

UJI STABILITAS SEDIAAN AMPISILLIN SULBAKTAM SETELAH REKONSTITUSI

I Gede Edy Sagitha^{1*}, Suharjono², Yulistiani², Isnaeni³

¹Prodi Farmasi Klinis dan Komunitas, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Indonesia

²Departemen Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Penulis Korespondensi: edysagitha8@gmail.com

ABSTRAK

Penggunaan berulang pada sediaan ampisilin sulbaktam setelah rekonstitusi, sehingga dalam penyimpanan terdapat berbagai macam faktor yang dapat mempengaruhi kestabilannya antara lain jenis pelarut yang digunakan, suhu penyimpanan dan lama penyimpanan. Tujuan penelitian adalah menganalisis stabilitas kimia sediaan ampisilin sulbaktam pada penggunaan berulang dengan parameter pembeda pelarut dan suhu penyimpanan. Produk sampel ditimbang dan direkonstitusi menggunakan pelarut Water for Injection (WFI) and Normal Saline (NS), diencerkan ad 20 ppm dan dimasukkan kedalam vial steril. Kemudian disimpan dalam suhu kamar (25-30°C) dan suhu refrigerator (4-8°C). Penyimpanan dilakukan selama 24 jam yang terbagi dalam 4 time series yaitu jam ke-0, 1, 4 dan 24. Ditiap time series dilakukan uji mikrobiologi dan diinkubasi selama 18 jam diamati zona hambatnya dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian adalah pada jam ke-0 menunjukkan adanya perbedaan aktifitas pada pelarut yang berbeda. Terlihat bahwa sampel yang dilarutkan dengan pelarut NS memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan yang dilarutkan menggunakan WFI. Hal ini terjadi karena adanya kemungkinan terjadi primary salt effect yaitu dengan adanya penambahan elektrolit (garam) atau variasi dari ionic strength dapat mempengaruhi koefisien aktifitasnya sehingga mempengaruhi laju reaksinya. Dari analisis statistika pada jam ke-1 dan ke -4, suhu penyimpanan yang memberikan pengaruh bermakna, penyimpanan dalam refrigerator menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan dalam suhu kamar (*p* value:0,000 dan 0,023) . Pada jam ke-24 suhu dan pelarut sudah tidak memberikan pengaruh yang bermakna pada kestabilan sampel ampisilin sulbaktam (*p*<0,05). Sehingga didapat kesimpulan pelarut NS memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pelarut WFI. Sampel lebih stabil jika disimpan dalam refrigerator. Setelah 4 jam berdasarkan penelitian diatas sampel tidak lagi memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia edisi V.

Kata Kunci: Ampisilin sulbaktam, Rekonstitusi, Penyimpanan, Stabilitas

ABSTRACT

Repeated use of antibiotic ampicillin sulbactam after reconstitution, therefore in storage various many factor can affect it stability such as type of solvent used, storage temperature and storage time. Objective of study is to analyze the chemical stability product of ampicillin sulbactam in repeated use with the parameters of the solvent and storage temperature. Sample products were weighed and reconstituted using Water for Injection (WFI) and Normal Saline (NS) solvents, diluted ad 20 ppm and put into sterile vials. Then stored at room temperature (25-30 ° C) and refrigerator temperature (4-8 ° C). Storage is carried out for 24 hours which is divided into

4-time series, namely 0, 1, 4 and 24 hours. Each time series is microbiological tested and after 18 hours of incubation the inhibition zone is observed and its diameter is measured using calipers. The result of the study at the 0th hour showed a significant difference in different solvents. Samples dissolved with NS solvents have a greater inhibition zone than those dissolved using WFI. This happens because there is a primary salt effect that occurs with the influence of electrolytes (salt) or variations in the strength of ions can affect the coefficient of activity that affects the reaction rate. From the statistical analysis at the 1st and 4th hours, the storage temperature provides significant results, storage in the refrigerator produces better results compared to storage at room temperature (p value: 0,000 dan 0,023). At 24 hours the temperature and solvent did not give a significant result on the stability of the sulbactam ampicillin sample ($p < 0,05$). The conclusion is NS solvents give better results than WFI solvents. Samples are more stable if stored in a refrigerator. After 4 hours based on the above study, the sample no longer meets the requirements of Indonesian Pharmacopoeia 5th edition.

