

R 8731

PERBANDINGAN KADAR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
AMPISILIN SEDIAAN GENERIK DAN PATEN

OLEH
HAERANI
94 03 091



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

Tgl. terima	6-8-1999
Asal dari	FAK. MIPA
Penyababnya	2 (dua) eksemplar
Harga	HADIAH
No. Inventaris	99103764
No. Klas	

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN

1999

**PERBANDINGAN KADAR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
AMPISILIN SEDIAAN GENERIK DAN PATEN**

**OLEH
HAERANI
94 03 091**

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

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

1999

SKRIPSI

OLEH

H A E R A N I

94 03 091

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

1999

PERBANDINGAN KADAR DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
AMPISILIN SEDIAAN GENERIK DAN PATEN

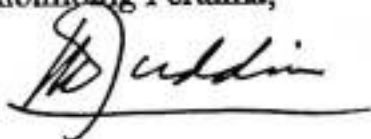
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Drs. Frans A. Rimate
NIP. 130 520 422

Pembimbing Pertama,



Prof. DR. H. Tadjuddin Naid, MSc
NIP. 130 520 080

Pembimbing Kedua,



Dra. Sartini, MS
NIP. 131 696 792

Pada tanggal, Juli 1999

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan berkah, rahmat dan kasih sayang-Nya yang tiadatara sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Farmasi akultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi, penulis banyak mendapat bantuan berupa bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Karenanya dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. Frans A. Rimate, selaku Pembimbing Utama
2. Bapak Prof. DR. H. Tadjuddin Naid, MSc, selaku Pembimbing Pertama
3. Ibu Dra. Sartini, MS, selaku Pembimbing Kedua.
4. Ibu Dra. Jeanny Wunas, MS, selaku Penasehat Akademik.
5. Ketua Jurusan Farmasi, Bapak/Ibu Dosen serta seluruh Staf dan Karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya Jurusan Farmasi.
6. Bapak/Ibu Kepala Laboratorium Jurusan Farmasi, dan para laboran atas bantuan petunjuk dan fasilitasnya selama awal kegiatan penelitian didalam laboratorium hingga selesainya penelitian.

7. Hery Cs, Faried, Challink atas bantuan selama kegiatan penelitian hingga penyusunan skripsi.
8. Sahabat-sahabatku, Venny, Ani, Yuli, Yuyu, Diah, Tetty dan teman-teman Angkatan 94 serta semua rekan-rekan mahasiswa Farmasi atas hari-hari manis dan menyenangkan selama kuliah.

Rasa hormat dan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis tujukan kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta yang telah mengasuh dan mendidik dengan penuh kasih sayang serta doa restu yang mengiringi penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan. Terima kasih pula kepada saudaraku atas bantuannya dan tak lupa terima kasih kepada Phio atas doa, dorongan semangat, pengertian dan kasih sayangnya.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT namun penulis masih tetap berharap semoga tulisan yang jauh dari sempurna ini masih dapat memberikan manfaat yang berarti bagi pembaca dan masyarakat pada umumnya.

Ujung Pandang, Mei 1999

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang perbandingan kadar dan aktivitas antibakteri ampisilin sediaan generik dan paten. Perbandingan kadar ampisilin yang terdapat dalam masing-masing sediaan generik dan sediaan paten dilakukan dengan membandingkan hasil penetapan kadar secara spektrofotometri UV-Vis, sedangkan perbandingan aktivitas antibakteri ampisilin dari masing-masing sediaan generik dan paten berdasarkan pengukuran diameter zona hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, serta melihat sejauh mana hasil penetapan kadar ampisilin dengan metode spektrofotometri UV-Vis dapat menunjukkan aktivitas antibakterinya.

Dari hasil penelitian didapatkan persen kadar rata-rata ampisilin dalam sediaan generik merek A = 96,19%; merek B = 98,20%, dan dalam sediaan paten merek C = 99,39%; merek D = 99,97% sedangkan potensi antibiotik ampisilin pada sediaan generik merek A=105,68%; merek B=102,33%; dan dalam sediaan paten merek C=106,91 dan merek D=102,89%.

Hasil analisa statistik untuk perbandingan kadar dengan metode rancangan acak lengkap dan perbandingan aktivitas antibakteri secara mikrobiologis dengan metode rancangan acak kelompok menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata dari kadar dan aktivitas antibakteri ampisilin dalam sediaan generik dan paten.

ABSTRACT

The comparison of the chemical content and antibacterial activity of generic and patent ampicillin has been investigated. The chemical content comparison of generic and patent ampicillin was carried out using UV-Vis spectrophotometric and the comparison of antibacterial activity of generic and patent ampicillin was based on the diameter of its inhibition zone against *Staphylococcus aureus*, and verification of the ampicillin antibacterial activity against its chemical content.

The test result showed that the average chemical content of generic samples are A = 96,19%; B = 98,20%, and the patent samples are C = 99,39%; D = 99,97%, while the potential activity of generic samples are A=105,68%; B = 102,33%; and the patent samples are C = 106,91%; D = 102,89%.

Randomized complete design was used on the statistical analysis of chemical content, and the comparison of antibacterial activity using randomized group design showed that no significant difference between the chemical content and the antibacterial activity of generic and patent ampicillin.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II POLA PENELITIAN	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Tinjauan tentang Obat Generik dan Obat Paten	6
III.2 Tinjauan tentang Ampisilin	7
III.3 Penetapan Kadar Ampisilin secara Kimia	10
III.4 Penentuan Potensi Antibiotik Ampisilin	12
III.5 Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	16

BAB IV METODE KERJA	17
IV.1 Alat dan Bahan yang Digunakan	17
IV.2 Pengambilan Sampel Penelitian	18
IV.3 Analisa Kualitatif Ampisilin	18
IV.4 Analisa kuantitatif Ampisilin	18
IV.4.1 Penimbangan Sampel	18
IV.4.2 Pembuatan Larutan Baku	18
IV.4.3 Pembuatan Larutan Sampel	19
IV.5 Pengukuran dengan Spektrofotometer UV	19
IV.5.1 Penentuan Panjang Gelombang maksimum	19
IV.5.2 Pembuatan Kurva Baku	19
IV.5.3 Pengukuran Serapan larutan Sampel	19
IV.6 Penetapan Potensi Antibiotik Ampisilin	20
IV.6.1 Pembuatan medium GNA	20
IV.6.2 Penyiapan Bakteri Uji	20
IV.6.3 Penyiapan larutan baku dan Larutan Sampel	21
IV.6.4 Penentuan Aktivitas Antibakteri	22
IV.7 Pengumpulan dan Analisa Data	22
IV.8 Pembahasan Hasil	22
IV.9 Pengambilan Kesimpulan	22

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	23
V.1 Hasil	23
V.2 Pembahasan	24
BAB VI PENUTUP	29
VI.1 Kesimpulan	29
VI.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil analisa kualitatif ampisilin dalam sediaan generik dan paten	33
2. Hasil penimbangan sampel	36
3. Hasil pengukuran serapan larutan baku ampisilin	37
4. Hasil perhitungan kdar ampisilin dalam sediaan generik dan paten	38
5. Hasil pengukuran diameter zona hambatan (mm) ampisilin generik dan paten	39
6. Hasil perhitungan potensi ampisilin dalam sediaan generik dan paten	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kurva penentuan panjang gelombang maksimum larutan ampisilin murni	34
2. Kurva baku serapan ampisilin murni pada panjang gelombang 326 nm	35
3. Foto hasil pengukuran diameter zona hambatan ampisilin	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Skema kerja	41
B. Contoh perhitungan kadar ampisilin dalam sediaan generik dan paten	42
C. Hasil perhitungan analisis statistik perbandingan kadar ampisilin sediaan generik dan paten dengan metode rancangan acak lengkap	44
D. Contoh perhitungan penentuan potensi ampisilin sediaan generik dan paten	47
E. Hasil perhitungan analisa statistik aktivitas antibakteri ampisilin sediaan generik dan paten dengan metode rancangan acak kelompok	52
F. Sertifikat analisis ampisilin	55



BAB I PENDAHULUAN

Tujuan pembangunan kesehatan adalah tercapainya hidup sehat bagi setiap penduduk untuk mewujudkan derajat kesehatan yang optimal sebagai salah satu kesejahteraan umum. Peranan obat dalam upaya kesehatan sangat besar dan merupakan suatu unsur penting dengan biaya cukup besar pula (1). Sejak Indonesia mengalami inflasi beberapa kali, industri farmasi mengalami keadaan yang tidak menggembirakan. Pengendalian harga sulit dilakukan dan menurunnya daya beli masyarakat. Oleh karena dirasakan bahwa harga obat pada umumnya masih belum terjangkau oleh masyarakat maka dalam REPELITA V ditetapkan sasaran-sasaran peningkatan produksi obat esensial, penerapan Daftar Obat Esensial Nasional dan penggunaan obat generik (2).

Obat generik ialah obat dengan nama resmi yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia untuk zat berkhasiat yang dikandungnya. Obat paten adalah obat dengan nama dagang dan menggunakan nama yang merupakan milik produsen obat yang bersangkutan (3).

Golongan antibiotika merupakan kategori obat yang paling banyak diberikan di rumah sakit, sekitar 40-50% (4). Salah satunya yang terpenting adalah Ampisilin yang merupakan derivat penisilin dengan spektrum luas dan cukup banyak digunakan di Indonesia sebagai antiinfeksi (5), yang tersedia dalam berbagai macam produk paten dan generik dan umumnya tersedia dalam bentuk sediaan kaplet.

Harga obat paten dapat mencapai sepuluh kali lipat harga obat generik, meskipun dikatakan bahwa mutu obat generik sama dengan obat paten. Namun

kenyataan yang dihadapi sekarang bahwa masyarakat cenderung menilai bahwa mutu obat digambarkan dengan harga yang tinggi sehingga mereka menganggap bahwa obat dengan harga mahal lebih baik dari yang murah.

