

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

SKRIPSI



YUNITA PARAMITASARI

08613048

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MEI 2012**

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

SKRIPSI



Oleh:

**YUNITA PARAMITASARI
08613048**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MEI 2012**

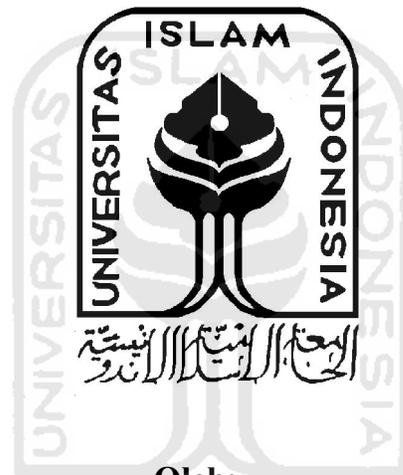
**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh:

YUNITA PARAMITASARI

08613048

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MEI 2012**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

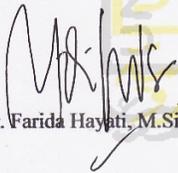
Yang diajukan oleh :

YUNITA PARAMITASARI
08613048

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt.


Fithria Dyah Ayu S., M.Sc., Apt.

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

Oleh :

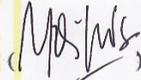
YUNITA PARAMITASARI

08613048

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 10 Mei 2012

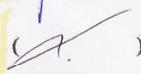
Ketua Penguji :

Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt. ()

Anggota Penguji :

1. Fithria Dyah Ayu S., M.Sc., Apt. ()

2. Arief Rahman Hakim, M.Si., Apt. ()

3. Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt. ()

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Yandi Syukri, M.Si., Apt.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, Mei 2012

Penulis,

Yunita Paramitasari



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, Saya persembahkan Karya ini untuk orang-orang yang saya sayangi terutama buat: Ibundaku Suharmini dan Suhartini, Ayahanda Gito Surojo dan Suparman, ibu Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt. dan ibu **Fithria Dyah Ayu, S., M.Sc., Apt.** yang sudah membimbing saya, kakak-kakakku Arif Jo, Atik, dan Ferryka yang selalu mendukung dan memberikan doa kepada saya. Sahabatku Farmasi 2008 dan PIO serta semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, yang selalu mendukung saya. Saya sangat bersyukur dapat mengenal kalian semua, kalian akan selalu ada di hatiku wahai sahabatku dan Almamaterku Universitas Islam Indonesia

KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT Yang Maha Mendengar lagi Maha Melihat dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis yang berbentuk skripsi ini sesuai dengan waktu yang telah direncanakan.

Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada baginda Nabi Besar Muhammad SAW beserta seluruh keluarga dan sahabatnya yang selalu eksis membantu perjuangan beliau dalam menegakkan Dinullah di muka bumi ini.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Islam Indonesia.

Dalam penulisan skripsi ini, tentunya banyak pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang tiada hingganya kepada :

1. Bapak Gito Surojo dan Ibu Suharmini, kedua orang tuaku.
2. Ibu Dr.Farida Hayati, M.Si., Apt. dan Ibu Fithria Dyah Ayu, S., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah bersedia membimbing selama penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Bapak Arief Rahman Hakim, M.Si., Apt. dan Ibu Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt., selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyusunan akhir skripsi.
4. Bapak Yandi Syukri, M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
5. Bapak M. Hatta Parbowo, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
6. Bapak Sumarna (staf Laboratorium Farmakologi dan Farmakoterapi FMIPA UII), Mas Bibit dan Mas Kuswandi (staf Laboratorium Kimia

Farmasi FMIPA UII), dan Bapak Hartanto (staf Laboratorium Teknologi Farmasi FMIPA UII) yang telah memberikan bantuan selama menjalankan penelitian.

7. Seluruh pihak yang tidak dapat disebut satu per satu, yang telah mendukung dan membantu dalam menjalankan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang konstruktif dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, amin.



Yogyakarta, Mei
2012

Penulis,

Yunita Paramitasari

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
INTISARI	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Penelitian	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Interaksi obat	4
2. Interaksi obat dengan makanan	8
3. Level signifikansi interaksi obat	9
4. Model farmakokinetik	10
5. Model kompartemen	10
6. Orde reaksi	12
7. Parameter farmakokinetika	13
8. Teofilin	15
9. Madu	16
10. HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	17
B. Landasan Teori	20
C. Hipotesis	20
BAB III. METODE PENELITIAN	21
A. Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	21
B. Alat dan Bahan	21

C. Sistematika Kerja Penelitian	22
1. Pembuatan larutan pereaksi	22
a. Pembuatan larutan TCA 10%	22
b. Pembuatan larutan buffer dan fase gerak	22
2. Penetapan kadar teofilin dalam darah	22
3. Uji pendahuluan	22
a. Penetapan panjang gelombang maksimum teofilin ..	22
b. Penetapan waktu retensi dan selektivitas teofilin	23
c. Optimasi perbandingan darah-TCA dan lama sentrifugasi	23
d. Penetapan kurva baku	23
e. Penetapan kriteria akurasi	24
f. Penetapan kriteria presisi	24
g. Penetapan batas deteksi dan kuantifikasi kadar teofilin	25
h. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA	25
i. Penetapan dosis teofilin	25
j. Penetapan dosis dan cara pembuatan madu	26
k. Optimasi waktu sampling	26
l. Pengelompokan hewan uji	26
m. Jalur pemejanaan hewan uji	27
4. Uji Farmakokinetika	27
a. Kelompok kontrol	27
b. Kelompok perlakuan	27
D. Penentuan Parameter Farmakokinetika Teofilin	27
E. Analisis Hasil	28
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Hasil uji pendahuluan	30
B. Hasil uji farmakokinetika	39
C. Pembahasan	41
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	49
A. Kesimpulan	49

B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Skema model satu kompartemen terbuka	11
Gambar 2.	Skema model satu kompartemen terbuka	11
Gambar 3.	Struktur Kimia Teofilin	15
Gambar 4.	Skema cara kerja HPLC	19
Gambar 5.	Alur Penelitian	30
Gambar 6.	Kromatogram teofilin kadar 100µg/mL dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam kolom C18 5µm	31
Gambar 7.	Kromatogram darah dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 5µm	31
Gambar 8.	Kromatogram teofilin kadar 24µg/mL dalam darah (<i>in vitro</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam kolom C18 5µm.....	32
Gambar 9.	Kromatogram teofilin dalam darah dalam sampel jam ke-8 pada tikus III yang diberi teofilin dan madu (<i>in vivo</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 5µm	32
Gambar 10.	Grafik Kurva Baku	34
Gambar 11.	Profil farmakokinetika teofilin optimasi waktu <i>sampling</i>	38
Gambar 12.	Kurva kadar teofilin dalam darah terhadap waktu pada kelompok kontrol dan perlakuan	39
Gambar 13.	Kromatogram teofilin kadar 24µg/mL dalam darah (<i>in vitro</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 5µm untuk kriteria selektivitas	55
Gambar 14.	Profil Farmakokinetika teofilin optimasi waktu <i>sampling</i>	61
Gambar 15.	Profil farmakokinetika teofilin tikus I kontrol	62
Gambar 16.	Profil farmakokinetika teofilin tikus II kontrol	63
Gambar 17.	Profil farmakokinetika teofilin tikus III kontrol	64

Gambar 18.	Profil farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol	65
Gambar 19.	Profil farmakokinetika teofilin tikus V kontrol	66
Gambar 20.	Profil farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan	67
Gambar 21.	Profil farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan	68
Gambar 22.	Profil farmakokinetika teofilin tikus III perlakuan	69
Gambar 23.	Profil farmakokinetika teofilin tikus IV perlakuan	70
Gambar 24.	Profil farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan	71



DAFTAR TABEL

Tabel I.	Komposisi Madu Murni	16
Tabel II.	Luas area di bawah puncak kromatogram pada perbandingan darah dengan TCA dan perbedaan lama sentrifugasi	33
Tabel III.	Pembacaan luas area di bawah puncak kromatogram pada beberapa seri kadar teofilin dalam darah	34
Tabel IV.	Nilai perolehan kembali, kesalahan sistematik, kesalahan acak, dan HORRAT pada penetapan kadar teofilin dalam darah	35
Tabel V.	Persentase degradasi teofilin dalam plasma darah pada penyimpanan dalam lemari pendingin	36
Tabel VI.	Tabel konversi dosis	37
Tabel VII.	Data kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$) pada kelompok kontrol dan perlakuan ($n=5$)	39
Tabel VIII.	Harga parameter farmakokinetika dan uji t tidak berpasangan untuk teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan	40
Tabel IX.	Penetapan kurva baku	56
Tabel X.	Penetapan kriteria sensitivitas	56
Tabel XI.	Hasil perhitungan kriteria akurasi dan presisi	57
Tabel XII.	Hasil perhitungan persentase degradasi	60
Tabel XIII.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin optimasi waktu <i>sampling</i>	61
Tabel XIV.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus I kontrol	62
Tabel XV.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus II kontrol	63
Tabel XVI.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus III kontrol	64

Tabel XVII.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol	65
Tabel XVIII.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus V kontrol	66
Tabel XIX.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan	67
Tabel XX.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan	68
Tabel XXI.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus III perlakuan	69
Tabel XXII.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus IV Perlakuan	70
Tabel XXIII.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan	71
Tabel XXIV.	Data kadar teofilin kelompok kontrol	72
Tabel XXV.	Data kadar teofilin kelompok perlakuan	72
Tabel XXVI.	Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol	73
Tabel XXVII.	Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok perlakuan	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat kelaikan etik	53
Lampiran 2.	Panjang gelombang maksimum teofilin	54
Lampiran 3.	Penetapan kriteria selektivitas	55
Lampiran 4.	Penetapan persamaan kurva baku teofilin dalam darah dan kriteria sensitivitas	56
Lampiran 5.	Penetapan kriteria akurasi dan presisi	57
Lampiran 6.	Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA	60
Lampiran 7.	Perhitungan parameter farmakokinetika data optimasi waktu <i>sampling</i>	61
Lampiran 8.	Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol dan perlakuan	62
Lampiran 9.	Kadar teofilin setiap waktu <i>sampling</i> pada kelompok kontrol dan perlakuan	72
Lampiran 10.	Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan	73
Lampiran 11.	Hasil uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	74
Lampiran 12.	Hasil uji t tidak berpasangan (parameter k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, $AUC_{0-\infty}$, V_d , k , $t_{1/2}$, dan Cl_T)	75

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR DENGAN METODE HPLC (*HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY*)**

INTISARI

Penelitian tentang studi interaksi aspek farmakokinetika antara teofilin dengan madu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian sediaan madu terhadap farmakokinetika teofilin yang diberikan bersamaan terhadap tikus putih jantan galur Wistar. Penelitian ini menggunakan hewan uji yang dibagi secara acak lengkap pola searah menjadi dua kelompok, di masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus jantan Wistar. Kelompok kontrol diberikan teofilin dosis 54mg/kgBB secara peroral, dan kelompok perlakuan dengan pemberian teofilin dosis 54mg/kgBB peroral bersamaan madu dosis 7,65mL/kgBB peroral. Cuplikan darah diambil dari vena ekor tikus pada jam ke 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; dan 23,0. Penetapan kadar teofilin pada plasma dianalisa dengan HPLC dengan panjang gelombang 271 nm. Analisis dilakukan dengan asumsi model satu kompartemen satu ekstrasvaskular menggunakan perhitungan manual dengan bantuan perangkat lunak *Microsoft Excel 2007*. Parameter farmakokinetika yang diperoleh dari kedua kelompok dianalisis dengan program SPSS 16.0 tahun 2007 melalui uji *Kolmogorov-Smirnov* kemudian dilanjutkan uji t tidak berpasangan dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu terhadap parameter farmakokinetika teofilin menurunkan kecepatan absorpsi dan kadar maksimum, serta meningkatkan waktu maksimum, volume distribusi, dan klirens total dengan signifikan ($p < 0,05$).

Kata Kunci : farmakokinetika, teofilin, madu, HPLC.

**EFFECT OF HONEY TO THE THEOPHYLLINE PHARMACOKINETICS
PROFILE IN WHITE MALE RATS WISTAR WITH HPLC (HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY) METHODE**

ABSTRACT

Research have been on aspect of pharmacokinetics interaction between theophylline with honey, which aims to investigate the effect of granting the preparation of honey on the pharmacokinetics of theophylline given together against white male Wistar rats. This study used the animal test were divided randomly in the direction of full pattern into two groups and each group consisted of five male Wistar rats. The control group by administering theophylline dose by peroral 54mg/kgBW and one treatment group with theophylline dose by peroral 54mg/kgBW and dose of honey together 7,65mL/kgBW orally. Excerpts taken from tail vein blood of rats at the 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; and 23,0. Assay of theophylline in plasma was analyzed by HPLC with a wavelength of 271nm. Analyses were performed asumming a model of an extravascular compartment used manual calculations with the help of Microsoft Excel 2007 software. Pharmacokinetics parameters obtained from both groups were analyzed with SPSS 16.0 program in 2007 through the Kolmogorov-Smirnov test followed by unpaired t test with 95% confidence level. The result showed that administration of theophylline pharmacokinetics parameters of honey to reduce the rate of absorption and maximum levels, and increased the maximum time, volume of distribution, and clearance total significantly ($p < 0,05$).

Key words: pharmacokinetics, theophylline, honey, HPLC.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Interaksi obat adalah keadaan suatu zat dapat mempengaruhi aktivitas obat baik meningkatkan maupun menurunkan efektivitas obat. Interaksi obat dengan obat sudah sering terjadi dan menimbulkan masalah baru. Namun, interaksi obat dengan makanan belum banyak disadari masyarakat. Oleh karena itu, interaksi obat perlu diperhatikan untuk menghindari efek merugikan dalam konsumsi obat⁽¹⁾.

Interaksi antara obat dan makanan dapat meningkatkan efek terapi obat dan menurunkan efek samping obat. Interaksi yang terjadi tidak selalu merugikan terapi, dalam kasus yang terjadi dapat memperbaiki absorpsi obat atau meminimalkan efek yang tidak diharapkan. Penggunaan obat herbal dan suplemen makanan harus tetap dilakukan monitoring, karena sedikit kandungan dapat mempengaruhi efektivitas terapi obat lain. Sebagian obat herbal dapat berinteraksi dengan obat-obat sintetik lainnya, misalnya Ma huang, suatu *stimulant*, dapat menyebabkan krisis hipertensi pada pasien yang menggunakan antidepresan *Monoamine Oxidase Inhibitors* (MAOI). Interaksi obat dan makanan dapat terjadi melalui dua mekanisme, yaitu menurunkan tingkat absorpsi dan meningkatkan efek farmakologi⁽¹⁾.

Madu merupakan makanan yang mengandung aneka zat gizi seperti karbohidrat, protein, asam amino, vitamin, mineral, dekstrin, pigmen tumbuhan, dan komponen aromatik. Hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya, salah satu keunikan madu adalah mengandung zat antibiotik yang aktif melawan serangan berbagai kuman patogen pada penyakit infeksi saluran pernapasan atas (ISPA), infeksi saluran cerna, batuk, demam, tukak lambung, dan penyakit kulit⁽²⁾. Madu bermanfaat terhadap penderita bronkitis, asma, dan sinusitis, karena di dalam madu terkandung propolis dan *bee pollen* yang masih segar⁽³⁾. Kandungan zat tersebut di dalam madu untuk asma adalah sebagai antioksidan⁽⁴⁾ dan mengencerkan dahak sehingga aliran udara dalam saluran pernapasan lancar⁽³⁾. Madu sering digunakan bersama dengan obat sebagai pemanis pada sebagian

besar obat yang berasa pahit⁽²⁾. Madu dapat berinteraksi dengan parasetamol dengan menurunkan kadar obat dan meningkatkan absorpsi ibuprofen. Madu sangat mungkin berinteraksi dengan obat yang memiliki indeks terapi sempit. Salah satu obat yang diduga berinteraksi dengan madu adalah teofilin, mengingat indeks terapi yang sempit (kisaran kadar efektif minimal kadar toksik minimal dalam darah 10-20 µg/mL) yang digunakan dalam terapi asma⁽⁵⁾.

Asma merupakan penyakit kronik yang banyak diderita oleh anak. Terapi pada asma perlu dilakukan secara rutin setiap hari, jika tidak, dapat berakibat fatal. Dalam empat dekade terakhir penyakit asma meningkat drastis yang disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan, dan faktor diet⁽⁶⁾. Penelitian epidemiologi di berbagai negara mengenai prevalensi asma menunjukkan angka yang sangat bervariasi, di Skandinavia 0,7-1,8%; Norwegia 0,9- 2,0%; Finlandia 0,7-0,8%; Inggris 1,6-5,1%; Australia 5,4-7,4%, India 0,2%; Jepang 0,7%; dan Barbados 1,1%⁽⁷⁾. Indonesia termasuk negara dengan prevalensi asma rendah, yaitu kurang dari 5%. Prevalensi asma di seluruh dunia adalah sebesar 8-10% pada anak dan 3-5% pada dewasa⁽⁸⁾.

Salah satu obat asma yang digunakan masyarakat adalah teofilin. Teofilin dapat menghilangkan obstruksi saluran napas pada asma akut serta dapat mengurangi beratnya gejala. Teofilin memiliki rasa pahit, hal tersebut menimbulkan masalah pada anak-anak dalam minum obat, sehingga untuk menutupi rasa pahit tersebut dapat dikonsumsi bersama madu⁽⁸⁾. Penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, menunjukkan bahwa profil farmakokinetika teofilin dapat dipengaruhi oleh beberapa tanaman obat tradisional, makanan, minuman, sayur, ataupun buah-buahan. Beberapa obat yang dapat berinteraksi dengan teofilin adalah antibiotik quinolon, natrium diklofenak, morfin, sedangkan makanan atau minuman yang dapat berinteraksi adalah jus *grape fruit*, jus jambu biji, kafein, dan beberapa sumber karbohidrat. Interaksi yang terjadi antara teofilin dengan makanan, terutama yang mengandung karbohidrat terjadi perubahan parameter farmakokinetik, yaitu peningkatan fase absorpsi yang meningkatkan bioavailabilitas dan fase ekskresi akan meningkatkan waktu paruh teofilin^(5,9). Diet rendah protein dan tinggi karbohidrat meningkatkan AUC sebesar 33,3% dan $t_{1/2}$ akan meningkat 42%⁽¹⁰⁾.

Berdasarkan hal-hal di atas timbul dugaan akan adanya interaksi antara teofilin senyawa dalam madu, mengingat indeks terapi teofilin yang sempit dapat mempengaruhi bioavailabilitasnya dalam darah. Penelitian ini lebih jauh mengungkapkan adanya interaksi teofilin madu, apakah interaksi yang terjadi menguntungkan atau merugikan bagi efektivitas dan efisiensi pengobatan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut: Apakah madu dapat mempengaruhi profil farmakokinetika teofilin yang diberikan secara oral pada tikus putih jantan galur Wistar?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu terhadap profil farmakokinetika teofilin yang diberikan secara oral pada tikus putih jantan galur Wistar.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin diperoleh dalam penelitian ini adalah memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan khususnya tentang pengaruh madu terhadap kerja obat teofilin dalam terapi asma.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Interaksi obat

Berbagai faktor dapat mempengaruhi respon tubuh terhadap pengobatan termasuk faktor interaksi obat. Obat dapat berinteraksi dengan makanan, zat kimia yang masuk dari lingkungan, atau dengan obat lain. Interaksi obat dianggap penting secara klinis yang berakibat meningkatkan toksisitas dan atau mengurangi efektivitas obat yang berinteraksi, terutama jika menyangkut obat dengan batas keamanan yang sempit, misalnya glikosida jantung, antikoagulan, teofilin, atau obat-obat sitostatik. Risiko interaksi obat akan meningkat pada pasien dengan pengobatan lebih dari satu. Risiko besar juga dapat terjadi pada orang tua serta memiliki penyakit kronis. Upaya untuk menurunkan risiko terjadinya interaksi obat dengan mengetahui obat yang digunakan dan makanan yang harus dihindari⁽¹¹⁾. Interaksi obat dapat terjadi dalam beberapa mekanisme, yaitu farmasetika, farmakokinetika, dan farmakodinamika⁽¹²⁾.

a. Farmasetika

Pada fase farmasetik terdapat interaksi obat yang terjadi pada saat pencampuran bahan obat sebelum obat masuk ke dalam tubuh. Hal tersebut dapat terjadi akibat dari inkompatibilitas antar bahan obat, dalam pencampuran obat perlu memperhatikan interaksi antar bahan dan harus dipertimbangkan ketika obat tersebut dimaksukkan dalam tubuh. Interaksi farmasetik biasa terjadi pada larutan infus obat antibiotik, karena kestabilan obat ini sulit dalam bentuk cairan⁽¹²⁾.

b. Farmakokinetika

Farmakokinetika adalah ilmu yang mempelajari penyerapan, penyaluran dan pengurangan obat. Deskripsi tentang penyaluran dan pengurangan obat sangat penting untuk merubah permintaan dosis pada individu dan kelompok pasien. Ukuran farmakokinetik bersifat tetap untuk obat yang diperkirakan dari data eksperimen, misalnya perkiraan ukuran farmakokinetik tergantung pada metode contoh penyerapan, waktu percontohan, analisis obat, dan prediksi model yang dipilih. Pengukuran tersebut berdasarkan pada data eksperimen yang disebut

variabel, yang dihitung dan dikembangkan dengan metode matematika dan statistik⁽¹⁰⁾. Berikut fase-fase yang terjadi dalam farmakokinetika obat:

1) Absorpsi

Penyerapan obat oral tergantung pada pelarutan senyawa dalam air dari saluran pencernaan, kemudian melintasi aktual penghalang dari saluran pencernaan untuk mencapai darah⁽¹³⁾. Absorpsi merupakan proses masuknya obat dari tempat pemberian ke dalam darah. Bergantung pada cara pemberiannya, tempat pemberian obat dapat melewati saluran cerna (mulut sampai dengan rektum), kulit, paru, otot, dan lain-lain. Teofilin biasa digunakan melalui oral, akan diabsorpsi di usus halus karena bersifat basa. Usus halus memiliki permukaan absorpsi yang sangat luas, yakni 200m^2 disertai dengan vili dan mikrovili⁽⁹⁾.

