

**PENGARUH PEMBERIAN AIR SEDUHAN TEH HITAM
(*Camellia sinensis*) TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA
TIKUS WISTAR JANTAN**

SKRIPSI



Oleh :

DINA CATUR HAPSARI

08613047

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

**PENGARUH PEMBERIAN AIR SEDUHAN TEH HITAM
(*Camellia sinensis*) TERHADAP PROFIL
FARMAKOKINETIKA TEOFILIN PADA
TIKUS WISTAR JANTAN**

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 :

DINA CATUR HAPSARI

08613047

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

~~MEI 2012~~

**PENGARUH PEMBERIAN AIR SEDUHAN TEH HITAM
(*Camellia sinensis*) TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIKA
TEOFILIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**



Yang diajukan oleh

DINA CATUR HAPSARI

08613047

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Farida Hayati'.

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

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fithria Dyah Ayu S.'.

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

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN AIR SEDUHAN TEH HITAM
(*Camellia sinensis*) TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIKA
TEOFILIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

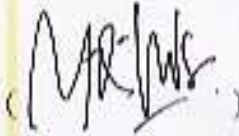
Oleh :

DINA CATUR HAPSARI


08613047


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

Tanggal: 10 Mei 2012

Ketua Penguji : Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt. ()

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

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

: 3. Dr. Ika Puspita Sari, 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, 30 Mei 2012

Penulis,

Dina Catur Hapsari

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Tujuan adalah sesuatu yang ditentukan dari awal, diwujudkan di akhir, tempat memulai pemikiran dan akhir dari perjalanan”

*Adalah rasa syukur yang sangat besar ketika akhirnya ku bisa menyelesaikan amanah ini. Semoga terhitung sebagai amal ibadahku
Ya ALLAH. .*

Kupersembahkan karyaku ini teruntuk:

Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Hidayat dan Ibu Wartini

Terima kasih untuk kasih sayang, pengorbanan, doa, nasehat, serta motivasi yang kalian berikan tanpa hentinya sepanjang hidup Dina.

Kakakku, Andi Hendrayanto dan Betti Ambarsari

Terima kasih atas semangat dan doa yang kalian berikan

My lovely brother : Alm. Cahya Tri Wibawa

Terima kasih atas semua pengalaman hidupmu yang bisa buat adekmu ini jadikan sebagai contoh yang baik. Miss you so much. . Semoga mas bahagia disana.

Ghazi Muwaffaq

Terima kasih atas perhatian, motivasi, doa, dan kesabarannya, serta telah menjadi tempat berkeluh kesahku selama ini

Sahabat seperjuanganku, Baiq Leny Nopitasari dan Yunita Paramitasari

Inilah hasil yang kita tunggu-tunggu selama ini, Alhamdulillah semua berbuah manis. Thanks so much for all. Big hug. .:)

Semua orang yang saya sayangi

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, serta syukur Alhamdulillah atas segala rahmat dan anugerah-Nya yang telah memberi ilmu, kekuatan dan kesempatan sehingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Air Seduhan Teh Hitam (*Camellia Sinensis*) Terhadap Profil Farmakokinetika Teofilin Pada Tikus Wistar Jantan”. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana (S1) di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Hidayat dan Ibu Wartini, kedua orang tuaku, skripsi ini sebagai hadiah kecil atas pengorbanan dan doa yang telah kalian berikan, terimalah ini sebagai tanda baktiku.
2. Ibu Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt. dan Ibu Fithria Dyah Ayu S., M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan, masukan, solusi, dan dorongan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Arief Rahman Hakim, M.Si., Apt. dan Ibu Dr. Ika Puspita Sari, M.Si., Apt., selaku dosen penguji yang telah banyak memberi masukan dan saran, serta memberi tambahan ilmu baru selama dilakukan revisi skripsi.
4. Mas Bibit, Bapak Sumarna, Mas Kuswandi, dan Mas Yusuf, selaku staf Laboratorium Farmasi Universitas Islam Indonesia, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama pelaksanaan penelitian.
5. Baiq Leny Nopitasari dan Yunita Paramitasari, sahabat seperjuanganku, atas waktu, tenaga, pikiran, semangat, kerjasama dan semuanya yang telah kalian berikan dari awal sampai akhir skripsi ini.

6. Kakak, keponakan, dan seluruh keluarga besar atas dorongan dan doa yang kalian berikan.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, baik secara langsung maupun tidak langsung telah membantu di dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berdoa semoga Allah SWT membalas kebaikan mereka semua dengan kebaikan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak. Akhirnya besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan dapat dipergunakan oleh berbagai pihak yang berkepentingan serta dapat memberikan sumbangan bagi kemajuan keilmuan farmasi. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 30 Mei 2012

Penulis,

Dina Catur Hapsari

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
INTISARI	xvi
<i>ABSTRACT</i>	<i>xvii</i>
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Teh hitam	4
2. Farmakokinetika	4
3. Parameter farmakokinetika	6
4. Biotransformasi obat	7
5. CYP1A2 (Sitokrom P450 isoform 1A2)	8
6. Teofilin	8
7. Interaksi obat	9
8. Interaksi farmakokinetika	10
9. Interaksi obat dengan makanan	11
10. Level signifikan interaksi obat	12
11. HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	13

B. Landasan Teori	14
C. Hipotesis	15
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	16
B. Alat dan Bahan	16
C. Cara Kerja	17
1. Pembuatan larutan pereaksi	17
a. Pembuatan larutan buffer asetat	17
b. Pembuatan larutan fase gerak	17
c. Pembuatan larutan TCA	17
2. Penetapan kadar teofilin dalam darah	17
3. Uji pendahuluan	18
a. Penetapan panjang gelombang maksimum teofilin	18
b. Penetapan waktu retensi dan selektivitas teofilin	18
c. Optimasi perbandingan darah dengan TCA dan lama sentrifugasi	18
d. Penetapan kurva baku	18
e. Penetapan kriteria akurasi	19
f. Penetapan kriteria presisi	19
g. Penetapan batas deteksi dan kuantifikasi kadar teofilin ...	20
h. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA	20
i. Penetapan dosis teofilin	20
j. Penetapan dosis dan cara pembuatan sediaan teh hitam...	21
k. Optimasi waktu sampling	21
l. Pengelompokan hewan uji	21
m. Jalur pemejanaan hewan uji	22
4. Uji farmakokinetika	22
a. Kelompok kontrol	22
b. Kelompok perlakuan	22
c. Penentuan parameter farmakokinetika teofilin	22
5. Analisis hasil	23

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Uji Pendahuluan	25
B. Hasil Uji Farmakokinetika	33
C. Pembahasan	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	46
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hubungan hirarkis parameter primer, sekunder, dan turunan	7
Gambar 2. Struktur teofilin	9
Gambar 3. Skema komponen utama sistem HPLC	15
Gambar 4. Sistematika kerja penelitian	24
Gambar 5. Kromatogram teofilin dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18	26
Gambar 6. Kromatogram blangko darah tikus dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18	26
Gambar 7. Kromatogram teofilin kadar 1 µg/mL dalam darah tikus (<i>in vitro</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18	27
Gambar 8. Kromatogram teofilin dalam darah sampel jam ke-11 tikus perlakuan IV (<i>in vivo</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18	27
Gambar 9. Kurva baku teofilin dalam darah tikus (<i>in vitro</i>) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18	29
Gambar 10. Kurva hubungan kadar teofilin dalam darah dan waktu pada tikus setelah pemberian teofilin secara oral dosis 54 mg/kgBB	32
Gambar 11. Kurva log kadar teofilin dalam darah terhadap waktu pada kelompok kontrol (diberi teofilin dosis 54 mg/kgBB) dan perlakuan (diberi air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan teofilin dosis 54 mg/kgBB)	35
Gambar 12. Kromatogram teofilin dalam darah	53
Gambar 13. Profil farmakokinetika teofilin optimasi waktu sampling	59
Gambar 14. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus I kontrol	60
Gambar 15. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus II kontrol	61
Gambar 16. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus III kontrol	62
Gambar 17. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol	63

Gambar 18. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus V kontrol	64
Gambar 19. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan	65
Gambar 20. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan	66
Gambar 21. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus III perlakuan	67
Gambar 22. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus IV perlakuan	68
Gambar 23. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan	69

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Level signifikasi interaksi obat	12
Tabel II.	Luas area puncak teofilin dalam beberapa perbandingan darah dengan TCA dan lama sentrifugasi	28
Tabel III.	Kadar teofilin dan luas area kromatogram	29
Tabel IV.	Parameter-parameter akurasi dan presisi	30
Tabel V.	Persentase degradasi teofilin dalam pelarut TCA	31
Tabel VI.	Data kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$) pada kelompok kontrol (diberi teofilin dosis 54 mg/kgBB) dan perlakuan (diberi air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan teofilin dosis 54 mg/kgB) (n=5)	34
Tabel VII.	Harga parameter farmakokinetika dan uji t tidak berpasangan untuk teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan	35
Tabel VIII.	Penetapan kurva baku dan parameter sensitivitas	54
Tabel IX.	Perhitungan parameter akurasi dan presisi	55
Tabel X.	Perhitungan persentase degradasi	57
Tabel XI.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin optimasi waktu sampling	58
Tabel XII.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus I kontrol	60
Tabel XIII.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus II kontrol	61
Tabel XIV.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus III kontrol	62
Tabel XV.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus IV kontrol	63
Tabel XVI.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus V kontrol	64
Tabel XVII.	Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus I perlakuan	65

Tabel XVIII. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus II perlakuan	66
Tabel XIX. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus III perlakuan	67
Tabel XX. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus IV perlakuan	68
Tabel XXI. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus V perlakuan	69
Tabel XXII. Kadar teofilin kelompok kontrol (diberikan teofilin dosis 54 mg/kgBB)	70
Tabel XXIII. Kadar teofilin kelompok perlakuan (diberikan air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB)	70
Tabel XXIV. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol (diberikan teofilin dosis 54 mg/kgBB)	71
Tabel XXV. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok perlakuan (diberikan air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB)	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat <i>Ethical clearance</i>	51
Lampiran 2. Panjang gelombang maksimum teofilin	52
Lampiran 3. Penetapan kriteria selektivitas	53
Lampiran 4. Penetapan persamaan kurva baku teofilin dalam darah dan kriteria sensitivitas	54
Lampiran 5. Penetapan kriteria akurasi dan presisi	55
Lampiran 6. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA	57
Lampiran 7. Perhitungan parameter farmakokinetika data optimasi waktu sampling	58
Lampiran 8. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol dan perlakuan	60
Lampiran 9. Kadar teofilin tiap waktu sampling pada kelompok kontrol dan perlakuan	70
Lampiran 10. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin pada kelompok kontrol dan perlakuan	71
Lampiran 11. Hasil uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	72
Lampiran 12. Hasil uji t tidak berpasangan	73

**PENGARUH PEMBERIAN AIR SEDUHAN TEH HITAM
(*Camellia sinensis*) TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIKA
TEOFILIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh air seduhan teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap profil farmakokinetika teofilin yang diberikan bersamaan secara oral pada tikus Wistar jantan. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dengan hewan uji tikus putih jantan galur Wistar yang terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan, dan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pada kelompok kontrol tikus diberikan teofilin dengan dosis 54 mg/kgBB dan kelompok perlakuan tikus diberikan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB. Setelah seluruh hewan uji mendapatkan perlakuan teofilin, cuplikan darah tikus diambil pada jam ke-0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 11,0; dan 23,0 melalui vena lateralis ekor kemudian ditetapkan kadar teofilin utuh dalam darah dengan menggunakan metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Harga-harga parameter farmakokinetika teofilin (k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, AUC_{0-inf} , V_d , Cl_T , k , dan $t_{1/2}$) dihitung berdasarkan data kadar teofilin utuh dalam darah terhadap waktu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin mampu meningkatkan k_a teofilin sebesar 110,13% ($p < 0,05$), menurunkan k teofilin sebesar 30% ($p < 0,05$), dan meningkatkan $t_{1/2}$ teofilin sebesar 32,31% ($p < 0,05$).

Kata kunci : teh hitam, *Camellia sinensis*, teofilin, HPLC, farmakokinetika.

**THE EFFECT OF BLACK TEA (*Camellia sinensis*)
TOWARD THE THEOPHYLLINE PHARMACOKINETICS
IN MALE WISTAR RATS**

ABSTRACT

This research was aimed to observed the effect of black tea (*Camellia sinensis*) to the pharmacokinetics profile of theophylline which was given orally to male Wistar rats. The research used a completely randomized design by using male Wistar rats which divided into 2 group that is control and treatment groups, and each group contained of 5 rats. The control group, rats were given a single oral theophylline dose 54 mg/kgBW and the treatment group were given a single oral black tea dose 189 mg/kgBW together with a single oral theophylline dose 54 mg/kgBW. After all of rats were given theophylline, serial blood samples were taken at the time 0,5; 1,; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; and 11,0 hours via tail vein and then be analyzed of unchanged theophylline in blood with HPLC. The pharmacokinetic parameters of theophylline (K_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, AUC_{0-inf} , V_d , Cl_t , K and $t_{1/2}$) were calculated based on the concentration-time data of theophylline . The results indicated that giving black tea together with theophylline was found to be able to increase k_a of theophylline up to 110,13% ($p < 0,05$), decrease k of theophylline up to 30% ($p < 0,05$), dan increase $t_{1/2}$ of theophylline up to 32,31% ($p < 0,05$).

Key words: black tea, *Camellia sinensis*, theophylline, HPLC, pharmacokinetics.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Minuman teh merupakan salah satu minuman terpopuler di dunia, karena selain nikmat, teh juga sangat bermanfaat untuk kesehatan. Kombinasi antara kenikmatan dan kesehatan menjadikan teh memiliki daya saing kuat dibandingkan minuman kesegaran lainnya. Aroma yang harum serta rasa yang khas membuat minuman teh banyak dikonsumsi, salah satunya dikonsumsi bersamaan obat untuk mempermudah obat masuk dalam tubuh⁽¹⁾.

Penggunaan obat bersamaan dengan makanan atau minuman sering kali mempengaruhi efek dari obat. Interaksi obat terjadi ketika efek suatu obat dapat berubah dengan keberadaan obat, makanan, minuman, atau agen kimia lain. Makanan atau minuman pada beberapa obat tertentu dapat meningkatkan maupun menurunkan efek obat, serta menyebabkan perubahan pada proses farmakokinetika dan farmakodinamik obat. Interaksi farmakokinetika bisa terjadi pada proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi obat⁽²⁾.

Tiga jenis minuman teh yang paling populer di dunia adalah teh hitam, teh hijau, dan teh oolong. Berdasarkan keseluruhan teh yang diproduksi dan dikonsumsi di dunia, 78% adalah teh hitam, 20% adalah teh hijau, kurang dari 2% adalah teh oolong, dan sisanya adalah variasi teh yang lain⁽³⁾. Data konsumsi teh di Indonesia tahun 2008 sebesar 77.415 ton per tahun⁽⁴⁾. Kandungan teh hitam antara lain kafein, katekin, tanin, theaflavin, kuersetin, dan thearubigin. Kafein dalam teh hitam mempunyai jumlah lebih banyak dibandingkan jenis teh lain yaitu sebesar 8-11% dari berat kering. Tingkat produksi teh hitam di Indonesia lebih tinggi dibandingkan teh hijau. Selain itu, teh hitam lebih mudah didapatkan, tersedia dalam jumlah banyak, dan terjangkau oleh seluruh masyarakat Indonesia⁽⁵⁾. Suatu penelitian menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antara teh hitam dan teh hijau. Teh hitam dan teh hijau sama-sama merupakan sumber flavonoid dan senyawa fenolat lain yang memiliki khasiat antioksidan⁽⁶⁾.

Kafein merupakan salah satu kandungan teh yang mampu mengurangi kelelahan otot pernafasan dan meningkatkan fungsi dari otot pernafasan. Kafein secara kimiawi mirip dengan teofilin. Kafein membantu merelaksasikan dan melebarkan saluran pernafasan, seperti pada teofilin. Oleh karena itu, kafein dimungkinkan juga dapat mengurangi risiko terjadinya serangan asma dan dapat meredakan beberapa gejala asma, seperti mengi dan batuk⁽⁷⁾. Penelitian lain yang diterbitkan pada tahun 2010 menyimpulkan bahwa kafein dosis sedang sampai dosis tinggi mempunyai efektivitas yang sama dengan albuterol dalam mengendalikan gejala asma pada orang dewasa yang mengalami serangan asma akibat olahraga atau *Exercise in Asthmatic Athletes (EIA)*⁽⁸⁾.

Teofilin merupakan obat yang sering mengalami interaksi dengan obat lain, makanan, atau minuman. Diet tinggi protein atau rendah karbohidrat dapat menyebabkan peningkatan klirens teofilin⁽⁹⁾. Berdasarkan suatu penelitian, menunjukkan bahwa pemberian kafein dosis berulang mampu meningkatkan konsentrasi plasma teofilin sekitar tiga kali lipat dari nilai awal. Volume distribusi teofilin tidak terpengaruh oleh kafein⁽¹⁰⁾. Pemberian teofilin bersama dengan kafein mampu merubah konsentrasi rata-rata, klirens (Cl) dan waktu paruh ($t_{1/2}$) dari teofilin. Rata-rata konsentrasi plasma teofilin meningkat 23%, AUC meningkat 40%, klirens (Cl) teofilin menurun 29%, kecepatan eliminasi konstan (k) teofilin menurun 31%, dan $t_{1/2}$ eliminasi teofilin meningkat 32%^(11, 12). Penelitian lain menyebutkan bahwa kafein dapat menurunkan metabolisme dari teofilin⁽¹²⁾.