Keywords: Ampicillin Sulbactam; reconstitution; storage; stability

PENDAHULUAN

Stabilitas merupakan keadaan suatu obat tetap berada pada batas spesifikasi yang telah ditentukan, diuji pada penyimpanan dalam periode tertentu dan dapat ditentukan umur penggunaannya (*shelf life*), sifat karakteristik fisika kimia obat tersebut tetap seperti saat diproduksi. Sedangkan waktu kadaluarsa didefinisikan sebagai satuan waktu suatu produk yang dapat dipertahankan atau tetap memiliki sifat dan karakteristik yang sama dengan saat pembuatannya (dalam batas waktu tertentu) selama periode penyimpanan hingga digunakan. Tanggal kadaluarsa dapat dibedakan menjadi dua yaitu *expiration date* (ED) atau *best before date* dan *beyond use date* (BUD). ED adalah tanggal yang ditetapkan berdasarkan waktu kadaluarsa yang dihitung sejak produk dibuat

(*manufactured date*), sedangkan BUD sejak wadah dibuka (USP, 2016). Salah satu sediaan steril parenteral yang sering digunakan di rumah sakit adalah injeksi antibiotika. Antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain. Secara garis besar antibiotika dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisidal) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik) (Utami, 2011).

Injeksi ampisilin sulbaktam adalah salah satu dari sekian banyak sediaan parenteral antibiotik. Ampisilin sulbaktam dipilih untuk penelitian ini karena ampisilin sulbaktam lazim digunakan kembali (*re-use*) sisanya

terutama untuk pasien di ruang NICU yang menggunakan dosis kecil sedangkan harga relatif mahal sehingga saat penyimpanan rentan terjadinya ketidakstabilan pada sediaan yang mungkin akan berpengaruh pada potensinya (Fitriani, 2011). Ampisilin sulbaktam merupakan kombinasi antibiotik ampisilin dan sulbaktam, ampisilin merupakan golongan penisilin sedangkan sulbaktam merupakan golongan penghambat beta laktamase. Penggunaannya untuk infeksi tulang dan persendian, infeksi intra abdominal, infeksi ginekologi, infeksi saluran pernafasan, infeksi kulit, infeksi gonorea, meningitis dan sebagai antibiotika profilaksis preoperatif (McEvoy, 2011). Ampisilin sulbaktam berbentuk serbuk berwarna putih yang dikemas dalam vial. Ampisilin sulbaktam dikemas dalam bentuk serbuk karena tidak stabil dalam air. Kerusakan penisilin biasanya terjadi karena hidrolisis dan proses ini sangat dipengaruhi oleh pH larutan. Dalam suasana basa ion OH^- atau air menyebabkan serangan nukleofil pada gugus karbonil cincin β -lactam, terbentuk asam penisilat yang tidak aktif dan relatif stabil dalam suasana basa atau netral (Siswandono, 2016).

Sediaan ampisilin sulbaktam juga tidak mengandung pengawet. Sediaan ampisilin sulbaktam biasanya dilarutkan dalam normal saline. Dosis 0-1,5 gram dilarutkan dalam 50 ml sedangkan lebih dari 1,5 gram dilarutkan dalam 100 ml. Sediaan ampisilin sulbaktam dapat diberikan melalui intravena (IV) maupun intramuskular (IM). Untuk IV, dosis dapat diberikan dengan injeksi intravena lambat selama 10-15 menit atau dapat diberikan dalam larutan yang lebih besar yaitu 50-100 ml pelarut yang sesuai sebagai infusi IV selama 15-30 menit (McAuley, 2017), hal ini dikarenakan pH ampisilin sulbaktam yang basa yaitu 8-10 (Cobaugh *et al.*, 2021) Sehingga cara dan waktu penyuntikan ampisilin sulbaktam berkaitan dengan dosis dan besar volume pelarutnya.

