

PENGARUH WAKTU DAN SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KADAR AMOKSISILIN DAN ASAM KLAVULANAT DARI PRODUK RUAHAN (BULK) SIRUP KERING CO-AMOXICLAV

Melvia Sundalian¹, Sri Gustini Husein¹, Vidya Putri Ayuningtyas¹

¹ Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STFI), Jl. Soekarno-Hatta No. 354 (Parakan Resik 1), Bandung

*Alamat korespondensi: melviasundalian@stfi.ac.id

Abstrak

Co-Amoxiclav merupakan antibiotik kombinasi antara amoksisilin dan asam klavulanat yang digunakan untuk mengatasi infeksi akibat bakteri yang sudah resisten terhadap amoksisilin tunggal. Amoksisilin dan asam klavulanat memiliki gugus cincin β -laktam yang mudah terhidrolisis jika kondisi penyimpanan tidak sesuai. Pada proses produksi sirup kering Co-Amoxiclav seringkali terhambat karena ketersediaan fasilitas yang terbatas, sehingga menyebabkan beberapa produk ruahan harus disimpan untuk menunggu proses produksi selanjutnya. Kegiatan monitoring kadar amoksisilin dan asam klavulanat pada produk ruahan saat proses penyimpanan selama proses produksi berlangsung sangat perlu dilakukan. Penurunan kadar zat aktif dalam produk ruahan dapat dipengaruhi oleh waktu dan suhu penyimpanan. Pada penelitian ini penentuan kadar dilakukan menggunakan metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) dengan kondisi pengujian, fase gerak metanol : NaH₂PO₄ 0,05 M (10:90) dengan fase diam kolom inertsil ODS 4 ukuran 150 x 4,6 mm 5 μ m, laju alir 1,0 mL/menit, volume injeksi 20 μ l dan diukur panjang gelombang 220 nm. Sampel produk ruahan ini disimpan pada suhu *chiller* (2-8°C), suhu AC 24 jam (16-25°C) dan suhu *ambient* (\leq 30°C) selama 12 hari dengan waktu pengujian pada hari ke-0, 4, 8 dan 12. Berdasarkan pengujian penurunan kadar amoksisilin dan asam klavulanat yang paling signifikan terjadi pada suhu *ambient* (\leq 30°C), sedangkan kondisi penyimpanan yang paling stabil terhadap kadar amoksisilin dan asam klavulanat yaitu pada suhu *chiller* (2-8°C). Lama penyimpanan produk ruahan yang disarankan tidak lebih dari 4 hari, dengan penyimpanan pada kondisi normal yaitu pada suhu *Air Condition* 24 jam (16-25°C).

Kata Kunci: Amoksisilin, asam klavulanat, waktu, suhu, kadar.

Abstract

Co-Amoxiclav is an antibiotic combination of amoxicillin and clavulanic acid which is used to treat infections caused by bacteria that are resistant to single amoxicillin. Amoxicillin and clavulanic acid have β -lactam ring groups which are easily hydrolyzed if storage conditions are not suitable. The production process of Co-Amoxiclav dry syrup is often hampered due to the limited availability of facilities, causing several bulk products to be stored to wait for the next production process. It is very necessary to monitor the levels of amoxicillin and clavulanic acid in bulk products during storage during the production process. Decreasing levels of active substances in bulk products can be affected by storage time and temperature. In this study, the determination of the concentration was carried out using the HPLC method (High Performance Liquid Chromatography) with the test conditions, the mobile phase was methanol: NaH₂PO₄ 0.05 M (10:90) with the stationary phase an ODS 4 inertsil column measuring 150 x 4.6 mm 5 μ m, flow rate of 1.0 mL/min, injection volume of 20 μ l and measured wavelength of 220 nm. These bulk product samples were stored at chiller temperature (2-8°C), AC temperature 24 hours (16-25°C) and ambient temperature ($<$ 30°C) for 12 days with testing time on days 0, 4, 8 and 12. Based on testing, the most significant decrease in amoxicillin and clavulanic acid levels occurred at ambient temperature ($<$ 30°C), while the most stable storage conditions for amoxicillin and clavulanic acid levels were at chiller temperatures (2-8°C). The recommended storage

time for bulk products is no more than 4 days, with storage under normal conditions, namely at a temperature of 24 hours (16-25°C).

Key words: *Amoxicillin, clavulanic acid, time, temperature, concentration*

PENDAHULUAN

Co-amoxiclav merupakan antibiotik kombinasi amoksisilin dan asam klavulanat yang digunakan untuk mengatasi infeksi akibat bakteri yang sudah resisten terhadap amoksisilin tunggal. Amoksisilin memiliki gugus cincin β -laktam yang berperan sebagai antibakteri, akan tetapi cincin β -laktam ini mudah terhidrolisis. Untuk mencegah terjadinya hidrolisis pada cincin β -laktam, maka perlu ditambahkan senyawa penghambat reaksi hidrolisis tersebut, salah satunya dengan menambahkan atau mencampurkan dengan asam klavulanat. Asam klavulanat merupakan inhibitor betalaktamase yang diisolasi dari bakteri gram positif *Streptomyces clavuligerus* sebagai metabolit sekunder yang terkait dengan jalur klavam yang berasal dari metabolisme arginin dan gliserol. Asam klavulanat sering dikombinasikan dengan amoksisilin untuk melawan resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik spektrum luas yang diketahui dengan mencegah degradasi oleh enzim betalaktamase (Kemenkes, 2011).

Co-amoxiclav sering dibuat dalam bentuk sediaan sirup kering. Penelitian Peace (2012) menyatakan bahwa sediaan suspensi Co-Amoxiclav stabil pada suhu 5 - 29°C selama 5 hari setelah direkonstitusi (Peace et al, 2012). Penelitian Talogo (2014) melakukan pengujian terhadap stabilitas sediaan Co- Amoxiclav yang

sudah direkonstitusi dengan mengamati persen degradasi amoksisilin selama 7 hari pada kondisi penyimpanan yang berbeda, yaitu suhu kamar (27 - 29°C) dan suhu kulkas (4 - 8°C). Persen degradasi kadar amoksisilin dalam suhu kamar (27 - 29°C) lebih besar dibandingkan dengan persen degradasi kadar amoksisilin dalam suhu kulkas (4 - 8°C). Selain itu, penentuan waktu dan suhu penyimpanan yang tepat untuk produk ruahan (bulk) Co-Amoxiclav sebelum proses pengisian ke dalam botol juga perlu dipastikan, supaya kadar amoksisilin dan asam klavulanat dapat diketahui dan masih memenuhi spesifikasi yang telah ditentukan

Saat ini permintaan pasar terhadap obat khususnya antibiotik cukup tinggi, sehingga beberapa industri farmasi mencoba memenuhi permintaan tersebut. Proses produksi seringkali terhambat karena ketersediaan fasilitas yang terbatas, sehingga menyebabkan beberapa produk ruahan harus disimpan untuk menunggu proses produksi selanjutnya. Produk ruahan merupakan material yang telah mengalami proses produksi namun belum dapat dikatakan sebagai produk jadi karena masih harus melalui beberapa tahap lebih lanjut sampai dihasilkan produk jadi. Produk ruahan ini harus disimpan pada kondisi penyimpanan yang sesuai dengan memperhatikan suhu, kelembaban serta kualitas udara.