Permasalahannya adalah apakah perbedaan harga obat paten dan generik mempengaruhi mutu obat sehingga perlu dilakukan pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap kedua produk tersebut. Secara *in vivo* telah dilakukan penelitian oleh Hadijah Tahir (1991) dengan judul Uji Komparatif Beberapa Parameter Ketersediaan Hayati dari Dua Sediaan (Generik dan Paten) Pada Hewan Uji Kelinci dengan kesimpulan bahwa ketersediaan hayati dari sediaan generik dan paten tidak berbeda nyata (6). Secara *in vitro* telah dilakukan penelitian oleh Mohammad Syahrir (1993) dengan judul Profil Disolusi Tablet Ampisilin Generik dan Paten dengan kesimpulan bahwa profil disolusi tablet ampisilin generik dan paten tidak berbeda nyata (7).

Agar suatu antibiotik berhasil digunakan dalam terapi maka harus secara meyakinkan efektif melawan mikroorganisme patogen tanpa menimbulkan efek toksik yang nyata. Faktor penting yang harus diperhatikan adalah kadar senyawa aktif dalam sediaan. Penurunan kadar senyawa aktif dapat terjadi selama penyimpanan di pabrik obat, apotik dan konsumen. Penurunan kadar senyawa aktif akan mengurangi aktivitas antibakteri dan dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik tersebut sehingga efek terapi tidak tercapai.

Ampisilin termasuk antibiotik yang kurang stabil dan dapat terurai menjadi senyawa-senyawa yang tidak aktif dan kadang-kadang menjadi senyawa toksik (5) dan hasil peruraiannya kemungkinan terdeteksi sebagai kadar senyawa asal, sedangkan aktivitas antibakterinya telah banyak berkurang dan bersifat toksis. Hal

tersebut menyebabkan perlunya dilakukan uji aktivitas antibakteri secara mikrobiologis.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ampisilin dalam sediaan obat generik dan paten secara *in vitro* yaitu dengan membandingkan kadar dari tiap-tiap sediaan dan membandingkan aktivitas antibakteri ampisilin secara mikrobiologis tiap-tiap sediaan. Hipotesis penelitian ini adalah tidak ada perbedaan antara kadar dan aktivitas antibakteri ampisilin dalam sediaan generik dan paten.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa kaplet ampisilin diambil masing-masing 2 produk generik dan produk paten dengan nomor batch yang sama dari beberapa apotik di Ujung Pandang.

II.2 Penyediaan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disiapkan sesuai kebutuhan. Sebagai pembanding digunakan ampisilin dari pabrik PT. Pharos Indonesia.

II.3 Analisa Kualitatif Ampisilin

Dilakukan uji kualitatif terhadap ampisilin baku dan sampel dengan cara uji warna.

II.4 Penetapan Kadar Ampisilin

Sediaan ampisilin generik dan paten ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

II.5 Penetapan Potensi Antibakteri Ampisilin

Sediaan ampisilin generik dan paten ditetapkan aktivitas antibakterinya terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*. Dilakukan replikasi 3 kali.

II.6 Pengumpulan dan Analisis Data

Data dikumpulkan dari hasil penetapan kadar dengan spektrofotometer UV dan hasil penetapan aktivitas antibakteri, kemudian dianalisis secara statistik.

II.7 Pembahasan Hasil

Hasil analisis kemudian dibahas.

II.8 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan hasil.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Tinjauan tentang Obat Generik dan Obat Paten

Sehubungan dengan diterbitkannya Peraturan Menteri Kesehatan No. 085/Men. Kes/Per/I/1989 tentang Kewajiban Menuliskan Resep dan/atau menggunakan obat generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah, maka dalam rangka pelaksanaan peraturan tersebut digalakkan penggunaan obat generik dengan cara menuliskan resep dan/atau menggunakan obat generik di fasilitas kesehatan Pemerintah agar tujuan perluasan cakupan pelayanan kesehatan kepada masyarakat dapat lebih mudah dicapai (3).

Obat generik adalah obat dengan nama resmi yang telah ditetapkan dalam Farmakope Indonesia dan INN (International Nonproprietary Names) WHO untuk zat berkhasiat yang dikandungnya. Obat generik hanya menggunakan nama yang sesuai dengan zat berkhasiat yang dikandungnya, walaupun diproduksi oleh pabrik yang berlainan. Obat ini dikemas secara sederhana dan tidak memerlukan usaha promosi sehingga masyarakat dapat memperoleh obat yang murah dengan efek pengobatan yang sama (8).

Obat paten (= obat nama dagang) atau spesialite adalah obat milik perusahaan dengan nama khas yang dilindungi oleh hukum. Di belakang nama

paten tersebut selalu ada tanda bulatan dengan huruf R di dalamnya yang berarti Registered atau terdaftar (9).

Dalam hal ini obat paten menggunakan nama dagang yang beraneka ragam tergantung dari pabrik yang memproduksi walaupun zat berkhasiat atau jenis obat yang terkandung didalamnya sama. Untuk menarik pembeli dibuat kemasan yang mewah dan tiap pabrik perlu mempromosikan produksinya melalui berbagai cara yang mengakibatkan harga obat meningkat secara tidak rasional (8).

Untuk mendapatkan nama paten perusahaan harus mendaftarkannya di kantor milik Perindustrian Jakarta dan obat yang telah terdaftar mendapat perlindungan hukum terhadap pemalsuan atau peniruan untuk jangka waktu tertentu (10 tahun) untuk selanjutnya diperpanjang lagi (9).

Obat generik jauh lebih murah daripada obat dengan nama dagang. Namun masyarakat masih lebih menyukai obat paten daripada obat generik. Mereka menganggap obat paten lebih manjur dari obat generik meskipun sebenarnya zat berkhasiat yang dikandungnya adalah sama (9).

III.2 Tinjauan tentang Ampisilin

Ampisilin merupakan salah satu antibiotik dengan spektrum kerja yang luas meliputi banyak basil Gram-negatif yang tidak peka untuk pen-G, misalnya *Haemophilus influenzae*, *Coli*, *Salmonella* dan beberapa suku *Proteus*. Terhadap *Pseudomonas* dan *Enterococci* tidak aktif. Khasiatnya terhadap

kuman-kuman Gram-positif lebih ringan daripada penisilin-penisilin spektrum-sempit (10).

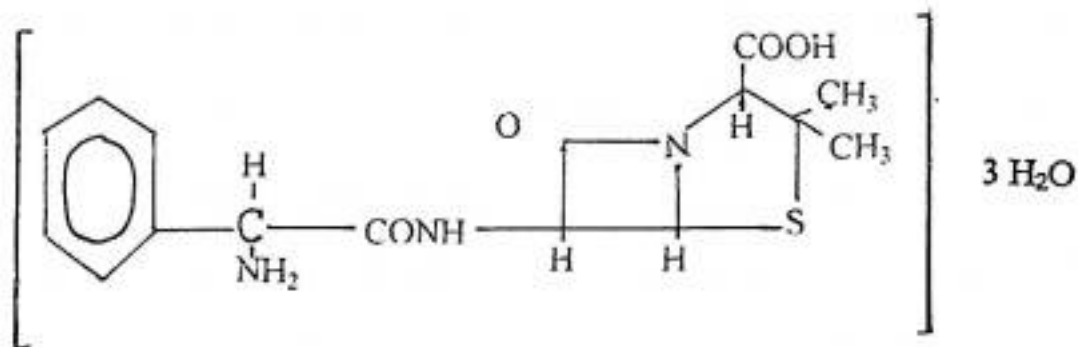
Pengikatan proteinnya jauh lebih rendah daripada pen-G atau pen-V, hanya 25%, sehingga difusinya ke dalam jaringan-jaringan juga lebih baik. Penetrasinya ke CCS ringan, namun dengan dosis tinggi sekali ternyata efektif pada meningitis (10).

Penggunaannya adalah pada bermacam-macam infeksi saluran nafas dan kemih, juga pada tifus, meskipun tidak seefektif kloramfenikol (10).

1. Sifat fisika kimia ampisilin (11,12)

a. Rumus kimia : $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$

b. Rumus bangun :



Asam-6-[(D(-)- α -aminofenilasetamido)]-penisilat trihidrat

c. Bobot molekul : 403,15

d. Nama kimia : Asam 6- (D (-) - aminofenilasetamido)) penisilat trihidrat

- e. Sinonim : Ampicillin trihydras
Ampicillinum trihydrate
- f. Pemerian : Serbuk hablur, putih, tidak berbau, atau hampir tidak berbau, rasa pahit.
- g. Kelarutan : Larut dalam 150 bagian air, praktis tidak larut dalam etanol (95%)P, dalam eter P dan dalam minyak lemak.

2. Stabilitas ampisilin (13)

Ampisilin peka terhadap hidrolisis di daerah cincin β -laktam. Profil laju pH menampakkan hidrolisis terkatalisis asam dan basa spesifik. Stabilitas maksimum pada pH 5,8. Dikarenakan terjadi dimerisasi, laju degradasinya meningkat dengan naiknya konsentrasi awal. Penambahan alkohol ke dalam larutan ampisilin menunjukkan perubahan stabilitas. Interkonversi hidrat-hidrat harus dicegah agar terjadinya perubahan ketersediaan hayati dapat dihindarkan. Laju dekomposisi ampisilin meningkat sejalan dengan kenaikan konsentrasi dekstrosa dan karbohidrat lain dalam larutan.

3. Mekanisme aksi ampisilin (10)

Dinding sel bakteri terdiri dari suatu rangkaian mukopeptida yang saling terikat satu dengan yang lain. Penisilin dan sefalosporin mencegah sintesis lengkap dari senyawa ini yang spesifik bagi bakteri dan disebut murein. Bila

sel bertumbuh dan plasmanya bertambah atau menyerap air dengan jalan osmosis, maka dinding sel yang tak sempurna itu akan pecah dan bakteri musnah. Dinding sel manusia dan binatang tidak terdiri dari *murein*, inilah mungkin sebabnya mengapa obat ini tidak toksis untuk manusia.

