

**STUDI HUBUNGAN ANTARA KADAR (DENSITOMETRI)
DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
DARI SULFAMETOKSAZOL**



OLEH:

**MARIA MARGARETA PUJIASTUTI
2443003169**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA
SURABAYA**

FEBRUARI 2008

**STUDI HUBUNGAN ANTARA KADAR (DENSITOMETRI)
DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
DARI SULFAMETOKSAZOL**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya**

OLEH:

**MARIA MARGARETA PUJIASTUTI
2443003169**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA
SURABAYA**


FEBRUARI 2008

LEMBAR PERSETUJUAN

Naskah skripsi berjudul Studi hubungan antara kadar (densitometri) dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari sulfametoksazol yang ditulis oleh Maria Margareta Pujiastuti telah disetujui dan diterima untuk diajukan ke Tim Penguji.



Pembimbing I : Prof. Dr. Bambang Soekardjo, SU., Apt.


Pembimbing II : Martha Ervina S.Si., M.Si., Apt

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang ditulis oleh Maria Margareta Pujiastuti NRP 2443003169

Telah disetujui pada tanggal 6 Februari 2008 dan dinyatakan LULUS.

Ketua Tim Penguji



Dra. Dien Ariani Limyati

“Mengetahui”

Dekan



Dra. Monica Widyawati Setiawan, M.Sc., Apt.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat dan karuniaNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penyusunan skripsi yang berjudul “Studi hubungan antara kadar (densitometri) dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari sulfametoksazol” ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik berkat bantuan dan kerja sama dari banyak pihak baik dari dalam maupun dari luar universitas. Oleh karena itu, saya mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu saya, diantaranya :

1. Bapak Prof. Dr. Bambang Soekardjo, SU., Apt., selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan dukungan, bantuan, saran-saran saat saya mengalami kesulitan dalam penyusunan naskah skripsi ini, semangat, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ibu Dra. Dien Ariani Limyati, Bapak Henry Kurnia Setiawan S.Si., M.Si., Apt., Ibu Catherina Caroline S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran-saran yang berguna bagi penyusunan naskah skripsi ini.

3. Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas sarana dan prasarana yang telah disediakan.
4. Ibu Dra. Monica Widyawati Setiawan, M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam penyusunan naskah skripsi ini.
5. Ibu Farida Lanawati Darsono, S.Si., selaku Sekretaris Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam penyusunan naskah skripsi ini.
6. Ibu Dra. Liliek S. Hermanu S.Si., Apt., M.S., selaku dosen wali studi (penasehat akademik) yang telah memberi dukungan, semangat, saran-saran mengenai kegiatan perkuliahan, hingga terselesaikannya penyusunan naskah skripsi ini.
7. Bapak Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., Apt., selaku kepala laboratorium Instrumen dan Ibu Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku kepala laboratorium Mikrobiologi yang telah memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan, serta telah meluangkan waktunya untuk memberikan dukungan dalam melaksanakan penelitian ini.
8. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi serta seluruh karyawan Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya termasuk juga petugas laboratorium dan petugas perpustakaan yang telah banyak membantu dalam skripsi ini.
9. Seluruh staf laboran Fakultas Farmasi yang telah banyak membantu dalam proses penelitian ini.

10. Kongregasi Suster Santa Perawan Maria dari Amersfoort khususnya para Suster SPM Kepanjen 5 Surabaya, serta orang tua dan kakak, adik, Cio dan Heni yang telah memberikan cinta, dukungan, motivasi, semangat dan bantuan moril maupun materi dalam menyelesaikan naskah skripsi ini.

11. Semua sahabat baik saya, Egis, Frans, Regin, teman seperjuangan saya, Lis, Gita, Ida, Ince, Ocha, Rica, Mida, Dewi, Agung, Tere, Femi, Vero, Anas, Reni, Nico, Djanti, Julian, Fani, Khan Shelly, Rina, Jimmy, Imel, Yenny, Grace, Emink, Ninies dan juga teman-teman Angkatan 2003 yang telah menyemangati dan membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata saya berharap semoga naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat dan saya juga memohon kritik dan saran yang membangun agar naskah skripsi ini dapat menjadi lebih baik dan sempurna, sehingga dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan bagi perkembangan ilmu kefarmasian pada khususnya.