Faktor-faktor seperti luas permukaan dinding usus, kecepatan pengosongan lambung, pergerakan saluran cerna, dan aliran darah ke tempat absorpsi dapat mempengaruhi laju dan jumlah absorpsi obat dipengaruhi beberapa faktor, misalnya formulasi, stabilitas obat terhadap asam lambung, enzim pencernaan dan makanan⁽¹⁰⁾. Interaksi obat yang terjadi pada fase absorpsi dapat menyebabkan penurunan atau peningkatan bioavailabilitas, perubahan pengosongan lambung, peningkatan pH lambung, pembentukan kompleks, dan perubahan mekanisme penyerapan⁽¹²⁾.

2) Distribusi

Distribusi obat di seluruh membran tubuh dapat dianggap sebagai difusi pasif. Penetrasi dan sirkulasi obat ke dalam cairan interstisial yang cepat dilakukan oleh sebagian besar obat karena dapat menembus pori-pori membran kapiler berair dengan diameter rata-rata 50\AA ⁽¹³⁾. Dalam darah, obat akan diikat oleh protein plasma dengan berbagai ikatan lemah (ikatan hidrofobik, *van der waals*, hidrogen, dan ionik). Ada beberapa protein plasma, yaitu albumin, α -glikoprotein, CBG (*corticosteroid-binding globulin*), dan SSBG (*sex steroid-binding globulin*). Obat yang terikat pada protein plasma akan dibawa oleh darah ke seluruh tubuh. Kompleks obat-protein terdisosiasi dengan sangat cepat. Obat bebas akan keluar ke jaringan, ke tempat kerja obat, ke jaringan tempat depotnya, ke hati untuk mengalami metabolisme lintas pertama menjadi metabolit yang

dikeluarkan melalui empedu atau masuk kembali ke darah, dan ke ginjal yang akan diekskresi metabolitnya ke dalam urin⁽⁹⁾. Interaksi obat pada fase distribusi dipengaruhi oleh faktor ikatan dengan protein plasma, kompleks obat dengan reseptor, dan kompetisi ikatan protein⁽¹²⁾.

3) Metabolisme

Metabolisme obat secara tradisional dibagi menjadi proses tahap I dan II. Pembagian ini didasarkan pada pengamatan senyawa pertama akan mengalami serangan oksidatif dan melalui gugus hidroksil⁽¹⁴⁾. Metabolisme obat terutama terjadi di hati, yakni di membran *endoplasmic reticulum* (mikrosom) dan di *cytosol*. Tempat metabolisme yang lain (ekstrahepatik) adalah dinding usus, ginjal, paru, darah, otak, dan kulit, serta di lumen kolon oleh flora usus⁽⁹⁾.

Tujuan metabolisme obat adalah mengubah obat yang nonpolar (larut lemak) menjadi polar (larut air) agar dapat diekskresi melalui ginjal atau empedu. Dengan perubahan tersebut obat aktif umumnya diubah menjadi inaktif, tapi sebagian berubah menjadi lebih aktif jika asalnya *prodrug*, kurang aktif, atau menjadi toksik⁽⁹⁾. Interaksi obat pada fase metabolisme terjadi karena induksi dan inhibisi enzim, serta genetik polimorfisme (metabolism cepat atau lambat)⁽¹²⁾.

a) Induksi enzim

Beberapa obat dapat menaikkan kapasitas metabolisme obat lain dengan menginduksi enzim pemetabolisme obat lain (*object drug*). Kenaikan aktivitas enzim metabolisme menyebabkan lebih cepatnya metabolisme dan umumnya merupakan proses deaktivasi obat, sehingga mengurangi kadarnya di dalam plasma dan memperpendek waktu paruh obat, akibatnya intensitas dan durasi efek farmakologinya berkurang⁽⁹⁾. Sebagai contoh interaksi obat karena induksi enzim adalah pemberian teofilin dengan karbamazepin, teofilin dapat menurunkan kadar karbamazepin dalam darah. Pada reaksi metabolisme obat, reaksi oksidasi fase I yang dikatalisir oleh enzim sitokrom P450 dalam mikrosom hepar paling banyak terlibat dan paling mudah dipicu⁽⁹⁾.

b) Inhibisi enzim

Penghambatan enzim karena suatu obat dapat mempengaruhi metabolisme obat, sehingga obat akan menumpuk dalam tubuh, efek yang terjadi hampir sama ketika terjadi peningkatan dosis. Penghambatan enzim terjadi selama 2-3 hari,

sehingga dalam perkembangan yang pesat dapat menyebabkan toksik. Jalur metabolisme yang sering dihambat adalah fase I oksidasi oleh isoenzim sitokrom P450⁽⁹⁾.

4) Ekskresi

Organ terpenting untuk ekskresi obat adalah ginjal. Obat diekskresi melalui ginjal dalam bentuk utuh maupun bentuk metabolitnya. Kebanyakan obat diekskresikan baik dalam empedu maupun urin, termasuk teofilin. Darah memasuki ginjal sepanjang arteri ginjal, kemudian dikirim ke glomerulus dari tubulus, obat disaring melalui lumen tubulus, yaitu untuk molekul yang kecil dan dapat melewati pori membran glomerulus, misalnya garam dan obat-obatan, molekul yang lebih besar seperti protein plasma dan sel darah dipertahankan dalam darah. Aliran darah kemudian lewat ke tubulus ginjal menggunakan energi untuk sistem transportasi aktif untuk menghilangkan metabolit dari darah dan mengeluarkannya ke dalam tubulus filtrat. Ekskresi dalam bentuk utuh atau bentuk aktif merupakan cara eliminasi obat melalui ginjal. Ekskresi melalui ginjal melibatkan tiga proses, yakni filtrasi glomerulus, sekresi aktif di tubulus proksimal, dan reabsorpsi pasif di sepanjang tubulus⁽⁹⁾. Obat dikeluarkan dari tubuh berubah atau sebagai metabolit terutama oleh ginjal, paru-paru, atau saluran pencernaan melalui empedu. Ekskresi obat juga dapat dipengaruhi oleh diet nutrisi, seperti protein dan serat, atau nutrisi yang mempengaruhi pH urin⁽¹³⁾. Interaksi obat pada fase ekskresi dipengaruhi oleh filtrasi glomerulus, sekresi yang dimediasi oleh senyawa anionik dan kationik, reabsorpsi aktif, dan pH urin⁽¹²⁾.

c. Farmakodinamika

Obat yang terikat dengan reseptor dalam tubuh akan menghasilkan efek dan menyebabkan adanya interaksi obat. Interaksi farmakodinamik meliputi antagonisme dan sinergisme. Pada interaksi antagonisme dibedakan kompetitif dan nonkompetitif. Antagonisme kompetitif merupakan interaksi obat dengan obat atau nutrisi yang memiliki aksi berlawanan dan saling berebut untuk berikatan dengan reseptor dan bersifat reversibel, sedangkan nonkompetitif dimana obat yang memiliki afinitas tinggi akan segera berikatan dengan reseptornya, dan bersifat ireversibel. Pada interaksi sinergisme, terjadi interaksi penambahan, yaitu

antara obat dengan obat lain yang diberikan dapat memberikan efek tambahan ke salah satu obat yang bersifat additif dan superadditif⁽¹²⁾.

2. Interaksi obat dengan makanan

Pengetahuan oleh masyarakat mengenai pengaruh makanan terhadap kerja obat masih sangat kurang. Oleh karena itu, pada banyak bahan obat masih belum jelas bagaimana pengaruh pemberian makanan pada saat yang sama terhadap kinetika obat. Interaksi obat dan makanan dapat menyebabkan efek farmakologi obat menurun atau terjadinya toksik⁽⁹⁾.

Interaksi antara makanan dan obat dapat memiliki pengaruh besar terhadap keberhasilan pengobatan. Signifikansi klinis interaksi obat dengan makanan dapat bervariasi. Interaksi obat dengan makanan dapat menyebabkan hilangnya khasiat terapeutik atau menghasilkan efek toksik dari terapi obat. Penurunan efikasi dikarenakan interaksi kadang-kadang bisa sama bahayanya dengan peningkatan efikasi. Umumnya, efek makanan terhadap obat menyebabkan penurunan bioavailabilitas obat tersebut, makanan juga dapat mengubah klirens obat. Beberapa makanan sangat mempengaruhi terapi obat, mengakibatkan efek samping yang serius, keracunan, atau kegagalan terapeutik. Dalam beberapa contoh, interaksi dapat memiliki efek menguntungkan dengan meningkatkan khasiat obat atau mengurangi efek samping yang potensial⁽⁹⁾.

Interaksi obat dengan unsur hara dalam tubuh dapat mempengaruhi metabolisme dan bioavailabilitas makanan dan nutrisi dalam tubuh secara signifikan. Besarnya kejadian interaksi obat dan makanan tidak hanya bergantung pada reaksi kimia, tetapi pada dosis dan durasi pengobatan. Obat dapat mengganggu pemanfaatan nutrisi mulai dari konsumsi makanan hingga tahap ekskresi. Interaksi obat dengan makanan dapat terjadi dalam fase absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Fase interaksi yang paling signifikan adalah absorpsi⁽¹⁵⁾.

3. Level Signifikansi Interaksi Obat

Efek yang terjadi dalam tubuh ketika menggunakan obat yang dapat berinteraksi dengan obat lain maupun makanan atau minuman dibedakan atas beberapa level keparahan⁽¹⁶⁾, yaitu:

a) Level 1 (tidak signifikan secara klinis)

Interaksi dapat terjadi tetapi hasilnya tidak signifikan secara klinis. Interaksi ini memiliki keparahan mayor (efek fatal dapat menyebabkan kematian) dan terdokumentasi *suspected* (interaksi dapat diduga terjadi), *probable* (interaksi obat dapat terjadi), atau *established* (interaksi obat jelas terjadi). Contoh: furosemid dan digoksin, aspirin dan heparin, triptofan dan sibutramin.

b) Level 2 (perhatian)

Interaksi obat dapat terjadi berdasarkan mekanisme kerja obat. Interaksi level ini memiliki tingkat keparahan moderat (efek sedang dan dapat menyebabkan kerusakan organ) dan terdokumentasi *suspected*, *probable*, dan *established*. Contoh: diltiazem dan siklosporin, asetazolamid dan fenitoin, kaptopril dan allopurinol.

c) Level 3 (ringan)

Efek klinis yang ditimbulkan dari interaksi terbatas dan mungkin mengganggu, tetapi tidak mengakibatkan perubahan besar pada efek terapi. Pasien harus dimonitor untuk manifestasi kemungkinan terjadinya interaksi. Interaksi level tersebut memiliki tingkat keparahan minor (dapat diatasi dengan baik) dan terdokumentasi *suspected*, *probable*, dan *established*. Contoh: eritromisin dan klaritromisin, antasida dan rifampisin, metformin dan siklosporin.

d) Level 4 (sedang)

Interaksi dapat menyebabkan kerusakan potensial pada kondisi pasien. Pasien perlu dimonitor untuk manifestasi kemungkinan interaksi yang terjadi. Interaksi tersebut memiliki tingkat keparahan mayor atau moderat dan terdokumentasi *possible* (interaksi obat belum dapat terjadi). Contoh: metformin dan furosemid, probenesid dan ampisilin.

e) Level 5 (berat)

Interaksi obat dapat menyebabkan kerusakan organ permanen. Interaksi level tersebut dibedakan menjadi dua, yaitu tingkat keparahan minor dan terdokumentasi *possible*, serta tingkat keparahan mayor, moderat, minor, dan terdokumentasi *unlikely* (kemungkinan besar interaksi obat tidak terjadi). Contoh: zidovudin dan probenesid, ranitidin dan glibenklamid, teofilin dan prednison⁽¹⁶⁾.

4. Model Farmakokinetik

Obat berada dalam keadaan dinamik di dalam tubuh. Dalam sistem biologi peristiwa yang sering dialami obat terjadi secara bersamaan, maka jumlah parameter yang dibutuhkan untuk menganalisis model farmakokinetik bergantung pada kerumitan proses pemberian obat tersebut. Dengan model farmakokinetik yang kompleks, dapat digunakan program komputer untuk menghitung semua parameter⁽¹⁴⁾.

Model farmakokinetik dapat digunakan untuk :

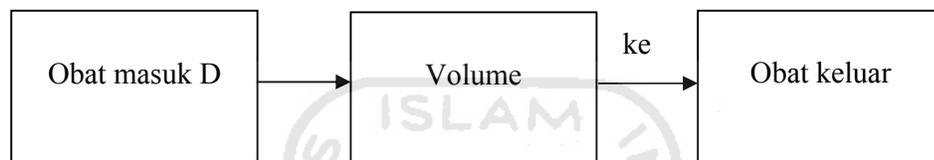
- 1) Memperkirakan jumlah kadar obat dalam plasma, jaringan, dan urin pada berbagai pemakaian dosis
- 2) Memperkirakan kemungkinan adanya akumulasi obat dan metabolit
- 3) Menghubungkan konsentrasi obat dengan aktivitas farmakologi atau toksikologi
- 4) Menilai laju availabilitas antar bioekivalensinya
- 5) Menjelaskan interaksi obat⁽¹⁰⁾.

5. Model Kompartemen

Kompartemen bukan suatu daerah anatomi yang nyata, melainkan dianggap sebagai suatu jaringan yang mempunyai aliran darah dan afinitas obat yang sama. Model kompartemen didasarkan atas anggapan linier yang menggunakan persamaan diferensial linier. Tetapan laju reaksi digunakan untuk menyatakan semua proses laju obat masuk dan keluar dari kompartemen. Untuk menganalisis data yang diperoleh dari percobaan, model kompartemen dapat dibedakan menjadi sistem satu dan dua kompartemen terbuka⁽¹⁰⁾.

a. Model Satu Kompartemen Terbuka

Model kompartemen satu terbuka mempunyai anggapan bahwa perubahan kadar obat dalam plasma sebanding dengan kadar obat dalam jaringan. Model tersebut obat akan didistribusikan ke semua jaringan di dalam tubuh melalui sistem sirkulasi dan secara tepat berkeselimbangan di dalam tubuh. Tetapi, model tersebut tidak menganggap bahwa konsentrasi obat dalam tiap jaringan adalah sama pada berbagai waktu. Di samping itu D_b juga tidak dapat ditentukan secara langsung, tetapi dapat ditentukan konsentrasi obatnya dengan menggunakan darah. Volume distribusi, V_d adalah volume dalam tubuh di mana obat tersebut larut⁽¹⁰⁾.

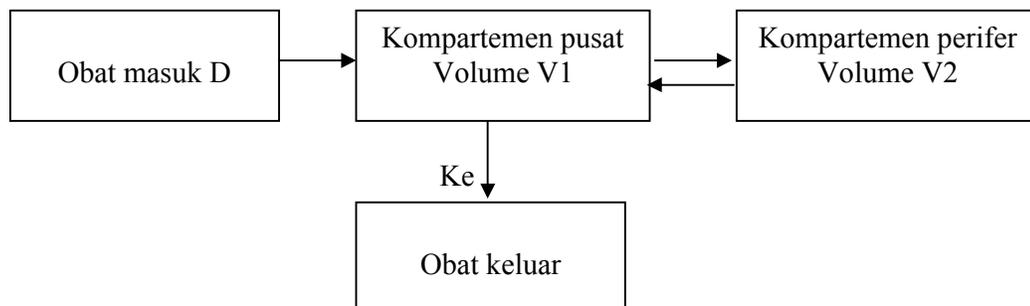


Gambar 1. Skema model satu kompartemen terbuka⁽¹⁵⁾.

Gambar diatas diumpamakan obat disuntikkan secara langsung ke dalam kompartemen ini (misalnya injeksi intravena) dan mendistribusikan ke seluruh kompartemen.

b. Model Dua Kompartemen Terbuka

Model kompartemen dua dianggap bahwa obat terdistribusi ke dalam dua kompartemen. Kompartemen ke satu, dikenal sebagai kompartemen sentral, yaitu darah, cairan ekstraselular dan jaringan dengan perfusi tinggi, kompartemen ini secara cepat terdifusi oleh obat. Kompartemen ke dua merupakan kompartemen jaringan, yang berisi jaringan yang berkesetimbangan secara lebih lambat dengan obat. Model ini dieliminasi dari kompartemen sentral⁽¹⁰⁾.



Gambar 2. Skema model kompartemen dua terbuka⁽¹⁰⁾.

6. Orde Reaksi

Laju suatu reaksi kimia atau proses kimia dapat diartikan sebagai kecepatan terjadinya suatu reaksi kimia. Untuk reaksi kimia berikut : Obat A \rightarrow Obat B.

Jika jumlah suatu obat A berkurang dengan bertambahnya waktu (reaksi berjalan searah dengan tanda panah), maka laju reaksi dapat dinyatakan sebagai berikut: $-dA/dt$. Dengan demikian, apabila jumlah suatu obat B bertambah dengan bertambahnya waktu, maka laju reaksi dapat dinyatakan sebagai berikut: $+dB/dt$. Metabolit obat atau hasil urai obat tidak dapat atau sangat sulit ditentukan secara kuantitatif, umumnya hanya obat induk (obat yang aktif farmakologik) saja yang ditentukan dalam percobaan. Oleh karena itu, laju reaksi ditentukan dengan melalui percobaan dengan cara mengukur obat A dalam waktu yang telah ditentukan. Orde reaksi dapat ditunjukkan dengan cara bagaimana konsentrasi obat atau pereaksi itu dapat mempengaruhi laju suatu reaksi kimia⁽¹⁰⁾.

a. Reaksi Orde Nol

Reaksi order nol ini terjadi apabila jumlah obat A berkurang dalam jarak waktu tertentu yang tetap, t , maka laju hilangnya obat A dinyatakan sebagai berikut: $dA/dt = -k_0$. k_0 adalah tetapan laju reaksi order nol dapat dinyatakan dalam satuan massa/waktu (misal : mg/menit). Persamaan diatas dapat menghasilkan persamaan sebagai berikut : $A = -k_0 t + A_0$(4)
 A_0 adalah jumlah obat A pada $t = 0$ ⁽¹⁰⁾.

b. Reaksi Orde Satu

Reaksi order satu ini terjadi apabila jumlah obat A berkurang dengan laju yang sebanding dengan jumlah obat A tersisa, maka laju hilangnya obat A dinyatakan sebagai berikut : $dA/dt = -k_A$. k adalah tetapan laju reaksi order satu dan dinyatakan dalam satuan waktu⁻¹ (misal : jam⁻¹).

Persamaan diatas dapat menghasilkan : $\ln A = -k_t + \ln A_0$ (5)

$$A = A_0 \cdot e^{-kt} \text{(6)}$$

Bila $\ln = 2,3$; maka persamaan menjadi :

$$\log A = -k_t / 2,3 + \log A_0 \text{(7)}$$

Waktu paruh ($t_{1/2}$) dapat dinyatakan dengan waktu yang dibutuhkan oleh sejumlah obat atau konsentrasi obat yang berkurang menjadi separuhnya.

Waktu paruh reaksi orde satu, dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$t_{1/2} = 0,693/k \dots\dots\dots(8)$$

Dari persamaan diatas harga $t_{1/2}$ adalah konstan.

Waktu paruh reaksi order nol, dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$t_{1/2} = 0,5 \cdot A_0 / k_0 \dots\dots\dots(9)$$

Harga $t_{1/2}$ untuk reaksi order nol ini berjalan tidak tetap dan berubah secara berkala dengan berkurangnya konsentrasi obat, maka $t_{1/2}$ untuk reaksi order nol ini kegunaannya hanya sedikit⁽¹⁰⁾.

7. Parameter Farmakokinetika

Kompartemen farmakokinetik dari obat pada setiap tahap perlu ditetapkan secara kuantitatif dan dijelaskan dengan bantuan parameter farmakokinetik. Parameter farmakokinetik ditentukan dengan perhitungan matematika dari data kinetika obat di dalam plasma atau di dalam urin yang diperoleh setelah pemberian obat melalui berbagai rute pemberian, baik secara intravaskular atau ekstrasvaskular⁽¹⁷⁾.

Terdapat tiga jenis parameter farmakokinetik yaitu parameter primer, sekunder, dan turunan. Parameter farmakokinetik primer meliputi k_a (kecepatan absorpsi), V_d (volume distribusi), Cl_T (klirens). Parameter farmakokinetik sekunder antara lain adalah $t_{1/2}$ eliminasi (waktu paruh eliminasi), k (konstanta kecepatan eliminasi). Sedangkan parameter farmakokinetik turunan harganya tergantung dari dosis dan kecepatan pemberian obat⁽¹⁷⁾. Parameter farmakokinetik meliputi :

a. Parameter pokok/primer

1) Tetapan kecepatan absorpsi (k_a)

Tetapan kecepatan absorpsi menggambarkan kecepatan absorpsi, yaitu masuknya obat ke dalam sirkulasi sistemik dari absorpsinya (saluran cerna pada pemberian oral, jaringan otot pada pemberian intramuskular).

2) Klirens (Cl_T)

Klirens adalah volume darah yang dibersihkan dari kandungan obat per satuan waktu

3) Volume distribusi (V_d)

Volume distribusi adalah volume yang menunjukkan distribusi obat⁽¹⁴⁾.

b. Parameter Sekunder

1) Waktu paro eliminasi ($t_{1/2}$)

Waktu paro adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengubah jumlah obat di dalam tubuh menjadi seperdua selama eliminasi (atau selama infus yang konstan)

2) Tetapan kecepatan eliminasi (k)

Kecepatan eliminasi adalah fraksi obat yang ada pada suatu waktu yang akan tereliminasi dalam satu satuan waktu. Tetapan kecepatan eliminasi menunjukkan laju penurunan kadar obat setelah proses kinetik mencapai keseimbangan⁽¹⁸⁾.

c. Parameter Turunan/tersier

1) Waktu mencapai kadar puncak (t_{maks})

Nilai ini menunjukkan kapan kadar obat dalam sirkulasi sistemik mencapai puncak.

2) Kadar puncak ($C_{p_{maks}}$)

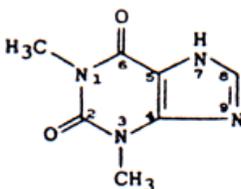
Kadar puncak adalah kadar tertinggi yang terukur dalam darah atau serum atau plasma. Nilai ini merupakan hasil dari proses absorpsi, distribusi dan eliminasi dengan pengertian bahwa pada saat kadar mencapai puncak proses-proses tersebut berada dalam keadaan seimbang.