Pemantauan stabilitas secara fisik maupun kimia selama periode penyimpanan produk ruahan tidak terpantau dengan baik, sehingga dirasa penting untuk dilakukan pengujian stabilitas selama periode penyimpanan produk ruahan. Lama waktu dan suhu penyimpanan yang tepat perlu diketahui agar produk tetap stabil secara fisik maupun kimia. Besarnya perubahan kimia dari sediaan farmasi ditentukan dari laju penguraian obat melalui hubungan antara kadar obat dengan waktu, atau berdasarkan derajat degradasi dari suatu obat. Stabilitas obat dapat diketahui dari ada atau tidaknya penurunan kadar selama penyimpanan. Penyimpanan obat yang kurang baik merupakan salah satu masalah dalam upaya peningkatan mutu obat. Syarat mutlak bahwa setiap obat yang beredar harus aman (safety), bermutu (quality) dan bermanfaat (efficacy) (Luawo et al, 2012).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dilakukan penelitian tentang penentuan waktu dan suhu penyimpanan yang tepat untuk produk ruahan (bulk) Co-Amoxiclav sebelum proses pengisian ke dalam botol, dimana kadar amoksisilin dan asam klavulanat masih memenuhi spesifikasi yang telah ditentukan. Penetapan kadar dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

METODOLOGI

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik

(Mettler Toledo®), spatula, labu ukur 50 mL dan 100 mL, Erlenmeyer 100 mL, volume pipet 5 mL, corong kaca, gelas kimia 100 mL, 500 mL dan 1000 mL, pipet tetes, ultrasonic (Branson®), piknometer 5 mL, HPLC Shimadzu, kolom C18 inertsil ODS 4 ukuran 150 x 4,6 mm 5 µm (GL Sciences®).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel ruahan sirup kering Co- Amoxiclav, standar amoksisilin trihidrat (DSM®), standar litium klavulanat (Fermic®), metanol HPLC grade (Merck®), natrium dihidrogen fosfat (Merck®), aquades.

Validasi Metode Analisis

Uji Kesesuaian Sistem

Diinjeksikan larutan standar campuran sebanyak 6 kali pengulangan pada KCKT, kemudian dihitung parameter untuk uji kesesuaian sistem. Kriteria penerimaan : Relative Standard Deviation (RSD) < 1.0%; N > 2000; Tailing Factor < 2 (Validation of Chromatographic Methods, USFDA, 1994).

Selektivitas

Disiapkan larutan standar 100%, larutan sampel, larutan blanko, larutan pelarut (eluent). Keempat larutan tersebut diinjeksikan ke sistem KCKT kemudian direkam area kromatogram yang diperoleh dan diamati resolusi puncak kromatogram yang ada. Kriteria penerimaan : Resolusi antar peak > 2,0 (Ahuja and Dong, 2005).

Linearitas

Dibuat seri pengenceran larutan induk standar dalam pelarut air dengan rentang konsentrasi 70 - 130% di dalam labu ukur 50 mL. Kriteria penerimaan : $r > 0,999$ dan y -intercept $< 2,0\%$ (Ahuja and Dong, 2005).

Presisi (Ripitabilitas dan Presisi Antara)

Pengujian ripitabilitas dan presisi antara ditentukan dengan melakukan pengujian terhadap 3 seri larutan standar dan larutan sampel dengan level konsentrasi yang berbeda yaitu 80; 100 dan 120% untuk zat aktif.

Presisi Standar

Dibuat seri pengenceran dari larutan induk standar dengan level konsentrasi 80; 100, dan 120% ke dalam labu ukur 50 mL dengan pelarut air.

Presisi Sampel

Dibuat seri larutan sampel dengan level konsentrasi 80; 100 dan 120% untuk zat aktif sesuai prosedur pembuatan larutan sampel.

Akurasi

Uji akurasi ditentukan dengan melakukan pengujian terhadap 3 seri larutan standar dan larutan sampel dengan level konsentrasi yang berbeda yaitu 80; 100 dan 120% untuk zat aktif.

Akurasi Standar

Dibuat seri larutan standar dengan level konsentrasi yang berbeda yaitu 80; 100 dan 120% ke dalam labu ukur 50 mL.

Akurasi Sampel (Recovery)

Uji akurasi dilakukan menggunakan metode spiked placebo, yaitu dengan menambahkan zat aktif yang sudah diketahui konsentrasinya ke dalam blanko (placebo), masing-masing dibuat 3 replikasi.

Larutan Uji Recovery Disuspensikan Placebo Produk X dalam 56,0 mL air, dikocok sampai homogen kemudian ditentukan bobot/mL suspensi. Ditimbang seksama jumlah placebo Produk X, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Dimasukkan zat aktif, ditambahkan 50 mL air, dikocok atau degasse 45 menit tanpa dipanaskan, kemudian dikenakan dengan air hingga tanda batas, dikocok, disaring melalui 2 lapis kertas saring, dibuang 10 mL filtrat pertama kemudian ditampung filtrat berikutnya. Dipipet 5 mL filtrat, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, dikenakan dengan air hingga tanda batas, dikocok hingga homogen kemudian disaring melalui membran filter 0,45 μ m.

Robustness

Robustness adalah ketangguhan metode analisis yang divalidasi, dengan menguji efek dari perubahan yang dilakukan pada beberapa parameter validasi metode analisis. Pada validasi metode analisis ini yang diuji adalah pengaruh perubahan proses pelarutan (sonikasi atau shake) dan dimensi fase diam. Parameter yang diamati yaitu presisi dan selektivitas.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel hasil mixing diambil sebanyak 9 gram yang mewakili

masing-masing bagian atas, tengah dan bawah tangki mixing, kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik. Total jumlah sampel sebanyak 27 wadah plastik dengan rincian mewakili bagian atas, tengah dan bawah tangki mixing yang selanjutnya disimpan pada kondisi penyimpanan yang berbeda-beda yaitu suhu ambient ($< 30^{\circ}\text{C}$), suhu Air Condition 24 jam ($16-25^{\circ}\text{C}$) dan suhu chiller ($2-8^{\circ}\text{C}$). Lama penyimpanan dilakukan selama 12 hari dan pengujian dilakukan pada hari ke-0, 4, 8 dan 12.

Uji Kualitatif

Seluruh sampel yang sudah dilarutkan dengan 56 mL air diamati bentuk, warna, rasa, dan aroma yang disesuaikan dengan spesifikasi yang telah ditetapkan.

