

STUDI BIOEKIVALENSI KAPSUL AMPISILINA (GENERIK) PADA KELINCI

A BIOEQUIVALENCE STUDY OF AMPICILLIN (GENERIC PRODUCTS) IN RABBITS

Djoko Wahyono dan Nurlaila
Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Penggunaan obat dalam bentuk generik saat ini sudah sangat digalakkan oleh Pemerintah. Produksi sediaan tersebut oleh pabrik farmasi yang ditunjuk oleh Pemerintah sudah menunjukkan perkembangan yang menggembirakan. Namun pemantauan produk generik dipasaran berdasarkan kualitas bioekivalensi masih perlu ditingkatkan.

Ampisilina salah satu antibiotika yang mempunyai spektrum luas dan merupakan antibiotika untuk terapi pilihan penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Atas, banyak diproduksi dalam bentuk generik.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat kinetika absorpsi kapsul ampisilina generik dibandingkan dengan ampisilina produk paten.

Enam kelinci jantan yang diambil secara acak Berat Badan (B/B) = 2,0 - 2.5 kg digunakan dalam percobaan ini. Setiap ekor kelinci mendapat perlakuan dua kali berturut-turut dengan ampisilina generik dan produk paten.

Kelinci yang sebelumnya dipuasakan selama 24 jam, diberi kapsul ampisilina generik 500 mg secara oral dosis tunggal. Pada menit-menit ke: 5 s/d 330 (13 waktu sampling) kadar ampisilina utuh di dalam darah dipantau secara spektrofourometri pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum 350 dan 420 nm. Binatang percobaan tersebut diistirahatkan selama 1 minggu (wash-out periode) untuk menghilangkan ampisilina di dalam darah, kemudian diberi kapsul ampisilina produk paten 500 mg secara peroral, dan pemantauan dilakukan seperti pada pemberian pertama.

Hasilnya menunjukkan bahwa kecepatan absorpsi dua bentuk sediaan obat tersebut tidak memberikan perbedaan yang bermakna. Hal ini ditunjukkan dengan harga waktu paro absorpsi berturut-turut untuk produk generik dan paten 27,09 dan 23,01 menit ($P > 0,05$). Dalam hal jumlah obat yang diabsorpsi (Area Under the Curve = AUC), produk generik ($3,211.25 \pm 635.23 \mu\text{g jam/ml}$) yang diuji lebih besar dibanding produk paten ($2,425.68 \pm 895.26 \mu\text{g jam/ml}$) ($p < 0.05$).

Kata kunci : ampisilina , produk generik, bioekivalensi.

ABSTRACT

The use of generic medicine in health services has strongly been suggested by government. Production of those type of medicine by government appointed pharmaceutical manufacturers has shown a good progress. However, monitoring to those products in the market, based on the bioequivalence quality, still need to be improved. An example of medicine produced in generic form is Ampicillin, one of the broad spectrum antibiotic effective to treat upper respiratory tract infections.

The aim of this research was to evaluate the bioavailability of generic ampicillin capsules (500 mg) compared to the patented product. The research was carried out as follow: six male rabbits weighing 2.0 - 2.5 kg were assigned to a cross - over design to receive both products orally after 24 hour fasting. The generic and patented products were given to the rabbits with a week wash-out period. Following drug administration, the blood samples (11 samples) were drawn from the marginal ear vein at designated time (5-330 minutes) to

analyse unmetabolized ampicillin fluorometrically. Detection of the ampicillin was recorded at maximum excitation (350 nm) and maximum emission (420 nm) wavelengths.

The result showed that the AUC value of the generic product ($3,211.25 \pm 635.23 \mu\text{g hour/ml}$) was significantly higher than that of patented product ($2,425.68 \pm 895.26 \mu\text{g hour/ml}$) ($p < 0.05$). The peak level of ampicillin (C_{max}) was significantly higher for the generic ($17.00 \pm 5.10 \mu\text{g/ml}$) than patented product ($11.25 \pm 2.75 \mu\text{g/ml}$), while time to reach C_{max} was not significantly different between the two products, ie. 77.34 ± 16.70 minutes (generic) and 82.48 ± 13.57 minutes (patented).

