

LAMPIRAN A

Perhitungan Konsentrasi Larutan Baku Zat Uji

1. Perhitungan Pembuatan Larutan Baku Ampisilin Trihidrat untuk Uji Pra Eksperimental

BM ampisilin anhidrat : 349,41

BM ampisilin trihidrat : 403,5

Larutan ampisilin trihidrat 0,19 gram dalam 100 ml aquadest.

Konsentrasi ampisilin dalam 100 ml adalah

$$= \frac{\text{BM ampisilin anhidrat}}{\text{BM ampisilin trihidrat}} \times \text{berat ampisilin trihidrat}$$

$$= \frac{349,41}{403,5} \times 0,19 \text{ gram}$$

$$= 0,1645 \text{ gram}$$

$$= 0,1645 \times 10^6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$$

$$= 1645 \mu\text{g}/\text{ml} = 1645 \text{ ppm}$$

Konsentrasi pengenceran

$$\rightarrow 1645 \text{ ppm} \times 1,56 \text{ ml} = x \text{ 5ml}$$

$$\rightarrow x = 513, 24 \text{ ppm, dan seterusnya untuk volume pipetasi berikutnya}$$

2. Perhitungan Pembuatan Larutan Baku Ampisilin Trihidrat untuk Uji Pra Eksperimental pada Bakteri *Micrococcus luteus*

Larutan ampisilin trihidrat 0,0121 gram dilarutkan ke dalam aquadest 10 ml. Konsentrasi ampisilin dalam 10 ml adalah

$$= \frac{349, 41}{403,5} \times 0,0121 = 0,01047 \text{ g}$$

$$= 0,01047 \times 10^6 \mu\text{g}/10\text{ml}$$

$$= 1047,00 \text{ ppm}$$

Konsentrasi pengenceran

$$\rightarrow 1047 \text{ ppm} \times 100 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 20,94 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 20,94 \text{ ppm} \times 120 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 0,5025 \text{ ppm}$$

3. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel 4-Metilpiperazin-N-Karbonil Ampisilin dan Ampisilin Anhidrat pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Micrococcus luteus*

Kadar lapor senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin (Tanjung, 2012): 86,76 % \pm 4,97 %

Larutan senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin 0,0058 gram dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a

$$= 0,0058 \text{ g} \times 86,76 \%$$

$$= 5,032 \times 10^{-3} \text{ g} / 10 \text{ ml}$$

$$= 503,20 \text{ ppm}$$

Kadar lapor senyawa ampisilin anhidrat (Tanjung, 2012) : 95,63% \pm 4,43 %.

Larutan ampisilin anhidrat 0,0055 g dilarutkan dalam 10 ml aquadest steril

$$= 0,0055 \text{ g} \times 95,63 \%$$

$$= 5,259 \times 10^{-3} \text{ g} / 10 \text{ ml}$$

$$= 525,90 \text{ ppm}$$

Lama pemakaian sampel baik 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin dan ampisilin anhidrat dibatasi hanya 6 hari untuk meminimalisir kerusakan cincin β -laktam karena pengaruh lingkungan sehingga lewat dari batas waktu pemakaian, larutan dibuat baru dengan konsentrasi baru kembali.

Larutan ampisilin anhidrat 0,0109 g dilarutkan dalam 10 ml aquadest steril

$$= 0,0109 \times 95,63\%$$

$$= 1,042 \times 10^{-2} \text{g}/10\text{ml}$$

$$= 1042,30 \text{ ppm}$$

Konsentrasi pengenceran

$$\rightarrow 1042,3 \text{ ppm} \times 480 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 100,061 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 100,061 \text{ ppm} \times 25 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 0,50 \text{ ppm}$$

Larutan senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin 0,0121 gram dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a

$$= 0,0121 \text{ g} \times 86,76 \%$$

$$= 1,049 \times 10^{-2} \text{g}/10 \text{ ml}$$

$$= 1049,00 \text{ ppm}$$

Konsentrasi pengenceran

$$\rightarrow 1049 \text{ ppm} \times 480 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 100,704 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 100,704 \text{ ppm} \times 25 \mu\text{l} = x \text{ 5 ml}$$

$$\rightarrow x = 0,504 \text{ ppm}$$

4. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel 4-Metilpiperazin-N-Karbonil Ampisilin untuk Pengamatan DHP pada Peningkatan Konsentrasi Tinggi

