

PENGARUH KEMASAN TERHADAP AKTIVITAS ANTI BAKTERI SUSPENSI ERITROMISIN SETELAH PENYINARAN DENGAN SINAR MATAHARI LANGSUNG

Submitted : 27 April 2016

Edited : 17 April 2016

Accepted : 25 April 2016

Nurul Hidayati

DIII Farmasi Stikes Muhammadiyah Klaten

Email : nurulhidayati1983@gmail.com

ABSTRACT

*Erythromycin is a type of antibiotic medication. The drug is unstable when in the water because it can undergo hydrolysis process. Fortunately, it can be prevented by making dry syrup dosage form. In addition to hydrolysis, erythromycin can also have photolysis. For preventing the reaction, it can be done by packing the medication in an opaque and tightly closed container. This research was conducted to determine the effect of packaging on the stability of erythromycin suspension that has been exposed to direct sunlight within a period. The research was done by exposing erythromycin suspension, which was packed with three kinds of color packaging namely brown, translucent, and opaque, for 30 minutes, 60 minutes, 90 minutes and 120 minutes, then continued by a microbiological test with a diffusion method to determine the activity of erythromycin against *Staphylococcus Aureus*. The results of the research showed the existence of diameter of barrier areas around the spots that were given a test solution. It means that the test solution has antibiotic activity against bacteria. Preparations packaged in brown color have higher inhibition when compared with the opaque and translucent. It shows that the erythromycin suspension packaged in brown colors was more efficient in stabilizing the preparation.*

Keywords : Erythromycin, *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, hydrolysis, dry syrup, suspension, photolysis, package, expose

PENDAHULUAN

Penentuan stabilitas sediaan suatu bahan pada tahap prefomulasi mutlak dilakukan untuk dapat menentukan bentuk sediaan yang sesuai. Hal ini disebabkan karena stabilitas fisika dan kimia bahan obat, baik secara tersendiri maupun bersama-sama dengan bahan tambahan dalam formulasi, merupakan kriteria yang paling penting untuk berhasilnya suatu produk obat. Stabilitas obat dapat dipengaruhi oleh

adanya modifikasi terhadap lingkungan obat itu sendiri, yaitu dengan mengubah-ubah kondisi penyimpanan⁽¹⁾.

Ketidakstabilan obat disebabkan karena proses kimia atau fisika kimia, sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan kadar obat. Secara kimia proses kerusakan yang paling sering meliputi hidrolisis, oksidasi dan fotolisis. Hidrolisis merupakan suatu proses solvolisis, di mana molekul (obat) berinteraksi dengan molekul-

molekul air menghasilkan produk pecahan dari konstitusi kimia yang berbeda⁽²⁾. Cara yang paling mudah dan efektif untuk menstabilkan obat dari hidrolisis adalah dengan membatasi keberadaan air di lingkungan sediaan obat yang bersangkutan. Fotolisis terjadi karena adanya proses absorpsi cahaya atau energi radiasi oleh suatu molekul secara berurutan. Suatu proses degradasi fotolisis dapat diturunkan dengan cara menyimpan sediaan dalam kemasan yang tidak tembus cahaya⁽¹⁾.

Eritromisin adalah salah satu anti bakteri golongan makrolida yang tidak larut dalam air dan tidak stabil jika disimpan dalam air⁽³⁾. Eritromisin juga tidak stabil apabila terkena paparan cahaya karena eritromisin dapat menyerap cahaya pada daerah ultraviolet⁽³⁾, oleh karena itu eritromisin dibuat dalam bentuk sirup kering dan disimpan dalam kemasan yang sesuai sehingga terlindung dari cahaya. Kemasan harus sesuai untuk menjaga kestabilan preparat farmasi dalam jangka waktu lama dan harus aman serta efektif pada saat digunakan pasien⁽²⁾. Pengujian kemampuan kemasan mencegah fotolisis dapat dilaksanakan dengan pemaparan sinar matahari langsung, hal ini dikarenakan sinar matahari langsung tersusun oleh sederet sinar yang memiliki panjang gelombang tertentu dengan kemampuan melewati suatu objek di mana objek akan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu dan membiarkan sinar yang tidak diserap tetap lewat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas eritromisin dilihat dari pengaruh kemasan terhadap aktifitas anti bakteri eritromisin sirup kering yang telah direkonstitusi dengan air suling dan telah dilakukan pemaparan dengan sinar matahari secara langsung.

