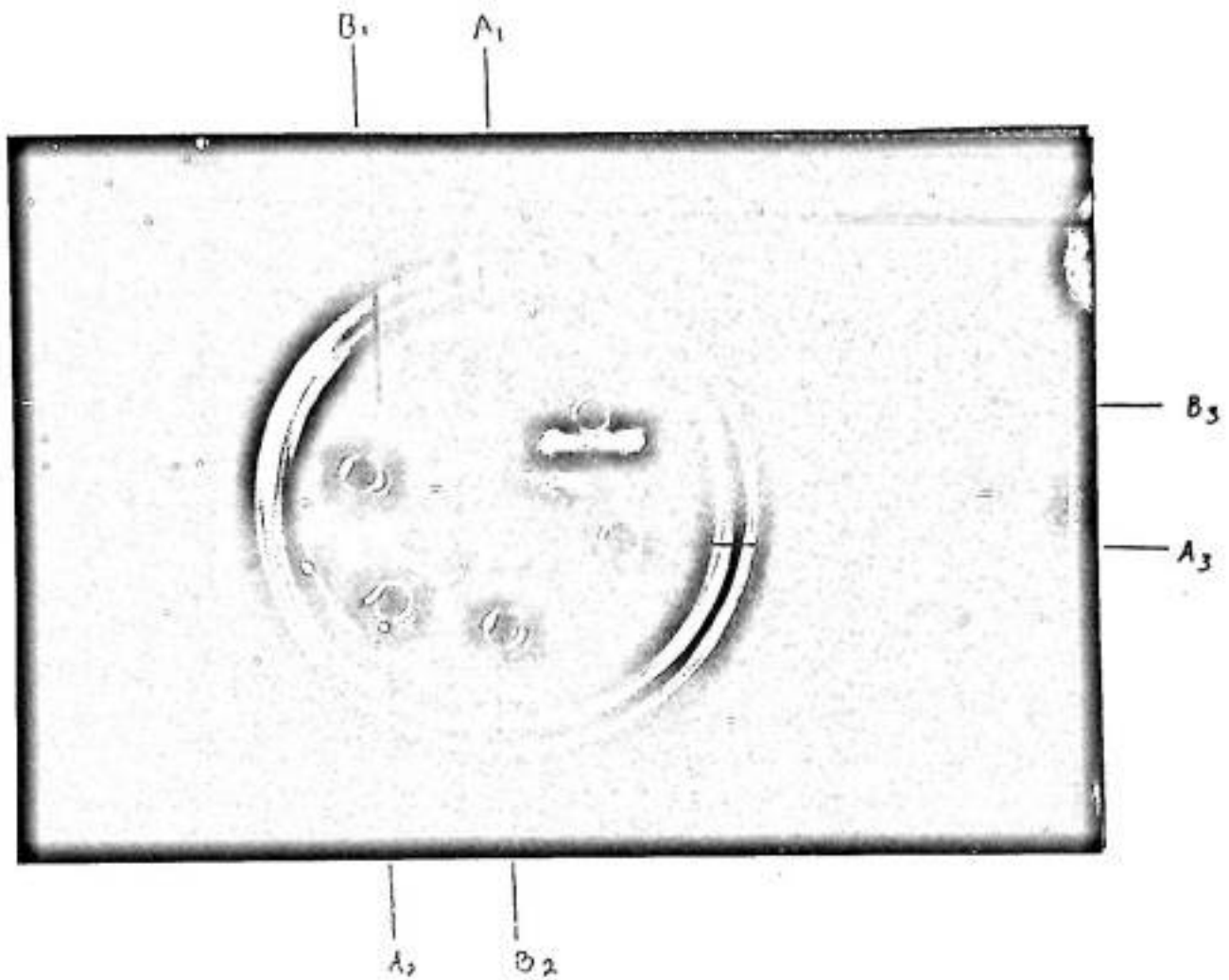


Gambar 4. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

B = Suspensi Ampisilin generik

