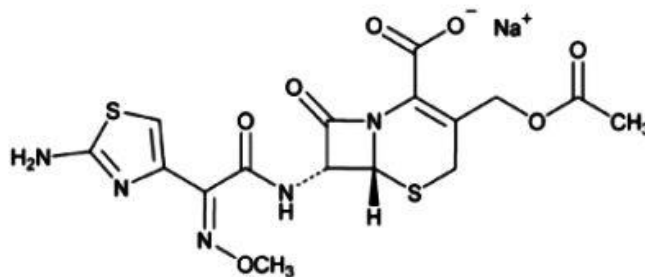


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Sefotaxime natrium

1. Monografi sefotaksim natrium

Nama kimia	: 7-	[2-(2-amino-4-thiazolil)glioksilamido]-3 (hidroksimetil)-8-okso-5-tia-1 azabisiklo [4.2.0] okt-2-ene-2-ksrboksilat 7 ² (Z)-(o-metiloksim), asetat(ester).
Rumus molekul	: C ₁₆ H ₁₇ N _a O ₇ S ₂	
Berat molekul	: 477,45	
Kadar injeksi sefotaksim Na	: 90,0—115%	
Pemerian	: Serbuk kristal warna putih atau sedikit kekuningan, tidak berbau, larut dalam air, sukar larut dalam pelarut organik.	



Gambar 1. Struktur Kimia Sefotaksim Natrium

Sefotaksim natrium, yang dikembangkan oleh Hoechst, adalah sefalosporin generasi ketiga yang poten dengan rantai samping 2-amino-4-tiazolil dan grup syn -methox yimino pada posisi 7. Antibiotik ini sangat efektif melawan spektrum antibakteri yang luas yaitu mikroorganisme terutama aerob Gram negatif, dan terutama terkenal karena aktivitasnya yang luar biasa itu tersedia secara klinis untuk pengobatan berbagai infeksi. Struktur kimia natrium sefotaksim berasal dari asam 7-aminocephalosporanic (7-ACA), dan struktur matriksnya terdiri dari cincin-laktam yang menyatu dengan cincin dihidrotiazin beranggota enam, dan merupakan rentan terhadap reaksi samping dan degradasi (Hua suna *et al.*, 2017).

2. Dosis

Dosis injeksi sefotaksim natrium untuk anak usia 1 bulan sampai 12 tahun dengan berat badan <50 kg diberikan dosis 50 - 200 mg tiap 6 - 8 jam. Anak diatas 12 tahun. Anak diatas 12 tahun dengan berat badan \geq 50 kg diberikan yaitu 1 - 2 gram setiap 4 - 12 jam. Infeksi tanpa komplikasi 1 gram setiap 12 jam, infeksi sedang hingga berat yaitu 1 - 2 gram setiap 8 jam dan infeksi mengancam jiwa 2 gram setiap 4 jam (Lacy *et al*, 2012).

3. Mekanisme kerja

Sefotaxime bekerja dengan cara mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Kemenkes, 2011).

Kerja antibiotik sefotaksim pada tahap awal dimulai dari pengikatan obat pada reseptor sel bakteri yaitu pada protein pengikat penisilin (PBPs=Penicillin-binding proteins). Setelah obat melekat pada satu atau lebih reseptor maka reaksi transpeptidasi akan dihambat dan selanjutnya sintesis peptidoglikan akan dihambat. Tahap berikutnya adalah inaktivasi serta hilangnya inhibitor enzim-enzim autolitik pada dinding sel. Akibatnya adalah aktivasi enzim-enzim litik yang akan menyebabkan lisis bakteri. Lapisan peptidoglikan sangat penting dalam mempertahankan kehidupan bakteri dari lingkungan yang hipotonik, sehingga kerusakan atau hilangnya lapisan ini akan menyebabkan hilangnya kekakuan dinding sel dan akan mengakibatkan kematian (Neu dan Gootz, 1996)

