

Verifikasi Uji Potensi Antibiotik Secara Mikrobiologi Dengan Metode *Cylinder Plate* Pada Produk *Erythromycin Ethylsuccinate*

Henny Rochaeni, Muhammad Jabal Iqyan, Desi Silmi Amalia, Singgih Wibowo *

Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor
Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

^{*)}Email: singgihwibowo@kemenperin.go.id

(Received : 3 November 2021; Accepted: 16 Desember 2021; Published: 21 Desember 2021)

Abstrak

Pada penelitian ini, telah dilakukan verifikasi uji potensi antibiotik produk erythromycin ethylsuccinate (EES) dengan metode cylinder plate. Hasil pengujian menunjukkan potensi antibiotik, simpangan baku relatif (SBR) uji presisi, uji akurasi, dan R^2 uji linearitas yaitu 107,03%, 0,95%, 105,00-108,70 %, dan 99,90% berturut – turut. Dari hasil pengujian, dapat disimpulkan bahwa produk EES telah memenuhi syarat keberterimaan yang telah ditetapkan dalam standar acuan USP 41 2018 dan AOAC 2016.

Kata kunci: verifikasi, antibiotik, EES, akurasi, linearitas

Abstract

In this study, verification of antibiotic potency test has been done using cylinder plate method for erythromycin ethylsuccinate (EES) product. The results showed that the antibiotic potency, relative standard deviation of precision test, accuracy test, and R^2 of linearity test were 107,03%, 0,95%, 105,00-108,70 %, dan 99,90%, respectively. From the obtained results, it can be concluded that the EES product has fulfilled the acceptance requirements of standard references of USP 41 2018 dan AOAC 2016.

Keywords: verification, antibiotics, EES, accuracy, linearity

PENDAHULUAN

Antibiotik adalah senyawa kimia yang dalam kadar rendah mempunyai kemampuan untuk menghambat (bakteriostatik) atau menghancurkan (bakterisidal) bakteri atau mikroorganisme lain (Herawati & Irawati, 2011). Menurut Bezoen *et al* (2001), beberapa antibiotik bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) sedangkan antibiotik lain bersifat lebih spesifik terhadap spesies bakteri tertentu (berspektrum sempit).

Antibiotik *erythromycin ethylsuccinate* (EES) adalah obat antibiotik golongan makrolid yang terdiri beberapa jenis sediaan obat, mulai dari sediaan suspensi, tablet, kapsul, hingga sediaan kaplet (Ganiswarna, 1995). Menurut Sinha (2021), antibiotik EES digunakan untuk mengobati dan mencegah berbagai jenis infeksi bakteri, seperti infeksi kulit, infeksi saluran pernapasan, dan infeksi saluran kemih. EES terserap sebagai ester dan terhidrolisis perlahan di dalam tubuh membentuk eritromisin, esternya tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter (Beale & Block, 2011).

Pengujian terhadap antibiotik EES sangat penting dilakukan untuk mengetahui mutu produk yang terkandung di dalamnya. Pengujian potensi antibiotik dilakukan secara mikrobiologi dengan metode *cylinder plate* yang telah mengalami pengembangan dan sudah divalidasi. Untuk mengonfirmasi unjuk kerja dalam memberikan hasil yang andal maka perlu dilakukan verifikasi metode.

Verifikasi metode dilakukan dengan menguji parameter presisi, akurasi, dan linearitas. Pengujian ini bermanfaat untuk memberikan informasi bahwa metode pengujian potensi antibiotik secara mikrobiologi dengan metode *cylinder plate* pada produk EES menghasilkan data yang andal dan dapat digunakan untuk analisis di laboratorium quality control serta menunjukkan bahwa produk EES terjamin kualitasnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam pengujian ini terdiri dari bahan uji, bahan kimia, dan bakteri uji. Bahan uji yang digunakan adalah sampel EES kaplet. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan dapar

fosfat (LDF) 3 pH 8,00 steril, media *tryptone soya broth* (TSB) steril, media antibiotik agar 1 steril, media antibiotik agar 11 steril, media *tryptone soya agar* (TSA) steril, akuades, dan metanol. Bakteri uji yang digunakan adalah *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Sterilisasi Alat

Cylinder plate, cawan petri, dan tabung reaksi disterilisasi dengan oven pada suhu 160 °C selama 2 jam dan didiamkan hingga suhu ruang. Pipet *tips disposable* disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit dan didiamkan hingga suhu ruang.