Penetapan Kadar

Pembuatan Larutan Standar Ditimbang sebanyak $\pm 65,0$ mg

Standar amoksisilin trihidrat (setara dengan 111,11 mg amoksisilin anhidrat) dan $\pm 15,0$ mg litium klavulanat (setara dengan 27,78 mg asam klavulanat) kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan air 50 mL, lalu dikocok atau degasse tanpa dipanaskan 45 menit sampai larut. Kemudian digenapkan sampai tanda batas dengan air. Dikocok dan saring menggunakan kertas saring. Filtrat dipipet sebanyak 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. digenapkan dengan air sampai tanda batas. Dikocok agar homogen, kemudian disaring dengan membran filter $0,45\ \mu\text{m}$ (konsentrasi

akhir amoksisilin $55,55\ \mu\text{g/mL}$; asam klavulanat $13,89\ \mu\text{g/mL}$).

Preparasi Sampel

Sampel disuspensikan dalam 56,0 ml air, kemudian dikocok hingga homogen dan ditentukan bobot/ml suspensi. Sampel ditimbang sebanyak $\pm 2,2$ kali bobot/ml ($\pm 2,4$ g suspensi setara dengan $\pm 55,5$ mg amoksisilin dan 13,9 asam klavulanat) dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditambahkan air 50 ml, lalu dikocok atau degasse 45 menit tanpa dipanaskan sambil sesekali dikocok. Kemudian digenapkan sampai tanda batas dengan air. Dikocok dan disaring menggunakan 2 lapis kertas saring. 10 ml filtrat pertama dibuang, kemudian filtrat berikutnya ditampung. Filtrat yang diperoleh dipipet sebanyak 5,0 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. digenapkan dengan air sampai tanda batas. Dikocok agar homogen, kemudian disaring dengan membran filter $0,45\ \mu\text{m}$ (konsentrasi akhir amoksisilin $55,55\ \mu\text{g/mL}$; asam klavulanat $13,89\ \mu\text{g/mL}$).

Pengukuran

Disuntikkan larutan standar dan larutan sampel, masing-masing $20\ \mu\text{L}$ kemudian dihitung konsentrasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan sebagai uji stabilitas terhadap produk ruahan sirup kering Co-Amoxiclav, dimana yang dijadikan sebagai parameter kritis yaitu suhu dan waktu penyimpanan. Kerusakan fisik produk ruahan sirup kering biasanya terjadi akibat rangsangan

eksternal seperti panas dan kelembaban. Suhu dan kelembaban yang tinggi dapat mempercepat kerusakan baik fisik maupun kimia.

Pengambilan sampel dilakukan dari bagian atas, tengah dan bawah tangki pengadukan untuk memastikan bahwa produk yang akan diproses lebih lanjut telah homogen. Tujuan akhir pengambilan sampel ini untuk memperoleh sampel yang representatif dari suatu batch sediaan farmasi. Penelitian ini dilakukan pada 3 macam variasi suhu dimaksudkan untuk mensimulasikan kejadian yang tidak diharapkan selama proses produksi, misalnya saat sistem tata udara sedang dilakukan perbaikan sehingga suhu akan mencapai suhu $< 30^{\circ}\text{C}$ (suhu ambient) dan jika ruang penyimpanan penuh, sebagian produk harus disimpan di tempat lain salah satunya chiller dengan suhu $2-8^{\circ}\text{C}$, pemilihan suhu chiller ini berdasarkan penelitian Khaled (2010) yang menyebutkan bahwa asam klavulanat disarankan disimpan pada suhu yang rendah ($2-8^{\circ}\text{C}$). Selama ini produk yang telah melalui proses pengadukan dan menunggu proses

pengisian disimpan pada ruangan dengan suhu $16-25^{\circ}\text{C}$ (suhu Air Condition 24 jam).

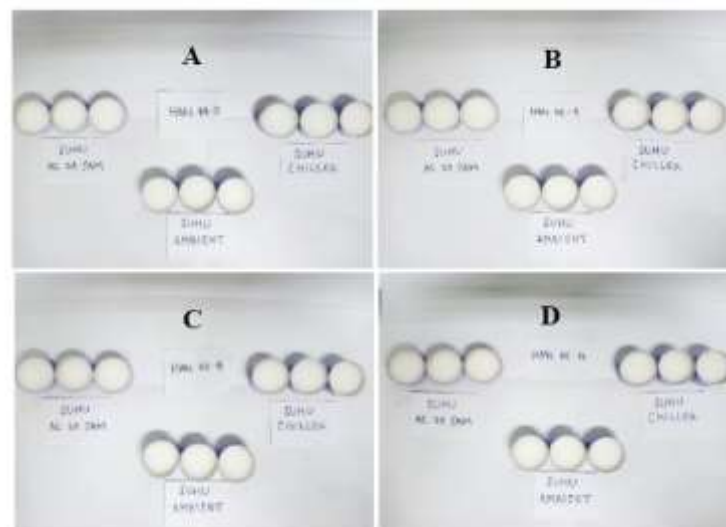
Berdasarkan prosedur tetap yang berlaku, menyebutkan bahwa produk ruahan tidak disarankan disimpan terlalu lama, waktu penyimpanan maksimal selama 14 hari sehigga pada penelitian ini waktu penyimpanan sampel dilakukan selama 12 hari. Variabel pengujian dilakukan pada hari ke-0, 4, 8 dan 12. Hasil akhir dari penelitian ini akan dijadikan sebagai rekomendasi dan alternatif penyimpanan bagi industri terkait penyimpanan produk ruahan sirup kering Co-Amoxiclav.

Uji Kualitatif

Sirup kering Co-Amoxiclav ini merupakan salah satu produk yang rentan terdegradasi jika penyimpanan tidak sesuai. Deteksi awal terjadinya ketidakstabilan produk bisa dilihat secara fisik setelah dilakukan rekonstitusi, perubahan warna yang terbentuk biasanya menjadi warna kecoklatan. Perubahan warna tersebut dapat terjadi akibat adanya reaksi antara zat aktif dengan lingkungan sekitar, misalnya suhu, kelembaban, mikroba, dan lain-lain.

Tabel 1 Hasil Uji Kualitatif Sampel

Parameter Pengujian	Kriteria Penerimaan	Waktu Pengamatan (Hari ke-)			
		0	4	8	12
Bentuk	Larutan sirup	Sesuai	Sesuai	Sesuai	Sesuai
Warna	Putih	Sesuai	Sesuai	Sesuai	Sesuai
Rasa	Manis	Sesuai	Sesuai	Sesuai	Sesuai
Bau	Aroma strawberry	Sesuai	Sesuai	Sesuai	Sesuai



Gambar 1. A) Sampel yang telah direkonstitusi pada hari ke-0, B) Sampel yang telah direkonstitusi pada hari ke-4, C) Sampel yang telah direkonstitusi pada hari ke-8, D) Sampel yang telah direkonstitusi pada hari ke-12

Tabel 1 dan Gambar 1, merupakan hasil dari uji kualitatif terhadap produk ruahan yang disimpan pada hari ke-0, 4, 8 dan 12 pada variasi suhu yang berbeda-beda, diantaranya suhu *chiller* (2-8°C), suhu *Air Condition* 24 jam (16-25°C) dan suhu *ambient* ($\leq 30^\circ\text{C}$). Tanda awal turunnya kualitas produk dapat diamati secara visual. Berdasarkan hasil pengamatan secara keseluruhan, seluruh sampel menunjukkan hasil yang baik, sehingga masih sangat memungkinkan jika produk ruahan disimpan selama maksimal 12 hari dan jika terjadi kelebihan kapasitas di ruang penyimpanan dapat dilakukan alternatif tempat penyimpanan lain pada suhu yang telah dilakukan pengujian.