The study concluded that the ampicillin capsules in generic form had a better bioavailability than patented product.

Key words: ampicillin, generic product, bioequivalence

PENDAHULUAN

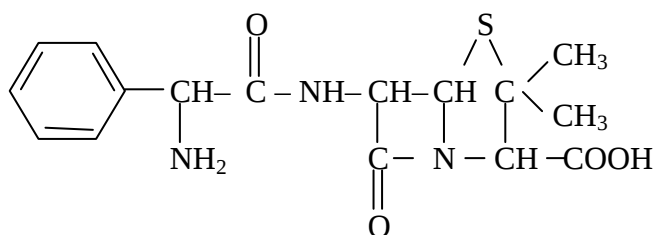
Penulisan resep obat-obat generik telah digalakkan oleh Pemerintah. Penyediaan preparat-preparat tersebut oleh pabrik farmasi yang ditunjuk oleh Pemerintah sudah menunjukkan perkembangan yang mengembirakan. Namun pemantauan produk generik dipasaran berdasarkan kualitas bioekivalensi masih perlu ditingkatkan.

Ampisilina merupakan salah satu antibiotika yang mempunyai spektrum luas dan merupakan antibiotika untuk terapi pilihan penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Atas (Brown, dan Arced, 1961). Sediaan ini banyak diproduksi dalam bentuk generik.

Secara umum proses absorpsi suatu produk farmasi tergantung pada pelepasan bahan aktif produk tersebut, dan terlarut dalam cairan tempat absorpsi. Pelepasan bahan aktif obat dari bentuk produknya sangat tergantung pada formulasi, kualitas bahan baku, dan keadaan fisiologis penderita (Gibaldi, 1984; Ritschel, 1988).

Profil kinetika absorpsi dapat dipantau dari pengukuran kadar obat di dalam darah pada waktu-waktu pengambilan cuplikan tertentu. Kecepatan absorpsi digambarkan oleh tiga parameter farmakokinetik, yakni : konsentrasi puncak obat di dalam darah, waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi puncak, dan daerah di bawah kurva konsentrasi dalam darah vs waktu (Ritschel, 1988).

Ampisilina adalah senyawa sintetik golongan penisilina, yang aktif disamping terhadap kokus Gram positif, basil Gram positif, kokus Gram negatif, juga efektif bekerja terhadap sejumlah bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* atau *Proteus mirabilis*. Karena itu, ampicilina dikelompokkan ke dalam antibiotika spektrum luas. Sebagai antibiotika, ampicilina merupakan obat pilihan dalam terapi Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA), terutama pada anak-anak. Senyawa tersebut, (gambar 1) tahan terhadap asam lambung, sehingga dapat diberikan per oral.



Gambar 1. Struktur kimia ampicilina (asam 6 D (-) - α - amino - fenilasetamido) penisilamat.

Adanya gugus -NH_2 pada rantai samping inti beta laktam akan menaikkan aktivitasnya terhadap basili Gram negatif (Saunders, dan Narunen, 1976). Meskipun demikian, ampicilina peka terhadap pengaruh penisilinase dan beta laktam, sehingga tidak efektif terhadap organisme yang mampu memproduksi enzim-enzim tersebut. (Wise, 1983). Kadar Hambat Minimal (MIC) antibiotika ini terhadap Gram positif dan negatif sangat bervariasi. Harga MIC berkisar dari 0,02 mg/ml darah (Richer, dan LeBel, 1997).

Obat yang diberikan dalam bentuk sediaan yang berbeda dapat memberikan perbedaan dalam jumlah dan kecepatan obat tersebut mencapai sirkulasi sistemik. Variasi yang terjadi dapat disebabkan oleh dua faktor penting: faktor fisiologis penderita (pasien) dan faktor formulasi bentuk sediaan (Gibaldi, 1984). Faktor formulasi dapat berupa: bahan baku, bahan tambahan yang dipergunakan, serta cara/proses pembuatan sediaan tersebut. Tiga faktor tersebut mempunyai pengaruh yang sangat dominan.

