

Perbandingan Efek Pemberian Dosis Maksimum Amoksisilin Generik Berlogo Dan Amoksisilin Generik Bermerek Terhadap Kadar Glutation Ginjal *Rattus Norvegicus* Galur *Sprague Dawley*

Airi Firdausia Kudsi¹, Novita Carolina², Tri Umiana Soleha³, Rasmi Zakiah Oktarlina²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Penggunaan obat antibiotik yang semakin meningkat dapat menimbulkan masalah kesehatan di Indonesia. Amoksisilin adalah antibiotik beta-laktam berspektrum luas dan banyak digunakan pada masyarakat. Amoksisilin akan dimetabolisme oleh tubuh di hati dan diekskresi melalui ginjal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan efek pemberian amoksisilin generik berlogo dan amoksisilin generik bermerek dosis maksimum terhadap kadar glutathione (GSH) ginjal. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group*. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Tikus diberikan amoksisilin generik berlogo dan generik bermerek pada 3 dosis berbeda. Kadar glutathione ginjal diukur menggunakan metode *Ellman*. Digunakan reagen asam ditionitrobenzoat (DTNB) dan serapan diukur dengan spektrofotometri. Kurva standar didapatkan dari regresi linear terhadap larutan standar. Kadar glutathione dihitung dengan memasukkan nilai serapan ke dalam persamaan tersebut. Kemudian dilakukan uji statistik *one way ANOVA* untuk mengetahui hubungan antara dosis amoksisilin dengan kadar GSH. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perbedaan kadar glutathione ginjal antara tikus yang diberikan amoksisilin generik bermerek dengan generik berlogo pada dosis 102,8 mg/kgbb dan 205,6 mg/kgbb dan terjadi penurunan kadar glutathione ginjal tikus yang diberikan amoksisilin generik berlogo maupun generik bermerek.

Kata kunci: amoksisilin, dosis maksimum, glutathione

Comparison Of Generic Amoxicillin And Branded Amoxicillin Maximum Dose Administration Toward Kidney Glutathione Level Of Sprague Dawley Rats

Abstract

The increasing use of amoxicillin can inflict health problems in Indonesia. Amoxicillin is a beta-lactam broad-spectrum antibiotics and it is used extensively between society. Amoxicillin is metabolized by the body in the liver and excreted through the kidneys. The purpose of this study is to know the difference of the effect of maximum dose of generic and branded amoxicillin administration toward kidney glutathione level. This is an experimental study with post-test only control group design. This study used Sprague Dawley rats (*Rattus norvegicus*). Rats was given generic amoxicillin and branded amoxicillin with 3 different doses. Kidney glutathione levels was measured using the *Ellman* method. Reagent dithionitrobenzoic acid was used and the absorbancy was measured using spectrofotometry. Standard curve was acquired from linear regression of standard solution. Kidney glutathione levels was calculated by inputting the absorbancy to the equation. Then, one way ANOVA statistical test was performed to know the correlation between amoxicillin dose and GSH levels. Based on this study, there is a difference of the effect of maximum dose of generic and branded amoxicillin administration toward kidney glutathione level in dose 102,8 mg/kgbw and 205,6 mg/kgbw and there is a decrease to kidney glutathione levels of rats administered with generic amoxicillin as well as branded amoxicillin

Keywords: Amoxicillin, glutathione, maximum doses

Korespondensi: Airi Firdausia Kudsi | Taman Palem Permai III No. B4 Bandar Lampung | 087885856541 | airifirdausia@gmail.com

Pendahuluan

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi terutama di bidang kesehatan, penggunaan obat semakin marak di masyarakat Indonesia, baik obat tersebut digunakan dengan atau tanpa resep dari dokter. Berdasarkan data *Intercontinental Medical Services* (IMS) nilai total penjualan obat di pasar farmasi nasional pada tahun 2011 telah mencapai 43,08 triliun rupiah atau mengalami

pertumbuhan sebesar 11,9% apabila dibandingkan pada tahun 2010 yang bernilai 38,498 triliun rupiah total tersebut didapatkan dari jumlah penjualan obat etikal (obat resep) sebesar 25,05 triliun rupiah serta obat *over-the-counter* sebesar 18,03 triliun.¹

Secara umum, obat tersedia dalam bentuk paten dan generik. Obat generik terbagi menjadi dua yaitu generik berlogo dan generik

bermerek. Menurut persepsi masyarakat, terdapat perbedaan mutu antara generik berlogo dan generik bermerek.² Berdasarkan penelitian sebelumnya ditemukan bahwa amoksisilin generik berlogo dan generik bermerek dengan profil farmakologi yang tidak bioekivalen.³ Bioekivalensi obat berhubungan dengan tingkat keamanan dan efisiensi obat tersebut.⁴