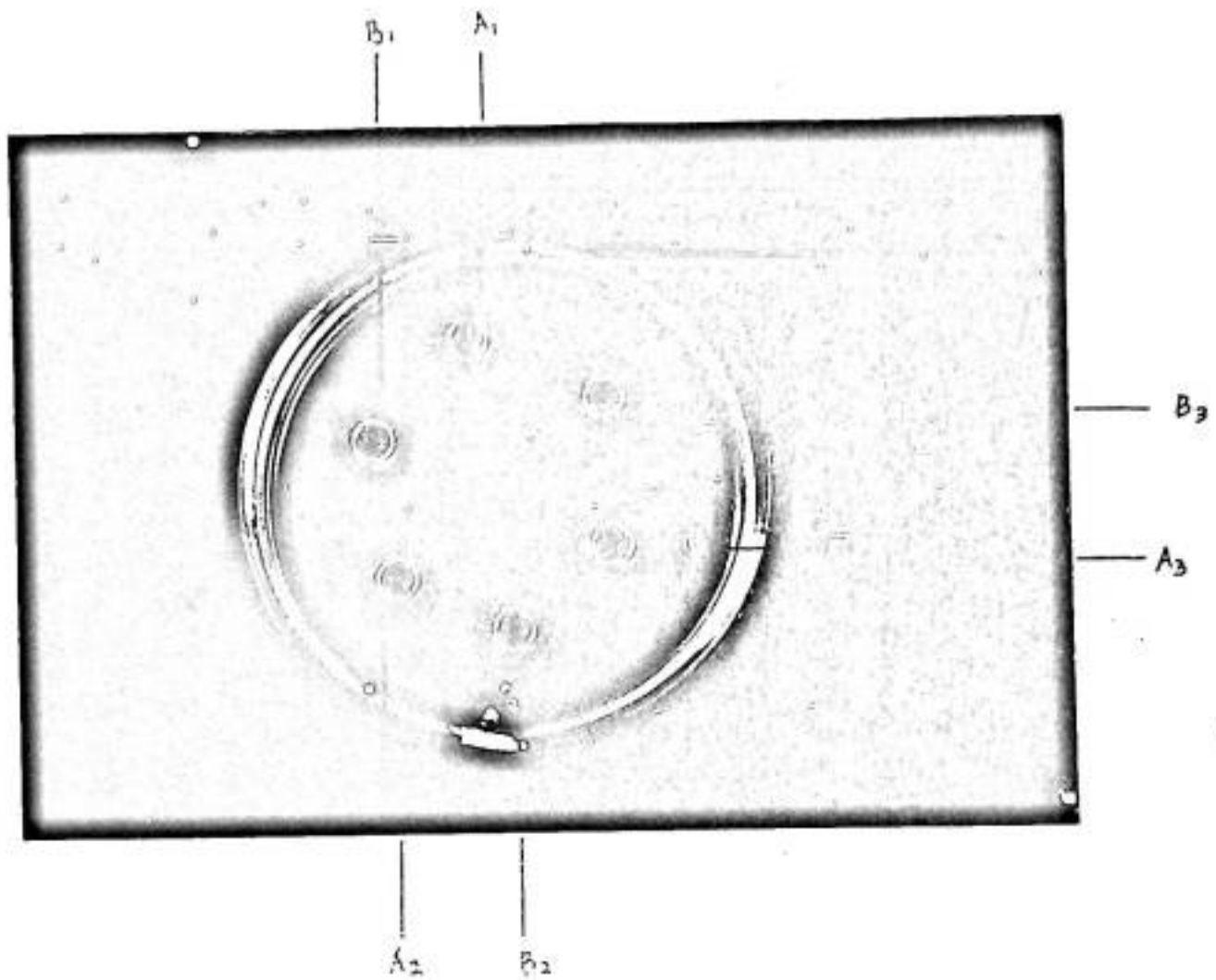


Gambar 5. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-3 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