Pengujian stabilitas suspensi eritromisin terhadap proses fotolisis dilakukan dengan cara pemaparan sediaan

yang dikemas dalam berbagai macam kemasan dengan sinar matahari secara langsung dengan jangka waktu tertentu dan secara berkala. Kemasan yang digunakan adalah kemasan beda warna yaitu bening, coklat dan opak.

Pengujian stabilitas suatu sediaan dapat dilakukan secara fisika, kimia dan mikrobiologi. Pada penelitian ini pengujian stabilitas suspensi eritromisin dilakukan secara mikrobiologi, di mana pengujian secara mikrobiologi dapat dilakukan apabila pengujian secara fisika maupun kimia tidak memungkinkan. Pengujian aktivitas anti bakteria suspensi eritromisin dilakukan dengan metode difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil dari pengujian aktivitas anti bakteri dengan metode difusi dinyatakan dalam di sekeliling sumuran media MHA yang telah diberi larutan uji.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: eritromisin stearat, laktosa, kalium dihidrogen fosfat 0,2 M, natrium hidroksida 0,2 N, air suling bebas CO₂, CMC Na, nipagin, essence strawberi, zat pewarna, larutan dapar fosfat no. 3, metanol, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: timbangan gram elektrik dan timbangan analitis, motir dan stampher, ayakan no. 16 dan no. 30, kemasan warna coklat, bening dan opak, aluminium foil, alat alat gelas, cawan Petri steril, jarum ose, boor prop, kapas lidi steril, inkas, oven pemanas, inkubator, mikropipet, jangka sorong.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Suspensi Eritromisin

Tabel 1. Formula Suspensi Eritromisin

Komposisi	Berat (gram)
Eritromisin stearat	2,4
KH_2PO_4	0,409
NaOH	0,070
Laktosa	18,75
CMC Na	1,2
Nipagin	0,06

Suspensi eritromisin dibuat sebanyak 3 sampel dengan bahan-bahan pada Tabel 1. NaOH dilarutkan dengan 10 ml air suling yang sudah digunakan untuk melarutkan pewarna dan essence dalam mortir. Kemudian di atas larutan ini ditaburkan CMC Na dan diaduk sampai diperoleh suspensi. Dalam mortir lain, laktosa, nipagin dan KH_2PO_4 digerus dan dicampur sampai homogen kemudian ditambahkan dalam suspensi CMC Na di atas. Campuran tersebut kemudian diaduk homogen sampai diperoleh masa granul. Masa granul tersebut kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no. 16 hingga diperoleh masa granul dasar yang siap untuk dioven. Setelah dioven, diperoleh granulat (1) lalu diuji kandungan kadar airnya. Jika kandungan kadar air dalam granul sudah memenuhi syarat, maka granulat (1) diayak dengan ayakan no. 30, kemudian diperoleh granulat (2). Granulat (2) ditambahkan dengan eritromisin stearat sehingga menjadi granulat (3) yang kemudian siap untuk diisikan dalam kemasan. Setelah itu masing-masing sediaan direkonstitusi dengan air suling ad 60 ml.

2. Pengujian Aktivitas Anti Bakteri

a. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dari biakan murni sebanyak 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam media BHI cair dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan tersebut diambil 200 μl dan dimasukkan ke dalam BHI DS, kemudian diinkubasi selama 3-5 jam, selanjutnya diencerkan dengan air suling steril sampai didapat kekeruhan yang sama dengan standart *Brown II*.

b. Penyiapan Larutan Uji

Suspensi eritromisin yang belum mengalami proses penyinaran dilakukan proses penyiapan terlebih dahulu. Masing-masing sediaan dilakukan penyinaran selama 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit. Tiap 30 menit, sediaan larutan uji dilakukan penyiapan larutan uji dengan cara sejumlah volume zat uji diukur seksama, dikocok dan bebas gelembung udara, dilumatkan selama 4 ± 1 menit dalam blender kaca kecepatan tinggi dengan metanol P secukupnya hingga diperoleh larutan persediaan yang mengandung setara kurang lebih 1 mg Eritromisin per ml. Larutan persediaan ini diencerkan secara kuantitatif dengan larutan dapar fosfat no. 3 hingga diperoleh larutan uji yang mempunyai kadar diperkirakan setara dengan aras dosis tengah larutan baku. Selanjutnya larutan uji dilakukan uji aktivitas anti bakteri.