Pembuatan Media TSA

Media TSA ditimbang 1,0000 g ke erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dalam 25 mL akuades. Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Media TSA yang telah disterilisasi, dituangkan ke cawan petri di dalam BSC dan didiamkan hingga media menjadi padat.

Pembuatan Media TSB

Media TSB ditimbang 0,8100 g ke erlenmeyer 100 dan dilarutkan dalam 27 mL akuades. Media TSB dipipet masing-masing 9 mL ke tabung reaksi ulir dan ditutup. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit.

Pembuatan Media Agar Miring Antibiotik 1

Media antibiotik 1 ditimbang 0,5670 g ke erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dalam 21 mL akuades. Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Media yang telah disterilisasi, dipipet masing-masing 7 mL ke tabung reaksi. Tabung reaksi dimiringkan dan didiamkan hingga media menjadi padat.

Pembuatan Media Antibiotik 11

Media antibiotik 11 ditimbang 15,2500 g ke gelas piala 250 mL. Media dilarutkan dalam 500 mL akuades ke erlenmeyer 500 mL. Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Media yang telah disterilisasi, diletakkan di atas *waterbath*.

Pembuatan Suspensi Bakteri *Kocuria rhizophila*

Reference culture Kocuria rhizophila ATCC 9341 digoreskan ke media TSA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 32-35 °C. Koloni bakteri *Kocuria rhizophila* yang tumbuh (*original culture*) diinokulasi menggunakan ose *disposable* steril ke media agar miring antibiotik 1 dan diinkubasi pada suhu 32-35 °C selama 24 jam. Media agar miring antibiotik 1 yang telah diinkubasi (*working culture*), ditambahkan 9 mL TSB steril. Koloni bakteri yang tumbuh dipanen menggunakan ose *disposable* steril hingga bercampur dengan TSB steril menjadi suspensi bakteri. Suspensi bakteri dipindahkan ke

tabung reaksi steril. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan *vortex*.

Pembuatan LDF 3 pH 8,00

Kalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) dan kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) ditimbang masing-masing 16,7300 g dan 0,5230 g dan dilarutkan dalam 1000 mL akuades ke botol *Schott Duran* 1 L. pH LDF 3 disesuaikan hingga pH 8,00 menggunakan pH meter.

Pembuatan Larutan Induk Standar EES 1000 µg/mL

Working standart EES ditimbang tepat sebanyak 58,7 mg dan dilarutkan dalam 0,5 g metanol dan 20 mL LDF 3 pH 8,00 ke labu ukur 50 mL. Larutan disonikasi selama 20 menit dan ditambahkan LDF 3 pH 8,00 hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Induk Standar EES 20 µg/mL

Larutan induk standar 1000 µg/mL dipipet 2000 µL ke labu ukur 100 mL dan ditambahkan LDF 3 pH 8,00 hingga tanda batas, lalu dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Standar EES (0,64 ;0,80 ;1,00 ;1,25 ;1,56) µg/mL

Larutan induk standar EES 20 µg/mL dipipet (1600; 2000; 2500; 3125; 3900) µL ke labu ukur 50 mL untuk membuat larutan deret standar (0,64; 0,80; 1,00; 1,25; 1,56) µg/mL. LDF 3 pH 8,00 ditambahkan hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan (0,64 ;0,80 ;1,00 ;1,25 ;1,56) µg/mL selanjutnya berturut-turut disebut larutan S1, S2, S3, S4, dan S5.