3) Luas daerah di bawah kurva kadar obat dalam sirkulasi sistemik-waktu atau *Area Under Curve* ($AUC_{0-\infty}$)

Nilai ini menggambarkan derajat absorpsi, yakni berapa banyak obat diabsorpsi dari sejumlah dosis yang diberikan. Area di bawah kurva konsentrasi obat-waktu ($AUC_{0-\infty}$) berguna sebagai ukuran dari jumlah total obat yang utuh tidak berubah yang mencapai sirkulasi sistemik⁽¹⁰⁾.

8. Teofilin

Teofilin merupakan serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa pahit dan mantap di udara. Teofilin mengandung tidak kurang dari 98,5 % dan tidak lebih dari 101,5 % $C_7H_8N_4O_2$, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan⁽¹⁹⁾.



Gambar 3. Struktur Kimia Teofilin⁽¹⁹⁾.

Kelarutan dari teofilin yaitu : larut dalam lebih kurang 180 bagian air, lebih mudah larut dalam air panas, larut dalam lebih kurang 120 bagian etanol (95%) P, mudah larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam ammonia encer P⁽¹⁹⁾.

Teofilin *[(3,7-dihidro-1,3-di-metilpurin-2,6-(1H)-dion]* atau *1,3-dimetilxantin* salah satu obat yang memiliki indeks terapi sempit, yaitu 8-15 mg/L darah. Potensi toksisitasnya telah diketahui berhubungan dengan kadar teofilin utuh dalam darah yaitu lebih dari 20 mg/L⁽²⁰⁾. Rasio ekstraksi hepatic teofilin termasuk rendah, yakni 0,09⁽¹⁰⁾. Oleh karena itu, efek potensialnya ditentukan oleh keefektifan sistem oksidasi sitokrom P450 di dalam hati⁽²⁰⁾. Teofilin dimetabolisme oleh enzim mikrosom hepar sitokrom P4501A2⁽⁹⁾.

Mekanisme kerja teofilin menghambat enzim nukleotida siklik *phosphodiesterase* (PDE). PDE mengkatalisis pemecahan *adenosine mono phospat* (AMP) siklik menjadi 5'-AMP dan *guanosin mono phospat* (GMP) siklik menjadi 5'-GMP. Penghambatan PDE menyebabkan penumpukan AMP siklik dan GMP siklik, sehingga meningkatkan transduksi sinyal melalui jalur ini. Teofilin merupakan suatu antagonis kompetitif pada reseptor adenosin, kaitan khususnya dengan asma adalah pengamatan bahwa adenosin dapat menyebabkan bronkokonstriksi pada penderita asma dan memperkuat mediator yang diinduksi secara imunologis dari sel *mast* paru-paru⁽²¹⁾.

Dosis pemeliharaan untuk teofilin *non-sustained release* adalah 200-300mg, 3-4 kali sehari atau 200-400mg, 2 kali sehari untuk sediaan *sustained released*. Dosis terapi teofilin untuk manusia dalam sehari maksimal 800mg⁽²³⁾. Kadar terapeutik plasmanya adalah 5-20 mg/L. Konsentrasi serum 10 – 20 µg/mL

diperlukan untuk menghasilkan respon bronkodilator optimum. Teofilin diabsorpsi dengan cepat dan lengkap, sehingga kadar puncak serum dicapai kira-kira hanya 1 - 2 jam setelah penggunaan oral. Volume distribusinya mencapai 0,5 L/kg dan mengikuti model 1 kompartemen. Pada berat badan ideal, klirens teofilin rata-rata 0,04 L/kg/hari. Tetapi, sebenarnya angka ini sangatlah bervariasi karena banyak hal yang dapat meningkatkannya, seperti kondisi obesitas, merokok, diet dan penyakit hati. Begitu juga dengan $t_{1/2}$ nya, dimana pada pasien dewasa mencapai 8 jam⁽²²⁾. Teofilin dapat berinteraksi dengan *grape fruit juice*, dengan makanan tinggi protein dapat menurunkan waktu paruh, serta dengan makanan tinggi karbohidrat dapat meningkatkan waktu paruh⁽⁹⁾.

9. Madu

Sejak zaman kuno madu sudah digunakan dalam dunia kesehatan, karena dalam uji laboratorium dapat membunuh patogen dalam tubuh manusia. Komposisi madu dapat diberikan dalam Tabel I.

Tabel I. Komposisi Madu Murni⁽²⁴⁾

Komponen	(%)
Air	17,2
Fruktosa	41
Glukosa	35
Sukrosa	1,9
Disakarida, seperti maltose	7,31
Gula kadar tinggi	1,5
Glukonik bebas asam	0,43
Lakton/Glukonolakton	0,14
Asam organic	0,57
Abu	0,169
Nitrogen	0,041

Lebih dari 95% madu yang kental mengandung karbohidrat dan kompleks gula. Kandungan lain yang terdapat dalam madu adalah isomaltosa, nigerosa, turanosa, maltulosa, kojibiosa, alpha beta-trehalosa, gentiobiosa, laminaribiosa, maltotriosa, 1-kestosa, panosa, isomaltosilglukosa, erlosa, isomaltosiltriosa, theanderosa, centosa, isopanosa, isomaltosiltetraosa, dan isomaltosilpentaosa. pH dari madu adalah 3,2-4,5. Madu mengandung mineral dan vitamin tetapi dalam kadar yang rendah yaitu 0,02%, juga mengandung asam amino, prolin, fenilalanin

dan asam aspartat dengan konsentrasi terbesar lebih dari 200 ppm⁽²⁴⁾. Penyakit-penyakit yang dapat disembuhkan dengan madu, antara lain infeksi, gastroenteritis, ulkus gastrik, diabetes, penyakit pernapasan, penyakit paru-paru, penyakit hati, penyakit sistem syaraf, demam, penyakit kulit, penyakit mata, dan sebagainya⁽²⁵⁾.

Madu juga memiliki sifat sedatif (penenang) yang ringan, maka itu masyarakat tradisional sering membubuhkan madu pada segelas susu untuk diminum sebelum tidur. Minuman ini membuat rileks dan dapat segera tidur nyenyak⁽²⁵⁾. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, madu dapat mempengaruhi farmakokinetika yaitu menurunkan kadar obat parasetamol dalam darah dan menurunkan absorpsi ibuprofen⁽²⁶⁾.

10. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau disebut dengan HPLC, merupakan teknik pemisahan untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel. HPLC merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif⁽²⁷⁾.

HPLC adalah teknologi analisis serbaguna yang digunakan untuk analisis farmasi, biomolekul, polimer, dan senyawa organik. Kromatografi cair (LC) adalah teknik pemisahan fisik yang dilakukan pada fase gerak. Sampel dipisahkan menjadi komponen-komponen penyusunnya dengan mendistribusikan antara fase gerak berupa cairan mengalir dan fase stasioner berupa sorbent yang dikemas dalam kolom. HPLC adalah bentuk modern dari LC yang menggunakan kolom partikel kecil melalui fase gerak yang dipompa pada tekanan tinggi⁽²⁸⁾.

Terdapat model pemisahan utama HPLC yaitu:

1. NPC (*Normal-Phase Chromatography*) atau Kromatografi Fase Normal

Dikenal sebagai kromatografi cair padat atau kromatografi adsorpsi, NPC adalah model pemisahan tradisional yang didasarkan pada adsorpsi atau desorpsi dari analit ke fase diam yang polar, biasanya alumina atau silika. NPC berguna untuk pemisahan senyawa nonpolar dan isomer, serta untuk fraksinasi sampel kompleks. Salah satu kelemahan utama dari model ini adalah mudah terkontaminasi oleh komponen sampel pada kutub permukaan, masalah ini dapat

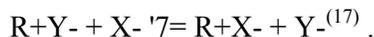
dikurangi dengan ikatan gugus polar seperti amino atau siano ke bagian silanol⁽²⁸⁾. Fase diam berupa cairan yang disalutkan atau diikatkan secara kimia pada *solid support*. Komponen sampel yang dipisahkan berpartisipasi di antara fase diam dan fase gerak. Pada model ini dikenal sistem *normal phase* (fase diam berupa senyawa yang polar. Sistem *normal phase* dapat memisahkan senyawa pestisida, steroid, anilina, alkaloida, glikol, alkohol, fenol, aromatik dan kompleks logam⁽¹⁷⁾.

2. RPC (*Reversed-Phase Chromatography*) atau Kromatografi Fase Terbalik

Pemisahan ini didasarkan pada koefisien partisi analit antara fase gerak dan fase diam. Fase diam yang hidrofobik merupakan partikel padat yang dilapisi dengan cairan nonpolar. Kromatografi fase terbalik ini menggunakan fase gerak seperti campuran methanol atau asetonitril dengan air. Mekanisme pemisahan utama disebabkan adanya interaksi hidrofobik⁽²⁸⁾. Sistem *reversed phase* dapat digunakan untuk memisahkan alkohol, aromatik, antrakuinon, alkaloid, oligomer, antibiotika, barbiturat, steroid, pestisida, dan vitamin⁽¹⁷⁾.

3. *Ion-Exchange Chromatography* atau Kromatografi Pengganti Ion

Dalam kromatografi penukar ion, model pemisahan didasarkan pada pertukaran ion analit dengan fase diam yang padat. Fase diam merupakan penukar kation (sulfonat) atau penukar anionik (ammonium kuartener). Fase gerak mengandung *buffer* yang menyebabkan peningkatan kekuatan ionik untuk memaksa pergerakan analit. Model ini tepat untuk analisis protein, asam amino, dan polinukleotida. Teknik ini digunakan untuk membentuk warna dalam meningkatkan deteksi pada panjang gelombang 550nm⁽²⁸⁾. Fase diam terdiri dari suatu matriks yang tegar, yang permukaannya menyangga suatu muatan positif sehingga menyajikan suatu titik penukar ion (R⁺). Bila digunakan suatu fase gerak yang mengandung anion, titik penukar ion tersebut akan menarik dan memegang suatu *counter-ion* negatif (Y⁻). Sampel yang berupa anion (X⁻) kemudian dapat bertukaran dengan *counter-ion* (Y⁻):

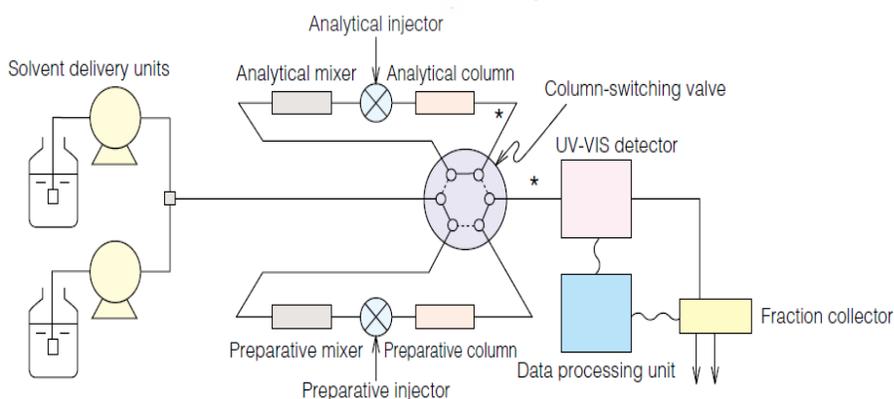


4. SEC (*Size-Exclusion Chromatography*) atau Kromatografi Eksklusi Ukuran

Kromatografi ukuran adalah model pemisahan berdasarkan ukuran molekul analit. Molekul besar akan dikeluarkan dari pori-pori dan bergerak cepat, sedangkan molekul kecil dapat menembus pori-pori dan bergerak lebih lambat ke

bawah kolom. Hal ini sering disebut *gel permeation chromatography* (GPC), yang tepat digunakan untuk penentuan bobot molekul polimer organik dan *gel filtration chromatography* (GFC) yang digunakan untuk pemisahan bahan biologis yang larut air⁽²⁸⁾.

Analisis senyawa menggunakan HPLC memiliki beberapa kelebihan, yaitu mampu memisahkan molekul dari suatu campuran, resolusi baik, mudah dilakukan, kecepatan analisis dan kepekaan tinggi, dapat menghindari terjadinya dekomposisi bahan, dapat menggunakan macam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, reproduibilitas baik, instrumen dapat bekerja otomatis, waktu singkat dalam analisis, ideal untuk molekul besar dan ion, serta memiliki keterbatasan, yaitu untuk identifikasi senyawa, kecuali jika HPLC dihubungkan dengan spektrometer massa (MS), jika sampel sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh⁽²⁸⁾. Prinsip kerja dari HPLC adalah dengan bantuan pompa, fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor, cuplikan dimasukkan ke dalam fase gerak dengan penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran karena perbedaan kekuatan interaksi antara senyawa terhadap fase diam. Senyawa yang interaksinya kurang kuat dengan fase diam akan keluar dari kolom terlebih dahulu, sebaliknya senyawa yang kuat berinteraksi dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih lama. Setiap komponen campuran yang keluar dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram⁽²⁹⁾.



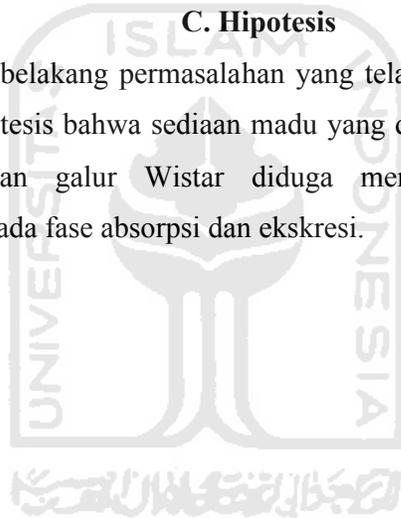
Gambar 4. Skema cara kerja HPLC⁽³⁰⁾.

B. Landasan Teori

Madu merupakan minuman yang digunakan untuk menambah stamina tubuh dan mengatasi berbagai penyakit. Selain itu, diminum bersama dengan obat untuk menutupi rasa pahit obat. Madu mengandung beberapa zat, yaitu kompleks gula, protein, vitamin, mineral, air, dan komponen lainnya. Penelitian sebelumnya, madu dapat menurunkan kadar parasetamol dan meningkatkan absorpsi ibuprofen⁽²⁶⁾. Pemberian nutrisi karbohidrat mempengaruhi farmakokinetika teofilin dengan meningkatkan AUC dan $t_{1/2}$ secara signifikan⁽¹⁰⁾. Profil farmakokinetika teofilin dapat dipengaruhi oleh beberapa obat lain maupun makanan dan minuman, seperti jus *grape fruit*, kafein, dan jus jambu biji^(5,9).

C. Hipotesis

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dikemukakan di atas maka dapat disusun hipotesis bahwa sediaan madu yang diberikan secara peroral pada tikus putih jantan galur Wistar diduga mempengaruhi parameter farmakokinetik teofilin pada fase absorpsi dan ekskresi.



BAB III METODE PENELITIAN

A. Pengajuan *Ethical Clearance*

Ethical clearance atau kelayakan etik adalah keterangan tertulis yang diberikan oleh komisi etik penelitian untuk penelitian yang melibatkan makhluk hidup (manusia, hewan dan tumbuhan) yang menyatakan bahwa suatu proposal penelitian layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan tertentu⁽³¹⁾. Tata cara pengurusan *Ethical clearance* adalah:

1. Meminta surat pengantar untuk melakukan penelitian di bagian Akademik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Membuat *inform concern*.
3. Peneliti mengajukan surat permohonan dan menyerahkan *inform concern* kepada Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada disertai dengan proposal penelitian.
4. Peneliti diminta untuk menyelesaikan administrasi.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat gelas yang digunakan adalah gelas beker, gelas ukur, labu takar, batang pengaduk, erlenmeyer, stopwatch, spuit injeksi 1-10 mL, jarum oral (ujung tumpul), alat timbang, holder, *eppendorf*, seperangkat alat HPLC Waters e 2695, kolom Sunfire Waters C18 5 μ m, detektor Waters e 2695, injektor SM 7, dan spektrofotometri Shimadzu UV Spectrophotometer UV-1800.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi madu murni berasal dari daerah Pati, Jawa Tengah, teofilin murni, TCA, asam asetat glasial, natrium asetat, asetonitril, aquabidest, heparin, dan tikus putih jantan galur Wistar.

C. Sistematika Kerja Penelitian

1. Pembuatan larutan pereaksi

a. Pembuatan larutan TCA 10%

Ditimbang 1 gram asam trikloroasetat (TCA) kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquades sampai 10 mL dalam labu takar.

b. Pembuatan larutan buffer dan fase gerak

Ditimbang 0,68 g natrium asetat, dilarutkan dalam 100 ml aquabidest, digojog hingga homogen, kemudian ditambahkan 2,5 mL asam asetat glasial, ditambahkan aquabidest sampai batas labu ukur 500 mL. Larutan dihomogenkan, lalu diultrasonifikasi 10 menit.

Dalam labu ukur 500 mL, dimasukkan asetonitril 17,5 mL, kemudian ditambahkan larutan buffer di atas hingga batas labu, dihomogenkan dan disaring dengan menggunakan penyaring Buchner, kemudian didegass dalam ultrasonik⁽³²⁾.

2. Penetapan kadar teofilin dalam darah

Penetapan kadar teofilin dalam darah dengan HPLC mengikuti metode Soediono (2007) dengan beberapa modifikasi dari peneliti. Darah sebanyak 0,25 mL dari vena lateralis ekor ditampung di *eppendorf* yang telah diberi 3-4 tetes heparin lalu dihomogenkan. Darah dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,25 mL TCA 10%, kemudian *divortex* dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2500 rpm dan diambil beningannya sebanyak 150 μ L untuk dimasukkan dalam vial injektor dan diinjeksikan ke HPLC sebanyak 20 μ L secara autoinjeksi. Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril:buffer asetat (7:93) dengan laju alir 1mL/menit dan panjang gelombang 271nm.

3. Uji pendahuluan

a. Penetapan panjang gelombang maksimum teofilin

Teofilin dilarutkan dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dengan kadar 20 μ g/mL kemudian dibaca panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang batas awal 200 nm dan batas akhir 400 nm.

b. Penetapan waktu retensi dan selektivitas teofilin

Teofilin murni dilarutkan dalam fase gerak dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Hasil larutan dimasukkan dalam vial injektor, diambil secara autoinjeksi sebanyak 20 μl ke dalam HPLC dengan menggunakan kolom C18, fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) pada laju alir 1 mL/menit dan panjang gelombang maksimum yang sudah didapatkan sebelumnya, kemudian ditetapkan waktu retensi dan selektivitas teofilin.

c. Optimasi perbandingan darah-TCA dan lama sentrifugasi

Kadar teofilin dalam darah sebesar 20 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan dengan masing-masing kadar TCA dengan tiga macam perbandingan darah dan TCA yaitu (1:1), (1:2), dan (1:3). Masing-masing perbandingan tersebut dibuat sebanyak dua buah, satu untuk disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit dan sisanya untuk disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit, kemudian hasilnya dibandingkan dan dipilih yang terbaik untuk digunakan sebagai perbandingan darah dan TCA selama sentrifugasi pada proses-proses selanjutnya.

d. Penetapan kurva baku

Larutan stok teofilin yang dibutuhkan adalah 400 $\mu\text{g/mL}$ dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dalam aquabidest. Kadar 400 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan cara menimbang 10 mg teofilin murni kemudian dilarutkan dalam aquabidest sampai volume 25 mL. Kadar 100 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan mengambil 2,5 mL dari larutan stok 400 $\mu\text{g/mL}$ dimasukkan dalam labu 10 mL, di ad kan dengan aquabidest. Dalam tabung dimasukkan darah dan stok teofilin sesuai perhitungan kemudian ditambahkan TCA 10% sesuai hasil optimasi. Seri kadar teofilin yang dibuat dalam darah adalah 0,5, 1, 4, 10, 16, 20, dan 24 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, campuran divortex dan disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 2500 rpm, dan diambil larutan beningnya. Larutan bening tersebut dimasukkan dalam vial injektor, diambil secara autoinjektor sebanyak 20 μL ke dalam HPLC dan diukur luas di bawah puncak kromatogramnya, kemudian dibuat regresi linier antara kadar terhadap luas di bawah puncak kromatogram teofilin.

e. Penetapan kriteria akurasi

Dibuat kadar teofilin dalam darah dengan konsentrasi 6, 16, 20 dan 24 $\mu\text{g/mL}$ dengan replikasi 3 kali, kemudian diproses dengan menambahkan TCA 10%. Setelah itu divortex dan disentifuge selama 15 menit pada kecepatan 2500 rpm, beningan diambil dan diinjeksikan sebanyak 20 μL pada HPLC, direplikasi sebanyak 3 kali. Kemudian nilai *recovery* (perolehan kembali) dan kesalahan sistemik dihitung dengan rumus:

$$\text{Perolehan kembali (P\%)} = (\text{kadar terukur/kadar diketahui}) \times 100\%$$

$$\text{Kesalahan sistemik} = 100\% - \text{P\%}$$

Perolehan kembali analit dalam pengujian merupakan suatu respon detektor yang didapatkan dari jumlah analit yang ditambahkan dan diekstraksi dari matriks, dibandingkan dengan respon detektor terhadap konsentrasi sebenarnya dari standar analit murni. Perolehan kembali dari suatu pengujian tidak harus mencapai 100%, tetapi semua nilai perolehan kembali harus konsisten untuk semua kadar yang diujikan, presisi, dan *reproducible*, rentang penerimaan yang diperbolehkan untuk metode HPLC adalah $100 \pm 15\%$ ⁽²⁷⁾.

f. Penetapan kriteria presisi

Untuk mencari kesalahan acak dari replikasi *recovery* sebanyak 3 kali dicari nilai rata-ratanya sebagai nilai simpangan baku, kemudian dihitung nilai kesalahan acak dengan rumus :

$$\text{Kesalahan acak} = (\text{simpangan baku/harga rata-rata}) \times 100\%$$

Presisi merupakan tolak ukur kedekatan hasil analisis yang didapat dari beberapa macam replikasi pengukuran pada kadar yang sama dalam suatu metode. Rentang penerimaan yang diperbolehkan untuk metode HPLC adalah kurang dari 15% ⁽²⁷⁾. Selain itu, penentuan kriteria presisi juga dapat menggunakan perhitungan *Horwitz Ratio* (HORRAT). HORRAT dapat diperoleh dengan rumus:

$$\text{HORRAT} = (\text{RSD}_{\text{obs}} - \text{RSD}_{\text{calc}})$$

RSD observasi (RSD_{obs}) merupakan hasil perhitungan kesalahan acak

RSD kalkulasi (RSD_{calc}) merupakan hasil perhitungan RSD \rightarrow

$$\text{RSD} = 2^{(1-0,5\log C)}$$

g. Penetapan batas deteksi dan kuantifikasi kadar teofilin

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasikan. Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditemukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan⁽²⁷⁾. Standar terendah pada kurva kalibrasi harus diterima sebagai batas kuantifikasi jika terjadi kondisi kadar analit pada batas bawah kuantifikasi (*Lower Limit of Quantification/LLOQ*) minimal 5 kali respon dan konsentrasi puncak analit dapat diidentifikasi, diskrit, dan memiliki presisi 20% dan akurasi 80-120%⁽³⁴⁾. Batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*), batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/LOQ*), dan batas bawah kuantifikasi (*Lower Limit of Quantification/LLOQ*) dapat dihitung melalui persamaan regresi linier yang sudah didapat pada penetapan kurva baku.

$$\text{LOD} = [\text{simpangan baku residual (S y/x)/slope(b)}] \times 3$$

$$\text{LLOQ} = [\text{simpangan baku residual (S y/x)/slope(b)}] \times 5$$

$$\text{LOQ} = [\text{simpangan baku residual (S y/x)/slope(b)}] \times 10$$

h. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA

Dibuat kadar teofilin 34 $\mu\text{g/mL}$ dalam darah dan ditambahkan, kemudian di-vortex dan di-sentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 2500 rpm, diambil larutan beningnya. Larutan bening disimpan dalam lemari pendingin selama 24 dan 48 jam. Setelah itu, ditetapkan kadar teofilin dengan HPLC pada jam ke-0, 24, dan 48. Hasil yang diperoleh dinyatakan sebagai persen degradasi teofilin selama penyimpanan dalam pelarut TCA.

i. Penetapan dosis teofilin

Dosis teofilin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 54 mg/kg BB tikus dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis teofilin untuk tikus} = 54 \text{ mg/kg BB tikus}$$

$$= 10,8 \text{ mg/200 g BB tikus}$$

$$\text{Volume pemejanaan} = 1 \text{ mL/200 g BB tikus}$$

$$\text{Larutan stok} = \text{dosis} : \text{volume pemejanaan}$$

$$= (10,8 \text{ mg/200 g BB}) : (1 \text{ mL/200 g BB})$$

$$= 10,8 \text{ mg/mL}$$

$$= 108 \text{ mg}/10 \text{ mL}$$

$$= 0,27 \text{ g}/25 \text{ mL}$$

j. Penetapan dosis dan cara pembuatan madu

Dari penelitian farmakologi terdahulu, pemberian madu secara bersamaan dengan teofilin pada mencit betina dosis 10,92 mL/kg BB.