Profil farmakokinetika absorpsi dari suatu sediaan dapat dipantau dengan melakukan pengukuran kadar obat di dalam darah setelah pemberian suatu sediaan, kemudian parameter-parameter yang dihitung adalah (Ritschel, 1988): kadar puncak di dalam darah (C_p maks), waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar puncak (T_p maks), dan daerah dibawah kurva kadar obat dalam darah vs waktu (AUC)

Jika faktor fisiologis dapat dikendalikan (menggunakan binatang percobaan yang homogen), maka perbedaan kecepatan absorpsi hanya disebabkan oleh perbedaan formulasi.

Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB) telah menggariskan syarat-syarat bahan baku serta proses dispensing (pencampuran) obat/produk obat. Jika pelepasan bahan aktif tidak mengalami hambatan, maka kinetika absorpsi obat generik diharapkan akan menunjukkan hasil yang tidak berbeda dengan obat paten yang digunakan sebagai standar dalam penelitian ini. Harga AUC dan harga C_p maks akan tidak berbeda dan T maks dicapai pada saat yang sama. Dengan demikian jumlah dan kecepatan untuk mencapai sirkulasi sistemik akan tidak berbeda.

METODOLOGI

Bahan dan alat. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah bahan-bahan pro analisa kecuali ampisilina dan heparin, yaitu : asam trikloroasetat, Formaldehida, Natrium hidroksida, alkohol 95%, (semua produk dari E. Merck). Ampisilina anhidrat (kualitas farmasi) diperoleh atas jasa baik dari P.T. New Interbat Pharmaceutical Labs, dan Heparin (Leo).

Kelinci jantan yang dipergunakan adalah kelinci lokal (sebanyak 6 ekor) dengan berat badan berkisar antara 2,0 kg - 2,5 kg.

Alat untuk penetapan kadar ampisilina adalah: Spektrofourometri Hitachi 204 A dengan recorder Hitachi QD 15, dan pH meter Accument, Model 230 A (Fisher).

Penetapan kadar ampisilina di dalam darah. Ampisilina di dalam darah ditetapkan dengan cara spektrofourometri menurut Jukso, W.J. (1977). Seratus (100) mikroliter darah ditambah 1,90 ml larutan TCA 15%, dalam dapar sitrat (0,25 M, pH 2,0), kemudian dipusingkan (2500 rpm; 10 menit). Ambil 1,0 ml beningan, ditambah 0,5 ml formaldehid 7% di dalam dapar sitrat (0,4 M; pH 2,0), dipanaskan pada 90°C selama 2 jam. Setelah larutan dingin, ditambahkan NaOH 2N sampai mencapai volume 2,0 ml, dan intensitas fluoresensi dibaca pada panjang gelombang maksimum eksitasi (350 nm) dan emisi (420 nm). Setiap kali pembacaan sampel selalu disertai dengan pembacaan larutan baku ampisilina yang telah diketahui kadarnya. Kadar ampisilina diperoleh dengan memasukkan nilai intensitas fluoresensi pada garis persamaan kurva baku yang diperoleh.

Preparasi kurva baku ampisilina. Dibuat satu seri larutan ampisilina di dalam dapar sitrat (0,25 M; pH 2,0): kadar 1, 2, 3, 4, dan 5 $\mu\text{g/ml}$. Untuk pembacaan diambil 100 μl larutan baku ditambah 1,9 ml larutan TCA 15% di dalam dapar sitrat (0,25 M; pH 2,0), dipusingkan (2500 rpm ; 10 menit). Ambil 1,0 ml beningan, kemudian ditambah 0,5 ml formaldehid 7% di dalam dapar sitrat (0,4 M; pH 2,0), dipanaskan pada 90°C selama 2 jam. Setelah larutan dingin, ditambahkan NaOH 2N sampai mencapai volume 2,0 ml, dan intensitas fluoresensi dibaca pada panjang gelombang maksimum eksitasi (350 nm) dan emisi (420 nm).