Antibiotika ini tidak dapat dikombinasi dengan bakterostatika, misalnya kloramfenikol, tetrasiklin, erithromisin dan asam fusidat, karena zat-zat terakhir menghambat pertumbuhan sel dan tentunya juga dindingnya.

Kombinasi dengan sulfonamida adalah pengecualian.

III. 3 Penetapan Kadar Ampisilin secara Kimia

1. Metode Iodometri (14)

Berdasarkan inaktivasi dari penisilin oleh alkali atau enzim spesifik penisilinase yang terjadi melalui pembukaan/pemecahan cincin β -laktam menghasilkan asam penicilloic.

Metode Iodometri, ada 2 cara pengujian dari larutan. Pertama, sampel ditambahkan NaOH atau penisilinase, didiamkan sebentar kemudian ditambahkan larutan Iodin. Sisa Iodin dititrasi dengan Natrium tiosulfat. Cara lain blanko, larutan Iodin ditambahkan secepatnya tanpa langkah inaktivasi. Iodin dititrasi kembali dengan tiosulfat.

2. Metode Spektrofotometri Ultra Violet-Visible (15, 16,17)

Pada metode spektrofotometri prinsipnya ialah pengukuran serapan radiasi oleh molekul pada panjang gelombang tertentu. Serapan radiasi terjadi



sebagai akibat interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau gugus kromofor yang terikat ausokrom.

Dua daerah pengukuran pada spektrofotometri UV-Vis, yaitu daerah radiasi ultra violet pada panjang gelombang 200-300 nm dan daerah radiasi sinar tampak (visible) pada panjang gelombang 380-780 nm. Informasi yang didapat antara lain adanya gugus berikatan rangkap atau terkonyugasi yang mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis.

Tahap analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Visible :

a. Pemilihan pelarut

Pelarut yang digunakan pada spektrofotometri UV-Vis harus memenuhi persyaratan sebagai berikut : tidak mengabsorpsi radiasi pada panjang gelombang pengukuran sampel, tidak mengandung sistem terkonyugasi pada struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang sedang dianalisis dan harus mempunyai kemurnian yang tinggi

b. Pemilihan panjang gelombang

Pada pengukuran harus dipilih panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang ini kepekaan analisis tinggi dan kurva serapan tetap lurus sehingga memenuhi hukum Lambert-Beer. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum.

gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum.

3. Inframerah (14)

Spesifitas dari absorpsi spektrum inframerah memungkinkan determinasi dari campuran penisilin. Metode ini biasanya dilakukan orientasi dalam Nujol.

4. Kolorimteri (14)

Berdasarkan cincin β -laktam dari molekul penisilin yang direaksikan dengan hidroksilamin, membentuk asam hidrokisamid. Penambahan ion feri pada larutan asam hidrokisamid menghasilkan warna yang sesuai untuk pengukuran kuantitatif.

III.4 Penentuan Aktivitas (Potensi) Antibiotik

Aktivitas (potensi) antibiotik dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambat terhadap mikroba. Suatu penurunan perubahan kecil tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi kemungkinan hilangnya aktivitas (12).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan berdasarkan kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup. Keberhasilan metode ini sangat tergantung pada spesifikasi kuman yang dipilih,

jika kumannya resisten terhadap antibiotika yang diuji maka akan menimbulkan kesalahan hasil penentuan aktivitas antibiotika (18)

Ada beberapa macam metode penentuan aktivitas mikrobiologis yang digunakan yaitu : (19,20,21,22,23)

1. Metode dilusi

Prinsip metode ini adalah suatu seri pengenceran larutan antibiotika dalam media pertumbuhan yang dimulai dari konsentrasi tinggi sampai rendah. Media pertumbuhan tersebut kemudian diinokulasi dengan kuman uji dalam jumlah tertentu. Setelah inkubasi akan nampak adanya hambatan pertumbuhan kuman. Metode ini dapat menentukan konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum. Berdasarkan media yang digunakan metode dilusi dapat dibedakan menjadi :

- Metode dilusi cair

Suatu seri tabung berisi media cair, masing-masing tabung mengandung antibiotika dengan konsentrasi yang berbeda-beda, dan kemudian diinokulasi dengan kuman uji. Setelah diinkubasi, hambatan pertumbuhan ditentukan dengan melihat atau mengukur tingkat kekeruhan yang terjadi. Konsentrasi hambat minimal secara makroskopis adalah konsentrasi dengan pengenceran tertinggi yang medianya tetap jernih.

- Metode difusi padat

Suatu seri lempeng berisi agar, masing-masing mengandung antibiotika dengan konsentrasi berbeda-beda. Isolat kuman ditanam pada lempeng agar tersebut. Setelah inkubasi, dapat ditentukan kadar hambat minimal.

2. Metode difusi

Metode ini berdasarkan difusi antibiotika dari pencadang ke dalam media yang telah ditanam kuman uji. Setelah inkubasi akan tampak daerah jernih di sekeliling pencadang dan daerah keruh mengelilingi daerah jernih tersebut. Daerah jernih menunjukkan daerah dimana terjadi hambatan pertumbuhan kuman. Diameter daerah jernih ini dikenal dengan sebutan diameter daerah hambatan. Diameter daerah hambatan akan sebanding dengan konsentrasi antibiotika dalam pencadang.

Berdasarkan pencadang yang digunakan, metode difusi dapat dibedakan menjadi :

- Metode difusi cakram

Metode ini menggunakan kertas sebagai pencadang. Kertas dijenuhkan dengan larutan antibiotika dan diletakkan pada permukaan agar. Adanya variabilitas produk kertas menyulitkan prediksi kandungan antibiotika secara tepat.

- Metode difusi silinder

Silinder logam atau gelas dapat dipakai sebagai pencadang yang berisi larutan antibiotika dengan kadar tertentu. Dengan metode ini jumlah larutan antibiotika dapat diatur untuk menjamin tersedianya antibiotika dalam pencadang selama inkubasi.

- metode difusi cetak lubang

Pencadangnya berupa lubang dengan diameter 4 - 6 mm pada media lempeng agar. Lubang tersebut diisi dengan larutan antibiotika dengan kadar tertentu.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri antara

lain : (22)

- komposisi media
- ♥ - pH media
- stabilitas obat
- ✓ - ukuran inokulum
- ketebalan media dalam lempeng
- lama inkubasi
- laju difusi antibiotika

Dalam penelitian ini digunakan metode difusi silinder logam untuk menentukan aktivitas antibakteri ampisilin. Hal ini didasarkan adanya beberapa keuntungan metode tersebut berupa : penggunaannya relatif lebih ekonomis,

rentang konsentrasi larutan antibiotika lebih luas, cukup teliti, dan reliabilitas tinggi untuk teknik in vitro (20,24).

III.5 Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika (25)

Dunia	: Tumbuhan
Divisi	: Protophyta
Klas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi (25)

Merupakan sel yang tunggal berbentuk bola. Tidak berspora. Termasuk gram positif, kelompok serupa untaian, warna kuning. Saproba atau patogen. *Staphylococcus aureus* kedapatan pada kulit, selaput lendir, bisul-bisul dan luka-luka.

BAB IV

METODE KERJA

IV.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

IV.1.1 Alat :

- Alat-alat gelas dalam laboratorium Kimia Farmasi
- pH meter (pHep Hanna)
- Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu)
- Otoklaf (Portable)
- Perangkat alat uji aktivitas mikrobiologis dalam laboratorium Mikrobiologi Farmasi
- Laminar Air Flow (Enviro)
- Inkubator
- Neraca analitik (Sartorius)

IV.1.2 Bahan :

- Ampisilin trihidrat PK (PT. Pharos Indonesia)
- Ampisilin kaplet generik dan paten 500 mg
- Dapar fosfat pH 5,2
- Dapar fosfat pH 8
- Larutan kalium tembaga (II) tartrat P
- Larutan ninhidrina P
- Larutan resorsin P
- Medium GNA
- Mikroba uji *Staphylococcus aureus*

IV.2 Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel berupa kaplet Ampisilin 500 mg diambil secara acak masing-masing 2 buah produk generik dan paten yang mengandung ampisilin trihidrat dengan nomor batch yang sama untuk tiap produk.

IV.3 Analisa Kualitatif Ampisilin (26, 27)

Diteteskan 0,1 ml larutan ninhidrina P 0,1 % b/v di atas kertas saring P, dikeringkan pada suhu 105°, dilapiskan 0,1 ml larutan uji 0,1% b/v, dipanaskan pada suhu 105° selama 5 menit, biarkan hingga dingin; terjadi warna lembayung muda.

Disuspensikan 10 mg dalam 1 ml air, ditambahkan 2 ml larutan kalium tembaga (II) tartrat P dan 6 ml air, segera terjadi warna violet.

Larutan contoh ditambahkan asam sulfat P, ditambahkan resorsin P, dipanaskan. Terbentuk warna kuning hijau.

IV.4 Analisa Kuantitatif Ampisilin

IV.4.1 Penimbangan Sampel

Masing-masing sampel kaplet ditimbang satu per satu dan masing-masing sampel ditimbang sebanyak 20 kaplet dan ditentukan berat rata-ratanya.

IV.4.2 Pembuatan larutan baku

Ditimbang 500 mg ampisilin trihidrat PK, dilarutkan dalam air secukupnya hingga 100,0 ml. Diencerkan 2,0 ml, dengan larutan dapar fosfat pH 5,2 P secukupnya hingga 100,0 ml. Dipipet 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; dan 5,0 ml ke dalam labu takar 10,0 ml dan dicukupkan

volumenya hingga 10,0 ml dengan dapar fosfat pH 5,2 sehingga diperoleh konsentrasi 10 bpj, 20 bpj, 30 bpj, 40 bpj, dan 50 bpj.

