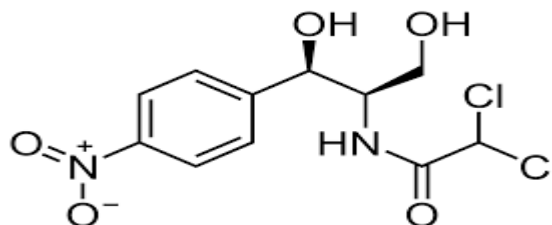


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kloramfenikol

Kloramfenikol memiliki nama kimia yaitu D-treo(-)-2,2Dikloro-N-[β-hidroksi-α-(hidroksimetil)-p-nitrofenetil] asetamida. Berat molekulnya adalah 323,13. Kloramfenikol mengandung tidak kurang dari 97,0 % dan tidak lebih dari 103,0 $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$. Struktur kloramfenikol memiliki 2 atom karbon kiral dan dapat membentuk 4 stereoisomer. Atom karbon kiral adalah suatu molekul dimana molekul tersebut mengandung sebuah atom karbon dengan mengikat empat gugus yang berlainan. Stereoisomer adalah suatu senyawa yang berlainan yang memiliki struktur yang sama, berbeda pada hal penataan atom-atom dalam ruangan. Dalam strukturnya, gugus penting yang memiliki aktivitas anti bakteri adalah gugus $CHCl_2$. Pentingnya gugus ini tampak dengan hilangnya aktivitas antibakteri jika gugus tersebut hilang. Rumus bangun kloramfenikol adalah sebagai berikut.



Gambar 2.1 Kloramfenikol

Pemerian kloramfenikol yaitu berbentuk jarum hablur halus atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asal. Titik lebur kloramfenikol yaitu 149°C-153°C. Dalam alkohol dehidrat mempunyai rotasi kekanan dan dalam etil asetat mempunyai rotasi kekiri. Kelarutannya 1:400 dalam air, 1:2,5 dalam etanol, sangat larut dalam aseton dan etil asetat, sedikit larut dalam kloroform dan eter.

Kloramfenikol bersifat termo stabil baik dalam keadaan kering maupun dalam larutan, bahkan apabila dididihkan selama 5 jam, aktivitas biologisnya

tidak akan terpengaruh. Pada temperatur kamar, stabil dalam larutan selama 25 jam pada rentang pH 2-9. Penelitian yang dilakukan yang dilakukan Schwarn *et al* (1966) menunjukkan terjadinya penurunan kadar kloramfenikol dalam larutan seiring dengan kenaikan suhu penyimpanan.

Kloramfenikol bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Yang dihambat ialah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein kuman. Kloramfenikol umumnya bersifat bakterostatik. Pada konsentrasi tinggi kloramfenikol kadang-kadang bersifat bakterisid terhadap kuman-kuman tertentu. Kloramfenikol pada anak umumnya diberikan dalam bentuk ester. Kloramfenikol Palmitat atau Stearat yang rasanya tidak pahit.

2.1.1 Farmakokinetik

Kloramfenikol dapat diserap dengan cepat, kadar puncak dalam darah tercapai dalam 2 jam. Masa paruh eliminasi pada orang dewasa kurang lebih 3 jam, pada bayi berumur kurang dari 2 minggu sekitar 24 jam. Kira-kira 50% kloramfenikol dalam darah terikat dengan albumin. Obat ini didistribusikan dengan baik ke berbagai jaringan tubuh, termasuk jaringan otak, cairan serebrospinal dan mata (Kunardi dan Setiabudy, 1995).

2.1.2 Bentuk Sediaan

Kloramfenikol tersedia dalam bentuk salep mata tube 3,5 g,; tetes mata 15 ml, 8 ml dan 5 ml; tetes telinga 10 ml; kapsul 500 mg/kapsul dan 250 mg/kapsul; sirup (iso, 2007).

2.2 Kapsul

Kapsul adalah sediaan padat yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut. Cangkang umumnya terbuat dari gelatin; tetapi dapat juga terbuat dari pati atau bahan lain yang sesuai (Depkes RI).

2.2.1 Macam-Macam Kapsul

a. *Hard Capsule* (Cangkang Kapsul Keras)

Kapsul cangkang keras terdiri atas wadah dan tutup yang dibuat dari campuran gelatin, gula, dan air dan pada dasarnya tidak berasa. Biasanya cangkang ini diisi dengan bahan padat atau serbuk, butiran atau granul.

b. *Soft Capsule* (Cangkang Kapsul Lunak)

Kapsul gelatin lunak dibuat dari gelatin dimana gliserin atau alkohol polivalen dan sorbitol ditambahkan supaya gelatin bersifat elastis. Kapsul ini umumnya berbentuk membulat dan biasanya diisi dengan cairan, suspensi, bahan bentuk pasta atau serbuk kering

2.3 Klasifikasi Obat

Klasifikasi obat atau penggolongan obat berdasarkan jenis seperti obat OTC (*over the counter*), obat generik, obat generik dan berlogo, obat nama dagang, obat paten, obat mitu (*obat me-to*), obat tradisional, obat jadi, obat baru, obat esensial, obat wajib apotek.