Berdasarkan penjelasan di atas, kejadian interaksi teofilin dengan air seduhan teh hitam sangat mungkin terjadi. Oleh karena itu, penting dilakukan suatu penelitian untuk melihat adanya interaksi antara teofilin dengan air seduhan teh hitam yang dapat mengubah parameter farmakokinetika dari teofilin, yang mana teh hitam merupakan sumber kafein yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka diharapkan peneliti dapat menjawab permasalahan tentang bagaimana pengaruh

air seduhan teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap profil farmakokinetika teofilin secara oral pada tikus Wistar jantan.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh air seduhan teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap profil farmakokinetika teofilin secara oral pada tikus Wistar jantan.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, yaitu melengkapi data farmakokinetika teofilin dan diharapkan dapat segera dilakukan uji epidemiologi pada manusia, sehingga pada akhirnya hasil penelitian dapat dipublikasikan dan masyarakat mendapatkan informasi tentang penggunaan teofilin yang baik dan benar, serta memperkaya pengetahuan interaksi minuman dengan teofilin.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Teh hitam

Teh hitam terbuat dari tanaman *Camellia sinensis*. Tanaman teh dapat tumbuh mulai dari daerah pantai sampai pegunungan. Perkebunan teh umumnya dikembangkan di daerah pegunungan yang beriklim sejuk. Meskipun dapat tumbuh subur di dataran rendah, tanaman teh tidak memberikan hasil dengan mutu baik, semakin tinggi daerah penanaman teh semakin tinggi mutu teh. Tanaman teh memerlukan kelembaban tinggi dengan temperatur 13 - 29,5°C⁽¹³⁾.

Teh hitam diperoleh melalui proses fermentasi. Dalam hal ini fermentasi tidak menggunakan mikrobia sebagai sumber enzim, melainkan dilakukan oleh enzim polifenol oksidase yang terdapat di dalam daun teh itu sendiri. Pada proses fermentasi, katekin (flavanol) mengalami oksidasi dan akan menghasilkan thearubigin. Cara fermentasi adalah sebagai berikut : daun teh segar dilayukan terlebih dahulu pada palung pelayu, kemudian digiling sehingga sel-sel daun rusak. Selanjutnya dilakukan fermentasi pada suhu sekitar 22-28°C dengan kelembaban sekitar 90%. Lama fermentasi sangat menentukan kualitas hasil akhir, biasanya dilakukan selama 2-4 jam. Apabila proses fermentasi telah selesai, dilakukan pengeringan sampai kadar air teh kering mencapai 4-6%⁽¹⁴⁾.

Daun teh hitam unggulan mengandung senyawa bioaktif polifenol yang mengandung senyawa flavonoid, tanin, kafein, dan asam fenolat. Teh hitam juga mengandung vitamin B₁, B₂, C, E, dan K, serta kaya mineral fluor, mangan, kalsium, dan kalium. Senyawa katekin yang berada dalam senyawa flavonoid mengandung : *Epicatechin* (EC), *Epicatechin Gallate* (ECG), *Epigallocatechin* (EGC), *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) dan kuersetin⁽¹³⁾.

2. Farmakokinetika

Farmakokinetika adalah suatu ilmu untuk menerangkan nasib obat di dalam tubuh, berupa perubahan kadar obat di dalam darah, atau jaringan sebagai fungsi waktu, yang kemudian dapat digunakan untuk meramalkan efek

farmakologi, terapi, atau efek toksik suatu obat (senyawa kimia)⁽¹⁵⁾. Farmakokinetika mempelajari tentang absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi obat. Obat yang diberikan secara ekstravaskuler (misalnya: peroral, intramuskular, transdermal, dan lainnya) akan mengalami absorpsi agar obat dapat mencapai sirkulasi sistemik. Sebagai contoh, ketika obat diberikan secara peroral, bentuk sediaan obat harus mampu melepaskan molekul obat melalui proses disolusi, dan molekul harus melewati berbagai lapisan di saluran gastrointestinal agar bisa masuk dalam kapiler. Distribusi terjadi ketika molekul obat yang telah berhasil memasuki sistem vaskuler disebarkan dari aliran darah menuju ke berbagai jaringan dan organ, seperti otot atau jantung. Metabolisme adalah proses konversi dari molekul obat, biasanya diperantarai oleh reaksi enzimatik, menjadi bentuk kimia lain yang disebut metabolit. Metabolit dapat memiliki efek farmakologi yang sama atau berbeda dengan obat utuhnya, atau bahkan dapat menyebabkan efek samping toksik. Ekskresi adalah pembersihan obat dari tubuh yang bersifat irreversibel dan terjadi di ginjal atau saluran empedu⁽¹⁶⁾.

Model farmakokinetika terdiri dari dua macam yaitu model farmakokinetika linier dan nonlinier. Model farmakokinetika linier menggunakan kinetika orde pertama. Model linier diasumsikan bahwa parameter farmakokinetika obat tidak akan berubah ketika obat diberikan dalam dosis berbeda atau dosis ganda⁽¹⁷⁾. Jika plot konsentrasi serum tunak (*steady-state serum concentrations*) dibandingkan dengan dosis obat menghasilkan garis lurus, maka obat tersebut dikatakan mengikuti farmakokinetika linier⁽¹⁶⁾. Pada beberapa obat, peningkatan dosis atau pengobatan kronis dapat menyebabkan penyimpangan dari profil farmakokinetika linier yang sebelumnya diamati dengan dosis rendah tunggal pada obat yang sama. Perilaku farmakokinetika yang demikian merupakan model farmakokinetika nonlinier atau disebut juga farmakokinetika tergantung dosis⁽¹⁵⁾. Jika plot konsentrasi tunak serum dibandingkan dosis obat tidak menghasilkan garis lurus, maka obat tersebut mengikuti farmakokinetika nonlinier. Ketika peningkatan konsentrasi tunak melebihi dari apa yang diharapkan setelah peningkatan dosis, hal tersebut dimungkinkan proses pengeluaran obat dari tubuh telah mengalami saturasi atau penenuhan. Fenomena ini dikenal sebagai farmakokinetik Michaelis-Menten⁽¹⁶⁾.

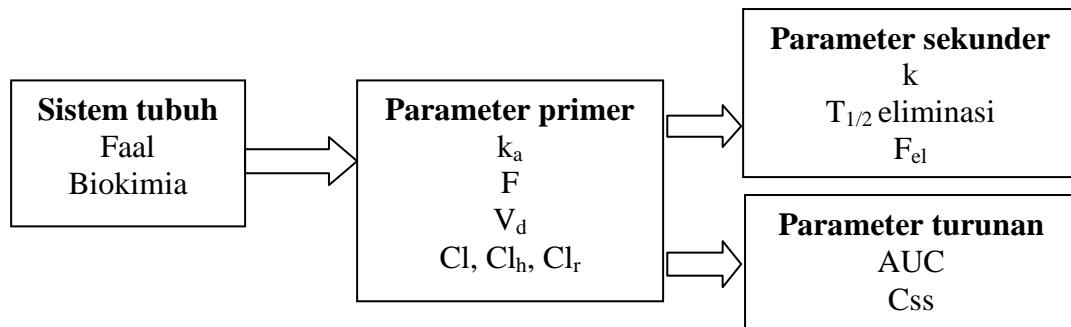
Selain karena saturasi, obat dapat menunjukkan farmakokinetika nonlinier karena suatu perubahan patologis dalam proses absorpsi, distribusi, dan eliminasi obat⁽¹⁵⁾.

Analisis data farmakokinetika dengan menggunakan model matematika dikenal sebagai farmakokinetika kompartemen. Model satu kompartemen adalah yang paling sederhana dan mewakili tubuh sebagai kompartemen tunggal. Hal ini berlaku untuk obat yang didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh dengan cepat. Model dua kompartemen berlaku ketika obat diberikan secara suntikan intravena dan akan didistribusikan dengan cepat ke kompartemen sentral menuju kompartemen perifer (jaringan perifer). Konsep kompartemen digunakan dalam farmakokinetika jika diperlukan penjelasan mengenai konsentrasi plasma dibandingkan data waktu yang memadai dan akurat. Hal tersebut digunakan untuk mendapatkan perkiraan yang akurat tentang parameter farmakokinetika, seperti volume distribusi obat, waktu paruh eliminasi, dan laju eliminasi konstan obat. Pengetahuan tentang parameter dan pemilihan persamaan yang sesuai merupakan dasar untuk menghitung regimen dosis (dosis dan interval pemberian dosis) dan durasi pemberian obat. Pemilihan model kompartemen tergantung pada karakteristik distribusi obat yang mengikuti jalur pemberiannya⁽¹⁶⁾.

3. Parameter farmakokinetika

Parameter farmakokinetika adalah besaran yang diturunkan secara matematis dari model berdasarkan hasil pengukuran kadar obat utuh atau metabolit obat dalam darah, urin, atau cairan hayati lainnya. Fungsi penetapan parameter farmakokinetika suatu obat adalah untuk mengkaji kinetika absorpsi, distribusi, dan eliminasi di dalam tubuh⁽¹⁷⁾. Farmakokinetika merupakan ilmu yang mempelajari pengaruh tubuh terhadap obat. Artinya setiap perubahan faktor hayati, baik karena faktor patologis atau sebab lain, misalnya interaksi obat dapat mempengaruhi nilai-nilai parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi obat. Berdasarkan penjelasan tersebut, parameter yang nilainya langsung dipengaruhi oleh faktor hayati disebut sebagai parameter primer, contohnya ialah tetapan kecepatan absorpsi (k_a), ketersediaan hayati (F), klirens (Cl) baik klirens hepatic (Cl_h) maupun klirens renal (Cl_r), dan volume distribusi (V_d). Parameter yang nilainya berubah akibat perubahan faktor hayati akan mempengaruhi

parameter lain, yaitu parameter sekunder dan turunan. Karakteristik lainnya ialah bahwa perubahan parameter primer bersifat saling tidak tergantung (independen), misalnya jika terjadi perubahan pada kecepatan absorpsi obat (k_a), tidak berpengaruh pada distribusi (V_d) atau klirens obat (Cl , Cl_h , atau Cl_r). Sifat independensi antar parameter primer dapat dimengerti karena faktor-faktor hayati yang mempengaruhi tiap-tiap parameter berbeda⁽¹⁹⁾.



Gambar 1. Hubungan hirarkis parameter primer, sekunder dan turunan⁽¹⁹⁾.

4. Biotransformasi obat

Biotransformasi obat atau metabolisme obat bertujuan membuat obat lebih hidrofilik, sehingga obat dapat lebih mudah dieliminasi oleh ginjal. Reaksi biotransformasi terdiri dari dua fase, yaitu fase 1 dan fase 2. Fase 1 berfungsi untuk mempersiapkan suatu senyawa obat untuk melewati fase 2 dan tidak untuk mempersiapkan ekskresi obat. Fase 2 adalah proses detoksikasi obat dan memberikan produk yang umumnya larut dalam air dan mudah diekskresikan⁽²⁰⁾.

Sitokrom P450 (CYP 450) merupakan enzim monooksigenase yang berperan penting dalam kelompok enzim fase 1. Enzim tersebut memiliki panjang gelombang serapan maksimum 450 nm. Sitokrom P450 terletak pada retikulum endoplasma. Enzim CYP 450 terdapat dalam konsentrasi tinggi pada enterosit usus kecil dan dengan jumlah yang sedikit dalam jaringan ekstrahepatik (ginjal, paru-paru, otak, dll). Isoenzim P450 yang paling penting dalam metabolisme adalah CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1, CYP2A6, dan CYP1A2⁽²¹⁾.

5. CYP1A2 (Sitokrom P450 isoform 1A2)

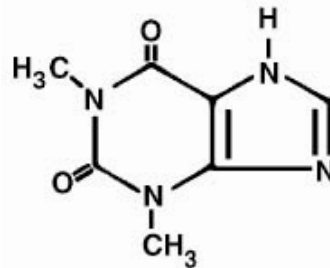
CYP1A2 merupakan enzim metabolisme dalam hati yang memetabolisme beberapa obat yang banyak digunakan. Substrat obat CYP1A2 antara lain kafein, teofilin, klozapin, propranolol, imipramin, dan siklobenzaprin⁽²¹⁾. Furafillin, analog struktur teofilin, diproduksi sebagai pengganti aksi panjang teofilin. Studi awal klinis menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu menghambat metabolisme kafein. Dalam studi lebih lanjut menunjukkan furafillin merupakan inhibitor mekanisme selektif dari CYP1A2. Penghambatan metabolisme kafein oleh fluvoksamin menurunkan klirens kafein lima kali lipat dan meningkatkan waktu paruh enam kali lipat⁽²²⁾.

6. Teofilin

Teofilin merupakan senyawa metilxantin yang digunakan untuk terapi asma, penyakit paru obstruksi akut (PPOK), dan prematur apnea. Indeks terapi teofilin adalah 10-20 µg/mL untuk terapi asma atau PPOK, atau 6-13 µg/mL untuk terapi prematur apnea. Konsentrasi teofilin melebihi 20-30 µg/mL dapat menyebabkan takikardi. Pada konsentrasi teofilin di atas 40 µg/mL dapat mengancam jiwa, termasuk efek samping aritmia ventrikel atau kejang dapat terjadi⁽¹⁶⁾.

Teofilin umumnya dieliminasi oleh metabolisme hepatic (>90%), terutama melalui sistem enzim CYP1A2 dan dalam jumlah yang lebih kecil dimetabolisme oleh CYP3A dan CYP2E1. Sekitar 10% dari dosis teofilin ditemukan dalam urin dalam bentuk tidak berubah. Teofilin mengikuti farmakokinetika nonlinier, namun untuk dosis obat klinis pada pasien, konsep farmakokinetika linier dan persamaan dapat secara efektif digunakan untuk menghitung estimasi dosis dan konsentrasi serum. Pada orang dewasa normal tanpa penyakit dan dengan fungsi hati normal memiliki rata-rata waktu paruh teofilin 8 jam (kisaran: 6-12 jam) dan volume distribusi 0,5 L/kg (kisaran: 0,4-0,6 L/kg)⁽¹⁶⁾. Banyak obat dan kondisi yang bisa mengubah klirens dan konsentrasi serum teofilin. Faktor-faktor yang dapat menurunkan konsentrasi serum teofilin adalah karbamazepin, daging sapi panggang, diet tinggi protein/rendah karbohidrat, isoproterenol (iv), fenitoin, rifampisin, dan merokok. Faktor-faktor yang meningkatkan konsentrasi serum

teofilin adalah allupurinol (>600 mg/hari), simetidin, siprofloksasin, makrolida, oral kontrasepsi, dan propanolol⁽²³⁾.



Gambar 2. Struktur teofilin⁽²⁴⁾.

Teofilin merupakan serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa pahit dan stabil 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. Kelarutan dari teofilin yaitu larut dalam kurang lebih 180 bagian air, lebih mudah larut dalam air panas; larut dalam kurang lebih 120 bagian etanol (95%), mudah larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam ammonia encer P⁽²⁴⁾.

7. Interaksi obat

Interaksi obat merupakan modifikasi dari aksi suatu obat dengan obat atau senyawa lain yang dapat memberikan manfaat, bahaya, atau bahkan tidak berpengaruh signifikan. Pengetahuan tentang interaksi klinis sangat penting seiring meningkatnya penggunaan obat kombinasi dalam pengelolaan penyakit-penyakit kronis. Interaksi obat meliputi interaksi farmasetika, farmakodinamika, dan farmakokinetika. Interaksi farmasetika terjadi ketika obat dicampurkan di luar tubuh atau sebelum pemberian obat, contohnya pencampuran obat yang tidak kompatibel dengan larutan infus intravena dapat menyebabkan presipitasi atau inaktivasi obat. Di antara ketiga jenis interaksi obat tersebut, interaksi farmasetika merupakan interaksi yang paling tidak menyebabkan masalah dalam praktek klinis. Sedangkan interaksi farmakodinamika paling umum ditemui dalam praktek klinis. Interaksi ini terjadi ketika obat berkompetisi pada reseptor yang sama, atau menghasilkan efek antagonis atau sinergis pada target aksi yang sama. Interaksi farmakokinetika terjadi ketika absorpsi, distribusi, atau eliminasi obat dipengaruhi oleh obat lain atau senyawa lainnya⁽²⁵⁾.

8. Interaksi farmakokinetika

Interaksi farmakokinetika obat terjadi ketika suatu obat merubah klirens atau volume distribusi obat lain. Ada beberapa mekanisme interaksi obat yang menghasilkan perubahan klirens obat. Suatu obat dapat menghambat atau menginduksi enzim yang bertanggung jawab untuk memetabolisme obat lain. Penghambatan enzim dapat menurunkan klirens, dan penginduksian enzim dapat meningkatkan klirens. Jika dua obat dieliminasi oleh enzim yang sama, mereka bersaing dalam jalur metabolisme dan menurunkan klirens renal dari salah satu atau kedua obat tersebut. Tipe lain dari interaksi obat yaitu menggantikan obat pada sisi ikatan protein plasma karena kedua senyawa mempunyai sisi ikatan yang sama, dan kedua obat tersebut bersaing pada area protein plasma yang sama. Berdasarkan efek farmakologi, obat dapat meningkatkan atau menurunkan aliran darah pada organ yang mengeliminasi atau memetabolisme obat lain dan dengan demikian dapat mengurangi klirens obat. Perubahan dalam ikatan protein plasma juga menyebabkan perubahan volume distribusi. Jika dua obat berbagi sisi ikatan dengan jaringan yang sama, maka memungkinkan terjadinya interaksi obat dan merubah volume distribusi salah satu obat⁽¹⁶⁾.

Interaksi farmakokinetika terjadi ketika obat mempengaruhi proses absorpsi, distribusi, metabolisme, atau ekskresi obat lain. Interaksi farmakokinetika dapat mengakibatkan penundaan onset, menurunkan atau meningkatkan efek obat, toksisitas, atau mengubah ekskresi, dan secara langsung dapat mempengaruhi konsentrasi obat yang mencapai target aksi⁽²⁶⁾.

Interaksi absorpsi berkaitan dengan perubahan efek suatu obat akibat adanya rute pemberian obat lain yang masuk ke dalam tubuh. Sebagian besar interaksi absorpsi terjadi di usus. Contoh penyebab adanya interaksi absorpsi yaitu perubahan pH lambung, pemberian makanan secara bersamaan, mekanisme penghambatan atau pembentukan kelat, dan hilangnya flora normal di usus⁽²⁶⁾.

Interaksi distribusi berkaitan dengan cara suatu obat bergerak ke seluruh tubuh. Interaksi distribusi secara khas merupakan hasil dari perubahan ikatan protein plasma. Efek obat secara langsung berhubungan dengan jumlah obat bebas yang mencapai target aksi. Jumlah obat yang tersedia (obat bebas) akan dipengaruhi oleh adanya obat lain yang mempengaruhi fraksi ikatan protein obat

tersebut. Warfarin merupakan contoh obat yang sensitif terhadap penggantian ikatan protein oleh obat-obat lain⁽²⁶⁾.