IV.4.3 Pembuatan larutan sampel

Ditimbang serbuk setara 250 mg ampisilin, dilarutkan dalam air secukupnya hingga 250,0 ml. Dikocok selama 30 menit, saring. Dipipet 2,0 ml dan dicukupkan volumenya hingga 100,0 ml dengan larutan dapar fosfat pH 5,2 P. Dipipet 10,0 ml ke dalam tabung kimia bersumbat, dipanaskan di atas tangas air 75° selama 30 menit, didinginkan, jika perlu ditambahkan air secukupnya hingga 10,0 ml.

IV.5 Pengukuran dengan Spektrofotometer UV-Vis

IV.5.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan pembanding konsentrasi 5 bpj diukur pada panjang gelombang 225-360 nm dan ditentukan panjang gelombang maksimum serapan ampisilin.

IV.5.2 Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku yang telah dibuat diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh.

IV.5.3 Pengukuran Serapan Larutan Sampel

Larutan sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh.

IV. 6 Penetapan Potensi Antibiotik Ampisilin

IV.6.1 Pembuatan medium GNA (28)

Komposisi medium :

Glukosa	10,0 g
Ekstrak yeast	4,0 g
Pepton	10,0 g
NaCl	2,5 g
Agar	15,0 g
Air suling hingga	1000 ml
pH 7,0 ± 0,2	

Seluruh bahan tersebut di atas dilarutkan dalam air suling kemudian dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan larut dan pHnya diatur dengan HCl 5 N sampai diperoleh pH 5,7 ± 0,1. Air suling yang hilang selama pemanasan diganti dengan penambahan air suling sampai 1000 ml. Disaring dengan kapas, kemudian medium tersebut disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Kemudian dibiarkan hingga suhunya mencapai 45-50°C. Selanjutnya pHnya diatur kembali dengan larutan NaOH 40% steril hingga diperoleh pH 7,0±0,2 di dalam Laminar Air Flow.

IV.6.2 Penyiapan bakteri uji

1. Peremajaan bakteri uji

Diinokulasikan secara aseptis 1 ose biakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada medium agar miring dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri uji dibuat dengan cara memasukkan NaCl fisiologis 0,9 % steril ke dalam medium agar miring dan permukaan agar yang ditumbuhi bakteri digesek perlahan-lahan dengan ose. Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam botol roux yang telah berisi media yang telah memadat., disebarakan dengan bantuan butir kaca steril kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu bakteri uji diencerkan dengan larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh transmitan 25% pada panjang gelombang 580 nm.

IV.6.3 Penyiapan larutan baku dan larutan sampel

Ditimbang seksama 50 mg masing-masing ampisilin baku dan sampel dan dilarutkan dengan dapar fosfat pH 8 hingga 100 ml selanjutnya dipipet sebanyak 20 ml dan diencerkan dengan dapar fosfat pH 8 hingga 100 ml. Dosis larutan = 100 µg/ml.

a. Dosis tinggi

Dipipet 1 ml larutan diatas dan diencerkan dengan dapar fosfat pH 8 hingga 50 ml. Dosis larutan 2 µg/ml.

b. Dosis menengah

Dipipet 1 ml larutan di atas dan diencerkan dengan dapar fosfat pH 8 hingga 100 ml. Dosis larutan 1 µg/ml

c. Dosis rendah

Dipipet 0,5 ml larutan di atas dan diencerkan dengan dapar fosfat pH 8 hingga 100 ml. Dosis larutan 0,5 µg/ml.

IV.6.4 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Disiapkan cawan petri steril sebanyak 9 buah dan diisi dengan medium GNA sebanyak 10 ml sebagai base layer. Setelah memadat, ditambahkan seed layer yaitu campuran 0,5 ml suspensi bakteri uji dan 5 ml media GNA lalu dihomogenkan. Selanjutnya dibiarkan memadat. Pencadang sebanyak 5 buah diletakkan di atas media inokulum yang telah memadat dan dipipet 0,2 ml masing-masing larutan baku dan sampel ke dalam pencadang. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zone hambatan yang terjadi diamati dan dilakukan pengukuran diameter zona hambatan dengan mistar geser.

IV.7 Pengumpulan dan Analisa Data

Data dikumpulkan dari hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis dan hasil pengukuran diameter zona hambatan secara mikrobiologis. Selanjutnya ditentukan masing-masing kadar dan potensi antibiotiknya dan dianalisis secara statistik.

IV.8 Pembahasan Hasil

Pembahasan hasil diuraikan berdasarkan hasil analisa data

IV.9 Pengambilan Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan hasil dapat disimpulkan perbandingan kadar dan aktivitas antibakteri ampisilin dalam sediaan generik dan paten.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil

Analisis kualitatif yang dilakukan terhadap kandungan ampisilin dalam sediaan ampisilin generik dan paten berbagai merek dengan cara uji warna menggunakan beberapa pereaksi spesifik memberikan hasil yang positif pada masing-masing pereaksi yang menunjukkan adanya ampisilin dalam tiap sediaan yang dianalisis, hasil analisa selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Analisis kuantitatif terhadap kadar ampisilin dalam sediaan generik dan paten secara spektrofotometri ultra violet-visible pada panjang gelombang 326 nm memberikan hasil persen kadar rata-rata : merek A (Generik I): 96,19 %; merek B (Generik II): 98,20 %; merek C (Paten I): 99,39 %; dan merek D (paten II): 99,97 %, hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Hasil pengujian secara mikrobiologis menggunakan metode difusi silinder berdasarkan pengukuran diameter zona hambatan ampisilin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil potensi antibiotik: merek A (Generik I) : 105,68%; merek B (Generik II) : 102,33 %; merek C (Paten I) : 106,91 %; dan merek D (Paten II) : 102,89%, hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

V.2 Pembahasan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ampisilin sediaan generik dan sediaan paten diambil secara acak dari beberapa apotik sedangkan ampisilin trihidrat PK diperoleh dari PT. Pharos Indonesia. Dari hasil uji warna dengan pereaksi spesifik menunjukkan bahwa bahan tersebut memenuhi syarat-syarat yang tercantum dalam pustaka.

Dalam pengerjaan sampel secara kimia, pembuatan larutan baku dan sampel dilakukan penambahan larutan dapar fosfat pH 5,2 untuk menjaga stabilitas ampisilin dan sesuai dengan prosedur yang tercantum dalam farmakope-farmakope. Telah diketahui bahwa ampisilin termasuk salah satu obat antibiotik yang kurang stabil dan dapat terurai menjadi senyawa-senyawa tidak aktif dan kadang-kadang toksis. Hal ini terutama dapat terjadi pada ampisilin dalam suatu sediaan generik atau sediaan paten, yang dapat mengalami peruraian atau penurunan kadar selama dalam penyimpanan di apotik atau toko obat.

Penentuan kadar ampisilin secara spektrofotometri UV-Vis ini didasarkan pada terjadinya serapan radiasi akibat interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul ampisilin yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau gugus kromofor pada struktur senyawanya yang dari hasil percobaan diperoleh serapan larutan ampisilin murni pada panjang gelombang maksimum 326 nm.



Pemilihan metode spektrofotometri dilakukan berdasarkan kriteria: kesederhanaan metode yaitu mengenai langkah dan waktu pengerjaan, resiko kegagalan tiap langkah dan kestabilan pereaksi serta spesifisitas metode, merupakan metode yang cukup sensitivitas untuk penentuan zat aktif dalam sediaan farmasi. Dan berdasarkan hasil penelitian (5) bahwa metode penetapan kadar ampisilin yang dianggap terbaik adalah metode spektrofotometri menurut British Pharmacopoeia, 1973 karena lebih spesifik dan teliti.

Dari hasil penentuan kadar dari masing-masing sampel sediaan generik (A dan B) dan sediaan paten (C dan D) didapatkan persen kadar rata-rata terendah adalah 96,19% (sampel A) karena ampisilin dalam sampel tersebut sebagian telah terurai membentuk senyawa yang memiliki struktur senyawa berbeda dengan struktur ampisilin sehingga tidak terdeteksi oleh spektrofotometer, sedangkan kadar rata-rata tertinggi adalah 99,97% (sampel D) karena ampisilin yang terurai dalam jumlah sedikit dan masih terdeteksi oleh spektrofotometer UV-Vis sebagai senyawa yang berstruktur yang hampir sama dengan ampisilin, dan pada sampel B dan C didapatkan persen kadar rata-rata yang cukup tinggi (98,20% dan 99,39%) sebab ampisilin yang tertinggal masih cukup banyak dan senyawa hasil peruraiannya masih terdeteksi sebagai ampisilin. Namun dari keseluruhan persen kadar rata-rata tersebut, semuanya memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia yaitu mengandung ampisilin tidak kurang dari 92,5 % dan tidak lebih dari 107,5% dari jumlah yang tertera pada

etiket. Dari hasil analisis statistik perbandingan hasil penetapan kadar ampisilin dalam sediaan generik dan paten (sampel merek A,B,C,D) menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) memperlihatkan tidak ada perbedaan nyata kadar ampisilin dalam sediaan generik dan paten.

Dari hasil uji mikrobiologis menggunakan metode difusi silinder dan berdasarkan pengukuran diameter zona hambatan ampisilin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan penetapan potensi antibiotik ampisilin diperoleh hasil bahwa aktivitas antibakteri (potensi) berbeda-beda tiap sampel namun harga potensi antibiotik masing-masing sampel yang diuji masih berada dalam batas rentang keyakinan. Sampel A diperoleh potensi sebesar 105,68% dengan batas keyakinan 90,26-124,02%, sampel B diperoleh 102,33% dengan batas keyakinan 60,56-174,66%, sampel C diperoleh 106,91% dengan batas keyakinan 77,85-148,35% dan sampel D diperoleh 102,89% dengan batas keyakinan 51,36-210,28%. Selanjutnya dari hasil analisis statistik perbandingan ampisilin sediaan generik dan paten secara mikrobiologis yaitu perbandingan aktivitas antibakteri ampisilin menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pengamatan diameter zona hambatan pada beberapa kelompok konsentrasi memperlihatkan tidak ada perbedaan nyata antara sediaan generik dan paten.