1. Obat generik

Obat generik adalah obat dengan nama generik sesuai dengan penamaan zat aktif sediaan yang ditetapkan oleh farmakope indonesia dan INN (*internasional non-proprietary names*) dari WHO, tidak memakai nama dagang atau logo dari produsen (Nuryati 2017:16).

2. Obat generik berlogo

Obat generik berlogo adalah obat generik yang mencantumkan logo produsen (tetapi tidak memakai nama dagang)

3. Obat nama dagang

Obat nama dagang adalah obat dengan nama yang ditetapkan oleh pabrik pembuatan dan terdaftar di departemen kesehatan negara yang bersangkutan, obat nama dagang juga disebut sebagai obat merek terdaftar (Nuryati 2017:16).

4. Obat paten

Obat paten adalah hak paten yang diberikan kepada industri farmasi pada obat baru yang ditemukannya berdasarkan riset industri farmasi tersebut diberikan hak paten untuk memproduksi dan memasarkannya, setelah memenuhi uji klinis sesuai dengan aturan yang telah ditentukan secara internasional (Nuryati 2017:16).

5. Obat mitu

obat mitu adalah obat yang habis masa patennya yang diproduksi dan di jual oleh pabrik lain dengan nama dagang yang telah ditetapkan oleh pabrik lain tersebut (Nuryati 2017:16).

6. Obat tradisional

Obat tradisional adalah obat jadi yang berasal dari hewan, tumbuhan, mineral atau sediaan generik, obat berdasarkan pengalaman empiris secara turun temurun (Nuryati 2017:16).

7. Obat jadi

Obat jadi adalah obat dalam keadaan murni atau campuran dalam bentuk serbuk, emulsi, suspensi, krim, salep, tablet, supositoria, injeksi dll yang mana bentuk obat tersebut tercantum dalam farmakope indonesia (Nuryati 2017:16).

8. Obat baru

Obat baru adalah obat yang terdiri dari satu atau lebih zat, baik dalam pembantu dan komponen yang belum dikenal, sehingga belum diketahui khasiat dan keamanannya (Nuryati 2017:16).

9. Obat esensial

Obat esensial adalah obat yang paling banyak digunakan pada pelayanan kesehatan di masyarakat (Nuryati 2017:16).

10. Obat wajib apotek

Obat wajib apotek adalah obat keras yang diperoleh di apotek tanpa resep dokter yang diserahkan oleh apoteker (Nuryati 2017:16).

2.4 Penetapan Kadar

2.4.1 Literatur I (Oktriza witi): Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan

elektron pada kulit terluar ketingkat energi yang lebih tinggi. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar visible berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus 2004).

Adapun alat atau instrumen spektrofotometer tersusun dari sumber radiasi, monokromator, sel/ kuvet, dan detektor yang berperan sebagai pemberi respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

Prinsip kerja spektrofotometer menganut hukum Lambert Beer. Dalam hukum ini jika cahaya monokromatik yang melewati suatu media, maka sebagian cahaya lainnya akan diserap dan sebagian dipantulkan. Sementara sebagian lagi akan dipancarkan.

Metode spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menetapkan banyak jenis bahan obat. Cara untuk menetapkan kadar sampel adalah dengan membandingkan arbsobansinya dan selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar dalam sampel (Rohman 2007). Penetapan kadar dengan metode spektrofotometri menggunakan alat dan bahan sebagai berikut seperangkat spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak, neraca analitis, dan beberapa alat-alat gelas, kapsul kloramfenikol, aquadest, dan etanol.

Adapun Tahapan Pengerjaan Pada Metode Spektrofotometri UV-Vis Yaitu :

- Pembuatan larutan standar kloramfenikol dengan cara menimbang 100 mg kloramfenikol baku, masukkan kedalam labu ukur 100 ml, tambahkan 20 ml etanol kocok sampai larut, tambahkan aquadest sampai garis tanda, dihomogenkan dan di saring (larutan induk I). Kemudian pipet 2 ml larutan induk I ,masukkan kedalam labu ukur 100 ml, encerkan dengan aquadest sampai garis tanda, homogenkan (larutan induk II). Kemudian ukur absorbsinya pada panjang gelombang 278 nm.
- pembuatan larutan uji kloramfenikol dengan cara menimbang serbuk kloramfenikol 100 mg, masukkan kedalam labu ukur 100 ml, tembahkan 20 ml etanol, kocok sampai larut, tambahkan aquadest sampai garis tanda, homogenkan dan saring (konsentrasi larutan 1000 mcg/ml). Kemudian pipet 2 ml larutan tersebut, masukkan kedalam labu ukur 100 ml, encerkan dengan

aquadest sampai garis tanda, homogenkan (konsentrasi larutan 200 mcg/l). Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 278 nm.

