

## PENGUJIAN POTENSI SEDIAAN INJEKSI KERING AMOKSISILIN-KLAVULANAT PADA VARIASI WAKTU PENYIMPANAN

Tini Apriliani\*, Adang Firmansyah\*, Sohadi Warya,\*\*

\*Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung

\*\*Universitas Padjajaran, Bandung

---

### Abstrak

Sesuai dengan aturan penyimpanan, sediaan antibiotik seperti halnya injeksi kering amoksisilin-klavulanat harus disimpan di dalam lemari es dengan suhu 2-8 °C untuk menjaga stabilitasnya. Namun demikian, terkadang timbul masalah dengan keterbatasan fasilitas untuk penyimpanan maupun saat distribusi sediaan tersebut. Oleh karena itu, pengujian potensi dan penetapan kadar injeksi kering Amoksisilin-Klavulanat selama disimpan pada suhu kamar perlu diobservasi. Pengujian potensi dilakukan dengan teknik difusi agar, sedangkan pengujian untuk menetapkan kadar dilakukan dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Dari hasil penelitian diketahui bahwa potensi sediaan terhadap *Escherichia coli* mengalami penurunan sebesar 94,42%, sedangkan terhadap *Staphylococcus aureus* mengalami penurunan sebesar 78,33%, begitu juga dengan penurunan kadar amoksisilin sebesar 1,07% dan kadar klavulanat sebesar 3,25% selama masa penyimpanan 8 minggu pada suhu kamar.

**Kata Kunci :** Injeksi kering, Amoksisilin-klavulanat, Potensi, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

### Abstract

According to the storage requirements, the antibiotics dosage form such as the dry injection of amoxicillin-clavulanate generally should be kept in a conditioned temperature of 2 - 8°C to maintain stability. However, sometimes problems arise with limited storage facilities for the preparation and during distribution. Therefore, determination of the potential and content of Amoxicillin-clavulanate which were stored at room temperature should be observed. The potential testing was done by using the agar diffusion technique, while assays performed using HPLC (High Performance Liquid Chromatography). From the results known that the potential against *Escherichia coli* decreased by 94.42 %, while to the *Staphylococcus aureus* decreased by 78.33 %, as well as the content of amoxicillin decreased by 1.07 %, and clavulanate decreased by 3.25 % after storage for 8 weeks at room temperature.

**Keywords:** Dry injection, Amoxicillin-clavulanic, Potency, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

---

### PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri atau fungi, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tan dan Rahardja, 2002). Sediaan injeksi adalah sediaan steril, berupa larutan, suspensi, emulsi atau serbuk yang harus dilarutkan atau disuspensikan dahulu sebelum digunakan, atau disuntikkan dengan cara merobek jaringan ke dalam atau melalui kulit, atau selaput

lendir. Sediaan injeksi diberikan jika menginginkan kerja obat yang cepat, atau bila penderita tidak dapat diajak bekerja sama dengan baik, tidak sadar, tidak tahan menerima pengobatan secara oral, atau obat tidak efektif bila diberikan dengan cara lain (Ansel, 1989; Depkes RI, 1995).

Amoksisilin sering diberikan dalam bentuk sediaan injeksi kering. Sediaan injeksi kering diformulasikan untuk senyawa yang tidak stabil dalam bentuk larutan, tetapi stabil dalam bentuk kering. Begitu pula dengan sediaan injeksi

amoksisilin-klavulanat, diformulasikan dalam bentuk injeksi kering. Injeksi ini diberikan dalam bentuk serbuk kering yang telah disterilkan dan dalam penggunaannya ditambahkan air secara aseptis ke dalam vial obat untuk menghasilkan obat suntik yang diinginkan (Ansel, 1989).

Tiga faktor utama yang harus diperhatikan dalam penyimpanan obat, yaitu suhu, posisi, dan kadaluwarsa. Suhu merupakan faktor terpenting karena pada umumnya obat bersifat termolabil (rusak atau berubah karena panas). Untuk penyimpanan sediaan injeksi kering, khususnya amoksisilin-klavulanat, harus disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C (Ansel, 1989; Hugo and Russell, 2005). Namun, dalam faktanya kadang timbul masalah mengenai fasilitas penyimpanan sediaan injeksi kering tersebut ataupun pada saat pendistribusian.