Sterile water for injection (WFI), *normal saline*, 5% dextrosa, ringer laktat, 5% dextrosa dalam 0,45% salin adalah pelarut yang stabil untuk ampisilin sulbaktam dalam periode waktu tertentu. Dalam *normal saline* atau WFI konsentrasi maksimum 45 mg/ml stabil dalam 8 jam pada 25°C, 48 jam pada 4 °C dan konsentrasi maksimum 30 mg/ml stabil dalam 72 jam pada 4 °C. Dalam dextrosa 5%,

konsentrasi maksimum yang dapat digunakan adalah 30 mg/ml dan stabil dalam 2 jam pada 25°C, 4 jam pada 4 °C. Dalam ringer laktat konsentrasi maksimum 45 mg/ml stabil dalam 8 jam pada 25°C, 24 jam pada 4 °C (McAuley, 2017). Kedua pelarut ini dipilih karena dibandingkan pelarut lainnya memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang lebih baik setelah rekonstitusi (Cobaugh *et al.*, 2021).

Extended stability dari ampisilin sulbaktam dalam berbagai wadah, konsentrasi, pelarut dan suhu penyimpanan sangat beragam, antara lain dalam wadah *polyvinyl chloride* (PVC) pada konsentrasi 20 mg/ml dalam pelarut NS ampisilin sulbaktam stabil pada suhu ruang selama 32 jam, sedangkan pada suhu refrigerator stabil selama 62 jam. Pada wadah *syringe* plastik pada konsentrasi 8,3; 16,7; 33,33 mg/ml pada pelarut NS ampisillin sulbaktam stabil pada suhu ruang selama 2 jam, dan pada suhu refrigerator selama 4 jam. Sedangkan dalam wadah kaca pada konsentrasi 30 mg/ml ampisilin sulbaktam stabil dalam suhu ruang selama 8 jam dan pada suhu refrigator selama 48 jam (Bing and Nowobilski-Vasilios, 2017). Pada penelitian ini sampel akan disimpan

pada vial kaca dengan konsentrasi 20 ppm dan disimpan dalam suhu ruang dan refrigerator dalam 24 jam yang terbagi menjadi 4 *time series*. Penggunaan ampisilin sulbaktam untuk neonatus yang memerlukan dosis kecil, harganya yang relatif mahal dan sediaan hasil rekonstitusi yang tidak stabil dalam waktu lama pada suhu kamar memunculkan permasalahan akan stabilitas dan potensi obat yang mungkin turun.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan penelitian dilakukan pada bulan Agustus-September 2018.

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain berdasarkan *time series* yaitu uji aktivitas antimikroba sediaan parenteral ampisillin sulbactam.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah sediaan ampisilin sulbaktam 1,5 g yang telah direkonstitusi dengan WFI

dan NS lalu disimpan pada suhu kamar (25°C) dan refrigerator (4°C). Sampel memenuhi 5 titik time series. Sampel dihitung menggunakan rumus Federer, replikasi penelitian diperkirakan dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} (n-1)(k-1) &= 15 \\ (n-1)(16-1) &= 15 \\ n &= 1 \end{aligned}$$

Keterangan:

n : banyaknya replikasi tiap kelompok yang dicari

k : banyaknya kelompok perlakuan

Banyaknya kelompok perlakuan yaitu 16 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdapat total 5 subkelompok. Total kelompok yang digunakan menggunakan total subkelompok yaitu 20. Maka, berdasarkan hasil perhitungan didapatkan 1,18 replikasi, dibulatkan menjadi 1 tiap subkelompok. Dengan kriteria *drop out* 10%, maka banyak replikasi yang digunakan menjadi 2 tiap subkelompok. Replikasi adalah repetisi (pengulangan) independen pada eksperimen dasar. Replikasi dalam suatu penelitian diperlukan untuk menjamin terhadap hasil penelitian yang *aberrant*, mengestimasi variansi *experimental error*, dan meningkatkan

presisi pada estimasi rata-rata treatment. Variansi *experimental error* tidak dapat diestimasi dengan hanya satu replikasi, minimal diperlukan 3 kali replikasi.

Prosedur Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dan uji mikrobiologi mengacu pada (Arret and Kirshbaum, 1971) yang dimodifikasi. Pertama sampel ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 100 mg dan dibagi menjadi 2 grup yaitu grup yang dilarutkan dengan pelarut WFI dan grup yang dilarutkan dengan pelarut NS kemudian diencerkan menjadi 20 ppm dan disimpan pada vial steril.

