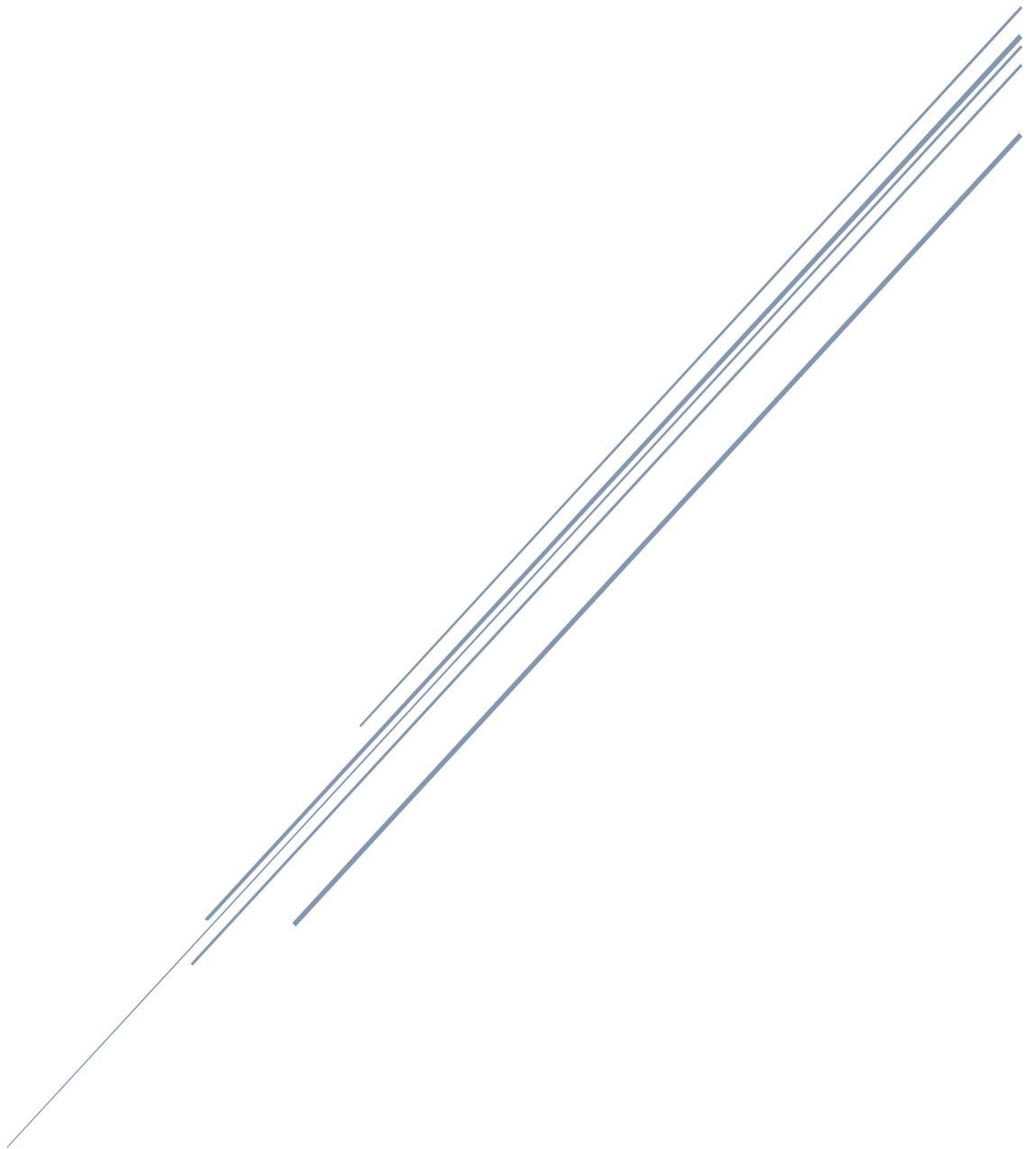


BUKU PENUNTUN PRAKTIKUM BIOFARMASI DAN FARMAKOKINETIKA



Program Studi Farmasi Klinis
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman

PENUNTUN PRAKTIKUM BIOFARMASI DAN FARMAKOKINETIK

TIM PENYUSUN

Adam M. Ramadhan, M.Sc., Apt
Mirhansyah Ardana, M.Si., Apt
Febrina Mahmudah, M.Si., Apt
Erwin Samsul, M.Si., Apt
Novianty Indjar Gama, M.Si., Apt

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
SAMARINDA**

2022

KATA PENGANTAR

Buku panduan praktikum ini disusun agar para praktikan dapat lebih memahami maksud serta cara-cara praktikum yang akan dilakukan, maka setiap praktikan sebelum acara praktikum dimulai, harus mengikuti kuliah pengantar praktikum dengan baik yaitu mata kuliah Biofarmasi dan Farmakokinetika. Praktikum Biofarmasi dan farmakokinetika di Program Studi Farmasi Klinis Universitas Mulawarman, diberikan dalam kesemoatan yang berbeda dengan mata kuliah dalam satu semester.

Praktikum Biofarmasi dan farmakokinetika dimaksudkan memberikan mahasiswa suatu keterampilan tentang dasar-dasar yang diperlukan untuk pengetahuan praktik Biofarmasi dan farmakokinetik. Praktikum ini diharapkan dapat menjadi modal dasar untuk melakukan persiapan penelitian klinik bagi mahasiswa yang memiliki keinginan penelitian dalam bidang Biofarmasi dan farmakokinetik

Samarinda, 25 Oktober 2021
Tim Penyusun

DAFTAR PUSTAKA

KATA PENGANTAR.....	2
DAFTAR PUSTAKA	3
TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOMEDIS.....	4
ABSORBSI PERKUTAN OBAT SECARA IN-VITRO	5
ABSORBSI OBAT SECARA IN-VITRO	9
UJI DIFUSI SEDIAAN TOPIKAL SECARA IN VITRO.....	12
FARMAKOKINETIKA SEDIAAN TOPIKAL	17
FARMAKOKINETIKA SEDIAAN ORAL.....	22
PENGARUH RUTE PEMBERIAN TERHADAP FARMAKOKINETIKA SULFAMETOKSAZOL	31
LAMA WAKTU PENGOSONGAN LAMBUNG TERHADAP BIOAVAILABILITAS OBAT PARASETAMOL.....	38
PENENTUAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA ASETOSAL MENGGUNAKAN DATA URIN MANUSIA	43
PROFIL FARMAKOKINETIKA SULFAMETOKSAZOL PADA KONDISI GAGAL GINJAL	46

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOMEDIS

1. Pada waktu saudara memasuki laboratorium untuk praktikum, letakan barang dan tas serta barang-barang yang tidak diperlukan pada tempat yang tersedia. Jangan meletakkan di atas meja praktikum.
2. Gunakan jasa lab selama praktikum. Cuci tangan dengan menggunakan sabun sebelum dan sesudah praktikum.
3. Gunakan jas lab dalam keadaan bersih setiap praktikum.
4. Setiap praktikan harus mempelajari teori praktikum yang akan dilakukan sebelum praktikum berlangsung.
5. Bersihkan meja praktikum dengan menggunakan alkohol, sebelum dan sesudah praktikum.
6. Jangan merokok, makan, dan minum serta jauhkan tangan anda dari mulut, hidung, dan telinga selama bekerja di laboratorium.
7. Peralatan yang sudah digunakan jangan diletakkan langsung di atas meja, letakkan di tempat yang sudah disediakan.
8. Kurangi bicara agar tidak merugikan pekerjaan orang lain.
9. Setiap pengamatan harus dicatat dengan cermat dan dilaporkan sebagai laporan sementara.
10. Semua praktikan bertanggungjawab terhadap kebersihan, keamanan ruangan praktikum, dan alat-alat yang digunakan.
11. Sebelum meninggalkan laboratorium, bersihkan dan lap meja kerja serta tangan anda. Teliti kembali bahwa kran air, listrik, telah anda matikan. Kembalikan alat-alat ke tempat semula dan laporkan kepada Laboran Biomedis yang sedang bertugas

PERCOBAAN 1

ABSORBSI PERKUTAN OBAT SECARA IN-VITRO

A. Tujuan

1. Mengetahui cara preparasi dan prinsip pengujian absorpsi perkutan obat secara in vitro menggunakan kulit
2. Mengetahui cara menghitung kadar obat terabsorpsi dengan menggunakan kulit dan membran buatan

B. Pendahuluan

Berbagai macam cara pemakaian obat telah kita kenal seperti cara oral, intravena, intramuskular, intraperitoneal, subkutan, sublingual, rektal, dan nasal. Pemakaian obat yang dioleskan pada permukaan kulit sering disebut sebagai pengobatan secara topikal. Pada obat yang digunakan secara topikal untuk dapat memberikan aksinya obat harus dilepaskan dari pembawa. Selanjutnya, obat dapat berada pada permukaan kulit dan menembus sampai ke epidermis serta mungkin dapat sampai peredaran darah. Penetrasi obat ke dalam kulit ditentukan oleh berbagai faktor seperti sifat fisikokimia obat dan bahan pembawa. Selain faktor fisikokimia tersebut, faktor kulit juga tidak kalah pentingnya.

Kulit merupakan organ tubuh terbesar yang tidak hanya berfungsi sebagai pembungkus tubuh dan terdapatnya syaraf perasa, tetapi kulit berfungsi untuk menjaga tubuh dari pengaruh luar seperti suhu, tekanan, senyawa kimia, dan menahan masuknya kuman ke dalam tubuh. Kulit manusia tersusun secara berlapis-lapis dengan struktur dan fungsi yang kompleks. Secara umum, kulit dapat dibagi menjadi tiga lapis yang berbeda yaitu, epidermis, dermis, dan jaringan subdermis yang berlemak.

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang umumnya berfungsi sebagai penghalang terpenting dari hilangnya air, elektrolit dan atau nutrien tubuh, serta menahan masuknya senyawa asing dari luar nosum, dan stratum basal (*germinativum*). Lapisan terluar epidermis adalah stratum korneum yang terdiri dari sel-sel mati yang rata (*flat*) dan mengandung sekitar 65% keratin, yaitu suatu protein yang dihasilkan selama proses diferensiasi. Sel-sel stratum korneum saling berdempet satu dengan yang lain dan bagian epidermis ini merupakan penghalang yang paling penting dari kulit terhadap masuknya benda-benda asing. Stratum korneum ini memegang peranan penting dalam mengontrol absorpsi perkutan molekul-molekul obat. Permeabilitas selektif stratum korneum merupakan tema sentral dalam berbagai aspek untuk studi biofarmasetika produk-produk topikal.

Dermis adalah lapisan kulit yang terletak antara epidermis dan jaringan lemak subkutan. Fungsi dermis terutama melindungi tubuh dari luka, menjadikan epidermis lebih fleksibel, penghalang terhadap infeksi, dan sebagai organ penyimpan air. Dalam

dermis terdapat pembuluh-pembuluh darah, syaraf, limfatik, kelenjar ekrin, kelenjar apokrin, folikel rambut, dan kelenjar sebacea.

Absorpsi perkutan dapat didefinisikan sebagai absorpsi obat ke dalam stratum korneum (lapisan tanduk) dan berlanjut obat menembus lapisan di bawahnya serta akhirnya obat masuk dalam sirkulasi darah. Kulit merupakan perintang yang efektif terhadap penetrasi perkutan obat atau senyawa eksternal. Absorpsi obat perkutan dipengaruhi oleh sifat fisikokimia obat dan pembawa serta kondisi kulit. Pada pemakaian obat secara topikal, obat berdifusi dalam pembawanya dan kontak dengan permukaan kulit (stratum korneum dan sebum) serta obat selanjutnya menembus epidermis.

Penetrasi obat melalui kulit dapat terjadi dengan dua cara:

1. Rute transepidermal, yaitu difusi obat menembus stratum korneum
2. Rute tansfolikular, yaitu difusi obat melewati pori kelenjar keringat dan sebum. Rute yang merupakan rute penting adalah rute transepidermal sebab permukaan epidermis mempunyai luas beberapa kali dari luas rute transfolikular.

Sebelum obat dapat memberikan efek, obat perlu dilepaskan dari basisnya. Setelah kontak dengan stratum korneum maka obat akan menembus epidermis dan masuk ke dalam sirkulasi sistemik secara difusi pasif. Difusi pasif adalah proses perpindahan massa dari tempat yang berkonsentrasi tinggi ke tempat yang berkonsentrasi rendah. Perbedaan konsentrasi itu merupakan daya dorong (*driving force*) sebagai penyebab terjadinya perpindahan massa. Untuk difusi dengan melewati membran, molekul obat harus masuk dan melarut dulu dalam membran itu. Selanjutnya, obat berdifusi meninggalkan membran dan masuk ke dalam medium reseptor. Difusi pasif mengikuti hukum Fick, yaitu teori yang menggambarkan hubungan antara fluks obat melewati membran sebagai fungsi perbedaan konsentrasi.