Pembuatan Larutan Induk Sampel EES 1000 µg/mL

Sampel sebanyak 20 kaplet salut selaput ditimbang dan dihitung bobot rata-ratanya. Sampel digerus hingga halus dan ditimbang tepat sebanyak 73,5 mg. Sampel dilarutkan dalam 0,5 g metanol dan 20 mL LDF 3 pH 8,00 ke labu ukur 50 mL. Sampel disonikasi selama 20 menit dan ditambahkan LDF 3 pH 8,00 hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Induk Sampel EES 20 µg/mL

Larutan induk sampel 1000 µg/mL dipipet 2000 µL ke labu ukur 100 mL dan ditambahkan LDF 3 hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan.

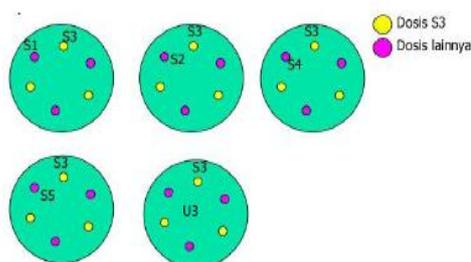
Pembuatan Larutan Sampel EES 1,00 µg/mL

Larutan induk sampel 20 µg/mL dipipet 2500 µL ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan LDF 3 hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Larutan sampel EES 1,00 µg/mL selanjutnya disebut larutan U3.

Tahap Pengujian Uji Potensi Antibiotik

Alas cawan petri diberi tanda dengan desain 5 + 1 seperti pada Gambar 1. Desain 5 + 1 adalah desain uji potensi antibiotik yang terdiri dari lima konsentrasi, yaitu larutan S1, S2, S4, S5, dan U3 yang dibandingkan dengan satu larutan konsentrasi tengah, yaitu larutan S3. Setiap cawan petri terdiri dari dua konsentrasi larutan, yaitu S1 terhadap S3, S2 terhadap S3, S4 terhadap S3, S5 terhadap S3, dan U3 terhadap S3.

Setiap cawan petri terdiri dari dua lapisan media, yaitu *base layer* dan *seed layer*. *Base layer* dibuat dengan cara menuangkan 21 mL media antibiotik 11 ke cawan petri dan didiamkan hingga media menjadi padat. Suspensi bakteri *Kocuria rhizophila* sebanyak 9 mL dihomogenkan menggunakan *vortex* dan ditambahkan ke media antibiotik 11. *Seed layer* dibuat dengan cara menuangkan 4 mL media agar antibiotik 11 yang telah dicampur dengan suspensi bakteri *Kocuria rhizophila* ke cawan petri dan didiamkan hingga media menjadi padat.



Gambar 1. Desain 5+1 uji potensi antibiotik

Cylinder plate diletakkan dengan posisi tegak lurus dengan media menggunakan pinset steril. Larutan standar atau sampel dipipet 200 μL ke tiap *cylinder plate* sesuai dengan tanda. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga replikasi. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 32-35 $^{\circ}\text{C}$ selama 16-18 jam. Diameter diameter zona hambat yang muncul diukur menggunakan *digital caliper* setelah melalui proses inkubasi.

Data yang dihasilkan dari pengukuran potensi antibiotik sampel EES disajikan dalam bentuk diameter zona hambat. Potensi antibiotik EES kaplet salut selaput 500 mg ditetapkan dengan rumus sebagai berikut (*The United State Pharmacopeial Convention*, 2018):

$$Z = \bar{x}S_n - \frac{(\bar{x}S_2 - \bar{x}S_3)}{n} \quad (1)$$

$$Lu = \frac{(Z - a)}{b} \quad (2)$$

$$Cu = e^{Lu} \quad (3)$$

$$PA = \frac{Cu}{Cs} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan :

