

**PENGARUH WAKTU DAN TEMPERATUR PENYIMPANAN  
TERHADAP TINGKAT DEGRADASI KADAR AMOKSISILIN  
DALAM SEDIAAN SUSPENSI AMOKSISILIN – ASAM  
KLAVULANAT**

**Sudjadi**

STIKES An-Nasher Kaliwadas, Sumber, Cirebon Jawa Barat Indonesia

drs.sudjadi.apt@gmail.com

**ABSTRAK**

Sediaan suspensi amoksisilin-asam klavulanat merupakan obat lini pertama pada aftar obat esensial untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh beta-aktamase mikroorganisme. Pada penggunaan terapi tunggal amoksisilin sering ditemukan kasus resistensi, untuk menghindari terjadinya resistensi dan memperpanjang kerja terapi amoksisilin, amoksisilin sering dikombinasikan dengan asam klavulanat yang merupakan beta-laktamase inhibitor sehingga dapat memperpanjang kerja terapi dari amoksisilin. Stabilitas zat aktif dalam ediaan sangat penting untuk diperhatikan, dengan adanya penambahan air pada ediaan suspensi amoksisilin-asam klavulanat akan mempengaruhi stabilitas moksisilin yang terkandung didalamnya. Reaksi hidrolisis merupakan salah satu eaksi kimia yang kemungkinan besar akan terjadi selama masa penyimpanan ediaan suspensi, di mana reaksi ini akan menyebabkan terjadinya degradasi adar amoksisilin. Waktu dan temperatur penyimpanan mempengaruhi tingkat egradasi amoksisilin dalam sediaan suspensi. Pada penelitian ini, persentase adar amoksisilin dalam sediaan diukur dengan menggunakan metode HPLC berasaskan USP 30 dengan cara *reverse phase*; fase gerak yang digunakan Buffer fosfat : Metanol HPLC 95:5 pH 4,4 menggunakan kolom C18 (4mm x 30 cm, 2-10µm), laju alir 2ml/min, panjang gelombang 220 nm. Suspensi amoksisilin-asam klavulanat disimpan dalam suhu kamar (27-29°C) dan suhu kulkas (4-8°C) selama 7 hari. Persen degradasi kadar amoksisilin dalam suhu kamar (27-29°C) hari ke - 0, 3, 5, dan 7 sebagai berikut; 0 %, 55,05 %, 56,36 %, 56,58 %, sedangkan dalam suhu kulkas (4-8°C) sebagai berikut 0%, 1,46%, 5,22%, 10,9%. Kadar amoksisilin pada sediaan suspensi amoksisilin-asam klavulanat yang disimpan selama 5 hari dalam suhu kulkas (4-8°C) masih dapat diterima, sesuai dengan ketentuan kadar zat aktif dalam sediaan. Amoksisilin lebih stabil bila disimpan dalam temperatur rendah dibandingkan temperatur tinggi.

Kata Kunci : Suspensi amoksisilin – asam klavulanat, amoksisilin, stabilitas, kadar, waktu, temperatur, persen degradasi

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia. Salah satu obat andalan untuk mengatasi masalah tersebut adalah antimikroba antara lain antibakteri/antibiotik, antijamur, antivirus, antiprotozoa. Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri (PERMENKES, 2011).

Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan *Antimicrobial Resistance in Indonesia (AMRIN-Study)* membuktikan dari 2494 individu di masyarakat, 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain; ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%) dan kloramfenikol (25%) (PERMENKES, 2011).

Amoksisilin merupakan analog dari ampisilin. Antibiotik semisintetik berspektrum luas ini digunakan untuk mengobati berbagai infeksi pada anak-anak dan orang dewasa. Beberapa penyakit umum yang pengobatannya menggunakan amoksisilin meliputi; radang tenggorokan, infeksi telinga dan sinus, bakteri pneumonia, bronkitis, radang amandel, infeksi saluran kemih, dan penyakit *lyme* (Frynkewicz, 2013).