Interaksi metabolisme berkaitan dengan perubahan biotransformasi obat menjadi bentuk aktif atau bentuk inaktifnya yang siap untuk diekskresikan. Interaksi metabolisme biasanya merupakan hasil perubahan konsentrasi obat akibat peningkatan atau penurunan aktivitas enzim dan kecepatan metabolisme⁽²⁷⁾. Induksi enzim menghasilkan suatu peningkatan sintesis enzim sitokrom P450 (CYP), mempercepat metabolisme obat, konsentrasi obat subterapeutik dan risiko terapi obat yang tidak efektif. Inhibisi enzim bisa bersifat kompetitif maupun non kompetitif terhadap enzim CYP yang disebabkan oleh obat kedua. Hasil dari inhibisi enzim non kompetitif oleh adanya agen atau obat kedua, yaitu memperlambat metabolisme obat pertama, meningkatkan konsentrasi plasma, dan risiko toksisitas. Dalam kasus inhibisi kompetitif, metabolisme kedua obat dapat diturunkan, menghasilkan konsentrasi obat yang lebih tinggi dari yang diharapkan pada tiap obat⁽²⁾.

Interaksi ekskresi berkaitan dengan perubahan kemampuan untuk mengeliminasi obat yang berubah atau metabolit obat dari tubuh. Contoh interaksi ekskresi, yaitu efek konsentrasi sodium atau diuretik pada retensi litium oleh ginjal⁽²⁶⁾.

9. Interaksi obat dengan makanan

Hubungan dan interaksi antara makanan, nutrisi yang terkandung, dan obat telah mendapat pengakuan dalam bidang kesehatan dan pengobatan. Beberapa makanan dan nutrisi tertentu dalam makanan jika tertelan bersamaan dengan beberapa obat dapat mempengaruhi bioavailabilitas, farmakokinetika, farmakodinamika, dan kemanjuran terapi dari obat tersebut. Efektivitas terapi obat banyak tergantung pada status gizi individu. Keberadaan beberapa nutrisi dalam saluran pencernaan atau dalam sistem fisiologis tubuh dapat meningkatkan atau merusak tingkat penyerapan obat dan metabolisme⁽²⁸⁾. Interaksi antara makanan dan obat tidak sengaja dapat mengurangi atau meningkatkan efek obat yang dapat mengakibatkan kegagalan terapi atau meningkatkan toksisitas. Hal tersebut sangat

mempengaruhi pengobatan pasien, memberikan kontribusi terhadap morbiditas dan memperpanjang waktu perawatan atau rawat inap⁽¹⁷⁾.

Obat dengan indeks terapi sempit dan butuh adanya penyesuaian dosis (seperti hidralazin, teofillin, takrolamus, dan karbamazepin), bahkan perubahan kecil dalam efek respon dosis dapat memiliki konsekuensi besar. Pada pasien yang rentan terhadap interaksi obat dan makanan mungkin dapat menyebabkan kesulitan penentuan dosis pada obat tersebut, dan pemberian obat yang ada konsistensi hubungannya dengan asupan makanan harus dipertimbangkan⁽¹⁷⁾.

10. Level signifikan interaksi obat

Level signifikan adalah derajat obat yang berinteraksi akan mengubah kondisi pasien. Level signifikan dikelompokkan berdasarkan keparahan dan dokumentasi interaksi yang terjadi. Derajat keparahan akibat interaksi diklasifikasikan menjadi *minor* (ringan, tidak mempengaruhi hasil terapi, dan dapat diatasi dengan baik), *moderate* (efek sedang, dapat menyebabkan kerusakan organ), dan *major* (efek fatal, dapat menyebabkan kematian). Dokumentasi terdiri dari lima tipe, yaitu *established* (sudah terbukti secara klinis dapat terjadi interaksi), *probable* (sangat mungkin terjadi walau tidak dibuktikan secara klinis), *suspected* (bisa terjadi karena ada data yang mendukung namun belum dipelajari lebih lanjut), *possible* (bisa terjadi namun data tidak ada), dan *unlikely* (diragukan dapat terjadi). Level signifikansi terdiri dari lima level. Level signifikansi interaksi 1, 2, 3 menunjukkan interaksi yang mungkin terjadi. Level signifikansi 4, 5 menunjukkan interaksi belum pasti terjadi dan belum diperlukan antisipasi untuk efek yang terjadi⁽²⁹⁾.

Tabel I. Level signifikansi interaksi obat⁽²⁹⁾

Level signifikansi	Tingkat keparahan	Dokumentasi
1	Mayor	<i>Suspected</i> atau lebih
2	Moderat	<i>Suspected</i> atau lebih
3	Minor	<i>Suspected</i> atau lebih
4	Mayor/moderat	<i>Possible</i>
5	Minor	<i>Possible</i>
	Lainnya	<i>Unlikely</i>

11. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

HPLC atau disebut KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan teknologi analitik yang cakap dalam berbagai bidang dan secara luas digunakan untuk analisis obat-obatan, biomolekul, polimer-polimer, dan banyak komponen organik maupun ionik. Selain itu, KCKT merupakan bentuk kromatografi cair modern yang menggunakan kolom dengan partikel kecil melalui fase gerak yang dipompa pada tekanan tinggi⁽³⁰⁾. Di industri farmasetika modern, KCKT merupakan peralatan analitik yang paling utama dan sempurna dalam seluruh tingkat penelitian, pengembangan, dan produksi obat⁽³¹⁾.

Sistem dasar KCKT terdiri dari wadah fase gerak, pompa, injektor, kolom, dan detektor. Pompa menarik fase gerak dari wadah dan memompanya menuju kolom. Pada bagian depan kolom dihubungkan dengan injektor yang berfungsi sebagai tempat memasukkan sampel ke sistem. Pada aliran keluar, terdapat detektor yang mendeteksi komponen sampel dan menghasilkan sinyal yang ditampilkan sebagai sebuah puncak pada bagian rekorder⁽³²⁾.

Tipe HPLC dibedakan berdasarkan tipe interaksi molekulnya. Ada tiga tipe dasar interaksi molekul, yaitu kekuatan ionik, kekuatan polar, dan kekuatan dispersi. Adapun empat tipe utama HPLC adalah:

a. HPLC fase normal

Tipe ini didasarkan pada perbedaan kekuatan interaksi polar antara analit dalam campuran dengan fase diam. Makin kuat interaksi antara analit dengan fase diam, maka retensi analit makin lama.

b. HPLC fase terbalik

Tipe ini didasarkan pada kekuatan dispersi (interaksi Van der Waals atau hidrofobik). Kepolaran dari fase gerak dan fase diam dibalik, sehingga permukaan fase diam pada HPLC ini bersifat hidrofobik dan fase geraknya bersifat polar.

c. HPLC penukar ion

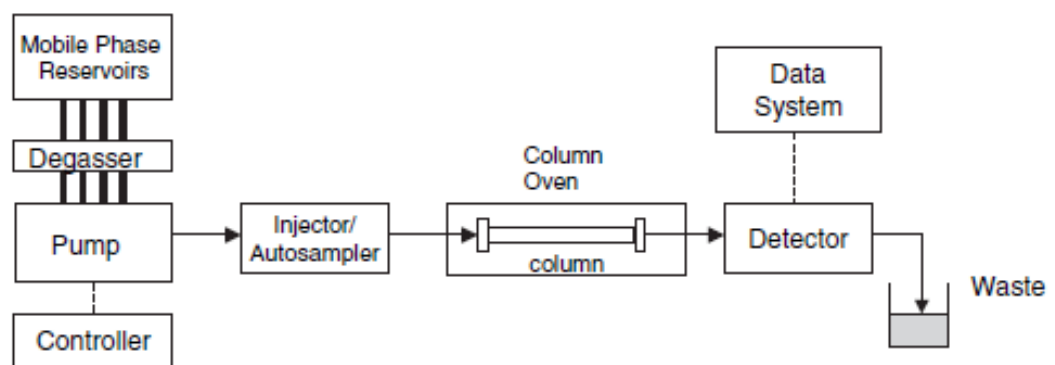
Tipe ini didasarkan pada perbedaan afinitas dari ion analit untuk ditarik berlawanan pada resin atau ion-ion yang berlawanan terabsorpsi dalam fase diam hidrofobik.

d. HPLC *size-exclusion*

Metode ini digunakan untuk pemisahan molekul dinamis berdasarkan ukuran molekul⁽³¹⁾.

Dalam melaporkan karakteristik kromatografi kolom, sistem, dan pemisahan umumnya digunakan empat deskripsi, yaitu:

1. Faktor retensi (k), merupakan ukuran unit senyawa tertentu pada sistem kromatografi pada kondisi tertentu yang diberikan. Faktor retensi bersifat independen terhadap dimensi kolom dan kecepatan aliran fase gerak.
2. Efisiensi (N), adalah pengukuran tingkat dispersi puncak pada kolom tertentu.
3. Selektivitas (α), adalah kemampuan sistem untuk membedakan dua kromatografi analit yang berbeda.
4. Resolusi (R), adalah ukuran kombinasi dari pemisahan dua senyawa yang meliputi dispersi puncak dan selektivitas⁽³¹⁾.



Gambar 3. Skema komponen utama sistem HPLC⁽³⁰⁾.

B. Landasan Teori

Teofilin merupakan obat dengan indeks terapi yang sempit, sehingga dapat memungkinkan terjadinya efek yang tidak diharapkan jika kadarnya dalam darah berubah akibat interaksi dengan makanan atau minuman. Hasil penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa parameter farmakokinetik teofilin dapat dipengaruhi oleh jus pisang ambon, jus jambu biji, dan telur^(33,34,35). Pemberian air seduhan teh hitam satu jam sebelum pemberian parasetamol mengakibatkan penurunan klirens parasetamol, sedangkan pemberian air seduhan teh hitam secara bersamaan dengan parasetamol meningkatkan waktu paruh dan AUC_{0-inf} ⁽³⁶⁾. Teh

hitam merupakan minuman yang sering digunakan bersama obat dan merupakan minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Teh hitam diketahui mengandung kafein 8-11% dari bobot kering⁽³⁾. Pemberian kafein bersama teofilin mampu mempengaruhi metabolisme, meningkatkan rata-rata konsentrasi plasma, menurunkan klirens, menurunkan kecepatan eliminasi, dan memperlama waktu paruh eliminasi dari teofilin^(10,11,12).

C. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut, maka dapat disusun hipotesis bahwa seduhan teh hitam (*Camellia sinensis*) yang diberikan bersamaan dengan teofilin dapat mengalami interaksi dengan teofilin pada fase metabolisme dan mempengaruhi parameter farmakokinetik teofilin yang diberikan pada tikus Wistar jantan.

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⁽³⁷⁾. 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 consent*.
3. Peneliti mengajukan surat permohonan dan menyerahkan *inform consent* 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 lazim digunakan (gelas beker, gelas ukur, labu takar, batang pengaduk, erlenmeyer, tabung reaksi), spuit injeksi 1-10 mL, jarum oral (ujung tumpul), alat timbang, *ependorf*, vial, silet, *holder*, seperangkat alat HPLC Waters e 2695, kolom Waters SunFire™ C18 5µg, detektor Waters 2489 UV/Visibel, injektor SM 7, Shimadzu UV *Spectrophotometer* UV-1800.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi teh hitam *Pasir Walik* yang berasal dari daerah Yogyakarta (Dinkes P.IRT: 210347101512), teofilin murni (dari Laboratorium Teknologi Farmasi UII), asam asetat glasial, natrium asetat, asetonitril (dari Laboratorium Kimia Farmasi UII), metanol, asam trikloroasetat (TCA), heparin (dari Laboratorium Farmakologi UII), aquabidest (dari Apotik UGM), tikus putih jantan galur Wistar (dari Laboratorium Hewan UII).

C. Cara Kerja

1. Pembuatan larutan pereaksi

a. Pembuatan larutan buffer asetat

Ditimbang 0,68 g natrium asetat dan dimasukkan ke dalam gelas beker. Ditambahkan 100 ml aquabidest, diaduk sampai homogen dan dimasukkan dalam labu ukur 500 mL. Kemudian ditambahkan 5 ml asam asetat glasial, dilarutkan dengan aquabidest sampai tanda batas dan dihomogenkan dengan bantuan alat vortex. Larutan di-ultrasonifikasi, kemudian disaring dengan menggunakan penyaring Buchner sebelum digunakan⁽³⁸⁾.

b. Pembuatan larutan fase gerak

Diambil 35 ml asetonitril dan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 ml, dilarutkan dengan larutan buffer hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan bantuan alat vortex. Gas dihilangkan dengan ultrasonifikasi. Larutan disaring dengan penyaring Buchner sebelum digunakan⁽³⁸⁾.

c. Pembuatan larutan TCA 10%

Ditimbang 10 gram asam trikloroasetat (TCA) kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquades sampai 100 mL.

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 ditampung di *ependrof* yang telah diberi 3-4 tetes heparin lalu dihomogenkan. Darah dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,25 mL asam trikloroasetat kadar 10%, kemudian di-*vortex* dan di-*sentrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 2500 rpm dan diambil beningannya sebanyak 220 μ L untuk diendapkan terlebih dahulu dalam *ependrof*. Setelah diendapkan diambil 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 1 mL/menit dan panjang gelombang 271 nm⁽³⁸⁾.

3. Uji pendahuluan

a. Penetapan panjang gelombang maksimum teofilin

Teofilin dilarutkan dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dengan kadar 40 µg/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 hingga konsentrasi 100 µg/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 dengan TCA dan lama sentrifugasi

Dibuat kadar 20 µg teofilin dalam darah 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 15 menit dan sisanya untuk disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 20 menit, kemudian hasilnya dibandingkan dan dipilih yang terbaik untuk digunakan sebagai perbandingan darah dan TCA serta lama sentrifugasi pada proses-proses selanjutnya.

d. Penetapan kurva baku

Dibuat larutan stok teofilin 400, 100, 50, dan 25 µg/mL dalam aquabidest dengan cara menimbang 10 mg teofilin murni kemudian dilarutkan dalam aquabidest sampai volume 25 mL sehingga didapat stok teofilin 400 µg/mL. Stok teofilin 100, 50, dan 25 µg/mL dibuat dari hasil pengenceran dari stok teofilin 400 µg/mL. Diambil sejumlah teofilin dari larutan stok kemudian ditambahkan dengan darah hingga volumenya 0,25 mL dan ditambahkan TCA 10% 0,25 mL. Seri kadar teofilin yang dibuat dalam darah adalah 0,5; 1; 4, 16, 20, dan 24 µg/mL. Setelah itu, campuran di-*vortex* dan di-*sentriguge* 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 di-*vortex* dan di-*sentifuge* 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:

$$\text{Perolehan kembali} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar yang diketahui}} \times 10 = P\%$$

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

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 $100 \pm 15\%$ ⁽³⁹⁾.

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 :

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

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%⁽³⁹⁾. Selain itu, penentuan kriteria presisi juga dapat menggunakan perhitungan *Horwitz Ratio* (HORRAT).

$$\text{HORRAT} = \frac{\text{RSDobs}}{\text{RSDcalc}}$$

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

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

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⁽⁴⁰⁾. Batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*), (*Lower Limit of Quantification/LLOQ*) dan batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/LOQ*) dapat dihitung melalui persamaan regresi linier yang sudah didapat pada penetapan kurva baku.

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

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

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

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 *freezer* lemari pendingin selama 24, 48, dan 72 jam. Setelah itu, ditetapkan kadar teofilin dengan HPLC pada jam ke-0, 24, 48, dan 72. 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:

Dosis teofilin untuk tikus = 54 mg/kg BB tikus

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

Volume pemejanaan = 1 mL/200 g BB tikus

Larutan stok = dosis : volume pemejanaan

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

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

$$= 270 \text{ mg/25 mL}$$

j. Penetapan dosis dan cara pembuatan sediaan teh hitam

Dosis teh ditentukan berdasarkan pada konsumsi masyarakat indonesia untuk sekali minum kemudian dikonversi ke tikus.

Perhitungan konversi dosis manusia ke tikus:

Dosis sekali minum teh untuk orang Indonesia adalah 1,5 g/50 kgBB⁽³⁶⁾.