Berdasarkan kompleksitas tersebut, penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap stabilitas potensi dan kadar sediaan amoksisilin-klavulanat perlu dilakukan.

## **BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media antibiotik (Oxoid), aqua pro injeksi, NaCl fisiologis, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Amoksisilin TP, Kalium klavulanat, injeksi Amoksisilin-Klavulanat

(dengan nomor batch yang sama, yang disimpan pada suhu 2-8°C dan suhu ruangan  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), bakteri uji *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*).

Alat yang digunakan adalah lemari pendingin (Costan), labu ukur, cawan petri, erlenmeyer, pipet ukur, mikropipet, perforator, inkubator, *laminar air flow* (LAF), HPLC (Shimadzu LC-2010CHT), jangka sorong (Mitutoyo), otoklaf (Systec DX-65), oven (Heraeus UT 20), timbangan elektronik (Mettler Toledo ML303), dan ose.

### **Metode penelitian**

#### *1. Penyiapan Alat*

Alat-alat yang terbuat dari gelas dicuci, dikeringkan, dibungkus, kemudian disterilkan di dalam oven pada suhu 180°C selama 60 menit. Alat-alat lain seperti ose disterilkan secara langsung dengan cara dibakar di atas nyala api Bunsen pada saat akan digunakan.

#### *2. Penyiapan Media Antibiotik*

Ke dalam media antibiotik yang telah ditimbang dengan seksama, ditambahkan air suling dengan jumlah yang sesuai seperti tertulis pada etiket masing-masing media, dan dipanaskan hingga terbentuk larutan jernih. Larutan media tersebut kemudian disterilkan dalam otoklaf 121°C selama 15 menit.

3. *Penyiapan Bakteri Uji, Suspensi Bakteri dan Lempeng Agar*

a. *Penyiapan Bakteri Uji*

Mikroba diinokulasi dalam agar miring yang berisi media nutrisi agar, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

b. *Pembuatan Suspensi Bakteri*

Suspensi bakteri yang diperoleh dari biakan “agar miring” yang berumur satu hari, disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis.

c. *Penyiapan Lempeng Agar*

Media antibiotik yang sudah dicairkan dan steril, dicampurkan dengan suspensi bakteri 1 mL/100mL agar, kemudian dikocok sampai homogen. Sebanyak 20 mL agar dipipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri secara aseptik, dan dibiarkan hingga memadat.

4. *Penyiapan Larutan Baku Sampel*

Baku sampel yang digunakan adalah amoksisilin TP (*Trihydrate Powder*) dan kalium klavulanat. Larutan baku ini dibuat dengan melarutkan 58,22 mg serbuk amoksisilin TP dan 11,64 mg kalium klavulanat dalam 100 mL aqua pro injeksi, kemudian diencerkan menjadi beberapa dosis.

5. *Penyiapan Larutan Uji Injeksi Amoksisilin Klavulanat*

Sediaan injeksi kering amoksisilin-klavulanat 1 gram yang disimpan pada suhu lemari pendingin dan suhu ruangan masing-masing dilarutkan dalam 20 mL

aqua pro injeksi sesuai yang tercantum pada etiket, kemudian diencerkan hingga didapatkan beberapa dosis.

6. *Penetapan Diameter Hambat dan Potensi Injeksi Amoksisilin-Klavulanat*

Prosedur uji potensi dilakukan dengan menggunakan metode penetapan potensi lima dosis (desain 5+1). Pengenceran dilakukan dengan menyiapkan 5 dosis baku (S1 sampai S5) dan satu dosis uji (U3). Pengujian dilakukan pada sampel yang disimpan pada suhu yang berbeda selama 60 hari. Potensi antibiotik diobservasi pada minggu ke-0 (sebagai kontrol negatif), minggu ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-6, dan ke-8 untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada sampel yang disimpan pada suhu yang berbeda.

7. *Penetapan Kadar Sediaan Injeksi Kering Amoksisilin-Klavulanat*

Penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan HPLC menggunakan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sebagai fase gerak dan bondapak-C18 sebagai fase diam.