Jika diperhatikan antara persen kadar rata-rata dan potensi antibiotik masing-masing sampel generik dan paten, maka terlihat bahwa peningkatan kadar tidak selalu diikuti dengan peningkatan potensi antibakteri. Hal ini terlihat pada sampel A dan D, terlihat pada sampel D dengan kadar tertinggi memiliki potensi antibakteri yang lebih kecil dibandingkan sampel A dengan kadar terendah. Hal ini disebabkan karena pada sampel D terjadi peruraian ampisilin, walaupun dalam jumlah kecil namun membentuk senyawa yang aktivitas antibakterinya telah banyak berkurang tetapi secara spektrofotometri senyawa tersebut masih terdeteksi sebagai senyawa yang berstruktur hampir sama dengan ampisilin. Sedangkan pada sampel B dan C terlihat bahwa peningkatan kadar sampel B dan C diikuti pula oleh peningkatan potensinya. Hal ini kemungkinan disebabkan karena walaupun sampel C dan D mengalami peruraian seperti halnya sampel A dan D, namun hasil peruraiannya membentuk senyawa yang aktivitas antibakterinya belum banyak berkurang.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar kadar ampisilin tidak selalu diikuti dengan semakin besarnya potensi antibiotik sehingga dapat dinyatakan bahwa penetapan kadar dengan metode spektrofotometri tidak dapat menetapkan hanya kadar senyawa ampisilin saja, tetapi senyawa dari campurannya termasuk hasil degradasi/peruraian masih tetap terdeteksi sebagai senyawa ampisilin karena struktur yang hampir sama, sedangkan dari hasil uji mikrobiologis dapat menunjukkan adanya pengaruh senyawa ampisilin yang

paling aktif dan adanya senyawa hasil degradasi yang telah menyebabkan ampisilin berkurang aktivitasnya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan :

1. Kadar rata-rata untuk sampel generik (A dan B) = 96,19% dan 98,20% sedangkan sampel paten (C dan D) = 99,39% dan 99,97% sedangkan aktivitas antibakteri (potensi antibakteri) sampel A= 105,68%; B=102,33%; C=106,91%; D=102,89%.
2. Analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata kadar dan aktivitas antibakteri ampisilin dalam sediaan generik dan paten.

VI.2 Saran

Untuk mewujudkan tingkat kesehatan yang lebih baik dengan biaya yang lebih hemat disarankan menggunakan obat generik karena mempunyai mutu yang sama dengan obat paten dengan harga yang lebih murah.

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti ada tidaknya korelasi linier antara variabel kadar antibiotik yang ditetapkan secara spektrofotometri dan potensi antibakteri antibiotik tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anief, (1976), *Apa yang Saudara Ketahui tentang Obat*, PT. Gramedia, Jakarta, 92.
2. Soesilo, S., (1990), *Dengan Deregulasi dan Debirokratisasi di Bidang Farmasi Meningkatkan Pelayanan Obat untuk Masyarakat*, Proceeding Kursus Penyegar Ilmu Farmasi, Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang, 4-6.
3. Ditjen POM, (1989), *Informatorium Obat Generik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, xv.
4. Anonim, ((1989), *Pedoman Pengelolaan dan Pelayanan Farmasi Rumah Sakit yang Baik*, Asean, 34.
5. Murad, J., (1992), *Pemilihan Metode Analisis untuk Tetrasiklin, Ampisilin dan Prokain Benzil Penisilin*, *Majalah Cermin Dunia Farmasi*, (14), Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 17-24.
6. Tahir, K., (1990), *Uji Komparatif Beberapa Parameter Ketersediaan Hayati dari Dua Sediaan Generik dan Paten pada Hewan Uji Kelinci*, Skripsi Jurusan Farmasi, F.MIPA, Universitas Hasanudiin, Ujung Pandang.
7. Syahrir, M., (1991), *Profil Disolusi Komparatif Tablet Ampisilin Generik dan Paten*, Skripsi Jurusan Farmasi, F.MIPA, Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang.
8. Siregar, C. JP., (1990), *Pengawasan Mutu Obat Generik Berlogo*, Pustaka Medika, Jakarta, 142-146.
9. Widjajanti, V. N.; (1989), *Obat-obatan*, Kanisius, Yogyakarta, 27.

10. Tjay, T. H., Rahardja, K., (1978), *Obat-Obat Penting*, Edisi keempat, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 67-72.
11. Gennaro, A.R., et.al., (1990), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th edition, Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania, 813.
12. Ditjen POM, (1990), *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 345.
13. Connors, K.A., (1986), *Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi*, Terjemahan Gunawan, IKIP Semarang, Semarang, 178.
14. Higuchi, T., Brochman, H., (1961), *Pharmaceutical Analysis*, 4th ed., Interscience Publisher, New York, 597-602.
15. Garrat, D.C., et al, (1964), *The Quantitative Analysis of Drug*, 3rd ed. Illinois Charles C, Thomas Publisher Spring Field, 61-64.
16. Silverstein., Bassler., Morrill., (1984), *Penyidikan Spektrofotometri Senyawa Organik*, edisi IV, Terjemahan A,J Hartono dk, Erlangga, 205-308.
17. Mulja, M., Syahrani, A.,(1990), *Aplikasi Analisis Spektrofotometer UV- Vis*, Mecphiso Grafika, Surabaya, 3, 13-16, 26-27, 94.
18. Atmawijaya, S., (1988), *Analisis Mikrobiologi Obat, Makanan dan Minuman*, Jurusan Farmasi, Fak MIPA, ITB, Bandung, 54-71.
19. Departemen of Health and Social Security, (1982), *British Pharmacopoeia*, Medicines Commision, 30.
20. Umbreit,W.W., (1960), *Advance in Applied Microbiology*, Volume 2, Academic Press, New York, 69-92, 1493.
21. Colle, J.G., et al., (1989), *Practical Medical Microbiology*, 13th ed, Churchill Livingstone, New York, 161-169.

22. Jawetz. E., Joseph. L.M., and Edward. A.A., (1984), *Review of Medical Microbiology*, Lange Medical Publications, California, 128-129,137.
23. Burrows, W., (1969), *Textbook of Microbiology*, 17th ed, W.B. Saunders Company, Philadelphia and London, 564-570.
24. Pelczar, M.J., Chon E.C.S., (1986), *Microbiology*, 5th ed, Mc. Graw Hill Book Company, New York, 531-539.
25. Dwidjoseputro, D., (1994), *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Yogyakarta, 72.
26. Ditjen POM., (1990), *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 345.
27. Sie Kesejahteraan HMF ITB , (1979), *Card System dan Reaksi Warna*, Sie Kesejahteraan A.R.S. Praepandi, ITB, Periode 1978-1979, 230.
28. Kavanagh, F., et al., (1972), *Analytical Microbiology*, Volume 11, Academic Press, New York and London, 332.

Tabel I. Hasil Analisa Kualitatif Ampisilin dalam Sediaan Generik dan Paten

Sampel	Pereaksi			Keterangan
	X	Y	Z	
A	lembayung muda	violet	kehijauan	-
B	lembayung muda	violet	kehijauan	+
C	lembayung muda	violet	kuning kehijauan	+
D	lembayung muda	violet	kekuningan	+
P	lembayung muda	violet	kuning kehijauan	+

Keterangan :

A : Merek Generik I

B : Merek Generik II

C : Merek Paten I

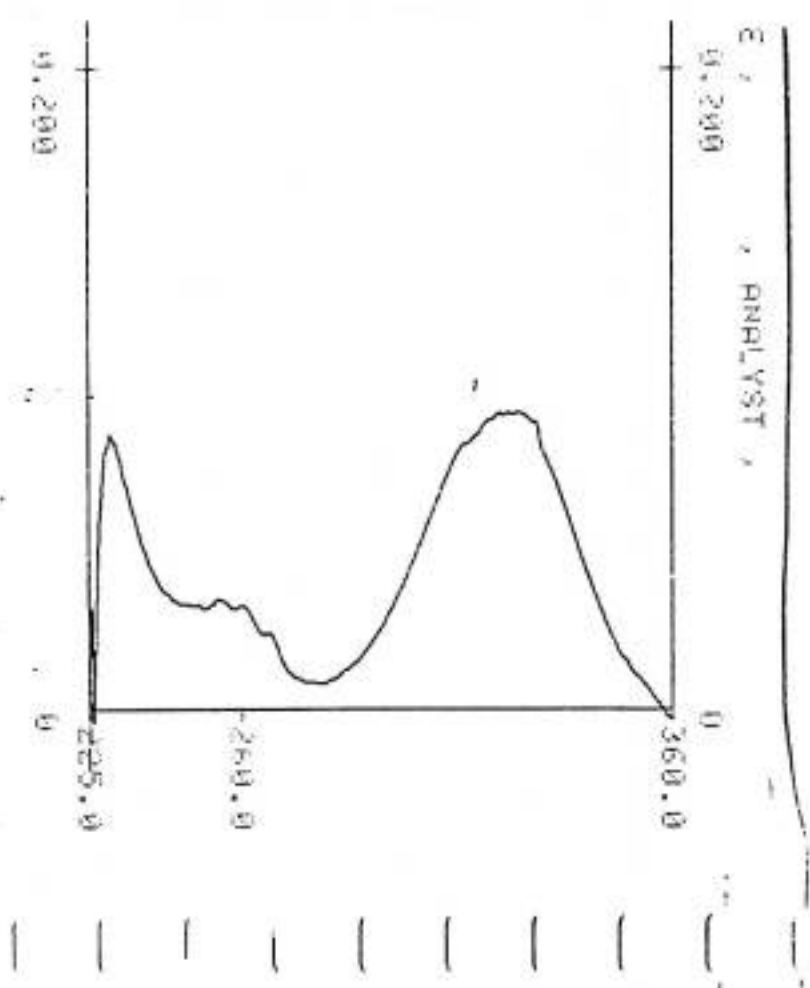
D : Merek Paten II

P : Pembanding (ampisilin murni)