Antibiotik amoksisilin dipreskripsikan untuk berbagai penyakit infeksi.⁵ Obat-obat golongan penisilin dalam tubuh manusia akan dengan cepat diekskresikan oleh ginjal dan dapat menimbulkan efek samping berupa hipersensitivitas karena dapat bereaksi silang dan juga beberapa jenis penisilin dapat menyebabkan *acute kidney injury* bila digunakan berlebihan.⁶ Secara umum, penggunaan antibiotik bakterisidal dapat menginduksi stress oksidatif dan kerusakan pada sel mamalia.⁷

Stress oksidatif adalah keadaan dimana terjadi perubahan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Stress oksidatif berperan dalam berbagai kondisi patologis.⁸ *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah mediator yang telah diketahui pada berbagai organ dalam tubuh manusia dapat menyebabkan jejas.⁹

Glutation (GSH) adalah salah satu peptida intraselular yang memiliki fungsi yang luas termasuk detoksifikasi xenobiotik dan metabolitnya, mengatur keseimbangan reduksi-oksidasi intraselular, dan sebagai antioksidan endogen utama yang diproduksi untuk melawan radikal bebas. Lebih dari 98% dari total glutation dalam tubuh manusia berada dalam bentuk GSH dan sisanya ditemukan dalam bentuk teroksidasi, glutation disulfida (GSSG) atau konjugat-konjugat glutation lain.¹⁰

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin mengetahui adanya perbedaan efek dosis maksimum amoksisilin generik berlogo dan amoksisilin generik bermerek terhadap kadar antioksidan glutation (GSH) ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley*.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan *Post Test Only Control Group Design* dengan membandingkan hasil pada kelompok yang diberi perlakuan dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan.

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan, yaitu terhitung dari bulan September hingga Desember 2015.

Populasi penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* jantan berusia 6-7 minggu dengan berat antara 100-200 gram. Sampel adalah jaringan ginjal tikus populasi yang telah diberikan amoksisilin dosis toksik.

Penelitian ini menggunakan tikus jantan *galur Sprague Dawley*, dengan berat badan 100-200 gram, berusia sekitar 6-7 minggu. Dalam penelitian ini digunakan 35 ekor tikus yang dibagi dalam 7 kelompok yaitu: 1) Kelompok kontrol (K): tikus tidak diberikan perlakuan. 2) Kelompok A1: tikus diberikan amoksisilin generik berlogo A dengan dosis 102,8 mg/kg BB tikus. 3) Kelompok A2: tikus diberikan amoksisilin generik berlogo B dengan dosis 205,6 mg/kg BB tikus. 4) Kelompok A3: tikus diberikan amoksisilin generik berlogo C dengan dosis 411,2 mg/kg BB tikus. 5) Kelompok B1: tikus diberikan amoksisilin generik bermerek dengan dosis 102,8 mg/kg BB tikus. 6) Kelompok B2: tikus diberikan amoksisilin generik bermerek dengan dosis 205,6 mg/kg BB tikus. 7) Kelompok B3: tikus diberikan amoksisilin generik bermerek dengan dosis 411,2 mg/kg BB tikus. Pada enam kelompok yang diberikan perlakuan sebanyak tiga kali selama 14 hari.

Bahan yang digunakan adalah organ ginjal tikus, larutan *Phosphate Buffer Saline* 0,1 M pH 7,0, 7,4, dan 8,0, dan pereaksi untuk pengukuran kadar glutation yaitu GSH standar, asam trikloroasetat (TCA) 5%, dan ditio bisnitro benzoate (DTNB).

Pengukuran kadar glutation ginjal menggunakan metode *Ellman* dan pembacaan kadar glutation terhadap sampel dilakukan dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 412 nm.

Hasil

Telah dilakukan pembuatan kurva standar glutation yang berguna untuk mengetahui hubungan nilai serapan (absorbansi) dengan konsentrasi glutation sampel. Kurva standar ditentukan melalui analisis regresi linear nilai absorbansi sampel standar pada berbagai konsentrasi. Persamaan kurva standar glutation tersebut adalah $y = 250,9x - 2.3241$.