Tahapan Uji Mikrobiologi Antibiotika

Uji potensi senyawa antibiotik ampisilin sulbktam dilakukan dengan metode difusi disk. Adapun tahapan kerja uji potensi dengan metode difusi disk sebagai berikut:

1. Penyiapan Alat dan Bahan

- a. Alat-alat: Petridisk, pinset, pipet volume steril. Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas lalu disterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu sebesar 121°C

- dengan mengatur tekanan udara sebesar 1,5 atm. Sterilisasi untuk LAF dengan cara menyalakan sinar UV selama 15 menit kemudian di *swab* dengan alkohol
- b. Kultur murni bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) umur 24 jam
 - c. *Disk blank*
 - d. Sampel berupa antibiotik ampicillin sulbaktam 20 ppm
 - e. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)
 - f. WFI dan NS sebagai pelarut senyawa uji
 - g. Alkohol 70%
2. Pengujian Potensi Antibiotik secara difusi disk
 - a. Setelah semua sampel siap untuk diuji, sampe dibagi kembali menjadi 2 grup.yaitu grup disimpan pada suhu kamar dan grup disimpan pada suhu refrigerator yang masing masing terdiri dari 2 sampel (sampel yang dilarutkan dengan pelarut WFI dan sampel yang dilarutkan dengan pelarut NS)
 - b. Sampel diteteskan sebanyak 1 tetes pada *disk blank* pada jam ke-0, 1, 4 dan 24
 - c. Secara Aseptik, dipipet 10 µl menggunakan mikropipet dan teteskan pada *paper disk* yang telah disusun sebelumnya di media MHA
 - d. Inkubasi selama 16-18 jam. Amati zona keruh dan jernih di tiap petri
 - e. Amati, foto pertumbuhannya
 - f. dan ukur diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar paper disk dengan jangka sorong
 - g. Dimasukkan ke dalam tabel data

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran zona hambat dan prosentase penurunan daya hambat untuk pengujian potensi antibiotik dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 secara berurutan.

Tabel 1. Rata – rata dan Standar Deviasi Zona Hambat (mm)

| Pelarut | Suhu Penyimpanan | | Lama Penyimpanan (Jam) | | | |
|---------|-------------------|--------|------------------------|-------|-------|-------|
| | | | 0 | 1 | 4 | 24 |
| WFI | Suhu Kamar | Rata- | 16.55 | 17.50 | 15.28 | 15.58 |
| | | Rata | | | | |
| | | St Dev | | | | |
| | Suhu Refrigerator | Rata- | 17.18 | 17.20 | 16.83 | 15.85 |
| | | Rata | | | | |
| | | St Dev | | | | |
| NS | Suhu Kamar | Rata- | 19.98 | 16.00 | 14.70 | 15.48 |
| | | Rata | | | | |
| | | St Dev | | | | |
| | Suhu Refrigerator | Rata- | 20.83 | 16.70 | 15.95 | 15.93 |
| | | Rata | | | | |
| | | St Dev | | | | |

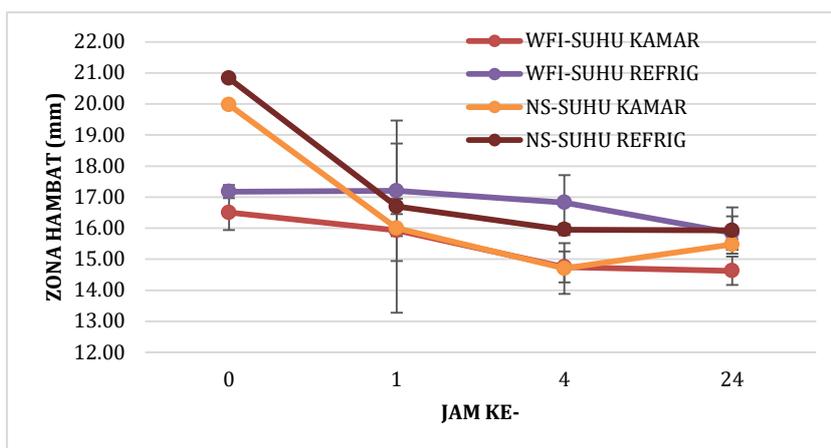
Tabel 2. Prosentase Penurunan Daya Hambat (%)

| Pelarut | Suhu | Lama Penyimpanan (Jam) | | | |
|---------|-------------------|------------------------|--------|-------|-------|
| | | 0 | 1 | 4 | 24 |
| WFI | Suhu Kamar | 100.00 | 105.74 | 92.30 | 94.11 |
| | Suhu Refrigerator | 100.00 | 100.12 | 97.93 | 92.26 |
| | Suhu Kamar | 100.00 | 80.08 | 73.57 | 77.45 |
| NS | Suhu Refrigerator | 100.00 | 80.17 | 76.57 | 76.45 |