- Z : zona hambat terkoreksi (mm)
- $\bar{x}S_n$: rata-rata diameter zona hambat $S_{1,2,4,5}$ (mm)
- $\bar{x}S_{3/n}$: rata-rata diameter zona hambat S_3 terhadap $S_{1,2,4,5}$ (mm)
- $\bar{x}S_3$: rata-rata diameter zona hambat S_3 (mm)
- Lu : log natural dosis sampel ($\mu\text{g/mL}$)
- a : intersep (mm)
- b : slope ($\frac{\text{mm}}{\mu\text{g/mL}}$)
- Cu : dosis sampel ($\mu\text{g/mL}$)
- Cs : dosis pembanding ($\mu\text{g/mL}$)
- PA : potensi antibiotik (%)

Uji Presisi

Presisi diuji dengan melakukan prosedur uji potensi antibiotik terhadap sampel EES kaplet salut selaput 500 mg. Pengujian dilakukan sebanyak sepuluh kali replikasi sampel. Data yang diperoleh diolah secara statistika untuk menentukan nilai simpangan baku (SB) dan simpangan baku relatif (SBR). Syarat keberterimaan uji presisi yaitu nilai $SBR \leq 10,00\%$.

Nilai presisi (keterulangan) ditentukan dengan menghitung nilai SBR dari nilai potensi antibiotik EES yang diperoleh. Nilai SBR yang diperoleh dibandingkan dengan syarat keberterimaan dalam standar acuan USP 41 2018. Menurut Harmita (2004), nilai SBR dapat dihitung dengan rumus:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (5)$$

$$SB = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (6)$$

$$SBR = \frac{SB}{\bar{x}} \times 100\% \quad (7)$$

Keterangan:

- \bar{x} : rata-rata diameter zona hambat (mm)
- i : 1,2,3,....., n
- n : banyaknya ulangan
- x_i : diameter zona hambat ke-i (mm)
- SB : simpangan baku (%)
- SBR : simpangan baku relatif (%)

Uji Akurasi

Uji akurasi ditetapkan dengan uji perolehan kembali (*recovery*) menggunakan metode *Certified Reference Method* (CRM). Akurasi diuji dengan melakukan prosedur uji potensi antibiotik terhadap sampel EES kaplet salut selaput 500 mg. Pengujian dilakukan sebanyak sepuluh kali replikasi sampel.

Data yang diperoleh dihitung secara statistika dengan membandingkan nilai potensi antibiotik sampel dengan nilai potensi antibiotik *reference standart*. Syarat keberterimaan uji akurasi yaitu nilai perolehan kembali (*recovery*) berada pada rentang (80,00-110,00)%.

Nilai akurasi (kecermatan) menyatakan yang sebenarnya (Harmita, 2004). Nilai akurasi ditentukan dari nilai persentase perolehan kembali (*recovery*). Nilai *recovery* diperoleh dari data analisis yang diperoleh dibandingkan dengan data analisis yang tertera pada *refernce standart* dengan rentang (80,00-110,00)%. Rumus untuk menentukan *recovery* sebagai berikut :

$$Recovery = \frac{PA \text{ Sampel}}{PA \text{ RS}} \times 100\% \quad (8)$$

Keterangan:

PA sampel : potensi antibiotik sampel (%)

PA RS : potensi antibiotik *reference standart* (%)

Uji Linearitas

Linearitas diuji dengan melakukan prosedur uji potensi antibiotik terhadap standar EES dengan konsentrasi (0,64; 0,80; 1,00; 1,25; 1,56) µg/mL. Data yang diperoleh diolah secara statistika dengan menentukan nilai koefisien determinasi (R^2), intersep (a), dan *slope* (b). Syarat keberterimaan uji linearitas yaitu $R^2 \leq 95,00\%$.