8. *Pengolahan Data*

Pada penelitian ini dilakukan pengolahan data untuk menghitung potensi secara statistik menggunakan *Independent-Sample T test*.

Hipotesis yang diuji adalah:

H<sub>0</sub> = Terdapat perbedaan signifikan antara sampel yang diuji terhadap *S.aureus* dengan

sampel yang diuji terhadap *E.coli*

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan pengujian, semua alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan tujuan untuk membunuh mikroorganisme yang terdapat pada alat agar tidak mengganggu pengujian. Penetapan diameter hambat dilakukan dengan menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kedua bakteri tersebut digunakan karena merupakan bakteri gram positif dan gram negatif yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. Selain itu, kedua bakteri tersebut masih sensitif terhadap amoksisilin-klavulanat.

Tabel 1. Variasi dosis yang digunakan

Seri (S)	Dosis (µg/mL)	Log Dosis
S1	12,65	1.1021
S2	16.875	1,2272
S3	22,5	1,3522
S4	30	1,4771
S5	40	1,6021
SU	22,5	1,3522

Sediaan yang diuji disimpan pada lemari pendingin (2-8°C) dan suhu kamar (±25°C). Pengujian dilakukan pada minggu ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-6, dan ke-8. Pengujian dilakukan untuk mengetahui perbedaan penurunan potensi sediaan injeksi kering amoksisilin-klavulanat yang disimpan dalam lemari pendingin dan suhu

kamar. Variasi dosis yang digunakan tertera dalam Tabel 1.

Tabel 2. Potensi amoksisilin-klavulanat pada *Staphylococcus aureus*

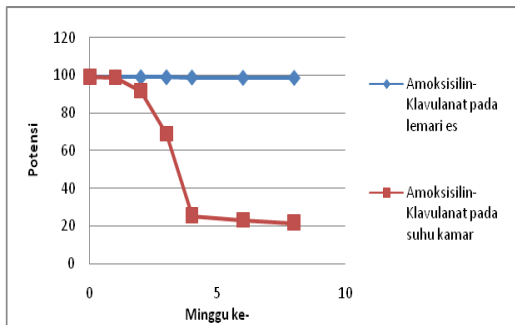
Waktu Penyimpanan (minggu ke-)	Potensi (%)	
	Suhu Lemari Es	Suhu Kamar
0	99,16	99,16
1	98,99	98,81
2	98,97	91,71
3	98,95	68,73
4	98,86	25,48
6	98,68	22,98
8	98,62	21,49

Tabel 3. Potensi amoksisilin-klavulanat pada *Escherichia coli*

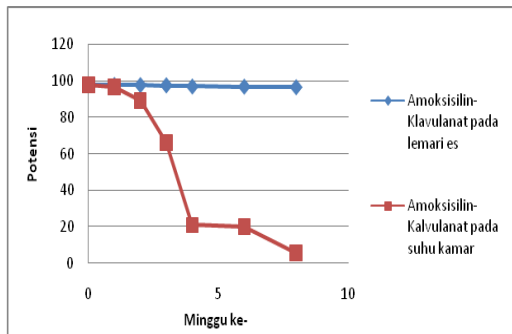
Waktu Penyimpanan (minggu ke-)	Potensi (%)	
	Suhu Lemari Es	Suhu Kamar
0	97,96	97,96
1	97,82	96,84
2	97,73	89,29
3	97,60	66,09
4	96,98	20,98
6	96,88	19,92
8	96,58	5,47

Berdasarkan diameter hambat yang diperoleh, maka dapat ditentukan potensi amoksisilin-klavulanat pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Hasil potensi amoksisilin-klavulanat terhadap masing-masing bakteri uji, tersaji secara lengkap pada Tabel 2 dan Tabel 3, sedangkan grafik

penurunan potensi dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Grafik penurunan potensi amoksisilin-klavulanat terhadap *S.aureus*



Gambar 2. Grafik penurunan potensi amoksisilin-klavulanat terhadap *E.coli*

Dari hasil dapat diketahui bahwa waktu penyimpanan sangat berpengaruh terhadap potensi dan kadar sediaan injeksi kering Amoksisilin-klavulanat yang disimpan pada suhu kamar. Hal ini terlihat dari penurunan potensi dan kadar yang diamati selama 8 minggu.