Setelah didapatkan persamaan kurva standar, dilakukan pengukuran terhadap

masing-masing sampel, kadar GSH ginjal pada tiap kelompok ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Serapan dan Kadar Glutation Ginjal

Kelompok	Kadar GSH Ginjal ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) \pm
	Standar Deviasi
A1	5,884 \pm 1,184
A2	2,497 \pm 0,466
A3	1,075 \pm 0,286
B1	5,236 \pm 0,853
B2	1,776 \pm 0,316
B3	1,107 \pm 0,74
KN	3,919 \pm 0,764

Nilai kadar yang dipaparkan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata kadar glutatoin ginjal kelompok KN yang diberi akuades tiga kali sehari selama 14 hari adalah 3,919 \pm 0,764 $\mu\text{mol}/\text{g}$. Kelompok A1 yang diberi amoksisilin generik berlogo dengan dosis 205,6 mg/kgBB/kali memiliki rerata kadar glutatoin ginjal 5,884 \pm 1,184 $\mu\text{mol}/\text{g}$, sedangkan kelompok A2 dengan dosis 411,2 mg/kgBB/kali memiliki rerata kadar 2,497 \pm 0,466 $\mu\text{mol}/\text{g}$ dan kelompok A3 (diberi amoksisilin generik berlogo

dengan dosis 822,4 mg/kgBB/kali) memiliki kadar 1,075 \pm 0,286 $\mu\text{mol}/\text{g}$.

Kelompok B1 yang diberi perlakuan berupa amoksisilin generik bermerek dengan dosis 205,6 mg/kgBB/kali memiliki rerata kadar glutatoin ginjal 5,236 \pm 0,853 $\mu\text{mol}/\text{g}$, kelompok B2 (perlakuan diberik amoksisilin generik bermerek dengan dosis 411,2 mg/kgBB/kali) memiliki rerata kadar 1,776 \pm 0,316 $\mu\text{mol}/\text{g}$, dan kelompok B3 yang dengan dosis 822,4 mg/kgBB/kali memiliki rerata kadar sebesar 1,107 \pm 0,74 $\mu\text{mol}/\text{g}$.

Tabel 2. Analisis *Post-Hoc* LSD.

Kelompok	Nilai p
KN dan A1	0,000*
KN dan A2	0,000*
KN dan A3	0,000*
KN dan B1	0,000*
KN dan B2	0,000*
KN dan B3	0,000*
A1 dan B1	0,019*
A2 dan B2	0,000*
A3 dan B3	0,904

Dari hasil analisis *Post Hoc* LSD ditemukan tidak semua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Adanya perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok A3 dan B3 ($p = 0,904$). Perbedaan antara kelompok A1 dengan B1 ditemukan bermakna ($p = 0,019$) dan antara kelompok A2 dan B2 juga bermakna ($p = 0,000$). Kemudian ditemukan perbedaan antara kelompok KN terhadap kelompok lainnya ditemukan perbedaan yang signifikan ($p = 0,000$) yang menunjukkan adanya perubahan kadar glutatoin ginjal tikus pada kelompok perlakuan

baik amoksisilin generik berlogo maupun generik bermerek.

Pembahasan

Hasil pengukuran kadar GSH ginjal menunjukkan bahwa perbedaan kelompok KN dengan 6 kelompok lainnya bermakna secara statistik. Kelompok KN memiliki nilai rerata kadar GSH yaitu 3,919 \pm 0,764 $\mu\text{mol}/\text{mg}$. Nilai kelompok KN bukan nilai kadar tertinggi yang ditemukan diantara 7 kelompok tersebut. Terdapat 2 kelompok yang mengalami peningkatan dibandingkan dengan KN yaitu

kelompok A1 dan B1 sedangkan kelompok lainnya mengalami penurunan kadar GSH. Rerata kadar terendah dimiliki oleh kelompok A3 dengan kadar $1,075 \pm 0,286 \mu\text{mol/mg}$ dan diikuti oleh kadar terendah kedua yaitu kelompok B3. Perubahan kadar GSH menunjukkan adanya gangguan keseimbangan oksidan dan antioksidan pada jaringan ginjal yang diinduksi amoksisilin.

Nilai kadar GSH yang lebih tinggi pada kelompok A1 dan B1 dibandingkan dengan kelompok KN menunjukkan bahwa terdapat peningkatan sintesis GSH yang lebih besar daripada konsumsi antioksidan nonenzimatik. Hal itu menunjukkan adanya bahwa kompensasi sintesis GSH lebih baik daripada kebutuhannya.