Perhitungan konversi dosis mencit ke tikus:

$$\begin{aligned} \text{Dosis madu untuk tikus} &= \text{dosis} \times \text{faktor konversi} \\ &= 0,218 \text{ mL}/20 \text{ g BB mencit} \times 7 \\ &= 1,53 \text{ mL}/200 \text{ g BB tikus} \\ &= 7,65 \text{ mL}/\text{kg BB tikus} \\ &= 7,65 \text{ mL}/1000\text{g BB tikus} \end{aligned}$$

Cara pemberian madu pada hewan uji:

1. Diasumsikan BB tikus 200g, madu yang dibutuhkan untuk tiap ekor tikus 1,53mL/200gBB
2. Sediaan madu yang diambil untuk 5 ekor tikus lebih kurang 7,65 mL

k. Optimasi waktu sampling

Hewan uji ditimbang dan dipuasakan selama 12 jam, kemudian diberi teofilin dengan dosis 54 mg/kg BB secara oral, kemudian darah dicuplik dari vena mata pada jam ke-0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10; 12; dan 24 jam⁽³³⁾. Kadar teofilin dalam darah ditetapkan dengan HPLC. Hasil yang diperoleh dibuat kurva teofilin dalam darah terhadap waktu, lalu ditentukan waktu optimal untuk pencuplikan darah.

1. Pengelompokan hewan uji

Hewan uji menggunakan tikus putih jantan galur wistar, terdiri dari 2 kelompok, dan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus kemudian tikus dipuasakan selama 12 jam lalu ditimbang dan diberi perlakuan.

Kelompok I : Tikus diberi teofilin dengan dosis 54 mg/kg BB sebagai kontrol

Kelompok II : Tikus diberi madu dosis 7,65 mL/kg BB bersamaan dengan pemberian teofilin 54 mg/kg BB

m. Jalur pemejanaan hewan uji

Jalur pemejanaan untuk hewan uji selama penelitian ini berlangsung secara oral, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

4. Uji Farmakokinetika

a. Kelompok kontrol

Sebanyak 5 ekor tikus putih jantan diberi teofilin secara oral dengan dosis 54 mg/kg BB. Pada jam ke-0, sebelum teofilin dipejankan, dilakukan pencuplikan darah tikus terlebih dahulu sebanyak 0,25 mL melalui vena lateralis ekor. Selanjutnya secara serial sampel darah dicuplik pada jam ke-0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; dan 23,0. Sampel yang telah diolah kemudian disimpan dalam lemari pendingin hingga dilakukan analisis kadar teofilin.

b. Kelompok perlakuan

Sebanyak 5 ekor tikus putih jantan diberi madu 7,65 mL/kg BB tikus bersamaan dengan pemberian teofilin 54 mg/kg BB. Pada jam ke-0, sebelum teofilin dipejankan, dilakukan pencuplikan darah tikus terlebih dahulu sebanyak 0,25 mL melalui vena lateralis ekor. Selanjutnya secara serial sampel darah dicuplik pada jam ke-0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; dan 23,0. Sampel yang telah diolah kemudian disimpan dalam lemari pendingin hingga dilakukan analisis kadar teofilin.

D. Penentuan Parameter Farmakokinetika Teofilin

Parameter fase absorpsi diperoleh dari hasil perhitungan secara manual dengan menggunakan rumus :

k_a = metode residual

$$t_{maks} = \text{Ln} (k_a/k) / (k_a-k)$$

$$C_{p_{maks}} = B e^{-k.t_{maks}} - A e^{-k_a.t_{maks}}$$

AUC = metode residual

$$AUC = (B/k) - (A/k_a)$$

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t_1} + AUC_{t_1-t_2} + \dots AUC_{t_n-t_{\infty}}$$

Parameter fase distribusi diperoleh dari hasil perhitungan secara manual dengan menggunakan rumus :

$$Vd = FD_0k_a / A (k_a - k)$$

$$Vd = (F \times k_a \times D_0) / (k_a \times AUC_{0-\infty})$$

$$Vd = D_0 / Cp_0$$

Parameter fase eliminasi diperoleh dari hasil perhitungan secara manual dengan menggunakan rumus :

k = persamaan regresi linier I (garis eliminasi antara titik eliminasi dan $\ln Cp$)

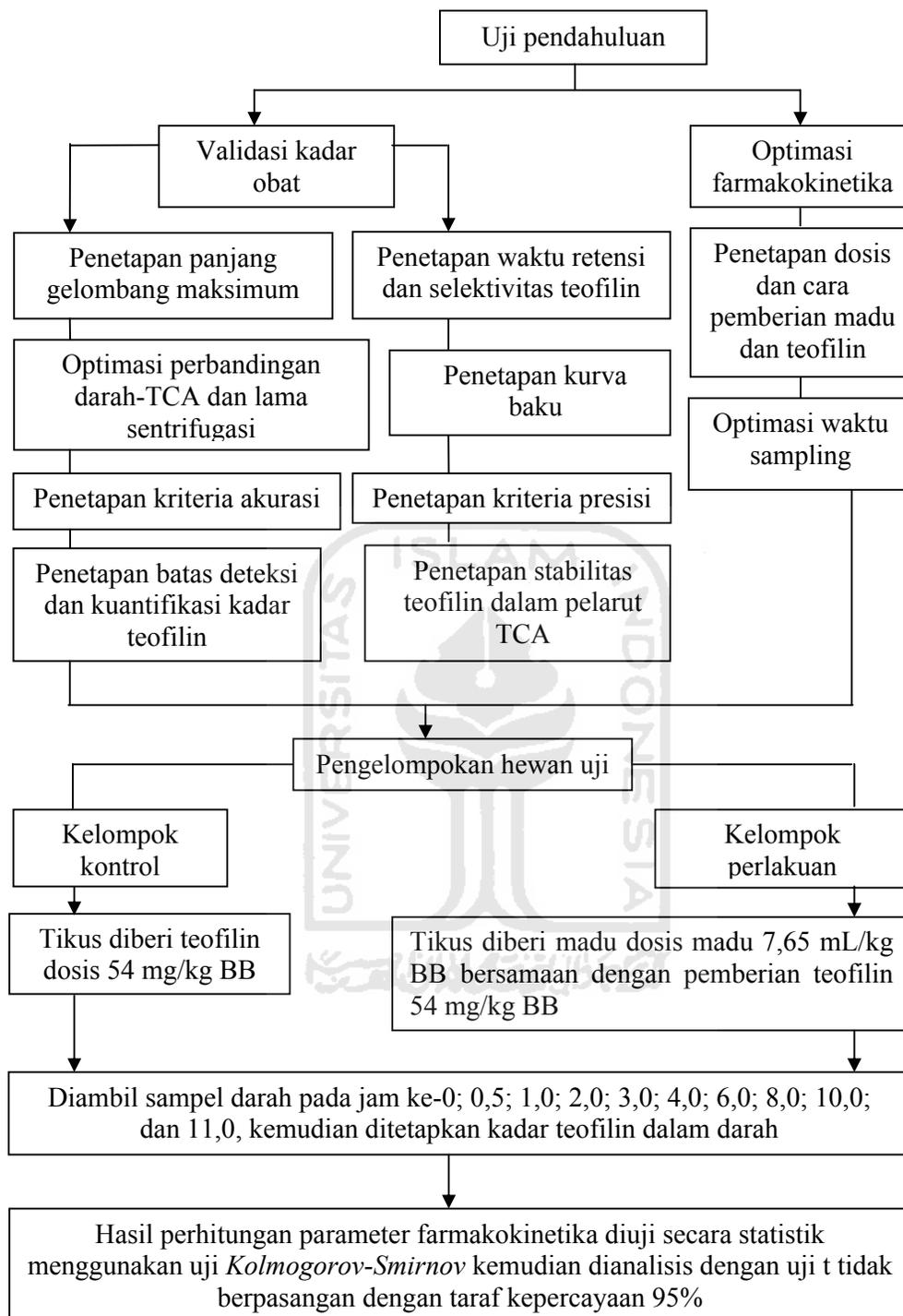
$$t_{1/2} = 0,693 / k$$

$$Cl_T = k V_d$$

$$Cl_T = Dosis / AUC_{0-\infty}$$

E. Analisa Hasil

Parameter farmakokinetika ditetapkan berdasarkan grafik hubungan kadar obat yang diperoleh dengan waktu sampling. Analisis dilakukan dengan asumsi model kompartemen satu ekstrasvaskular menggunakan perhitungan manual dengan bantuan perangkat lunak berupa *Microsoft Excel 2007*. Parameter farmakokinetika yang ditetapkan meliputi tetapan laju absorpsi (k_a) menggunakan metode residual, volume distribusi (V_d), klirens total (Cl_T), tetapan laju eliminasi (k) menggunakan regresi $\ln Cp$ terhadap waktu pada fase eliminasi, waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$), kadar maksimum obat dalam tubuh (Cp_{maks}), waktu maksimum obat mencapai kadar tertinggi (t_{maks}), dan area di bawah kurva ($AUC_{0-\infty}$). Parameter yang diperoleh pada kedua kelompok tersebut dianalisis dengan program SPSS 16.0 tahun 2007 melalui uji *Kolmogorov-Smirnov* kemudian dianalisis dengan uji t tidak berpasangan dengan taraf kepercayaan 95%.



Gambar 5. Alur Penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Teofilin merupakan salah satu obat yang memiliki indeks terapi yang sempit yaitu 10-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang digunakan dalam terapi asma⁽⁵⁾. Pengetahuan tentang farmakokinetika teofilin perlu diketahui untuk memberikan informasi kepada pasien dalam menggunakan teofilin sebagai terapi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian madu dosis 7,65 mL/kgBB yang diberikan secara peroral terhadap profil farmakokinetika teofilin pada tikus putih jantan galur Wistar. Penelitian dilakukan untuk menambah pengetahuan interaksi farmakokinetika antara obat dengan makanan dengan mengetahui parameter farmakokinetikanya. Penelitian ini telah memenuhi syarat etik dan mendapatkan surat kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (lampiran 1).

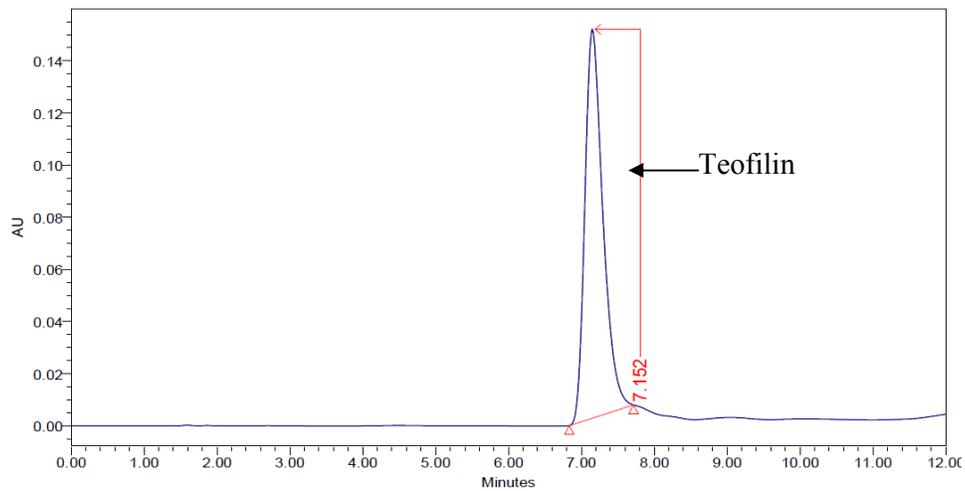
A. Hasil Uji Pendahuluan

1. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum teofilin

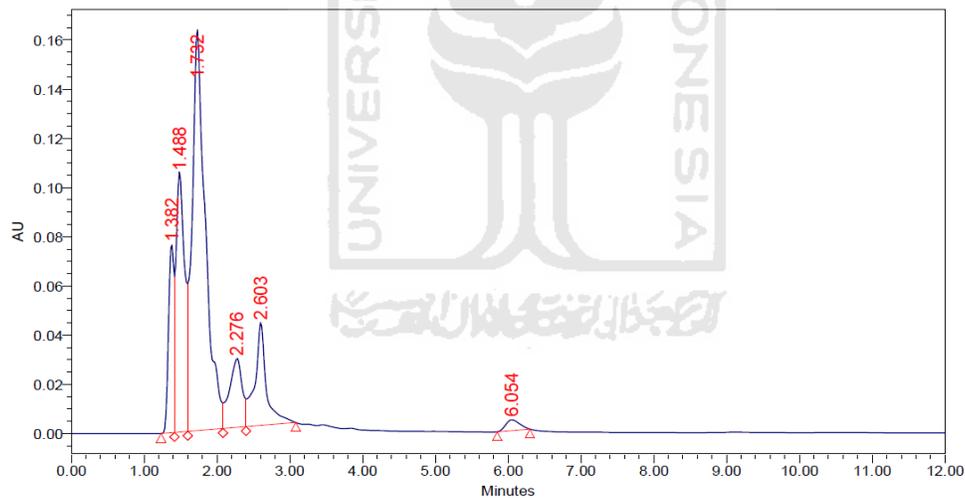
Penetapan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) teofilin dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) menggunakan kadar 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa serapan maksimum terbaca dalam panjang gelombang 271nm (lampiran 2).

2. Penetapan kriteria selektivitas

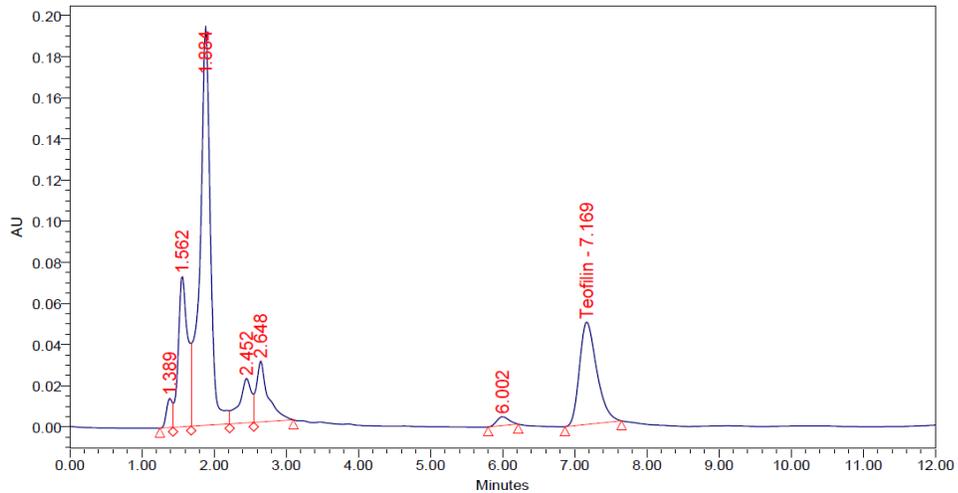
Selektivitas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk membedakan dan mengukur analit terhadap komponen lain di dalam sampel⁽³⁴⁾. Selektivitas dari metode yang digunakan dalam penelitian, diketahui dengan membandingkan hasil kromatogram dari teofilin murni dalam fase gerak, blanko darah, dan teofilin dalam darah secara visual serta menghitung nilai koefisien selektivitas (α).



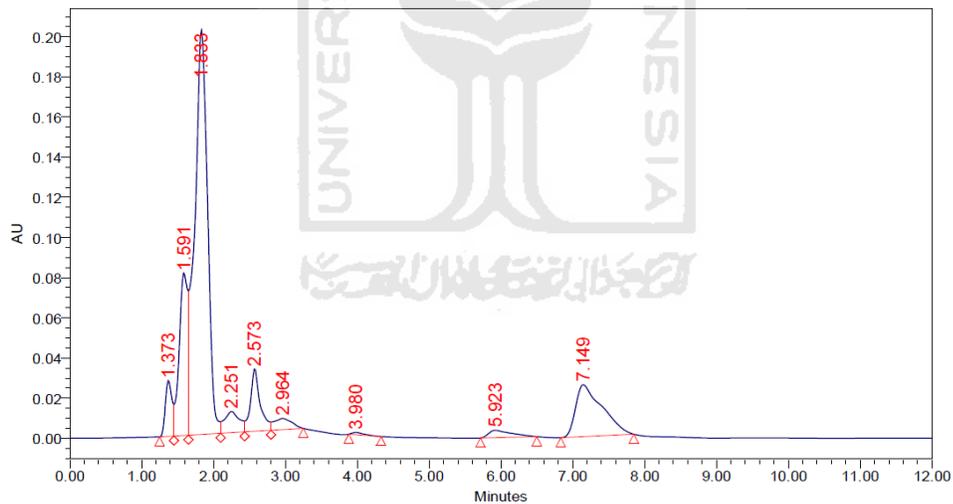
Gambar 6. Kromatogram teofilin kadar 100 μ g/mL dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam kolom C18 5 μ m



Gambar 7. Kromatogram darah dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 5 μ m



Gambar 8. Kromatogram teofilin kadar $24\mu\text{g/mL}$ dalam darah (*in vitro*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 $5\mu\text{m}$



Gambar 9. Kromatogram teofilin dalam darah dalam sampel jam ke-8 pada tikus III yang diberi teofilin dan madu (*in vivo*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 $5\mu\text{m}$

Berdasarkan hasil penelitian waktu retensi teofilin murni dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dengan laju alir 1 mL/menit dan panjang gelombang 271 nm adalah 7,152 menit (gambar 6). Kromatogram blangko darah memiliki enam puncak dengan waktu retensi puncak terakhir adalah 6,054 menit, menunjukkan dalam puncak teofilin tidak terdapat pengaruh dari komponen dalam plasma (gambar 7). Kromatogram teofilin dalam darah telah memperlihatkan bahwa puncaknya dapat terpisah sempurna dari komponen plasma darah, puncak komponen plasma darah yang terdekat dengan teofilin memiliki waktu retensi 6,002, sedangkan teofilin memiliki waktu retensi 7,169 (gambar 8). Nilai α sebesar 1,19 menunjukkan bahwa selektivitas metode analisis yang digunakan dalam penelitian baik yaitu lebih dari 1 (lampiran 3)⁽³⁴⁾.

3. Optimasi perbandingan darah dengan TCA dan lama waktu sentrifugasi

Optimasi perbandingan darah dengan TCA dan lama waktu sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui jumlah TCA dan lama waktu sentrifugasi yang optimum dalam melakukan penetapan kadar teofilin dalam darah.

Tabel II. Luas area di bawah puncak kromatogram pada perbandingan darah dengan TCA dan perbedaan lama sentrifugasi

Darah (μL)	TCA (μL)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area	Kecepatan dan lama sentrifugasi
250	250	20	262613	2500 rpm selama 15 menit
250	500	20	132898	
250	750	20	92830	
250	250	20	219920	2500 rpm selama 20 menit
250	500	20	88591	
250	750	20	58162	

Hasil dari optimasi menunjukkan bahwa perbandingan darah dengan TCA (1:1) dan sentrifugasi 15 menit pada kecepatan 2500 rpm memiliki luas area yang besar, sehingga prosedur ini yang akan digunakan dalam penelitian.

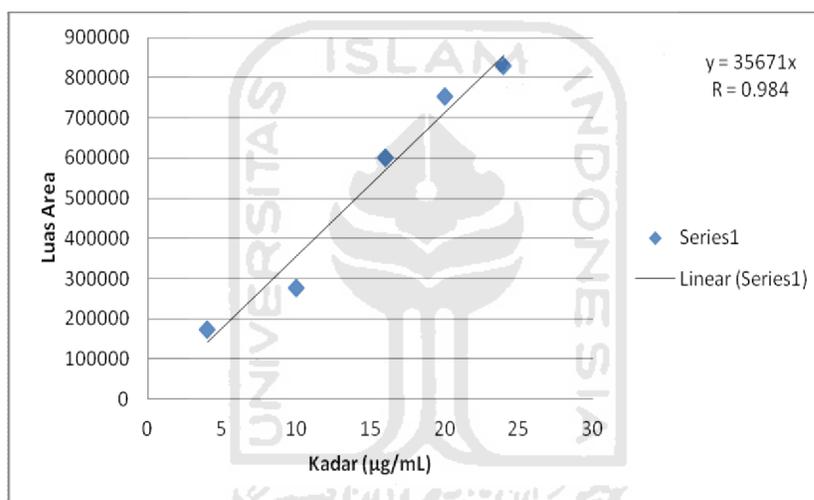
4. Penetapan persamaan kurva baku teofilin dalam darah

Penetapan persamaan kurva baku teofilin dalam darah dengan membuat beberapa seri kadar kemudian diukur luas area di bawah puncak kromatogram dengan menggunakan HPLC (lampiran 4).