C. Alat dan Bahan

Bahan :

- Marmut Jantan
- Larutan Dapar Fosfat pH6,8
- NaCl fisiologis 0,9%
- Asam Fenofibrat
- Larutan Isopropil miristat
- Kloroform
- Alkohol

Alat

- Sel Difusi Franz
- Magnetic stirrer
- Spektrofotometer Uv Vis
- Waterbath (penangas air)
- Timbangan Analitik
- Alat-alat Bedah
- Gelas Kimia
- Tabung reaksi
- Kalkulator

D. Prosedur Kerja

membran millipore/kulit hewan dipotong bentuk lingkaran seukuran dengan besaran lubang cincin penghubung antara kompartemen donor dan kompartemen akseptor pada sel difusi



membran diimpregnasikan selama lebih kurang 15 menit dalam larutan isopropyl miristat kemudian membran tersebut ditempatkan pada kertas saring untuk menghisap kelebihan lipid selama lebih kurang 5 menit



membran direndam dalam larutan dapar fosfat untuk proses hidrasi membran selama 30 menit



membran diambil dan ditempatkan di antara kompartemen donor dan akseptor. Untuk mencegah kebocoran, tempatkan ring karet atau silikon di antara kompartemen donor dan akseptor



pasang sel difusi dengan mengencangkan mur yang ada sehingga terbentuk suatu sistem *side by side cell*



tempatkan larutan donor asam fenofibrat pada kompartemen donor dan dapar fosfat pH 6,8 pada kompartemen akseptor



jalankan pengaduk *magnetic* pada kecepatan 1500 rpm baik pada sisi donor maupun akseptor



lakukan pengukuran transport obat ke kompartemen akseptor pada menit ke- 0, 15, 30, 45, 60, 90, dan 120

E. DAFTAR PUSTAKA

- A. Ansel, H., 1989, *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi*, edisi keempat, Universitas Indonesia, Jakarta

- B. Lachman, L., 1989, *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, edisi kedua, Universitas Indonesia, Jakarta
- C. Martin, A., 1993, *Farmasi Fisik, Dasar-dasar Farmasi Fisik dalam Ilmu Farmasetik*, Universitas Indonesia, Jakarta
- D. Shargel, L., 1998, *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*, edisi kedua, Universitas Airlangga Press, Surabaya
- E. Junqueira, L.C., and J. Carneiro. 1981. *Basic Histology, 3rd edition*. Lange Medical Publication, Drawer Los Altos, California.
- F. Medidata Indonesia. 2011. *MIMS Indonesia Petunjuk Konsultasi, Edisi 11 2011/2012*. Penerbit BIP Kelompok Gramedia, Jakarta.
- G. Said, M.I. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Kapang serta Pengaruhnya terhadap Sifat Fisik dan Struktur Jaringan Kulit Kambing Pickle serta Wet Blue dengan Perlakuan Fungisida Selama Penyimpanan [Tesis]*, Progam Studi Ilmu Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- H. Shargel, L., Wu, S., dan Yu, Andrew B.C. 2012. *Biofarmasetika & Farmakokinetika Terapan, Edisi kelima*. Airlangga University Press, Surabaya.

PERCOBAAN 2

ABSORPSI OBAT SECARA IN-VITRO

A. Tujuan

1. Mengetahui cara preparasi dan prinsip pengujian absorpsi secara in vitro menggunakan usus terbalik
2. Mengetahui cara menghitung kadar obat terabsorpsi dengan menggunakan usus

B. Pendahuluan

Biotransformasi adalah ilmu yang mempelajari hubungan sifat fisikokimiawi formulasi obat terhadap bioavailabilitas obat. Bioavailabilitas menyatakan kecepatan dan jumlah zat aktif yang mencapai sirkulasi sistemik. Bioavailabilitas mempengaruhi daya terapeutik, aktivitas klinik dan aktivitas toksik obat. Bioavailabilitas obat aktif dalam suatu bentuk sediaan padat tergantung pada beberapa faktor, antara lain : disintegrasi produk dalam pelepasan partikel zat aktif, kelarutan obat dan absorpsi atau permeasi obat melintasi membran sel.

Sifat fisikokimia partikel obat padat mempunyai pengaruh yang besar pada kinetika pelarutan. Luas permukaan efektif obat dapat diperbesar dengan memperkecil ukuran partikel. Derajat kelarutan obat dalam air juga mempengaruhi laju pelarutan. Pada umumnya, obat dalam bentuk garam yang dapat terionisasi lebih larut dalam air daripada dalam keadaan asam atau basa bebas. Absorpsi sistemik dari suatu obat dalam saluran cerna atau tempat ekstravaskuler yang lain bergantung pada bentuk sediaan, anatomi dan fisiologi tempat absorpsi. Faktor faktor lain seperti luas permukaan dinding usus, kecepatan pengosongan lambung, pergerakan saluran cerna dan aliran darah ke tempat absorpsi, semuanya mempengaruhi laju dan jumlah absorpsi obat. Obat pada pemakaian oral, umumnya diabsorpsi melalui mekanisme difusi pasif.

Dengan demikian, selain sifat fisika kimia bahannya sendiri, faktor formulasinya banyak berpengaruh terhadap absorpsinya, terutama bagi obat-obat yang kelarutannya sangat kecil. Obat-obat yang mempunyai sifat-sifat demikian, kecepatan absorpsinya dibatasi oleh kecepatan disolusi bahan obat. Absorpsi obat didefinisikan sebagai penetrasi suatu obat melewati membrane tempat pemberian (site of application). Obat pada umumnya diabsorpsi dari saluran pencernaan secara pasif. Absorpsi obat adalah suatu proses pergerakan obat dari tempat pemberian ke dalam sirkulasi umum dalam tubuh. Absorpsi obat dari saluran pencernaan ke dalam darah umumnya terjadi setelah obat tersebut larut dalam cairan disekeliling membran tempat terjadinya absorpsi. Kecepatan efisiensi absorpsi bergantung pada cara pemberian. Obat-obat yang ditransport secara difusi pasif hanyalah yang larut dalam lipid.

Makin baik kelarutannya dalam lipid makin baik absorpsi optimal tercapai. Perpindahan obat dari suatu bentuk sediaan ke dalam sirkulasi umum dapat dicapai melalui proses-proses sebagai berikut:

1. Penghantaran obat pada tempat absorpsinya
2. Keberadaan obat dalam bentuk larutan

3. Pergerakan dari obat larut melalui membran saluran cerna
4. Pergerakan obat dari tempat absorpsi ke dalam sirkulasi umum pada obat yang diberikan per-oral, absorpsi obat terjadi pada saluran cerna.

Saluran cerna memegang peranan penting terhadap faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan laju obat dan keberadaan obat. Faktor-faktor tersebut diantaranya adalah:

1. sawar membran saluran cerna
2. pH saluran cerna
3. Kestabilan obat dalam saluran cerna
4. Interaksi obat dan kompleksasi

B. Alat dan Bahan

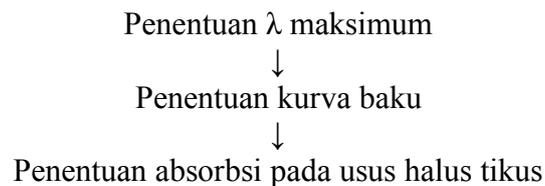
Bahan :

- Marmut Jantan
- Larutan Dapar Fosfat pH6,8
- Asam salisilat
- Eter
- Gas Oksigen
- Alkohol
- Senyawa sulfat dan Ba(OH)₂

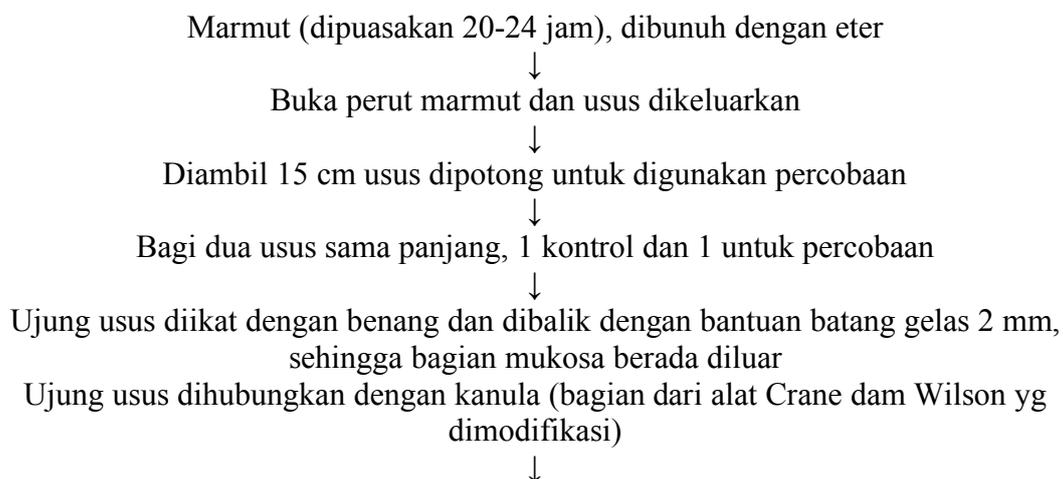
Alat

- Tabung Crane dan Wilson yg dimodifikasi
- Spektrofotometer Uv Vis
- Waterbath (penangas air)
- Timbangan Analitik
- Alat-alat Operasi
- Alat-alat gelas

C. Prosedur Kerja



Penentuan Absorpsi pada usus halus tikus



Panjang efektif usus 7 cm, sebelumnya diisi cairan serosal 1,4 ml (Larutan Dapar Fosfat pH6,8)



Kontrol usus dimasukkan ke cairan 75 ml (cairan lambung buatan dan usus buatan)

Kontrol Tanpa Obat



Perlakuan Mengandung obat

Jaga agar usus selalu terendam dan dialiri gas oksigen (100 gelembung/menit)



Tentukan Kadar obat dalam cairan serosal dalam waktu tertentu. (cairan serosal diambil melalui kanula seluruhnya, dan segera dicuci dengan larutan Larutan Dapar Fosfat pH6,8, isi lagi dengan 1,4 ml Larutan Dapar Fosfat pH6,8)



Analisis Sampel

Analisis

Ambil 1 ml sample + 2 ml Larutan seng sulfat 5 % dan 2 ml Ba(OH)₂ 0,3 N



Kocok dan sentrifugasi selama 5 menit



Ambil bagian jernih, baca pada λ maks

I.

D. DAFTAR PUSTAKA

Anonim.1995.*Farmakope Indonesia ed.IV*.DepKes RI : Jakarta

Notari,Robert.1980.*Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics ed III*. Marcel Dekker Inc : New York.

Shargel,Icon.1988.*Biofarmasetika dan farmakokinetika Terapan ed II* .Penerbit Airlangga : Surabaya. Hal.85-91,146

PERCOBAAN 3

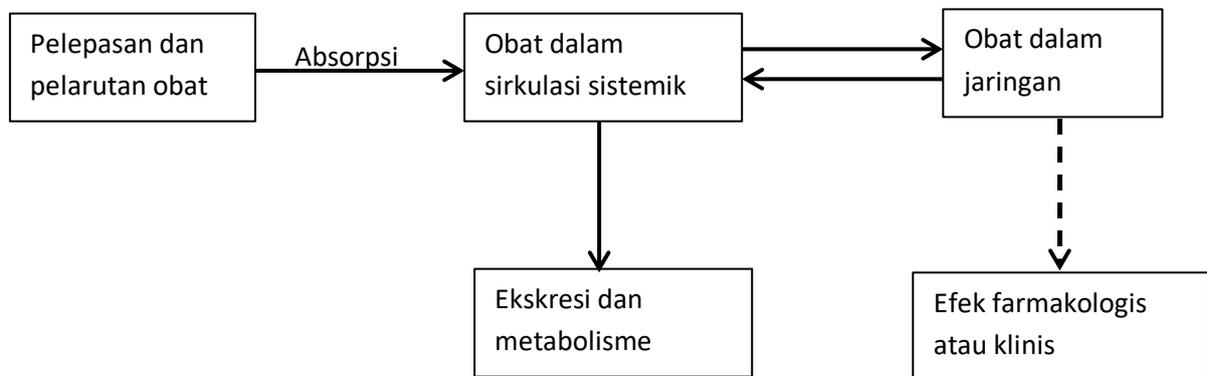
UJI DIFUSI SEDIAAN TOPIKAL SECARA IN VITRO

A. Tujuan Praktikum

Setelah melakukan praktikum ini diharapkan mahasiswa dapat melakukan pengamatan proses difusi zat aktif secara semi kuantitatif.

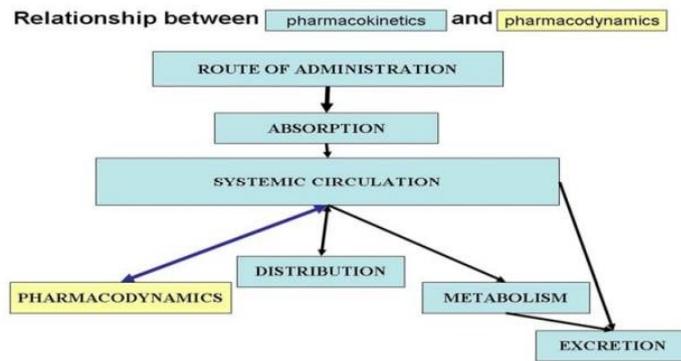
B. Pendahuluan

Biofarmasetika merupakan bagian dari ilmu farmasi yang membahas hubungan sifat fisikokimia obat, bentuk sediaan yang diberikan serta rute pemakaian obat terhadap laju dan jumlah absorpsi obat pada sistemik. Dengan demikian ilmu tersebut mencakup faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas obat dalam produk obat, pelepasan obat dari produk obat, laju disolusi atau pelepasan obat pada site absorpsi dan absorpsi sistemik obat. Biofarmasetika dapat dipelajari dengan menggunakan metode *in vitro* dan *in vivo* (Shargel, 2012).