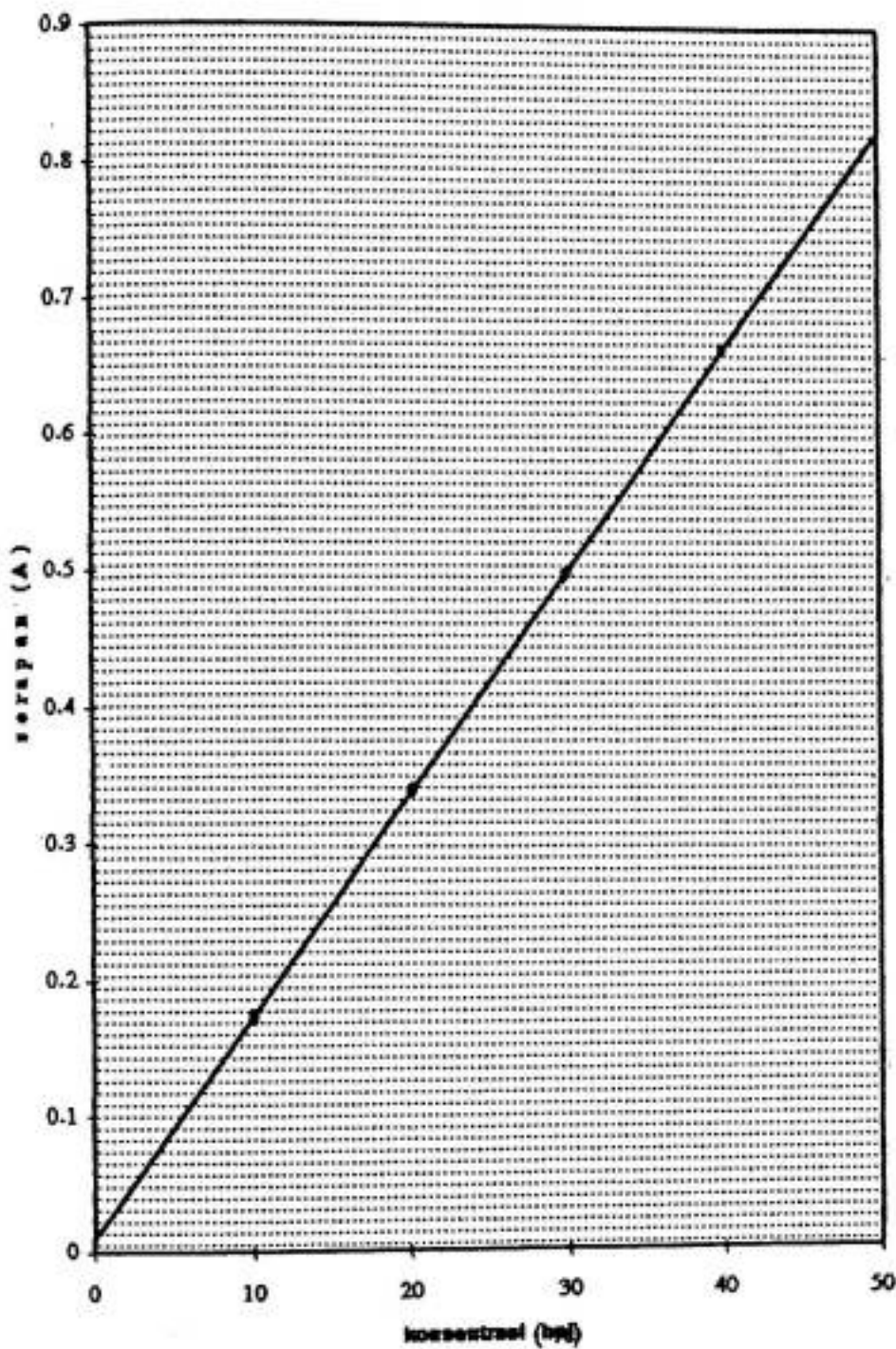
X : Uji ninhidrin

Y : Uji kalium tembaga (II) tartrat

Z : Uji resorsin



Gambar 1. Kurva Penentuan Panjang Gelombang maksimum larutan ampisilin murni



Gambar 2. Kurva baku serapan Ampisilin murni pada panjang gelombang 326 nm

Tabel 2. Hasil Penimbangan Sampel

Sampel	Berat 1 kaplet (g)	Berat 20 kaplet (g)	Berat rata-rata (g)
A	0,8015	17,6820	0,8841
B	0,6798	14,2993	0,7149
C	0,6827	16,1393	0,8069
D	0,8556	19,6500	0,9825

Keterangan :

A = Merek Generik I

B = Merek Generik II

C = Merek Paten I

D = Merek Paten II

Tabel 3. Hasil Pengukuran Serapan Larutan Baku Ampisilin

Konsentrasi (bpj)	Serapan (A)
10	0,201
20	0,305
30	0,506
40	0,624
50	0,856

Persamaan garis regresi : $y = a + bx$

dimana y = serapan

x = konsentrasi (bpj)

Berdasarkan rumus persamaan garis regresi, maka diperoleh :

$$a = 9,7 \times 10^{-3}$$

$$b = 0,01629$$

$$r = 0,992$$

maka persamaan garis regresi menjadi :

$$y = 9,7 \times 10^{-3} + 0,01629 x$$

Tabel 4. Hasil Perhitungan Kadar Ampisilin dalam Sediaan Generik dan paten

Sampel	Berat sampel (mg)	Serapan	Kadar (%)	kadar Rata-rata (%)
A	450,2	0,329	96,22	96,19
	446,1	0,320	94,42	
	457,6	0,340	97,93	
B	360,2	0,331	97,85	98,20
	362,9	0,340	99,85	
	351,3	0,320	96,91	
C	400,1	0,335	100,68	99,39
	412,7	0,337	98,71	
	415,3	0,341	98,78	
D	485,7	0,340	102,54	99,97
	499,8	0,342	100,25	
	497,3	0,330	97,11	

Tabel 5. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan (mm) Ampisilin Generik dan paten

Konsentrasi	Baku			A			B			C			D		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Tinggi	28,93	28,01	27,92	28,53	28,01	27,89	28,97	28,01	28,92	28,91	27,73	27,89	28,97	27,97	26,93
Menengah	28,05	26,88	27,11	28,03	26,84	27,09	26,88	27,01	27,89	28,08	26,85	27,12	27,89	26,87	27,09
Rendah	26,88	27,05	26,22	26,85	27,01	26,17	27,02	26,04	26,02	26,65	27,07	26,24	26,50	27,12	26,23

Keterangan :