Linearitas ditentukan dengan menetapkan nilai koefisien determinasi (R^2). Nilai R^2 diperoleh dengan rumus:

$$R^2 = \frac{(n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i)^2}{(n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2)(n \sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2)} \quad (9)$$

Persamaan garis regresi linear ditentukan dengan rumus:

$$y = a + b \ln(x) \quad (10)$$

Perhitungan intersep (a) dan *slope* (b) dengan rumus:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (11)$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \quad (12)$$

Keterangan:

x_i : konsentrasi pengukuran ke- i (µg/mL)

y_i : diameter zona hambat ke- i (mm)

r = koefisien korelasi

a = konsentrasi pengukuran ke- i (µg/mL)

b = diameter zona hambat ke- i (mm)

$i = 1, 2, 3, \dots, n$

n = banyak ulangan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu parameter untuk menguji kualitas dari suatu antibiotik adalah uji potensi antibiotik. Menurut Fauziah & Adriana (2019), uji potensi antibiotik adalah suatu teknik untuk menetapkan suatu potensi antibiotik dengan mengukur efek senyawa antibiotik tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Efek yang ditimbulkan pada senyawa uji berupa hambatan pertumbuhan baik kekeruhan maupun zona hambat (Djide, 2015). Uji potensi antibiotik dapat ditetapkan

derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit baik secara kimia maupun mikrobiologi. Menurut *The United State Pharmacopeial Convention* (2018), uji potensi antibiotik dinilai lebih akurat jika diuji secara mikrobiologi, hal tersebut terjadi karena suatu penurunan aktivitas antimikrob juga akan dapat menunjukkan perubahan kecil yang tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas mikrob.

Verifikasi metode uji diperlukan dalam pengujian potensi antibiotik. Menurut Sumardi (2002), tujuan dari verifikasi metode adalah untuk menunjukkan bahwa metode analisis memiliki ketelitian, ketepatan, dan linearitas yang baik saat dikerjakan di laboratorium. Verifikasi metode penetapan potensi antibiotik produk EES kaplet salut selaput 500 mg secara mikrobiologi dengan metode *cylinder plate* mencakup parameter presisi (*repeatability*), akurasi (*recovery*), dan linearitas. Parameter, hasil pengujian, dan syarat keberterimaan verifikasi metode dapat dilihat pada Tabel 1.

Presisi

Presisi adalah ukuran kedekatan antara hasil pengujian yang diperoleh dalam kondisi yang ditentukan, kondisi dapat berupa pengulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan reproduisibilitas (*reproducibility*) (Eurachem, 2014). Kondisi presisi yang digunakan adalah *repeatability*. Menurut National Association Of Testing Authorities (2018), presisi *repeatability* adalah ketelitian yang diperoleh dari hasil pengulangan dengan menggunakan metode, operator, peralatan, dan laboratorium yang sama serta dalam interval pemeriksaan waktu yang singkat. Pemeriksaan presisi *repeatability* bertujuan untuk mengetahui konsistensi analit, tingkat kesulitan metode dan kesesuaian metode (Riyanto, 2014). Hasil dan gambar pengujian presisi pada uji potensi antibiotik pada produk EES kaplet salut selaput 500 mg dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Berdasarkan hasil yang tertera pada Tabel 2, diperoleh nilai SB sebesar 1,02 dan nilai SBR yang diperoleh sebesar 0,95%. Nilai persentase SBR yang diperoleh masuk ke rentang nilai syarat keberterimaan yang ditetapkan yakni $SBR \leq 10\%$. Sehingga, syarat keberterimaan yang ditetapkan mengacu ke USP 41 2018. untuk presisi *repeatability* terpenuhi. Nilai $SBR \leq 20\%$ pada larutan dengan konsentrasi kurang dari 0,1%, dinyatakan memiliki ketelitian yang baik (Riyanto, 2014).