4. Indikasi

Sefotaksim digunakan untuk terapi infeksi serius tulang dan persendian, infeksi intra abdominal dan ginekologi (termasuk peritonitis, endometritis, *pelvic inflammatory disease* yang disebabkan oleh *Neisseria gonorrhoea*, *Citramidia trachomatis* : *pelvic sellulitis*), meningitis dan infeksi sistem saraf pusat yang disebabkan oleh *Enterobacter*, *Eschericia coli*, *klebsiella*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Neisseria meningitis*, infeksi saluran nafas bagian bawah yang disebabkan oleh bakteri aerob gram negatif (*Eschericia coli*, *Klebsiella*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*) dan bakteri gram positif (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*), sepsis yang disebabkan oleh *Klebsiella*, *Eschericia coli*,

Staphylococcus aureus: gonorrhoea yang disebabkan oleh *Neisseria gonorrhoea*, demam tiphoid yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* (AHFS, 2011).

B. Injeksi

Menurut Farmakope edisi VI (2020), injeksi adalah sediaan yang dapat diformulasikan atau diencerkan dalam sediaan sebelum digunakan. Sediaan parenteral merupakan sediaan yang dimaksudkan untuk injeksi melalui kulit atau batas jaringan luar lainnya, di mana zat aktif diberikan dalam kondisi gravitasi atau kekuatan, mengalir langsung ke dalam pembuluh darah, organ, atau jaringan. Sediaan parenteral diformulasikan dengan hati-hati menggunakan metode yang dirancang untuk memastikan bahwa persyaratan farmakope terpenuhi untuk sterilitas, mudah terbakar, partikulat dan kontaminan lainnya dan bila perlu mengandung zat dapat yang menghambat pertumbuhan mikroba.

Kelebihan sediaan injeksi diantaranya yaitu obat – obat yang rusak atau dinaktifkan oleh sistem saluran serna atau tidak diabsorpsi dengan baik untuk memberikan respon memuaskan, dapat diberikan secara parenteral, sering digunakan apabila dibutuhkan absorpsi yang segera, seperti pada keadaan darurat dan pemberian secara parenteral berguna dalam pengobatan pada pasien yang tidak mau bekerjasama, kehilangan kesadaran atau sebaliknya tidak dapat menerima obat secara oral (Turco dan King, 1994).

Sediaan sefotaksim Natrium yang tersedia adalah injeksi kering 500 mg, 1 gram dan 2 gram. Sefotaksim Na tidak bisa di absorpsi secara peroral, maka pemakaian sefotaksim Natrium adalah secara injeksi intravena dan intramuskuler. Pemberian secara infus intravena intermitten 10 mL aqua proinjeksi dapat dilarutkan dalam vial yang mengandung sefotaksim 500 mg, 1 gram atau 2 gram dan diinjeksikan langsung ke vena selama 3 - 5 menit secara perlahan-lahan. Pemberian infus intravena *intermitten* atau *continous* 50 - 100 mL NaCl 0,9% dan dextrose 5% dapat dilarutkan dalam botol yang mengandung sefotaksim natrium 1 gram atau 2 gram. Injeksi intramuskuler 2, 3, atau 5 mL aqua proinjeksi atau dilarutkan dalam vial yang mengandung sefotaksim natrium 500 mg, 1 gram atau 2 gram (Trissel, 2017).

C. Stabilitas

Stabilitas produk farmasi adalah kemampuan suatu produk tetap berada pada batas spesifikasi yang telah ditentukan diuji melalui penyimpanan dalam periode waktu tertentu dan dapat ditentukan umur sediaan (*self life*), sifat dan karakteristik fisika kimia produk tersebut mutunya tetap seperti saat diproduksi (USP 44/NF 39, 2021). Ketidakstabilan obat dapat menyebabkan penurunan sampai dengan hilangnya khasiat obat bahkan menjadi toksik. Adapun factor- faktor yang mempengaruhi stabilitas suatu sediaan, diantaranya seperti temperature, radiasi, cahaya dan udara (oksigen, karbondioksida dan uap air) (Pratiwi *et al.*,2018).