Gambar 1.1 Skema hubungan dinamis antara obat, produk obat, dan efek farmakologis

Farmakokinetik merupakan ilmu yang membahas tentang aksi tubuh terhadap obat yang mencakup absorpsi (A), distribusi (D), metabolisme (M) dan ekskresi/eliminasi (E) (Doggrell, 2017). Sedangkan Farmakodinamik merupakan pengaruh obat terhadap sel hidup, organ atau makhluk hidup (Indijah, 2016). Absorpsi



Gambar 1.2 Hubungan antara farmakokinetik dan farmakodinamik

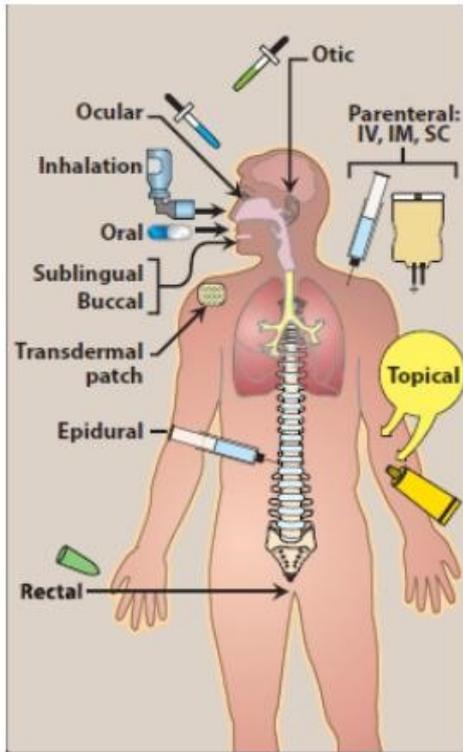
Rute Pemberian Obat

Faktor fisiologi berhubungan dengan absorpsi obat. Absorpsi pada sistemik sangat bergantung pada sifat fisikokimia obat, sifat atau jenis obat serta anatomi dan fisiologi sel atau organ target (Shargel, 2004). Tahap pertama dalam farmakokinetik adalah pemberian dan absorpsi obat. Struktur kimia dan jenis dari obat mungkin dapat menentukan jenis rute pemberian obat yang akan digunakan. Absorpsi obat tergantung pada rute pemberian obat. Ketika obat diberikan secara oral, absorpsinya akan berasal saluran gastrointestinal. Sedangkan ketika obat diberikan melalui vena, absorpsinya akan berasal dari sirkulasi (Doggrell, 2017).

Rute pemberian obat secara langsung mempengaruhi bioavailabilitas obat, yang akan menentukan awal dan durasi efek farmakologisnya. Menurut Ruiz & Montoto (2018), ada beberapa hal yang harus dipertimbangkan saat merancang bentuk sediaan obat diantaranya yaitu:

1. Rute pemberian obat yang akan digunakan
2. Jumlah atau dosis yang akan diberikan
3. Karakteristik anatomi dan fisiologis site aksi seperti permeabilitas membran dan aliran darah
4. Sifat fisikokimia dari site aksi seperti pH, tekanan osmotik cairan fisiologis
5. Efek potensial dari pengobatan setelah pemberian obat pada site aksi.

Secara garis besar rute pemberian obat ada 2 yaitu **enteral** (melalui saluran gastrointestinal) dan **parenteral** (bukan melalui saluran gastrointestinal). Rute enteral diantaranya ada secara oral dan rectal. Sedangkan rute parenteral diantaranya termasuk pemberian obat secara sublingual (dibawah lidah) dan injeksi yang bisa diberikan secara intravenous, intramuscular dan subkutan. Rute parenteral lain yaitu topikal dimana obat dioleskan pada permukaan tubuh seperti pada kulit, mata, hidung dan lainnya. Rute lain yaitu pulmonary yang membawa obat langsung ke paru-paru (Doggrell, 2017).

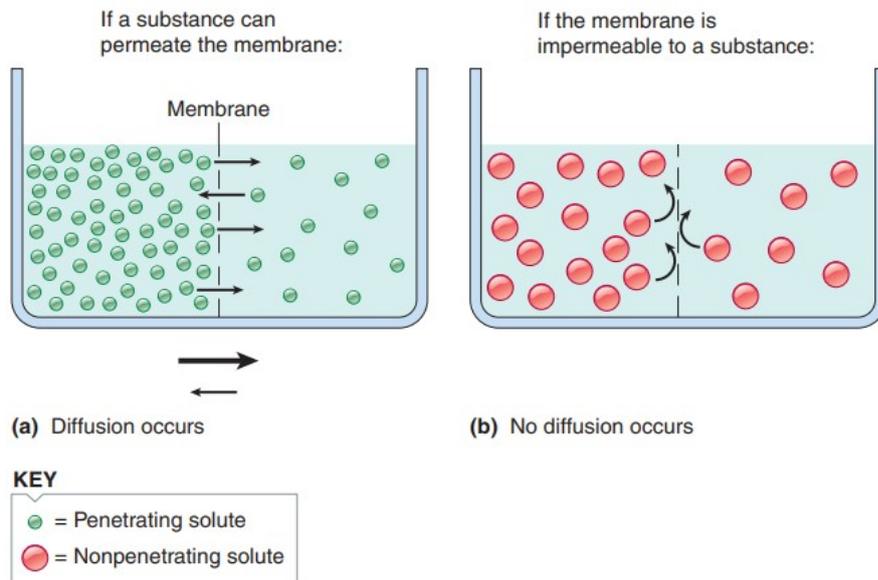


Gambar 1.3 Gambaran jenis rute pemberian obat

Setiap jenis rute pemberian obat memiliki kelebihan dan kekurangan tertentu. Banyak jenis obat yang tidak dapat diberikan secara oral karena obat tersebut tidak stabil dalam saluran pencernaan atau obat tersebut bisa terdegradasi oleh enzim pencernaan di dalam usus. Absorpsi obat setelah injeksi subkutan lebih lambat daripada injeksi intravena. Kondisi patofisiologi seperti luka bakar akan meningkatkan permeabilitas obat melewati kulit daripada pada kulit normal. Ketika obat diberikan dengan rute extravaskuler (seperti oral, topical, injeksi, intranasal, inhalasi, rectal), obat tersebut pertama-tama harus diabsorpsi ke dalam sirkulasi sistemik lalu kemudian berdifusi atau ditranspor ke site aksi sebelum menimbulkan aktivitas biologis dan terapeutik. Prinsip umum dan kinetika absorpsi dari tipe extravaskuler tadi mengikuti prinsip yang sama seperti pemberian secara oral, meskipun fisiologis dari target dari pemberian obat berbeda-beda (Shargel, 2004).

Difusi obat

Difusi adalah suatu proses perpindahan massa molekul suatu zat yang dibawa oleh gerakan molekular secara acak dan berhubungan dengan adanya perbedaan konsentrasi aliran molekul melalui suatu batas, misalnya suatu membran polimer (Sinala, 2016). Partikel yang dapat menembus membran berdifusi secara pasif mengikuti penurunan gradien konsentrasinya (Sherwood, 2010).



Gambar 1.4 Difusi melalui membran. (a) difusi netto menembus membran mengikuti penurunan gradien konsentrasi. (b) Tidak terjadi difusi melalui membran meskipun terdapat gradien konsentrasi.

Menurut Sinala (2016), faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi yaitu:

1. Ukuran partikel.
Semakin kecil ukuran partikel, semakin cepat partikel itu akan bergerak sehingga kecepatan difusi semakin tinggi.
2. Ketebalan membran
Semakin tebal membran, semakin lambat kecepatan difusi.
3. Luas suatu area
Semakin besar luas area, semakin cepat kecepatan difusinya.
4. Jarak
Semakin besar jarak antara dua konsentrasi, semakin lambat kecepatan difusinya.
5. Suhu
Semakin tinggi suhu, partikel mendapatkan energi untuk bergerak dengan lebih cepat. Maka, semakin cepat pula kecepatan difusinya.
6. Konsentrasi obat
Semakin besar konsentrasi obat, semakin cepat pula kecepatan difusinya.
7. Koefisien difusi
Semakin besar koefisien difusi, maka besar kecepatan difusinya.
8. Viskositas
9. Koefisien partisi
Difusi pasif dipengaruhi oleh koefisien partisi, yaitu semakin besar koefisien, maka semakin cepat difusi obat.

Topikal atau Transdermal

Pemberian obat secara topikal diberikan pada permukaan tubuh, dan digunakan untuk memberikan efek lokal. Pemberian obat topikal menghindari proses metabolisme pertama. Walaupun demikian obat yang diserap ke dalam sirkulasi setelah pemberian obat lokal bisa menimbulkan efek sistemik (Doggrell, 2017). Obat topikal yang dapat menyebabkan efek lokal contohnya salep dan cream antispetik, sunscreen, obat tetes mata dan lainnya, sedangkan yang menimbulkan efek sistemik contohnya salep nitrogliserin. Pada umumnya penyerapan obat topikal cenderung lambat (Verma, 2010). Namun penyerapan melalui kulit yang luka dan lecet atau di kulit yang tipis bisa menjadi meningkat. Pemberian obat secara topikal bisa menimbulkan iritasi pada kulit. Perlu diketahui bahwa penyerapan tergantung pada lokasi pemberian obat, kondisi kulit, usia dan jenis kelamin (Ruiz & Montoto, 2018).

Area pemberian obat topikal bisa pada kulit atau membran mukosa, keduanya memiliki banyak perbedaan. Pemberian obat pada membran mukosa diantaranya yaitu selaput mata, nasofaring, orofaring, vagina, urethra dan kandung kemih. Penyerapan dari membran mukosa tersebut terjadi dengan mudah (Doggrell, 2017).

Pemberian obat topikal yang diaplikasikan pada kulit biasanya digunakan dalam bentuk patch atau salep. Lapisan terluar kulit atau epidermis berupa lemak sehingga air hanya diserap dengan jumlah sedikit. Apabila diperlukan, penyerapan atau absorpsi dapat ditingkatkan dengan membuat suspensi obat dalam zat berminyak dan mengoleskannya sediaan yang dihasilkan ke dalam kulit. Epidermis merupakan penentu utama laju penyerapan dari kulit, sebagai bagian dalam lapisan kulit yang dapat ditembus. Keuntungan pemberian obat secara topikal adalah dapat menghindari metabolisme hati. Jadi obat yang secara ekstensif melewati metabolisme hati dapat digunakan secara topikal (Doggrell, 2017).

Praktikum ini kita akan melakukan percobaan pada obat topikal yang jenisnya sama tapi bentuk sediaan berbeda yaitu cream dan salep. Percobaan ini menguji difusi asam atau Na Salisilat ke dalam agar (in vitro). Uji difusi in vitro dapat dijadikan kontrol pengembangan formulasi obat dan kualitas obat (Sinala, 2016).

C. Alat dan Bahan

- a. Cawan petri yang berisi media agar
- b. FeCl_3 10%
- c. Pipet tetes
- d. Salep asam salisilat
- e. Cream asam salisilat
- f. Sumuran
- g. Gelas ukur
- h. Kertas saring

D. Prosedur Kerja

- a. Siapkan 4 cawan petri yang berisi media agar
- b. Tuangkan FeCl_3 10% sebanyak 2 mL ke dalam cawan petri kemudian diratakan pada permukaan media agar. Diamkan selama kurang lebih 3 menit.

- c. Keringkan FeCl₃ 10% yang sudah dituangkan di dalam cawan petri menggunakan kertas saring
- d. Buat 3 lubang pada media agar menggunakan sumuran
- e. Masukkan salep asam salisilat pada lubang yang telah dibuat pada 2 cawan petri. Isi sampai penuh dan ratakan.
- f. Masukkan cream asam salisilat pada lubang yang telah dibuat pada 2 cawan petri. Isi sampai penuh dan ratakan.
- g. Simpan semua cawan petri dalam lemari pendingin dengan suhu terkontrol, lalu keluarkan dan biarkan dalam suhu ruangan.
- h. Amati dan catat perubahan warna yang terjadi pada media agar, lakukan pengamatan dengan waktu 30, 60 dan 90 menit

a. Daftar Pustaka

- Doggrell, Sheila. 2017. *Introduction to Pharmacology, and Routes of Drugs Administration and Absorption*. Queensland University of Technology; Australia.
- Indijah S. W. & Fajri P.. 2016. *Farmakologi*. Kemeterian Kesehatan RI; Jakarta.
- Ruiz M. E & Montoto S.S.. 2018. *Routes of Drugs Administration: Dosage, Design and Pharmacotherapy Success*. ResearchGate
- Shargel K., Wu-Pong S., & Yu B. C.. 2004. *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics Fifth Edition*. McGraw-Hill's Access Pharmacy; North Carolina.
- Sherwood, Lauralee. 2010. *Human Physiology: From Cell to System, Seventh Edition*. Brooks/Cole, Cengage Learning. Canada.
- Sinala, santi. 2016. *Farmasi Fisik*. Kemeterian Kesehatan RI; Jakarta.
- Verma P, Thakur A.S., Deshmukh K., Jha A.K., & Verma S.. 2010. *Routes of Drug Administration*. International Journal of Pharmaceutical Studies and Research; India.