Menurut Hadi & Asiah (2018), perbedaan nilai dari setiap ulangan menunjukkan adanya kesalahan acak. Kesalahan acak (*random error*) berasal dari pengaruh faktor-faktor yang tidak dapat diperkirakan atau diprediksi dan hanya bersifat sementara dan kesalahan acak sulit dihindari disebabkan oleh fluktuasi yang tidak dapat diduga (Hadi, 2020). Kesalahan acak pada pengujian ini disebabkan oleh fluktuasi suhu dan kelembapan saat melakukan preparasi. Kesalahan acak pada pengujian ini tidak memberikan pengaruh besar

terhadap hasil dan dibuktikan dengan hasil pengujian yang masih memenuhi syarat keberterimaan.

Akurasi

Hasil dan gambar pengujian akurasi dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan perhitungan, nilai *recovery* yang diperoleh berada dalam rentang (105,00-108,70)%. Hasil yang didapatkan telah memenuhi syarat keberterimaan yang mengacu pada AOAC 2016, yaitu berada pada rentang (80,00-110,00)% yang menunjukkan bahwa nilai potensi antibiotik dalam EES kaplet salut selaput 500 mg memberikan hasil yang akurat. Menurut Riyanto (2014), nilai perolehan kembali sampel uji yang cenderung lebih dari 100% menunjukkan adanya kesalahan sistematis yaitu sumber kesalahan tertelusur, dapat dikendalikan, dan berulang pada hal yang sama.

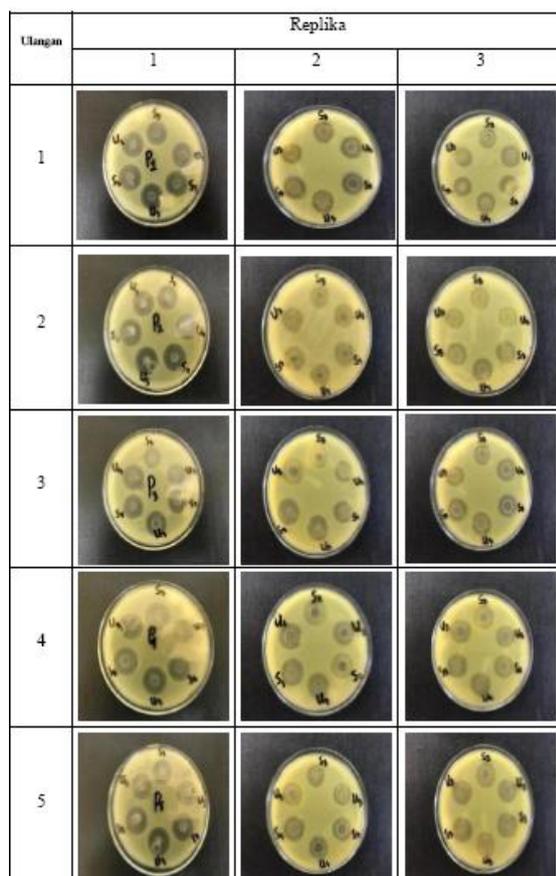
Kesalahan sistematis pada pengujian ini disebabkan kurangnya homogenitas suspensi bakteri sehingga ketika dilakukan uji potensi antibiotik, diameter zona hambat yang dihasilkan berbeda. Selain itu, sampel yang kurang homogen juga memberikan pengaruh, karena ketika dilakukan penimbangan, kadar bahan aktif yang ditimbang antara pengulangan satu dan pengulangan lain berbeda. Menurut National Association of Testing Authorities (2018), nilai akurasi juga dipengaruhi oleh kesalahan acak. Kesalahan acak yang terjadi pada pengujian ini dipengaruhi oleh faktor sama seperti pada pengujian presisi, yaitu fluktuasi suhu dan kelembapan saat melakukan preparasi. Kesalahan sistematis dan acak pada pengujian ini tidak memberikan pengaruh besar terhadap hasil. Hal ini dibuktikan dengan hasil pengujian yang masih memenuhi syarat keberterimaan.