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang telah ditetapkan selama masa penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian produk tersebut. Sediaan obat yang stabil adalah sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama masa penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat diproduksi (Carstensen and Rhodes, 2000).

Uji stabilitas bertujuan untuk memberikan bukti tentang bagaimana kualitas zat aktif atau produk farmasi dengan waktu yang bervariasi juga dibawah pengaruh berbagai faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, dan cahaya. Selain itu faktor yang terkait dalam stabilitas suatu produk misalnya sifat kimia dan fisik dari zat aktif maupun zat tambahan atau eksipien, bentuk sediaan serta komposisi, proses pembuatan, sifat wadah dan penutup serta sifat-sifat kemasan bahan. Stabilitas eksipien yang mungkin mengandung atau menghasilkan produk degradasi reaktif harus dipertimbangkan (Carstensen and Rhodes, 2000). Stabilitas obat perlu diperhatikan untuk mengurangi terjadinya penguraian pada zat yang terkandung dalam obat, sehingga mencegah obat memiliki dampak terapeutik atau efek negatif lainnya.

D. KCKT

1. Definisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan teknik pemisahan yang umum digunakan untuk mengidentifikasi dan pemurnian zat tertentu dalam satu sampel. Kromatografi cair kinerja

tinggi (KCKT) merupakan teknik non-destruktif yang dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Metode pemisahan berdasarkan variasi laju di mana zat terlarut atau campuran zat terlarut terelusi dari kolom kromatografi dikenal sebagai kromatografi. Pompa digunakan untuk memompa fase gerak cair melalui kolom dan masuk ke detektor.

Prinsip pemisahan KCKT yaitu pemisahan berdasarkan afinitasnya dengan fase diam dan fase gerak, afinitas tersebut ditentukan oleh kepolaran senyawa apakah sesuai dengan fase gerak atau fase diam. Terdapat dua jenis elusi dalam KCKT yaitu isokratik dan gradien. Isokratik menggunakan komposisi solven yang konstan dipompakan selama analisis berlangsung sehingga selama proses komposisi solven tidak berubah. Sedangkan pada jenis elusi gradien berarti selama elusi komposisi solven dan kekuatan elusi berubah (Satinder, 2007). Penelitian menggunakan metode KCKT lebih efisien dan spesifikasi yang tinggi sehingga hasil uji lebih akurat

2. Instrument KCKT

2.1. Tempat/wadah fase gerak. Sebelum dipindahkan ke kolom, fase gerak terlebih dahulu ditempatkan didalam wadah fase gerak. Syarat dari wadah fase gerak yaitu harus inert dan tertutup rapat sehingga tidak mempengaruhi hasil uji (Rohman dan Gholib, 2012).

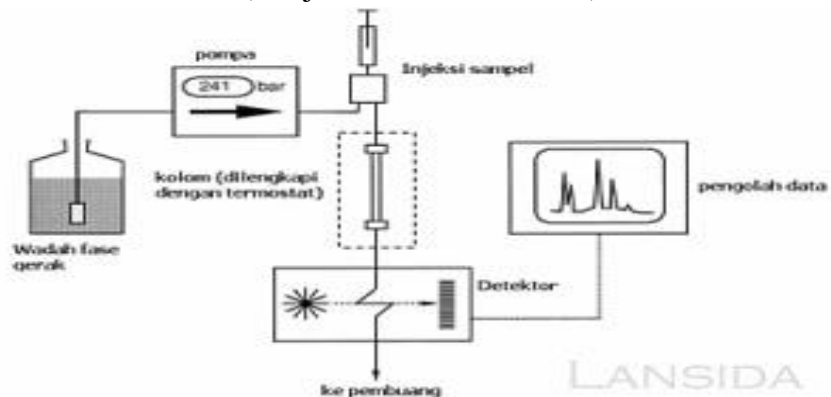
2.2. Pompa. Pompa merupakan alat yang digunakan memompa pelarut dari reservoir ke dalam kolom. Pompa akan terus bekerja memompa pelarut dengan membawa sampel dari injektor melalui kolom ke detektor dan akhirnya ke tempat pembuangan (Murningsih dan Chairul, 2000). Syarat pompa yang layak digunakan yaitu tidak boleh mengganggu pengujian atau bersifat inert agar dapat digunakan. Pompa yang digunakan sebaiknya pompa yang mampu mengalirkan fase gerak dengan laju 3 mL/menit dan memberikan tekanan hingga 5000 Psi (Rohman dan Gholib, 2012). Sistem pompa KCKT telah diprogram untuk mendukung elusi dalam satu jenis pelarut atau beberapa jenis pelarut. Ada dua jenis pompa yang digunakan dalam KCKT yaitu isokratik dan gradient (Susanti dan Dachriyanus, 2017).