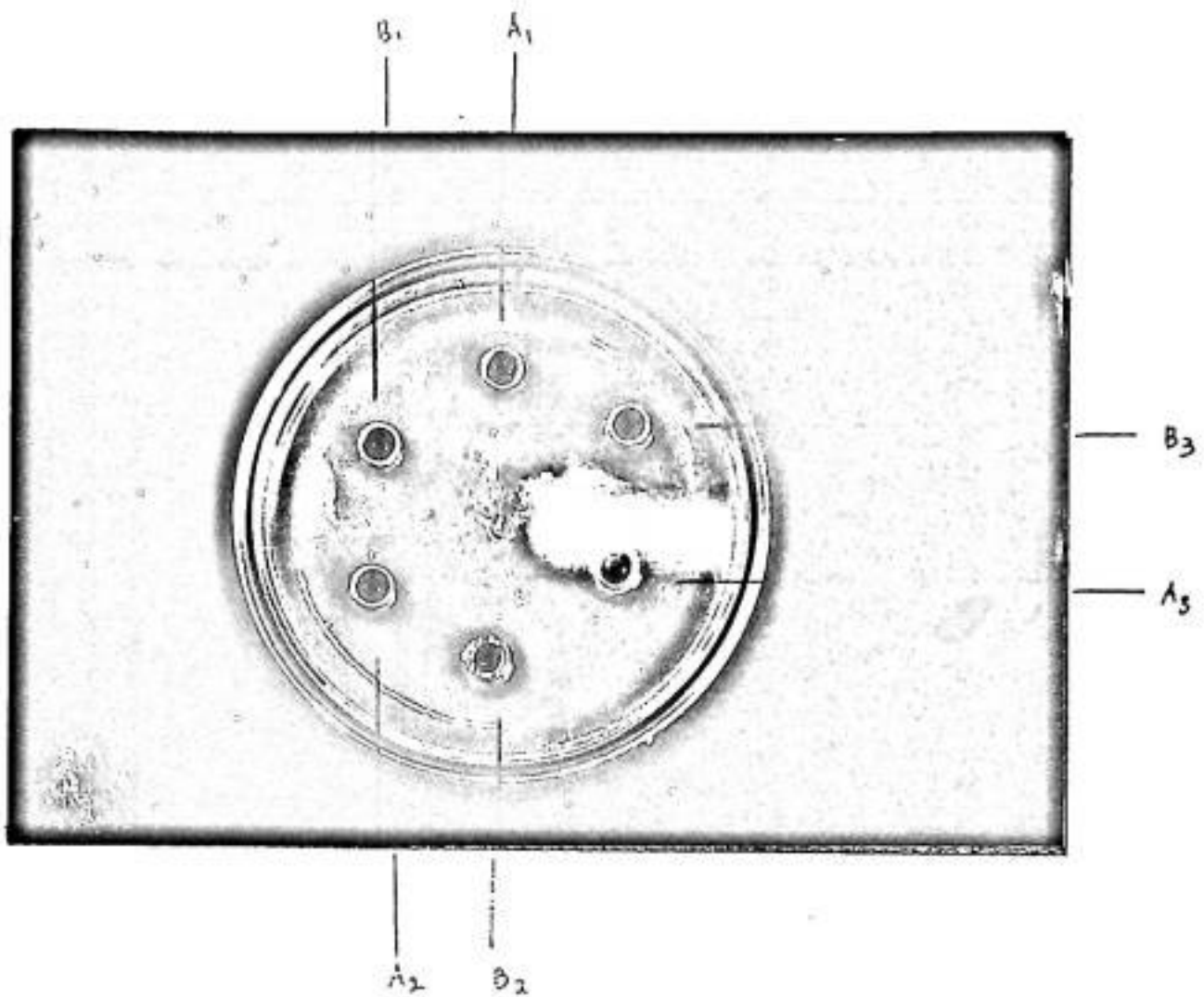
B = Suspensi Ampisilin generik



Gambar 6. Diamater zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-5 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