Perolehan kembali kadar ampisilina dalam darah. Perolehan kembali (*Recovery*) ampisilina di dalam darah ditetapkan dengan memasukkan satu seri larutan ampisilina yang telah diketahui kadarnya : 1, 5, 10 $\mu\text{g/ml}$ ke dalam darah. Larutan ini kemudian diperlakukan sama seperti pada pembuatan kurva baku, dengan menyertakan satu seri larutan baku ampisilina pada setiap pembacaan intensitas fluoresensi.

Kinerja absorpsi ampisilina pada kelinci. Kapsul ampisilina produk generik diberikan pada 6 ekor kelinci jantan (BB 2,0 - 2,5 kg) dengan dosis 500 mg/kelinci. Sebelum pemberian, kelinci dipuasakan selama 24 jam dan diberi minum *ad libidum*. Kemudian pada menit-menit ke: 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 210, 270, 330 dan 390 darah diambil dari vena marginalis kelinci. Ampisilina yang tidak mengalami perubahan ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri dengan metode seperti yang telah disebutkan di muka.

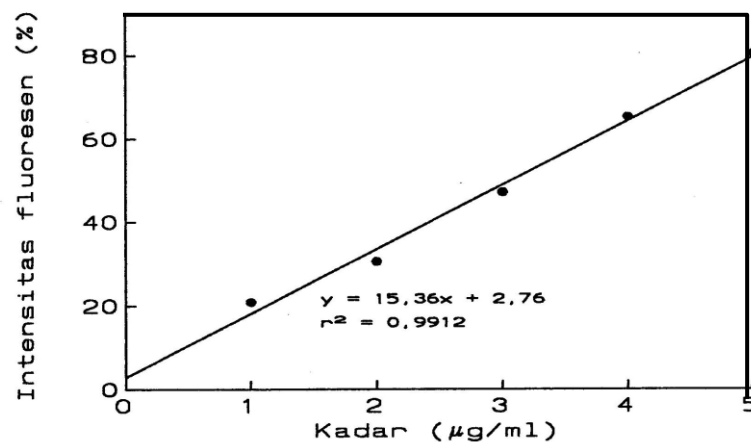
Dengan cara yang sama, setelah kelinci didiamkan selama seminggu (*Wash-out periode*), diberikan kepada sekelompok kelinci tersebut kapsul ampisilina produk paten. Kadar ampisilina yang tidak mengalami perubahan di dalam darah ditetapkan. Dihitung parameter farmakokinetika absorpsi, kemudian dibandingkan antara parameter produk paten dan generik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan kadar ampisilina dalam darah.

Kurva baku dibuat dari satu seri kadar: 1, 2, 3, 4, 5, 10 µg/ml (Gambar 2). Untuk penetapan harga perolehan kembali (*recovery*) dilakukan dengan menambahkan ampisilina ke dalam darah blangko sehingga diperoleh kadar 1, 5, 10 µg/ml darah (Tabel I).

Terlihat bahwa metode ini memberi harga perolehan kembali yang relatif tinggi pada kadar kecil (1 µg/ml), menengah (5 µg/ml) dan tinggi (10 µg/ml). Hal ini menunjukkan bahwa metode analisisnya spesifik dengan kata lain mampu mengukur kadar ampisilina sebenarnya ("*true value*").