Surabaya, Februari 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Hipotesis Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Tinjauan tentang Sulfametoksazol.....	8
2.1.1. Stabilitas Sulfametoksazol.....	9
2.1.2. Mekanisme Aksi Sulfametoksazol.....	9
2.1.3. Farmakologi dari Sulfametoksazol.....	11

	Halaman
2.1.4. Sifat Fisika Kimia dari Sulfametoksazol.....	12
2.2. Penetapan Kadar Sulfametoksazol secara Kimia.....	13
2.2.1. Metode Nitritometri.....	13
2.2.2. Metode Spektrofotometri.....	13
2.2.3. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	14
2.2.4. Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)-Densitometri.....	14
2.3. Tinjauan tentang KLT-Densitometri.....	15
2.3.1. Tinjauan tentang Kromatografi Lapisan Tipis (KLT).....	15
2.3.2. Tinjauan tentang Densitometri.....	18
2.4. Metode Validasi pada Analisis Kimia.....	21
2.5. Penentuan Aktivitas Sulfametoksazol secara Mikrobiologis.....	22
2.5.1. Metode Dilusi.....	23
2.5.2. Metode Difusi.....	24
2.5.3. Metode Bioautografi.....	25
2.6. Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.6.1. Klasifikasi.....	26
2.6.2. Morfologi.....	27
2.6.3. Biakan.....	28
2.6.4. Sifat-Sifat Pertumbuhan.....	28
2.6.5 Sifat-Sifat Biokimia.....	29

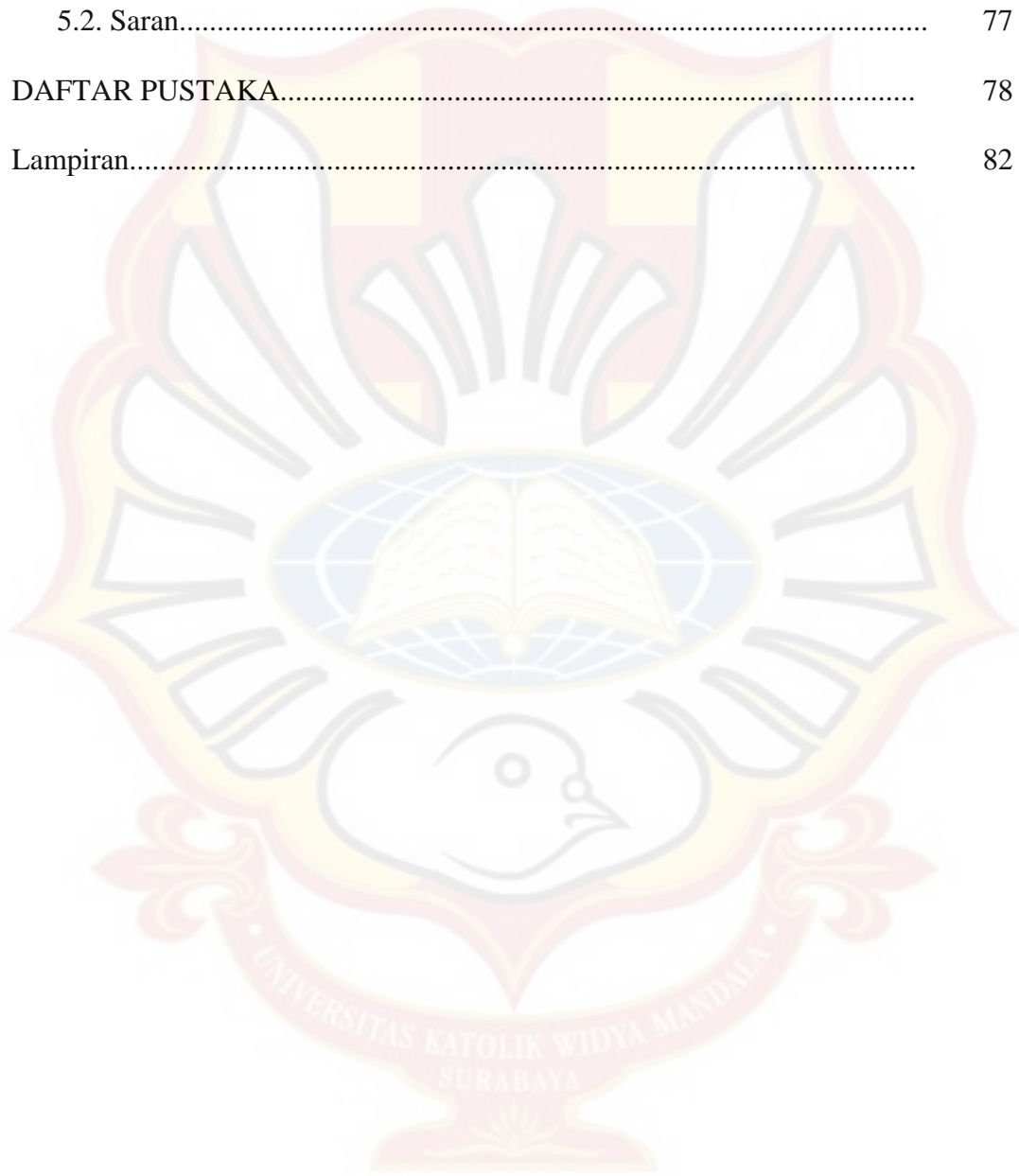
	Halaman
2.6.6. Resistensi.....	29
2.6.7. Eksotoksin dan Enzim Ekstraseluler.....	30
2.6.8. Patogenitas.....	32
2.6.9. Struktur Antigen.....	33
2.6.10. Pencegahan.....	34
2.6.11. Pengobatan.....	34
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	36
3.1. Alat dan Bahan.....	36
3.1.1. Alat.....	36
3.1.2. Bahan.....	36
3.1.2.1. Bahan Penelitian.....	36
3.1.2.2. Bahan Kimia/Reagen.....	36
3.2. Metode Penelitian.....	37
3.2.1. Rancangan Penelitian.....	37
3.3. Tahapan Penelitian.....	38
3.3.1. Pemeriksaan Kualitatif Sulfametoksazol.....	38
3.3.1.1. Pemeriksaan Organoleptis Sulfametoksazol.....	38
3.3.1.2. Pemeriksaan Titik Lebur Sulfametoksazol.....	38
3.3.2. Pemeriksaan Kualitatif terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	39
3.3.2.1. Pemeriksaan Makroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	39