2.3. Injektor. Injektor merupakan komponen terpenting dalam penggunaan metode KCKT karena berfungsi sebagai tempat masuknya sampel ke dalam sistem KCKT. Injektor memiliki peran untuk memasukkan sampel ke dalam kolom yang dapat dilakukan dengan cara otomatis atau manual. Apabila dilengkapi dengan otomatis sampel injektor, maka memasukkan sampel dilakukan secara otomatis

yaitu dapat dirprogram pada mikroprosesor kontrol dengan jumlah sampel μL dan dapat menganalisa rentang sampel yang berbeda, Keuntungan menggunakan otomatis sampel injektor yaitu volume analit yang disuntikan tidak berkurang selama proses analisis dan dapat dengan cepat serta efisien memisahkan sampel-sampel dalam jumlah banyak (Susanti dan Dachriyanus, 2017). Injektor secara manual dapat dilakukan dengan menggunakan jarum suntik khusus diantaranya 10-20 μL .

2.4. Kolom. Komponen penting dari sistem KCKT yang selanjutnya adalah kolom. Kolom berfungsi untuk memisahkan sampel yang ditahan secara selektif oleh fase diam, sampel akan terlarut oleh pelarut (fase gerak) yang terus mengalir dan membawanya melewati kolom (fase diam) menuju detektor. Berbagai jenis kolom yang digunakan dalam kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) tergantung pada kebutuhan dan senyawa kimia yang perlu dipisahkan (Murningsih dan Chairul, 2000).

2.5. Detektor. Detektor adalah alat yang digunakan untuk mengidentifikasi komponen-komponen kimia yang terpisah setelah melewati kolom (Murningsih dan Chairul, 2000). Detektor KCKT yang baik yaitu merespon semua tipe senyawa dan memiliki sensitivitas cukup tinggi, gangguan yang rendah, dan respon linier yang luas (Hendrayana, 2006). Detektor KCKT dikategorikan menjadi 2 golongan yaitu detektor universal dan detektor spesifik. Detektor indeks bias serta spektrofotometri massa yang merupakan detektor universal yang dapat mendeteksi zat umum secara tidak spesifik dan tidak selektif sedangkan detektor UV-Vis, fluoresensi, dan elektrokimia merupakan golongan detektor spesifik yang dapat mendeteksi analit secara spesifik dan selektif (Hadjar dan Rohman, 1985).



Gambar 2. Instrument KCKT

Pemisahan dengan KCKT didasarkan pada interaksi dan perbedaan afinitas sampel terhadap fase gerak dan fase diam.

E. Validasi metode

1. Definisi Validasi metode

Validasi metode analisis merupakan suatu upaya yang dilakukan melalui penelitian laboratorium untuk menunjukkan bahwa karakteristik kinerja teknis analisis sudah sesuai dengan aplikasi analisis yang dimaksud. Tujuan validasi adalah untuk mengetahui pengaruh pereaksi yang dipilih, personil yang melakukan pengamatan dan kondisi peralatan yang digunakan (Budari *et al*, 2013).

Suatu metode analisis harus divalidasi untuk memastikan bahwa parameter-parameter kinerja telah mampu mengatasi masalah dalam proses analisis (Arikalang *et al*, 2018). Menurut United States Pharmacopeia (USP) validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis.