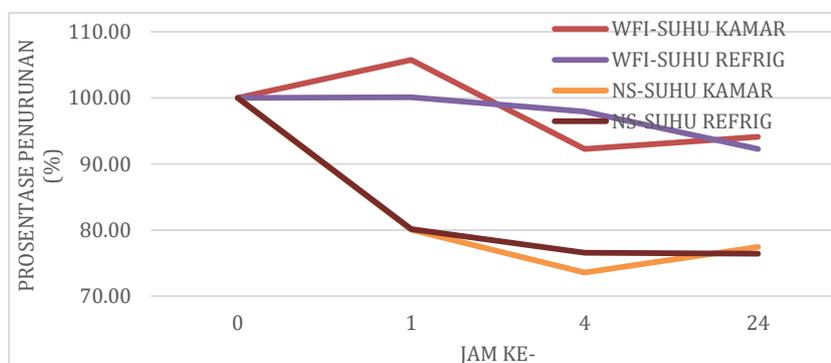
Analisis Hasil Penelitian Uji Stabilitas Sediaan Ampisililin Sulbaktam
A. Analisa Sampel Terhadap Pelarut dan Suhu Penyimpanan yang Berbeda

Dari data hasil Tabel 1 agar dapat dibandingkan dengan lebih mudah maka

dibuat grafik zona hambat versus waktu dengan pelarut dan suhu penyimpanan yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1, dan Tabel 2 dapat dibuat grafik persentase penurunan konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Grafik Zona Hambat Versus Waktu Dengan Pelarut Dan Suhu Penyimpanan yang Berbeda.



Gambar 2. Grafik Persentase Penurunan Zona Hambat Versus Waktu Dengan Pelarut dan Suhu Penyimpanan yang Berbeda.

Dari grafik zona hambat (Gambar 1) dapat dilihat bahwa pada jam ke 0 (belum terdapat penyimpanan) sampel ampisilin sulbaktam sudah menunjukkan adanya perbedaan aktifitas pada pelarut yang berbeda. Terlihat bahwa sampel yang dilarutkan dengan pelarut NS memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan yang dilarutkan menggunakan WFI sedangkan pada jam 1,4 dan 24 besar

zona hambat antar pelarut tidak jauh berbeda sehingga pada grafik persentase penurunan zona hambat (gambar 2) terlihat perbedaaan yang sangat mencolok karena zona hambat jam ke-0 yang dianggap 100% terlalu jauh berbeda. Hal ini terjadi karena adanya kemungkinan terjadi *primary salt effect* yaitu dengan adanya penambahan elektrolit (garam) atau variasi dari *ionic strength* dapat mempengaruhi koefisien aktifasnya

sehingga mempengaruhi laju reaksinya (Bakshi, 2018). Penambahan ampisilin sulbaktam pada cairan elektrolit mempercepat laju penguraian ampisilin sulbaktam menjadi bentuk yang tidak aktif.

B. Analisa Penurunan Persentase Zona Hambat

Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan pada jam ke 4 sampel produk ampisilin sulbaktam yang menggunakan pelarut NS tidak lagi memenuhi persyaratan FI edisi V sehingga tidak layak untuk diberikan ke pasien.

C. Analisa Zona Hambat Dengan Metode Statistika

Berdasarkan Tabel 1 dianalisa secara statistika menggunakan tes *Two Way Anova*. Tes ini digunakan karena data memiliki 1 variabel tergantung (zona hambat) dan lebih dari 1 variabel bebas (pelarut dan suhu penyimpanan). Mengikuti tes normalitas sebelumnya tes ini juga dibagi berdasarkan waktu yaitu jam ke-0, 1, 4 dan 24. Tes *Two Way Anova* menghasilkan tabel efek antar subjek (Tabel 3). Signifikansi <0.05 dapat diinterpretasikan bahwa terjadi

pengaruh yang signifikan atau bermakna, dan dari masing-masing variabel yang memberikan pengaruh yang bermakna di tiap waktu maka dapat ditentukan grup yang terbaik melalui hasil *mean* (rata-rata) yang terbesar yang dapat dilihat dalam Tabel 4.