c. Pengujian Aktivitas Anti Bakteri

Pengujian aktivitas anti bakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Disiapkan 1 media MHA yang sudah ditanam dengan

bakteri uji, dengan 1 sumuran diisi larutan baku dan 3 sumuran diisi dengan larutan uji, yaitu larutan dalam 3 macam kemasan (coklat, bening dan opak). Semua sumuran diisi dengan larutan tersebut dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 20 μ l. Pengujian dilakukan sebanyak 4 kali dengan 3 replikasi tiap pengujinya. Pertama, larutan uji tersebut diisikan setelah sediaan dipapari dengan sinar matahari selama 30 menit, kedua setelah 60 menit, ketiga setelah 90 menit dan keempat setelah 120 menit. Semua larutan uji setelah diuji harus disimpan dalam ruangan yang terlindung dari cahaya dan ditutup dengan aluminium foil sampai digunakan untuk uji yang selanjutnya. Selain itu disiapkan lagi 1 media MHA yang sudah ditanam dengan bakteri uji kemudian dibuat 3 sumuran. Satu sumuran berisi larutan baku, 1 sumuran berisi larutan blangko (sediaan tanpa eritromisin) dan 1 sumuran berisi larutan uji tanpa mendapatkan perlakuan penyinaran. Kemudian cawan-cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

3. Metode Analisis Data

Hasil pengujian adanya aktivitas anti bakteri dari suspensi eritromisin dapat diamati setelah cawan di inkubasi selama 24 jam. Data yang diperoleh adalah Diameter Daerah Hambat (DDH) dari bakteri uji yang ditunjukkan dengan daerah jernih di sekeliling sumuran yang tidak ditumbuhki oleh bakteri, merupakan tanda bahwa larutan yang disuntikkan mempunyai aktivitas anti bakteri. Daerah hambatan pertumbuhan dari masing-masing suspensi yang disimpan

dalam kemasan warna coklat, bening dan opak baik yang belum maupun yang telah dipapari oleh sinar matahari selama 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran dengan jangka sorong dibuat dalam satuan mm kemudian dianalisa secara statistik varian 2 arah dengan taraf kepercayaan atau batas kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji dari percobaan ini ditunjukkan dengan adanya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri terlihat dengan adanya daerah jernih sebagai tanda tidak tumbuhnya bakteri di sekeliling sumuran media MHA sebagai akibat dari disuntikkannya larutan uji. Besar kecilnya hambatan pertumbuhan bakteri dapat ditunjukkan dengan besar kecilnya daerah jernih di sekeliling sumuran, semakin besar aktivitas anti bakterinya maka semakin besar nya dan semakin kecil aktivitasnya semakin kecil pula pertumbuhan bakteri tersebut. Hasil uji aktivitas anti bakteri suspensi eritromisin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Tabel 2, Tabel 3 dan Tabel 4.

Pengujian stabilitas sediaan suspensi eritromisin pada penelitian ini dilakukan secara mikrobiologi dengan uji aktivitas anti bakteria dengan menggunakan metode difusi. Volume larutan uji yang dimasukkan ke dalam sumuran masing-masing adalah 50 μ l dengan konsentrasi 100 ppm dan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Sesaat setelah suspensi kering eritromisin dicampur dengan air suling sebagai cairan pembawa kemudian dimasukkan ke sumuran media MHA untuk digunakan sebagai pembanding larutan uji yang telah dipapari oleh sinar matahari dengan jangka waktu tertentu dan secara

berkala yaitu 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit. Sediaan suspensi eritromisin dibuat dengan menggunakan larutan dapar fosfat pH 7, oleh karena itu untuk mengetahui apakah larutan dapar fosfat tersebut memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri maka larutan dapar tersebut juga diuji dengan perlakuan yang sama yaitu dimasukkan ke sumuran media MHA. Selain larutan uji sebelum mengalami penyinaran dan larutan dapar, juga digunakan larutan blangko yaitu larutan uji tanpa mengandung zat aktif eritromisin sebagai kontrol negatif dan juga digunakan larutan baku sebagai kontrol positif yang juga digunakan untuk mengetahui bahwa konsentrasi yang dibuat yaitu 100 ppm adalah tepat sehingga dalam 1 cawan dapat digunakan untuk 4 sumuran sehingga tidak menimbulkan saling tumpang tindih maupun saling bersentuhan antara satu larutan uji dengan yang lain sehingga memudahkan dalam pengukuran diameter. Beberapa larutan tersebut digunakan sebagai pembanding dalam uji aktivitas anti bakteri untuk mengetahui apakah ada perbedaan ukuran dengan larutan uji setelah mengalami penyinaran dengan sinar matahari langsung.