Gambar 2. Kurva baku ampisilina dalam pelarut dapar sitrat

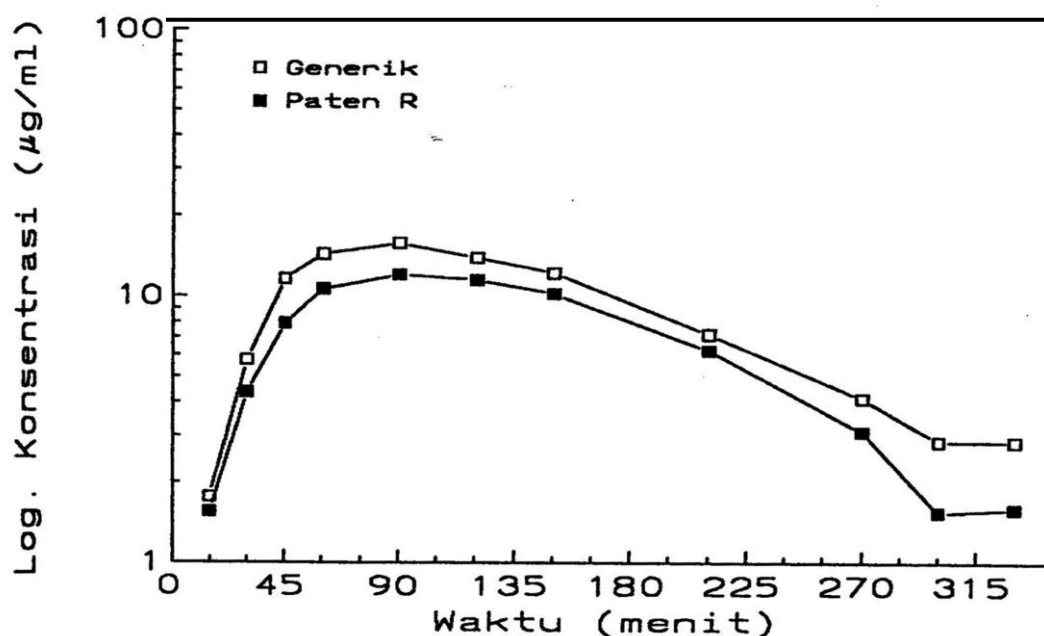
Metode ini juga cukup peka karena dapat menetapkan ampisilina sebesar 1 µg/ml, padahal Kadar Hambat Minimal sediaan ini didalam darah (*Minimum Inhibitory Concentration = MIC*) adalah 20 µg/ml. Dua syarat yang sangat penting didalam farmakikinetika telah terpenuhi dengan metode ini.

Kinetika absorpsi ampisilina.

Hasil pengukuran kadar ampisilina dalam darah vs waktu pada 6 kelinci untuk kedua produk dapat terlihat pada Tabel II, dan kurva kadar rata-rata dalam darah dari kelompok kelinci vs waktu cuplikan terlihat pada Gambar 3.

Tabel I. Harga perolehan kembali ampisilina yang ditambahkan ke dalam sampel darah.

Kadar yang ditambahkan ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar yang ditemukan ($\mu\text{g/ml}$)	% Perolehan kembali	% Rata- rata
1	0,94 0,89 0,97	94,0 89,0 97,0	$93,33 \pm 4,04$
5	5,02 5,06 5,27	100,4 101,2 105,4	$102,33 \pm 3,06$
10	10,20 10,79 10,09	102,0 107,9 100,9	$103,60 \pm 3,30$



Gambar 3. Kurva kadar rata-rata obat dalam darah setelah pemberian per-oral ampisilina 500 mg kepada kelinci jantan (rata-rata dari 6 ekor kelinci)

Perhitungan parameter farmakokinetika dilakukan dengan metode STRIPE (Tabel III). Dari analisis statistik dengan uji t, menunjukkan bahwa harga C_p maks. produk generik lebih tinggi dibanding C_p maks. produk paten secara bermakna ($P < 0,05$). Sedangkan harga T maks. tidak memberikan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$). Waktu paroh absorpsi dari kedua produk tidak memberikan perbedaan yang bermakna. Hal ini memberikan indikasi bahwa dalam waktu yang sama kedua produk tersebut dapat mencapai sirkulasi sistemik dan dapat menimbulkan efek farmakologis.