Tabel III. Pembacaan luas area di bawah puncak kromatogram pada beberapa seri kadar teofilin dalam darah

No	Seri Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas area
1	4	173710
2	10	275965
3	16	600609
4	20	752600
5	24	829621

Persamaan kurva baku yang diperoleh adalah $y=35862,59x - 4265,4$; nilai $r = 0,984$ (dengan $n=5$, nilai r tabel pada signifikansi 0,05 adalah 0,878), dimana x adalah kadar teofilin dalam darah dan y adalah luas area di bawah puncak kromatogram dari teofilin hasil pengukuran dengan HPLC.



Gambar 10. Grafik kurva baku.

5. Penetapan kriteria sensitivitas

Metode dalam analisis obat dalam suatu spesimen seperti darah atau urin memerlukan teknik yang memiliki selektivitas dan sensitivitas yang tinggi. Berdasarkan hasil perhitungan dalam metode yang digunakan diperoleh nilai LOD sebesar $0,97 \mu\text{g/mL}$, LOQ sebesar $3,24 \mu\text{g/mL}$, dan LLOQ sebesar $1,62 \mu\text{g/mL}$ (lampiran 4).

6. Penetapan kriteria akurasi dan presisi

Perolehan kembali merupakan tolak ukur kriteria inakurasi, kesalahan sistematis merupakan kesalahan yang bersifat konstan yang mengakibatkan penyimpangan tertentu dari rata-rata, sedangkan kesalahan acak dan HORRAT (*Horwitz Ratio*) untuk tolak ukur inpresisi dari metode analisis yang digunakan dalam penetapan kadar. Seri kadar teofilin dalam darah yang digunakan adalah 6, 16, 20, dan 24 µg/mL dengan replikasi tiga kali. Tabel IV menunjukkan nilai perolehan kembali, kesalahan sistematis, kesalahan acak, dan HORRAT dari metode penetapan kadar teofilin dalam darah pada penelitian ini.

Tabel IV. Nilai perolehan kembali, kesalahan sistematis, kesalahan acak, dan HORRAT pada penetapan kadar teofilin dalam darah

Kadar teofilin		Perolehan kembali (%)	Kesalahan sistematis (%)	Kesalahan acak (%)	HORRAT
Diketahui (µg/mL)	Terukur (µg/mL)				
6	6,25	104,17	-4,17	1,38	0,22
	6,22	103,67	-3,67		
	6,09	101,5	-1,5		
Rata-rata±SD		6,19±0,08	103,11±1,42	-3,11±1,42	
16	16,87	105,44	-5,44	1,13	0,21
	16,84	105,25	-5,25		
	16,53	103,31	-3,31		
Rata-rata±SD		16,75±0,19	104,67±1,18	-4,67±1,18	
20	21,1	105,5	-5,5	0,88	0,17
	21,1	105,5	-5,5		
	20,78	103,9	-3,9		
Rata-rata±SD		20,99±0,18	104,97±0,92	-4,97±0,92	
24	23,25	96,88	3,12	0,89	0,18
	23,0	95,83	4,17		
	22,84	95,17	4,83		
Rata-rata±SD		23,03±0,21	95,96±0,86	4,04±0,86	

Berdasarkan data pada tabel IV diperoleh nilai rata-rata perolehan kembali dan kesalahan acak dari masing-masing seri kadar masuk dalam rentang nilai yang diperbolehkan yaitu 100±15% pada pengujian dengan HPLC⁽²⁷⁾. Nilai HORRAT yang berkisar antara 0,17-0,22 menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik, yaitu kurang dari 2 (lampiran 5)^(35,36). Kesimpulan yang didapat adalah metode analisis yang digunakan memiliki kriteria akurasi dan presisi yang baik.

7. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA

Stabilitas obat dalam cairan biologis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu tempat dan suhu penyimpanan, sifat kimia obat, matriks, dan sistem kontainer⁽³⁴⁾. Penetapan stabilitas teofilin dalam plasma darah bertujuan mengetahui kestabilan selama beberapa waktu jika disimpan dalam lemari pendingin atau *freezer* dengan suhu 5-10°C, karena penginjeksian sampel ke HPLC tidak memungkinkan dibaca secara langsung⁽³⁴⁾. Penetapan stabilitas teofilin dalam plasma darah dihitung sebagai persentase degradasi terhadap kadar awal.

Tabel V. Persentase degradasi teofilin dalam plasma darah pada penyimpanan dalam lemari pendingin

Jam ke-	Luas area	Kadar teofilin dalam darah (µg/mL)	Degradasi (%)
0	1177654	33,49	0
24	1124127	31,94	4,63
48	1093230	31,05	7,28

Pemilihan waktu uji stabilitas teofilin selama dua hari bertujuan untuk mengetahui kadar obat dan persentase degradasi selama dua hari dalam lemari pendingin sebelum menetapkan kadar teofilin dalam proses selanjutnya. Pemilihan waktu dua hari dikarenakan pembacaan sampel setelah dipreparasi maksimal dua hari. Penyimpanan sampel di dalam lemari pendingin maksimal 24 jam kemudian ditetapkan kadar teofilin menggunakan HPLC, karena penyimpanan setelah 24 jam kadar teofilin semakin berkurang, hal tersebut disebabkan senyawa biologis yaitu, plasma sangat rentan terhadap kondisi suhu. Persentase degradasi yang dikehendaki $\leq 10\%$ ⁽²⁸⁾, dengan melihat asumsi bahwa kadar sampel yang disimpan tidak boleh berkurang dan rusak (lampiran 6).

8. Penetapan dosis penelitian

Dosis yang digunakan dalam penelitian adalah 54 mg/kgBB, di mana dosis tersebut jika dikonversikan ke dalam dosis manusia berada dalam rentang dosis yang diperbolehkan, yaitu 600 mg⁽¹⁹⁾. Dosis madu yang digunakan dalam penelitian dan diberikan bersamaan dengan teofilin adalah 7,65 mL/kgBB. Dosis madu diperoleh dari penelitian sebelumnya, di mana madu telah diberikan pada

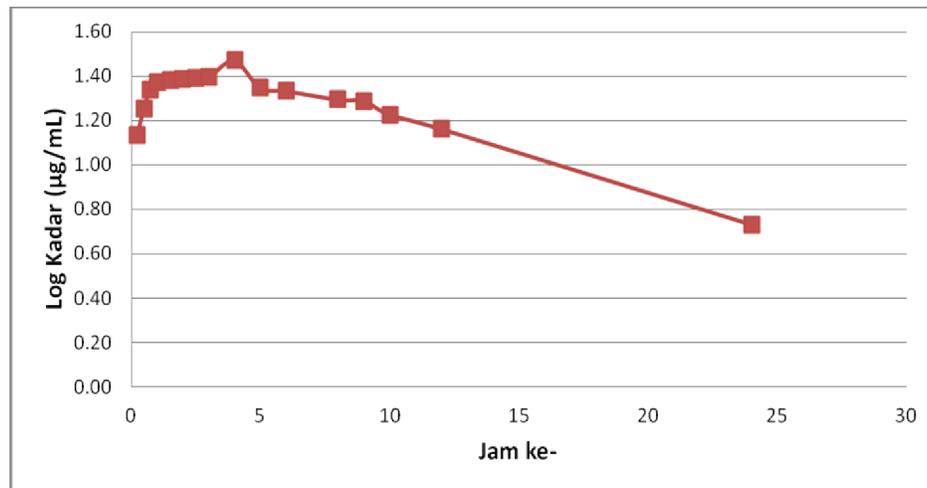
mencit dengan dosis 10,92mL/kgBB, kemudian dikonversikan ke dalam dosis tikus dengan asumsi berat badan tikus 200-300g. Tiap ekor tikus diberikan madu sebanyak 1,53mL/200g BB tikus. Madu yang digunakan dalam penelitian adalah murni dan tidak terlalu kental, sehingga memudahkan tikus dalam mencernanya serta tidak perlu menambahkan air minum. Pemberian madu pada tikus ini setara dengan 5 sendok makan untuk manusia ($\pm 75\text{mL}$), diasumsikan untuk penggunaan bersamaan dengan teofilin untuk menutupi rasa pahit obat dan sekaligus untuk terapi alternatif asma, dikarenakan asma membutuhkan terapi segera.

Tabel VI. Tabel konversi dosis

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	9,2	17,8	56
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	2,4	4,5	14,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1,0

9. Penetapan waktu *sampling*

Penetapan waktu *sampling* darah tikus dilakukan setelah pemberian teofilin dosis 54mg/kgBB secara peroral pada hewan uji. Waktu *sampling* yang digunakan adalah jam ke-0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; dan 24,0. Rentang waktu antara jam ke-12 sampai jam ke-24 tidak dilakukan pencuplikan darah dikarenakan waktu yang tidak memungkinkan melakukan kegiatan di laboratorium.



Gambar 11. Profil Farmakokinetika teofilin optimasi waktu *sampling*.

Berdasarkan hasil perhitungan (lampiran 7) didapatkan $t_{1/2}$ eliminasi teofilin adalah 8,66 jam, sehingga lama waktu *sampling* ideal menurut hasil perhitungan selama 25,98-43,3 jam ($3-5 t_{1/2}$ eliminasi)⁽¹⁰⁾. Pada penelitian ini waktu *sampling* untuk kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan sebanyak 10 kali, yaitu pada jam ke 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; dan 23,0. Pada penentuan titik absorpsi dianggap terlalu banyak mengambil darah setiap waktu, sehingga beberapa titik pada absorpsi dihapus agar titik-titik fase ini tidak terlalu berhimpit dan dapat diketahui waktu absorpsinya.

10. Penetapan model kompartemen

Berdasarkan pengamatan pada grafik optimasi waktu *sampling* (gambar 11) dapat terlihat bahwa teofilin mengikuti model satu kompartemen ekstrasvaskular. Dalam grafik model satu kompartemen ekstrasvaskuler terlihat fase absorpsi dan eliminasi, tidak memperlihatkan fase distribusi karena teofilin distribusinya sangat cepat dan secara teori teofilin memiliki model satu kompartemen. Perhitungan parameter farmakokinetik selanjutnya mengikuti model satu kompartemen ekstrasvaskular karena obat teofilin diberikan secara peroral.

B. Hasil Uji Farmakokinetika

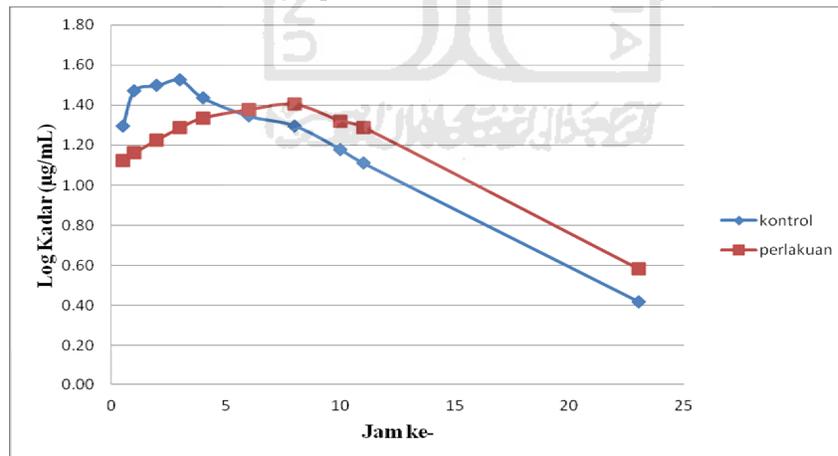
Data penelitian farmakokinetika teofilin yang diberikan secara peroral pada kelompok kontrol dan perlakuan masing-masing disajikan pada tabel VII. Perhitungan parameter farmakokinetika untuk masing-masing tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan diperlihatkan pada lampiran 8.

Tabel VII. Data kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$) pada kelompok kontrol dan perlakuan ($n=5$)

Waktu <i>Sampling</i> (jam ke-)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	
	Kelompok Kontrol (Rata-rata \pm SE)	Kelompok Perlakuan (Rata-rata \pm SE)
0,5	19,67 \pm 2,37	13,24 \pm 2,80
1	29,60 \pm 1,52	14,48 \pm 2,79
2	31,45 \pm 1,20	16,85 \pm 2,92
3	33,48 \pm 1,49	19,35 \pm 3,35
4	27,27 \pm 0,85	21,66 \pm 3,64
6	22,15 \pm 1,26	23,86 \pm 2,32
8	19,81 \pm 0,97	25,32 \pm 2,26
10	15,10 \pm 1,69	20,90 \pm 2,30
11	12,89 \pm 1,22	19,45 \pm 3,13
23	2,63 \pm 0,25	3,82 \pm 0,59

Keterangan:

- Kelompok kontrol adalah pemberian teofilin secara peroral dosis 54mg/kgBB
- Kelompok perlakuan adalah pemberian teofilin secara peroral dosis 54mg/kgBB bersamaan dengan pemberian madu dosis 7,65 mL/kgBB



Gambar 12. Kurva kadar teofilin dalam darah terhadap waktu pada kelompok kontrol dan perlakuan.

Penetapan parameter farmakokinetika dalam penelitian berdasarkan hasil penentuan model kompartemen, yaitu mengacu model satu kompartemen ekstrasvaskular. Parameter yang ditetapkan meliputi beberapa fase, yaitu fase

absorpsi adalah kecepatan absorpsi (k_a), waktu obat mencapai kadar maksimal (t_{maks}), kadar obat maksimal ($C_{p_{maks}}$), dan area obat di bawah kurva ($AUC_{0-\infty}$), fase distribusi adalah volume distribusi (V_d), dan fase eliminasi adalah kecepatan eliminasi (k), waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$), dan klirens total (Cl_T). Data hasil penelitian diolah dengan perangkat lunak *Microsoft Excel 2007* (lampiran 8). Parameter farmakokinetika dari kelompok kontrol maupun perlakuan dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* kemudian dilanjutkan uji *t* tidak berpasangan dengan taraf kepercayaan 95% (tabel VII).

Tabel VIII. Harga parameter farmakokinetika dan uji *t* tidak berpasangan untuk teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan

Parameter Farmakokinetika	Harga Parameter (Rat-rata±SE)		% Beda	Uji <i>t</i> tidak berpasangan (nilai P)
	Kontrol	Perlakuan		
k_a (/jam)	0,79±0,17	0,25±0,01	-68,35	0,033*
t_{maks} (jam)	2,94±0,35	5,51±0,13	+46,64	0,001*
$C_{p_{maks}}$ (µg/mL)	32,67±2,27	17,13±2,88	-47,57	0,003*
$AUC_{0-\infty}$ (µg.jam/mL)	356,72±24,66	283,74±57,24	-20,46	0,290
V_d (mL/kg)	1196,40±72,90	1985,14±259,00	+65,93	0,036*
k (/jam)	0,134±0,01	0,132±0,02	-1,49	0,914
$t_{1/2}$ (jam)	5,22±0,26	5,56±0,65	+6,51	0,653
Cl_T (mL/jam.kg)	160,68±14,00	270,47±67,38	+68,33	0,018*

*)perubahan nilai parameter yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji *t* tidak berpasangan dapat diketahui bahwa pengaruh pemberian madu dosis 7,65mL/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54mg/kgBB secara peroral pada hewan uji menghasilkan perbedaan bermakna pada beberapa parameter farmakokinetika yaitu, k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, V_d , dan Cl_T ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dipengaruhi oleh pemberian madu.

C. Pembahasan

Parameter farmakokinetika adalah harga yang diturunkan secara matematis dari hasil pengukuran kadar obat dalam darah, urin, atau matriks biologis lainnya. Parameter tersebut terdiri dari tiga macam, yaitu primer, sekunder, dan tersier. Parameter primer meliputi k_a , V_d , dan Cl_T , parameter tersebut sangat dipengaruhi oleh perubahan salah satu atau lebih dari variabel fisiologis. Harga parameter sekunder dipengaruhi oleh parameter primer tertentu karena adanya perubahan suatu variabel fisiologis, yaitu k dan $t_{1/2}$, sedangkan parameter tersier harganya tidak hanya bergantung dari parameter primer, tetapi juga terhadap dosis dan kecepatan pemberian obat, contohnya yaitu $AUC_{0-\infty}$, $C_{p_{maks}}$, dan t_{maks} . Parameter farmakokinetika yang ditetapkan dalam penelitian meliputi fase absorpsi, distribusi, dan eliminasi. Fase absorpsi terdiri dari:

1. Kecepatan absorpsi (k_a)

Absorpsi obat merupakan proses masuknya obat dari tempat pemberian ke dalam darah. Bergantung pada cara pemberiannya, tempat pemberian obat adalah saluran cerna (dari mulut sampai dengan rektum), kulit, paru, otot, dan lain-lain. Kecepatan absorpsi obat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu luas permukaan dinding usus, kecepatan pengosongan lambung, dan aliran darah ke tempat absorpsi dapat mempengaruhi laju dan jumlah absorpsi obat dipengaruhi beberapa faktor, misalnya formulasi, stabilitas obat terhadap asam lambung, enzim pencernaan dan makanan⁽¹⁰⁾. Penelitian sebelumnya, menjelaskan bahwa terdapatnya glukosa di dalam saluran cerna dapat memperlama kecepatan pengosongan lambung⁽³⁷⁾. Madu merupakan minuman yang mengandung komponen gula tertinggi yaitu glukosa, fruktosa, dan gula kadar tinggi yang diasumsikan seperti kandungan karbohidrat dalam makanan sebagai sumber energi⁽²⁴⁾. Kecepatan pengosongan lambung yang lama mengakibatkan penurunan kecepatan absorpsi obat, sehingga semakin lama obat mencapai darah⁽³⁷⁾. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu bersama teofilin menurunkan kecepatan absorpsi obat secara signifikan sebesar 68,35%. Menurut hipotesa yang telah dikemukakan, bahwa terdapatnya nutrisi karbohidrat dapat meningkatkan absorpsi pada parameter $AUC_{0-\infty}$, tetapi data hasil mengindikasikan pemberian madu bersamaan dengan teofilin dapat menurunkan absorpsi pada parameter

farmakokinetika kecepatan absorpsi (k_a) yang berpengaruh terhadap penurunan $AUC_{0-\infty}$ sebesar 20,46%, tetapi tidak signifikan. Peningkatan kecepatan absorpsi juga berpengaruh pada parameter $C_{p_{maks}}$ dan t_{maks} . Semakin rendah kecepatan absorpsi, kadar obat maksimum dalam plasma akan menurun dan waktu maksimum obat mencapai kadar tertinggi akan meningkat atau lebih lama⁽³⁹⁾. Penurunan kecepatan absorpsi dan kadar obat dalam plasma darah menimbulkan efek terapi obat berkurang atau *subeffect*.

2. Waktu obat mencapai kadar maksimum dalam plasma (t_{maks})

Waktu obat mencapai kadar maksimum dalam darah adalah waktu maksimum yang dibutuhkan obat untuk mencapai kadar tertinggi dalam darah. Parameter t_{maks} dipengaruhi oleh parameter lain yaitu kecepatan absorpsi dan eliminasi. Semakin tinggi kecepatan absorpsi obat, waktu maksimum yang dibutuhkan untuk mencapai kadar maksimum semakin cepat atau berbanding lurus, jika waktu mencapai kadar maksimum cepat, kecepatan eliminasi obat semakin cepat atau berbanding lurus⁽¹⁰⁾. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu bersama dengan teofilin dapat memperlama pencapaian kadar obat tertinggi pada waktu maksimum sebesar 46,64%. Kecepatan absorpsi obat yang rendah, menimbulkan waktu maksimum mencapai kadar obat tertinggi semakin lama, dan kadar maksimum obat akan turun, sehingga waktu untuk mencapai efek maksimum obat lebih lama dibanding kelompok yang tidak diberi perlakuan madu, maka efek obat teofilin yang diberikan bersama madu lebih lama mencapai efek maksimum. Penggunaan teofilin dalam terapi asma membutuhkan terapi yang cepat dan segera, apabila diminum bersama dengan madu dapat menghambat kerja obat dan asma tidak segera tertangani. Sebaiknya, penggunaan teofilin bersama madu dibutuhkan kurang lebih 3 sendok makan madu untuk manusia, dosis madu selanjutnya dapat diberikan beberapa saat setelah minum obat untuk terapi alternatif asma.

3. Kadar obat maksimum dalam plasma ($C_{p_{maks}}$)

Kadar obat maksimum adalah jumlah obat tertinggi dalam darah pada waktu maksimum. $C_{p_{maks}}$ dipengaruhi oleh beberapa parameter, yaitu k_a dan k . Semakin tinggi kecepatan absorpsi obat, kadar obat dalam waktu maksimum semakin tinggi, sehingga kecepatan eliminasi untuk mengeluarkan obat juga semakin cepat. Hasil penelitian menyajikan bahwa pemberian madu bersamaan dengan teofilin dapat menurunkan $C_{p_{maks}}$ sebesar 47,57%, $C_{p_{maks}}$ lebih rendah dibanding dengan kelompok kontrol. Teofilin memiliki indeks terapi yang sempit yaitu, 10-20 $\mu\text{g/mL}$, di mana dengan penambahan sedikit dosis obat maupun pengaruh makanan atau minuman dapat mempengaruhi kadar obat dalam plasma, sehingga dapat menyebabkan efek toksik atau menurunkan efek farmakologi. Pada penelitian sebelumnya, madu dapat menurunkan kadar obat parasetamol dalam darah⁽³¹⁾. Kesimpulan yang didapat adalah pemberian madu bersamaan dengan teofilin guna menutupi rasa pahit obat tidak menyebabkan peningkatan kadar obat dalam darah dan tidak menimbulkan efek toksik, tetapi kemungkinan dapat menurunkan efek terapi dengan berkurangnya kadar obat dalam darah. Pengaruh k_a dan t_{maks} terhadap $C_{p_{maks}}$ adalah penurunan tingkat kecepatan absorpsi obat dan semakin lama obat mencapai plasma akan menurunkan kadar obat dalam plasma darah, sehingga efek obat dalam tubuh akan berkurang. Penurunan $C_{p_{maks}}$ tidak hanya dipengaruhi oleh k_a dan t_{maks} , tetapi juga metabolisme obat. Teofilin setelah mencapai darah akan didistribusikan ke darah dan jaringan, kemudian akan dimetabolisme di hati menjadi bentuk polar, setelah dimetabolisme, kadar obat akan berkurang, sehingga dapat menurunkan efek terapi.