Tabel 1. Hasil Uji Parameter Verifikasi dan Syarat Keberterimaan

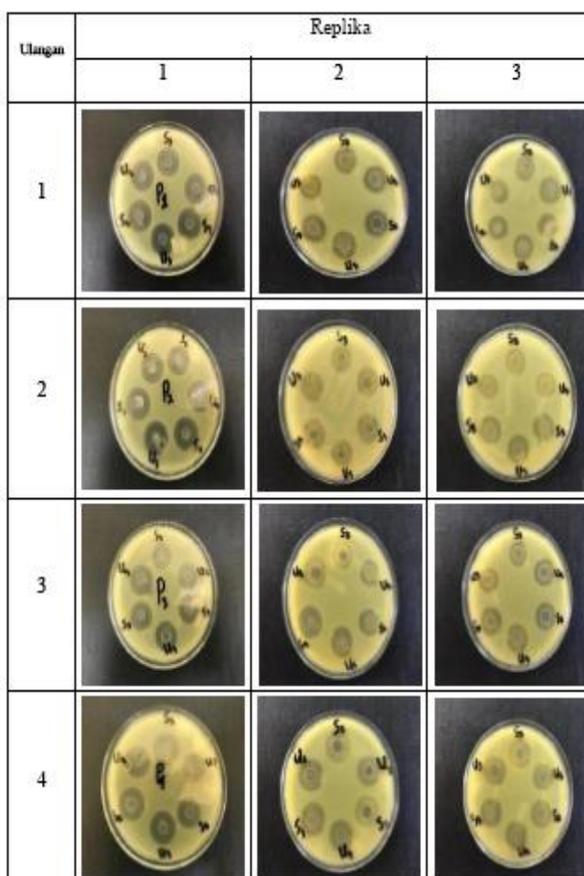
Nomor	Parameter	Hasil	Syarat Keberterimaan	Keterangan	Acuan
1	Presisi (<i>Repeatability</i>)	SBR = 0,95	SBR ≤ 10,00%	Memenuhi Syarat	USP 2018
2	Akurasi (<i>Recovery</i>)	<i>Recovery</i> = (105,00-108,70)	<i>Recovery</i> = (80,00-110,00)%	Memenuhi Syarat	AOAC 2016
3	Linearitas	R ² = 99,90%	R ² = 95,00%	Memenuhi Syarat	USP 2018

Tabel 2. Hasil Pengujian Presisi pada Uji Potensi Antibiotik EES

Ulangan	Bobot (mg)	Zona Hambat Terkoreksi (mm)	Nilai Potensi Antibiotik (%)
1	73,5	16,63	106,00
2	73,5	16,70	108,70
3	73,5	16,65	106,80
4	73,5	16,60	105,00
5	73,5	16,68	107,80
6	73,5	16,66	107,30
7	73,5	16,64	106,50
8	73,5	16,66	107,30
9	73,5	16,67	107,50
10	73,5	16,66	107,40
Rata – rata			107,03
SB			1,02
SBR			0,95
Syarat Keberterimaan			SBR ≤ 10,00%
Keterangan			Memenuhi Syarat