PERCOBAAN 4 FARMAKOKINETIKA SEDIAAN TOPIKAL

A. Tujuan Praktikum

Untuk mengetahui prinsip dan cara pengujian difusi suatu zat dari sediaan transdermal atau topikal.

B. Pendahuluan

Kulit merupakan organ tubuh yang penting yang merupakan permukaan luar organism dan membatasi lingkungan dalam tubuh dengan lingkungan luar (Mutschler, 1991 hal 577). Fungsi kulit (Mutschler, 1991 hal 577):

- Melindungi jaringan terhadap kerusakan kimia dan fisika, terutama kerusakan mekanik dan terhadap masuknya mikroorganisme.
- Mencegah terjadinya pengeringan berlebihan, akan tetapi penguapan air secukupnya tetap terjadi (perspiration insensibilis).
- Bertindak sebagai pengatur panas dengan melakukan kontriksi dan dilatasi pembuluh darah kulit serta pengeluaran keringat.
- Dengan pengeluaran keringat ikut menunjang kerja ginjal, dan
- Bertindak sebagai alat pengindra dengan reseptor yang dimilikinya yaitu reseptor tekan, suhu dan nyeri.

Kulit terdiri atas (Mutschler, 1991 hal 577):

- Bagian ectoderm yaitu epidermis (kulit luar) dan kelengkapannya (kelenjar, rambut, kuku)
- Bagian jaringan ikat, yaitu korium (kulit jangat).

Epidermis terdiri dari beberapa lapisan yaitu stratum corneum (lapisan tanduk), stratum lucidum (lapisan keratohialin, hanya terdapat pada telapak kaki dan tangan), stratum granulosum (lapisan bergranul) dan stratum germinativum (lapisan yang bertumbuh), yang dapat dibagi lagi menjadi stratum spinosum (lapisan berduri) dan stratum basal (lapisan basal) (Mutschler, 1991 hal 577-578).

Bagian atas kulit yang disebut stratum korneum terdiri atas sel tak berinti yang disusun oleh brick (komponen selnya/korneosit) dan mortasr (kandungan lipid interselular). Stratum korneum dapat ditembus oleh senyawa obat atau zat kimia yang diaplikasikan ke permukaannya disebut pemberian obat secara perkutan. Tujuan pengobatan obat secara perkutan dapat ditunjukkan untuk pengobatan local hanya dipermukaan kulit atau pada jaringan yang lebih dalam seperti otot dan dapat pula ditunjukkan untuk pengobatan sistemik.

Mekanisme kerja obat pemberian secara perkutan harus mampu berpenetrasi kedalam kulit melalui stratum korneum, terjadi proses difusi pasif. Difusi dapat terjadi melalui stratum korneum (jalur transdermal), atau dapat juga melalui kelenjar keringat, minyak, atau melalui folikel rambut (jalur transpendagel/transfolikular). Difusi pasif merupakan proses perpindahan masa dari tempat yang berkonsentrasi tinggi ke tempat yang berkonsentrasi rendah.

Kecepatan penetrasi obat dikulit melalui mekanisme difusi sehingga terjadi sesuai dengan

hukum fick.
$$J = \frac{(K \cdot D)}{h} (C_s - C)$$

J= fluks per satuan luas

K= koefisien partisi obat dalam membrane dan pembawa

h = tebal membrane

D = koefisien difusi obat

C_s = konsentrasi obat dalam pembawa\

C = konsentrasi obat dalam medium reseptor

Factor yang mempengaruhi difusi zat melalui kuli

- Sifat fisiko kimia dari zat aktif (bobot molekul, kelarutan, koefisien partisi)
- Karakteristik sediaan
- Karakteristik basis
- Zat-zat tambahan dalam sediaan
- Zat tambahan yang perlu ditambahkan adalah zat untuk meningkatkan penembusan zat aktif (penetrant enhancer), contohnya golongan sulfoksid (DMSO), alcohol, asam lemak dan surfaktan.

Mekanisme peningkatan penetrasi tersebut dapat melalui beberapa jalur. Kemungkinan pertama adalah melalui interaksi antara kepala polar lipid. Enhancer yang bersifat hidrofilik akan menimbulkan gangguan pada kepala polar lipid dan menginduksi gangguan susunan lipid, kemudian pada akhirnya menyebabkan fasilitasi transpor obat hidrofilik. Gangguan kepala polar lipid tersebut juga menimbulkan pengaruh terhadap bagian hidrofobik lipid dan menyebabkan penataan ulang pada susunan lipid bilayer. Hal inilah yang menyebabkan peningkatan penetrasi untuk obat lipofilik

Kemungkinan lain adalah interaksi antara enhancer lipofilik dengan rantai hidrokarbon lipid bilayer. Gangguan pada hidrokarbon lipid tersebut menyebabkan terjadinya fluidisasi rantai hidrokarbon dan memfasilitasi penetrasi obat lipofilik. Perubahan tersebut juga mempengaruhi susunan kepala polar sehingga juga dapat meningkatkan penetrasi obat-obat hidrofilik.

C. Alat dan bahan

- Alat :
 1. Spektrofotometer UV
 2. Jam / pengukur waktu
 3. Neraca analitik
 4. Kalkulator
 5. Spatula
 6. Gelas kimia

7. Alat uji difusi
8. Sduit
9. Spin bar / stirring bar

- Bahan :

1. Gel piroksikam
2. Aquadest
3. Larutan piroksikam/ ketoprofen 5 ppm
4. Dapar fosfat pH 7,4
5. Membran (kulit ular)
6. Larutan piroksikam/ ketoprofen 2 – 14 ppm

D. Prosedur

Pembuatan dapar fosfat pH 7,4

1. Diambil KH_2PO_4 sebanyak 50 ml
2. Diambil NaOH sebanyak 39, 1 ml
3. Dicampurkan keduanya
4. Ditambahkan aquadest sampai 200 ml
5. Dicek pH dapar sampai 7,4

Pengujian difusi in vitro

1. Ditentukan panjang gelombang maksimum piroksikam/ ketoprofen dengan dibuat larutan piroksikam/ ketoprofen dengan konsentrasi 5 ppm dalam dapar fosfat pH 7,4
2. Dibuat kurva kalibrasi piroksikam/ ketoprofen dengan dibuat larutan dengan konsentrasi 2 – 14 ppm. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya
3. Dimasukkan aquadest ke alat uji difusi melalui pipa yang kecil
4. Dimasukkan dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 13 ml ke alat uji difusi melalui pipa yang besar
5. Dimasukkan stirring bar ke alat uji difusi
6. Dipotong kulit ular $1 \times 1 \text{ cm}^2$
7. Diredam dan dicuci membran (kulit ular) dalam larutan dapar fosfat pH 7,4
8. Setelah diredam dan dicuci, membran (kulit ular) dikeluarkan
9. Dipanaskan alat uji difusi pada suhu 60°C di atas penangas air
10. Diukur suhu aquadest pada alat uji difusi sampai 37°C

11. Setelah 37°C, maka diturunkan suhu penangas air menjadi 45°C
12. Ditimbang 2 gram sediaan gel piroksikam
13. Dioleskan secara merata ke permukaan kulit ular sebanyak 2 gram sediaan gel piroksikam
14. Dijepit kulit ular di alat uji difusi
15. Dilakukan pengujian selama 2 jam (120 menit)
16. Cuplikan diambil dengan digunakan spuit 2ml dan setiap pengambilan selalu diganti dengan dapar fosfat pH 7,4
17. Cuplikan diambil dengan selang waktu 15 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit
18. Sampel diukur serapannya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum
19. Ditentukan kadar zat terdifusi setiap interval waktu pengujian
20. Dilakukan perhitungan faktor koreksi
21. Dibuat grafik difusi piroksikam/ ketoprofen gel yang menghubungkan antara berat piroksikam/ ketoprofen terdifusi per luas membran (mg/cm^2) dengan waktu

E. Daftar pustaka

- Agoes G, Darijanto S.T. 1993. *Teknologi Farmasi Likuida dan Semi Solida*. Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB. Bandung.
- Agoes, G,et.al. 1986. *Penelitian Difusi Asam Salisilat dan Kloramfenikol dari Sediaan Semisolida dengan Pembawa Vaseline, Campuran Vaseline Propilenglikol dan Vaseline Lemak Bulu Domba secara In vitro*. Acta Pharmaceutica IX(3). Bandung. ITB.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. ITB. Bandung.
- Shargel, Andrew. 1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*. Edisi Kedua. Penerbit : Airlangga University-Press. Surabaya.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardjan.2007.Obat-obat Penting. Penerbit PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta.
- Underwood, A. L. 1998. *Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi Keempat*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Watson, David.G . 2009. *Analisis Farmasi edisi 2*. EGC. Jakarta.
- Weller P.J., Rowe R.C. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Fourth Edition. London : The Pharmaceutical Press.

PERCOBAAN 5

FARMAKOKINETIKA SEDIAAN ORAL

A. Tujuan Praktikum

Dapat mengetahui dan memahami prinsip dan cara menentukan profil farmakokinetika sediaan oral pada tikus.

B. Pendahuluan

1. Definisi Farmakokinetik

Ilmu yang mempelajari kinetika absorpsi, distribusi dan eliminasi (yakni, ekskresi dan metabolisme) obat (Shargel & Yu, 1988), sehingga farmakokinetik dianggap sebagai aspek farmakologi yang mencakup nasib obat dalam tubuh, yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresinya.

Tubuh kita dapat dianggap sebagai suatu ruangan besar, yang terdiri dari beberapa kompartemen yang terpisah oleh membran-membran sel. Sedangkan proses absorpsi, distribusi dan ekskresi obat dari dalam tubuh pada hakekatnya berlangsung dengan mekanisme yang sama, karena proses ini tergantung pada lintasan obat melalui membran tersebut. Membran sel terdiri dari suatu lapisan lipoprotein (lemak dan protein) yang mengandung banyak pori-pori kecil, terisi dengan air. Membran dapat ditembus dengan mudah oleh zat-zat tertentu, dan sukar dilalui zat-zat yang lain, maka disebut semi permeabel. Zat-zat lipofil (suka lemak) yang mudah larut dalam lemak dan tanpa muatan listrik umumnya lebih lancar melintasinya dibanding kan dengan zat-zat hidrofil dengan muatan (ion) (Shargel & Yu, 1988).

2. Proses-proses dalam Farmakokinetika

a. Absorpsi

Proses absorpsi sangat penting dalam menentukan efek obat. Pada umumnya obat yang tidak diabsorpsi tidak menimbulkan efek. Kecuali antasida dan obat yang bekerja lokal. Proses absorpsi terjadi di berbagai tempat pemberian obat, misalnya melalui alat cerna, otot rangka, paru-paru, kulit dan sebagainya (Shargel & Yu, 1988).

Absorpsi dipengaruhi oleh beberapa faktor:

- a. Kelarutan obat.
- b. Kemampuan difusi melintasi sel membrane
- c. Konsentrasi obat.
- d. Sirkulasi pada letak absorpsi.
- e. Luas permukaan kontak obat.
- f. Bentuk sediaan obat
- g. Cara pemakaian obat.

(Katzung, 2004).

b. Distribusi.

Obat setelah diabsorpsi akan tersebar melalui sirkulasi darah ke seluruh badan dan harus melalui membran sel agar tercapai tepat pada efek aksi. Molekul obat yang mudah melintasi membran sel akan mencapai semua cairan tubuh baik intra maupun ekstra sel, sedangkan obat yang sulit menembus membran sel maka penyebarannya umumnya terbatas pada cairan ekstra sel (Shargel & Yu, 1988).

Kadang-kadang beberapa obat mengalami kumulatif selektif pada beberapa organ dan jaringan tertentu, karena adanya proses transport aktif, pengikatan dengan zat tertentu atau daya larut yang lebih besar dalam lemak. Kumulasi ini digunakan sebagai gudang obat (yaitu protein plasma, umumnya albumin, jaringan ikat dan jaringan lemak) (Shargel & Yu, 1988).

Selain itu ada beberapa tempat lain misalnya tulang , organ tertentu, dan cairan transel yang dapat berfungsi sebagai gudang untuk beberapa obat tertentu. Distribusi obat kesusunan saraf pusat dan janin harus menembus sawar khusus yaitu sawar darah otak dan sawar uri. Obat yang mudah larut dalam lemak pada umumnya mudah menembusnya (Shargel & Yu, 1988).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses distribusi, yaitu :

- a. Perfusi darah melalui jaringan
- b. Kadar gradien, pH dan ikatan zat dengan makro molekul
- c. Partisi ke dalam lemak
- d. Transport aktif
- e. Sawar, seperti sawar darah otak dan sawar plasenta, sawar darah cairan cerebrospinal
- f. Ikatan obat dan protein plasma.

(Katzung, 2004).

- c. Metabolisme

Tujuan metabolisme obat adalah pengubahannya yang sedemikian rupa hingga mudah diekskresi ginjal, dalam hal ini menjadikannya lebih hidrofil. Pada umumnya obat dimetabolisme oleh enzim mikrosom di retikulum endoplasma sel hati. Pada proses metabolisme molekul obat dapat berubah sifat antara lain menjadi lebih polar. Metabolit yang lebih polar ini menjadi tidak larut dalam lemak sehingga mudah diekskresi melalui ginjal. Metabolit obat dapat lebih aktif dari obat asal (bioaktivasi), tidak atau berkurang aktif (detoksifikasi atau bio-inaktivasi) atau sama aktifitasnya. Proses metabolisme ini memegang peranan penting dalam mengakhiri efek obat (Shargel & Yu, 1988).