Tabel 3. Uji Efek Antar Subjek

| Jam Ke- | Signifikansi | |
|---------|--------------|---------|
| | Suhu | Pelarut |
| 0 | 0.253 | 0.003* |
| 1 | 0.000* | 0.417 |
| 4 | 0.023* | 0.137 |
| 24 | 0.129 | 0.951 |

*signifikan

Tabel 4. Grup Terbaik Tiap Waktu dan Variabel yang Signifikan

| Jam Ke- | Variabel yang Signifikan | Grup | Mean |
|---------|--------------------------|--------------|-------|
| 0 | Pelarut | WFI | 16.86 |
| | | NS | 20.40 |
| 1 | Suhu | Kamar | 16.50 |
| | | Refrigerator | 16.70 |
| 4 | Suhu | Kamar | 14.98 |
| | | Refrigerator | 16.38 |
| 24 | - | - | |

Berdasarkan data Tabel 4 dapat disimpulkan pada jam ke-0 pelarut yang memberikan pengaruh bermakna, sampel yang dilarutkan menggunakan NS memberikan zona hambat lebih baik dibandingkan dengan pelarut WFI sedangkan untuk

suhu menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan karena jam ke-0 sampel belum dilakukan penyimpanan. Pada jam ke-1 dan ke-4, suhu penyimpanan yang memberikan pengaruh bermakna, penyimpanan dalam refrigerator menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan dalam suhu kamar sedangkan pelarut sudah tidak lagi menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna.

Hasil ini sesuai karena stabilitas larutan injeksi ampisilin sulbaktam setelah direkonstitusi dengan NaCl 0,9% oleh staf perawat di ruangan NICU RSUD Haji Surabaya mengalami penurunan dan bisa digunakan hingga 18 jam (Avi, 2018). Pada jam ke-24 suhu penyimpanan dan pelarut masing-masing tidak memberikan pengaruh yang bermakna pada kestabilan sampel ampisilin sulbaktam. Stabilitas obat dapat dicerminkan oleh expiration date yaitu waktu yang tertera pada kemasan yang menunjukkan batas waktu diperbolehkannya obat tersebut dikonsumsi karena diharapkan masih memenuhi spesifikasi yang ditetapkan. Sedangkan waktu simpan (*shelf-life*) adalah periode penggunaan

dan penyimpanan yaitu waktu dimana suatu produk tetap memenuhi spesifikasinya jika disimpan dalam wadahnya sesuai dengan kondisi penjualan di pasaran (Carstensen and Rhodes, 2000). Akan tetapi dalam penelitian ini lebih fokus pada BUD (*Beyond use date*) yaitu tanggal yang ditetapkan pada produk steril yang telah dibuka dimana kondisi produk tersebut masih dalam rentang stabil dan dapat diberikan kepada pasien. BUD dipengaruhi oleh stabilitas masing-masing produk steril tersebut. Terdapat lima macam stabilitas yang umum diketahui yaitu stabilitas kimia, fisika, mikrobiologi, terapeutik, dan toksikologi. Stabilitas mikrobiologi harus mempertahankan sterilitas atau resistensi terhadap pertumbuhan mikroba yang dapat dipertahankan hingga batas persyaratan waktu tertentu. Bahan-bahan antimikroba yang ada di dalamnya tetap efektif dalam batas-batas yang ditentukan. Penurunan stabilitas akibat adanya degradasi, pada antibiotik β -laktam yang mempunyai rantai siklik amida atau laktam dapat mengalami hidrolisis sehingga mengalami pembukaan cincin cepat (Yoshioka, 2002).

BUD dihasilkan karena terjadinya proses rekonstitusi. Rekonstitusi sediaan parenteral merupakan salah satu pelayanan farmasi klinik yang ada di rumah sakit. Sediaan parenteral harus memenuhi persyaratan antara lain adalah steril, bebas dari kontaminasi pirogen (endotoxin), larutan jernih dan bebas dari partikel. Larutan sedapat mungkin dibuat isotonis dengan plasma darah, stabil secara kimia, fisika, dan mikrobiologi (USP, 2016). Salah satu sediaan parenteral yang banyak digunakan di rumah sakit adalah antibiotik. Rekonstitusi antibiotik perlu memperhatikan aspek stabilitas, kondisi aseptis, dan kompatibilitas (Kemenkes RI, 2011).