	Halaman
3.3.2.2. Pemeriksaan Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	39
3.3.2.3. Beberapa Uji Biokimia <i>Staphylococcus aureus</i>	40
3.3.3. Penentuan Kadar Sulfametoksazol.....	41
3.3.3.1. Pembuatan Larutan Baku Sulfametoksazol.....	41
3.3.3.2. Pembuatan Larutan Kerja Sulfametoksazol.....	42
3.3.3.3. Pembuatan Larutan Pengembang	43
3.3.3.4. Pemilihan Fase Diam dan Penampak Noda	43
3.3.3.5. Penentuan Panjang Gelombang Terpilih	43
3.3.3.6. Uji Linieritas	44
3.3.3.7. Penentuan Uji Akurasi dan Presisi Tanpa Matriks Tablet dan Dengan Matriks Tablet	44
3.3.3.8. Penentuan Kadar Larutan Uji Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet secara Densitometri.....	46
3.3.4. Penentuan Aktivitas Mikrobiologi Larutan Sulfametoksazol terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	46
3.3.4.1. Pembuatan Media Bakteri.....	46
3.3.4.2. Pembuatan Inokulum <i>Staphylococcus aureus</i>	47
3.3.4.3. Penentuan Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	48
3.4. Teknik Analisis Data.....	49

	Halaman
3.5. Hipotesis Statistik.....	51
3.6. Skema Kerja.....	53
3.6.1. Skema Kerja Penetapan Kadar Sulfametoksazol secara KLT-Densitometri	53
3.6.1.1. Kurva Baku.....	53
3.6.1.2. Penetapan Kadar	54
3.6.2. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Mikrobiologi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	55
BAB IV ANALISIS DATA DAN INTERPRETASI PENEMUAN.....	56
4.1. Analisis Data.....	56
4.1.1. Hasil Uji Kualitatif Sulfametoksazol.....	56
4.1.2. Hasil Uji Kualitatif <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	56
4.1.3. Hasil Penentuan Kadar Sulfametoksazol secara KLT- Densitometri.....	58
4.1.3.1. Pemilihan Panjang Gelombang.....	58
4.1.3.2. Uji Linieritas, Akurasi dan Presisi.....	58
4.1.3.2.1. Hasil Uji Linieritas.....	58
4.1.3.2.2. Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol tanpa Matriks Tablet secara KLT-Densitometri.....	60