Ditemukan pada kelompok A2, A3, B2 dan B3 terjadi penurunan GSH dapat dikarenakan oleh banyaknya pelepasan antioksidan seluler untuk melawan produk radikal bebas.¹¹ Gangguan keseimbangan GSH tersebut dihasilkan oleh adanya produk radikal bebas yang menimbulkan proses peroksidasi lipid.¹²

Berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu, adanya perubahan aktivitas GSH apabila adanya induksi reaksi oksidatif yang menggunakan substansi yang berbeda sebagai senyawa oksidan. Penurunan kadar GSH di mitokondria dan sitosol juga terjadi pada penelitian terhadap tikus yang diberikan etanol jangka panjang.¹³ Selain itu juga terjadi penurunan kadar GSH pada penelitian terhadap kelinci yang mengalami talasemia dan terhadap subjek yang mengalami diabetes.¹⁴

Hasil pada kelompok A1, A2, B1, dan B2 berbeda pada penelitian lainnya dimana terjadi peningkatan GSH pada pemberian chlorfenvinphos.⁹ Perubahan kadar GSH yang tak selalu bisa diprediksi dapat dipengaruhi oleh pergeseran homeostasis GSH.

Mekanisme perubahan homeostasis GSH berhubungan dengan siklus reduksi-oksidasi dalam pertahanan melawan stres oksidatif.⁹ Penurunan kadar glutathion jaringan dapat menjadi bukti bahwa glutathion intrasel sudah digunakan untuk melakukan metabolisme xenobiotik sedangkan peningkatan kadar glutathion menandakan adanya peningkatan sintesis antioksidan.^{8,15}

Rerata kadar glutathion juga dibandingkan antara kelompok yang diberikan amoksisilin generik berlogo dengan amoksisilin generik

bermerek pada dosis yang sama. Perbandingan dilakukan pada A1 dengan B1, A2 dengan B2, dan kelompok A3 dengan B3. Tidak seluruh perbandingan tersebut bermakna secara statistik. Ditemukan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok A1 dengan B1 dan pada kelompok A2 dengan B2. Kelompok amoksisilin generik bermerek memiliki nilai kadar GSH yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok amoksisilin generik berlogo. Nilai farmakokinetik antara amoksisilin generik berlogo dan generik bermerek yang berbeda diperkirakan mempengaruhi reaksi oksidatif yang ditimbulkan terhadap kadar GSH.^{4,9}

Perbandingan A1 dengan B1 dan A2 dengan B2 yang bermakna secara statistik sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa antara berbagai obat generik berlogo dan generik bermerek memiliki karakteristik obat yang berbeda dari segi tingkat kelarutan yang disebabkan oleh berbagai faktor.¹⁶ Perbedaan juga ditemukan pada amoksisilin generik berlogo dan generik bermerek yang ditemukan adanya perbedaan konsentrasi maksimum dan waktu untuk mencapai konsentrasi maksimum tersebut.³

Perbedaan kadar glutathion ginjal ditemukan tidak bermakna pada kelompok A3 dengan B3. Kelompok A3 adalah kelompok yang diberikan perlakuan amoksisilin generik berlogo dengan dosis 822,4 mg/kgbb sehari tiga kali selama 14 hari sedangkan kelompok B3 adalah kelompok yang diberi amoksisilin generik bermerek dosis 822,4 mg/kgbb sehari tiga kali selama 14 hari. Perbedaan antar kedua kelompok tidak signifikan dikarenakan karena kedua kelompok memiliki selisih yang cukup kecil.

Menurut uji bioekivalensi oleh Wahyudin *et al.*, amoksisilin generik bermerek terdistribusi secara sistemik lebih lama dibandingkan dengan amoksisilin generik berlogo. Perbedaan bioavailabilitas antara obat generik berlogo dan generik bermerek juga mempengaruhi efektivitas dan profil efek samping dari obat tersebut.¹⁶ Perbedaan farmakokinetik yang ditemukan pada kedua jenis obat ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti pengaruh formulasi yang berbeda menimbulkan perbedaan pada konsentrasi maksimal yang dicapai dalam tubuh.³ Terdapat juga faktor lain seperti produsen, tipe aparatus, luas permukaan

obat, surfaktan, penyimpanan, serta tipe ekspan yang mempengaruhi tingkat kelarutan obat itu sendiri.¹⁶

Radikal bebas atau substansi xenobiotik dapat bereaksi dengan makromolekul dalam sel, contohnya asam lemak tak jenuh rantai ganda (*polynunsaturated fatty acids/PUFA*).¹⁵ Senyawa radikal bebas dapat diekskresi secara utuh maupun dalam bentuk metabolit.¹⁷

Terdapat berbagai jalur metabolisme yang melibatkan senyawa antioksidan yang berbeda. Kerja antioksidan saling berkesinambungan untuk menyeimbangkan adanya stres oksidatif dalam sel. Kerja antioksidan sangat dipengaruhi oleh beberapa keadaan seperti kurangnya asupan antioksidan, banyaknya asupan pro-oksidan, paparan sinar UV atau zat kimia tertentu, cedera jaringan, dan lain-lain.¹⁵ Bila ada pemberian substansi yang dapat menimbulkan produk radikal bebas, kadar GSH

akan mengalami penurunan kadar, baik secara spontan melalui reaksi dengan radikal bebas maupun secara enzimatik melalui kerja peroksidase GSH dan S-transferase.¹⁸ Walaupun demikian, kerja antioksidan GSH yang belum dapat diprediksi dengan baik masih menjadi kontroversi.