Sampel yang diuji terhadap *Escherichia coli* mengalami penurunan potensi sebesar 94,94% untuk penyimpanan di suhu kamar, sedangkan yang disimpan dalam lemari es mengalami penurunan potensi 1,41%. Begitu juga dengan pengujian terhadap *Staphylococcus aureus*, sampel yang disimpan pada suhu kamar

mengalami penurunan potensi sebesar 78,33% dan 0,54% untuk sampel yang disimpan di lemari es (lihat Tabel 2 dan Tabel 3).

Dari Gambar 1 dan Gambar 2 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan potensi pada kedua jenis bakteri uji, baik yang disimpan dalam lemari es maupun yang disimpan pada suhu kamar. Namun demikian, terlihat bahwa potensi amoksisilin-klavulanat terhadap kedua jenis mikroba tersebut menunjukkan adanya perbedaan. Potensi pada *E.coli* yang lebih kecil dibanding pada *S.aureus* dimungkinkan karena *E.coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki kepekaan yang lebih kecil terhadap golongan penisilin dibanding bakteri gram positif (Alfildiet, 1994).

Persentase penurunan potensi amoksisilin-klavulanat selama 8 minggu pada dua kondisi tempat penyimpanan yang berbeda ditunjukkan pada Tabel 4. Penurunan potensi pada sampel injeksi kering amoksisilin-klavulanat ini dimungkinkan karena terjadinya penguraian amoksisilin-klavulanat akibat pengaruh suhu penyimpanan dalam beberapa periode waktu tertentu.

#### 1. Penetapan Kadar Sediaan Injeksi Kering Amoksisilin-Klavulanat

Telah dikemukakan bahwa potensi antibiotik dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu pH, suhu, stabilitas senyawa tersebut, jumlah bakteri

yang ada, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolisme bakteri. Penetapan kadar sediaan injeksi kering amoksisilin-klavulanat yang disimpan dalam lemari es dan suhu kamar dilakukan dengan menggunakan alat HPLC. Hasil penetapan kadar secara rinci dapat dilihat pada Tabel 5.

Kadar amoksisilin dan klavulanat yang dipersyaratkan yaitu masing-masing antara 95,0% - 107,5% (British Pharmacopea, 2009). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sediaan yang disimpan di dalam lemari es tidak mengalami penurunan. Keberagaman hasil dimungkinkan akibat perbedaan keseragaman bobot dari sampel uji. Walaupun demikian, kadar sediaan injeksi kering Amoksisilin-klavulanat selama 8 minggu masih memenuhi persyaratan.

Di sisi lain, sediaan yang disimpan pada suhu kamar mengalami penurunan dibanding pada minggu ke-0. Di samping itu, kadar senyawa klavulanat dalam sediaan injeksi Amoksisilin-klavulanat mengalami penurunan lebih besar dibandingkan senyawa amoksisilin itu sendiri. Hal tersebut dikarenakan sifat senyawa amoksisilin itu sendiri memang lebih stabil dibandingkan dengan klavulanat yang mudah terurai pada suhu lebih dari 8°C.

## 2. Analisis Data

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna secara statistik

antara penurunan potensi pada sampel yang diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, analisis data dilakukan dengan menggunakan *Independent-Sample T test*. Hasil perhitungan statistik dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Data hasil perhitungan statistik pada tingkat signifikansi 95% diketahui sampel yang disimpan di lemari es memiliki nilai  $p=0,000$  ( $H_0$  ditolak), sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan untuk penurunan potensi sampel yang diuji terhadap *S.aureus* maupun terhadap *E.coli*. Hal ini dipertegas dari hasil perbedaan rata-rata potensi terhadap kedua bakteri uji yang begitu tipis, yaitu sebesar 1,52571.

Dari hasil ini diketahui bahwa walaupun secara angka potensi berbeda, namun secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna antara potensi injeksi amoksisilin-klavulanat terhadap *S.aureus* dan *E.coli* pada suhu dingin, sedangkan untuk sampel yang disimpan di suhu kamar menunjukkan nilai  $p=0,829$  ( $H_0$  diterima) sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna secara statistik untuk penurunan potensi sampel yang diuji terhadap *S.aureus* maupun *E.coli*. Perbedaan potensi yang signifikan atau bermakna secara statistik ini dipertegas dengan hasil perbedaan rata-rata potensi kedua bakteri tersebut yang sangat besar, yaitu 4,54.