	Halaman
4.1.3.2.3. Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol dengan Matriks Tablet secara KLT-Densitometri.....	62
4.1.3.3. Penentuan Kadar Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet secara KLT-Densitometri.....	65
4.1.4. Hasil Penentuan Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan Metode Difusi Sumuran dari Larutan Uji Sulfametoksazol.....	68
4.1.5. Hubungan antara Kadar Rata-Rata Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet yang ditetapkan secara KLT-Densitometri dengan Rata-Rata Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	70
4.1.6. Hasil Perhitungan Statistik Penetapan kadar Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet secara KLT- Densitometri dengan Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	72
4.2. Interpretasi Penemuan.....	72
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	77

	Halaman
5.1. Kesimpulan.....	77
5.2. Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78
Lampiran.....	82



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur Molekul Sulfonamida dan Sulfametoksazol.....	8
2.2. Mekanisme Kerja Sulfametoksazol pada Proses Biosintesis Asam Nukleat	11
4.1. Spektrum sulfametoksazol pada densitometer setelah dieluasi menggunakan kloroform:methanol:eter 25:3:7,5 (v/v/v).....	58
4.2. Kurva Linieritas Sulfametoksazol.....	60
4.3. Densitogram Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet setelah Dieluasi dengan Kloroform:Metanol:Eter 25:3:7,5 (v/v/v).....	65
4.4. Densitogram Matriks Tablet tanpa Sulfametoksazol setelah Dieluasi dengan Kloroform:metanol:eter dengan perbandingan 25:3:7,5 (v/v/v) .	65
4.5. Kurva Baku Sulfametoksazol untuk Aplikasi Metode.....	66
4.6. Aktivitas Antibakteri Sulfametoksazol terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 setelah Inkubasi selama 24 jam pada Suhu 37 ⁰ C.....	68
4.7. Blangko Positif Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Media MHA setelah Inkubasi selama 24 jam pada Suhu 37 ⁰ C.....	69
4.8. Blangko Negatif setelah Inkubasi selama 24 Jam pada Suhu 37 ⁰ C.....	69

Gambar	Halaman
4.9. Grafik Hubungan antara Kadar Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet dengan Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	71