2. Parameter validasi

2.1 Linearitas. Pengujian linearitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Alegre *et al*, 2012). Minimal lima konsentrasi larutan standar yang digunakan untuk pengujian linearitas. Hasil respon dari masing-masing konsentrasi kemudian diplotkan dalam kurva kalibrasi dengan konsentrasi standar pada sumbu X dan respon dari instrument pengujian pada sumbu Y. Setelah terbentuk kurva, maka dilakukan penentuan nilai koefisien korelasi (r). Nilai koefisien korelasi yang mendekati satu dianggap menjadi bukti bahwa metode tersebut memiliki nilai linearitas yang baik (Beg *et al*, 2012).

2.2 Akurasi. Pengujian Akurasi yang dilakukan untuk mengetahui apakah metode analisis yang digunakan mampu menghasilkan nilai perolehan kembali (recovery) yang akurat. Nilai perolehan kembali yang didapatkan akan menunjukkan seberapa dekat hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Ravisankar *et al*, 2015). Penentuan akurasi metode analisis, pengukuran sampel dilakukan dalam minimal tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 80%, 100% dan 120% untuk menilai keakuratan metode analitik dengan

pengukuran di masing–masing konsentrasi dilakukan minimal sebanyak 3 kali replikasi. Kriteria penerimaan dari pengujian akurasi adalah didapatkannya nilai perolehan kembali (recovery) sebesar 98-102%. Persen recovery dapat dicari dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{kadar terhitung}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

2.3 Presisi. Presisi merupakan tingkat kedekatan diantara hasil uji individu ketika prosedur diterapkan berulang kali terhadap sampling ganda atau sampel yang homogen. Simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) dari satu serangkaian biasanya digunakan untuk menyatakan presisi (Depkes RI, 2020). Presisi biasa dinyatakan dengan nilai RSD, dengan rumus sebagai berikut :

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

Keterangan :

RSD : Simpangan baku relative

SD : Simpangan baku

X : nilai rata-rata penilaian

Presisi dinyatakan dalam nilai simpangan baku relatif (RSD) dengan syarat penerimaannya adalah $RSD < 2\%$.

2.4 Spesifisitas. Spesifisitas menunjukkan kemampuan metode analisis menentukan analit tertentu dalam sampel secara spesifik dan tidak terpengaruh oleh adanya pengotor. Metode kualitatif ataupun kuantitatif harus memiliki spesifisitas yang baik (Gumustas *et al*, 2013). Pengujian spesifisitas dilakukan dengan menggunakan hasil pengukuran sampel yang ditambahkan degradan analit, pengotor dan eksipien lain yang dibandingkan dengan hasil pengukuran sampel tanpa penambahan apapun. Derajat kesesuaian dari kedua hasil pengukuran menunjukkan metode spesifisitas (Bae *et al*, 2012).

2.5 Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ).

LOD adalah limit deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah yang masih dapat diamati meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Terdapat beberapa pendekatan yang dapat digunakan dalam pengukuran nilai LOD dapat dilakukan dengan berbagai cara antarlain berdasarkan evaluasi visual, berdasarkan signal to noise dan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope (ICH, 2005). Pendekatan signal to noise hanya dapat digunakan pada metode yang menunjukkan nilai noise atau gangguan dasar (Kruve *et al*, 2015).

LOD adalah konsentrasi terendah yang memberikan nilai rasio 3:1 dengan sinyal noise (Peris-Vicente *et al*, 2015).

LOQ adalah konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang dapat memenuhi kriteria presisi dan akurasi (Kruve *et al*, 2015). Pengukuran nilai LOQ dapat dilakukan dengan berbagai cara antarlain berdasarkan evaluasi visual, berdasarkan signal to noise dan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope (ICH, 2005). Pada pendekatan evaluasi visual, nilai LOQ ditentukan dengan menggunakan sampel yang telah diketahui konsentrasinya. Metode penentuan nilai LOQ pada pendekatan signal to noise dilakukan dengan membandingkan sinyal dari pengukuran sampel yang telah diketahui konsentrasinya dengan sinyal dari placebo (signal noise). LOQ adalah konsentrasi minimal yang memberikan nilai rasio 10:1 dengan signal noise (Peris-Vicente *et al*, 2015).