Asumsi untuk berat manusia Indonesia adalah 50 kg, maka untuk manusia dengan berat 70 kg digunakan teh : $70/50 \times 1,5 \text{ g} = 2,1 \text{ g}$

$$\begin{aligned} \text{Dosis teh untuk tikus} &= 0,018 \times 2,1 \text{ g} \\ &= 37,8 \text{ mg/200 g} \\ &= 189 \text{ mg/kg BB tikus} \end{aligned}$$

Stok, dengan asumsi volume pemejanan 1 mL/200 g

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} : \text{volume pemejanan} \\ &= (37,8 \text{ mg/200 g}) : (1 \text{ mL/200 g}) \\ &= 37,8 \text{ mg/mL} \\ &= 0,945 \text{ g/25 mL} \end{aligned}$$

Pembuatan air seduhan teh hitam dilakukan dengan cara menimbang 0,945 g teh hitam, kemudian menyeduhnya dengan air mendidih, mengaduk dan mendinginkan seduhan selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat ditambah dengan aquadest hingga 25 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; 5,0; 6,0; 8,0; 9,0; 10; 12; dan 24 jam⁽⁴¹⁾. Kadar teofilin dalam darah ditetapkan dengan HPLC. Hasil yang diperoleh dibuat kurva teofilin dalam darah terhadap waktu. Lalu ditentukan waktu optimal untuk pencuplikan darah.

l. 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 teh hitam 189 mg/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 air seduhan teh hitam 189 mg/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.

c. Penentuan parameter farmakokinetika teofilin

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

$$k_a = \text{metode residual}$$

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

$$C_{p_{\text{maks}}} = Be^{-k \cdot t_{\text{maks}}} - Ae^{-ka \cdot t_{\text{maks}}}$$

$$AUC_{0-\text{inf}} = \frac{B}{k} - \frac{A}{ka}$$

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

$$V_d = F \cdot D_0 \cdot k_a / A (k_a - k)$$

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

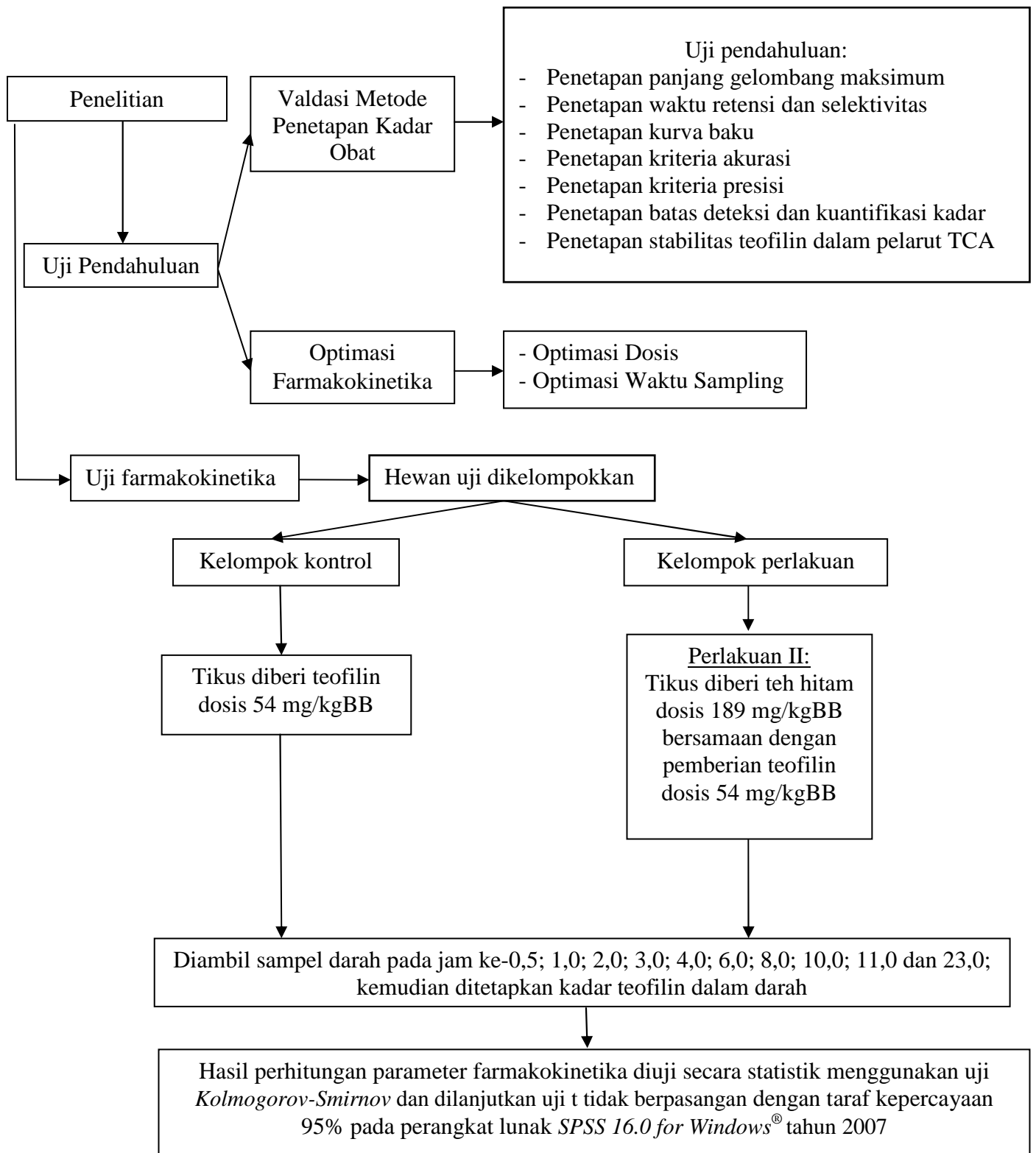
K = persamaan regresi

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

$$Cl_t = k \cdot V_d$$

5. Analisis 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), volume distribusi (V_d), klirens total (CL_t), tetapan laju eliminasi (k), waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$), kadar maksimum obat dalam tubuh ($C_{p_{maks}}$), waktu pada saat obat mencapai kadar maksimum (t_{maks}), dan area di bawah kurva (AUC_{0-inf}). Parameter yang diperoleh pada kedua kelompok tersebut kemudian dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* kemudian dianalisis dengan uji t tidak berpasangan dengan taraf kepercayaan 95% pada perangkat lunak *SPSS 16.0 for Windows*[®] tahun 2007.



Gambar 4. Sistematika kerja penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB (*Camellia sinensis*) terhadap profil farmakokinetika teofilin yang diberikan secara oral pada tikus wistar jantan. Teofilin merupakan salah satu obat dengan indeks terapi sempit yaitu 10-20 $\mu\text{g/mL}$ ⁽¹⁵⁾, sehingga hal tersebut dapat memungkinkan terjadinya interaksi antara teofilin dengan obat lain, makanan, atau minuman. Informasi mengenai interaksi teofilin dengan obat lain, makanan, atau minuman sangat penting untuk mencegah terjadinya efek-efek yang tidak diinginkan akibat interaksi tersebut. Penelitian ini akan memberikan tambahan informasi mengenai interaksi obat dengan minuman dilihat dari nilai parameter farmakokinetik.

A. Hasil Uji Pendahuluan

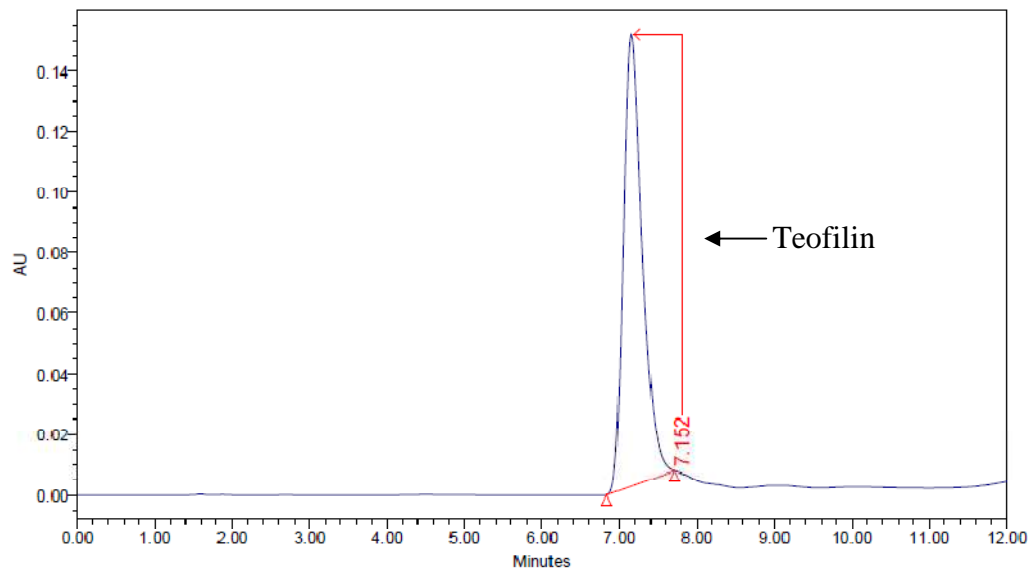
1. Penetapan panjang gelombang maksimum teofilin

Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang suatu larutan yang mempunyai absorbansi tertinggi. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum teofilin dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm, memberikan hasil bahwa teofilin mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 271 nm. Penetapan kadar teofilin harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang maksimum penetapan kadar akan memberikan kepekaan (sensitivitas) yang tinggi dan kesalahan yang kecil⁽⁴²⁾.

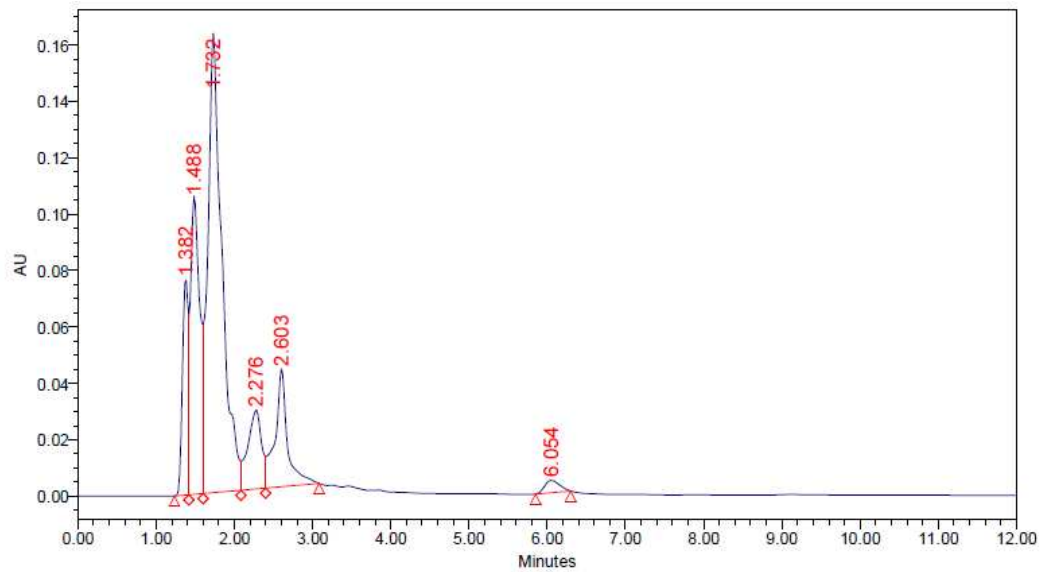
2. Penetapan waktu retensi dan selektivitas teofilin

Selektivitas metode merupakan bagian yang sangat penting dalam penetapan kadar obat dalam cairan biologis, karena metode yang dipakai harus mampu membedakan senyawa obat yang dikehendaki dengan metabolit obat atau senyawa endogen lain yang ada dalam cairan biologis. Penetapan selektivitas metode dilakukan dengan cara membandingkan hasil kromatogram teofilin dalam

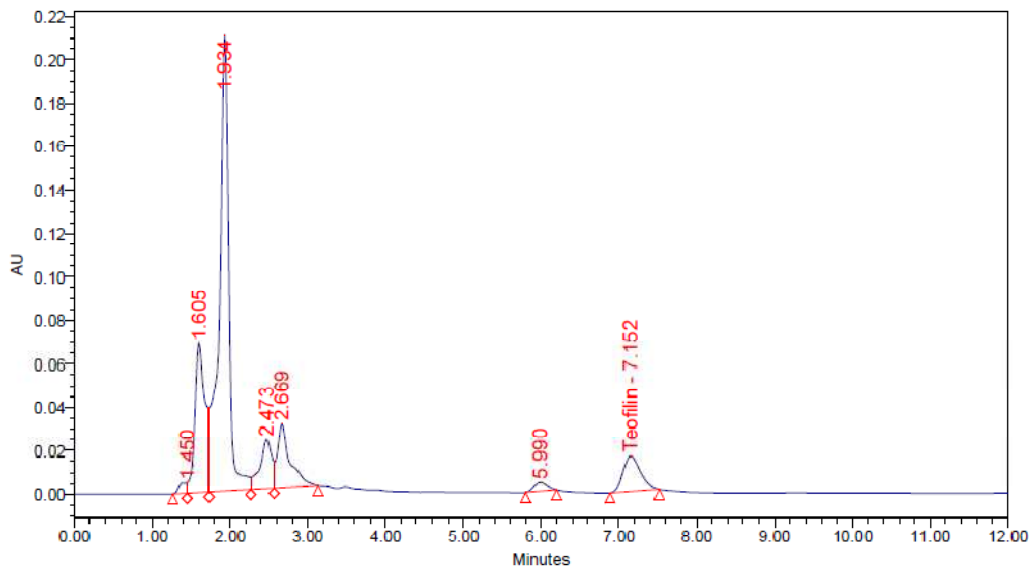
fase gerak, blanko darah, dan teofilin dalam darah sehingga dapat diperoleh nilai koefisien selektivitas (α).



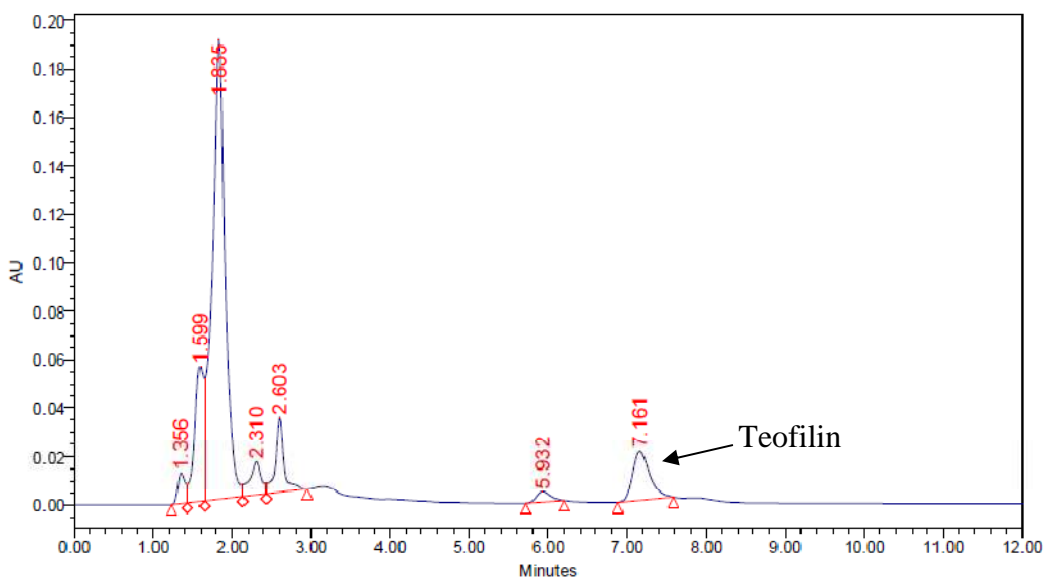
Gambar 5. Kromatogram teofilin dalam fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18.



Gambar 6. Kromatogram blanko darah tikus dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18.



Gambar 7. Kromatogram teofilin kadar 1 $\mu\text{g/mL}$ dalam darah tikus (*in vitro*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18.



Gambar 8. Kromatogram teofilin dalam darah sampel jam ke-11 tikus perlakuan IV (*in vivo*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18.

Berdasarkan pengamatan secara visual dapat dilihat bahwa puncak teofilin dalam fase gerak muncul pada waktu retensi 7,152 menit. Pada kromatogram blangko darah, ditemukan puncak senyawa endogen terakhir pada waktu retensi 6,054 menit, hal tersebut menunjukkan tidak ada gangguan senyawa endogen pada daerah puncak teofilin. Selain itu, pada kromatogram teofilin dalam darah baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, terlihat jelas pemisahan antara puncak

senyawa endogen dalam darah dengan puncak teofilin. Nilai α yang diperoleh dari hasil perhitungan adalah 1,194 (lampiran 3), nilai tersebut menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria selektivitas ($\alpha > 1$)⁽⁴³⁾.

3. Optimasi perbandingan darah dengan TCA dan lama sentrifugasi

Optimasi perbandingan darah dengan TCA dan lama sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui perbandingan yang paling optimum antara darah dengan TCA dan lama sentrifugasi. Optimasi tersebut akan digunakan untuk proses selanjutnya pada penetapan kadar teofilin dalam darah.

Tabel II. Luas area puncak teofilin dalam beberapa perbandingan darah dengan TCA dan lama sentrifugasi

Darah (μL)	TCA (μL)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Kecepatan dan kecepatan sentrifugasi	Luas area
250	250	20	2500 rpm selama 15 menit	262613
250	500	20		132898
250	750	20		92830
250	250	20	2500 rpm selama 20 menit	219920
250	500	20		88591
250	750	20		58165

Berdasarkan hasil optimasi diperoleh perbandingan darah dengan TCA sebesar 1:1 dan lama sentrifugasi selama 15 menit, karena pada perbandingan tersebut didapatkan luas area yang paling baik. Luas area tersebut menunjukkan jumlah teofilin yang berada dalam larutan TCA paling besar.

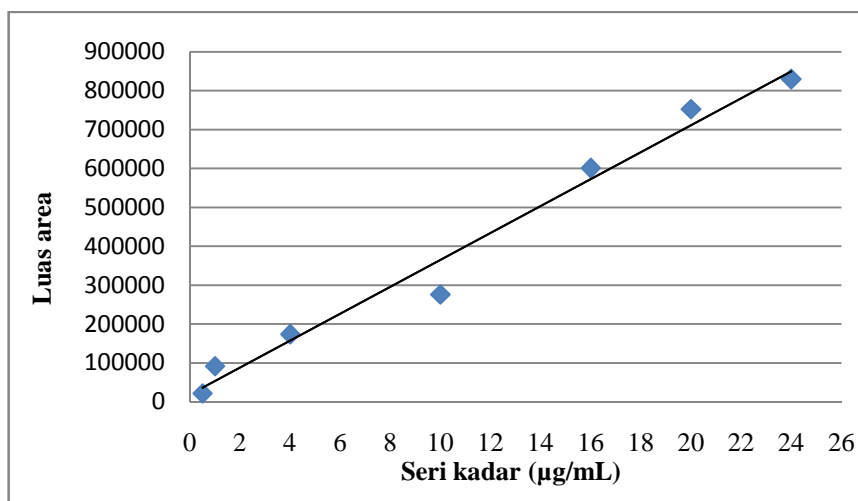
4. Penetapan kurva baku

Kurva baku atau kurva kalibrasi adalah hubungan antara respon instrumen dengan konsentrasi analit yang diketahui⁽⁴²⁾. Parameter yang digunakan untuk menilai baik atau tidaknya kurva baku dapat dilihat dari parameter linieritas yaitu nilai r . Data kadar teofilin dan luas area kromatogram dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Kadar teofilin dan luas area kromatogram

Kadar teofilin ($\mu\text{g/mL}$)	Luas area kromatogram
4	173710
10	275965
16	600609
20	752600
24	829621

Berdasarkan hasil regresi linier antara kadar teofilin (x) dengan luas area kromatogram (y) diperoleh persamaan $y = 35862,59 x - 4265,40$; dengan nilai r sebesar 0,984 (n=5, nilai r_{tabel} taraf signifikansi 0,05 = 0,878).



Gambar 9. Kurva baku teofilin dalam darah tikus (*in vitro*) dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (7:93) dan fase diam C18.