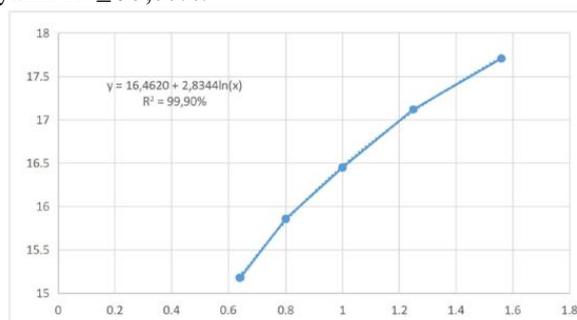
Gambar 2. Hasil pengujian presisi



Gambar 3. Hasil pengujian akurasi

Linearitas

Berdasarkan Gambar 4, persamaan regresi linear yang diperoleh dari pengujian linearitas potensi antibiotik EES adalah $y = 16,4620 + 2,8344 \ln(x)$ dengan nilai R^2 sebesar 99,90%. Nilai intersep (a) sebesar 16,4620 mm menunjukkan bahwa ketika konsentrasi potensi antibiotik EES 1 $\mu\text{g/mL}$ maka luas diameter zona hambatnya sebesar 16,4620 mm. Nilai slope (b) sebesar 2,8344 menunjukkan bahwa ketika konsentrasi potensi antibiotik EES naik satu satuan konsentrasi maka nilai diameter zona hambatnya naik sebesar 2,8344 dikali logaritma natural konsentrasi. Nilai R^2 yang diperoleh dalam percobaan ini sebesar 99,90% dan telah memenuhi syarat keberterimaan yakni $R^2 \geq 95,00\%$.



Gambar 4. Kurva kalibrasi standar EES

Nilai R^2 sebesar 99,90% menunjukkan bahwa diameter zona hambat 99,90% dipengaruhi oleh konsentrasi standar EES dan sisanya yaitu 0,10% dipengaruhi oleh

variabel lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi standar EES secara signifikan berpengaruh terhadap diameter zona hambat.

KESIMPULAN

Hasil pengujian verifikasi uji potensi antibiotik secara mikrobiologi dengan metode *cylinder plate* pada produk EES kaplet salut selaput 500 mg dengan parameter presisi, akurasi, dan linearitas memenuhi syarat keberterimaan sesuai standar acuan USP 41 2018 dan AOAC 2016. Metode ini dinyatakan terkonfirmasi unjuk kerjanya dan dapat digunakan untuk analisis rutin di Laboratorium *Quality Control*.

Daftar Pustaka

- Association of Official Analytical Chemists. (2016). *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International. Rockville.
- Beale, J. M. & J. H. Black. (2011). *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry Twelfth Edition*. Wolters Kluwer Health. Philadelphia.
- Bezoen, A., W. V. Haren, & J. C. Hanekamp. (2001). *Antibiotics: Use and Resistance Mechanisms*. Human Health and Antibiotic Growth Promoters. Heidelberg.
- Eurachem. (2014). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to*

- Method Validation and Related Topics*. CITAC Working Group. Teddington.
- Fauziah, S. & Y. Adriana. (2019). Potensi Antibiotik dan Uji Difusi Secara In Vitro pada Formulasi Krim Eritromisin. *J. Med. Prof.* 3(3):277-282.
- Gandjar, I. & A. Rohman. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Ganiswara, S. (1995). *Farmakologi dan Terapi Edisi Keempat*. Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hadi, A. & Asiah. (2018). *Statistika Pengendalian Mutu Internal*. IPB Press. Bogor.
- Hadi, A. (2020). *Verifikasi Metode Pengujian Air dan Air Limbah*. IPB Press. Bogor.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1:117-135.
- Herawati, F & L. Irawati. (2011). Terapi Antibiotik pada Infeksi Nosokomial. *Buletin Rasional* 9(2):15-16. 23
- International Conference On Harmonization. (2006). *Validation of Analytical Procedures: Text & Methodology*. European Medicines Agency. London.
- National Association of Testing Authorities. (2018). *General Accreditation Guidance - Validation and Verification of Quantitative and Qualitative Test Methods*. National Association of Testing Authorities. Rhodes
- Riyanto. (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Deepublish. Yogyakarta.
- Sinha, S. (2021). Erythromycin Uses, Dosage, & Side Effects. *Med. Review* 1:1-5
- Sumardi. (2002). *Validasi Metode Pengujian*. Pusat Standarisasi dan Akreditasi Sekretariat Jendral Departemen Pertanian. Jakarta.
- The United States of Pharmacopeial Convention. (2018). *USP 41-NF 36 The United States Pharmacopeia and National Formulary*. The United States of Pharmacopeial Convention. Rockville.