- penetapan kadar secara spektrofotometri UV dengan cara mengukur serapan larutan pembanding dan larutan uji dalam kuvet pada panjang gelombang serapan maksimum 278 nm.

2.4.2 Literatur II (Yuni putri rangkuti): KCKT

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Hal ini karena didukung oleh kemajuan teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam. KCKT mampu menganalisa berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM).

KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain, farmasi dan lingkungan industri-industri makanan.

KCKT merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fase gerak cairan dan fase diam cairan atau padat. Banyak kelebihan menggunakan metode ini dibandingkan dengan metode lainnya antaranya yaitu mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah dalam pelaksanaannya, memiliki kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat mencegah terjadinya dekomposisi atau kerusakan pada bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, dan kolom dapat digunakan kembali.

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*) dan analisis senyawa yang tidak mudah menguap (*nonvolatil*). KCKT paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat dan lain-lain.

Komponen yang terdapat pada KCKT yaitu wadah fase gerak, pompa, injektor, kolom, detektor, pengolahan data, dan fase gerak. Cara kerja KCKT dengan teknik dimana solut atau zat terlarut yang terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi melewati suatu kolom kromatografi. Kemudian pemisahan solut ini diatur dalam fase gerak dan fase diam (Rohman,2007).

Prinsip kerja KCKT Dengan bantuan pompa, fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor, cuplikan dimasukkan kedalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Didalam kolom, terjadi pemisahan komponen-komponen campuran karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, solut-solut yang kuat berintraksi dengan fasa diam maka solut-solut tersebut akan keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penetapan kadar menggunakan metode KCKT yaitu, seperangkat alat KCKT, neraca analitik, membran filter PTFE, *cellulose* nitrat membran filter 0,45 μm , spektrofotometer FTIR, metanol p.a 100% v/v, asam borat p.a 99,8-100,5% b/b, kalium klorida p.a 99,5% b/b, natrium karbonat anhidrat p.a 99,9% b/b, kloramfenikol BPFI, kloramfenikol baku dan serbuk KBr.

Adapun Tahapan Pengerjaan Dengan Metode KCKT Yaitu:

- Uji identifikasi baku kloramfenikol dengan cara spektrofotometer FTIR, yaitu dengan mencampur 1 mg serbuk kloramfenikol dengan 100 mg serbuk KBR dalam lumpang, gerus homogen, kemudian letakkan pada sampel pan dan pasang DRS 8000 kemudian analisa pada bilangan gelombang $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$.
- Pembuatn fase gerak buffer gifford Ph 6 dengan cara masukkan metanol 500 ml kedalam botol kaca dan disaring dengan membran filter PTFE 0,5 μm . Larutan gifford pH 6 dengan komposisi terdiri dari asam borat 12,4 gram, kalium klorida 7,4 gram, dalam 1000 ml air, larutan basa yaitu natrium karbonat anhidrat 21,2 gram dalam 1000 ml air, kemudian larutan asam dan basa dicampur dengan perbandingan 30 : 0,5 v/v dan dilihat pH 6, kemudian ditambahkan asam asetat glasial 1,8 ml dicukupkan dengan larutan buffer gifford pH 6. Dimasukkan

kedalam botol kaca dan disaring menggunakan *cellulosa* nitrat membran filter 0,45 μm . Masing-masing diawaudarakan selama 20 menit.

- Pembuatan pelarut dengan mencampurkan larutan buffer gifford pH 6-Metanol-Asam asetat glasial dengan perbandingan (55 : 45 : 0,1) lalu disaring dengan menggunakan membran filter PTFE 0,5 μm diawaudarakan selama 20 menit.
- Pembuatan larutan induk baku BPFI dengan menimbang 25 mg baku pembanding kloramfenikol BPFI kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 100 ml, tambahkan sedikit metanol kocok hingga larut, lalu cukupkan sampai garis tanda dengan pelarut dan kocok hingga homogen. Hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 250 mcg/ml.
- Penyiapan alat KCKT
- Penetapan kadar sampel dengan timbang 125 mg sampel (sebanyak 6 kali perlakuan) masing-masing dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml, dilarutkan dengan sedikit metanol, kocok hingga larut, diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda, hingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 2500 mcg/ml kloramfenikol. Kemudian disaring dengan kertas saring, 10 ml filtrat pertama dibuang. Dari keenam larutan masing-masing dipipet 0,5 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 10 ml, diencerkan dengan pelarut dengan garis tanda, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi kloramfenikol 125 mcg/ml kloramfenikol. Masing-masing larutan tersebut disaring dengan membran filter PTFE 0,2 μm ke sistem KCKT dan dideteksi pada panjang gelombang 280 nm dengan laju air yang dipilih kemudian dihitung kadarnya.