DAFTAR TABEL

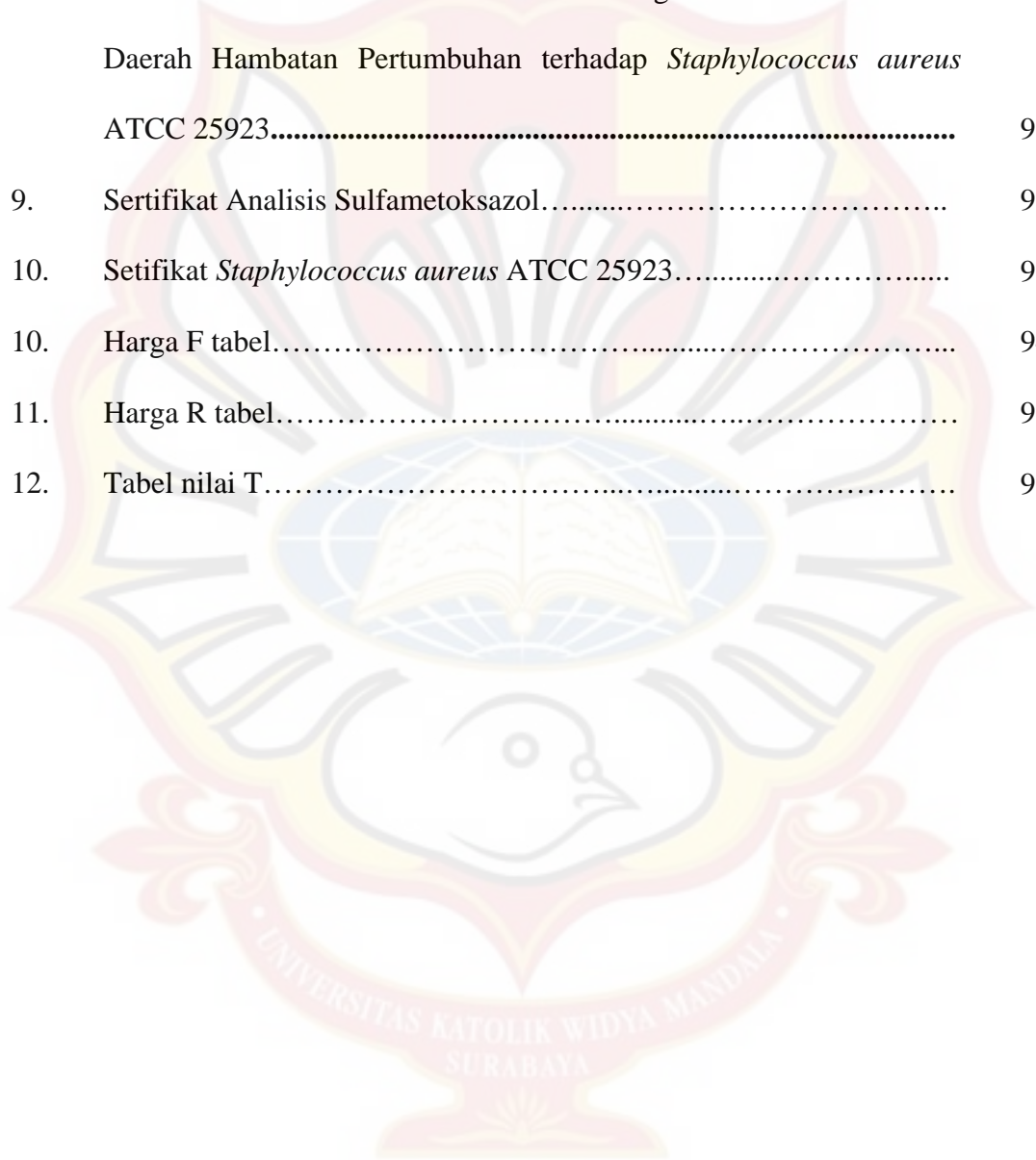
Tabel	Halaman
2.1. Jenis Parameter yang perlu Divalidasi pada Setiap Kategori Metode Analisis.....	21
4.1. Hasil Pemeriksaan Kualitatif Sulfametoksazol.....	56
4.2. Hasil Pemeriksaan Kualitatif terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	57
4.3. Linieritas Sulfametoksazol.....	59
4.4. Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol tanpa Matriks Tablet secara KLT-Densitometri.....	61
4.5. Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol dengan Matriks Tablet secara KLT-Densitometri.....	62
4.6. Perbandingan Akurasi dan Presisi Sulfametoksazol Tanpa Matriks dan Dengan Matriks Tablet.....	64
4.7. Hasil Penentuan Kadar Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet secara KLT- Densitometri.....	67
4.8. Aktivitas Antibakteri Sulfametoksazol terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan Metode Difusi Sumuran.....	70

Tabel	Halaman
4.9. Hubungan antara Kadar Rata-Rata Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet yang ditetapkan secara KLT-Densitometri dengan Rata-Rata Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	71
L.1.1. Kurva baku Sulfameroksazol.....	84
L.1.2. Hasil Perolehan Kembali Kadar Sulfametoksazol dalam Sediaan Tabletsecara KLT-Densitometri	84
L.2. Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dari Sulfametoksazol dengan Metode Sumuran	86
L.3. Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol tanpa Matriks Tablet secara KLT-Densitometri	88
L.4. Perbandingan Akurasi dan Presisi Sulfametoksazol Tanpa Matriks dan Dengan Matriks Tablet.....	89

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Uji t harga t_{hitung} pada Uji Linieritas Sulfametoksazol.....	82
2. Contoh Perhitungan Penimbangan Larutan Kerja Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet.....	83
3. Hasil Perolehan Kembali Kadar Sulfametoksazol dalam Sediaan Tablet secara KLT-Densitometri.....	84
4. Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dari Sulfametoksazol dengan Metode Sumuran	86
5. Contoh Perhitungan Uji t pada Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol tanpa Matriks Tablet.....	88
6. Contoh Perhitungan Uji t dan Uji F pada Perbandingan Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Sulfametoksazol Tanpa Matriks Tablet dan Dengan Matriks Tablet.....	89
7. Persamaan Regresi dan Uji F antara Kadar Sulfametoksazol dengan Area untuk Aplikasi Metode Penetapan Kadar Larutan Uji Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet.....	90

Lampiran	Halaman
8. Persamaan Regresi dan Uji F antara Kadar Rata-Rata Sulfametoksazol dalam Matriks Tablet dengan Rata-Rata Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	91
9. Sertifikat Analisis Sulfametoksazol.....	92
10. Sertifikat <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	93
10. Harga F tabel.....	94
11. Harga R tabel.....	95
12. Tabel nilai T.....	96