Pengujian stabilitas melibatkan berbagai faktor yang mempengaruhi stabilitas produk farmasi. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap stabilitas produk farmasi antara lain stabilitas bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan excipien, proses manufaktur, jenis bentuk sediaan, sistem wadah/penutupan yang digunakan untuk pengemasan, cahaya, panas dan kondisi kelembaban yang ditemui selama pengiriman, penyimpanan dan penanganan. Selain itu, reaksi

degradasi seperti oksidasi, reduksi, hidrolisis atau rasemisasi, yang dapat memainkan peran penting dalam stabilitas produk farmasi, juga tergantung pada kondisi seperti konsentrasi reaktan, pH, radiasi, dan katalis, serta bahan baku digunakan dan lamanya waktu antara pembuatan dan penggunaan produk (Bajaj *et al.*, 2012).

Setiap sampel diuji mikrobiologi pada jam ke 0, 1, 4 dan 24. Hasil uji stabilitas antimikroba dari masing-masing perlakuan dapat dilihat setelah diinkubasi selama 17-18 jam di inkubator dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan berupa diameter zona hambat, yaitu zona bening di sekitar lingkaran. Setelahnya data zona hambat dikumpulkan dan dianalisa. Pertama dibuat grafik antara zona hambat versus waktu pada tiap pelarut dan suhu penyimpanan lalu dicari persentase penurunan konsentrasi yang didapat dari rata – rata zona hambat dengan asumsi bahwa jam ke-0 adalah 100% kemudian dibuat grafik dan diinterpretasikan. Berdasarkan grafik, pada pelarut WFI dan penyimpanan suhu kamar dapat terlihat grafik zona hambat dan persentase terlihat identik karena pada jam ke-0 zona hambat

relatif pada titik yang berdekatan. Dengan pelarut WFI dan pada penyimpanan suhu kamar tidak ada sampel yang berada dibawah 80%. Pada penyimpanan suhu refrigerator dapat terlihat tidak ada sampel dari yang berada dibawah 90% dan grafik sampel dan baku menunjukkan slope yang lebih landai hal ini terjadi karena pengaruh suhu yang menyebabkan antibiotik lebih lambat untuk terdegradasi.

Berikutnya dengan menggunakan pelarut NS pada penyimpanan suhu kamar dapat terlihat grafik zona hambat dan persentase tidak terlihat identik karena pada jam ke-0 zona hambat tidak pada titik yang berdekatan. Hal ini terjadi kemungkinan karena formulasi, kesalahan peneliti atau variable pengganggu lainnya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan lebih banyak replikasi. Sedangkan dengan menggunakan pelarut NS pada penyimpanan suhu refrigerator tidak terjadi terlalu banyak perbedaan dengan pelarut WFI. Untuk persentase penurunan zona hambat karena dalam konteks ini disetarakan dengan persentase penurunan potensi antibiotika maka merujuk FI edisi V

Injeksi ampisilin sulbaktam harus mengandung ampisilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, dan sulbaktam, $C_8H_{11}NO_5S$, setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Pada jam ke 4 sampel produk ampisilin sulbaktam tidak lagi memenuhi persyaratan FI edisi V sehingga tidak layak untuk diadministrasikan ke pasien.

Tes normalitas kolmogorov-smirnov digunakan untuk mengetahui data penelitian terdistribusi normal atau tidak. Data penelitian dibagi berdasarkan waktu yaitu jam ke0, 1, 4 dan 24 kemudian masing-masing dites normalitas. Dengan syarat signifikansi $>0,05$ maka dapat interprestasikan data berdistribusi normal, data jam ke-0 sampai jam ke-24 menghasilkan data yang berdistribusi tidak normal. Akan tetapi berdasarkan pengalaman empiris ahli statistika data yang banyak sampelnya melebihi 30 ($n > 30$) sudah dapat diasumsikan bahwa data berdistribusi normal karena terdolong sampel besar (Cahyono, 2018). Karena data sudah tergolong data yang berdistribusi normal maka dapat dilanjutkan menggunakan tes Two Way Anova. Tes ini digunakan karena