Antibiotik amoksisilin sering diresepkan untuk anak-anak dan cukup sering diresepkan untuk dewasa. Hal ini dianggap sebagai antibiotik spektrum luas karena mengobati infeksi yang disebabkan oleh berbagai bakteri baik gram positif maupun negatif (Frynkewicz, 2013).

Dalam mengurangi terjadinya resistensi amoksisilin, amoksisilin dikombinasikan dengan asam klavulanat. Asam klavulanat termasuk dalam golongan inhibitor  $\beta$ -laktamase, dimana enzim  $\beta$ -laktamase bekerja dengan cara mendegradasi cincin  $\beta$ -laktam yang terdapat pada amoksisilin dan mengakibatkan amoksisilin ini tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dengan adanya penambahan asam klavulanat ini dapat meningkatkan kerja Penyimpanan.

## KAJIAN TEORI

### .1 Antibiotik $\beta$ -laktam

Antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh berbagai jenis mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomisetes) yang menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Namun penggunaannya secara umum sering kali memperluas istilah antibiotik hingga meliputi senyawa antimikroba sintetis, seperti sulfonamida dan kuinolon (Goodman&Gilman, 2007).

Secara historis, klasifikasi senyawa antibiotik yang paling umum didasarkan pada struktur kimia dan mekanisme kerja yang diajukan sebagai berikut: (1) senyawa yang menghambat sintesis dinding sel bakteri; (2) senyawa yang bekerja langsung pada membran sel mikroorganisme, mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa-senyawa intraselular; (3) senyawa mempengaruhi fungsi subunit ribosom 30S atau 50S sehingga menyebabkan penghambatan sintesis protein yang reversibel; (4) senyawa yang berikatan dengan subunit ribosom 30S dan mengubah sintesis protein; (5) senyawa yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri; (6) kelompok antimetabolit; (7) senyawa antivirus (Goodman&Gilman, 2007).

Antibiotik  $\beta$ -laktam adalah antibiotik yang memiliki gugus cincin  $\beta$ -laktam dalam struktur kimianya. Semua antibiotik tersebut mempunyai mekanisme kerja menghambat sintesis mukopeptida yang diperlukan untuk pembentukan dinding sel bakteri.

Penisilin, sefalosporin, mo nobaktam, dan karbapenem termasuk golongan antibiotik  $\beta$ -laktam (Istiantoro, Yati.H dan H.S, Vincent., 2007).

Mekanisme kerja dari antibiotik  $\beta$ -laktam dengan mengikat trans- *penicillin-binding proteins* (PBP) dan karboksipeptidase yang terdapat dalam formasi rantai peptidoglikan pada membran dalam bakteri. Hasil interaksi antara PBP dengan antibiotik  $\beta$ -laktam dapat mengganggu sintesis peptidoglikan, menghentikan pembelahan sel, dan sel mati. Ikatan antibiotik dengan PBP dipengaruhi oleh afinitas dari  $\beta$ -laktam terhadap *active-site* PBP. Dalam hal ini dapat diketahui bahwa yang memberikan aktivitas antibakteri dari antibiotik  $\beta$ -laktam adalah cincin  $\beta$ -laktam (Rubtsova, *et.al.* 2010).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

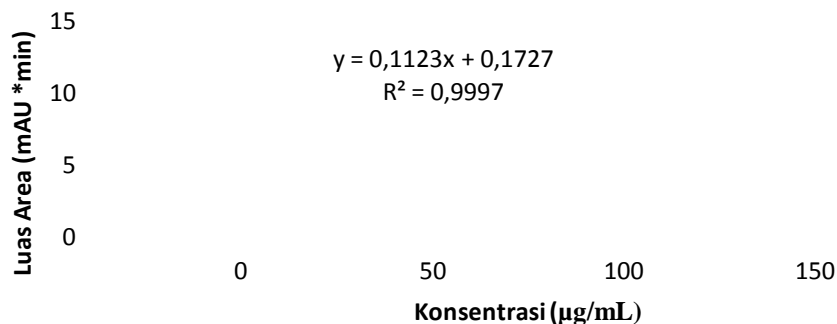
### .1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet-visibel, diperoleh serapan maksimum amoksisilin dan kombinasi amoksisilin-asam klavulanat yaitu pada panjang gelombang 227 nm. Berdasarkan penelitian Tippa (2010) panjang gelombang amoksisilin pada kisaran 210 – 240 nm dan asam klavulanat pada kisaran 210 – 230 nm.