- A Suspensi Ampisilin paten
- B Suspensi Ampisilin generik

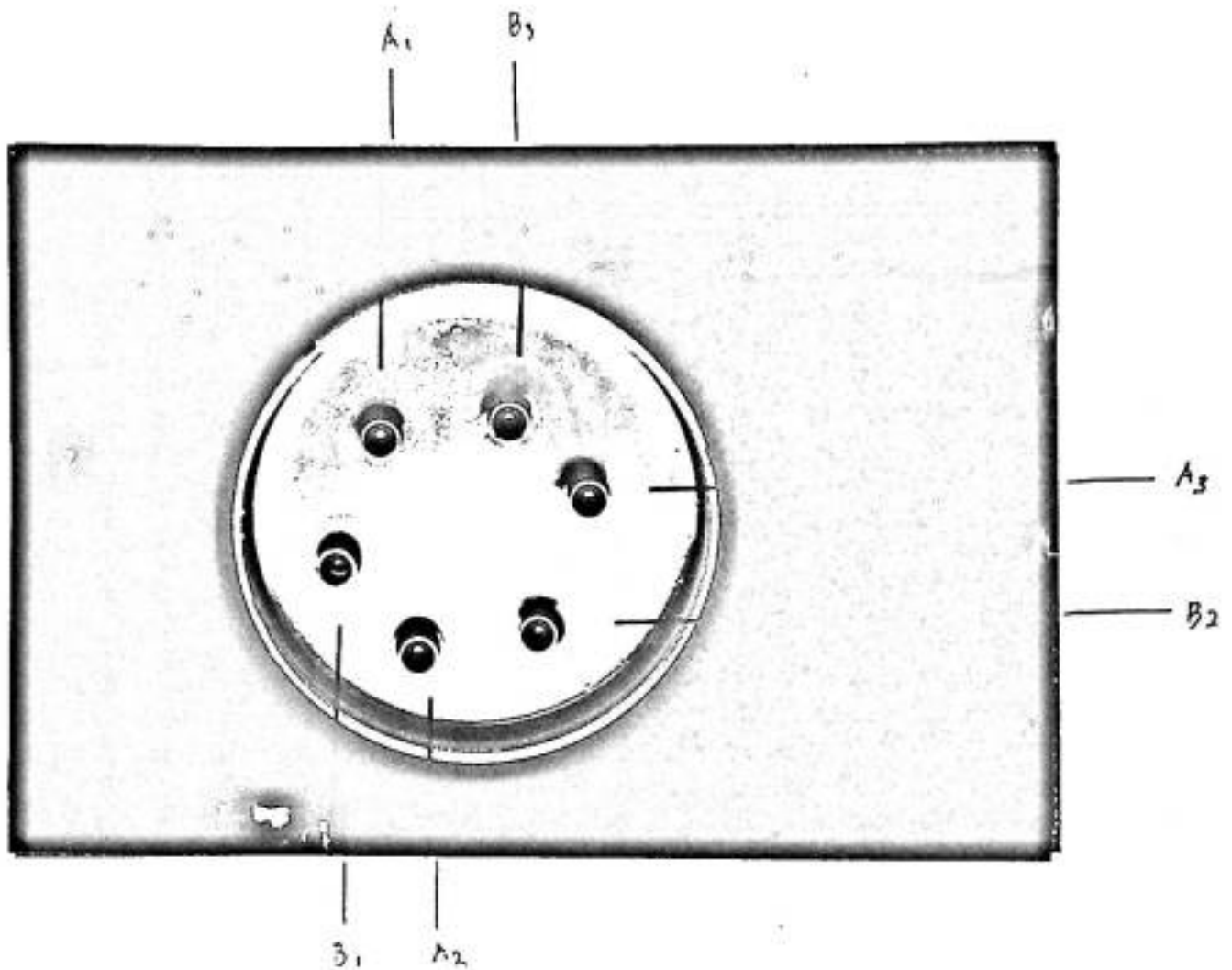


Gambar 7. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-7 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