A = Merek Generik I

B = Merek Generik II

C = Merek Paten I

D = Merek Paten II

1 = replikasi I

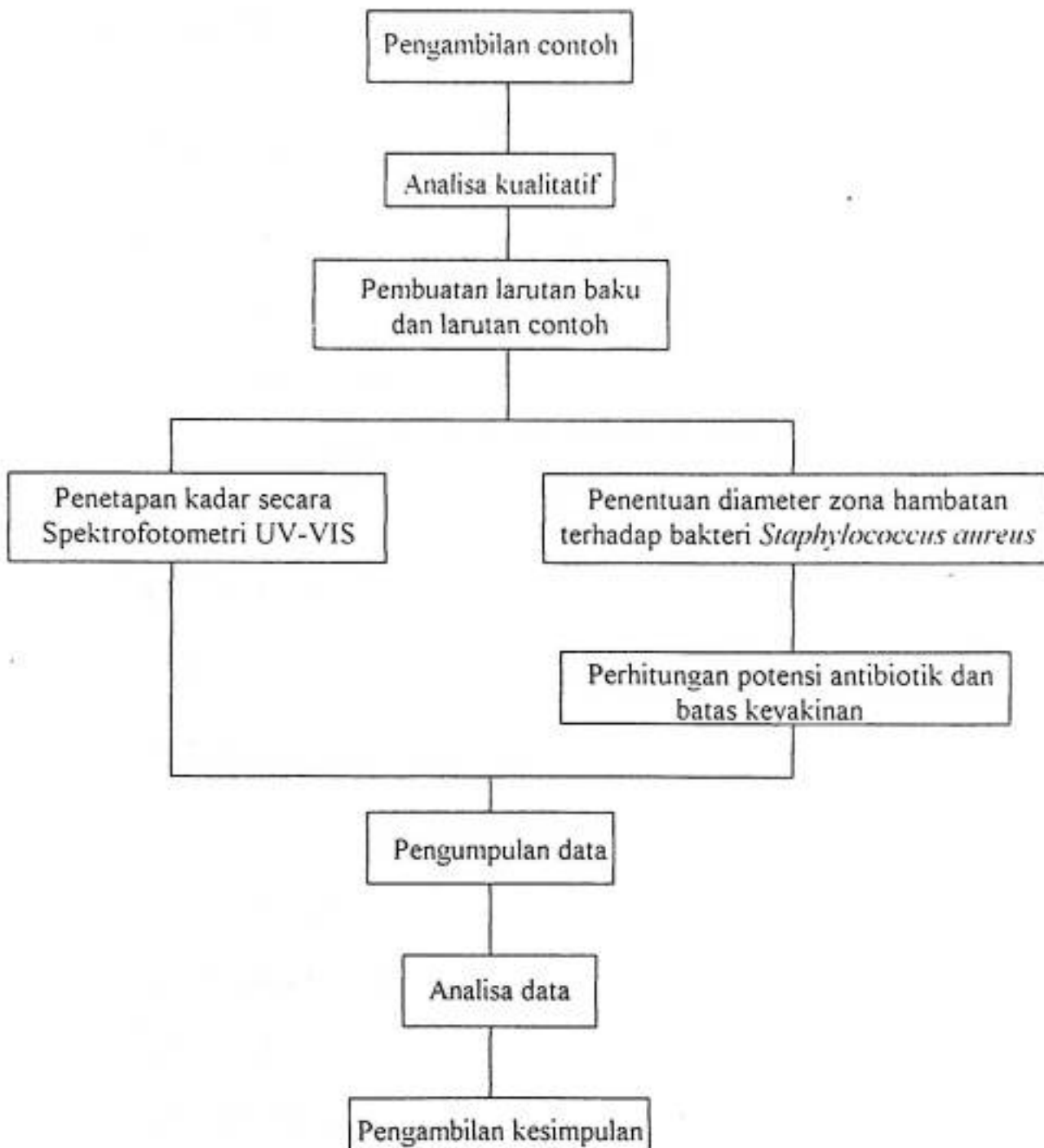
2 = replikasi II

3 = replikasi III

Tabel 6. Hasil Perhitungan Potensi Ampisilin dalam Sediaan Generik dan Paten

Sampel	Potensi (%)	Batas Keyakinan (%)
A	105,68	90,26 - 124,02
B	102,33	60,56 - 174,66
C	106,91	77,85 - 148,35
D	102,89	51,36 - 210,28

LAMPIRAN A
SKEMA KERJA



LAMPIRAN B

Contoh Perhitungan Kadar Ampisilin dalam Sediaan Generik dan Paten

Kadar ampisilin dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar ampisilin} = \frac{C \times \text{Vol. Sampel} \times \text{fp}}{B_s} \times 100 \%$$

Keterangan : C = konsentrasi sampel (mg/ml)

fp = faktor pengenceran

B_s = berat sampel (mg)

Misalnya merek A, diketahui :

$$y = 9,7 \times 10^{-3} + 0,01629 x$$

$$y = \text{serapan} = 0,329$$

$$x = C$$

$$x = \frac{y - 0,0097}{0,01629}$$

$$= 19,60 \text{ bpj}$$

$$= 19,60 \mu\text{g/ml}$$

$$x = 19,60 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{fp} = 250/2$$

$$B_s = 450,2 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar ampisilin} = \frac{19,60 \times 10^{-3} \text{ mg/ml} \times 100 \text{ ml} \times 250/2}{450,2 \text{ mg}} \times 100 \%$$

$$= 54,42 \%$$

$$\text{Untuk 1 kaplet} = 54,42 \% \times \text{berat rata-rata}$$

$$= 54,42 \% \times 884,1 \text{ mg}$$

$$= 481,1 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar ampisilin menurut etiket} = \frac{481,1 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100 \%$$

$$= 96,22 \%$$

LAMPIRAN C

Hasil Perhitungan Analisis Statistik Perbandingan Kadar Ampisilin Sediaan Generik dan Paten dengan metode Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	96,22	94,42	97,93	288,57	96,19
B	97,85	99,85	96,91	294,61	98,20
C	100,68	98,91	98,78	298,17	99,39
D	102,54	100,25	97,11	299,9	99,97
Total				1181,25	393,75

$$FK = \frac{(1181,25)^2}{12} = 116279,29$$

$$JKT = (96,22)^2 + (94,42)^2 + \dots + (97,11)^2 - 116279,29$$
$$= 53,09$$

$$JKP = \frac{(288,57)^2 + (294,61)^2 + (298,17)^2 + (299,9)^2}{3} - 116279,29$$
$$= 25,06$$

$$JKG = JKT - JKP$$
$$= 53,09 - 25,06$$
$$= 28,03$$

Keterangan :

FK = Faktor koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel Anava

db Total = banyaknya pengamatan - 1

$$= 12 - 1 = 11$$

db Perlakuan = banyak perlakuan - 1

$$= 4 - 1 = 3$$

dbG = db total - db perlakuan

$$= 11 - 3 = 8$$

A. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

$$1. \text{KTP} = \text{JKP}/\text{dbP} = 25,06/3 = 8,35$$

$$2. \text{KTG} = \text{JKG}/\text{dbG} = 28,03/8 = 3,50$$

B. Perhitungan Distribusi F (FH)

$$\text{FHP} = \text{KTP}/\text{KTG} = 8,35/3,50 = 2,38$$

Keragaman	DB	JK	KT	FH	FT	
					5%	1%
Perlakuan	3	25,06	8,35	2,38 ^{tn}	4,07	7,59
Galat	8	28,03	3,50			
Total	11	53,09				

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 < daripada F tabel pada taraf 1%, maka perbedaan perlakuan dikatakan nyata (pada F hitung ditandai dengan satu tanda *).
3. Jika F hitung < dari F tabel pada taraf 5% maka perbedaan perlakuan dikatakan tidak nyata (pada hasil F hitung ditandai dengan tanda tn)

Kesimpulan :

F hitung < F tabel, pada taraf 5% dan 1% berarti tidak ada perbedaan yang sangat nyata. Ini berarti tidak ada pengaruh perlakuan (merek) terhadap kadar ampislin dalam sediaan generik dan paten.

LAMPIRAN D

Contoh Perhitungan Penentuan Potensi Ampisilin Sediaan Generik dan Paten

Data Hasil Pengamatan (Sampel B)

Hasil Pengamatan	Diameter Zona Hambatan (mm)		
	1	2	3
Baku Tinggi (BT)	28,93	28,01	27,92
Baku Menengah (BM)	28,05	26,88	27,11
Baku Rendah (BR)	26,88	27,05	26,22
Sampel Tinggi (ST)	28,97	28,01	28,92
Sampel Menengah (SM)	26,88	27,01	27,89
Sampel Rendah (SR)	27,02	26,04	26,02

Pengolahan Data

Perlakuan	BT	BM	BR	ST	SM	SR	Blok
1	28,93	28,05	26,88	28,97	26,88	27,02	166,73
2	28,01	26,88	27,05	28,01	27,01	26,04	163
3	27,92	27,11	26,22	28,92	27,89	26,02	164,08
Jumlah	84,86	82,04	80,15	85,90	81,78	79,08	493,81

Tingkat dosis	Baku	Sampel	Jumlah
Rendah	BR = 80,15	SR = 79,02	
Menengah	BM = 82,04	SM = 81,78	
Tinggi	BT = 84,86	ST = 85,90	
Total	B = 247,05	S = 246,76	$\Sigma Y = 493,81$
K.Linier	LB = 4,71	LS = 2,7	$\Sigma L = 7,41$
K.Kuadrat	QB = 0,93	QS = 1,42	$\Sigma Q = 2,35$

$$B = BR + BM + BT$$

$$LB = BT - BR$$

$$QR = BR - 2BM + BT$$

Perhitungan :

$$a. \text{Faktor Koreksi} = (K) = \frac{\Sigma Y^2}{N}$$

$$= \frac{493,81^2}{18}$$

$$= 13547,13$$

$$b. \text{Jumlah kuadrat sediaan} = \frac{B^2 + C^2}{d \times n} - K$$

$$= \frac{247,05^2 + 246,76^2}{3 \times 3} - 13547,13$$

$$= 3,34 \times 10^{-3}$$

$$\text{c. Regresi (E)} = \frac{(LB + LC)^2}{2nh}$$

$$= \frac{(4,71 + 2,7)^2}{2 \times 3 \times 2}$$

$$= 4,58$$

$$\text{d. Kesejajaran} = \frac{LB^2 + LS^2}{2n} - E$$

$$= \frac{4,71^2 + 2,7^2}{2 \times 3} - 4,58$$

$$= 0,33$$

$$\text{e. Kuadrat} = \frac{(QB + QS)^2}{6nh}$$

$$= \frac{(0,93 + 1,42)^2}{6 \times 3 \times 2}$$

$$= 0,15$$

$$\text{f. Perbedaan kuadrat} = \frac{QB^2 + QS^2}{6n} - \text{Kuadrat}$$

$$= \frac{0,93^2 + 1,42^2}{6 \times 3} - 0,15$$

$$= 0,01$$

$$\text{g. Perlakuan} = \frac{84,86^2 + 82,04^2 + 80,15^2 + 85,90^2 + 81,78^2 + 79,08^2}{3} - 13547,13$$

$$= 11,61$$

$$h. \text{ Jumlah} = 28,93^2 + 28,05^2 + \dots + 26,04^2 + 26,02^2 - 13547,13$$

$$= 15,23$$

$$i. \text{ Blok} = \frac{166,73^2 + 163^2 + 164,08^2}{6} - 13547,13$$

$$= 1,23$$

Tabel Anava

Sumber variasi	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Rata-rata kuadrat
Sediaan	1	$3,34 \times 10^{-3}$	$3,34 \times 10^{-3}$
Regresi	1	4,58	4,58
Kesejajaran	1	0,33	0,33
Kuadrat	1	0,15	0,15
Perbedaan kuadrat	1	0,01	0,01
Perlakuan	2	11,61	5,81
Blok	2	1,23	0,62
Sisa	13	2,39	0,18
Total	17	15,23	