### .2 Pemilihan fase gerak dan kondisi optimum HPLC

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan literatur USP 30 yaitu buffer fosfat : metanol (95 : 5) dengan laju alir 2 mL/menit, volume injeksi 20 $\mu$ L pada panjang gelombang 227 nm, menggunakan kolom C-18 30 cm dengan lampu detektor UV.

### .3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Amoksisilin



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Standar Amoksisilin

**Tabel 2.** Konsentrasi standar amoksisilin dan luas area

x (µg/mL)	y (luas area mAU*min)
<b>25</b>	2,9130
<b>50</b>	5,8058
<b>75</b>	8,6934
<b>100</b>	11,4319
<b>125</b>	14,1403

Dari konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm. Diperoleh nilai  $r$  0,9997 dengan menggunakan persamaan linier  $y = 0,1726 + 0,1123x$ . Nilai  $r$  0,9997 menunjukkan bahwa nilai korelasi lebih besar dari 0,9997 sehingga kurva kalibrasi amoksisilin memberikan nilai linearitas yang baik, dan penetapan kadar dengan kurva kalibrasi terjamin kebenarannya (Mulia, 2003). Pada HPLC terdeteksi masing-masing konsentrasi adalah 25,5064 ppm, 50,85356 ppm, 76,1204 ppm, 100,0981 ppm, dan 123,8138 ppm, dan diperoleh *Coeff. Det* 99,9400% dan *Relative Standard Deviation* 1,2649%. Luas area yang diperoleh dapat dilihat di Tabel 4.1.

#### .4 Uji Kesesuaian Sistem

Pada uji kesesuaian sistem sampel di injikkan sebanyak lima kali. Dalam pengamatan ini larutan sampel dalam penyimpanan suhu kamar (27-29°C) terjadi perubahan warna larutan sampel penyimpanan hari ke-3, 5, dan 7. Warna larutan sampel penyimpanan hari ke-3,5, dan 7 menjadi kuning muda dibandingkan dengan penyimpanan hari ke-0 yang diperoleh larutan tidak berwarna / bening. Larutan sampel penyimpanan hari ke-7 ditumbuhi jamur.

Asam klavulanat lebih bersifat polar dibandingkan dengan amoksisilin karena dilihat dari kromatogram, terlihat lebih dulu *peak* asam klavulanat kemudian dilanjutkan dengan *peak* amoksisilin. Asam klavulanat muncul pada menit ke – 1.607 dan amoksisilin muncul pada menit ke – 2.583. Kromtogram dapat dilihat pada Lampiran 5 dan 6.

Pada sampel penyimpanan suhu kulkas (4-8°C) tidak ada perubahan warna baik dalam penyimpanan hari ke-0, 3, 5, dan 7. Warna larutan bening dan tidak ditumbuhi jamur, hal ini menunjukkan bahwa sediaan suspensi kombinasi amoksisilin – klavulanat lebih stabil dalam suhu kulkas (4-8°C) sesuai dengan etiket penyimpanan obat yang sudah tertera dalam produk obat tersebut.

#### 5. Pengukuran Kadar Amoksisilin dalam Sampel

Sediaan suspensi kering kombinasi amoksisilin – asam klavulanat diuji dalam perbedaan waktu dan temperatur penyimpanan. Waktu yang ditentukan dalam pengujian sampel adalah 0, 3, 5, 7 hari dan temperatur yang digunakan adalah suhu kamar (27-29°C) dan suhu kulkas (4-8°C).