4. Area di bawah kurva ($AUC_{0-\infty}$)

Area di bawah kurva adalah jumlah bioavailabilitas obat yang mencapai dalam darah. Nilai $AUC_{0-\infty}$ dipengaruhi oleh k_a , V_d , dosis dan kecepatan pemberian obat. Pengaruh k_a dan V_d terhadap $AUC_{0-\infty}$ adalah semakin cepat obat terabsorpsi dan volume darah yang terdistribusi dalam obat tinggi, nilai $AUC_{0-\infty}$ semakin tinggi⁽³⁹⁾. Beberapa obat jika diberikan dalam dosis berlipat, nilai $AUC_{0-\infty}$ juga semakin meningkat. Demikian juga semakin cepat pemberian obat, nilai

$AUC_{0-\infty}$ semakin tinggi. Hasil penelitian menyajikan bahwa pemberian madu bersamaan dengan teofilin dapat menurunkan nilai $AUC_{0-\infty}$ sebesar 20,46%, yang berbanding lurus dengan nilai k_a dan $C_{p_{maks}}$, tetapi tidak signifikan. Penurunan kecepatan absorpsi menyebabkan bioavailabilitas obat dalam darah menurun, karena penyampaian obat ke dalam darah lebih lama.

Hasil dari penelitian tidak sesuai dengan hipotesis yang telah dikemukakan, bahwa diet tinggi karbohidrat dapat meningkatkan fase absorpsi yaitu peningkatan $AUC_{0-\infty}$ sebesar 33,3%⁽¹⁰⁾. Penelitian sebelumnya menjelaskan terdapatnya karbohidrat dalam saluran cerna akan menghambat absorpsi obat⁽³⁸⁾. Hal tersebut sangat berbeda, tidak semua absorpsi obat dipengaruhi oleh makanan tetapi luas permukaan saluran cerna, enzim pencernaan, dan lain-lain. Dalam fase absorpsi obat tidak hanya mempengaruhi parameter $AUC_{0-\infty}$, tetapi terdapat parameter k_a , t_{maks} , dan $C_{p_{maks}}$. Penurunan nilai $AUC_{0-\infty}$ oleh pengaruh madu ini dapat menurunkan efek farmakologi, karena bioavailabilitas obat menurun dibanding dengan kelompok kontrol.

Parameter farmakokinetika pada fase absorpsi saling berhubungan satu sama lain, yaitu k_a , $C_{p_{maks}}$, t_{maks} , dan $AUC_{0-\infty}$. Kecepatan absorpsi (k_a) merupakan parameter primer yang dapat mempengaruhi $C_{p_{maks}}$, t_{maks} , dan $AUC_{0-\infty}$ yang termasuk parameter tersier. Pada hasil penelitian, penurunan kecepatan absorpsi teofilin dapat mempengaruhi parameter tersier, yaitu menurunkan kadar obat maksimum ($C_{p_{maks}}$), meningkatkan waktu maksimum obat mencapai kadar tertinggi dalam darah (t_{maks}) sehingga mencapai kadar tertinggi lebih lama, serta menurunkan $AUC_{0-\infty}$ yang tidak signifikan. Ketika absorpsi obat menurun, t_{maks} akan lebih lama, menyebabkan kadar obat menurun dan $AUC_{0-\infty}$ menurun sehingga terjadi penurunan efek terapi obat teofilin.

Setelah obat mencapai kadar maksimum dalam darah akan dilanjutkan pendistribusian obat ke dalam darah. Parameter farmakokinetika pada fase distribusi obat dalam darah yaitu:

1. Volume distribusi (V_d)

Volume distribusi adalah volume darah yang terdistribusi dalam obat. Sebagian besar obat dianggap bahwa obat bersetimbangan secara tepat dalam tubuh. Tiap jaringan dapat mengandung suatu konsentrasi obat yang berbeda

sehubungan dengan perbedaan afinitas obat terhadap jaringan. Obat dengan ikatan protein tinggi akan menyebabkan kadar obat menurun. Obat yang terikat dengan protein akan membentuk molekul yang besar sehingga sulit menembus membran sel, sedangkan obat bebas dalam plasma lebih sedikit. Obat yang tidak mudah terikat protein, obat bebas akan mudah menembus membran sel sehingga mudah berdifusi ke dalam darah dan volume distribusi semakin besar^(38,39). Teofilin memiliki keterikatan protein plasma sebesar 40%.

Pada pemberian madu bersamaan dengan teofilin memberikan hasil bahwa madu dapat meningkatkan volume distribusi teofilin sebesar 65,93%. Terdapatnya kandungan glukosa tinggi untuk dipecah guna menghasilkan energi, keterikatan obat dengan protein lebih rendah, maka obat bebas lebih banyak keluar ke jaringan, ke tempat kerja obat dan ke jaringan tempat depotnya, sehingga volume distribusi meningkat dengan adanya pemberian madu bersama teofilin. Pada kelompok kontrol, teofilin akan berikatan dengan protein plasma lebih banyak yaitu dengan albumin, α -glikoprotein, dan protein lainnya yang menyebabkan kompleks obat-protein terdisosiasi sangat cepat. Volume distribusi juga dapat mempengaruhi nilai $t_{1/2}$, $AUC_{0-\infty}$, Cl_T , dan k dalam tubuh⁽³⁸⁾. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi V_d , klirens total akan semakin tinggi, tetapi berbanding terbalik dengan kecepatan eliminasi.

Obat teofilin yang telah terdistribusi dalam darah dan mengalami metabolisme dengan cepat akan tereliminasi dari dalam tubuh. Parameter farmakokinetika pada fase eliminasi obat dalam darah yaitu:

1. Kecepatan eliminasi (k)

Tetapan laju eliminasi atau kecepatan eliminasi adalah tetapan laju pada orde ke satu dengan satuan waktu⁻¹. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu bersamaan dengan teofilin dapat menurunkan tetapan laju eliminasi sebesar 1,49%, tetapi tidak signifikan. Kecepatan eliminasi obat dapat mempengaruhi nilai klirens obat total, pada penelitian nilai k dan Cl_T berbanding terbalik, tetapan laju eliminasi menurun, klirens total meningkat. Hal tersebut disebabkan faktor-faktor fisiologis hewan uji yang tidak diketahui oleh peneliti dalam hal organ ekskresi obat, karena setiap fisik hewan uji tidak sama dalam mengabsorpsi, memetabolisme, dan mengekskresikan obat. Volume distribusi

yang meningkat juga menyebabkan penurunan laju eliminasi obat, semakin banyak obat dalam darah, kecepatan pengeluaran obat semakin rendah. Dari data yang diperoleh, semakin rendah kecepatan absorpsi dan tingginya volume distribusi, semakin rendah pula kecepatan eliminasi obat.

2. Waktu paruh ($t_{1/2}$)

Waktu paruh adalah rentang waktu di mana kadar obat dalam plasma pada fase eliminasi menurun sampai separuhnya. Waktu paruh obat dipengaruhi oleh volume distribusi dan klirens obat total, semakin tinggi volume distribusi obat, waktu paruh obat akan lebih lama, dan klirens total obat semakin tinggi⁽³⁹⁾. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu paruh obat teofilin yang diberikan bersamaan dengan madu meningkat sebesar 6,51%, tetapi tidak signifikan. Hasil penelitian tidak sesuai dengan hipotesis yang telah dikemukakan, bahwa diet tinggi karbohidrat dapat meningkatkan atau memperlama waktu paruh sebesar 42%⁽¹⁰⁾. Hal tersebut dapat disebabkan oleh keberadaan glukosa dalam madu akan cepat diabsorpsi oleh saluran cerna karena sudah dalam bentuk gula sederhana yang mudah diserap oleh usus halus, sehingga pengaruh terhadap peningkatan waktu paruh sangat kecil. Parameter waktu paruh ini dipengaruhi oleh V_d dan Cl_T . Peningkatan waktu paruh obat teofilin dalam darah yang tidak signifikan, tidak menyebabkan obat lama dalam tubuh, sehingga pemberian madu bersama teofilin tidak dapat meningkatkan kadar obat dalam darah. Jika waktu paruh meningkat signifikan, kemungkinan dapat terjadi peningkatan kadar obat dan dapat menimbulkan efek toksik.

3. Klirens total (Cl_T)

Klirens obat adalah suatu ukuran eliminasi obat dari tubuh tanpa mempermasalahkan mekanisme prosesnya⁽¹⁰⁾. Klirens obat dapat dipengaruhi oleh V_d dan $t_{1/2}$, kecepatan sirkulasi darah dan kemampuan organ dalam mengeliminasi obat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu bersamaan dengan teofilin dapat meningkatkan klirens obat dengan signifikan sebesar 68,33%. Pengaruh dari tingginya volume distribusi, banyak obat dalam

darah, maka jumlah obat yang dieliminasi akan semakin banyak, dan waktu tinggal obat semakin lama.

Pada parameter farmakokinetika fase distribusi dan eliminasi dapat ditarik beberapa hubungan antar parameter. Perubahan pada parameter volume distribusi (V_d), kecepatan absorpsi (k_a), dan klirens total (Cl_T) sebagai parameter primer pada kelompok perlakuan yang diberi teofilin dan madu dapat mempengaruhi parameter sekunder, yaitu kecepatan eliminasi (k) dan waktu paruh ($t_{1/2}$). Dari hasil penelitian didapatkan, bahwa semakin rendah kecepatan absorpsi teofilin, maka nilai k , $C_{p_{maks}}$, t_{maks} , dan $AUC_{0-\infty}$ akan menurun. Parameter $t_{1/2}$ dipengaruhi oleh V_d , yaitu semakin besar volume distribusi obat, maka waktu paruh semakin lama, tetapi peningkatannya tidak signifikan. Peningkatan waktu paruh juga dipengaruhi oleh Cl_T , semakin besar klirens total obat, waktu lama tinggal obat akan semakin rendah.

Hasil penelitian yang didapatkan untuk mengetahui perubahan profil farmakokinetika teofilin dosis 54mg/kgBB yang diberikan bersamaan dengan madu dosis 7,65mL/kgBB secara peroral, signifikan mempengaruhi parameter k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, V_d , dan Cl_T serta $AUC_{0-\infty}$, $t_{1/2}$, dan k , sedikit dipengaruhi oleh pemberian madu dengan nilai yang tidak signifikan. Parameter k_a dapat menurun sebesar 68,35% dikarenakan terdapatnya glukosa dalam saluran cerna sehingga menghambat absorpsi obat. Penurunan kecepatan absorpsi obat menimbulkan peningkatan t_{maks} sebesar 46,64%, penurunan $C_{p_{maks}}$ sebesar 47,57%, dan $AUC_{0-\infty}$ 20,46% yang tidak signifikan, semakin menurun, sehingga madu dapat menyebabkan kadar obat dalam plasma menurun dan efek farmakologi obat berkurang.

Peningkatan parameter V_d sebesar 65,93% dipengaruhi oleh keterikatan obat dengan protein yang rendah karena terdapat kadar tinggi glukosa. Teofilin berikatan dengan sedikit protein sehingga jumlah obat bebas dalam darah lebih besar akan menyebabkan volume distribusi obat sangat tinggi. Parameter V_d ini mempengaruhi nilai k , $t_{1/2}$, dan Cl_T , ketika V_d tinggi, maka waktu paruh eliminasi obat semakin lama dan jumlah obat yang dieliminasi semakin banyak.

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan menambah waktu pencuplikan darah pada hewan uji terutama pada waktu perkiraan eliminasi obat yaitu pada jam ke 12-22. Hal tersebut belum dilakukan dalam penelitian dikarenakan keterbatasan waktu dan penggunaan laboratorium. Pencuplikan pada jam tersebut agar dapat diketahui gambaran pada fase eliminasi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian pengaruh pemberian madu dosis 7,65mL/kgBB bersamaan dengan teofilin dosis 54mg/kgBB secara peroral dapat menurunkan nilai k_a dan $C_{p_{maks}}$, serta dapat meningkatkan nilai t_{maks} , V_d , dan Cl_T secara bermakna.

B. Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti memberikan saran agar penelitian selanjutnya dapat mengambil cuplikan darah pada rentang waktu eliminasi obat agar diketahui gambaran eliminasi yang lebih tepat.



DAFTAR PUSTAKA

- (1) Bland, S.E., 1998, Drug Food Interaction, *Journal of University of Wisconsin Hospital and Clinics, Missouri*:28-29.
- (2) Haroen, R., 2007, Khasiat Madu untuk Kesehatan, *Jurnal Bumi Nusantara*:1-2.
- (3) Sforcin, J. M., Bankova, V., 2010, Propolis: Is there a Potential for the Development of New Drugs?, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 133, 253-260.
- (4) Rubin, R. N., Navon, L., Cassano, P.A., 2003, Relationship of Serum Antioxidants for Asthma Prevalence in Youth, *The American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 169, 393-398.
- (5) Jalal, A. N., Latif, A.R.A., J., Al-Mukhtar E., Mohammed, Q.Q., 2008, The Effect of Celery Seeds with Honey in Treatment of Bronchial Asthma, *Medical Journal of Babylon*, 5(1):1-3.
- (6) Levy, M., 2000, Asthma Care by Nurse Practitioners in the USA, *Journal of the General Practice Airways Group*, Vol 9, No 2.
- (7) Soeparman, 1996, *Ilmu Penyakit Dalam*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 21.
- (8) Vita Health, 2005, *Asma Informasi Lengkap Untuk Penderita dan Keluarganya*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 102-104.
- (9) Stockley, I.H., 1996, *Drug Interaction*, Blackwell Science, Nottingham, England.
- (10) Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC, 2005, *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 5th ed., McGraw-Hill Medical Publishing Division, Boston.
- (11) McCabe, B. J., Frankel, E.H., Wolfe, J.J., 2003, *Handbook of Food-Drug Interaction*, CRC Press, Washington, D.C.
- (12) Woods, D. J., 2005, *Introduction to Drug Interactions*, New Zealand College of Pharmacist, New Zealand.
- (13) Smith, D. A., Waterbeemd, H., Walker, D.K., 2006, *Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design*, 2nd ed, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaa, Weinheim.
- (14) Gibson, G.G. and Skett, P., 1991, *Pengantar Metabolisme Obat*, Penerbit Iis Aisyah B, UI Press, Jakarta, 211-213.
- (15) Mozayani, A., Raymon, L.P., 2004, *Handbook of Drug Interaction*, Humana Press, Totowa, New Jersey.
- (16) Tatro, D. S., 1983, *Drug Interaction Facts*, Edisi 5, Facts and Comparison, St.Louis, Missouri.
- (17) Donatus, I. A., 1985, Strategi Penelitian Farmakokinetika, *Cermin Dunia Kedokteran*, Nomor 37.
- (18) Gibaldi, M., Perrier, D., 2007, *Pharmacokinetics*, Edisi Kedua, Informa Healthcare, New York, USA
- (19) Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 783.
- (20) Dollery, S.C., 1991, *Therapeutic Drugs*, vol 2, T32-T40, Churchill Livingstone, Edinburg.

- (21) Goodman, L. S., Gilman, A., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th ed. Elmsford, New York: McGraw-Hill, 2000.
- (22) Dipiro, J., Talbert, R., Yee, G., Matzke, G., Wells, and B., Posey, L., 2008, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Seventh Edition*, McGraw-Hill Medical Publishing, New York.
- (23) Winter, M.E., 1994, *Basic Clinical Pharmacokinetics*, 3rd ed., Applied Therapeutics, Inc., Vancouver.
- (24) Jeffrey, A.E., Echazarreta, C.M., 1996, Medical Use of Honey, *Review Biomed*, Volume 7, Nomor 1.
- (25) Chepulis, M.L., 2008, An Investigation of the Health Benefits of Honey as Replacement For Sugar In the Diet, *Thesis*, New Zealand: The University of Waikato, diakses pada tanggal 30 Oktober 2011 dari <http://adt.waikato.ac.nz/uploads/approved/adt-uow2011119.150108/public/02whole.pdf>
- (26) Anonim, 2008, *Potensi Interaksi Analgesik dengan Obat Tradisional/Produk Komplemen*, InfoPOM, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Vol. p, No. 4.
- (27) Gandjar, I.G., Rohman, A., 2009, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 378.
- (28) Dong, M.W., 2006, *Modern HPLC for Practicing Scientists*, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey.
- (29) Aguilar, M.I., 2005, *HPLC of Peptides and Proteins*, Methods in Molecular Biology, Volume 251, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- (30) Anonim, 2000, *Prominence Preparative HPLC System*, Shimadzu High Performance Liquid Chromatograph, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan.
- (31) Astuti, P., Nurrochmad, A., 2010, *Komisi Ethical Clearance Manual Prosedur dan Instruksi Kerja*, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- (32) Anonim, 2007, *US Pharmacopoeia 30-NF25*, CRC Press, New York, 3319-3323.
- (33) Soediono, J.B., 2007, Pengaruh Susu Kedelai Dosis 50 mL/kg BB terhadap Bioavaibilitas Teofilin pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (34) Anonim, 2001, *Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation*, Center for Drug Evaluation and Research, Rockville.
- (35) Anonim, 2011, *Horwitz Ratio*, terdapat dalam <http://www.pollach.at/pages/icumsa/horrat.html> (diakses 11 April 2012).
- (36) Mc Clure, F.D., Lee, J.K., 2003, Computation of HORRAT Values, *Journal of AOAC International*, Volume 86, Nomor 5, Paint Branch Pkwy, College Park.
- (37) Nurita, M., 2009, Pengaruh Sediaan Madu Bunga Kelengkeng (*Nephelium longata L*) terhadap Farmakokinetika Parasetamol yang Diberikan Bersama secara Oral pada Kelinci Jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- (38) Gunaratna, C., 2001, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics in Drug Discovery: A Primer For Bioanalytical Chemist*, Part II, Volume 19, Nomor 3, Bioanalytical Systems Incorporation, West Lafayette, IN.

- (39) Panchagnula, R., Thomas, N.S., 2000, Biopharmaceutics and Pharmacokinetics in Drug Research, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 200, Punjab, India.



Lampiran 1. Surat kelaikan etik



**MINISTRY OF NATIONAL EDUCATION
FACULTY OF MEDICINE GADJAH MADA UNIVERSITY
MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC)**

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Ref : KE/FK/ 218 /EC

Title of the Research Protocol : Pengaruh Pemberian Madu terhadap Profil Farmakokinetika Teofilin pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Documents Approved : Study Protocol

Principle Investigator : Yunita Paramitasari

Name of medically Responsible Physician(s) : 1. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt
2. Fithria Dyah Ayu S, M.Sc., Apt

Date of Approval : 09 APR 2012

Institution(s)/place(s) of research : Laboratorium Terpadu U11

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the above protocol meets the ethical principle outlined in the Declaration of Helsinki 1975 and therefore can be carried out.

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) has the right to monitor the research activities at any time.


Prof.dr.Mohammad Hakimi, Sp.OG (K),Ph.D
Chairman

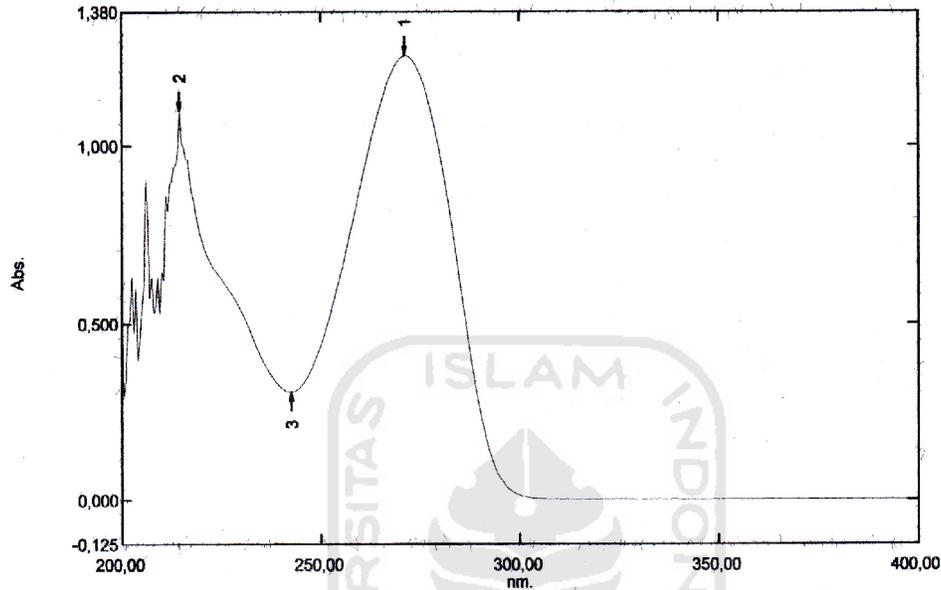

dr. Madarina Julia, Sp.A(K), MPH.,Ph.D
Secretary

Lampiran 2. Panjang gelombang maksimum teofilin

Spectrum Peak Pick Report

10/01/2008 02:11:37

Data Set: Lamda max Theophylline 20 ppm Baiq - RawData



Measurement Properties
 Wavelength Range (nm.): 200,00 to 400,00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 0,5
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

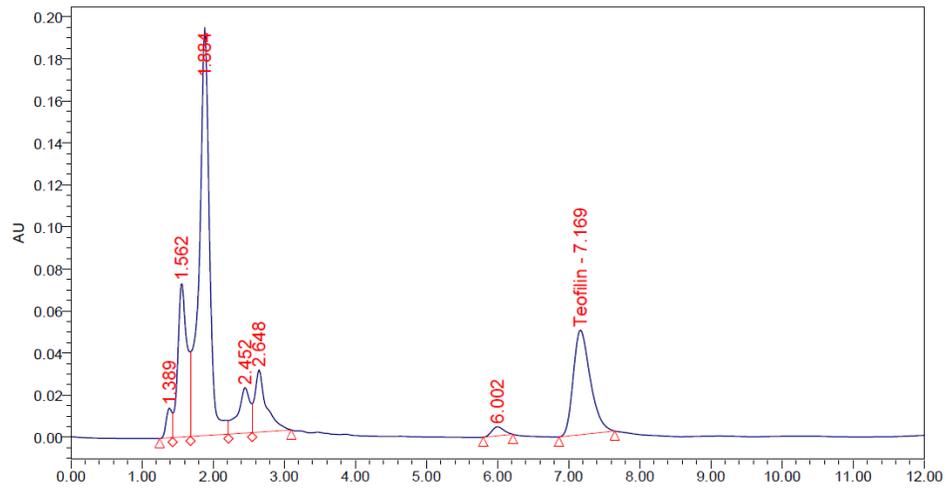
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	271,00	1,255	
2	●	214,50	1,097	
3	●	242,50	0,305	

Instrument Properties
 Instrument Type: UV-1800 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1,0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340,8 nm
 S/R Exchange: Normal

Attachment Properties
 Attachment: None

Sample Preparation Properties
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Lampiran 3. Penetapan kriteria selektivitas



Gambar 13. Kromatogram teofilin kadar 24 μ g/mL dalam darah (*in vitro*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18 5 μ m untuk kriteria selektivitas.