ABSTRAK

Studi hubungan antara kadar (densitometri) dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari sulfametoksazol

Maria Margareta Pujiastuti

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji hubungan antara kadar sulfametoksazol yang ditetapkan secara kromatografi lapis tipis (KLT)-Densitometri dengan aktivitas antibakterinya yang dinyatakan dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan (DHP) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penentuan kadar sulfametoksazol didapatkan dengan mengukur luas area noda larutan uji, sedangkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan cara difusi sumuran. Larutan uji dibuat dengan mencampurkan sulfametoksazol dalam matriks tablet, kemudian melarutkannya dalam metanol. Dibuat konsentrasi 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000 µg/ml lalu ditotolkan pada pelat silika gel 60 F 254 dan dieluasi menggunakan kloroform:metanol:eter dengan perbandingan 25:3:7,5(v/v/v). Kromatogram yang terjadi diamati pada panjang gelombang 277 nm. Dilakukan validasi metode penetapan kadarnya dengan uji linieritas, akurasi dan presisi. Dari hasil penelitian diketahui bahwa penetapan kadar sulfametoksazol dalam matriks tablet secara KLT-Densitometri mempunyai linieritas dengan $r_{hitung} = 0,997, 0,995, \text{ dan } 0,993 > r_{tabel}(n-2) = 0,754$, akurasi dengan % rekovery rata-rata 99,20% untuk sulfametoksazol tanpa matriks tablet dan 98,43% untuk sulfametoksazol dengan matriks tablet, serta presisi dengan KV (koefisien variasi) rata-rata 1,54% untuk sulfametoksazol tanpa matriks tablet dan 1,02% untuk sulfametoksazol dengan matriks tablet, sehingga disimpulkan metode penetapan kadar ini mempunyai linieritas, akurasi dan presisi yang valid. Hasil analisis statistik menggunakan uji analisis regresi pada $\alpha = 0,05$, menunjukkan terdapat hubungan linier antara kadar sulfametoksazol dalam matriks tablet yang ditetapkan secara KLT-densitometri (variabel x) dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan (metode difusi sumuran) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (variabel y) dengan persamaan $y = 0,002 x + 2,208$ ($n = 7; r = 0,940; F = 38,039$).

Kata-kata kunci: aktivitas antibakteri; KLT-densitometri; *Staphylococcus aureus*; sulfametoksazol

ABSTRACT

A study on the correlation between the concentration level (*densitometry*) and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* of sulphamethoxazole

Maria Margareta Pujiastuti

This research has been done to determine the relationship between the concentration level of sulphamethoxazole, which was determined using Thin Layer Chromatography (TLC)-Densitometry, with its antibacterial activity, which was revealed by the diameter of the inhibited growth area against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The concentration of sulphamethoxazole was obtained by measuring the width of the spot area of the test solution, while the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* was done by the hole plate diffusion method. The test solution has been made by mixing sulphamethoxazole into the tablet matrix then dissolving it in methanol. The concentrations were 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000 µg/ml, applied onto a plate of silica gel of 60 F 254, then eluted with chloroform:methanol:ether (25:3:7,5 (v/v/v)). The chromatogram was observed at wavelength 277 nm. The method was validated by measuring linearity, accuracy and precision. The result showed that the determination of sulphamethoxazole in the tablet matrix by TLC-Densitometry had a linearity of $r_{\text{count}} = 0.997, 0.995 \text{ and } 0.993 > r_{\text{table}} (n-2) = 0.754$. The accuracy with an average percentage of recovery was 99.20% for sulphamethoxazole without the tablet matrix and 98.43% for sulphamethoxazole with the tablet matrix. The precision with CV (coefficient of variation) averages 1.54% for sulphamethoxazole without the tablet matrix and 1.02% for sulphamethoxazole with the tablet matrix. So that it was concluded that the determination method of linearity, accuracy and precision were valid. The statistical analysis using a test of regression analysis with $\alpha = 0.05$, showed that there was a linear relationship between the concentration of sulphamethoxazole in a tablet matrix, which was determined with the TLC-densitometry (variable x), and diameters of the inhibited growth area of *Staphylococcus aureus* (hole plate diffusion method) (variable y), with the equation $y = 0.002x + 2.208$ ($n = 7; r = 0.940; F = 38.039$).

Key words: antibacterial activity; *Staphylococcus aureus*; sulphamethoxazole; TLC-densitometry