Hal-hal yang dapat mempengaruhi metabolisme (Katzung, 2004):

- a. Fungsi hati, metabolisme dapat berlangsung lebih cepat atau lebih lambat, sehingga efek obat menjadi lebih lemah atau lebih kuat dari yang kita harapkan.
- b. Usia, pada bayi metabolismenya lebih lambat.
- c. Faktor genetik (turunan), ada orang yang memiliki faktor genetik tertentu yang dapat menimbulkan perbedaan khasiat obat pada pasien.
- d. Adanya pemakaian obat lain secara bersamaan, dapat mempercepat metabolisme (inhibisi enzim).
- d. Ekskresi.

Pengeluaran obat atau metabolitnya dari tubuh terutama dilakukan oleh ginjal melalui air seni, dan dikeluarkan dalam bentuk metabolit maupun bentuk asalnya. disamping ini ada pula beberapa cara lain, yaitu (Katzung, 2004):

- a. Kulit, bersama keringat.

- b. Paru-paru, dengan pernafasan keluar, terutama berperan pada anestesi umum, anestesi gas atau anestesi terbang.
- c. Hati, melalui saluran empedu, terutama obat untuk infeksi saluran empedu.
- d. Air susu ibu, misalnya alkohol, obat tidur, nikotin dari rokok dan alkaloid lain. Harus diperhatikan karena dapat menimbulkan efek farmakologi atau toksis pada bayi.
- e. Usus, misalnya sulfa dan preparat besi.

3. Cara Pemberian Obat

Cara pemberian obat yang berbeda-beda melibatkan proses absorpsi obat yang berbeda-beda pula. Proses absorpsi merupakan dasar yang penting dalam menentukan aktivitas farmakologis obat. Kegagalan atau kehilangan obat selama proses absorpsi akan mempengaruhi efek obat dan menyebabkan kegagalan pengobatan (Novianto, 2010).

Cara pemberian obat yang paling umum dilakukan adalah pemberian obat per oral, karena mudah, aman, dan murah [1]. Pada pemberian secara oral, sebelum obat masuk ke peredaran darah dan didistribusikan ke seluruh tubuh, terlebih dahulu harus mengalami absorpsi pada saluran cerna (Novianto, 2010).

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses absorpsi obat pada saluran cerna antara lain:

a. Bentuk Sediaan

Terutama berpengaruh terhadap kecepatan absorpsi obat, yang secara tidak langsung dapat mempengaruhi intensitas respon biologis obat. Dalam bentuk sediaan yang berbeda, maka proses absorpsi obat memerlukan waktu yang berbeda-beda dan jumlah ketersediaan hayati kemungkinan juga berlainan (Novianto, 2010).

b. Sifat Kimia dan Fisika Obat

Bentuk asam, ester, garam, kompleks atau hidrat dari bahan obat dapat mempengaruhi kekuatan dan proses absorpsi obat. Selain itu bentuk kristal atau polimorfi, kelarutan dalam lemak atau air, dan derajat ionisasi juga mempengaruhi proses absorpsi [2]. Absorpsi lebih mudah terjadi bila obat dalam bentuk non-ion dan mudah larut dalam lemak (Novianto, 2010).

c. Faktor Biologis

Antara lain adalah pH saluran cerna, sekresi cairan lambung, gerakan saluran cerna, waktu pengosongan lambung dan waktu transit dalam usus, serta banyaknya pembuluh darah pada tempat absorpsi (Novianto, 2010).

d. Faktor Lain-lain

Antara lain umur, makanan, adanya interaksi obat dengan senyawa lain dan adanya penyakit tertentu (Novianto, 2010).

4. Pemberian secara peroral

Oral Gavage Gavage digunakan untuk dosis seekor binatang dengan volume tertentu materi langsung ke dalam perut. Hanya khusus, tersedia secara komersial jarum gavage harus digunakan untuk mencoba prosedur ini. Jarum untuk injeksi secara peroral (Oral Gavage) memiliki karakter ujung tumpul (bulat). Hal ini untuk meminimalisir terjadinya luka atau cedera ketika hewan uji akan diberikan sediaan uji. Proses pemberian dilakukan dengan teknik seperti Tempatkan ujung atau bola dari jarum ke mulut binatang. Secara perlahan geser melewati ujung belakang lidah. Pastikan bahwa oral gavage tidak masuk ke dalam tenggorokan karena akan berdampak buruk. Hal ini dapat diketahui bila dari hidung hewan uji keluar cairan seperti yang kita berikan menunjukkan adanya kesalahan dalam proses pemberian (Novianto, 2010).

Kerugian pemberian per oral adalah banyak faktor dapat mempengaruhi



bioavailabilitas obat. Karena ada obat-obat yang tidak semua yang diabsorpsi dari tempat pemberian akan mencapai sirkulasi sistemik. Sebagian akan dimetabolisme oleh enzim di dinding usus dan atau di hati pada lintasan pertamanya melalui organ-organ tersebut (metabolisme atau eliminasi lintas pertama). Eliminasi lintas pertama obat dapat dihindari atau dikurangi dengan cara pemberian parenteral, sublingual, rektal, atau memberikannya bersama makanan. Selain itu, kerugian pemberian melalui oral yang lain adalah ada obat yang dapat mengiritasi saluran cerna, dan perlu kerja sama dengan penderita, dan tidak bisa dilakukan saat pasien koma (Novianto, 2010).

Pemberian obat secara parenteral memiliki beberapa keuntungan, yaitu: (1) efeknya timbul lebih cepat dan teratur dibandingkan dengan pemberian per oral; (2) dapat diberikan pada penderita yang tidak kooperatif, tidak sadar, atau muntah-muntah; dan (3) sangat berguna dalam keadaan darurat. Kerugiannya antara lain dibutuhkan cara aseptis,

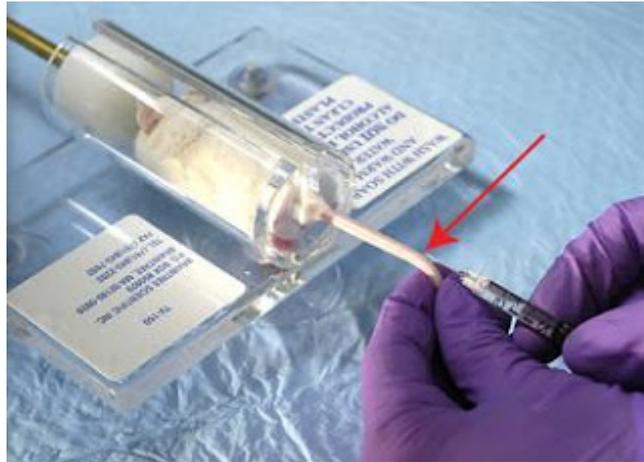
menyebabkan rasa nyeri, sulit dilakukan oleh pasien sendiri, dan kurang ekonomis (Novianto, 2010).

Pemberian intravena (IV) tidak mengalami absorpsi tetapi langsung masuk ke dalam sirkulasi sistemik, sehingga kadar obat dalam darah diperoleh secara cepat, tepat, dan dapat disesuaikan langsung dengan respon penderita. Kerugiannya adalah mudah tercapai efek toksik karena kadar obat yang tinggi segera mencapai darah dan jaringan, dan obat tidak dapat ditarik kembali (Novianto, 2010).

Hangatkan hewan uji di bawah lampu panas atau alat pemanas lainnya, pastikan untuk tidak terlalu panas pada binatang. Suhu tidak boleh melebihi 85-90 ° Fahrenheit pada tingkat binatang. Lepaskan hewan uji dari sumber panas harus segera setiap perubahan dalam tingkat respirasi atau air liur berlebihan dapat diamati. Alat pemanas lainnya, seperti handwarmers sekali pakai, dapat digunakan sebagai pengganti lampu yang panas (Novianto, 2010).

Prep ekor dengan 70% etanol. Memulai usaha suntikan di tengah atau sedikit bagian distal ekor. Dengan ekor ketegangan di bawah, masukkan jarum, bevel up, kira-kira sejajar dengan vena dan masukkan jarum minimal 3 mm ke dalam pembuluh darah. Dalam proses penyuntikan jangan sekali-kali memasukkan udara karena akan menyebabkan vena rusak atau tidak stabil. Menyuntikkan materi yang lambat, gerakan fluida. Anda harus dapat melihat vena jarum pucat jika diposisikan dengan benar (Novianto, 2010).

Jika ada pembengkakan di tempat suntikan atau injeksi terjadi perlawanan, keluarkan jarum dan Masukkan kembali itu sedikit di atas awal injeksi. Pemberian secara injeksi intravena menghasilkan efek yang tercepat, karena obat langsung masuk ke dalam sirkulasi. Efek lebih lambat diperoleh dengan injeksi intramuskular, dan lebih lambat lagi dengan injeksi subkutan karena obat harus melintasi banyak membran sel sebelum tiba dalam peredaran darah (Novianto, 2010).



C. Alat dan bahan

Alat:

- Spektrofotometer
- Sonde oral
- Gunting
- Sentrifuga
- Mikropipet
- *Blue tip*
- *Yellow tip*
- Gelas kimia

Bahan:

- Parasetamol
- CMC-Na 0,5%
- Propilenglikol 0,2%
- Sirupus simpleks
- Aquadest
- Etanol
- Serum
- Metanol
- Asam asetat

Hewan Uji

Tikus jantan putih

D. Prosedur

a. Pembuatan sediaan suspensi parasetamol

- Sediaan suspensi parasetamol 50 mg/mL dibuat yang mengandung CMC-Na 0,5%, propilenglikol 0,2% dan sirupus simpleks hingga 60 mL.

b. Pembuatan kurva baku parasetamol

- Parasetamol 7,5% ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur.
- Ditambahkan NaOH 25 mL dan aquadest 50 mL, kemudian dikocok 15 menit.
- Ditambahkan aquadest hingga 100 mL.
- Masing-masing dipipet dengan konsentrasi konsentrasi 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL.
- NaOH 10 ml ditambahkan, kemudiaan ditambahkan aquadest hingga 10 mL.

c. Pemberian obat pada tikus

- Obat parasetamol diberikan pada tikus setelah dipuasakan \pm 5 jam, obat diberikan secara oral

d. Pengambilan darah

- Sampel darah diambil dari bagian ekor tikus setelah pemberian obat sebanyak 0,5 ml pada menit ke- 15; 30; 60. 90; 120.
- Darah yang didapat disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit.
- Supernatan dipipet sebanyak 0,5 mL, kemudian diencerkan dengan campuran metanol : asam aseat 1% (80:20). Disentrifugasi kembali pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit.
- Supernatan dipipet sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan NaOH 0,5 mL.
- Kadar parasetamol dianalisis dengan spektrofotometer uv-vis.
- Perhitungan menentukan kadar parasetamol.

e. Tentukan persamaan dan parameter farmakokinetiknya

E. Daftar pustaka

- Aiache, J.M.1993.*Biofarmasi Edisi Kedua. Penerbit Universitas Airlangga* : Surabaya.
- Alexander DJ & Senne DA.2008. *Disease of Poultry,20th Ed.*Blackwell Publishing : United Kingdom.

- Anonim. 1979. *Farmakope III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta.
- Ansel, Howard. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Keempat*. Penerbit Universitas Indonesia : Jakarta.
- Munson, James. 1991. *Analisis Farmasi Metode Modern*. Penerbit Universitas Airlangga : Surabaya.
- Darsono, Lusiana. 2002. “Diagnosis dan Terapi Intoksikasi Salisilat dan Parasetamol” *Jurnal Kimia* Vol. 2, No. 1.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Katzung, B.G. (2004). *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 3 Edisi 8*. Penerjemah dan editor: Bagian Farmakologi FK UNAIR. Penerbit Salemba Medika, Surabaya.
- Novianto, Agiel. (2010). *Cara Pemberian vs Profil Farmakokinetika Obat*.<http://agiellnovianto.blogspot.com/2010/02/pengaruh-cara-pemberian-versus-absorpsi.html>
- Diunduh pada tanggal 4 Januari 2014
- Sartono.(1996). *Obat-obat Bebas Dan Bebas Terbatas*.Penerbit PT.Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Shargel L and ABC Yu.1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan, edisi kedua*.Airlangga University Press. Surabaya.
- Tjay, dan Rahardja.(1978). *Obat-obat Penting edisi IV*.Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

PERCOBAAN 6

PENGARUH RUTE PEMBERIAN TERHADAP FARMAKOKINETIKA SULFAMETOKSAZOL

A. Tujuan Praktikum

1. Mahasiswa dapat memahami mengenai farmakokinetik obat dengan berbagai rute pemberian yang berbeda
2. Memahami perbedaan farmakokinetik dari sediaan per oral dibandingkan dengan larutan injeksi intravena menggunakan data kadar dalam darah.

B. Pendahuluan

1. Farmakokinetik

a. Absorpsi

Proses absorpsi menentukan efek obat. Obat-obat yang tidak diabsorpsi tidak dapat memberikan efek. Proses absorpsi dapat terjadi di semua tempat pemberian obat, misalnya melalui alat cerna, otot rangka, paru-paru, kulit dan sebagainya (Shargel & Yu, 1988).