Perhitungan Ratio Potensi dan Batas Keyakinan

$$- I = \log \frac{\text{dosis sedang}}{\text{dosis rendah}} = \log \frac{\text{dosis tinggi}}{\text{dosis tengah}}$$

$$I = 0,3010$$

$$- t = 2,16 \text{ untuk derajat bebas } 13$$

$$- b = \frac{LB + LC}{\ln(d-1)} = \frac{4,71 + 2,7}{0,3010 \cdot 3 \cdot 2(3-1)}$$

$$= 2,05$$

$$- y_B = \frac{B}{dn} = \frac{247,05}{3 \times 3} = 27,45$$

$$- y_S = 27,42$$

$$M' = \frac{y_B - y_S}{b}$$

$$= \frac{27,45 - 27,42}{2,05}$$

$$= 0,01$$

$$P = \text{antilog } M'$$

$$= \text{antilog } 0,01$$

$$= 1,023$$

$$= 102,33 \%$$

$$C = \frac{E}{E - (S \times t^2)}$$

$$= \frac{4,58}{4,58 - (0,18 \times 2,16^2)}$$

$$= 1,22$$

$C' = 8/3$ konstanta batas ralat/koeffisien keyakinan untuk $h-1 = 8/3$

untuk batas keyakinan terhadap ratio potensi :

$$= CM \pm \sqrt{(C-1)(CM^2 + C'^2)}$$

$$= 1,22 \times 0,01 \pm \sqrt{(1,22-1)(1,22 \times 0,01^2 + 8/3(0,3010^2))}$$

$$= 0,0122 \pm 0,23$$

Log batas keyakinan terhadap ratio potensi : + 0,2422 dan - 0,2178

$$P1 = \text{antilog } +0,2422 = 1,7466 = 174,66 \%$$

$$P2 = \text{antilog } -0,2178 = 0,6056 = 60,56 \%$$

LAMPIRAN E

Hasil Perhitungan Analisa Statistik Aktivitas Antibakteri Ampisilin Sediaan Generik dan Paten dengan Metode Rancangan Acak Kelompok

Kelompok Konsentrasi	Perlakuan (Beda Merek)					Total Kelompok
	A	B	C	D	BAKU	
Tinggi	28,53	28,97	28,91	28,97	28,93	
	28,01	28,01	27,73	27,97	28,01	
	27,89	28,92	27,89	26,93	27,92	
Sub total	84,43	85,9	84,53	83,87	84,86	423,59
Menengah	28,03	26,88	28,08	27,89	28,05	
	26,84	27,01	26,85	26,87	26,88	
	27,09	27,89	27,12	27,09	27,11	
Sub total	81,98	81,78	82,05	81,85	82,04	409,7
Rendah	26,85	27,02	26,65	26,50	26,88	
	27,01	26,04	27,07	27,12	27,05	
	26,17	26,02	26,24	26,23	26,22	
Sub total	80,03	79,08	79,96	79,85	80,15	399,07
Total Perlakuan	246,44	246,76	246,54	245,57	247,05	1232,36

$$\begin{aligned}
 \text{a. db total} &= (srt) - 1 \\
 &= \text{banyaknya perlakuan} - 1 \\
 &= (3.3.5) - 1 \\
 &= 44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{db kelompok} &= r - 1 \\
 &= 3 - 1 \\
 &= 2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{db perlakuan} &= t - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{db galat} &= \text{db total} - \text{db kelompok} - \text{db perlakuan} \\
 &= 44 - 2 - 4 \\
 &= 38
 \end{aligned}$$

$$b. FK = \frac{\sum Y^2}{n} = \frac{1232,31^2}{45} = 33746,3986$$

$$JKT = 28,53^2 + 28,01^2 + \dots + 26,22^2 - FK$$

$$= 30,1867$$

$$JKK = \frac{423,59^2 + 409,07^2 + 399,07^2}{3.5} - FK$$

$$= 20,1591$$

$$JKP = \frac{246,44^2 + 246,76^2 + 246,54^2 + 245,57^2 + 247,05^2}{3.3} - FK$$

$$= 0,1373$$

$$JKG = JKT - JKK - JKP$$

$$= 30,1867 - 20,1591 - 0,1373$$

$$= 9,8903$$

$$c. KTK = JKK/(r - 1) = 20,1591/(3-1) = 10,0795$$

$$KTP = JKP/(t - 1) = 0,1373/(5 - 1) = 0,0343$$

$$KTG = JKG/(r-1)(t-1) = 9,8903/(3-1)(5-1) = 1,2363$$

d. untuk perlakuan : F hitung = KTP/KTG

$$= 0,0343/1,2363 = 0,0277$$

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	Ftabel	
					5%	1%
Kelompok	2	20,1591	1,0795	-	-	-
Perlakuan	4	0,1373	0,0343	0,0277 ^m	2,62	3,86
Galat	38	9,8903	1,2363			
Total	44	30,1867				

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 $<$ daripada F tabel pada taraf 1%, maka perbedaan perlakuan dikatakan nyata (pada F hitung ditandai dengan satu tanda *).
3. Jika F hitung $<$ dari F tabel pada taraf 5% maka perbedaan perlakuan dikatakan tidak nyata (pada hasil F hitung ditandai dengan tanda tn).

Kesimpulan :

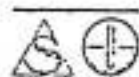
F hitung $<$ F tabel, pada taraf 5% dan 1% berarti tidak ada perbedaan yang sangat nyata. Ini berarti tidak ada pengaruh perlakuan (merek) terhadap aktivitas antibakteri ampisilin pada beberapa kelompok konsentrasi.

LAMPIRAN F

MAILING ADDRESS:
PO BOX 1079
JRCARIA 10390
INDONESIA

HEAD OFFICE:
JL. TAMBAK BAKUNG 0179
JAYAPURA 10140, INDONESIA
TEL (PHONES) : (0271) 210908 (10 LINES)
TELEX : 44455 SANDOC IA
TELEFAX : (0271) 272467

FACTORY:
DESA KARANG ASEM 0308
KICILMAYAN CIREBON
KARUPAIN BOGOR, INDONESIA
TELEPHONES : (021) 8732184 (5 LINES)
TELEX : 48374 SMI IA
TELEFAX : (021) 8753895



P.T. SANDOZ BIOCHEMIE FARMA INDONESIA

CERTIFICATE OF ANALYSIS


Product	:	AMPICILLIN TRIHYDRATE COMPACTED
Batch No.	:	355 M 4K 04500128
Manufacture date	:	November 1994
Expiry date	:	November 1999

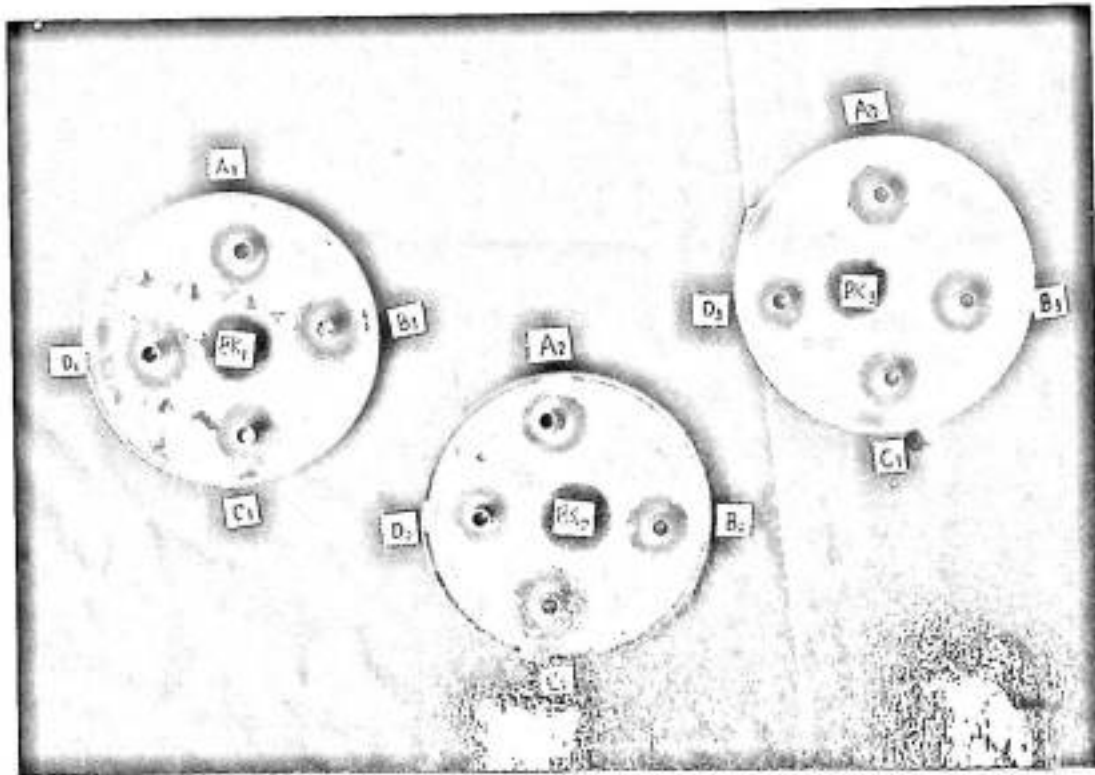
Appearance	:	Corresponds
Odour	:	Corresponds
Identity I.R.	:	Corresponds
Optical Rotation (degree)	:	Corresponds
Crystallinity	:	Corresponds
Appearance of Solution (HCl)	:	Corresponds
Appearance of Solution (Ammonia)	:	Corresponds
pH	:	4.63
Water content (%)	:	13.64
Sulphated Ash (%)	:	Less than 0.1
Heavy metals (ppm)	:	Less than 20
Bulk Density (g/ml)	:	0.63
Content Mercurimetric (%)	:	98.52
Content HPLC (%)	:	98.95

06

We certify that the above mentioned product is in conformity with the requirements of SP 08, USP XXII.

PT SANDOZ BIOCHEMIE FARMA INDONESIA


Dra. Syamsiah R. Syamsunu S.I.K. 1054
Quality Assurance Manager



Gambar 3. Foto Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ampisilin Sediaan Generik dan Paten

Keterangan :

BK = Baku pembanding

A = Merek Generik I

B = Merek Generik II

C = Merek Paten I

D = Merek Paten II

1 = Konsentrasi Tinggi

2 = Konsentrasi Menengah

3 = Konsentrasi Rendah