5. Penetapan kriteria akurasi dan presisi

Akurasi menggambarkan nilai kedekatan kadar analit yang dianalisis dengan kadar analit sesungguhnya. Akurasi dinyatakan dengan persen perolehan kembali (% perolehan kembali). Akurasi hasil analisis sangat tergantung pada sebaran kesalahan sistematis dalam keseluruhan tahapan metode analisis⁽⁴⁴⁾. Presisi atau keterulangan dapat dilihat dari nilai kesalahan kesalahan acak dan perhitungan HORRAT (*Horwitz Ratio*). Kadar teofilin dalam darah yang digunakan untuk menguji kriteria akurasi dan presisi adalah 6, 16, 20, dan 24 $\mu\text{g/mL}$ dengan masing-masing 3 replikasi.

Tabel IV. Parameter-parameter akurasi dan presisi

Kadar teofilin		Perolehan kembali (%)	Kesalahan sistematik (%)	Kesalahan acak (%)	HORRAT
Diketahui ($\mu\text{g/mL}$)	Terukur ($\mu\text{g/mL}$)				
6	6,11	101,84	-1,84	0,62	0,10
	6,17	102,76	-2,76		
	6,09	101,55	-1,55		
Rata-rata \pm SD	6,12 \pm 0,04	102,05 \pm 0,63	-2,05 \pm 0,63		
16	16,87	105,42	-5,42	1,11	0,21
	16,84	105,25	-5,25		
	16,53	103,32	-3,32		
Rata-rata \pm SD	16,75 \pm 0,19	104,66 \pm 1,16	-4,66 \pm 1,16		
20	21,10	105,52	-5,52	0,88	0,17
	21,10	105,51	-5,51		
	20,78	103,92	-3,92		
Rata-rata \pm SD	21,00 \pm 0,18	104,98 \pm 0,92	-4,98 \pm 0,92		
24	23,25	96,88	3,12	0,91	0,18
	23,00	95,84	4,16		
	22,84	95,16	4,84		
Rata-rata \pm SD	23.03 \pm 0.21	95.96 \pm 0.87	4,04 \pm 0,87		

Berdasarkan hasil perhitungan (lampiran 6) menunjukkan bahwa semua hasil uji akurasi memenuhi persyaratan nilai % perolehan kembali yaitu antara 85-115%, nilai tersebut merupakan nilai yang diperbolehkan pada metode HPLC. Nilai parameter presisi juga menunjukkan hasil yang baik, hal tersebut dilihat dari nilai kesalahan acak yang kurang dari 15% dan nilai HORRAT kurang dari 2⁽³⁹⁾. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria akurasi dan presisi.

6. Penetapan batas deteksi (LOD) dan kuantifikasi kadar teofilin (LLOQ, LOQ)

Nilai LOD, LLOQ, dan LOQ merupakan parameter dari sensitivitas metode analisis. Semakin kecil nilai LOD, LLOQ, dan LOQ maka semakin sensitif metode analisis tersebut, sehingga mampu mengukur kadar obat sekecil-kecilnya dalam cairan biologis. Nilai parameter sensitivitas yang diperoleh pada penelitian ini adalah LOD sebesar 0,97 $\mu\text{g/mL}$, LLOQ sebesar 1,62 $\mu\text{g/mL}$, dan LOQ sebesar 3,25 $\mu\text{g/mL}$ (lampiran 4).

7. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA

Penetapan stabilitas bertujuan untuk mengetahui kestabilan kadar teofilin selama dilakukan proses penelitian. Stabilitas analit dimulai dari pengambilan, proses preparasi dan penyimpanan harus dinilai, sebelum dilakukan analisis terhadap analit tersebut. Kestabilan obat dalam cairan biologi dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan, sifat kimia obat, komponen cairan biologis, dan sistem wadah⁽⁴³⁾. Parameter stabilitas dapat dilihat dari nilai persentase degradasi.

Tabel V. Persentase degradasi teofilin dalam pelarut TCA

Hari ke-	Luas area	Kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	1177654	32,96	0
1	1124127	31,46	4,53
2	1093230	30,60	7,14

Pada penelitian ini dilakukan uji stabilitas mulai hari ke-0 sampai hari ke-2 dengan menggunakan kadar teofilin dalam darah sebesar $34 \mu\text{g/mL}$. Pemilihan uji stabilitas sampai hari ke-2 didasarkan atas perkiraan bahwa sampel yang akan dianalisis membutuhkan waktu penyimpanan antara satu sampai dua hari sebelum akhirnya dibaca pada HPLC. Jumlah sampel yang terlalu banyak dianalisis tidak memungkinkan pembacaan sampel dilakukan dalam satu hari yang sama. Penyimpanan dilakukan di dalam *freezer* lemari pendingin, kemudian pada hari ke-1 dan ke-2 dibaca kadar teofilin dalam sampel serta dibandingkan dengan hasil pembacaan kadar teofilin hari ke-0. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh nilai persentase degradasi masih kurang dari 20%, hal ini menunjukkan bahwa sampel masih diperbolehkan disimpan selama 2 hari sebelum dilakukan analisis dengan HPLC⁽⁴³⁾.

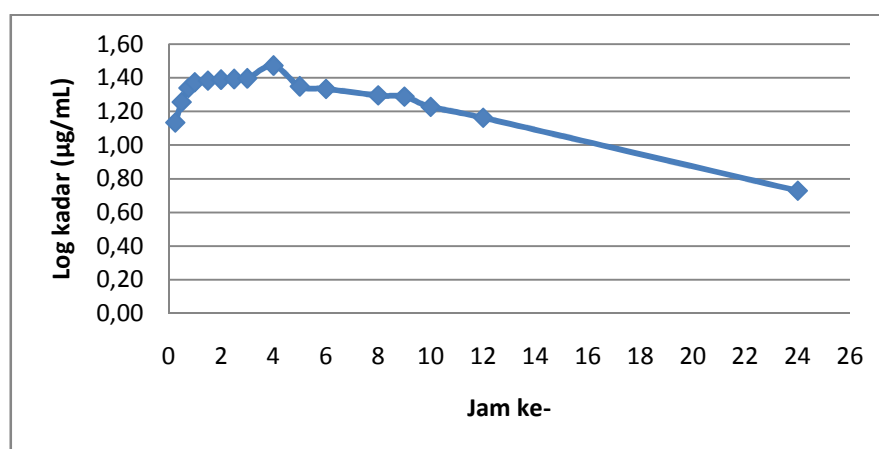
8. Penetapan dosis penelitian

Penetapan dosis dalam penelitian yang dilakukan meliputi penetapan dosis teofilin dan dosis teh hitam. Dosis teofilin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 54 mg/kgBB , dosis ini merupakan hasil konversi dari dosis teofilin yang masih diperbolehkan pada manusia yaitu 600 mg . Dosis teh hitam yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada dosis teh hitam penelitian sebelumnya, yaitu 189 mg/kgBB tikus⁽³⁶⁾. Cara penyeduhan teh hitam dilakukan dengan menimbang $0,945 \text{ g}$ teh hitam, kemudian menyeduhnya dengan air mendidih, mengaduk dan

mendiamkan seduhan selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat ditambahkan dengan aquadest hingga 25 mL. Penyeduhan menggunakan air mendidih (100°C) bertujuan agar kafein yang ada di dalam teh hitam tersari lebih banyak sehingga kemungkinan terjadi interaksi antara kafein dalam teh hitam dengan teofilin semakin besar. Semakin tinggi suhu air yang digunakan untuk menyeduh teh hitam dan semakin lama waktu penyeduhan, maka jumlah kafein yang ada di dalam air seduhan semakin banyak⁽⁴⁴⁾.

9. Optimasi waktu sampling

Optimasi waktu sampling dilakukan untuk mengetahui gambaran kadar teofilin dalam darah pada jam-jam tertentu setelah pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB secara per oral. Hasil optimasi waktu sampling selanjutnya akan digunakan sebagai pedoman penetapan waktu sampling pada kelompok kontrol dan perlakuan serta untuk menetapkan model kompartemen teofilin. Optimasi waktu sampling dilakukan pada jam ke-0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 9,0; 10,0; 12,0; dan 24,0. Kekurangan dalam optimasi waktu sampling yang dilakukan adalah tidak ada pengambilan sampel antara jam ke-12 dan 24, hal tersebut dikarenakan tidak memungkinkannya dilakukan pengambilan sampel pada jam-jam tersebut akibat keterbatasan waktu dalam melakukan penelitian di laboratorium. Ketiadaan pengambilan sampel pada jam tersebut menyebabkan kurangnya titik-titik eliminasi yang dihasilkan pada kurva kadar teofilin dalam darah.



Gambar 10. Kurva hubungan kadar teofilin dalam darah dan waktu pada tikus setelah pemberian teofilin secara oral dosis 54 mg/kgBB.

Lama waktu sampling yang ideal adalah 3-5 $t_{1/2}$ eliminasi⁽⁴⁵⁾. Berdasarkan hasil perhitungan parameter farmakokinetika pada optimasi waktu sampling (lampiran 7), diperoleh nilai $t_{1/2}$ eliminasi sebesar 8,66 jam. Jadi lama waktu sampling teofilin berdasarkan optimasi yang dilakukan idealnya antara 25,98 sampai 43,3 jam. Tetapi pada penelitian ini ditetapkan waktu sampling terakhir untuk kontrol dan perlakuan pada jam ke-23. Waktu sampling yang digunakan pada kelompok kontrol dan perlakuan yaitu jam ke-0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 11,0; dan 23,0.

10. Penetapan model kompartemen

Penetapan model kompartemen dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara visual (grafik/kurva) dan menggunakan rumus *Notari*. Pada penelitian ini penetapan model kompartemen dilakukan secara visual (grafik). Berdasarkan kurva yang diperoleh dari hasil optimasi waktu sampling (gambar 10) menunjukkan bahwa teofilin mengikuti model satu kompartemen ekstrasvaskuler. Model satu kompartemen ekstrasvaskuler terdiri dari fase absorpsi dan eliminasi. Fase distribusi berlangsung sangat cepat, sehingga tidak bisa terlihat dalam kurva atau grafik. Penetapan model kompartemen bertujuan untuk menetapkan rumus-rumus yang akan digunakan untuk menghitung parameter farmakokinetika teofilin.

B. Hasil Uji Farmakokinetika

Uji farmakokinetika yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok kontrol diberikan teofilin dosis 54 mg/kgBB secara oral, sedangkan kelompok perlakuan diberikan air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB. Pemilihan hewan uji pada penelitian ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap pola searah, yang mana masing-masing hewan uji memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih sebagai sampel, menerima perlakuan dengan lengkap mulai dari awal sampai akhir penelitian, serta hanya mendapatkan satu jenis perlakuan saja. Data kadar teofilin dalam darah diperoleh dari masing-masing tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan. Kemudian data tersebut

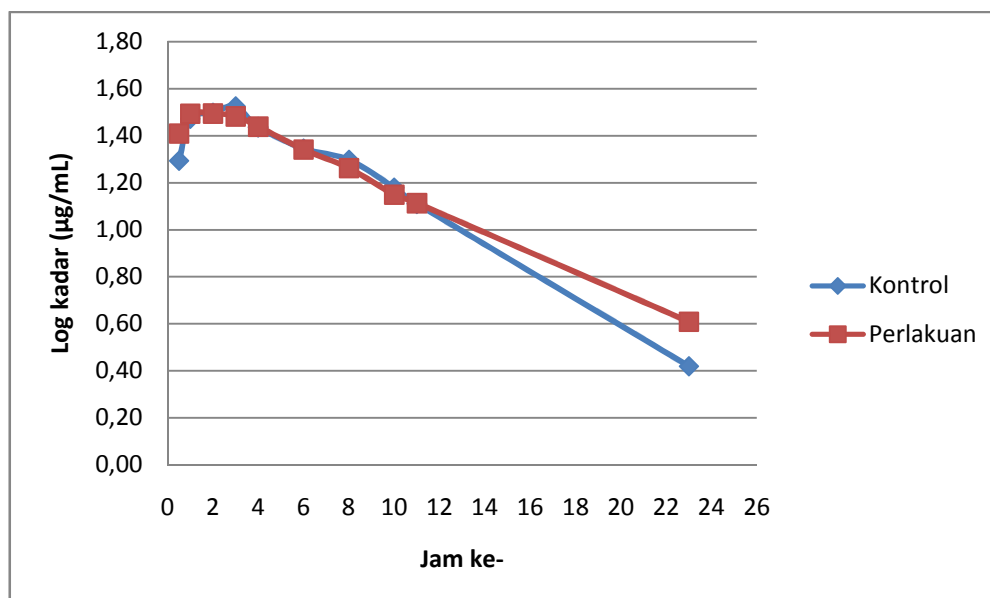
digunakan untuk menghitung parameter-parameter farmakokinetika yang didasarkan pada model satu kompartemen ekstravaskuler. Parameter farmakokinetika yang dihitung antara lain tetapan laju absorpsi (k_a), waktu pada saat obat mencapai kadar maksimal (t_{maks}), kadar maksimal obat dalam tubuh ($C_{p_{maks}}$), area di bawah kurva ($AUC_{0-inf.}$), volume distribusi (V_d), tetapan laju eliminasi (k), klirens total (Cl_T), dan waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$). Parameter farmakokinetika pada kelompok kontrol dan perlakuan selanjutnya diuji kenormalan distribusinya menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* sebelum dilakukan analisis menggunakan uji t tidak berpasangan dengan taraf kepercayaan 95% pada perangkat lunak *SPSS for Windows*® tahun 2007.

Tabel VI. Data kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$) pada kelompok kontrol (diberi teofilin dosis 54 mg/kgBB) dan perlakuan (diberi air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan teofilin dosis 54 mg/kgB) ($n=5$)

Waktu sampling (jam ke-)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	
	Kelompok kontrol (Rata-rata \pm SE)	Kelompok perlakuan (Rata-rata \pm SE)
0,5	19,67 \pm 2,28	25,63 \pm 2,63
1	29,60 \pm 1,47	31,13 \pm 1,73
2	31,45 \pm 1,16	31,20 \pm 1,04
3	33,48 \pm 1,44	30,32 \pm 0,35
4	27,27 \pm 0,82	27,44 \pm 0,50
6	22,15 \pm 1,22	21,93 \pm 0,65
8	19,81 \pm 0,94	18,27 \pm 1,00
10	15,10 \pm 1,63	14,11 \pm 1,02
11	12,89 \pm 1,18	12,98 \pm 0,97
23	2,63 \pm 0,25	4,06 \pm 0,57

Keterangan:

- Perhitungan kadar pada kelompok kontrol dan perlakuan menggunakan persamaan $y = 35862,59 x - 4265,40$



Gambar 11. Kurva log kadar teofilin dalam darah terhadap waktu pada kelompok kontrol (diberi teofilin dosis 54 mg/kgBB) dan perlakuan (diberi air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan teofilin dosis 54 mg/kgBB).

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

Parameter farmakokinetika	Harga paramater (rata-rata±SE)		% Beda	Uji t tidak berpasangan (nilai p)
	Kontrol	perlakuan		
k_a (jam ⁻¹)	0,79±0,17	1,66±0,28	+110,13	0,030*
t_{maks} (jam)	2,94±0,35	1,94±0,28	-34,01	0,058
$C_{p_{maks}}$ (µg/mL)	31,65±1,32	31,08±1,04	-1,80	0,745
AUC_{0-inf} (µg.jam/mL)	356,73±24,65	376,45±53,70	+5,53	0,582
V_d (mL/kg)	1196,44±72,87	2371,28±755,84	+98,19	0,195
Cl_T (mL/jam.kg)	160,69±14,00	237,45±72,14	+47,77	0,351
k (jam ⁻¹)	0,13±0,009	0,10±0,009	-30,00	0,013*
$t_{1/2}$ (jam)	5,23±0,26	6,92±0,43	+32,31	0,010*

Keterangan: * memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Tabel VII memperlihatkan hasil uji t tidak berpasangan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB memberikan perbedaan yang bermakna pada parameter k_a , k , dan $t_{1/2}$ ($p < 0.05$). Nilai k_a kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol, nilai k kelompok perlakuan lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan nilai $t_{1/2}$ kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol. Nilai parameter t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, AUC_{0-inf} , V_d , dan Cl_T antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna atau sama.

C. Pembahasan

Farmakokinetika merupakan ilmu yang mempelajari tentang fase absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi obat. Masing-masing fase mempunyai parameter farmakokinetika yang menggambarkan fase tersebut. Parameter farmakokinetika berasal dari pengukuran kadar obat dalam darah. Ada tiga macam parameter farmakokinetika yaitu primer, sekunder dan turunan. Parameter primer sangat dipengaruhi oleh kondisi fisiologis masing-masing individu sehingga nilainya bisa bervariasi antar individu, contohnya k_a , V_d , dan Cl_T . Parameter primer selanjutnya bisa mempengaruhi nilai parameter sekunder. Contoh parameter sekunder adalah k , $t_{1/2}$, dan t_{maks} . Parameter turunan tidak hanya dipengaruhi oleh parameter primer, tetapi juga dipengaruhi oleh dosis dan kecepatan pemberian obat, contohnya AUC.