Absorpsi dipengaruhi oleh beberapa faktor:

- 1) Kelarutan obat.
- 2) Kemampuan difusi melintasi sel membrane
- 3) Konsentrasi obat.
- 4) Sirkulasi pada letak absorpsi.
- 5) Luas permukaan kontak obat.
- 6) Bentuk sediaan obat
- 7) Cara pemakaian obat. (Katzung, 2004).

b. Distribusi.

Obat yang diabsorpsi akan menuju sirkulasi darah ke seluruh tubuh melewati membran sel agar tercapai pada tempat aksi obat. Molekul obat yang mudah melintasi membran sel akan mencapai tubuh baik intra maupun ekstra sel, sedangkan obat yang sulit menembus membran sel maka penyebarannya umumnya terbatas pada cairan ekstra sel (Shargel & Yu, 1988).

Selain itu ada beberapa tempat lain misalnya tulang, organ tertentu, dan cairan transel yang dapat berfungsi sebagai gudang untuk beberapa obat tertentu. Distribusi obat ke susunan saraf pusat dan janin harus menembus sawar khusus yaitu sawar darah otak dan sawar uri. Obat yang mudah larut dalam lemak pada umumnya mudah menembusnya (Shargel & Yu, 1988).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses distribusi, yaitu :

- 1) Perfusi darah melalui jaringan
- 2) Kadar gradien, pH dan ikatan zat dengan makro molekul
- 3) Partisi ke dalam lemak
- 4) Transport aktif
- 5) Sawar, seperti sawar darah otak dan sawar plasenta, sawar darah cairan cerebrospinal
- 6) Ikatan obat dan protein plasma.(Katzung, Masters and Trevor, 2012)

c. Metabolisme

Tujuan metabolisme obat adalah mengubah obat sehingga mudah diekskresi ginjal. Pada umumnya obat dimetabolisme oleh enzim mikrosom di retikulum endoplasma sel hati. Pada proses metabolisme molekul obat dapat berubah sifat antara lain menjadi lebih polar. Metabolit yang lebih polar ini menjadi tidak larut dalam lemak sehingga mudah diekskresi melalui ginjal. Metabolit obat dapat lebih aktif dari obat asal (bioaktivasi), tidak atau berkurang aktif (detoksifikasi atau bio-inaktivasi) atau sama aktifitasnya. Proses metabolisme ini memegang peranan penting dalam mengakhiri efek obat (Shargel & Yu, 1988).

Hal-hal yang dapat mempengaruhi metabolisme (Katzung, 2004):

- 1) Fungsi hati, metabolisme dapat berlangsung lebih cepat atau lebih lambat, sehingga efek obat menjadi lebih lemah atau lebih kuat dari yang kita harapkan.
- 2) Usia, pada bayi metabolismenya lebih lambat.
- 3) Faktor genetik (turunan), ada orang yang memiliki faktor genetik tertentu yang dapat menimbulkan perbedaan khasiat obat pada pasien.
- 4) Adanya pemakaian obat lain secara bersamaan, dapat mempercepat metabolisme (inhibisi enzim).

d. Ekskresi.

Pengeluaran obat atau metabolitnya dari tubuh terutama dilakukan oleh ginjal melalui air seni, dan dikeluarkan dalam bentuk metabolit maupun bentuk asalnya. disamping ini ada pula beberapa cara lain, yaitu (Katzung, 2004):

- 1) Kulit, bersama keringat.
- 2) Paru-paru, dengan pernafasan keluar, terutama berperan pada anestesi umum, anestesi gas atau anestesi terbang.
- 3) Hati, melalui saluran empedu, terutama obat untuk infeksi saluran empedu.

- 4) Air susu ibu, misalnya alkohol, obat tidur, nikotin dari rokok dan alkaloid lain. Harus diperhatikan karena dapat menimbulkan efek farmakologi atau toksis pada bayi.
- 5) Usus, misalnya sulfa dan preparat besi.

2. Rute Pemberian

Rute pemberian mempengaruhi penyerapan obat. Rute pemberian terbagi atas rute enteral dan rute parenteral. Rute enteral yang mencakup penggunaan secara oral dan rektal. Rute parenteral penggunaan melalui sublingual, injeksi, topikal, pulmonar dan intraosseous. Rute injeksi dibagi lagi berdasarkan tempat pemberian yaitu intravena, intramuscular, dan intrasubkutan.

a. Pemberian Oral

Pemberian secara oral lebih sering dipilih subjek dibanding rute pemberian lainnya. Rute oral juga dikatakan lebih aman karena lebih mudah untuk mengembalikan efek obat dibanding rute pemberian secara intravena. Obat yang melalui rute oral juga akan mencapai sirkulasi sistemik sehingga menghasilkan efek sistemik. Kerugian dari rute pemberian oral yaitu onset aksi obat yang lambat karena obat harus diserap kedalam tubuh terlebih dahulu baru menuju tempat aksi obat.

Proses yang terjadi untuk obat dapat mencapai sistemik dimulai dengan pelepasan obat dari bentuk sediaan obat, dilanjutkan dengan terlarutnya obat di saluran pencernaan yang disebut disolusi obat, selanjutnya obat akan berdifusi menuju darah melalui difusi sederhana. Proses seperti yang ditunjukkan pada skema dibawah ini.

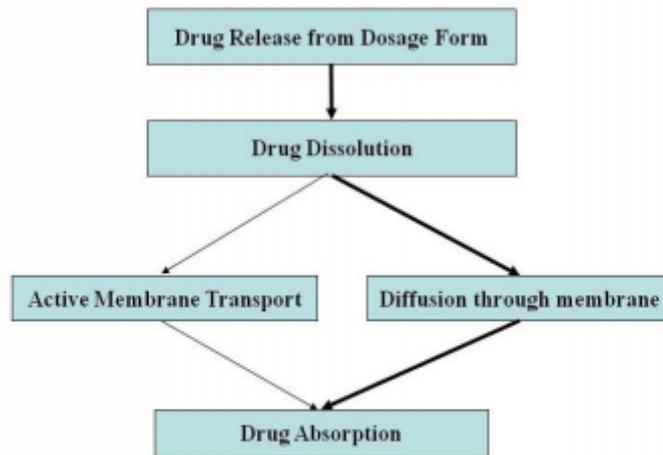


Figure 1.3 Processes to get drug delivery from gut (Copyright QUT, Sheila Doggrell)

Obat yang diberikan secara oral tidak dapat menghindari metabolisme oleh organ hati yang dikenal sebagai First Pass Metabolism.

b. Pemberian injeksi Intravena

Pemberian obat rute intravena dilakukan pada larutan obat melalui sebuah jarum langsung pada pembuluh darah vena. Rute ini menghasilkan efek obat yang lebih cepat karena tanpa ada proses absorpsi menuju sistemik sehingga bioavailabilitas obat 100%. Injeksi intravena menyebabkan puncak maksimum konsentrasi langsung terjadi namun setelah itu diikuti dengan penurunan konsentrasi obat secara cepat mendekati batas konsentrasi efektif minimum obat. Untuk menghasilkan efek terapi yang lama maka digunakan rute pemberian infus intravena sehingga kadar obat dalam darah menjadi konstan (Montoto, 2018)

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Kuvet

Peralatan gelas

Pipet ukur

Sentrifus

Spektrofotometer Uv-Vis

Disposable syringe 1cc

vortex

2. Bahan
 - Sulfametoksazol
 - Mikrotube 1,5 mL
 - trichloroacetic acid 15%
 - Natrium nitrit 0,1%
 - Amonium Sulfamat 0,5%
 - N (naftil) etilen diamin dihidroklorida 0,1%
 - Heparin
 - Xylol
 - Ethanol 70%
 - Aquades
3. Hewan coba Tikus

D. Prosedur Kerja

1. Pembuatan larutan baku kerja sulfametoksazol

Buatlah larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$ dari 100 mg sulfametoksazol dilarutkan dalam 5 mL NaOH 0,1 N dan 25 mL H_2SO_4 4N (1:5) kemudian ditambahkan air suling hingga 100 mL. kemudian dari larutan induk dibuat larutan seri konsentrasi sulfametoksazol yaitu 10, 20, 30, 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$.
2. Penentuan panjang gelombang maksimum.
 - a. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan menggunakan larutan baku kerja 10 dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Reaksikan larutan baku kerja 10 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ Diambil 500 μl larutan baku lalu ditambahkan 7,5 mL aquades. Dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 15 menit. lalu ditambahkan TCA sebanyak 2 mL, divorteks dan disentrifugasi pada kecepatan 300 rpm selama 10 menit, jika belum jernih di sentrifugasi lagi selama 10 menit. Diambil 5 mL supernatant kemudian ditambahkan 0,5 mL NaNO_2 kemudian divorteks dan didiamkan selama 3 menit. Ditambahkan 0,5 mL ammonium sulfat dan direaksikan (vortex) selama 2 menit. setelah itu ditambahkan 2,5 mL Naftil etilen diamin dihidroklorida, divorteks dan di amkan selama 10 menit. Di amati nilai absorban pada panjang gelombang antara 520 – 560 nm. Dibuat kurva dan ditentukan panjang gelombang maksimum.
3. Penetapan Kurva baku Sulfametoksazol

Diambil 500 μl larutan baku lalu ditambahkan 7,5 mL aquades. Dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 15 menit. lalu ditambahkan TCA sebanyak 2 mL,

divorteks dan disentrifugasi pada kecepatan 300 rpm selama 10 menit, jika belum jernih di sentrifugasi lagi selama 10 menit. Diambil 5 mL supernatant kemudian ditambahkan 0,5 mL NaNO₂ kemudian divorteks dan didiamkan selama 3 menit. Ditambahkan 0,5 mL ammonium sulfat dan direaksikan (vortex) selama 2 menit. setelah itu ditambahkan 2,5 mL Naftil etilen diamin dihidroklorida, divorteks dan diamkan selama 10 menit. Diamati pada panjang gelombang maksimum lalu dibuat kurva regresi linier.

4. Penetapan kadar obat dalam darah
 - b. Hewan coba dipuasakan terlebih dahulu minimal selama 5 jam
 - c. Dihitung dosis dan volume pemberian injeksi Sulfametoksazol maupun oral Sulfametoksazol untuk dosis penggunaan pada hewan coba
 - d. Disiapkan alat dan sediaan Sulfametoksazol yang akan digunakan
 - e. Diinjeksikan sediaan injeksi Sulfametoksazol pada hewan coba 1 secara intera vena dan di berikan secara oral pada hewan coba 2
 - f. Di ambil darah melalui ekor tikus pada menit ke 0; 5; 10; 15; 20; 30; 45; 60; 90 dan 120 menit untuk pemberian secara intravena dan secara oral pada menit ke 0; 10; 20; 30; 45; 60; 90 dan 120 menit
 - g. Diambil 500 µl sampel darah lalu ditambahkan 7,5 mL aquades. Dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 15 menit. lalu ditambahkan TCA sebanyak 2 mL, divorteks dan disentrifugasi pada kecepatan 300 rpm selama 10 menit, jika belum jernih di sentrifugasi lagi selama 10 menit.
 - h. Diambil 5 mL supernatant kemudian ditambahkan 0,5 mL NaNO₂ kemudian divorteks dan didiamkan selama 3 menit.
 - i. Ditambahkan 0,5 mL ammonium sulfat dan direaksikan (vortex) selama 2 menit. setelah itu ditambahkan 2,5 mL Naftil etilen diamin dihidroklorida , divorteks dan diamkan selama 10 menit. Diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah ditentukan
 - j. hitung kadar Sulfametoksazol setiap waktu dan dicatat
 - k. Hitung AUC dari masing-masing rute pemberian

E. Daftar Pustaka

Katzung, B. G., Masters, S. B. and Trevor, A. J. (2012) *Basic & clinical pharmacology*. New York; London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill [distributor].

Montoto, S. S. (2018) *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences, ADME Processes in Pharmaceutical Sciences*. doi: 10.1007/978-3-319-99593-9.

Shargel, L., Wu-Pong, S. and Yu, A. (2004) *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Fifth Edition*. McGraw-Hill Education (McGraw Hill professional). Available at: <https://books.google.co.id/books?id=K2u1E5MaoCUC>.

Doggrell, sheila a., 2017. Introduction to pharmacology, and routes of drug administration and absorption.

PERCOBAAN 7

LAMA WAKTU PENGOSONGAN LAMBUNG TERHADAP BIOAVAILABILITAS OBAT PARASETAMOL

A. Tujuan

Mahasiswa dapat memahami mengenai bioavailabilitas obat parasetamol

Mempelajari pengaruh perubahan fisiologis terhadap bioavailabilitas obat paracetamol

B. Pendahuluan

1. Absorpsi

Absorpsi adalah proses perpindahan obat dalam bentuk tidak termetabolisme dari tempat pemberian menuju sirkulasi sistemik. Mekanisme penyerapan obat menuju sirkulasi sistemik yaitu melalui difusi pasif, difusi terfasilitasi, difusi aktif dan nonspecific drug transporters. Bioavailabilitas obat dikenal sebagai laju dan tingkat penyerapan dari obat tersebut. Pemahaman yang lebih baik mengenai penyerapan obat serta faktor-faktor yang mempengaruhi penyerapan obat menjadi faktor penting pada bioavailabilitas dan efek dari obat. Penyerapan obat menuju sirkulasi sistemik tergantung pada Sifat fisika kimia dari obat, Sifat produk obat, Anatomi dan fisiologi tempat penyerapan.