Dari hasil pengamatan, hasil uji aktivitas anti bakteri suspensi eritromisin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk masing-masing kemasan memberikan hasil yang berbeda dari masing-masing sediaan yang dikemas dalam beberapa warna kemasan kemudian dibandingkan dengan dari larutan baku dan larutan blangko yang diukur menggunakan jangka sorong.

Hasil analisa statistika dua arah untuk suspensi eritromisin terhadap *Staphylococcus aureus* adalah terlihat adanya pengaruh yang bermakna antara sediaan yang dikemas dalam kemasan warna coklat, bening dan opak setelah dipapari dengan sinar matahari selama 30 menit, 60 menit, 90 menit dan

120 menit, ini ditunjukkan dengan hasil F hitung $> F$ tabel.

Penentuan laju penurunan aktivitas dilakukan dengan membuat kurva lama penyinaran vs rata-rata untuk masing-masing kemasan seperti pada Gambar 2. Hasil perhitungan regresi linear didapatkan harga slope yang menyatakan laju penurunan aktivitas dari masing-masing sediaan yang disimpan dalam kemasan warna coklat, bening dan opak, dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil pengamatan pada tabel 4 tidak adanya daerah jernih di sekeliling sumuran larutan dapar menunjukkan bahwa larutan dapar fosfat yang digunakan dalam suspensi eritromisin tidak memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri, begitu pula dengan larutan blangko sebagai kontrol negatif yang tidak menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri.

Diameter daerah hambat larutan baku dan larutan uji suspensi eritromisin tanpa penyinaran (lama penyinaran 0 menit) kemudian dilakukan uji analisis statistika 1 arah dengan taraf kepercayaan 95 % diperoleh hasil bahwa F hitung ($2,1586$) $< F$ tabel ($9,55$) ini berarti tidak ada beda yang bermakna antara larutan baku eritromisin stearat dengan sediaan suspensi eritromisin stearat tanpa mendapatkan perlakuan penyinaran.

Larutan uji yang disimpan dalam kemasan warna coklat menunjukkan ukuran yang lebih besar jika dibandingkan dengan yang disimpan dalam kemasan opak dan bening. Hal ini dimungkinkan karena sinar matahari memancarkan sinar pada panjang gelombang 400 nm sampai 750 nm sedangkan kemasan bening hanya mampu menghambat cahaya pada panjang gelombang < 325 nm, sedangkan kemasan coklat mampu menghambat cahaya lebih banyak pada panjang gelombang < 450 nm.

Penurunan setelah sediaan mendapatkan perlakuan penyinaran dengan

sinar matahari tiap 30 menit menunjukkan hasil yang tidak terlalu tinggi, ini dimungkinkan karena sinar matahari yang menyinari sediaan tidak selalu konstan dari waktu ke waktu.

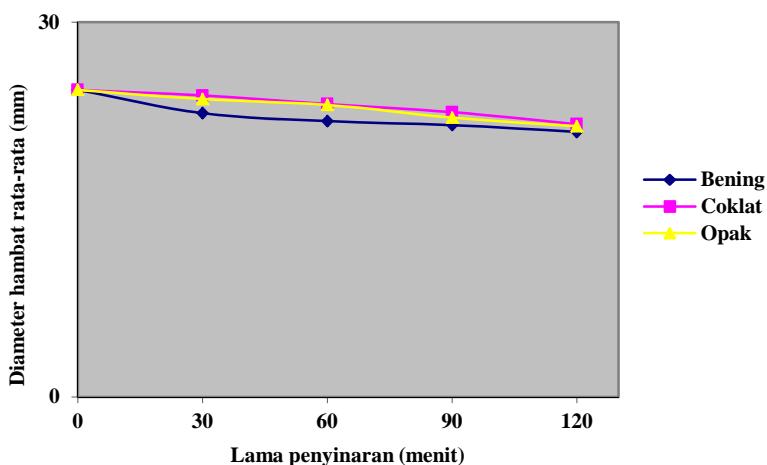
Opak yang diperkirakan akan memberikan hasil yang lebih baik daripada kemasan warna coklat ternyata hasilnya lebih kecil, ini dimungkinkan karena kemasan opak yang digunakan berupa plastik yang tidak terlalu tebal jadi sinar matahari yang diserap jauh lebih banyak dibandingkan dengan kemasan coklat. Ketebalan yang berbeda dari masing-masing kemasan yang digunakan juga berpengaruh dalam proses penghambatan sinar matahari, kemasan bening mempunyai ketebalan 2,75 mm, kemasan coklat 3,25 mm sedangkan kemasan opak 0,75 mm. Hal ini yang juga memungkinkan kemasan opak mempunyai di bawah kemasan coklat. Selain itu, dimungkinkan pula terjadinya penyerapan