1. Absorpsi

Obat yang diberikan secara ekstravaskuler akan mengalami absorpsi agar obat dapat mencapai sirkulasi sistemik. Absorpsi obat menuju sirkulasi sistemik dipengaruhi oleh sifat fisikokimia obat, bentuk sediaan obat, serta anatomi dan fisiologi dari tempat absorpsi. Pada obat yang diberikan secara oral, faktor-faktor seperti luas permukaan saluran pencernaan, waktu pengosongan lambung, mobilitas saluran pencernaan, dan aliran darah menuju tempat absorpsi semuanya mempengaruhi laju dan tingkat absorpsi obat⁽¹⁵⁾. Absorpsi sangat berperan

terhadap efek farmakologi obat yang diberikan secara oral. Keterlambatan atau hilangnya obat selama proses absorpsi dapat menyebabkan variabilitas respon obat dan terkadang dapat menyebabkan kegagalan terapi obat⁽¹⁸⁾. Parameter farmakokinetika yang terdapat dalam fase absorpsi yaitu k_a , t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, dan AUC_{0-inf} .

a. Tetapan laju absorpsi (k_a)

Waktu pengosongan lambung merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju absorpsi obat. Peningkatan volume cairan dalam saluran pencernaan dapat meningkatkan kecepatan pengosongan lambung. Semakin cepat waktu pengosongan lambung, maka laju absorpsi obat akan semakin cepat⁽⁴⁶⁾. Laju absorpsi obat mempengaruhi onset suatu obat. Semakin cepat laju absorpsi suatu obat maka onset obat semakin cepat juga, konsentrasi obat pada reseptor akan meningkat, sehingga respon farmakologi dapat meningkat sampai efek maksimal. Penurunan laju absorpsi obat akibat pengosongan lambung memperlambat onset obat, sehingga efek farmakologi akan menurun. Faktor lain yang dapat mempengaruhi laju absorpsi adalah perubahan formulasi obat, bentuk sediaan obat, atau jenis pemberian obat secara ekstravaskuler (oral, subkutan, intramuskular, dll)⁽¹⁸⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan dengan pemberian teofilin dapat meningkatkan laju absorpsi teofilin sebesar 110,13%. Kemungkinan peningkatan laju absorpsi merupakan akibat dari penambahan volume cairan seduhan teh hitam pada tikus, sehingga waktu pengosongan lambung lebih cepat dan laju absorpsi teofilin semakin cepat juga. Peningkatan laju absorpsi yang terjadi memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$), artinya pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB mempengaruhi laju absorpsi teofilin.

b. Waktu pada saat obat mencapai kadar maksimal (t_{maks})

T_{maks} merupakan waktu pada saat obat mencapai kadar maksimal dalam plasma. Kondisi ini terjadi pada saat laju absorpsi sama dengan laju eliminasi⁽¹⁸⁾. Nilai t_{maks} tidak dipengaruhi oleh dosis, tapi hanya dipengaruhi oleh laju absorpsi

dan laju eliminasi. Obat tetap diabsorpsi setelah nilai t_{maks} dicapai, tetapi kecepatan absorpsi obat semakin lambat. Obat akan lebih cepat mencapai t_{maks} apabila laju absorpsinya semakin cepat⁽¹⁵⁾. Semakin cepat obat mencapai nilai t_{maks} maka semakin cepat obat memberikan efek farmakologi. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin dapat menurunkan nilai t_{maks} sebesar 34,01%. Penurunan nilai t_{maks} menunjukkan bahwa obat pada kelompok perlakuan mampu mencapai kadar maksimal dan memberikan efek farmakologi lebih cepat dibandingkan kontrol. Peningkatan laju absorpsi teofilin mampu menyebabkan penurunan nilai t_{maks} , meskipun peningkatan laju absorpsi tidak memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Penurunan nilai t_{maks} tidak memberikan perbedaan yang bermakna juga antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p>0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB tidak mempengaruhi t_{maks} teofilin.

c. Kadar maksimal obat dalam plasma ($C_{p_{maks}}$)

Konsentrasi plasma puncak ($C_{p_{maks}}$) terjadi pada saat waktu menunjukkan nilai t_{maks} atau waktu pada saat kadar obat mencapai kadar maksimal setelah pemberian obat secara oral. Seperti halnya t_{maks} , nilai $C_{p_{maks}}$ juga dipengaruhi oleh laju absorpsi dan laju eliminasi. Kadar plasma puncak dapat digunakan sebagai gambaran respon farmakologi obat. Respon farmakologi obat tergantung pada kadar obat dalam tubuh. Semakin tinggi kadar plasma obat dalam tubuh (masih dalam range terapi), maka semakin baik respon farmakologi obat⁽¹⁵⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin menyebabkan penurunan $C_{p_{maks}}$ sebesar 1,80%. Penurunan ini tidak memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p>0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB tidak mempengaruhi $C_{p_{maks}}$ teofilin.

d. Area di bawah kurva (AUC)

Area di bawah kurva (AUC) digunakan sebagai pengukuran jumlah total obat utuh yang mencapai sirkulasi sistemik. Nilai AUC tergantung pada jumlah obat yang tersedia (fraksi obat yang diabsorpsi), laju absorpsi, dan volume distribusi. Fraksi obat yang diabsorpsi pada pemberian secara oral bervariasi mulai dari 0 (obat tidak diabsorpsi) sampai 1 (obat diabsorpsi sempurna). AUC tidak dipengaruhi oleh rute pemberian obat dan proses eliminasi obat. Beberapa obat memiliki nilai AUC yang bersifat proporsional dengan dosis, misalnya jika dosis ditingkatkan dari 250 mg menjadi 1000 mg maka nilai AUC akan meningkat menjadi empat kali lipat. Tetapi pada beberapa obat nilai AUC tidak bersifat proporsional dengan dosis, contoh pada obat-obat yang kinetiknya bergantung dosis. Nilai AUC berhubungan dengan intensitas aksi suatu obat. Sedangkan intensitas aksi suatu obat bergantung pada jumlah total obat yang ada pada sisi reseptor⁽¹⁵⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin menyebabkan peningkatan AUC_{0-inf} sebesar 5,53%. Peningkatan nilai AUC_{0-inf} tidak memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p > 0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB tidak mempengaruhi area di bawah kurva teofilin.

Dilihat dari parameter-parameter pada fase absorpsi, secara keseluruhan pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB mampu menyebabkan peningkatan k_a secara bermakna ($p < 0,05$). Selain itu, juga menyebabkan penurunan t_{maks} , penurunan $C_{p_{maks}}$, dan peningkatan AUC_{0-inf} , meskipun peningkatan atau penurunan nilai parameter farmakokinetika tersebut tidak memberikan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Meningkatnya nilai k_a menyebabkan t_{maks} lebih cepat namun nilai $C_{p_{maks}}$ belum tentu mengalami peningkatan. Peningkatan nilai k_a berpengaruh terhadap bertambahnya nilai AUC_{0-inf} . Semakin besar laju absorpsi obat maka semakin cepat obat memberikan respon farmakologi, dan semakin besar nilai AUC_{0-inf} , sehingga intensitas aksi obat semakin lama dalam tubuh. Secara garis besar, pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan

pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB dapat menyebabkan terjadinya interaksi farmakokinetika pada fase absorpsi teofilin.

2. Distribusi

Setelah obat diabsorpsi ke dalam plasma, molekul obat didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi sistemik. Molekul-molekul obat dibawa oleh darah menuju ke reseptor untuk memberikan aksi obat dan ada juga yang dibawa ke jaringan tempat reaksi yang merugikan bisa terjadi. Distribusi obat umumnya terjadi secara cepat, dan kebanyakan molekul obat kecil dengan mudah menembus membran kapiler. Kecepatan aliran darah mempengaruhi seberapa cepat dan seberapa banyak obat yang mencapai sisi reseptor⁽¹⁵⁾. Parameter farmakokinetika yang berhubungan dengan fase distribusi adalah volume distribusi (V_d).

a. Volume distribusi (V_d)

Kadar obat dalam plasma atau jaringan tergantung pada jumlah sistemik obat yang diabsorpsi dan volume obat yang didistribusikan. Volume distribusi (V_d) digunakan untuk memperkirakan tingkat distribusi obat dalam tubuh⁽¹⁵⁾. Volume distribusi dipengaruhi oleh sifat fisikokimia obat dan membran kapiler, serta keseimbangan antara obat bebas dengan fraksi obat yang terikat oleh protein plasma⁽⁴⁷⁾. Obat yang larut dalam lemak umumnya lebih mudah menembus membran kapiler dibandingkan obat yang larut dalam air. Molekul obat yang kecil lebih cepat menembus membran kapiler dibandingkan molekul obat yang besar. Jika obat berikatan dengan protein plasma menyebabkan ukuran molekul obat menjadi lebih besar⁽¹⁵⁾. Semakin banyak jumlah obat bebas maka semakin besar nilai V_d yang dihasilkan, sebaliknya jika semakin banyak obat yang berikatan dengan protein plasma maka semakin kecil nilai V_d yang dihasilkan. Ikatan protein plasma teofilin sebesar 40%⁽¹⁶⁾. Volume distribusi mempunyai kaitan dengan respon farmakologi obat. Semakin besar volume distribusi suatu obat maka jumlah obat bebas yang mencapai reseptor semakin banyak, sehingga respon farmakologi yang dihasilkan semakin besar pula. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian kafein dosis berulang tidak mempengaruhi volume distribusi teofilin⁽¹⁰⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini

menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin menyebabkan peningkatan volume distribusi sebesar 98,19%. Meningkatnya nilai V_d teofilin kemungkinan disebabkan oleh adanya kompetisi dalam ikatan obat dengan protein plasma. Tetapi peningkatan nilai V_d tidak memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p>0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB tidak mempengaruhi volume distribusi teofilin.

3. Eliminasi

Obat dikeluarkan dari dalam tubuh melalui berbagai proses eliminasi. Eliminasi obat merupakan proses mengeluarkan obat dari tubuh yang bersifat irreversibel melalui semua rute eliminasi. Eliminasi obat dibagi menjadi dua komponen utama yaitu metabolisme (biotransformasi) dan ekskresi. Metabolisme adalah proses konversi dari molekul obat, biasanya diperantarai oleh reaksi enzimatik, menjadi bentuk kimia lain yang disebut metabolit. Eliminasi merupakan pembersihan obat dari tubuh yang terjadi di ginjal atau saluran empedu. Hati dan ginjal adalah organ pengeliminasi utama dalam tubuh. Ginjal merupakan organ ekskresi utama untuk menghilangkan produk sisa metabolisme serta berperan dalam menjaga volume cairan tubuh dan komposisi elektrolit dalam tubuh⁽¹⁵⁾. Teofilin umumnya dieliminasi melalui metabolisme hepatic (>90%)⁽¹⁸⁾. Parameter farmakokinetika yang menggambarkan fase eliminasi antara lain klirens total (Cl_T), tetapan laju eliminasi (k), dan waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$).

a. Klirens total (Cl_T)

Klirens total menggambarkan laju eliminasi obat yang dijelaskan sebagai volume obat yang dihilangkan per satuan waktu. Klirens total merupakan jumlah dari semua proses bersihan obat dalam tubuh, termasuk bersihan yang dilakukan ginjal (klirens renal), paru-paru, dan hati (klirens hepatic). Klirens total adalah produk dari dua konstanta, yaitu k dan V_d dimana nilai k dan V_d dipengaruhi oleh laju aliran darah. Secara fisiologis menunjukkan bahwa klirens dipengaruhi oleh laju aliran darah dan kemampuan organ untuk mengeliminasi obat⁽¹⁵⁾. Pada

penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian teofilin bersama dengan kafein dapat menyebabkan penurunan klirens total (Cl_T) teofilin. Mekanisme yang ditempuh yaitu kemungkinan adanya saturasi metabolisme teofilin dan atau adanya kompetisi antara metabolisme teofilin dengan kafein sehingga menyebabkan penundaan eliminasi dari teofilin^(11, 12). Teofilin dan kafein sama-sama dimetabolisme oleh enzim CYP1A2⁽⁴⁸⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin menyebabkan peningkatan klirens total teofilin sebesar 47,77%. Peningkatan Cl_T tidak memberikan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p > 0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB tidak mempengaruhi klirens total teofilin. Hasil penelitian ini tidak sama dengan penelitian sebelumnya kemungkinan dikarenakan kadar kafein yang terdapat dalam air seduhan teh hitam lebih rendah dibandingkan kadar kafein pada penelitian sebelumnya, selain itu kandungan di dalam air seduhan teh hitam bukan hanya kafein tetapi masih banyak kandungan senyawa lain yang kemungkinan juga mempengaruhi hasil dari penelitian ini. Dosis kafein yang digunakan dalam penelitian sebelumnya sebesar 300 mg/hari selama 8 hari, sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan kadar kafein yang terdapat dalam teh hitam, yaitu hanya sekitar 8-11% bobot kering teh hitam^(5, 11). Kadar kafein yang lebih kecil kemungkinan belum mampu untuk mempengaruhi nilai klirens total dari teofilin.

b. Tetapan laju eliminasi (k)

Laju eliminasi merupakan parameter yang menggambarkan eliminasi obat dari dalam tubuh. Laju eliminasi dari kebanyakan obat mengikuti proses orde pertama, dimana laju eliminasi tergantung pada kadar obat yang ada⁽¹⁵⁾. Nilai k dipengaruhi oleh klirens total (Cl_T) dan volume distribusi (V_d). Semakin besar nilai klirens total maka semakin besar nilai k , artinya semakin cepat obat dieliminasi dari dalam tubuh. Semakin besar nilai V_d maka semakin kecil nilai k . Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian teofilin bersama dengan kafein dapat menyebabkan penurunan laju eliminasi sebesar 31%⁽¹¹⁾.

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB menyebabkan laju eliminasi teofilin menurun sebesar 30%. Penurunan nilai k memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$). Nilai k pada kelompok perlakuan lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil yang diperoleh sama dengan penelitian sebelumnya, tetapi pada penelitian ini nilai Cl_T tidak mengalami perubahan yang bermakna sehingga penurunan nilai k tidak dipengaruhi oleh nilai Cl_T . Besarnya nilai k dipengaruhi oleh V_d dan Cl_T . Pada penelitian ini penurunan k seharusnya dipengaruhi oleh peningkatan V_d atau penurunan Cl_T , tetapi peningkatan V_d yang terjadi tidak memberikan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$), sedangkan nilai Cl_T tidak mengalami penurunan. Ketidaksiharian antara teori dengan hasil penelitian ini dimungkinkan karena adanya variasi data yang terlalu besar antar hewan uji dengan jumlah hewan uji yang terbatas. Oleh karena itu, penurunan nilai k kemungkinan disebabkan oleh pengaruh faktor lain yang belum diketahui dengan jelas. Penurunan nilai k pada penelitian ini menyebabkan teofilin lebih lama tereliminasi dari dalam tubuh, sehingga keberadaan teofilin akan lebih lama di dalam tubuh. Semakin lama suatu obat berada di dalam tubuh maka semakin besar kemungkinan terjadi akumulasi jumlah obat pada pemberian obat selanjutnya, sehingga risiko terjadi efek samping atau ketoksikan semakin tinggi.

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

Waktu paruh eliminasi merupakan waktu yang dibutuhkan obat untuk tereliminasi sebanyak setengah dari kadar awal. Nilai $t_{1/2}$ dipengaruhi oleh klirens total dan laju eliminasi obat⁽¹⁵⁾. Semakin besar nilai $t_{1/2}$ maka semakin lama obat berada di dalam tubuh akibatnya efek farmakologi obat semakin lama. Nilai klirens total (Cl_T) dan laju eliminasi (k) berbanding terbalik dengan waktu paruh eliminasi. Semakin besar nilai Cl_T dan k maka semakin kecil nilai $t_{1/2}$ artinya obat akan lebih cepat tereliminasi dari dalam tubuh. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian teofilin bersama dengan kafein dapat menyebabkan peningkatan waktu paruh eliminasi sebesar 32%⁽¹²⁾. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam

bersamaan dengan pemberian teofilin menyebabkan peningkatan waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$) teofilin sebesar 32,31%. Nilai $t_{1/2}$ pada kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol. Peningkatan nilai $t_{1/2}$ kemungkinan disebabkan oleh peningkatan V_d teofilin akibat pemberian air seduhan teh hitam. Faktor lain yang diduga mempengaruhi variasi $t_{1/2}$ adalah perbedaan genetik pada aktivitas enzim hepatic, induksi enzim, penghambatan enzim, usia, nutrisi, dan faktor patologis⁽¹⁵⁾. Peningkatan nilai $t_{1/2}$ yang terjadi menyebabkan teofilin berada lebih lama di dalam tubuh sehingga respon farmakologi teofilin semakin lama. Nilai $t_{1/2}$ sering digunakan sebagai pedoman untuk menentukan frekuensi penggunaan obat dengan tujuan agar tidak terjadi akumulasi obat dalam tubuh yang dapat menyebabkan ketoksikan. Semakin besar nilai $t_{1/2}$ suatu obat maka semakin jarang frekuensi penggunaan obat tersebut. Peningkatan $t_{1/2}$ memberikan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$), artinya bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB mempengaruhi waktu paruh eliminasi teofilin.

Berdasarkan pada keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB dapat mempengaruhi parameter farmakokinetika teofilin yaitu nilai k_a , k , dan $t_{1/2}$. Sedangkan parameter lain seperti t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, $AUC_{0-inf.}$, V_d , dan Cl_T tidak dipengaruhi oleh adanya pemberian air seduhan teh hitam. Peningkatan nilai k_a menunjukkan bahwa kecepatan obat untuk diabsorpsi meningkat, sehingga obat akan semakin cepat memberikan efek farmakologi. Penurunan nilai k menunjukkan bahwa kecepatan obat untuk dieliminasi menurun dan obat akan lebih lama berada di dalam darah sehingga nilai $t_{1/2}$ obat akan meningkat. Penurunan nilai k dan peningkatan nilai $t_{1/2}$ mengakibatkan respon farmakologi teofilin menjadi lebih lama. Adanya perubahan pada parameter farmakokinetika menggambarkan bahwa antara air seduhan teh hitam dengan teofilin mengalami interaksi farmakokinetika. Kemungkinan interaksi terjadi pada fase absorpsi dan eliminasi. Interaksi pada fase eliminasi terutama terjadi pada proses metabolisme karena teofilin umumnya dieliminasi melalui metabolisme hepatic (>90%)⁽¹⁸⁾. Tetapi untuk mekanisme

interaksinya belum bisa dijelaskan secara detail. Masih perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambah waktu sampling pada fase eliminasi. Tujuannya agar diperoleh profil eliminasi yang lebih lengkap, sehingga diharapkan interaksi yang terjadi pada fase eliminasi semakin terlihat dan mampu menjelaskan mekanismenya secara detail.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian tentang pengaruh pemberian air seduhan teh hitam terhadap profil farmakokinetika teofilin adalah bahwa pemberian air seduhan teh hitam dosis 189 mg/kgBB bersamaan dengan teofilin dosis 54 mg/kgBB mempengaruhi secara bermakna nilai k_a , k , dan $t_{1/2}$ teofilin. Nilai k_a mengalami peningkatan sebesar 110,13% ($p < 0,05$), k mengalami penurunan sebesar 30% ($p < 0,05$), dan $t_{1/2}$ mengalami peningkatan sebesar 32,31% ($p < 0,05$).