Tabel II. Kadar rata-rata ampisilina dalam darah setelah pemberian per-oral 500 mg kepada kelinci jantan (rata-rata dari 6 ekor kelinci)

Waktu (menit)	Kadar $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)	
	Produk Generik	Produk paten R
15	1,17 $\pm$ 1,22	1,55 $\pm$ 1,61
30	5,76 $\pm$ 4,95	4,38 $\pm$ 2,78
45	11,61 $\pm$ 8,54	7,92 $\pm$ 4,38
60	14,36 $\pm$ 7,96	10,63 $\pm$ 4,36
90	15,75 $\pm$ 4,65	12,00 $\pm$ 2,65
120	13,89 $\pm$ 4,55	11,60 $\pm$ 4,63
150	12,17 $\pm$ 4,78	10,20 $\pm$ 4,22
210	7,20 $\pm$ 2,92	6,26 $\pm$ 2,53
270	4,14 $\pm$ 1,88	3,10 $\pm$ 1,85
300	2,86 $\pm$ 0,74	1,54 $\pm$ 1,10
330	2,86 $\pm$ 1,66	1,59 $\pm$ 1,20

Tabel III. Parameter farmakokinetika absorpsi ampisilina pada kelinci jantan (rata-rata dari 6 ekor kelinci).

Parameter	Harga parameter farmakokinetika $\pm$ SD		Keterangan
	Produk Generik	Produk paten A	
A U C ($\mu\text{g} \cdot \text{jam/ml}$)	3211,246 $\pm$ 635,23	2425,68 $\pm$ 895,26	Bermakna ($p < 0,05$)
Tp maks (menit)	77,340 $\pm$ 16,70	82,48 $\pm$ 13,57	Tidak bermakna ($p > 0,05$)
Cp maks ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	17,004 $\pm$ 5,10	11,95 $\pm$ 2,75	Bermakna ($p < 0,05$)
t $\frac{1}{2}$ abs (menit)	27,090 $\pm$ 6,02	23,03 $\pm$ 10,42	Tidak bermakna ($p > 0,05$)

Dapat terlihat pada Tabel III bahwa produk generik mempunyai konsentrasi puncak yang lebih tinggi dibanding produk paten. Kalau dilihat lebih lanjut, maka ada satu parameter lagi yang memberikan indikasi bahwa produk generik mempunyai ketersediaan hayati yang lebih unggul. Harga AUC produk generik (3211,24 $\mu\text{g} \cdot \text{jam/ml}$) lebih besar dibanding AUC produk paten (2425,58 $\mu\text{g} \cdot \text{jam/ml}$) secara bermakna ($P < 0,05$). Parameter ini menunjukkan besarnya jumlah obat yang masuk ke dalam sirkulasi sistemik.

KESIMPULAN

Dari data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa produk ampisilina generik bioekivalen (memberikan pola absorpsi yang tidak berbeda nyata) dengan produk paten.

Kecepatan mencapai sirkulasi sistemik dari produk generik sama dengan produk paten. Sedangkan jumlah obat yang diabsorpsi (yang masuk ke dalam sirkulasi sistemik) dan kadar puncak produk ampisilina generik bahkan lebih besar dibanding produk ampisilina paten.

DAFTAR PUSTAKA.

- Brown, D.M. and Acred, P., 1961, Pembritin-a new Broad Spectrum Antibiotic, *Brit. Med. J.*, **2**: 191 – 199.
- Gibaldi, M., 1984, *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*, 3rd edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1-2; 181-186.
- Jukso, W.J., 1977, Fluorometric Analysis of Ampicillin in Biological Fluids, *J. Pharm. Sci.*, **60** : 728-732.
- Richer, M., Le Bel, M., 1997, Upper Respiration Tract Infections, dalam Di Piro dkk., (ed), *Pharmacotherapy, a Physiology Approach*, 3rd edition, Appleton & Lange, Stanford, 2017 – 2035.
- Ritschel, W.A., 1988, *Handbook of Basic Pharmacokinetics*, 3rd edition, Drug Intelligence Publications Inc. Hamilton, 147 - 268
- Saunders, L. dan Natunen. T. 1976 : A four parameter model for oral drug absorption, *J. Pharm, Pharmacol.*, **28**: 572 - 576
- Wise, R., dan Lebel, M., 1983, A review of the antimicrobial and pharmacological properties of the penicillins and cephalosporins, *Res. Clin. Forums.*, **5**: 7 - 11