2.4.3 Literatur III (Regina Clarissa) : KLT

Kromatografi lapis tipis adalah bagian dari kromatografi planar yang secara luas digunakan untuk analisis kualitatif dan dapat juga digunakan untuk analisis kuantitatif (christian, 2004). Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik dengan pemisahan fase diam yang mengandung material tertentu yang tersebar secara merata sebagai suatu lapisan yang tipis di pelat yang berupa gelas, logam, atau plastik. (*the british pharmacopoeia commision 2011*).

Kromatografi lapis tipis merupakan metode analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida-lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga dapat berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil (fessenden,2003).

Prinsip Kromatografi lapis tipis adalah adsorpsi dan partisi dimana adsorpsi adalah penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi adalah penyebaran atau kemampuan suatu zat yang ada dalam larutan untuk berpisah kedalam pelarut yang digunakan (soebagil 2002).

Pemisahan pada kromatografi lapis tipis yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil mungkin dan sesempit mungkin. Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penetapan kadar menggunakan KLT yaitu, baku kloramfenikol, pelat KLTsilica gel 60 F₂₅₄, etanol, metanol, seperangkat alat KCKT, neraca analitik dan bejana kromatografi.

Adapun Tahapan Pengerjaan Dengan Metode KLT Yaitu :

- Pembuatan fase gerak yang telah didapat dari hasil optimasi pada penelitian sebelumnya yaitu toluena:n-heksana:metanol:dietilamin (19,75:3,75:5:1,5). Volume masing-masing pelarut diukur menggunakan buret dan ditampung menggunakan labu takar 50 ml lalu kocok sampai homogen.
- Pembuatan larutan baku kloramfenikol dengan menimbang baku kloramfenikol dengan seksama lebih kurang 10 mg, masukkan kedalam labu takar 10 ml,dan larutkan dengan etanol sampai batas tanda, sehingga diperoleh larutan stok kloramfenikol 1000 ppm. Larutan stok diambil 1,5 menggunakan mikropipet, dimasukkan kedalam labu takar 5 ml, dan diencerkan dengan etanol hingga batas tanda. Larutan dikocok hingga homogen dan diperoleh larutan baku kloramfenikol 300 ppm (larutan siap di totolkan).
- Penentuan panjang gelombang pengamatan kloramfenikol dengan larutan kloramfenikol 300 ppm ditotolkan sebanyak 1, 2 dan 3 μ L pada pelat silika gel dengan jarak antar totolan 1 cm. Setelah totolan kering pelat dikembangkan

didalam bejana kromatografi yang telah dijenuhi dengan fase gerak. Setelah mencapai jarak pengembangan 10 cm, pelat dikeluarkan dan dikeringkan. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan merekam pola spektra absorpsi masing-masing seri jumlah pada daerah panjang gelombang 200-400 nm menggunakan desintometer.

- Pembuatan kurva baku dengan cara menotolkan larutan baku tunggal dengan volume penotolan 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 μL pada pelat dengan jarak antara totolan 1 cm. Setelah totolan kering pelat dikembangkan didalam bejana kromatografi yang telah jenuh oleh fase gerak. Pelat dikeluarkan dari bejana setelah mencapai jarak pengembangan 10 cm, dikeringkan, dan diukur AUC-nya dengan desintometer pada panjang gelombang pengamatan. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Dibuat kurva baku hubungan antara jumlah analit dan AUC, sehingga didapatkan persamaan kurva .baku senyawa yang di uji. Dipilih persamaan kurva baku yang memiliki nilai $r > 0,999$.

- Penentuan recovery dan koefisien variasi baku kloramfenikol dengan cara menotolkan larutan baku tunggal dengan volume penotolan 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 μL pada pelat dengan jarak antara totolan 1 cm. Setelah totolan kering pelat dikembangkan didalam bejana kromatografi yang telah jenuh oleh fase gerak. Pelat dikeluarkan dari bejana setelah mencapai jarak pengembangan 10 cm, dikeringkan, dan discaning menggunakan desintometer pada panjang gelombang pengamatan. Nilai AUC yang didapat dimasukkan kedalam kurva baku yang telah dibuat, sehingga didapatkan jumlah kloramfenikol. Berdasarkan data yang diperoleh maka *recovery* dan KV-nya dapat dihitung. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.