Perhitungan α (koefisien selektivitas):

$$\alpha = k_B/k_A = [(t_R)_B - t_M] / [(t_R)_A - t_M]$$

t_R = waktu retensi teofilin
 t_M = waktu retensi senyawa terdekat teofilin

$$\alpha = (7,169-0)/(6,002/0)$$

$$\alpha = 1,19$$

Nilai α yang direkomendasikan adalah >1 , semakin besar dari 1 maka semakin baik selektivitas suatu metode analisis.

Lampiran 4. Penetapan persamaan kurva baku teofilin dalam darah dan kriteria sensitivitas

Tabel IX. Penetapan kurva baku

x	y
4	173710
10	275965
16	600609
20	752600
24	829621
A= -4265,4	
B= 35862,59	
R= 0,984	
Persamaan kurva baku y=35862,59 x – 4265,4	

Tabel X. Penetapan kriteria sensitivitas

x	Y	y _i	(y-y _i)	(y-y _i) ²
0,1	5093	2451,52	2641,48	6977416,59
0,5	8877	10887,99	-2010,99	4044080,78
1	26651	21433,58	5217,42	27221471,46
2	33067	42524,76	-9457,76	89449224,22
4	88317	84707,12	3609,88	13031233,61
			Jumlah	140723426,7
A=	342,4			
B=	219091,18			
R=	0,984			
			LOD (µg/mL) =	0,97
S(y/x) ² =	46907808,89		LLOQ (µg/mL) =	1,62
S(y/x) =	6848,93		LOQ (µg/mL)=	3,24

Contoh perhitungan:

$$S(y/x)^2 = (\sum (y-y_i)^2) / (n-2) = 140723426,7 / 3 = 46907808,89$$

$$S(y/x) = \sqrt{S(y/x)^2} = \sqrt{46907808,89} = 6848,93$$

$$LOD = (3 \times S(y/x) / B \text{ (slope)}) = (3 \times 6848,93) / 219091,18 = 0,97 \mu\text{g/mL}$$

$$LLOQ = (5 \times S(y/x) / B \text{ (slope)}) = (5 \times 6848,93) / 219091,18 = 1,62 \mu\text{g/mL}$$

$$LOQ = (10 \times S(y/x) / B \text{ (slope)}) = (10 \times 6848,93) / 219091,18 = 3,24 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 5. Penetapan kriteria akurasi dan presisi**Tabel XI.** Hasil perhitungan kriteria akurasi dan presisi

Kadar teofilin		Perolehan kembali (%)	Kesalahan sistematik (%)	Kesalahan acak (%)	HORRAT
Diketahui ($\mu\text{g/mL}$)	Terukur ($\mu\text{g/mL}$)				
6	6,25	104,17	-4,17	1,38	0,22
	6,22	103,67	-3,67		
	6,09	101,5	-1,5		
Rata-rata \pm SD	6,19 \pm 0,08	103,11 \pm 1,42	-3,11 \pm 1,42		
16	16,87	105,44	-5,44	1,13	0,21
	16,84	105,25	-5,25		
	16,53	103,31	-3,31		
Rata-rata \pm SD	16,75 \pm 0,19	104,67 \pm 1,18	-4,67 \pm 1,18		
20	21,1	105,5	-5,5	0,88	0,17
	21,1	105,5	-5,5		
	20,78	103,9	-3,9		
Rata-rata \pm SD	20,99 \pm 0,18	104,97 \pm 0,92	-4,97 \pm 0,92		
24	23,25	96,88	3,12	0,89	0,18
	23,0	95,83	4,17		
	22,84	95,17	4,83		
Rata-rata \pm SD	23,03 \pm 0,21	95,96 \pm 0,86	4,04 \pm 0,86		

Contoh perhitungan % Perolehan kembali:

Perolehan kembali = (kadar terukur/kadar diketahui) \times 100%

$$= (6,25/6) \times 100\% = 104,17\%$$

Contoh perhitungan kesalahan sistematik:

Kesalahan sistematik = 100% - % perolehan kembali = 100% - 104,17% = -4,17%

Contoh perhitungan kesalahan acak:

$$\text{Kesalahan acak} = (\text{SD/rata-rata}) \times 100\% = (1,42/103,11) \times 100\% = 1,38\%$$

Lampiran 5. (lanjutan)**Perhitungan RSD (simpangan baku relatif) dan Horwitz Ratio (HORRAT)**

Perhitungan RSD dan HORRAT digunakan untuk menilai apakah metode yang digunakan memiliki presisi yang baik atau tidak.

RSD dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$RSD = 2^{(1-5\log C)}$$

Kadar 6 µg/mL

$$RSD = 2^{(1-0,5\log 0,0006)}$$

$$RSD = 6,11\%$$

Kadar 16 µg/mL

$$RSD = 2^{(1-0,5\log 0,0016)}$$

$$RSD = 5,27\%$$

Kadar 20 µg/mL

$$RSD = 2^{(1-0,5\log 0,002)}$$

$$RSD = 5,10\%$$

Kadar 24 µg/mL

$$RSD = 2^{(1-0,5\log 0,002)}$$

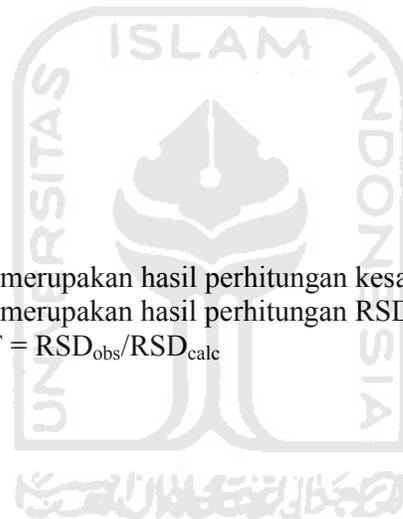
$$RSD = 4,96\%$$

HORRAT

RSD observasi (RSD_{obs}) merupakan hasil perhitungan kesalahan acak

RSD kalkulasi (RSD_{calc}) merupakan hasil perhitungan RSD

$$HORRAT = RSD_{obs}/RSD_{calc}$$



Lampiran 5. (lanjutan)Kadar 6 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = 1,38\%/6,11\% = 0,22$$

Kadar 16 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = 1,13\%/5,27\% = 0,21$$

Kadar 20 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = 0,88\%/5,1\% = 0,17$$

Kadar 24 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = 0,89\%/4,96\% = 0,18$$

Jika nilai HORRAT <2, maka metode analisis memiliki presisi yang baik.



Lampiran 6. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA**Tabel XII.** Hasil perhitungan persentase degradasi

Jam ke-	Luas area	Kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	1177654	33,49	0
24	1124127	31,94	4,63
48	1093230	31,05	7,28

Contoh perhitungan:

$$\% \text{ degradasi (jam ke 24)} = [100\% - (\text{kadar jam ke 24}/\text{kadar jam ke 0})] \times 100\%$$

$$\% \text{ degradasi (jam ke 24)} = [100\% - (31,94/33,49)] \times 100\%$$

$$\% \text{ degradasi (jam ke 24)} = 100\% - 95,37\%$$

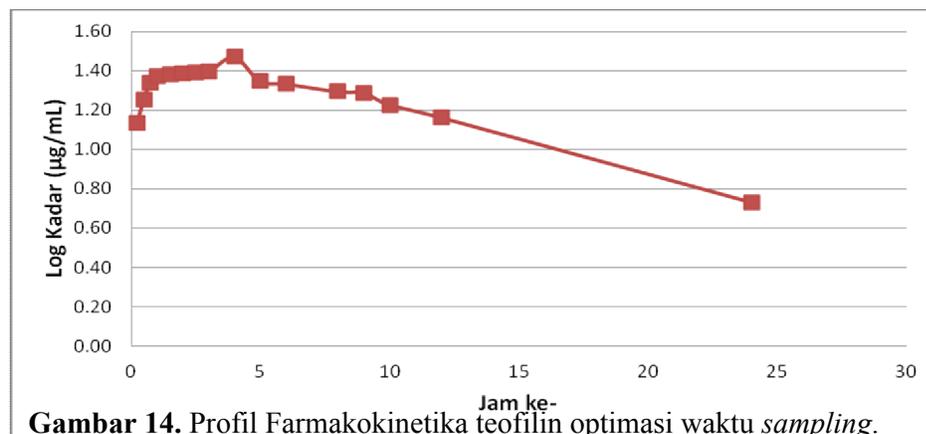
$$\% \text{ degradasi (jam ke 24)} = 4,63\%$$



Lampiran 7. Perhitungan parameter farmakokinetika data optimasi waktu *sampling* dengan persamaan $y=35862,59x - 4265,4$

Tabel XIII. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin optimasi waktu *sampling* dengan persamaan $y=35862,59x - 4265,4$

Tikus Optimasi Waktu <i>Sampling</i>								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,25	483802	13,61	1,13		3,67	39,22	25,61	3,24
0,5	641096	18,00	1,26		3,65	38,40	20,41	3,02
0,75	778933	21,84	1,34		3,63	37,61	15,77	2,76
1	841793	23,59	1,37		3,61	36,82	13,23	2,58
1,5	861065	24,13	1,38					
2	871173	24,41	1,39					
2,5	878546	24,62	1,39					
3	886250	24,83	1,39					
4	1056608	29,58	1,47					
5	793420	22,24	1,35			$t_{1/2} =$	8,66	Jam
6	767829	21,53	1,33			$t_{maks} =$	2,95	Jam
8	702376	19,70	1,29			$C_{p_{maks}} =$	29,39	µg/mL
9	691652	19,41	1,29	2,97		$AUC_{0-\infty} =$	465,14	µg jam/mL
10	599419	16,83	1,23	2,82		$V_d =$	1490,09	mL
12	515974	14,51	1,16	2,67		$Cl_r =$	119,21	mL/jam.kg
24	187734	5,35	0,73	1,68				
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	3,69	B=	40,04					
B (-k)=	-0,08	k=	0,08	per jam				
R=	-0,998							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	3,69	A=	31,82					
B (-k _a)=	-0,90	k _a =	0,90	per jam				
R=	-0,997							

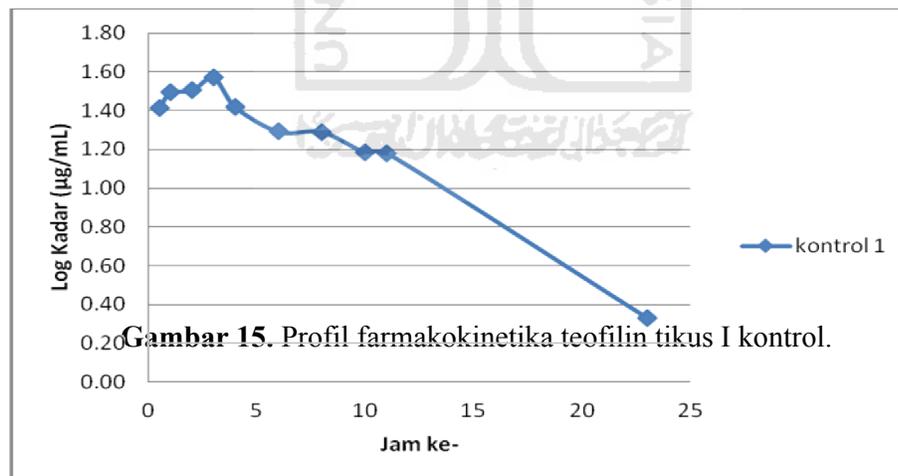


Gambar 14. Profil Farmakokinetika teofilin optimasi waktu *sampling*.

Lampiran 8. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol dan perlakuan dengan persamaan $y=35862,59x - 4265,4$

Tabel XIV. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus I kontrol

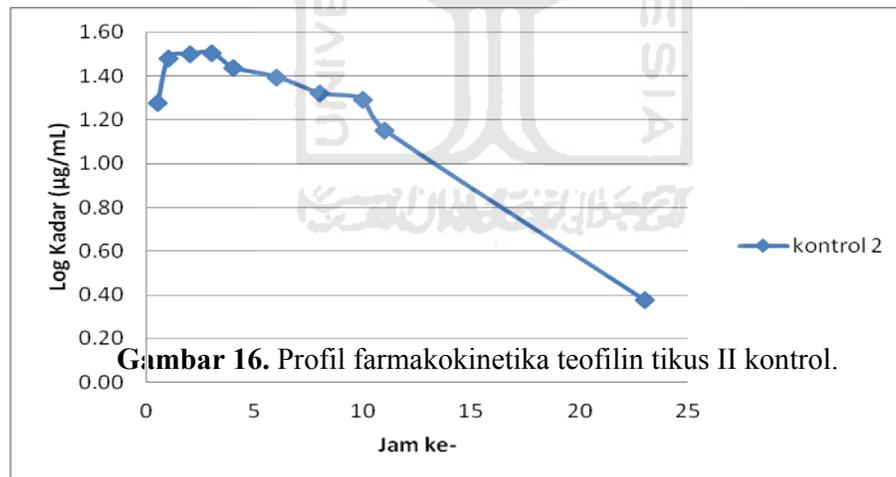
Tikus I Kontrol								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	931797	26,10	1,42		4,19	65,74	39,64	3,68
1	1113990	31,18	1,49		4,11	60,94	29,76	3,39
2	1142422	31,97	1,50		3,96	52,38	20,40	3,02
3	1329691	37,20	1,57					
4	934808	26,19	1,42			$t_{1/2} =$	4,62	Jam
6	698089	19,58	1,29			$t_{maks} =$	3,76	Jam
8	694520	19,49	1,29	2,97		$Cp_{maks} =$	30,77	µg/mL
10	542969	15,26	1,18	2,73		$AUC_{0-\infty} =$	360,58	µg jam/mL
11	539881	15,17	1,18	2,72		$V_d =$	1383,87	mL
23	72147	2,13	0,33	0,76		$Cl_1 =$	207,58	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	4,26	B=	70,81					
B (-k)=	-0,15	k=	0,15	per jam				
R=	-0,996							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	3,87	A=	47,94					
B (-k _a)=	-0,43	k _a =	0,43	per jam				
R=	-0,992							



Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XV. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus II kontrol

Tikus II Kontrol								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	674457	18,93	1,28		4,27	71,25	52,32	3,96
1	1076848	30,15	1,48		4,19	66,08	35,93	3,58
2	1123795	31,46	1,50		4,04	56,83	25,37	3,23
3	1144850	32,04	1,51					
4	977272	27,37	1,44			t _{1/2} =	4,62	Jam
6	884660	24,79	1,39			t _{maks} =	3,61	Jam
8	745820	20,92	1,32	3,04		Cp _{maks} =	32,82	µg/mL
10	698090	19,58	1,29	2,97		AUC _{0-∞} =	376,27	µg jam/mL
11	502573	14,13	1,15	2,65		V _d =	1030,93	mL
23	80605	2,37	0,37	0,86		Cl _T =	154,64	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B)=	4,34	B=	76,71					
B (-k)=	-0,15	k=	0,15	per jam				
R=	-0,995							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C□ = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C□ - Cp								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k _a .t								
A (Ln A)=	4,13	A=	62,18					
B (-k _a)=	-0,46	k _a =	0,46	per jam				
R=	-0,977							

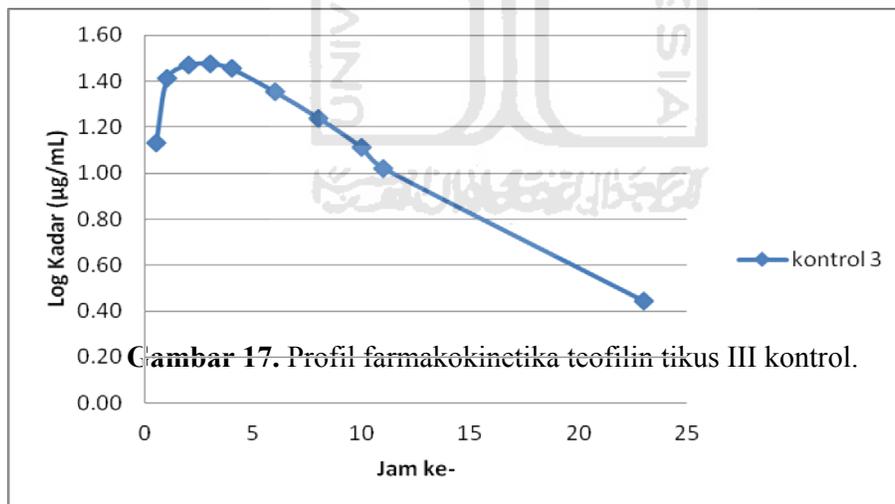


Gambar 16. Profil farmakokinetika teofilin tikus II kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVI. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus III kontrol

Tikus III Kontrol								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	479484	13,49	1,13		3,69	39,86	26,37	3,27
1	918014	25,72	1,41		3,63	37,55	11,84	2,47
2	1055969	29,56	1,47		3,51	33,34	3,78	1,33
3	1071687	30,00	1,48					
4	1015229	28,43	1,45			t _{1/2} =	5,78	Jam
6	805096	22,57	1,35			t _{maks} =	2,05	Jam
8	618812	17,37	1,24	2,85		Cp _{maks} =	29,47	µg/mL
10	459234	12,92	1,11	2,56		AUC _{0-∞} =	314,11	µg jam/mL
11	372784	10,51	1,02	2,35		V _d =	1025,31	mL
23	95510	2,78	0,44	1,02		Cl _T =	123,04	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B)=	3,74	B=	42,09					
B (-k)=	-0,12	k=	0,12	per jam				
R=	-0,997							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C□ = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C□ - Cp								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k _a .t								
A (Ln A)=	3,84	A=	46,53					
B (-k _a)=	-1,27	k _a =	1,27	per jam				
R=	-0,996							

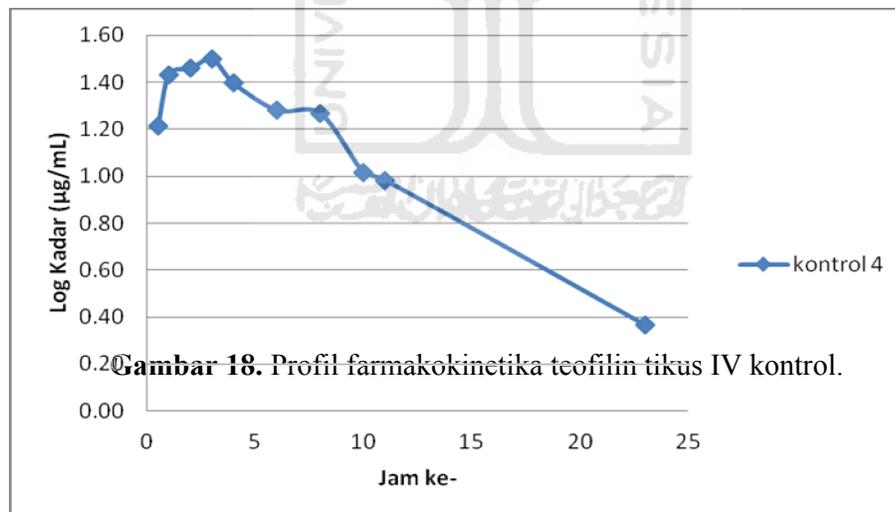


Gambar 17. Profil farmakokinetika teofilin tikus III kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVII. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol

Tikus IV Kontrol								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	584685	16,42	1,22		3,69	40,18	23,76	3,17
1	964363	27,01	1,43		3,63	37,68	10,67	2,37
2	1028612	28,80	1,46		3,50	33,14	4,34	1,47
3	1127118	31,55	1,50					
4	887215	24,86	1,40			t _{1/2} =	5,33	Jam
6	680283	19,09	1,28			t _{maks} =	2,2	Jam
8	659599	18,51	1,27	2,92		Cp _{maks} =	28,95	µg/mL
10	365986	10,32	1,01	2,33		AUC _{0-∞} =	296,44	µg jam/mL
11	340214	9,61	0,98	2,26		V _d =	1311,99	mL
23	78865	2,32	0,37	0,84		Cl _T =	170,56	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B)=	3,76	B=	42,95					
B (-k)=	-0,13	k=	0,13	per jam				
R=	-0,986							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C□ = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C□ - Cp								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k _a .t								
A (Ln A)=	3,62	A=	37,34					
B (-k _a)=	-1,10	k _a =	1,10	per jam				
R=	-0,988							

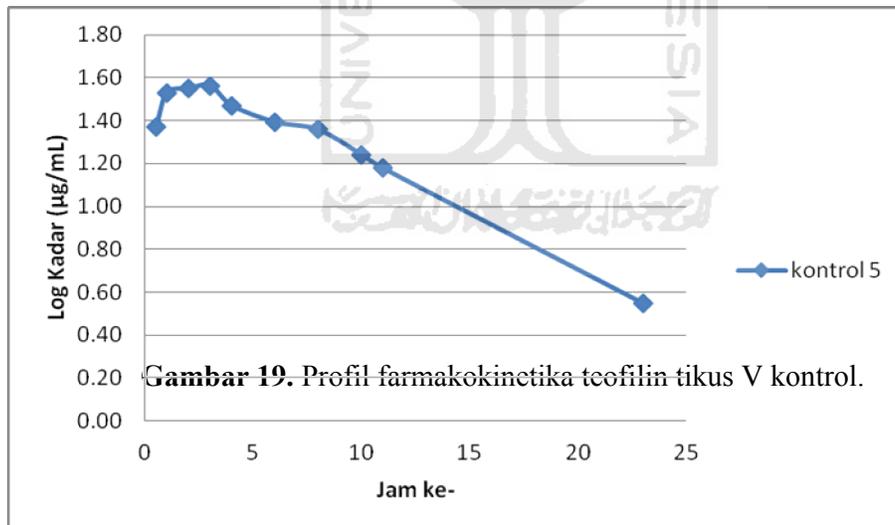


Gambar 18. Profil farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVIII. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus V kontrol