data memiliki 1 variabel tergantung (zona hambat) dan lebih dari 1 variabel bebas (pelarut dan suhu penyimpanan). Mengikuti tes normalitas sebelumnya tes ini juga dibagi berdasarkan waktu yaitu jam ke-0, 1, 4 dan 24. Hasilnya dapat disimpulkan pada jam ke-0 sampel dan pelarut yang memberikan pengaruh bermakna,. Pada jam ke-1 seluruh sampel memberikan hasil yang sama dengan jam ke-0. Pada jam ke-4 sampel dan suhu penyimpanan yang memberikan pengaruh bermakna, pada suhu penyimpanan refrigerator. Pada jam ke-24 sampel, suhu penyimpanan dan pelarut memberikan pengaruh yang bermakna. Hasil yang tidak konsisten kemungkinan disebabkan tidak dilakukan dalam satu petri sehingga hasilnya lebih bias atau ada faktor lain yang tidak diketahui ikut memberikan andil pada hasil penelitian. Replikasi diperbanyak sehingga menghasilkan data yang lebih valid.

KESIMPULAN

Pada awal proses rekonstitusi pemilihan pelarut sangat mempengaruhi kestabilan sampel ampisilin sulbaktam. Pelarut NS memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pelarut WFI. Dalam

masa penyimpanan suhu memberikan andil yang signifikan akan tetapi setelah 24 jam suhu tidak lagi memberikan pengaruh. Ampisilin subaktam lebih stabil jika disimpan dalam refrigerator. Setelah 4 jam berdasarkan data tabel 2 sampel produk ampisilin sulbaktam tidak lagi memenuhi persyaratan FI edisi V sehingga tidak layak untuk diadministrasikan ke pasien. Adanya perbedaan antara hasil penelitian dan brosur dari sampel ampisilin sulbaktam akan kestabilannya perlu dilakukan lagi penelitian lebih lanjut seperti menggunakan metode lain contohnya HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Arret, B., Johnson, D.P., and Kirshbaum, A. Outline of details for microbiological assays of antibiotics: second revision. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1971, 60(11): 1689-1694.
- Avi. 2018. *Stabilitas mikrobiologi ampisilin sulbaktam setelah direkonstitusi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bajaj, S., Singla, D., and Sakhuja, N. Pengujian stabilitas produk farmasi. *Jurnal Ilmu farmasi Terapan*. 2012, 2(3): 129-138.
- Bakshi, A.K. *Physical Chemistry-II (Statistical, Thermodynamics, Chemical Dynamics*.

- Electrochemistry and Macromolecules, New Delhi: SGTB Khalsa Collage, University of New Delhi. 2018.
- Bing, C.D and Nowobilski-Vasilios, A. *Extended stability or parenteral drugs six edition*. Maryland: American Society of Health System Pharmacist. 2017.
- Cahyono, T. 2018. *Statistika Terapan dan Indikator Kesehatan*. Yogyakarta: Deepublish.
- Carstensen, J.T and Rhodes, C.T. Drug stability principles and practice. Marcel Dekker.Inc, New York, USA. 2000.
- Cobaugh, D., Lisa, M and Elizabeth, P. *ASHP injectable drug information*. ASHP. Bethesda:USA. 2021.
- Fitriani, V.Y. Studi penggunaan antibiotika pada neonatus di NICU Dr Ramelan Surabaya. *J. Trop. Pharm. Chem.* 2011, 1(2): 158-164.
- Kemenkes RI. 2011. *Pedoman pelayanan kefarmasian untuk terapi antibiotik*. Jakarta: Kemenkes RI.
- McAuley, David. 2017. Unasyn - Ampicillin Sulbactam. <https://globalrph.com/dilution/unasyn-ampicillin-sulbactam/> diakses tanggal 16 Agustus 2018.
- McEvoy, K.G. AHFS Drug Essentials-Ampicillin Sulbactame. Bethesda, Maryland: American Society of Health-System Pharmacists. 2011.
- Siswandono, E. *Kimia Medisinal 1 Edisi 2*. Airlangga University Press. 2016. Halaman 133.
- USP. The United States Pharmacopeia 39th Edition, Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2016, Inc Page 2214-2215.
- Utami, E. R. Antibiotika, Resistensi dan Rasional Terapi. *El-Hayah*. 2011, 1(4): 191-198.
- Yoshioka, S., and Stella, V.J. 2000. *Stability of drugs and dosage forms*. Springer Science and Business Media.