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan:

1. Pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan pengambilan sampel yang lebih sering pada fase eliminasi agar diperoleh gambaran eliminasi yang lebih tepat.
2. Perlu dilakukan penambahan hewan uji pada masing-masing kelompok.
3. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan rancangan *Cross Over Design* untuk meminimalkan variabilitas antar hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Anonim, 2010, *Teh Hitam Untuk Pengendalian Diabetes*, terdapat dalam <http://www.bumn.go.id/ptpn8/en/publikasi/berita/teh-hitam-untuk-pengendalian-diabetes/> (diakses 29 September 2011).
- (2) Baxter, K., 2008, *Stockley's Drug Interaction*, Eighth Edition, Pharmaceutical Press, London.
- (3) Mukhtar, H., Ahmad, N., 2000, Tea Polyphenols: Prevention of Cancer and Optimizing Health, *Am Journal of Clinical Medicine*, 163(12): 1448-1453.
- (4) Taniyara, E., Pandawati, T., 2009, Perumusan Kembali Strategi Bisnis Teh Hitam Blesstea: Hasil Pemetaan Insight Konsumen, *Tesis*, Binus University, Jakarta.
- (5) Liwang, F., 2010, Manfaat Konsumsi Teh Hitam sebagai Upaya Preventif Penyakit Jantung Koroner Akibat Aterosklerosis di Indonesia, *Jurnal UI untuk Bangsa Seri Kesehatan, Sains, dan Teknologi*, 1: 25-38.
- (6) Hodgson, J.M., Proudfoot, J.M., Croft, K.D., Puddey, I.B., Mori, T.A., Beilin, L.J., 1999, Comparison of The Effect of Black and Green Tea on In Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(4): 561-566.
- (7) Anonim, 2011, *The Effects of Caffeine on Asthma*, terdapat dalam <http://estela-kennen.suite101.com/the-effects-of-caffeine-on-asthma-a384239> (diakses 29 September 2011).
- (8) Vanhaisma, T.A., Mickleborough, T., Stager, J.M., Koceja, D.M., Lindley, M.R., 2010, Comparative Effects of Caffeine and Albuterol on the Bronchoconstrictor Response to Exercise in Asthmatic Athletes, *International Journal of Sports Medicine*, 31 (4): 231-236.
- (9) Schmidt, L.E., Dalhoff, K., 2002, Food-Drug Interaction, *Drugs*, 62 (10): 1481-1502.
- (10) Tse, F.L., Valia, K.H., Szeto, D.W., Raimondo, T.J., Koplowitz, B., 1981, Effect of Caffeine on Circulating Theophylline Levels in Beagle Dogs, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70 (4): 395-399.
- (11) Jonkman, J.H.G., Sollie, F.A., Sauter, R., Steinijs, V.W., 1991, The Influence of Caffeine on the Steady-State Pharmacokinetics of Theophylline, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 49: 248-255.
- (12) Sato, J., Nakata, H., Owada, E., Kikuta, T., Umetsu, M., Ito, K., 1993, Influence of Usual Intake of Dietary Caffeine on Single-Dose Kinetics of Theophylline in Healthy Human Subjects, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 44: 295-298.
- (13) Soraya, N., 2007, *Sehat & Cantik Berkat Teh Hijau*, Penebar Swadaya, Jakarta, 7.
- (14) Astuti, M., 2001, Potensi Antioksidan pada Teh, *Kumpulan Makalah: Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan: Dasar, Aplikasi, dan Pemanfaatan Bahan Alam*, Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1-15.
- (15) Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC, 2005, *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, fifth Edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division, Boston.

- (16) Bauer, L.A., 2008, *Applied Clinical Pharmacokinetics*, Second Edition, McGraw-Hill Medical, USA.
- (17) Leucuta, S.E., Vlase, L., 2006, Pharmacokinetics and Metabolic Drug Interactions, *Current Clinical Pharmacology*, 1: 5-20.
- (18) Jambhekar, S.J., Breen, P.J., 2009, *Basic Pharmacokinetics*, Pharmaceutical Press, London.
- (19) Hakim, L., 2011, *Farmakokinetik*, Bursa Ilmu, Yogyakarta.
- (20) Gibson, G.G., Fil, P.S., 2001, *Introduction to Drug Metabolism*, Third Edition, Nelson Thornes Publishers, United Kingdom.
- (21) Bailie, G.R., Johnson, C.A., Mason, N.A., Peter, W.L., 2004, *MEDfacts Pocket Guide of Drug Interaction*, Second Edition, Nephrology Pharmacy Associates.
- (22) Clare, S.E., Jones, B.C., 2008, *Drug-Drug Interaction : Human Cytochromes P450 and Their Role in Metabolism-Based Drug-Drug Interactions*, Second Edition, Informa Healthcare USA, Inc., New York.
- (23) Anderson, P.O., Knoben, J.E., Troutman, W.G., 2002, *Handbook Clinical Drug Data*, Tenth Edition, McGraw-Hill, New York.
- (24) Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- (25) Chadwick, B., Waller, D.G., Edwards, J.G., 2005, Potentially Hazardous Drug Interactions with Psychotropics, *Advances in Psychiatric Treatment*, 11: 440-449.
- (26) Whynn, G.H., Oesterheld, J.R., Cozza, K.L., Armstrong, S.C., 2009, *Clinical Manual of Drug Interaction Principles for Medical Practice*, American Psychiatric Publishing, Inc., New York.
- (27) Goshman, L., Fish, J., Roller, K., 1999, Clinically Significant Cytochrome P450 Drug Interactions, *Journal of the Pharmacy Society of Wisconsin*, 23-38.
- (28) Mozayani, A., Raymon, L.P., 2004, *Handbook of Drug Interactions a Clinical and Forensic Guide*, Humana Press, New Jersey.
- (29) Tatro, D.S., 2001, *Drug Interaction Facts*, Facts & Comparison Publishing Group, California.
- (30) Dong, M.W., 2006, *Modern HPLC for Practicing Scientists*, John Wiley and Sons Inc., New York.
- (31) Kazakevich, Y., LoBrutto, R., 2007, *HPLC for Pharmaceutical Scientists*, John Wiley and Sons Inc., New York.
- (32) Kenkel, J., 1994, *Analytical Chemistry for Technicians*, second Edition, CRC Press, New York.
- (33) Handayani, L.Y., 2009, Pengaruh Pemberian Jus Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.) Terhadap Profil Farmakokinetik Teofilin Pada Kelinci Jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- (34) Wulandari, R., 2009, Profil Farmakokinetik Teofilin Yang Diberikan Secara Bersamaan Dengan Jus Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Pada Kelinci Jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

- (35) Wulandari, B., 2011, Pengaruh Praperlakuan Telur Rebus Terhadap Farmakokinetika Teofilin Pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (36) Sulistyawan, W., 2011, Pengaruh Pemberian Air seduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Terhadap Profil Farmakokinetika Parasetamol Pada Tikus Jantan Wistar, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (37) Astuti, P., Nurrochmad, A., 2010, *Komisi Ethical Clearance: Manual Prosedur dan Instruksi Kerja*, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- (38) Anonim, 2007, *US Pharmacopoeia 30-NF25*, CRC Press, New York.
- (39) Anonim, 2009, *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*, United nations Publication, New York.
- (40) Gandjar, I.G., Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Penerbit Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- (41) Soediono, J.B., 2007, Pengaruh Susu Kedelai Dosis 50 mL/kg BB terhadap Bioavailabilitas Teofilin pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (42) Anonim, 2001, *Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation*, Center for Drug Evaluation and Research, Rockville.
- (43) Ahuja, S., Dong, M.W., 2005, *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, Elsevier Inc., San Diego.
- (44) Widayani, M.T., 2003, Pengaruh Suhu dan Lama Penyeduhan Terhadap Kadar Kafein Dalam Larutan Teh Hitam, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- (45) Ritschel, W.A., Kearns, G.L., 2004, *Handbook of Basic Pharmacokinetics Including Clinical Application*, American Pharmacists Association, Washington.
- (46) Martinez, M.N., Amidon, G.L., 2002, A Mechanistic Approach to Understanding the Factors Affecting Drug Absorption: A Review of Fundamentals, *Journal of Clinical Pharmacology*, 42: 620-643.
- (47) Seydel, J.K., Wiese, M., 2002, *Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- (48) Badyal, D.K., Dadhich, A.P., 2001, Cytochrome P450 and Drug Interactions, *Indian Journal of Pharmacology*, 33: 248-259.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat *Ethical clearance*

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

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Ref: KE/FKI/ 217 /EC

Title of the Research Protocol	: Pengaruh Pemberian Air Seduhan Teh Hitam (Camellia sinensis) terhadap Profil Farmakokinetika Teofilin pada Tikus Wistar Jantan
Documents Approved	: Study Protocol
Principle Investigator	: Dina Catur Hapsari
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 UII

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

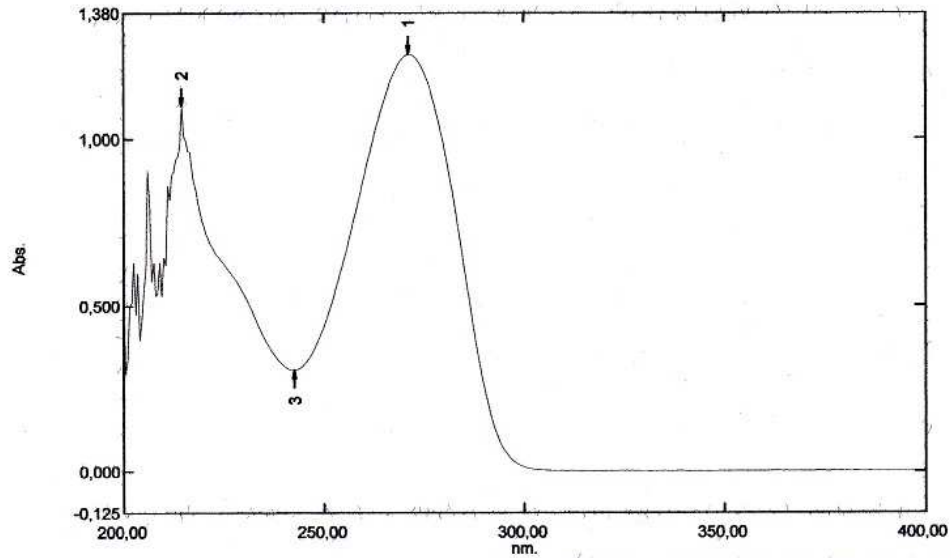
dr. Madarina Julia, Sp.A(K), MPH., Ph.D
Secretary

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

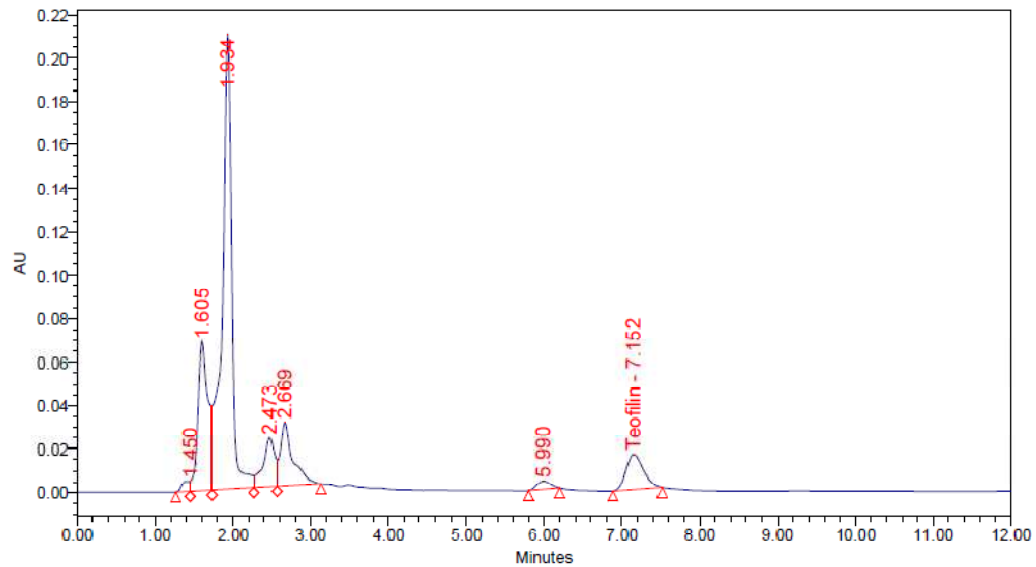
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	271,00	1,255	
2	●	214,50	1,097	
3	●	242,50	0,305	

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 12. Kromatogram teofilin dalam darah.

Perhitungan α (koefisien selektivitas) :

$$\alpha = \frac{k'_A}{k'_B} = [(t_R)_B - t_M] : [(t_R)_A - t_M]$$

$$\alpha = \frac{7,152 - 0}{5,990 - 0}$$

$$\alpha = 1,194$$

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

Tabel VIII. Penetapan kurva baku dan parameter sensitivitas

x	y	yi	(y-yi)	(y-yi) 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	140723426,66
A= 342,40				
B= 21091,18				
R= 0.984				
Y = 34609,72 X + 18973,87				
$S(y/x)^2 = 46907809$			LOD = 0,97 µg/mL	
$S(y/x) = 6848,93$			LLOQ = 1,62 µg/mL	
			LOQ = 3,25 µg/mL	

Contoh perhitungan:

$$S(y/x)^2 = \frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2} = \frac{140723426,66}{5-2} = 46907809$$

$$S(y/x) = \sqrt{S\left(\frac{y}{x}\right)^2} = \sqrt{46907809} = 6848,93$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{3 \times 6848,93}{21091,18} = 0,97 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{LLOQ} = \frac{5 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{5 \times 6848,93}{21091,18} = 1,62 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{10 \times 6848,93}{21091,18} = 3,25 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 5. Penetapan kriteria akurasi dan presisi

Tabel IX. Perhitungan parameter akurasi dan presisi

Kadar teofilin		Perolehan kembali (%)	Kesalahan sistematik (%)	Kesalahan acak (%)	HORRAT
Diketahui (µg/mL)	Terukur (µg/mL)				
6	6,11	101,84	-1,84	0,62	0,10
	6,17	102,76	-2,76		
	6,09	101,55	-1,55		
Rata-rata±SD		6,12±0,04	102,05±0,63	-2,05±0,63	
16	16,87	105,42	-5,42	1,11	0,21
	16,84	105,25	-5,25		
	16,53	103,32	-3,32		
Rata-rata±SD		16,75±0,19	104,66±1,16	-4,66±1,16	
20	21,10	105,52	-5,52	0,88	0,17
	21,10	105,51	-5,51		
	20,78	103,92	-3,92		
Rata-rata±SD		21,00±0,18	104,98±0,92	-4,98±0,92	
24	23,25	96,88	3,12	0,91	0,18
	23,00	95,84	4,16		
	22,84	95,16	4,84		
Rata-rata±SD		23,03±0,21	95,96±0,87	4,04±0,87	

Contoh perhitungan:

$$\text{Perolehan kembali} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar diketahui}} \times 100 \% = \frac{6,11}{6} \times 100 \% = 101,84 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kesalahan sistematik} &= 100 \% - \text{perolehan kembali} \\ &= 100 \% - 101,84 \% = -1,84 \% \end{aligned}$$

$$\text{Kesalahan acak} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata}} \times 100 \% = \frac{0,63}{102,05} \times 100 \% = 0,62 \%$$

Perhitungan RSD (simpangan baku relatif) dan Horwitz Ratio (HORRAT)

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

Kadar 6 µg/mL

$$\text{RSD} = 2^{(1-0,5 \log 0,0006)} = 6,11 \%$$

Kadar 16 µg/mL

$$\text{RSD} = 2^{(1-0,5 \log 0,0016)} = 5,27 \%$$

Kadar 20 µg/mL

$$\text{RSD} = 2^{(1-0,5 \log 0,002)} = 5,10 \%$$

Lampiran 5. (lanjutan)

Kadar 24 µg/mL

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log 0,0024)} = 4,96 \%$$

HORRATRSD observasi (RSD_{obs}) merupakan hasil perhitungan CV (kesalahan acak)RSD kalkulasi (RSD_{calc}) merupakan hasil perhitungan RSD

$$HORRAT = \frac{RSD_{obs}}{RSD_{calc}}$$

Kadar 6 µg/mL

$$HORRAT = \frac{0,62 \%}{6,11 \%} = 0,10$$

Kadar 16 µg/mL

$$HORRAT = \frac{1,11 \%}{5,27 \%} = 0,21$$

Kadar 20 µg/mL

$$HORRAT = \frac{0,88 \%}{5,10 \%} = 0,17$$

Kadar 24 µg/mL

$$HORRAT = \frac{0,91 \%}{4,96 \%} = 0,18$$

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

Lampiran 6. Penetapan stabilitas teofilin dalam pelarut TCA**Tabel X.** Perhitungan persentase degradasi

Jam ke-	Luas area	Kadar teofilin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	1177654	32,96	0
24	1124127	31,46	4,53
48	1093230	30,60	7,14

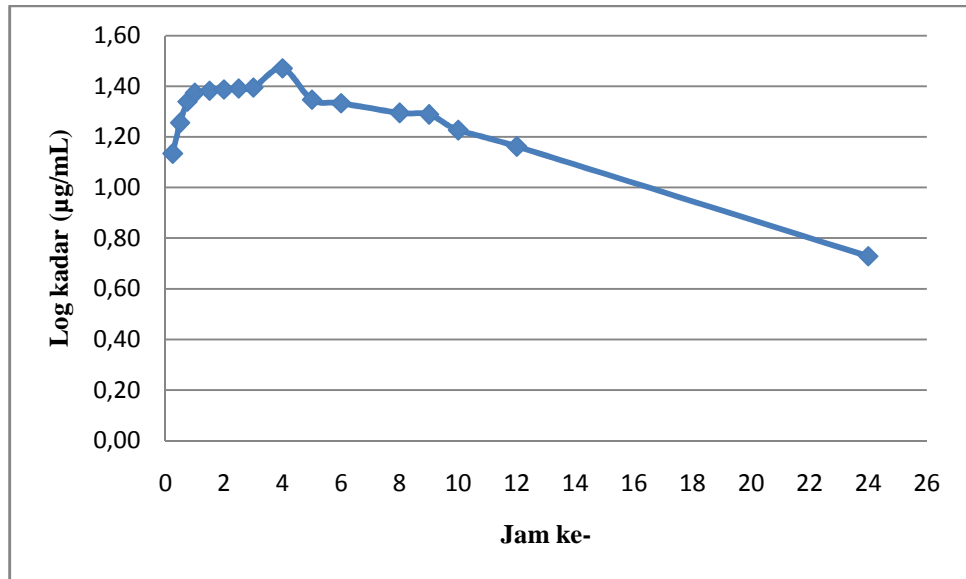
Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned}\% \text{ degradasi (hari ke-1)} &= 100\% - \frac{\text{Kadar jam ke-24}}{\text{kadar jam ke-0}} \times 100\% \\ &= 100\% - \frac{31,46}{32,96} \times 100\% \\ &= 4,53 \%\end{aligned}$$

Lampiran 7. Perhitungan parameter farmakokinetika data optimasi waktu sampling

Tabel XI. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin optimasi waktu sampling

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					
1,5	861065	24,13	1,38					
2	871173	24,41	1,39					
2,5	878546	24,62	1,39		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2} = 8,66$ jam $t_{maks} = 2,80$ jam $C_{p_{maks}} = 29,84$ $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-\text{inf}} = 466,70$ $\mu\text{g}\cdot\text{jam/mL}$ $V_d = 1435,90$ mL/kg $Cl_t = 114,87$ mL/jam.kg			
3	886250	24,83	1,39					
4	1056608	29,58	1,47					
5	793420	22,24	1,35					
6	767829	21,53	1,33					
8	702376	19,70	1,29					
9	691652	19,41	1,29	2,97				
10	599419	16,83	1,23	2,82				
12	515974	14,51	1,16	2,67				
24	187734	5,35	0,73	1,68				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
<u>Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)</u>								
$\text{Ln Cp} = \text{Ln B} - k.t$								
$A (\text{Ln B}) = 3,69$			$B = 40,40$ $\mu\text{g/mL}$					
$B (-k) = -0,08$			$k = 0,08$ jam^{-1}					
$r = -0,999$			$\text{Ln Cp} = 3,69 - 0,08.t$					
<u>Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1</u>								
$\text{Ln C}' = \text{Ln B} - k.t$								
<u>Penentuan Cr</u>								
$\text{Cr} = \text{C}' - \text{Cp}$								
<u>Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)</u>								
$\text{Ln Cr} = \text{Ln A} - k_a.t$								
$A (\text{Ln A}) = 3,49$			$A = 32,79$ $\mu\text{g/mL}$					
$B (-k_a) = -0,97$			$k_a = 0,97$ jam^{-1}					
$r = 0,999$			$\text{Ln Cr} = 3,49 - 0,97.t$					



Gambar 13. Profil farmakokinetika teofilin optimasi waktu sampling.