Validasi metode analisis

Validasi metode analisis ini merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium

untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Pengujian kadar dilakukan menggunakan metode KCKT berdasarkan metode analisis yang telah tervalidasi. Panjang gelombang yang digunakan pada analisis ini yaitu 220 nm. Berdasarkan penelitian Tippa, dkk (2010) amoksisilin memiliki panjang gelombang antara 210-240 nm sedangkan asam klavulanat memiliki panjang gelombang antara 210-230 nm. Fase gerak yang digunakan yaitu metanol : NaH_2PO_4 0,05 M (10:90) dengan fase diam kolom inertsil ODS 4 ukuran 150 x 4,6 mm 5 μm . Laju alir 1,0 ml/menit dengan volume injeksi 20 μl .

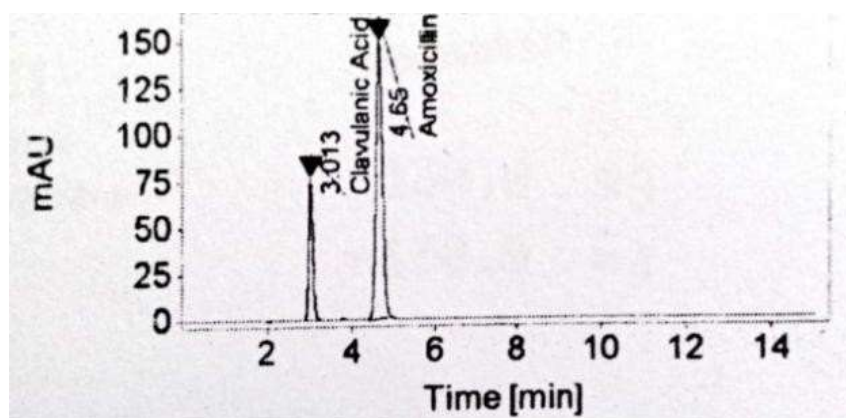
Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

Uji Kesesuaian Sistem (UKS) ini harus dilakukan secara berkala dan rutin untuk menentukan bahwa sistem analisis beroperasi secara baik. Persyaratan Uji Kesesuaian Sistem

yang disebutkan dalam *Validation of Chromatographic Methods* bahwa simpangan baku relatif (RSD) < 1,0%, efisiensi kolom > 2000 dan faktor asimetri (faktor pengekoran) < 2.

Gambar 2 yang menunjukkan kromatogram asam klavulanat dan amoksisilin. Asam klavulanat memiliki sifat lebih polar jika

dibandingkan dengan amoksisilin. Puncak asam klavulanat lebih dahulu terdeteksi yang selanjutnya diikuti amoksisilin. Dapat disimpulkan bahwa kondisi operasional untuk menganalisis amoksisilin dan asam klavulanat dengan metode KCKT sudah membentuk suatu kesatuan sistem yang dapat memberikan hasil yang baik.



Gambar 2. Kromatogram Uji Kesesuaian Sistem

Tabel 2. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Terhadap Amoksisilin

Amoksisilin Trihidrat	Area (mAU)	Waktu retensi (menit)	Faktor asimetri	Efisiensi kolom
Standar 1	1689,7235	4,66	1,14	3805,72
Standar 2	1690,1786	4,66	1,13	3838,99
Standar 3	1689,0342	4,66	1,13	3838,58
Standar 4	1691,9149	4,66	1,13	3850,11
Standar 5	1690,9086	4,66	1,13	3842,33
Standar 6	1689,9954	4,66	1,14	3859,38
Rata-rata	1690,29	4,66	1,13	3839,19
SD	1,00	0,00	0,01	18,21
RSD (%)	0,06	0,00	0,46	0,47

Tabel 3. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Terhadap Asam Klavulanat

Asam Klavulanat	Area (mAU)	Waktu retensi (menit)	Faktor asimetri	Efisiensi kolom
Standar 1	542,9580	3,02	1,20	4142,23
Standar 2	541,7636	3,01	1,20	4163,52
Standar 3	541,8373	3,01	1,20	4186,65
Standar 4	541,4271	3,01	1,22	4190,42
Standar 5	542,7398	3,01	1,20	4181,23
Standar 6	541,7441	3,01	1,22	4206,17
Rata-rata	542,08	3,01	1,21	4178,37
SD	0,62	0,00	0,01	22,46
RSD (%)	0,11	0,14	0,86	0,54

Dari hasil Uji Kesesuaian Sistem terhadap amoksisilin dan asam klavulanat yang tertera pada tabel 2 dan 3, dapat disimpulkan bahwa kromatogram asam klavulanat dan amoksisilin telah memenuhi syarat seluruh parameter kritis seperti simpangan baku relatif, faktor asimetri dan efisiensi kolom.

Selektivitas

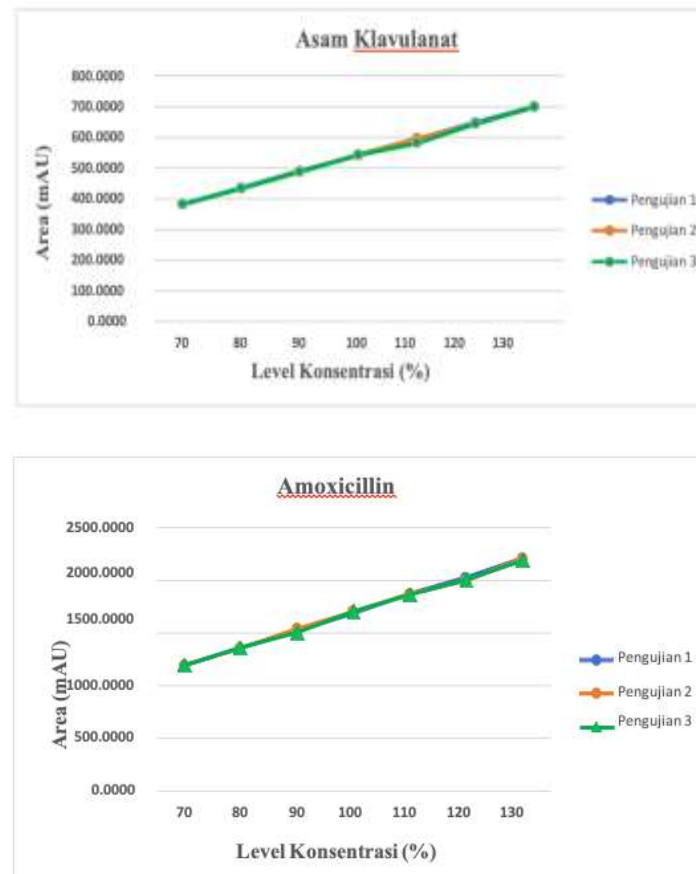
Merupakan kemampuan yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Uji selektivitas yang melibatkan kromatografi dapat ditentukan pada besarnya resolusi antar puncak yang terbentuk. Berdasarkan hasil uji, besarnya nilai resolusi antar puncak pada standar asam klavulanat dan amoksisilin sebesar 6,720 sedangkan nilai resolusi antar puncak pada sampel sebesar 6,835. Uji selektivitas sudah memenuhi spesifikasi yang dipersyaratkan dalam *Handbook of*

Pharmaceutical Analysis by HPLC dimana resolusi antar puncak > 2 .