Senyawa 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin 0,01152 gram dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 900, 700, 600, 25, 10, dan 5 ppm.

$$= 0,01152 \text{ g} \times 86,76 \%$$

$$= 9,9948 \times 10^{-3} \text{ g} / 10 \text{ ml}$$

$$= 999,50 \text{ ppm}$$

Diencerkan dari konsentrasi 999,5 ppm, dipipet X ml kemudian di larutkan hingga 5 ml

$$X \rightarrow 4,5 \text{ ml} = 899,55 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 3,5 \text{ ml} = 699,65 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 3,0 \text{ ml} = 599,70 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 0,5 \text{ ml} = 99,95 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 250 \mu\text{l} = 49,98 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow 100 \mu\text{l} = 19,99 \text{ ppm}$$

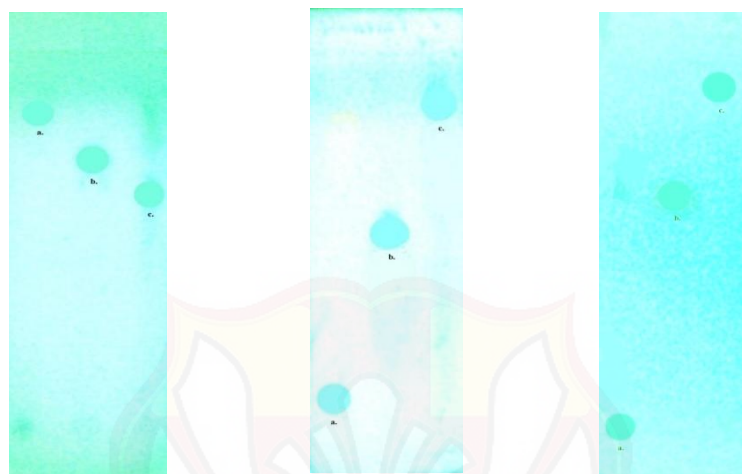
LAMPIRAN B

Pengujian Senyawa Sintesis dengan Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) bertujuan untuk menentukan kemurnian senyawa hasil sintesis. Pada uji KLT ini digunakan plat Silica gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam dan tiga macam fase gerak yaitu diklorometana : metanol (1: 3 %v/v), kloroform : metanol : etilasetat (6 : 3 : 1 %v/v), dan metanol : kloroform (1 : 1 %v/v). Noda diamati di bawah sinar UV 254 nm. Hasil uji KLT menunjukkan adanya satu noda yang berwarna ungu pada ketiga fase gerak tersebut, yang ditunjukkan pada Tabel B.

Tabel B. Harga Rf 4-metilpiperazin-N-karbonil-ampisilin.

Fase gerak (% v/v)	Nilai Rf		
	4-metilpiperazin-1-karbonil klorida	Ampisilin	4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin
Diklorometana :			
metanol (1 : 3)	0,84	0,72	0,62
Kloroform : metanol :			
etil asetat (6 : 3 : 1)	0	0,56	0,85
Metanol : Kloroform (1 : 1)	0,13	0,52	0,9



Fase Gerak I

Fase Gerak II

Fase Gerak III

Gambar B. Hasil uji kemurnian 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin secara KLT

Keterangan :

Fase gerak I : Diklorometana : metanol (1 : 3 %v/v)

Fase gerak II : Klorofom : metanol : etil asetat (6 : 3 : 1 %v/v)

Fase gerak III : Metanol : Kloroform (1 : 1 %v/v)

Secara berurutan noda dari paling kiri

a : noda 4-metilpiperazin-1-karbonil klorida

b : noda ampisilin

c : noda 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin

Dari hasil uji KLT dengan tiga fase gerak tersebut dapat diamati adanya satu noda yang berwarna ungu dan ada *tailing*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya cincin β -laktam yang pecah sehingga diperoleh hasil uji penentuan kadar senyawa aktif 4-metilpiperazin-N-karbonil ampisilin $86,76 \% \pm 4,97 \%$.