Hasil pengolahan data menggunakan statistik SPSS 20 menunjukkan bahwa hasil persentase kadar amoksisilin setiap hari terdapat adanya perbedaan yang signifikan, hal ini terlihat dari nilai signifikansi ANOVA yang dihasilkan memiliki signifikansi  $<0,05$ . Persentase kadar amoksisilin pada hari ke-0 dan ke-3; hari ke-0 dan ke-5; hari ke-0 dan ke-7 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Adanya penurunan kadar amoksisilin yang sangat tinggi antara hari ke-0 dengan hari ke-3,5, dan 7 sehingga hasil dari signifikansi menunjukkan  $<0,05$

Selanjutnya dari hasil pengolahan data menggunakan statistik SPSS 20 menunjukkan bahwa hasil persentase kadar amoksisilin pada setiap harinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna, hal ini terlihat dari nilai signifikansi ANOVA yang dihasilkan memiliki signifikansi 0,07. Persentase kadar amoksisilin pada hari ke-0 dan ke-3; hari ke-0 dan ke-5; menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna, akan tetapi pada hari ke-0 dan ke-7 terdapat perbedaan konsentrasi yang bermakna, dengan nilai signifikansi 0,02.

Berdasarkan hasil pengolahan data perbandingan kadar rata-rata pada suhu penyimpanan (27-29°C) dan (4-8°C) terdapat perbedaan yang signifikan. Dilihat dari *mean*

*difference*, kadar amoksisilin suhu kamar (27-29°C) lebih rendah dari suhu kulkas (4-8°C), didapatkan dari hasil selisih rata-rata kadar amoksisilin suhu kamar dengan suhu kulkas memberikan hasil negatif, begitupun sebaliknya.

Berdasarkan grafik perbandingan suhu penyimpanan terhadap waktu penyimpanan, penurunan kadar pada suhu penyimpanan kulkas tidak terjadi penurunan secara drastis, dan pada suhu penyimpanan kamar terjadi penurunan secara drastis hingga 50% dari kadar awal. Persentase degradasi didapatkan dari perhitungan selisih kadar akhir dengan kadar awal atau kadar hari ke-0. Tingkat degradasi kadar amoksisilin pada suhu kamar (27-29°C) lebih dari 50%, pada suhu kulkas (4-8°C) tingkat degradasi lebih dari 10%. Berdasarkan data yang didapat, terjadi peningkatan persen degradasi pada hari ke-0 menuju hari ke-3, kemudian terus meningkat hari berikutnya hingga hari ke-7. Akan tetapi tidak mengalami peningkatan yang signifikan. Ada beberapa kemungkinan hal yang dapat terjadi disini. Amoksisilin mengalami penguraian pada hari ke-0 menuju hari ke-3 karena ketidakstabilannya dalam suhu kamar (27-29°C), setelah menuju hari ke-5 dan ke-7 mengalami kesetimbangan kimia karena peningkatan persen degradasi tidak berbeda signifikan.

## **KESIMPULAN**

1. Dengan bertambahnya waktu penyimpanan semakin rendah persentase kadar amoksisilin dan semakin meningkat persentase degradasi amoksisilin dalam sediaan suspensi amoksisilin – asam klavulanat.
2. Suhu penyimpanan memberikan pengaruh terhadap kadar amoksisilin di dalam sediaan suspensi amoksisilin-asam klavulanat. Dalam keadaan suhu kulkas (4-8°C) kadar amoksisilin lebih stabil dibandingkan dalam suhu kamar (27-29°C).
3. Sampel dapat digunakan sampai 5 hari penyimpanan dengan kondisi penyimpanan suhu kulkas (4-8°C).