Linearitas

Merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linear $Y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Syarat yang dinyatakan dalam *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC* yaitu $r > 0,999$ dan y intersep $< 2,0\%$. Berdasarkan hasil analisis koefisien korelasi dan kepekaan analisis sudah memenuhi persyaratan terhadap pengujian yang variatif pada amoksisilin dan

asam klavulanat. Konsistensi dari hasil pengujian dapat dilihat pada grafik hubungan konsentrasi dan luas area yang terbentuk.



Gambar 3. Grafik Uji Linearitas terhadap Amoksisilin Trihidrat dan Asam Klavulanat

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat hasil analisis koefisien korelasi dan kepekaan analisis sudah memenuhi persyaratan terhadap pengujian yang variatif pada amoksisilin dan asam klavulanat. Konsistensi dari hasil pengujian dapat dilihat pada grafik hubungan konsentrasi dan luas area yang terbentuk, berdasarkan 3 kali pengulangan pengukuran untuk setiap level konsentrasi.

Presisi

Merupakan ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulang dari ukuran yang sama, biasanya diukur sebagai simpangan baku relatif dari hasil analisis yang diperoleh dari standar kontrol kualitas. Uji presisi ditentukan dengan melakukan pengujian terhadap 3 seri larutan standar dan larutan sampel dengan level konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi yang digunakan yaitu 80%, 100% dan 120%.

Penentuan presisi dapat dibagi menjadi 3 kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*). Metode yang

digunakan yaitu presisi antara yang dilakukan pada hari yang berbeda dan *reproducibility* karena menggunakan variasi konsentrasi.

Tabel 4. Hasil Uji Presisi Standar dan sampel Amoksisilin Trihidrat

Level konsentrasi (%)	Standar Amoksisilin Trihidrat			Sampel Amoksisilin Trihidrat		
	%RSD			%RSD		
	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari 1 dan 2	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari 1 dan 2
80	0,12	0,07	0,37	0,01	0,48	0,4
100	0,62	0,08	0,48	0,14	0,53	0,56
120	0,85	0,06	1,17	0,05	0,45	0,45

Tabel 4. menunjukkan hasil uji presisi yang dilakukan terhadap standar dan sampel amoksisilin telah syarat simpangan baku relatif yang dinyatakan dalam *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures* dengan nilai syarat $\leq 2,8\%$ dikarenakan konsentrasi analit dalam sediaan $\geq 1,0\%$.

Merujuk persyarat tersebut maka dapat disimpulkan hasil analisis untuk uji presisi terhadap standar Amoksisilin pada analit dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% rata-rata simpangan baku relatif pada hari pertama dan hari kedua telah memenuhi syarat.

Tabel 5. Hasil Uji Presisi Standar dan Sampel Asam Klavulanat

Level konsentrasi (%)	Standar Asam Klavulanat			Sampel Asam Klavulanat		
	%RSD			%RSD		
	Hari Ke 1	Hari ke 2	Hari 1 dan 2	Hari Ke 1	Hari ke 2	Hari 1 dan 2
80	0,58	0,29	0,41	0,33	0,04	0,4
100	0,04	0,18	0,12	0,19	0,03	0,59
120	0,08	0,11	0,23	0,5	0,08	0,41

Tabel 5. menunjukkan hasil uji presisi sampel terhadap asam klavulanat. Rentang simpangan baku relatif yang dinyatakan dalam *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures* sama dengan nilai syarat $\leq 3,7\%$. dikarenakan konsentrasi analit dalam sediaan $\geq 0,1\%$. Merujuk persyarat tersebut maka dapat disimpulkan hasil analisis untuk uji presisi sampel terhadap asam klavulanat, pada analit dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% rata-rata simpangan baku relatif pada hari pertama dan hari kedua telah memenuhi syarat.

Akurasi

Merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dinilai dengan menggunakan sedikitnya 9 penentuan dengan sedikitnya 3 tingkat konsentrasi dalam rentang pengujian metode analisis tersebut, konsentrasi yang digunakan yaitu 80%, 100% dan 120% dengan masing-masing konsentrasi dibuat 3 replikasi.

Tabel 6. Hasil Uji Akurasi Standar dan Sampel Amoksisilin Trihidrat

Level konsentrasi (%)	Standar Amoksisilin Trihidrat		Sampel Amoksisilin Trihidrat	
	Rekoveri (%)	Rata-rata Rekoveri (%)	Rekoveri (%)	Rata-rata Rekoveri (%)
80	99,95		98,39	
	99,95	100,02	98,38	98,41
	100,16		98,46	
100	99,29		97,91	
	100,35	100,00	98,25	98,06
	100,37		98,04	
120	99,50		98,28	
	97,84	98,60	98,30	98,28
	98,48		98,27	

Tabel 6. menunjukkan hasil uji akurasi terhadap standar amoksisilin. Berdasarkan *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures* syarat persen perolehan

kembali berada pada rentang 97-103% dikarenakan konsentrasi analit dalam sediaan $\geq 1,0\%$. Uji akurasi ini dilakukan terhadap standar dan sampel. Berdasarkan hasil analisis

pada analit dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% rata-rata persen perolehan kembali

memenuhi persyaratan dimana semua sampel masuk dalam rentang 97 – 103 %.

Tabel 7. Hasil Uji Akurasi Standar dan Sampel Asam Klavulanat

Level konsentrasi (%)	Standar Asam Klavulanat		Sampel Asam Klavulanat	
	Rekoveri (%)	Rata-rata Rekoveri (%)	Rekoveri (%)	Rata-rata Rekoveri (%)
80	100,25		96,25	96,46
	99,59	99,94	96,78	
	99,98		96,34	
100	99,79		96,44	96,61
	100,17	100,00	96,73	
	100,04		96,65	
120	99,64		97,48	97,58
	98,69	99,08	97,87	
	98,90		97,39	

Tabel 7. menunjukkan hasil uji akurasi terhadap standar asam klavulanat. Berdasarkan *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures* syarat persen perolehan kembali sampel asam klavulanat berada pada rentang 95-105% karena konsentrasi analit dalam sediaan $\geq 0,1\%$. Berdasarkan hasil analisis pada analit dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% rata-rata persen perolehan kembali sampel asam klavulanat telah memenuhi persyaratan.

proses pelarutan dari pengocokan menggunakan *shaker* selama 45 menit menjadi sonikasi tanpa pemanasan selama 45 menit. Perubahan selanjutnya yaitu perubahan fasa diam dari Inertsil ODS4 C18 150 x 4,6 mm 5 μm menjadi Pursuit 10 C18 300 x 3,9 mm 10.