Tikus V Kontrol								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	834539	23,39	1,37		4,03	56,22	32,83	3,49
1	1212097	33,92	1,53		3,97	52,86	18,94	2,94
2	1267656	35,47	1,55		3,84	46,73	11,26	2,42
3	1308658	36,61	1,56					
4	1053965	29,51	1,47			$t_{1/2} =$	5,77	Jam
6	882580	24,73	1,39			$t_{maks} =$	3,07	Jam
8	812598	22,78	1,36	3,13		$C_{p_{maks}} =$	41,33	µg/mL
10	620248	17,41	1,24	2,86		$AUC_{0-\infty} =$	436,21	µg jam/mL
11	535175	15,04	1,18	2,71		$V_d =$	1229,88	mL
23	122388	3,53	0,55	1,26		$Cl_T =$	147,58	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	4,09	B=	59,74					
B (-k)=	-0,12	k=	0,12	per jam				
R=	-0,999							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR I								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	3,75	A=	42,52					
B (-k_a)=	-0,69	k_a=	0,69	per jam				
R=	-0,978							

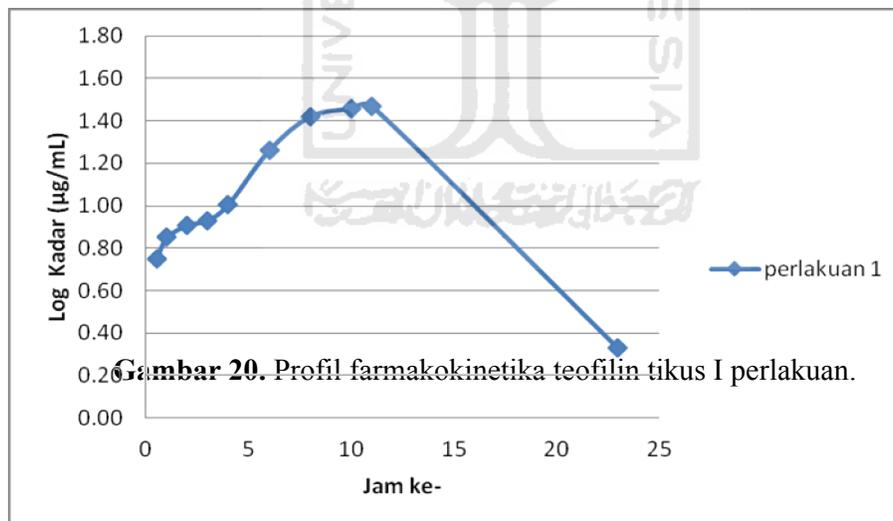


Gambar 19. Profil farmakokinetika teofilin tikus V kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XIX. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan

Tikus I perlakuan								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	197825	5,64	0,75		5,01	150,16	144,53	4,97
1	250196	7,10	0,85		4,92	129,77	129,77	4,87
2	285500	8,08	0,91		4,73	105,62	105,62	4,66
3	301595	8,53	0,93					
4	359565	10,15	1,01			$t_{1/2} =$	3,65	Jam
6	651697	18,29	1,26			$t_{maks} =$	5,0	Jam
8	941571	26,37	1,42	3,27		$C_{p_{maks}} =$	7,17	µg/mL
10	1024252	28,68	1,46	3,36		$AUC_{0-\infty} =$	97,69	µg jam/mL
11	1053693	29,50	1,47	3,38		$V_d =$	2821,42	mL
23	72451	2,14	0,33	0,76		$Cl_T =$	536,07	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - K.t$								
A (Ln B)=	5,10	B=	164,02					
B (-k)=	-0,19	k=	0,19	per jam				
R=	-0,975							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	5,08	A=	160,77					
B (-k_a)=	-0,21	k_a=	0,21	per jam				
R=	-0,999							

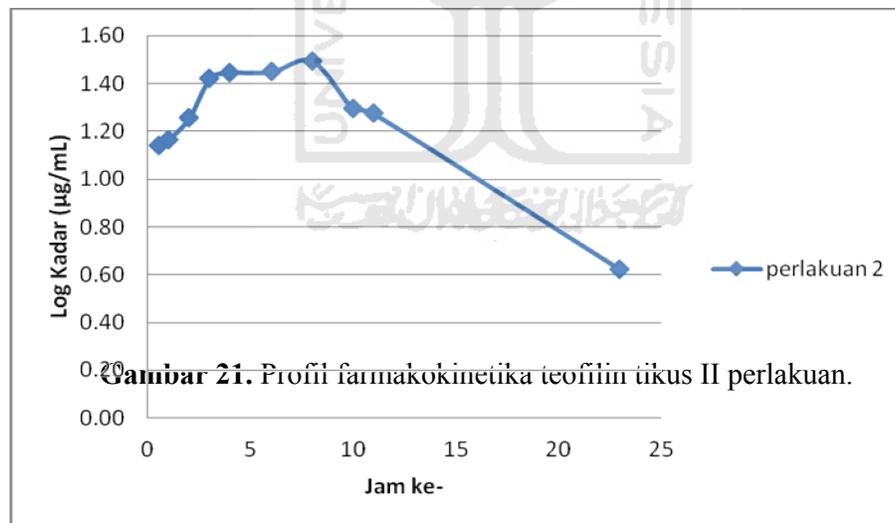


Gambar 20. Profil farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XX. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan

Tikus II perlakuan								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	494230	13,90	1,14		4,30	73,50	59,60	4,09
1	522682	14,69	1,17		4,23	68,94	54,25	3,99
2	642953	18,05	1,26		4,11	60,67	42,62	3,75
3	938122	26,28	1,42					
4	996106	27,89	1,45			$t_{1/2} =$	5,33	Jam
6	1004158	28,12	1,45			$t_{maks} =$	5,71	Jam
8	1115879	31,23	1,49	3,44		$C_{p_{maks}} =$	19,14	µg/ mL
10	702225	19,70	1,29	2,98		$AUC_{0-\infty} =$	309,13	µg jam/mL
11	670860	18,83	1,27	2,94		$V_d =$	1475,06	mL
23	146664	4,21	0,62	1,44		$Cl_T =$	191,76	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	4,36	B=	78,26					
B (-k)=	-0,13	k=	0,13	per jam				
R=	-0,995							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR I								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	4,21	A=	67,36					
B (-k _a)=	-0,23	k _a =	0,23	per jam				
R=	-0,999							

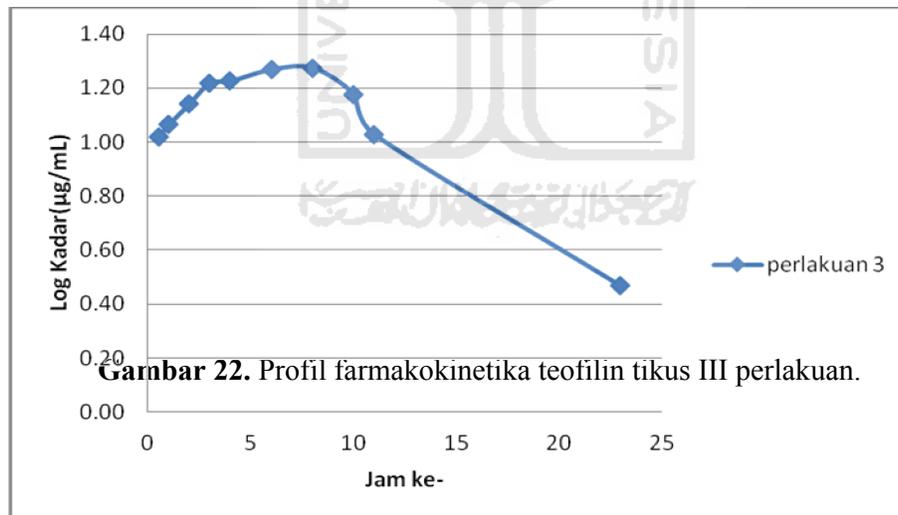


Gambar 21. Profil farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XXI. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus III perlakuan

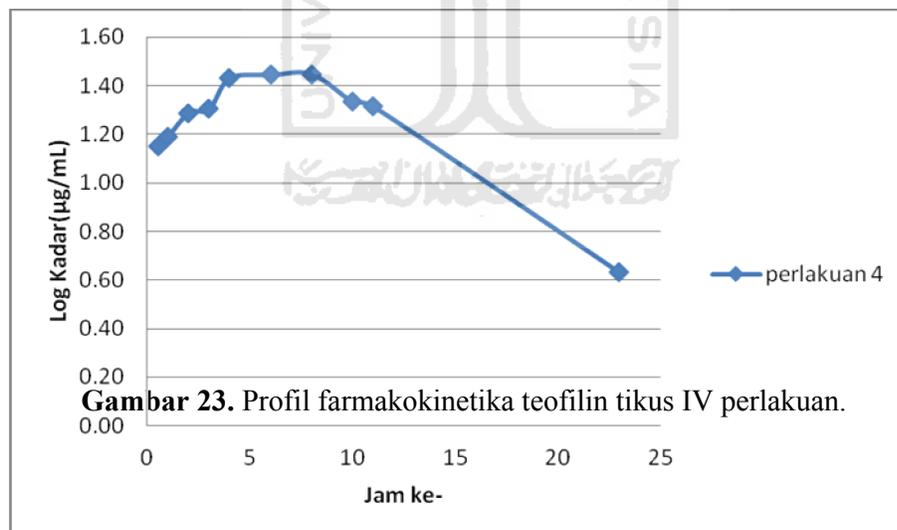
Tikus III perlakuan								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	369436	10,42	1,02		3,79	44,29	33,87	3,52
1	411223	11,59	1,06		3,73	41,68	30,10	3,40
2	491960	13,84	1,14		3,61	36,91	23,08	3,14
3	588043	16,52	1,22					
4	597969	16,79	1,23			$t_{1/2} =$	5,77	Jam
6	660772	18,5	1,27			$t_{maks} =$	5,52	Jam
8	670195	18,81	1,27	2,93		$C_{p_{maks}} =$	14,98	µg/mL
10	534975	15,04	1,18	2,71		$AUC_{0-\infty} =$	242,12	µg jam/mL
11	378881	10,68	1,03	2,37		$V_d =$	2064,55	mL
23	101161	2,94	0,47	1,08		$Cl_T =$	247,75	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	3,85	B=	46,99					
B (-k)=	-0,12	k=	0,12	per jam				
R=	-0,993							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	3,66	A=	38,86					
B (-k_a)=	-0,26	k_a=	0,26	per jam				
R=	-0,999							



Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XXII. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus IV perlakuan

Tikus IV perlakuan								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	500269	14,07	1,15		4,30	73,40	59,34	4,08
1	552871	15,54	1,19		4,23	68,92	53,38	3,98
2	691454	19,40	1,29		4,11	60,75	41,36	3,72
3	717002	20,11	1,30					
4	962447	26,96	1,43			$t_{1/2} =$	5,33	Jam
6	992054	27,78	1,45			$t_{maks} =$	5,57	Jam
8	999341	27,98	1,45	3,33		$C_{p_{maks}} =$	20,25	µg/ mL
10	767378	21,52	1,33	3,07		$AUC_{0-\infty} =$	321,33	µg jam/mL
11	735783	20,64	1,31	3,03		$V_d =$	1399,26	mL
23	148898	4,27	0,63	1,45		$Cl_T =$	181,9	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	4,36	B=	78,26					
B (-k)=	-0,13	k=	0,13	per jam				
R=	-0,999							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	4,21	A=	67,36					
B (-k_a)=	-0,24	k_a=	0,24	per jam				
R=	-0,998							

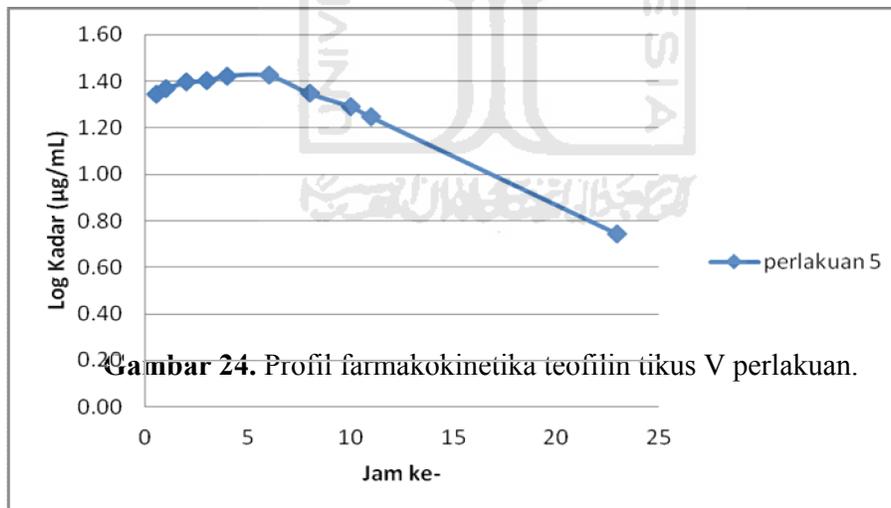


Gambar 23. Profil farmakokinetika teofilin tikus IV perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XXIII. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan

Tikus V perlakuan								
Jam ke-	Luas Area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C□	C□	Cr	Ln Cr
0,5	790043	22,15	1,35		3,84	46,73	24,58	3,20
1	837742	23,48	1,37		3,80	44,57	21,10	3,05
2	887517	24,87	1,40		3,70	40,56	15,69	2,75
3	903670	25,32	1,40					
4	946564	26,51	1,42			$t_{1/2} =$	7,7	Jam
6	948831	26,58	1,42			$t_{maks} =$	5,73	Jam
8	792718	22,22	1,35	3,10		$C_{p_{maks}} =$	24,09	µg/mL
10	697450	19,57	1,29	2,97		$AUC_{0-\infty} =$	448,44	µg jam/mL
11	626818	17,60	1,25	2,87		$V_d =$	2165,41	mL
23	194631	5,55	0,74	1,71		$Cl_T =$	194,89	mL/jam.kg
Persamaan Garis Eliminasi (LR 1)								
$Ln Cp = Ln B - k.t$								
A (Ln B)=	3,89	B=	48,91					
B (-k)=	-0,09	k=	0,09	per jam				
R=	-0,999							
Penentuan C□ dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR I								
$Ln C□ = Ln B - k.t$								
Penentuan Cr								
$Cr = C□ - Cp$								
Persamaan Garis Absorpsi (LR 2)								
$Ln Cr = Ln A - k_a.t$								
A (Ln A)=	3,35	A=	28,5					
B (-k_a)=	-0,30	k_a=	0,30	per jam				
R=	-0,1							



Gambar 24. Profil farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan.

Lampiran 9. Kadar teofilin setiap waktu sampling pada kelompok kontrol dan perlakuan

Tabel XXIV. Data kadar teofilin kelompok kontrol

Jam ke-	Kadar Teofilin Kelompok Kontrol ($\mu\text{g/mL}$)					
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Rata-rata \pm SE
0,5	26,10	18,93	13,49	16,42	23,39	19,67 \pm 2,37
1	31,18	30,15	25,72	27,01	33,92	29,60 \pm 1,52
2	31,97	31,46	29,56	28,80	35,47	31,45 \pm 1,20
3	37,20	32,04	30,00	31,55	36,61	33,48 \pm 1,49
4	26,19	27,37	28,43	24,86	29,51	27,27 \pm 0,85
6	19,58	24,79	22,57	19,09	24,73	22,15 \pm 1,26
8	19,49	20,92	17,37	18,51	22,78	19,81 \pm 0,97
10	15,26	19,58	12,92	10,32	17,41	15,10 \pm 1,69
11	15,17	14,13	10,51	9,61	15,04	12,89 \pm 1,22
23	2,13	2,37	2,78	2,32	3,53	2,63 \pm 0,25

Tabel XXV. Data kadar teofilin kelompok perlakuan

Jam ke-	Kadar Teofilin Kelompok Kontrol ($\mu\text{g/mL}$)					
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Rata-rata \pm SE
0,5	5,64	13,90	10,42	14,07	22,15	13,24 \pm 2,80
1	7,10	14,69	11,59	15,54	23,48	14,48 \pm 2,79
2	8,08	18,05	13,84	19,40	24,87	16,85 \pm 2,92
3	8,53	26,28	16,52	20,11	25,32	19,35 \pm 3,35
4	10,15	27,89	16,79	26,96	26,51	21,66 \pm 3,64
6	18,29	28,12	18,54	27,78	26,58	23,86 \pm 2,32
8	26,37	31,23	18,81	27,98	22,22	25,32 \pm 2,26
10	28,68	19,70	15,04	21,52	19,57	20,90 \pm 2,30
11	29,50	18,83	10,68	20,64	17,60	19,45 \pm 3,13
23	2,14	4,21	2,94	4,27	5,55	3,82 \pm 0,59

Lampiran 10. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan

Tabel XXVI. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol

No	Parameter Farmakokinetika Kelompok Kontrol							
	k_a (/jam)	t_{maks} (jam)	$C_{p_{maks}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.jam/mL}$)	V_d (mL/kg)	k (/jam)	$t_{1/2}$ (jam)	Cl_T (mL/jam.kg)
1	0,43	3,76	30,77	360,58	1383,87	0,15	4,62	207,58
2	0,46	3,61	32,82	376,27	1030,93	0,15	4,62	154,64
3	1,27	2,05	29,47	314,11	1025,31	0,12	5,78	123,04
4	1,10	2,20	28,95	296,44	1311,99	0,13	5,33	170,56
5	0,69	3,07	41,33	436,21	1229,88	0,12	5,77	147,58

Tabel XXVII. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok perlakuan

No	Parameter Farmakokinetika Kelompok Perlakuan							
	k_a (/jam)	t_{maks} (jam)	$C_{p_{maks}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.jam/mL}$)	V_d (mL/kg)	k (/jam)	$t_{1/2}$ (jam)	Cl_T (mL/jam.kg)
1	0,21	5,0	7,17	97,69	2821,42	0,19	3,65	536,07
2	0,23	5,71	19,14	309,13	1475,06	0,13	5,33	191,76
3	0,26	5,52	14,98	242,12	2064,55	0,12	5,77	247,75
4	0,24	5,57	20,25	321,33	1399,26	0,13	5,33	181,9
5	0,30	5,73	24,09	448,44	2165,41	0,09	7,70	194,89

Lampiran 11. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		k_a	$C_{p_{maks}}$	t_{maks}	$AUC_{0-\infty}$	V_d	k	$t_{1/2}$	Cl_T
N		10	10	10	10	10	10	10	10
Normal Parameters ^a	Mean	.5190	24.8970	4.2220	3.2023E2	1.5908E3	.1330	5.3900	2.1558E2
	Std. Deviation	.38211	9.84678	1.46502	1.00560E2	5.77656E2	.02627	1.05416	1.17790E2
Most Extreme Differences	Absolute	.261	.160	.212	.206	.279	.245	.256	.327
	Positive	.261	.111	.152	.101	.279	.245	.256	.327
	Negative	-.209	-.160	-.212	-.206	-.164	-.210	-.177	-.216
Kolmogorov-Smirnov Z		.826	.505	.671	.653	.883	.776	.809	1.034
Asymp. Sig. (2-tailed)		.502	.961	.759	.787	.416	.583	.530	.235

Lampiran 12. Hasil uji t tidak berpasangan (parameter k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, $AUC_{0-\infty}$, V_d , k , $t_{1/2}$, dan Cl_T)

Group Statistics

	kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
k_a	kontrol	5	.7900	.37914	.16956
	perlakuan	5	.2480	.03421	.01530
$C_{p_{maks}}$	kontrol	5	32.6680	5.06721	2.26613
	perlakuan	5	17.1260	6.44283	2.88132
t_{maks}	kontrol	5	2.9380	.78706	.35199
	perlakuan	5	5.5060	.29670	.13269
$AUC_{0-\infty}$	kontrol	5	3.5672E2	55.14765	24.66278
	perlakuan	5	2.8374E2	127.99470	57.24097
V_d	kontrol	5	1.1964E3	163.00235	72.89687
	perlakuan	5	1.9851E3	579.13825	258.99850
k	kontrol	5	.1340	.01517	.00678
	perlakuan	5	.1320	.03633	.01625
$t_{1/2}$	kontrol	5	5.2240	.58054	.25963
	perlakuan	5	5.5560	1.44720	.64721
Cl_T	kontrol	5	1.6068E2	31.31328	14.00372
	perlakuan	5	2.7047E2	150.67498	67.38390

Lampiran 12. (lanjutan)

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
k _a	Equal variances assumed	21.869	.002	3.184	8	.013	.54200	.17052	.14941	.93459
	Equal variances not assumed			3.184	4.065	.033	.54200	.17052	.07229	1.01171
C _p _{maks}	Equal variances assumed	.387	.551	4.240	8	.003	15.54200	3.66570	7.08889	23.99511
	Equal variances not assumed			4.240	7.579	.003	15.54200	3.66570	7.00647	24.07753
t _{maks}	Equal variances assumed	7.870	.023	-6.827	8	.000	-2.56800	.37616	-3.43544	-1.70056
	Equal variances not assumed			-6.827	5.114	.001	-2.56800	.37616	-3.43544	-1.60750

Lampiran 12. (lanjutan)

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
AUC _{0-∞}	Equal variances assumed	1.795	.217	1.171	8	.275	72.98000	62.32802	-70.74866	216.70866
	Equal variances not assumed			1.171	5.436	.290	72.98000	62.32802	-83.45301	229.41301
V _d	Equal variances assumed	4.656	.063	-2.931	8	.019	-788.74400	269.06166	1409.20129	-168.28671
	Equal variances not assumed			-2.931	4.630	.036	-788.74400	269.06166	1497.35939	-80.12861
k	Equal variances assumed	.804	.396	.114	8	.912	.00200	.01761	-.03860	.04260
	Equal variances not assumed			.114	5.353	.914	.00200	.01761	-.04238	.04638

Lampiran 12. (lanjutan)

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
t _{1/2}	Equal variances assumed	1.030	.340	-.476	8	.647	-.33200	.69734	-1.94007	1.27607
	Equal variances not assumed			-.476	5.255	.653	-.33200	.69734	-2.09873	1.43473
Cl _T	Equal variances assumed	3.906	.084	-1.595	8	.049	.33400	.32365	.21162	.91362
	Equal variances not assumed			-1.595	4.345	.018	.33400	.32365	.22353	1.45553