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Brown, P, dan K. DeAntonis. 1997. *High Performance Liquid Chromatography*. In: F.A. Settle (eds). *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. New Jersey : Prentice-Hall, Inc. Pages 149-154.
- Carstensen, J.T, dan Rhodes, C.T. 2000. *Drug Stability Principles and Practices, Third Edition*. NewYork.
- Castro, Silvana Calafatti de., dan Pedrazzoli, Jose Jr. 2003. HPLC Determination of Amoxicillin Comparative Bioavailability in Healthy Volunteers After a Single Dose Administration. *J Pharm Pharmaceutical Sci*. Hal: 223 – 230.
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi Corwin*. Jakarta : Aditya Media.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Mark., dan Christopher Reading. 1982. Assay of Amoxicillin and Clavulanic Acid, the Components of Augmentin, in Biological Fluids with High Performance Liquid Chromatography. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol.22, No.5, Hal : 753 -762.
- Kazakevich, Y., dan R. LoBrutto. 2007. *Method Validation*. In: LoBrutto, R., dan T. Patel., Editors. *HPLC for Pharmaceutical Scientist*. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc.

- KK, Naidoo, Nompuku P., Mkalali SN., Shabangu K, Nkabinde L, dan Singh V. 2006. Post-marketing Stability Surveillance : Amoxicillin. *SA Fam Pract*, Vol 48, Hal 14.
- McMaster, M.C. 2007. *HPLC A Practical User's Guide, 2<sup>nd</sup> Edition*. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc. Page 106.
- Meyer, V.R. 2004. *Practical High-Performancr Liquid Chromatography*. Chichester : John Wiley and Sons Inc. Page 4
- Kazakevich, Y., dan R. LoBrutto. 2007. *Method Validation*. In: LoBrutto, R., dan T. Patel., Editors. *HPLC for Pharmaceutical Scientist*. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc.
- KK, Naidoo, Nompuku P., Mkalali SN., Shabangu K, Nkabinde L, dan Singh V. 2006. Post-marketing Stability Surveillance : Amoxicillin. *SA Fam Pract*, Vol 48, Hal 14.
- McMaster, M.C. 2007. *HPLC A Practical User's Guide, 2<sup>nd</sup> Edition*. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc. Page 106.
- Meyer, V.R. 2004. *Practical High-Performancr Liquid Chromatography*. Chichester : John Wiley and Sons Inc. Page 4
- .

P

*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol.48, No. 8, Hal : 2883-2887.

Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan Pertama. Yogyakarta. Pustaka Pelajar. Hal : 465-469.

Rubtsova, M.Yu., M.M. Ulyashova, T.T Bachmann, R.D. Schmid, dan A.M. Egorov. 2010. Multiparametric *Determination of Genes and Their Point Mutations for Identification of Beta – Lactamases*. *Biochemistry (Moscow)*. Vol. 75, No.13, Hal : 1628 – 1649.

Shargel, Leon., Andrew B.C.YU. 1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*. Edisi 2. Surabaya. Airlangga University Press. Hal: 21-24.

Siswandono, Bambang, S. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press.

- Sulistyowaty, Melanny Ika, et.al. 2010. Perbandingan Kinetika Peruraian Amoksisilin dan N-benzoilamoksisilin yang ditetapkan secara kalorimetri. *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol. 8, No.1, Hal 29-35.
- Snyder, L.R, dan J.J Kirkland. 1979. *Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2<sup>nd</sup> Edition*. New York : John Wiley & Sons, Inc. Hal : 52, 250.
- The United State Pharmacopeial Convention. 2006. *The United States Pharmacopeia (USP, . 30th Edition*. United States. Hal : 1026.
- ippa, Durga Mallikarjuna Rao, dan Singh Narendra. 2010. Development and Validation of Stability Indicating HPLC Method for Simultaneous Estimations of Amoxicillin and Clavulanic Acid in Injection. *American Journal od Analytical Chemistry*. Hal : 95 – 101.
- nal, Kemal, Palabiyik, Murat. I., Karacan, Elif, Onur, Feyyaz. 2008. Spectrophotometric Determination of Amoxicillin In Pharmaceutical Formulations. *Turk J.Pharm. Sci. Vol. 5*, Hal. 1-16.
- oshioka, Sumie dan Valentino J.Stella. 2002. *Stability of Drugs and Dosage Forms*. Kluwer Academic Publishers. Hal. 4-12

Y







Keterangan a = 0,1726 b = 0,1123  
 $r^2 = 0,9997$