Nilai LOD dan LOQ didapatkan dengan menggunakan rumus :

$$\text{LOD} = (3,3 S_{y/x})/b$$

$$\text{LOQ} = (10 S_{y/x})/b$$

Keterangan :

$S_{y/x}$ = standar deviasi residual kurva kalibrasi

b = slope dari kuva kalibrasi

F. Landasan Teori

Antibiotik digunakan untuk mengobati penyakit infeksi dengan tujuan menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri pathogen (Axelsson *et al*, 2013). Salah satu antibiotik yang sering digunakan yaitu sefotaksim natrium. Sefotaksim natrium digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri seperti terapi infeksi serius tulang dan persendian, infeksi intra abdominal, ginekologi, infeksi saluran nafas bagian bawah, sepsis dan demam tifoid (DIH ed 21, 2012). Antibiotik ini sangat efektif melawan spektrum antibakteri yang luas yaitu mikroorganisme terutama aerob Gram negatif, dan terutama terkenal karena aktivitasnya yang luar biasa itu tersedia secara klinis untuk pengobatan berbagai infeksi. Struktur kimia natrium sefotaksim berasal dari asam 7- aminocephalosporanic (7-ACA), dan struktur matriksnya terdiri dari cincin -laktam yang menyatu dengan cincin dihidrotiazin beranggota enam, dan rentan terhadap reaksi samping dan degradasi (Hua suna *et al*, 2017).

Sediaan injeksi antibiotik β -lactam ini biasanya tersedia dalam bentuk sediaan injeksi kering, yang harus direkonstitusi dengan pelarut

yang sesuai sebelum digunakan. Sefotaksim natrium kompatibel dengan menggunakan pelarut aqua pro injeksi, dektrose 5% dan NaCl 0,9% dan setelah direkonstitusi stabil selama 12-24 jam pada suhu ruangan dan 7-10 hari pada suhu refrigerator dan 13 minggu saat dibekukan (Lacy *et al*, 2012).

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas suatu sediaan, diantaranya seperti temperature, radiasi, cahaya dan udara (oksigen, karbondioksida dan uap air) (Pratiwi *et al.*,2018). Tujuan dari pengujian stabilitas adalah untuk memberikan bukti tentang bagaimana kualitas zat aktif atau produk farmasi dengan waktu yang bervariasi juga dibawah pengaruh berbagai faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, dan cahaya. Berdasarkan pada penelitian sebelumnya dilakukan uji stabilitas sediaan injeksi sefotaksim natrium setelah rekonstitusi dengan pelarut aqua proinjeksi mengalami penurunan kadar lebih dari 10% setelah penyimpanan lebih lima hari pada suhu 4° C dan penyimpanan 1 hari pada suhu 30° C (Setiawan, 2005).

Selain itu faktor yang terkait dalam stabilitas suatu produk misalnya sifat kimia dan fisik dari zat aktif maupun zat tambahan atau eksipien, bentuk sediaan dan komposisi, proses manufaktur, sifat wadah dan penutup,dan sifat-sifat kemasan bahan. Penelitian lain yang dilakukan Gupta VD diperoleh bahwa stabilitas sefotaksim natrium yang disimpan dalam jarum suntik polipropilen mengalami penurunan kadar 3% setelah penyimpanan selama 18 hari pada suhu 5° C dan terjadi penurunan kadar kurang dari 10% setelah penyimpanan 1 hari pada suhu 25° C.

G. Hipotesis

Berdasarkan pada landasan teori, dapat dibuat hipotesis penelitian ini adalah sediaan injeksi sefotaksim setelah direkonstitusi menggunakan pelarut NaCl 0,9% dapat mengalami penurunan perubahan kadar dengan adanya pengaruh suhu penyimpanan dan lama penyimpanan.