B = Suspensi Ampisilin generik



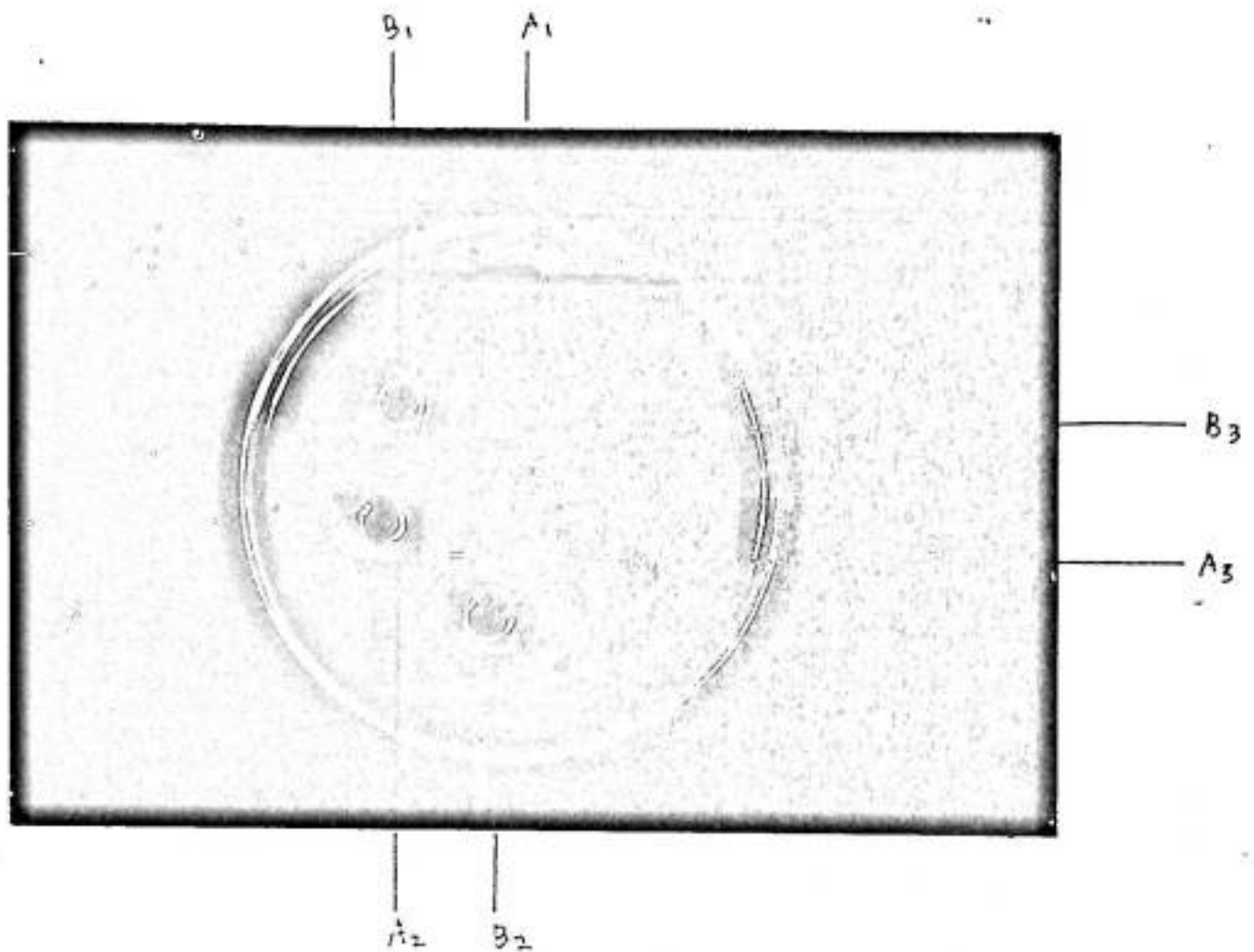
Gambar 8. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-9 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

B = Suspensi Ampisilin generik





Gambar 9. Diameter zona hambatan suspensi ampisilin yang disimpan pada hari ke-11 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam.

Keterangan

A = Suspensi Ampisilin paten

B = Suspensi Ampisilin generik

# LAMPIRAN C

## SKEMA KERJA