Penyerapan obat menuju sirkulasi sistemik tergantung pada :

- 1) Kelarutan obat.
- 2) Kemampuan difusi melintasi sel membrane
- 3) Konsentrasi obat.
- 4) Sirkulasi pada letak absorpsi.
- 5) Luas permukaan kontak obat.
- 6) Bentuk sediaan obat
- 7) Cara pemakaian obat. (Katzung, 2004).

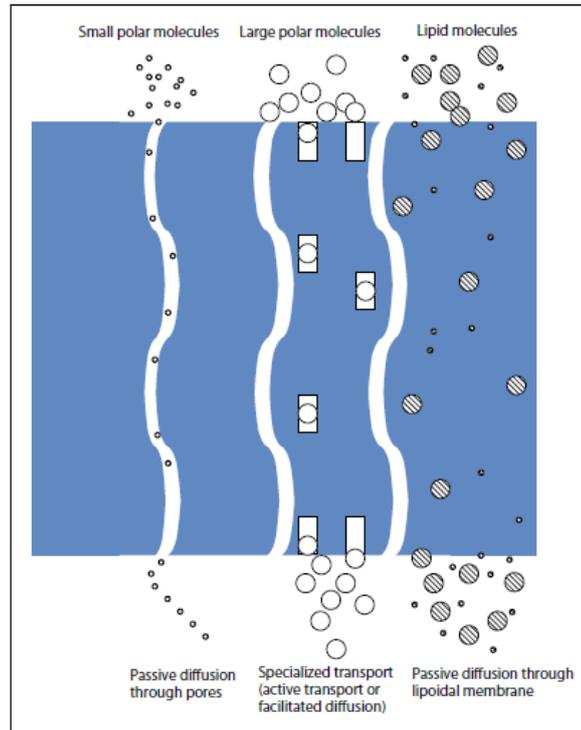


Figure 5.4 Drug absorption across the gastrointestinal membrane.

Pemberian obat secara oral melewati saluran enteral termasuk rongga mulut, esophagus, dan berbagai saluran pencernaan lainnya. Total masa tinggal meliputi waktu pengosongan lambung, waktu singah di usus kecil dan di kolon berkisar antara 0,4-5 hari. Tempat terpenting untuk absorbs obat yaitu usus kecil yang mana masa transit pada tempat berkisar 3-4 jam pada subjek sehat.

2. Waktu Pengosongan Lambung

Obat yang melalui system penghantaran oral maka akan langsung mencapai lambung. Selanjutnya lambung akan mengosongkan isinya menuju usus sebagai tempat penyerapan terbesar. Penundaan waktu pengosongan obat untuk mencapai duodenum akan memperlambat laju dan merperlambat absorpsi obat sehingga memperlama waktu onset obat. faktor-faktor yang merperlambat waktu pengosongan lambung termasuk mengkonsumsi makanan tinggi lemak, makanan minuman dingin dan obat-obat antikolenerjik (Shargel, Wu-Pong and Yu, 2004)

3. parasetamol

Paracetamol adalah senyawa dengan mass molekul yang rendah. Senyawa ini bersifat asam lemah dan pada umumnya tidak terionisasi pada pH fisiologis. Koefisien partisi paracetamol pada pelarut oktanol dan air adalah 3,2 sehingga mudah terdifusi secara pasif melewati membrane (Graham *et al.*, 2013).

Paracetamol adalah senyawa fenol dan seperti senyawa fenol, paracetamol mudah mengalami oksidasi. Sifat mudah teroksidasi ini yang diduga menjadi mekanisme aksi dari paracetamol terhadap fungsi peroksidase COX-1 dan COX-2 (Graham *et al.*, 2013)

Farmakokinetik paracetamol telah diketahui secara pasti pada manusia dan hewan. Obat ini telah banyak digunakan untuk sebagai obat model untuk mempelajari mekanisme farmakokinetik obat yang melibatkan waktu pengosongan lambung. Hal ini karena obat ini sedikit diabsorpsi pada lambung dan diabsorpsi sempurna pada usus kecil (Srinivas, 2015). Paracetamol cepat diabsorpsi dan mencapai puncak konsentrasi plasma sekitar 0,5-1,5 jam (t_{max}) setelah mengkonsumsi tablet dalam kondisi perut kosong. Setelah pemberian dosis tunggal bioavailabilitas paracetamol adalah 0,63 atau 0,89 tergantung dosis yang digunakan 500 mg atau 1 g. Paracetamol menunjukkan kinetika reaksi orde 1 pada penggunaan hingga dosis 18 mg/Kg (1 g). Kinetika paracetamol tidak tergantung pada dosis dan konstan selama penggunaan berulang dengan waktu eliminasi ($t_{1/2}$) sekitar 2-2,5 jam (Bannwarth and Péhourcq, 2003)

C. Alat dan bahan

1. Alat
 - a. Peralatan Gelas Laboratorium
 - b. Timbangan Analitik
 - c. Spektrofotometer UV
 - d. Sentrifugasi
 - e. Tabung hematocrit
 - f. Mikrotube
 - g. Vortex mixer
 - h. Oven
2. Bahan
 - a. Etil Asetat
 - b. Methanol
 - c. Paracetamol murni
 - d. Aquades
 - e. Obat atropine sulphate
 - f. CMC 0,1%
 - g. *Tricloroasetat acid* (TCA) 5%

D. Prosedur kerja

1. Penentuan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan larutan baku parasetamol dengan kadar 60 ppm dan diukur resapannya pada panjang gelombang 200 nm sampai 300 nm.
2. Dibuat kurva baku paracetamol dengan menimbang baku pembanding parasetamol sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol 15 mL dalam gelas beaker, larutan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL kemudian ditambahkan akuades hingga 100 mL dan diperoleh larutan induk baku parasetamol dengan kadar 10 mg/100 mL atau setara dengan 100 ppm. Dari larutan induk tersebut dibuat variasi konsentrasi sebesar 7, 14, 20, 40, 60 dan 100 ppm. Setelah didapat absorbansi dibuat kurva regresi linier dan dihitung persamaan regresi linier.
3. 2 kelompok tikus jantan dipuasakan selama 18 jam. Kelompok pertama diberi akuades dan kelompok ke dua diberi obat suspense antasida . kemudian diberi larutan parasetamol dosis tunggal 12,5 mg/200gBB secara oral (konversi dari dosis parasetamol dewasa dengan tabel konversi perhitungan dosis antar jenis hewan, Laurence dan Bacharach). Cuplikan darah diambil pada menit ke-3, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 180, 240, 300 dan 360 melalui vena retroorbita. Cuplikan sampel darah tiap waktu dilakukan penetapan kadarnya.
4. Penetapan kadar dalam darah menggunakan metode Rusdiana *et al.*
Darah sebanyak 0,5 mL yang ditampung di dalam tabung berisi EDTA yang telah didapatkan pada tiap waktu pengambilan, ditambahkan 1 mL TCA 5%, disentrifugasi selama 5 menit kecepatan 2500 rpm, diambil bening atau plasmanya. Plasma ditambahkan dengan 2 mL etil asetat kemudian divortex, bagian beningannya diambil, diuapkan etil asetatnya sampai diperoleh residu parasetamol. Residu dilarutkan kembali dengan 2 mL metanol, diukur absorbansi larutan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang tertentu. Dari data absorbansi, dihitung kadar parasetamol pada tiap cuplikan waktu menggunakan persamaan regresi linear kurva baku parasetamol
5. Dihitung profil farmakokinetiknya.

E. Daftar pustaka

Bannwarth, B. and P??hourcq, F. (2003) 'Pharmacological Rationale for the Clinical Use of Paracetamol', *Drugs*, 63(Special Issue 2), pp. 5–13. doi: 10.2165/00003495-200363992-00003.

Graham, G. G. *et al.* (2013) ‘The modern pharmacology of paracetamol: Therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings’, *Inflammopharmacology*, 21(3), pp. 201–232. doi: 10.1007/s10787-013-0172-x.

Katzung, B. G., Masters, S. B. and Trevor, A. J. (2012) *Basic & clinical pharmacology*. New York; London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill [distributor].

Montoto, S. S. (2018) *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences, ADME Processes in Pharmaceutical Sciences*. doi: 10.1007/978-3-319-99593-9.

Shargel, L., Wu-Pong, S. and Yu, A. (2004) *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Fifth Edition*. McGraw-Hill Education (McGraw Hill professional). Available at: <https://books.google.co.id/books?id=K2u1E5MaoCUC>.

Srinivas, N. R. (2015) ‘Acetaminophen absorption kinetics in altered gastric emptying: Establishing a relevant pharmacokinetic surrogate using published data’, *Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy*, 29(2), pp. 115–119. doi: 10.3109/15360288.2015.1035834.

PERCOBAAN 8

PENENTUAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA ASETOSAL MENGUNAKAN DATA URIN MANUSIA

A. Tujuan

1. Menggunakan data ekskresi obat dalam urin untuk menentukan parameter farmakokinetika obat tersebut
2. Menghitung parameter farmakokinetika berdasarkan data ekskresi obat dalam urin

B. Pendahuluan

Obat dapat diekskresikan dalam bentuk utuh atau berupa metabolit aktif melalui urin. Oleh sebab itu kadar darah dalam urin dapat digunakan untuk menentukan dan menghitung parameter farmakokinetik. Laju ekskresi obat melalui urin sebanding dengan data penurunan kadar obat dalam plasma setiap waktu.

C. Alat, Bahan dan subyek

1. Asam asetil salisilat (asetosal/aspirin)
2. Natrium salisilat p.a
3. Ferri nitrat p.a
4. Asam klorida p.a
5. Air suling
2. Spektrofotometer
3. Sentrifuga
4. Vortex mixture
5. Labu ukur
6. Pipet volume
7. Gelas ukur, vial, gelas beker
8. Manusia sehat, pria, dewasa, tidak memiliki gangguan pencernaan, tidak merokok, bersedia
9. mengikuti protokol percobaan yang telah ditetapkan dengan menandatangani formulir pernyataan persetujuan (informed consent).

D. Prosedur Kerja

Seminggu sebelum dan selama percobaan, subyek coba tidak diperbolehkan minum obat lain kecuali obat yang digunakan dalam percobaan. Semalam sebelum percobaan dilakukan subyek diminta untuk berpuasa. Satu jam sebelum percobaan subyek coba diberi minum sebanyak 400 mL air dan segera mengosongkan kandung kemih sebelum minum obat yang diuji. Urin sebelum minum obat tersebut ditampung dan digunakan sebagai blanko. Obat yang diuji adalah 500 mg asetosal diminum dengan 200 mL air. Setelah minum obat, subyek coba diberi minum air sebanyak 200 mL setiap jam secara berturut-turut selama 4 jam. Cuplikan urin ditampung pada interval waktu tertentu hingga semua obat diekskresikan ($\pm 7 \times t$). Pada setiap penampungan urin, catat dengan tepat waktu dan volume urin. Tiap sampel urin disimpan dalam wadah masing-masing. Data harus dipastikan tepat dan benar agar hasil yang diperoleh dapat menunjukkan kondisi sebenarnya. Jika urin tidak segera dianalisis maka sampel urin diberi toluene 0,5 . 1 mL untuk setiap 20 . 50 ml urin dan simpan pada suhu 2 . 8.C selama 48 jam hingga analisis dilakukan.