Robustness

Bertujuan untuk memvalidasi kekuatan suatu metode perlu dibuat perubahan metodologi yang kecil dan terus menerus dan mengevaluasi respon analitik. Disini, perubahan yang dilakukan berupa perubahan

Tabel 8. Hasil Uji Presisi untuk Robustness dengan Perubahan Fasa Diam dan Sonikasi

Level konsent rasi (%)	Amoksisilin Trihidrat				Asam Klavulanat			
	Perubahan Fasa Diam		Sonikasi		Perubahan Fasa Diam		Sonikasi	
	Standar	Sampel	Standar	Sampel	Standar	Sampel	Standar	Sampel
	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)	RSD Area (%)
80	0,43	0,39	0,34	0,04	0,11	0,25	0,35	0,02
100	0,28	0,54	0,17	0,06	1,93	0,18	0,09	0,54
120	0,15	0,81	0,06	0,13	0,58	0,32	0,12	0,08

Berdasarkan Tabel 8. dengan adanya variasi perubahan fase diam dan sonikasi masih memberikan nilai simpangan baku relatif yang memenuhi persyaratan. Hal ini dapat dilihat dengan %RSD Area yang dihasilkan dari kromatogram. Dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki ketegaran dengan beberapa variasi perubahan.

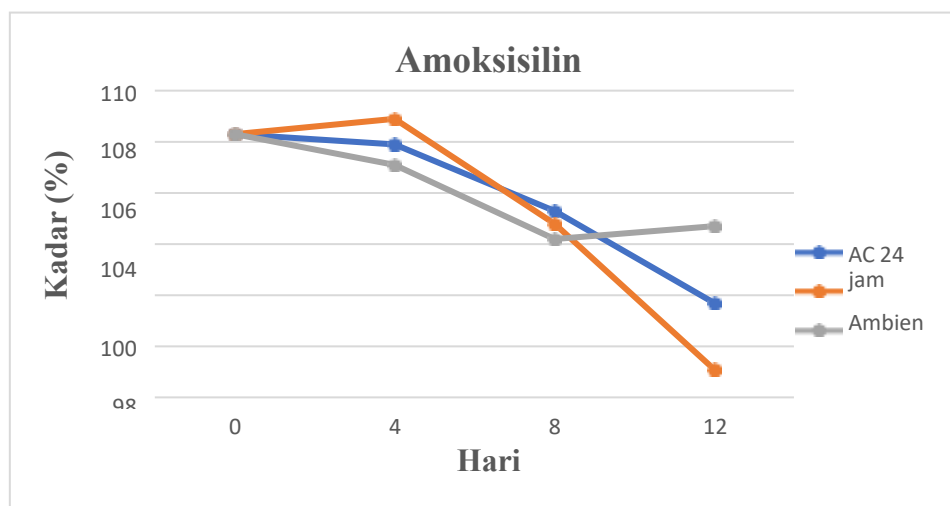
Penetapan Kadar

Amoksisilin lebih stabil dalam kondisi asam daripada asam klavulanat. Amoksisilin stabil di bawah suhu kamar sekitar (25 °C)

sementara asam klavulanat bersifat kurang stabil. Asam klavulanat memiliki sifat yang kurang stabil dan higroskopis. Berdasarkan penelitian, co-amoxiclav yang sudah disuspensikan memiliki umur simpan yang pendek, untuk amoksisilin stabil pada suhu kamar dan pada suhu dingin (8°C) stabil selama 7 hari artinya tidak berpengaruh, sedangkan asam klavulanat lebih cepat terdegradasi pada suhu kamar dibandingkan suhu dingin. Namun sejauh ini belum ada penelitian terhadap produk ruahan sirup kering co-amoxiclav selama masa penyimpanan.

Tabel 9. Hasil Pengujian Kadar Amoksisilin Trihidrat pada Produk Ruahan (*bulk*) Sirup Kering Co-Amoxiclav

Hari ke-	Titik Sampling	Amoksisilin Trihidrat					
		Suhu AC 24 Jam (16-25°C)		Suhu Ambient (≤ 30°C)		Suhu Chiller (2-8°C)	
		Area (mAU)	Kadar (%)	Area (mAU)	Kadar (%)	Area (mAU)	Kadar (%)
0	Rata-rata	1862565	108,3	-	-	-	-
4	Rata-rata	1850719	107,9	1866329	108,9	1845544	107,1
8	Rata-rata	1845045	105,3	1839741	104,8	1819822	104,2
12	Rata-rata	1763567	101,7	1717542	99,1	1819690	104,7



Gambar 4. Grafik Pengujian Kadar Amoksisilin Trihidrat pada Produk Ruahan (*bulk*) Sirup Kering Co-Amoxiclav

Tabel 9. merupakan hasil pengujian kadar amoksisilin dalam produk ruahan selama masa simpan. Pada hari ke-0 dilakukan pengujian untuk mengetahui konsentrasi awal yang terkandung dalam produk. Selama proses pengadukan, kondisi ruangan berada pada suhu antara 16-25°C. Berdasarkan USP 30 rentang spesifikasi yang ditetapkan untuk kadar amoksisilin sebesar 90,0-120,0%. Dari hasil analisis diperoleh kadar rata-rata pada hari-0

sebesar 108,3%. Konsentrasi awal ini dijadikan acuan terhadap pengujian lain selama masa simpan produk.

Produk ruahan yang disimpan pada suhu 16-25°C (suhu *Air Condition* 24 jam) selama 4 hari penyimpanan terjadi penurunan kadar yang tidak terlalu besar menjadi 107,9%, untuk penyimpanan hari berikutnya pun terjadi penurunan kadar sebanyak 3% dari hari ke-0 menjadi 105,3% pada hari ke-8 dan 101,7%

pada hari ke-12. Suhu ini merupakan suhu yang biasa digunakan saat menyimpan produk yang menunggu proses pengisian ke dalam botol, namun ternyata penurunan kadar cukup signifikan selama penyimpanan dalam waktu yang cukup lama pada suhu tersebut.