Tabel 4. Penurunan potensi (%) sediaan injeksi kering amoksisilin-klavulanat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* setelah 8 minggu penyimpanan

Penurunan Potensi (%) Amoksisillin-Klavulanat			
Terhadap <i>E.coli</i>		Terhadap <i>S.aureus</i>	
Suhu Kamar ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ )	Suhu Lemari Es ( $2-8^{\circ}\text{C}$ )	Suhu Kamar ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ )	Suhu Lemari Es ( $2-8^{\circ}\text{C}$ )
94,42	1,41	78,33	0,54

Tabel 5. Kadar sediaan injeksi kering amoksisilin-klavulanat yang disimpan dalam lemari es dan suhu kamar

Nama Zat	Waktu (minggu ke-)	Kadar (%)	
		Suhu Lemari Es	Suhu Kamar
Amoksisilin	0	103,13	103,13
	8	104,42	102,03
Klavulanat	0	99,31	99,13
	8	101,62	96,08

Tabel 6. Tabel *Independent-Sample T test* potensi sampel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang disimpan di lemari es

		Levene's Test Untuk Kesetaraan Varian		T-Test untuk Kesetaraan Rata-rata						
		F	Sig	t	df	Sig. (2-Tailed)	Perbedaan Rata-rata	Perbedaan Std. Kesalahan	95% Rentang Kepercayaan	
									Bawah	Atas
Potensi	Homogen	17,896	0,001	7,063	12	0,000	1,52571	0,21602	1,05504	1,99639
	Tidak Homogen			7,063	7,425	0,000	1,52571	0,21602	1,02077	2,03065

Tabel 7. Tabel *Independent-Sample T test* potensi sampel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang disimpan di suhu kamar

		Levene's Test Untuk Kesetaraan Varian		T-Test untuk Kesetaraan Rata-rata						
		F	Sig	t	df	Sig. (2-Tailed)	Perbedaan Rata-rata	Perbedaan Std. Kesalahan	95% Rentang Kepercayaan	
									Bawah	Atas
Potensi	Homogen	0,192	0,669	0,220	12	0,829	4,54429	20,62920	-40,40287	49,49144
	Tidak Homogen			0,220	11,909	0,829	4,54429	20,62920	-40,44090	49,52947

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

- a. Waktu penyimpanan sangat berpengaruh terhadap potensi dan kadar sediaan injeksi kering Amoksisilin-klavulanat yang disimpan pada suhu kamar. Dari data yang dihasilkan, selama 8 minggu penyimpanan di suhu kamar, sediaan tersebut sudah tidak memenuhi persyaratan potensi antibiotik karena persyaratan potensi antibiotik (95,0-105,0%), sedangkan untuk sampel yang disimpan di lemari es masih memenuhi persyaratan (DepKes RI, 1995).
- b. Penurunan kadar amoksisilin yang disimpan di suhu kamar sebesar 1,07%, dan untuk klavulanat sebesar 3,25%. Namun, penurunan kadar sediaan amoksisilin-klavulanat ini masih memenuhi persyaratan, (British Pharmacopeia, 2009).
- c. Perbedaan potensi Amoksisilin-klavulanat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada penyimpanan di lemari es tidak signifikan secara statistik, sedangkan potensi amoksisilin-klavulanat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang disimpan di suhu kamar

menunjukkan perbedaan yang signifikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfildiet, Suharto, 1994, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta : Binarupa Aksara.
- Ansel, H.C, 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi ke-4, Jakarta: UI Press. Hal 399-407.
- British Pharmacopoeia Commission, 2009, *British Pharmacopoeia Commission 2009*, The Stationery Office, London.
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi ke-4, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 95-96.
- Hugo and Russell, 2005, *Pharmaceutical Microbiology*, USA : Blackwell Science. Hal 196-199, 223.
- Tan Hoan Tjay., dan Kirana Raharja, 2002, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Jakarta: PT Elex Media Komputindo. Hal 63-65.