Penetapan kadar salisilat dalam urin dengan larutan Ferri nitrat dalam HCl

1. 1 mL sampel urin ditambahkan 5 mL pereaksi Ferri nitrat
2. vortex hingga homogen, kemudian disentrifuga 2500 rpm selama 5 menit
3. filtrat dipisahkan dan diamati pada panjang gelombang maksimum
4. sebagai blanko digunakan 1 mL urin blanko ditambah 5 mL pereaksi Ferri nitrat

Tahapan percobaan

1. Pembuatan pereaksi Ferri nitrat
Ferri nitrat sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 500 mL larutan HCl 0,1 N.
2. Pembuatan larutan baku kerja salisilat
 - a. Buatlah larutan baku induk dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dari 116 mg natrium salisilat dilarutkan dalam 100 mL air suling.
 - b. Buatlah larutan baku kerja salisilat dengan cara mengencerkan larutan baku induk dengan air suling sampai diperoleh konsentrasi 20; 50; 100; 150; 200 dan 300 $\mu\text{g/mL}$
3. Penentuan panjang gelombang maksimum
 - a. Panjang gelombang maksimum ditentukan menggunakan larutan baku kerja 100 dan 200 $\mu\text{g/mL}$
 - b. Reaksikan larutan baku kerja 100 dan 200 $\mu\text{g/mL}$ sesuai dengan prosedur penetapan kadar salisilat dan amati nilai absorban pada panjang gelombang antara 510 - 560 nm.
 - c. Buat kurva perbandingan absorban terhadap panjang gelombang dari larutan baku kerja 100 dan 200 $\mu\text{g/mL}$ pada kertas grafik berskala sama.
 - d. Tentukan λ_{maks}
4. Pembuatan kurva baku
 - a. Lakukan pengamatan absorban dari larutan baku kerja pada beberapa konsentrasi yang telah dibuat pada poin 2 yang telah direaksikan seperti pada metode penetapan kadar salisilat dalam urin dengan metode Ferri nitrat pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dari poin 3. Sebagai blanko digunakan 1 mL air suling ditambah 5 mL pereaksi ferri nitrat.
 - b. Buat tabel hasil pengamatan dan kurva perbandingan kadar larutan baku kerja terhadap absorban pada kertas grafik berskala sama.
 - c. Hitung koefisien korelasi dan buat persamaan garisnya.
5. Penetapan kembali kadar salisilat yang ditambahkan dalam urin (recovery)
 - a. Buat larutan baku induk 1000 $\mu\text{g/mL}$ dari 116 mg natrium salisilat dilarutkan dalam 100 mL urin blanko.
 - b. Buat larutan baku kerja salisilat dengan cara mengencerkan larutan baku induk dengan urin blanko sampai diperoleh larutan dengan kadar 20; 50; 100; 150; 200 dan 300 $\mu\text{g/mL}$.
 - c. Lakukan pengamatan Absorban dari larutan baku kerja dengan beberapa konsentrasi tadi setelah direaksikan seperti pada metode penetapan kadar salisilat dalam urin dengan metode Ferri nitrat, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya. Sebagai blanko adalah 1 mL urin blanko ditambah 5 mL pereaksi Ferri nitrat.
 - d. Tabelkan hasil pengamatan dan buat kurva perbandingan kadar larutan baku kerja terhadap absorban pada kertas grafik berskala sama. Hitung persen recovery dengan cara: Memasukkan nilai absorban larutan baku recovery pada persamaan kurva baku sehingga diperoleh harga kadar salisilat yang diperoleh kembali. Hitung persen recovery dengan membagi perolehan kembali salisilat dalam urin dengan kadar sebenarnya, kemudian dikalikan 100%
 $\% \text{ recovery} = \frac{\text{Kadar diperoleh kembali}}{\text{Kadar sebenarnya}} \times 100\%$
6. Pengumpulan sampel urin
 - a. Buat jadwal penampungan sampel urin (dengan mempertimbangkan waktu paro eliminasi salisilat yang diperoleh dari pustaka) selama $\pm 7 \times t$..
 - b. Lakukan penampungan urin, catat secara tepat volume dan waktu penampungannya.

7. Penetapan kadar salisilat dalam urin

- a. Tetapkan kadar salisilat dalam sampel urin menggunakan metode Ferri nitrat dan amati absorbannya pada panjang gelombang maksimum.
- b. Masukkan data absorban ke persamaan garis recovery untuk mendapatkan data kadar salisilat dalam urin dari setiap waktu pengambilan.

E. Daftar Pustaka

Katzung, B. G., Masters, S. B. and Trevor, A. J. (2012) *Basic & clinical pharmacology*. New York; London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill [distributor].

Montoto, S. S. (2018) *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences, ADME Processes in Pharmaceutical Sciences*. doi: 10.1007/978-3-319-99593-9.

Shargel, L., Wu-Pong, S. and Yu, A. (2004) *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Fifth Edition*. McGraw-Hill Education (McGraw Hill professional). Available at: <https://books.google.co.id/books?id=K2u1E5MaoCUC>.

Doggrell, sheila a., 2017. Introduction to pharmacology, and routes of drug administration and absorption.

PERCOBAAN 9

PROFIL FARMAKOKINETIKA SULFAMETOKSAZOL PADA KONDISI GAGAL GINJAL

A. Tujuan

Mempelajari profil farmakokinetika obat pada kondisi gagal ginjal dengan menggunakan hewan percobaan yang mengalami gagal ginjal akut.

B. Pendahuluan

Ginjal merupakan salah satu organ vital tubuh yang berperan dalam proses eliminasi (metabolisme dan ekskresi) suatu obat. Jika terjadi gangguan fungsi ginjal maka akan mengakibatkan perubahan pada farmakokinetika obat tersebut karena perubahan kadar obat dalam darah. Fase farmakokinetika merupakan salah satu unsur penting yang menentukan profil keberadaan zat aktif pada tingkat biofase dan selanjutnya menentukan aktifitas terapeutik obat. Oleh karena itu, perubahan pada fase ini akan mengubah potensi obat atau bahkan dapat menimbulkan efek toksik. Gagal ginjal diklasifikasikan menjadi 2 yaitu kronik dan akut. Gagal ginjal kronik merupakan perkembangan yang progresif dan lambat. Berlangsung beberapa tahun. Gagal ginjal akut berkembang dalam beberapa hari atau beberapa minggu. Gagal ginjal akut merupakan sindrom klinik akibat kerusakan metabolik atau patologik pada ginjal yang ditandai dengan penurunan fungsi yang nyata dan kuat.

Tabel 1. Perhitungan parameter farmakokinetika obat model satu kompartemen terbuka

Kinetika	Parameter	Perhitungan		Satuan
		Intravena	Oral	
Absorpsi	k_a	-	Residual	menit^{-1} ($\text{mg} \times \text{ml}^{-1}$) menit
	$AUC^{0 \rightarrow \infty}$	Trapezoidal	Trapezoidal	
	F	-	$\frac{AUC_{p.o.}}{AUC_{i.v.}}$	-
Distribusi	V_d	D	D x F	ml
		----- C_{p0}	----- C_{p0}	
Eliminasi	CL_T	D	D x F	$\text{ml} \times \text{menit}^{-1}$
		----- $AUC_{0 \rightarrow \infty}$	----- $AUC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Ke_1	Residual	Residual	menit^{-1}
	$t_{1/2}$	0,693	0,693	menit
		----- K_{el}	----- K_{el}	

Tabel 2. Perhitungan parameter farmakokinetika obat model dua kompartemen terbuka

Kinetika	Parameter	Perhitungan			Satuan
		Intravena		Oral	
Absorpsi	k_a	-		Residual	menit ⁻¹
	$AUC^{0 \rightarrow \infty}$	$\frac{B}{\beta} + \frac{A}{\alpha}$	$\frac{M}{\beta} + \frac{L}{\alpha} - \frac{N}{k_a}$		(mg x ml ⁻¹) menit
	f_a	-		$\frac{AUC_{p.o.}}{AUC_{i.v.}}$	-
Distribusi	α	Residual		Residual	menit ⁻¹
	k_{21}	$\frac{A \times \beta + B \times \alpha}{A + B}$	$\frac{L \times \beta + M \times \alpha}{L + M}$		menit ⁻¹
	k_{12}	$\alpha + \beta - k_{21} - K_{el}$	$\alpha + \beta - k_{21} - K_{el}$		menit ⁻¹
	V_c	$\frac{D}{A + B}$	$\frac{D \times F}{M + L}$		ml
	V_{dss}	$\frac{k_{12} + k_{21}}{k_{21}} \times V_c$	$\frac{k_{12} + k_{21}}{k_{21}} \times V_c$		ml
Eliminasi	CL_T	$\frac{D}{AUC^{0 \rightarrow \infty}}$	$\frac{D \times F}{AUC^{0 \rightarrow \infty}}$		ml x menit ⁻¹
	β	Residual		Residual	menit ⁻¹
	$t_{1/2\beta}$	$\frac{0,693}{\beta}$	$\frac{0,693}{\beta}$		menit
	K_{el}	$\frac{\alpha \times \beta}{k_{21}}$	$\frac{\alpha \times \beta}{k_{21}}$		menit ⁻¹

C. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Spektrofotometer
- b. Sentrifuge
- c. Vortex
- d. Neraca Analitik
- e. Polytube

- f. Stopwatch
- g. Alat-alat gelas
- 2. Bahan
 - a. Sulfametoksazol
 - b. TCA
 - c. NaNO₂
 - d. Ammonium Sulfamat
 - e. N (1-naftil) etilendiamin
 - f. Uranil Nitrat

D. Prosedur Kerja

1. Pembuatan Larutan Induk Baku

Sulfametoksazol ditimbang seksama 1000 mg, dilarutkan dalam sedikit NaOH 10% dan diencerkan dengan aquades sampai 100 ml. (10000 ppm).
2. Pembuatan Kurva Kalibrasi Untuk Penetapan Kadar Sulfametoksazol
 - a. Penentuan kurva absorpsi Sulfametoksazol dilakukan dengan cara memipet 0,1 ml LIB kedalam tabung reaksi 5 ml. Lalu ditambahkan dengan darah segar 1 ml, 2,9 ml aquades dan 1 ml TCA 20%. Semua campuran di homogenkan dengan alat vortex selama 3 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuge, seluruh supernatan diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kedalam labu ukur ditambahkan 0,2 ml NaNO₂ 0,1%, campur baik-baik dan diamkan 3 menit. Selanjutnya dengan hati-hati ditambahkan 0,2 ml ammonium sulfamat 0,5% melalui dinding labu dan diamkan 2 menit, diikuti penambahan 0,6 ml N (1-naftil) etilendiamin 0,1%, dan diamkan 5 menit di tempat gelap lalu ditambahkan aquades sampai 10 ml lalu diamkan lagi selama 20 menit. Absorpsi diukur dengan menggunakan panjang gelombang 400 nm sampai 800 nm.
 - b. Penentuan operating time

Penentuan operating time Sulfametoksazol dilakukan dengan cara memipet 0,1 ml LIB kedalam tabung reaksi 5 ml. Lalu ditambahkan dengan darah segar 1 ml, 2,9 ml aquades dan 1 ml TCA 20%. Semua campuran di homogenkan dengan alat vortex selama 3 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuge, seluruh supernatan diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kedalam labu ukur ditambahkan 0,2 ml NaNO₂ 0,1%, campur baik-baik dan diamkan 3 menit. Selanjutnya dengan hati-hati ditambahkan 0,2 ml ammonium sulfamat 0,5% melalui dinding labu dan diamkan 2 menit, diikuti penambahan 0,6 ml N (1-naftil) etilendiamin 0,1%, dan diamkan 5 menit di tempat gelap lalu ditambahkan aquades sampai 10 ml dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada kurva absorpsi setiap menit selama 30 menit.
 - c. Pembuatan kurva kalibrasi sulfametoksazol

Pembuatan kurva kalibrasi Sulfametoksazol dilakukan dengan cara membuat satu seri larutan Sulfametoksazol dengan memipet LIB sebanyak 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, masing-masing ditambah darah segar 1 ml, kemudian ditambahkan aquades 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, dan 2,5 ml berturut-turut sesuai dengan banyaknya LIB yang dipipet dan 1 ml TCA 20%. Semua campuran di homogenkan selama 5 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuge, seluruh supernatan diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kedalam labu ukur ditambahkan 0,2 ml NaNO₂ 0,1%, campur baik-baik dan diamkan 3 menit. Selanjutnya dengan hati-hati ditambahkan 0,2 ml ammonium sulfamat 0,5% melalui dinding labu dan diamkan 2 menit, diikuti penambahan 0,6 ml N (1-naftil) etilendiamin 0,1%, dan diamkan 5 menit di tempat gelap lalu ditambahkan aquades sampai 10 ml dan diukur

absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada kurva absorpsi dan pada waktu operating time.

- d. Pemberian obat dan pengambilan darah pada hewan percobaan
Percobaan dibagi dalam 2 kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan hewan dipuasakan (12-18 jam) terlebih dahulu. Pada kelompok pertama (kelompok kontrol), hewan uji diberi Sulfametoksazol secara oral dengan dosis 52 mg/kgBB. Kelompok kedua, (kelompok perlakuan), kepada hewan uji diberi Sulfametoksazol secara oral dengan dosis yang sama, tetapi tiga hari sebelumnya diberi praperlakuan uranil nitrat dengan dosis tunggal 2,6 mg/kgBB secara injeksi intraperitoneal. Lalu darah disampling, melalui vena marginal kelinci pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, dan 150 sebanyak 1 ml.
3. Analisis sulfametoksazol dari cuplikan darah
Satu ml cuplikan darah ditambahkan 3 ml aquades dan 1 ml TCA 20%, kemudian di homogenkan dengan selama 5 menit dan diikuti dengan sentrifuge 5 menit kecepatan 2500 rpm. Setelah disentrifuge, seluruh supernatan diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kedalam labu ukur ditambahkan 0,2 ml NaNO₂ 0,1%, campur baik-baik dan diamkan 3 menit. Selanjutnya dengan hati-hati ditambahkan 0,2 ml ammonium sulfamat 0,5% melalui dinding labu dan diamkan 2 menit, diikuti penambahan 0,6 ml N (1-naftil) etilendiamin 0,1%, dan diamkan 5 menit di tempat gelap lalu ditambahkan aquades sampai 10 ml dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada kurva absorpsi dan pada waktu operating time.

b. Daftar Pustaka

- Katzung, B. G., Masters, S. B. and Trevor, A. J. (2012) *Basic & clinical pharmacology*. New York; London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill [distributor].
- Montoto, S. S. (2018) *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences, ADME Processes in Pharmaceutical Sciences*. doi: 10.1007/978-3-319-99593-9.
- Shargel, L., Wu-Pong, S. and Yu, A. (2004) *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, Fifth Edition*. McGraw-Hill Education (McGraw Hill professional). Available at: <https://books.google.co.id/books?id=K2u1E5MaoCUC>.
- Doggrell, sheila a., 2017. Introduction to pharmacology, and routes of drug administration and absorption.