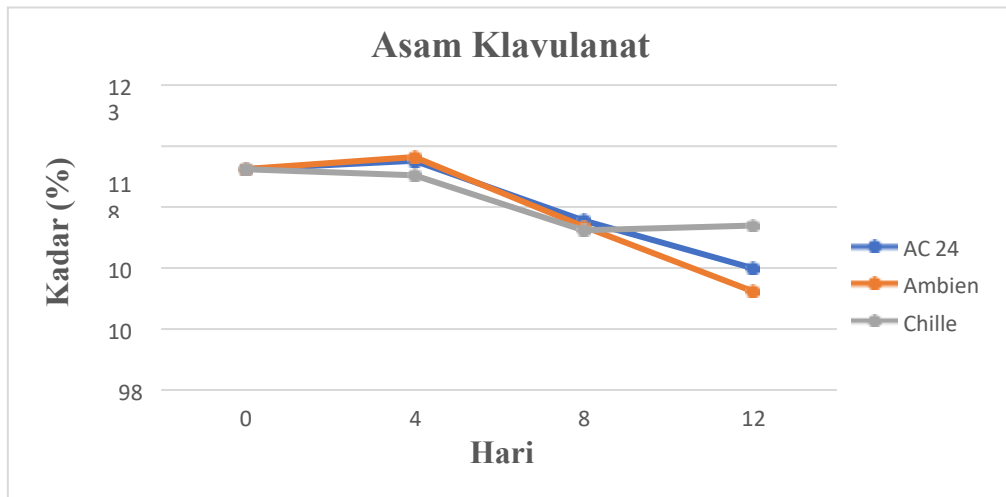
Produk ruahan yang disimpan pada suhu $\leq 30^{\circ}\text{C}$ (suhu *ambient*) selama 4 hari penyimpanan terjadi penurunan kadar dari hari ke-0 menjadi 108,9%, untuk penyimpanan hari berikutnya pun terjadi penurunan kadar menjadi 104,8% pada hari ke-8 dan 99,1% pada hari ke-12. Suhu ini lebih tinggi dibandingkan suhu yang lainnya, suhu *ambient* tidak sama dengan suhu *Air Condition* 24 jam, yang membedakan yaitu suhu *ambient* lebih lembab, sehingga penurunan kadar pada suhu ini lebih cepat. Penurunan kadar yang lebih curam pada suhu ini dapat dilihat pada gambar 4.

Produk ruahan yang disimpan pada suhu yang paling rendah yaitu $2-8^{\circ}\text{C}$ (suhu

chiller) selama 4 hari penyimpanan terjadi penurunan kadar yang tidak terlalu besar menjadi 107,1%, untuk penyimpanan hari berikutnya pun terjadi penurunan kadar sebanyak 4% dari hari ke-0 menjadi 104,2% pada hari ke-8 dan 104,7% pada hari ke-12. Kadar amoksisilin dari penyimpanan hari ke-8 dengan hari ke-12 bisa dikatakan stabil. Suhu ini merupakan suhu yang biasa digunakan saat menyimpan stok bahan awal sebelum dilakukan penimbangan untuk pembuatan produk. *Chiller* ini memiliki karakteristik dingin namun tidak membekukan seperti *freezer*, sehingga terbilang lebih aman. Meskipun dari semua variasi waktu dan suhu pengujian terhadap sampel masi h memenuhi rentang spesifikasi yang dipersyaratkan, namun penurunan kadar ini tetap menjadi perhatian untuk produk yang masih harus melalui beberapa tahap proses produksi.

Tabel 9. Hasil Pengujian Kadar Asam Klavulanat pada Produk Ruahan (*bulk*) Sirup Kering Co-Amoxiclav

Hari ke-	Titik Sampling	Asam Klavulanat					
		Suhu AC 24 Jam (16-25°C)		Suhu <i>Ambient</i> ($\leq 30^{\circ}\text{C}$)		Suhu <i>Chiller</i> (2-8°C)	
		Area (mAU)	Kadar (%)	Area (mAU)	Kadar (%)	Area (mAU)	Kadar (%)
0	Rata-rata	619615	116,1	-	-	-	-
4	Rata-rata	624906	116,8	626049	117,1	621481	115,6
8	Rata-rata	607785	111,9	606933	111,4	602120	111,1
12	Rata-rata	580411	108,0	569821	106,1	600131	111,5



Gambar 5. Grafik Pengujian Kadar Asam Klavulanat pada Produk Ruahan (*bulk*) Sirup Kering Co-Amoxiclav

Tabel 9. merupakan hasil pengujian kadar asam klavulanat dalam produk ruahan selama masa simpan. Pada hari ke-0 dilakukan pengujian untuk mengetahui konsentrasi awal yang terkandung dalam produk. Berdasarkan USP 30 rentang spesifikasi yang ditetapkan untuk kadar asam klavulanat sebesar 90,0-125,0%. Dari hasil analisis diperoleh kadar rata-rata pada hari-0 sebesar 116,1%. Konsentrasi awal ini dijadikan acuan terhadap pengujian lain selama masa simpan produk. Kadar produk ruahan yang disimpan pada suhu 16-25°C (suhu *Air Condition* 24 jam) selama 4 hari sebesar 116,8% hal ini dapat dikatakan stabil karena tidak menyebabkan penurunan kadar dibandingkan dengan hari ke-0, untuk penyimpanan hari berikutnya mulai terlihat penurunan kadar sebanyak 5% menjadi 111,9% pada hari ke-8 dan 108,0% pada hari ke-12. Penurunan kadar mulai terlihat pada penyimpanan hari ke-8 dan hari ke-12.

Produk ruahan yang disimpan pada suhu $\leq 30^{\circ}\text{C}$ (suhu *ambient*) selama 4 hari penyimpanan tidak terlihat penurunan kadar, untuk penyimpanan hari berikutnya mulai terlihat adanya kadar yang hampir sama konsentrasinya dengan sampel yang disimpan pada suhu *Air Condition* 24 jam yaitu menjadi 111,4% pada hari ke-8 dan 106,1% pada hari ke-12. Suhu ini lebih tinggi dibandingkan suhu yang lainnya, suhu *ambient* tidak sama dengan suhu *Air Condition* 24 jam, yang membedakan yaitu suhu *ambient* lebih lembab, sehingga penurunan kadar pada suhu ini lebih cepat. Asam klavulanat lebih tidak stabil dibandingkan amoksisilin sehingga wajar jika pada suhu ini terjadi penurunan yang cukup signifikan.

Produk ruahan yang disimpan pada suhu yang paling rendah yaitu 2-8°C (suhu *chiller*) selama 4 hari penyimpanan terjadi penurunan kadar yang menjadi 115,6% berbeda dengan suhu lain yang lebih stabil selama 4 hari penyimpanan,

untuk hari berikutnya pun terjadi penurunan kadar sebanyak 5% dari hari ke-0 menjadi 111,1% pada hari ke-8 dan 111,5% pada hari ke-12. Jika diperhatikan, penyimpanan pada suhu *chiller* ini berbeda dibandingkan suhu yang lain. Dimana pada suhu *Air Condition* 24 jam dan *ambient* penyimpanan hari ke-8 dan 12 terjadi penurunan kadar yang cukup signifikan, tetapi pada suhu *chiller* lebih stabil. Gambar 5. menunjukkan grafik hubungan waktu dan kadar pada suhu penyimpanan sampel yang variatif. Berdasarkan grafik hubungan kadar dan waktu pada suhu penyimpanan yang berbeda ini dapat disimpulkan bahwa produk ruahan yang menunggu proses pengisian ke dalam botol tidak disarankan disimpan pada suhu $\leq 30^{\circ}\text{C}$ (suhu *ambient*) karena baik amoksisilin atau asam klavulanat, keduanya mengalami penurunan kadar yang lebih signifikan karena kondisi lingkungan yang kurang terkontrol terutama kelembaban pada suhu ini sangat tinggi sehingga rentan akan terjadinya degradasi. Hal ini sangat harus diperhatikan karena berkaitan dengan mutu obat. Salah satu faktor penurunan kadar ini yaitu reaksi hidrolisis terhadap cincin betalaktam. Rantai siklik amida atau laktam yang terdapat pada cincin betalaktam akan terbuka saat terjadi hidrolisis. Pada kondisi lingkungan yang kurang terkontrol cincin laktam yang terbuka ini akan bereaksi dan mengikat gugus H^+ dan OH^- dari gugus amida yang terkandung untuk membentuk H_2O . Untuk penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ (suhu *chiller*) relatif lebih baik dibandingkan suhu $16-25^{\circ}\text{C}$ (suhu *Air Condition* 24 jam) yang merupakan kondisi