Simpulan

Dapat disimpulkan bahwa amoksisilin generik bermerek menimbulkan penurunan kadar GSH ginjal yang lebih besar dibandingkan dengan amoksisilin generik berlogo. Selain itu juga terjadi penurunan kadar GSH ginjal pada *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* yang diberikan dosis maksimum amoksisilin generik berlogo. Kami juga menemukan penurunan kadar GSH ginjal pada *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* yang diberikan dosis maksimum amoksisilin generik bermerek.

Daftar Pustaka

1. Kimia Farma. Laporan Tahunan- 2011 Annual Report. Jakarta: PT Kimia Farma (PERSERO) Tbk.: 2011.
2. Zakaria K. Profil Penggunaan Obat Generik Berlogo dan Obat Generik Bermerek (Branded Generic) Anti Diabetik Oral di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2009 [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2010.
3. Del Tacca M, Pasqualetti G, Di Paolo A. Lack of pharmacokinetic bioequivalence between generic and branded amoxicillin formulations. A post-marketing clinical study on healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2009; 68(1):34-42.
4. Wahyudin E, Naid T, Leboe DW. Studi Bioekivalensi Amoksisilin Generik dan Dagang Menggunakan Matriks Urin [Skripsi]. Makassar: Universitas Hassanuddin; 2010.
5. Petersen I, Hayward AC. Antibacterial prescribing in primary care. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(1):1-5.
6. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 10th edition. San Francisco: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2007.
7. Kalghatgi S, Spina CS, Costello JC. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells. *Sci Transl Med*. 2013;5(2):192-3.
8. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 2012; 5(1):9-19.
9. Łukaszewicz-Hussain A, Moniuszko-Jakoniuk J. Liver catalase, glutathione peroxidase and reductase activity, reduced glutathione and hydrogen peroxide levels in acute intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide. *Polish J Environ Stud*. 2004;13(3):303-9.
10. Main PA, Angley MT, O'Doherty CE, Thomas P, Fenech M. The potential role of the antioxidant and detoxification properties of glutathione in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Metab (Lond)*. 2012;9(1):35-6.
11. Hundekari I, Suryakar A, Rathi D. Acute organo-phosphorus pesticide poisoning in North Karnataka, India: oxidative damage, haemoglobin level and total leukocyte. *Afr Health Sci*. 2013;13(1):129-36.
12. Adesanoye OA, Ifezue AOC, Farombi EO.

- Influence of Chloramphenicol and Amoxicillin on Rat Liver Microsomal Enzymes and Lipid Peroxidation. *African J Biomed Reseach*. 2014;17(March):135-42.
13. García-Ruiz C, Morales A, Ballesta A, Rodés J, Kaplowitz N, Fernández-Checa JC, Dkk. Effect of chronic ethanol feeding on glutathione and functional integrity of mitochondria in periportal and perivenous rat hepatocytes. *J Clin Invest*. 1994;94(1):193-201.
 14. Cappellini MD, Tavazzi D, Duca L. Metabolic indicators of oxidative stress correlate with haemichrome attachment to membrane, band 3 aggregation and erythrophagocytosis in beta-thalassaemia intermedia. *Br J Haematol*. 1999;104(3):504-12.
 15. Kerksick C, Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and N-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *J Int Soc Sports Nutr*. 2005;2(2):38-44.
 16. Ameri MNAl, Nayuni N, Kumar KA, Perrett D, Tucker A, Johnston A, Dkk. The differences between the branded and generic medicines using solid dosage forms: In-vitro dissolution testing. *Results Pharma Sci*. 2012;2(1):1-8.
 17. Lock EA, Reed CJ. Xenobiotic Metabolizing Enzymes of the Kidney. *Toxicol Pathol*. 1998;26(1):18-25.
 18. Lee FYF, Siemann DW, Sutherland RM. Changes in cellular glutathione content during adriamycin treatment in human ovarian cancer-a possible indicator of chemosensitivity. *Br J Cancer*. 1989;60(1):291-8.