produk obat eritromisin oleh kemasan plastik sehingga berpengaruh terhadap potensi eritromisin yang berkurang dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan suspensi eritromisin yang dikemas dalam kemasan coklat lebih efektif dalam menstabilkan suspensi eritromisin, selain dilihat dari besar kecilnya juga dilihat dari hasil perhitungan laju penurunan aktivitas dari masing-masing sediaan yang dikemas dalam kemasan warna coklat, bening dan opak. Sediaan yang dikemas dalam kemasan warna coklat menunjukkan laju penurunan aktivitas yang lebih kecil bila dibandingkan dengan sediaan yang dikemas dalam kemasan bening dan opak, ini berarti bahwa sediaan yang dikemas dalam warna coklat paling stabil dibandingkan dengan kemasan bening dan opak.

Tabel 2. Diameter Daerah Hambatan Suspensi Eritromisin stearat (100 ppm) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lama penyinaran (menit)	Diameter Larutan Uji (Warna kemasan)											
	Bening (mm)				Coklat (mm)				Opak (mm)			
	I	II	III	X	I	II	III	X	I	II	III	x
0	24,40	24,80	24,55	24,58	24,40	24,80	24,55	24,58	24,40	24,80	24,55	24,58
30	23,10	22,55	22,50	22,72	24,25	24,05	24,10	24,13	24,00	23,85	23,70	23,85
60	22,10	22,00	22,15	22,08	23,70	23,45	23,20	23,45	23,65	23,10	23,40	23,38
90	21,90	21,80	21,60	21,77	23,00	22,90	22,50	22,80	22,60	22,35	22,15	22,37
120	21,50	21,05	21,10	21,22	22,10	21,80	21,75	21,88	21,85	21,60	21,55	21,67



Gambar 2. Kurva hubungan antara lama penyinaran vs rata-rata masing-masing kemasan

Tabel 3. Diameter Daerah Hambatan Larutan Baku, Blangko serta Dapar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Larutan baku (mm)	Larutan blangko (mm)	Dapar (mm)
24,80	0	0
24,95	0	0
24,90	0	0

Tabel 4. Hasil perhitungan regresi linear dari masing-masing kemasan

Warna Kemasan	Persamaan (y = a + b x)	R
Coklat	y = 24,7264 - 0,0228 x	- 0,991781795
Bening	y = 24,0098 - 0,0256 x	- 0,935736969
Opak	y = 24,6330 - 0,0244 x	- 0,994694519

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kemasan mempunyai pengaruh terhadap stabilitas suspensi

eritromisin. Dari hasil yang diperoleh, kemasan warna coklat lebih efektif dalam menstabilkan suspensi eritromisin terhadap reaksi fotolisis dibandingkan dengan kemasan bening dan opak.

DAFTAR PUSTAKA

- Connors, K.A., Amidon, G.L., Stella, V.J., 1992, *Stabilitas Kimia Sediaan Farmasi*, Edisi II, diterjemahkan oleh Didik Gunawan, Jilid 1, halaman 73, 79, 101-107, 308-313.
- Ansel, Howard. C., 1989, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi IV, UI Press, Jakarta; 59, 155-156, 160-162, 353-374.
- Rahman, I.R., Kusumowati, I.T.D., Indrayudha P, Sukmawati A, 2011, Uji Stabilitas Fisik dan Daya Antibakteri suspensi Eritromisin dengan Suspending Agent Pulvis Gummi Arabici, Pharmacon, Pharmaceutical Journal of Indonesia, Vol.12, No.2; 44 – 49.