normal penyimpanan produk. Terbukti memang banyak penelitian yang menyebutkan bahwa sediaan Co-Amoxiclav akan lebih stabil jika disimpan di suhu rendah. Jika dilihat pada waktu penyimpanan, tidak disarankan produk ruahan ini disimpan lebih dari 4 hari karena penurunan kadar yang cukup signifikan dimulai setelah hari ke-4 penyimpanan. Idealnya proses pengisian produk yang mengandung bahan yang bersifat higroskopis dilakukan segera setelah proses pengolahan selesai, hal tersebut dilakukan untuk menghindari penurunan kadar akibat pengaruh dari suhu dan waktu penyimpanan. Sehingga sangat perlu diperhatikan kondisi suhu dan waktu penyimpanan untuk menjaga stabilitas agar terapeutik dari produk tetap terjaga, karena stabilitas obat dapat diketahui dari ada atau tidaknya penurunan kadar selama penyimpanan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian dimana penurunan kadar paling signifikan terjadi pada suhu *ambient* ($\leq 30^{\circ}\text{C}$) sedangkan kestabilan produk terjadi pada penyimpanan suhu *chiller* ($2-8^{\circ}\text{C}$) dengan penyimpanan pada kondisi normal yaitu pada suhu *Air Condition* 24 jam ($16-25^{\circ}\text{C}$).

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, S., Muhlis, M., Sundari, S. 2003. "Pengaruh Konseling Pasien Terhadap Kepatuhan Penggunaan Antibiotik di Apotek Kimia Farma Yogyakarta." *Media Farmasi* 2 (2): 65.

- Anonim. 2014. *Farmakope Indonesia*, Edisi 5. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ansel, H., Allen, L., Popovich, N. 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9th Edition. Blatimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- AOAC. 1993. *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures*. Arlington. VA.
- Bersanetti, P.A., Almeida, R.M.R.G., Barboza, M., Araújo, M.L.G.C., Hokka, C.O. 2005. "Kinetic studies on clavulanic acid degradation." *Biochem. Eng. J*, 23, 31–36.
- British Pharmacopoeia. 2009. *British Pharmacopoeia*, Vol 1 & 2. London: The British Pharmacopoeia Commission.
- Carvalho, V., Brandão, J.F., Brandão, R., Rangel-yagui, C.O., Couto, J.A., Converti, A., Pessoa, A. 2009. "Stability of clavulanic acid under variable pH, ionic strength and temperature conditions. A new kinetic approach." *Biochem. Eng. J*, 45, 89–93.
- CDER (Center for Drug Evaluation and Research). 1994. *Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods*. Analytical Methods Technical Committee of the Chemistry Manufacturing Controls Coordinating Committee (CMCCC).
- Chan, C.C., dkk. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*. Canada: John Wiley & Sons.
- David, G.R., Howard, R.M., Peter, N., Stefan, J., Rigobert, R.O. 2019. "Degradation Kinetics of Clavulanic Acid in Fermentation Broths at Low Temperatures." MDPI.
- Effendy, D. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Gandjar, I.G., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gokani, Desai, N., Kinjal, Rina, H. 2012. "Stability Study : Regulatory Requirement." *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 2(3): 64-67.
- Grayson, M.L. 2010. *Kucers The Use of Antibiotics*, 6th ed. London: Dward Arnold Ltd.
- Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. I, (3)*. Jakarta: Departemen FMIPA-UI.
- Harmita. 2014. *Analisis Fisikokimia Kromatografi Volume 2*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. USA: The Mc Graw-Hill Companies.
- International Conference on Harmonization (ICH). 2005. *Validation of Analytical Procedures : Text and Methodologi Q2 (R1)*. Geneva: International Conference on Harmonization.

- Katzung, B.G. 2007. *Basic and Clinical Pharmacology*, 10th ed. San Fransisco: The McGraw-Hill Companies.
- Kaur, S.P., Rao, R., dan Nanda, S. 2011. "Amoksisilin : A Broad Spectrum Antibiotic." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3): 30-37.
- Kemenkes RI. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Luawo, E.F., Citraningtyas, G., Kojong, N. 2012." Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Berbagai Produk Tablet Nifedipin." *Pharmacon* 2 (1).
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C. 2011. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Jakarta: Widya Medika.
- Nadia, W. 2017. "Hubungan Antara Tingkat Pendidikan dan Pengetahuan Terhadap Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Pada Kader PKK di 17 Kecamatan Wilayah Kabupaten Banyumas." *Skripsi*. Jurusan Farmasi. Purwokerto : Universitas Muhammadiyah.
- Ornaf, R.M., Dong, M.W. 2005. *Key Concepts of HPLC in Pharmaceutical Analysis*. In : Ahuja, S., Dong, M.W., editors. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. San Diego: Elsevier, Inc.
- Peace, N., Olubukola, O., Moshood, A. 2012. "Stability of Reconstituted Amoxicillin Clavulanate Potassium Under Simulated In-home Storage Condition." *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (1).
- Riyanto. 2014. *Validasi dan Verifikasi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Talogo, A. 2014. "Pengaruh Waktu & Temperatur Penyimpanan Terhadap Tingkat Degradasi Kadar Amoksisilin dalam sediaan suspensi Amoksisilin - Asam Klavulanat." *Skripsi*. Jurusan Farmasi. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- The United States Pharmacopeia. 2007. *USP 30/ The National Formulary, NF 25*. Rockville: U.S Pharmacopeia Convention Inc.
- The United States Pharmacopeia. 2014. *USP 37/ The National Formulary, NF 32*. Rockville: U.S Pharmacopeia Convention Inc.
- United States Pharmacopeia. 2012. *General Notices and Requirements: Applying to Standards, Tests, Assays, and Other Specifications of the United States Pharmacopeia*.
- Vadas, E.B. 2010. *Stability of Pharmaceutical products*. Dalam *Remington : The Sciences and Practice of Pharmacy*. Volume 1. London: Lippincott William & Wilkins.
- Yuwono, M., Indrayanto, G. 2005. *Validation of Chromatographic Method of Analysis, Profile of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, Vol. 32*. 243- 259.