Lampiran 8. Perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol dan perlakuan

Tabel XII. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin 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		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 4,62 jam t_{maks} = 3,76 jam $C_{p_{maks}}$ = 30,77 $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-\text{inf}}$ = 360,58 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1383,87 mL/kg Cl_T = 207,58 mL/jam.kg			
4	934808	26,19	1,42					
6	698089	19,58	1,29					
8	694520	19,49	1,29	2,97				
10	542969	15,26	1,18	2,73				
11	539881	15,17	1,18	2,72				
23	72147	2,13	0,33	0,76				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
$\text{Ln Cp} = \text{Ln B} - k.t$								
A (Ln B) = 4,26			B = 70,81 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,15			k = 0,15 jam^{-1}					
r = -0,996			$\text{Ln Cp} = 4,26 - 0,15.t$					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$\text{Ln C}' = \text{Ln B} - k.t$								
Penentuan Cr								
$\text{Cr} = \text{C}' - \text{Cp}$								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
$\text{Ln Cr} = \text{Ln A} - k_a.t$								
A (Ln A) = 3,87			A = 47,94 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k _a) = -0,43			k _a = 0,43 jam^{-1}					
r = -0,993			$\text{Ln Cr} = 3,87 - 0,43.t$					

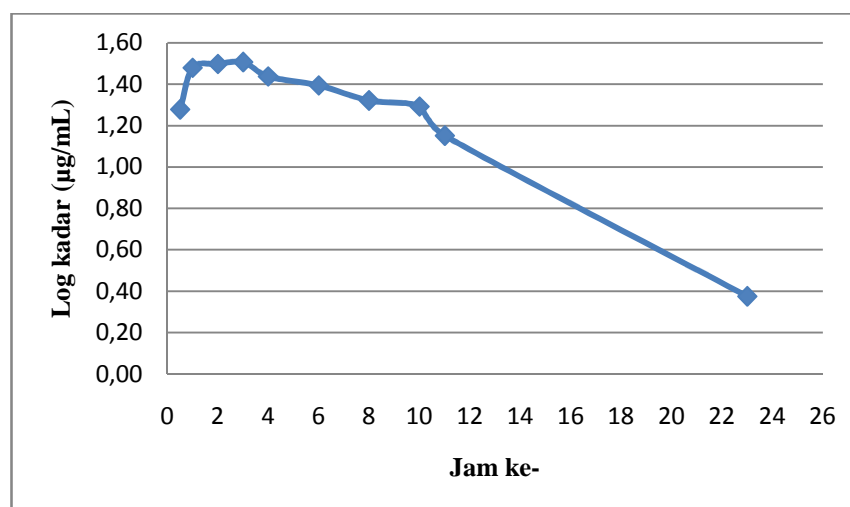


Gambar 14. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus I kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XIII. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin 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		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 4,62 jam t_{maks} = 3,61 jam $C_{p_{maks}}$ = 32,82 $\mu\text{g/mL}$ AUC_{0-inf} = 376,23 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1030,93 mL/kg Cl_T = 154,64 mL/jam.kg			
4	977272	27,37	1,44					
6	884660	24,79	1,39					
8	745820	20,92	1,32	3,04				
10	698090	19,58	1,29	2,97				
11	502573	14,13	1,15	2,65				
23	80605	2,37	0,37	0,86				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 4,34			B = 76,71 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,15			k = 0,15 jam^{-1}					
r = -0,995			Ln Cp = 4,34 - 0,15.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 4,13			A = 62,18 $\mu\text{g/mL}$					
B (- k_a) = -0,46			k_a = 0,46 jam^{-1}					
r = -0,977			Ln Cr = 4,13 - 0,46.t					

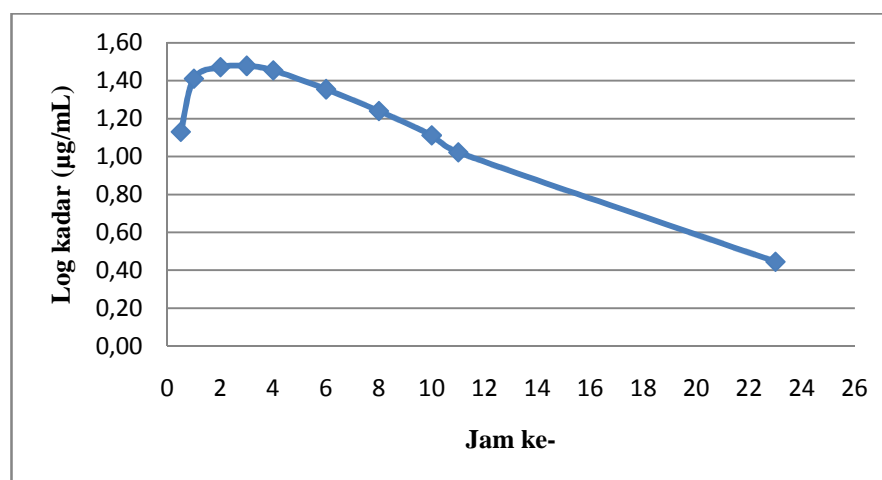


Gambar 15. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus II kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XIV. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus III kontrol

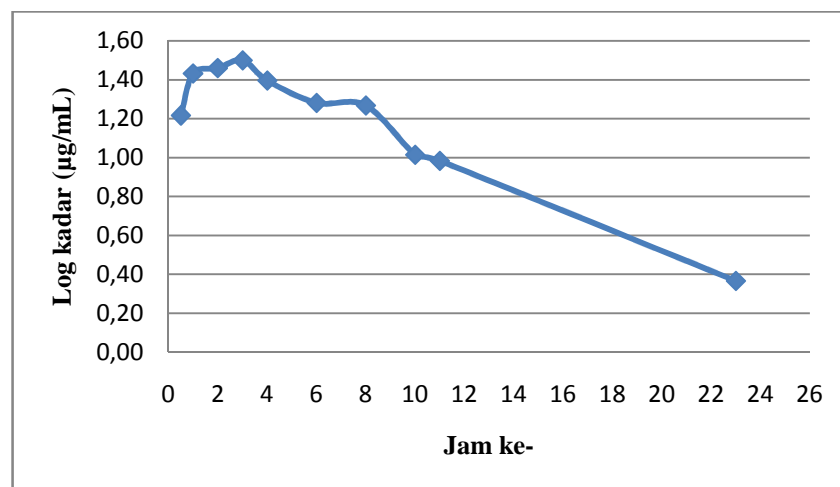
Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	479484	13,49	1,13		3,69	39,86	26,37	3,27
1	918014	25,72	1,41		3,63	37,55	11,84	2,47
2	1055969	29,56	1,47		3,51	33,34	3,78	1,33
3	1071687	30,00	1,48		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 5,378 jam t_{maks} = 2,05 jam $C_{p_{maks}}$ = 29,48 $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-\text{inf}}$ = 314,20 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1025,53 mL/kg Cl_T = 123,06 mL/jam.kg			
4	1015229	28,43	1,45					
6	805096	22,57	1,35					
8	618812	17,37	1,24	2,85				
10	459234	12,92	1,11	2,56				
11	372784	10,51	1,02	2,35				
23	95510	2,78	0,44	1,02				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,74			B = 42,10 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,12			k = 0,12 jam^{-1}					
r = -0,997			Ln Cp = 3,74 - 0,12.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 3,84			A = 46,52 $\mu\text{g/mL}$					
B (- k_a) = -1,27			$k_a = 1,27 \text{ jam}^{-1}$					
r = -0,996			Ln Cr = 3,84 - 1,27.t					



Gambar 16. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus III kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)**Tabel XV.** Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus IV kontrol

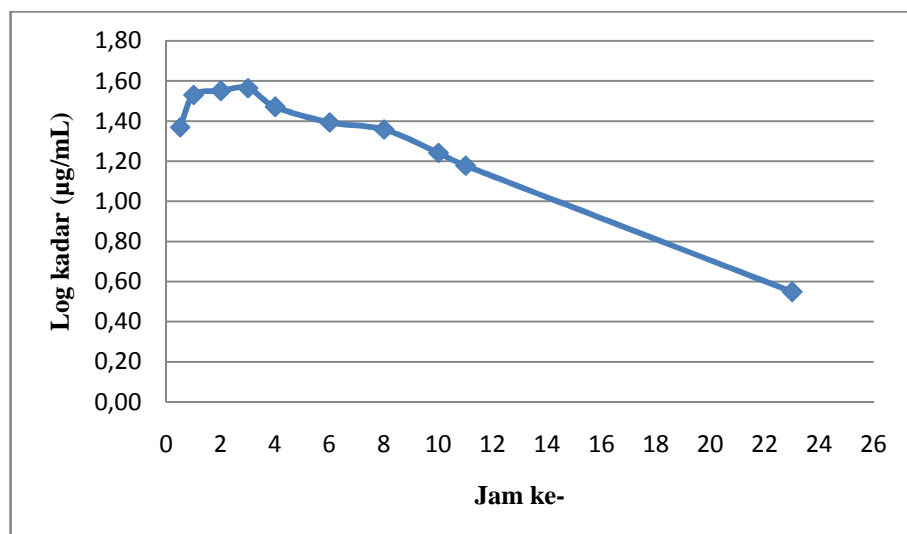
Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	584685	16,42	1,22		3,69	40,18	23,76	3,17
1	964363	27,01	1,43		3,63	37,68	10,67	2,37
2	1028612	28,80	1,46		3,50	33,14	4,34	1,47
3	1127118	31,55	1,50		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2} = 5,33$ jam $t_{maks} = 2,20$ jam $C_{p_{maks}} = 28,95$ $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-inf} = 296,44$ $\mu\text{g.jam/mL}$ $V_d = 1311,99$ mL/kg $Cl_T = 170,56$ mL/jam.kg			
4	887215	24,86	1,40					
6	680283	19,09	1,28					
8	659599	18,51	1,27	2,92				
10	365986	10,32	1,01	2,33				
11	340214	9,61	0,98	2,26				
23	78865	2,32	0,37	0,84				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,76			B = 42,95 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,13			k = 0,13 jam^{-1}					
r = -0,986			Ln Cp = 3,76 - 0,13.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 3,62			A = 37,34 $\mu\text{g/mL}$					
B (- k_a) = -1,10			$k_a = 1,10$ jam^{-1}					
r = -0,988			Ln Cr = 3,62 - 1,10.t					

**Gambar 17.** Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus IV kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVI. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin 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		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 5,78 jam t_{maks} = 3,07 jam $C_{p_{maks}}$ = 36,22 $\mu\text{g/mL}$ AUC_{0-inf} = 436,21 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1229,89 mL/kg Cl_T = 147,59 mL/jam.kg			
4	1053965	29,51	1,47					
6	882580	24,73	1,39					
8	812598	22,78	1,36	3,13				
10	620248	17,41	1,24	2,86				
11	535175	15,04	1,18	2,71				
23	122388	3,53	0,55	1,26				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 4,09			B = 59,74 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,12			k = 0,12 jam^{-1}					
r = -0,999			Ln Cp = 4,09 - 0,12.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 3,75			A = 42,52 $\mu\text{g/mL}$					
B (- k_a) = -0,69			$k_a = 0,69 \text{ jam}^{-1}$					
r = -0,979			Ln Cr = 3,75 - 0,69.t					



Gambar 18. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus V kontrol.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVII. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus I perlakuan

Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	612671	17,20	1,24		3,46	31,83	14,63	2,68
1	864555	24,23	1,38		3,42	30,45	6,22	1,83
2	980358	27,46	1,44		3,33	27,87	0,41	-0,89
3	1078198	30,18	1,48		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2} = 7,7$ jam $t_{maks} = 1,41$ jam $C_{p_{maks}} = 27,31$ $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-inf} = 344,50$ $\mu\text{g.jam/mL}$ $V_d = 789,40$ mL/kg $Cl_T = 71,05$ mL/jam.kg			
4	984890	27,58	1,44					
6	777460	21,80	1,34					
8	595329	16,72	1,22	2,82				
10	490535	13,80	1,14	2,62				
11	431292	12,15	1,08	2,50				
23	152002	4,36	0,64	1,47				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,50				B = 33,11 $\mu\text{g/mL}$				
B (-k) = -0,09				k = 0,09 jam^{-1}				
r = -0,999				Ln Cp = 3,50 - 0,09.t				
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 4,04				A = 56,83 $\mu\text{g/mL}$				
B (- k_a) = -2,43				$k_a = 2,43$ jam^{-1}				
r = -0,995				Ln Cr = 4,04 - 2,43.t				

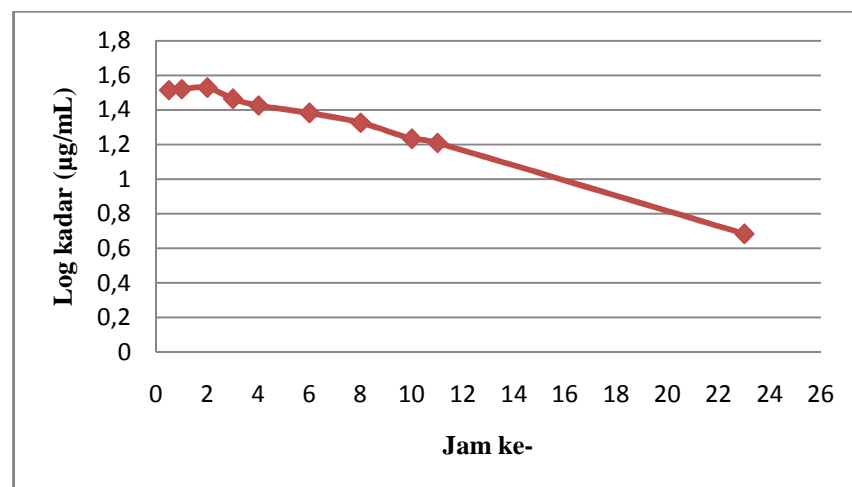


Gambar 19. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus I perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XVIII. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus II perlakuan

Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	1162349	32,53	1,51		3,72	41,09	8,56	2,15
1	1177158	32,94	1,52		3,67	39,33	6,39	1,85
2	1198758	33,55	1,53		3,58	36,03	2,49	0,91
3	1036931	29,03	1,46		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2} = 7,70$ jam $t_{maks} = 2,98$ jam $C_{p_{maks}} = 31,72$ $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-inf} = 460,86$ $\mu\text{g.jam/mL}$ $V_d = 3521,40$ mL/kg $Cl_T = 316,93$ mL/jam.kg			
4	952093	26,67	1,43					
6	865867	24,26	1,38					
8	764571	21,44	1,33	3,07				
10	623453	17,50	1,24	2,86				
11	593160	16,66	1,22	2,81				
23	201277	5,73	0,76	1,75				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,76			B = 42,95 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,09			k = 0,09 jam^{-1}					
r = -0,999			Ln Cp = 3,76 - 0,09.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k _a .t								
A (Ln A) = 2,62			A = 13,74 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k _a) = -0,84			k _a = 0,84 jam^{-1}					
r = -0,995			Ln Cr = 2,62 - 0,84.t					

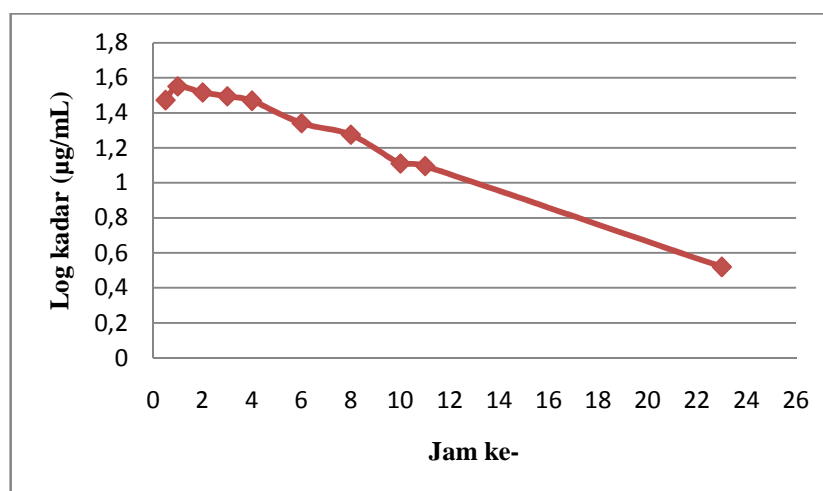


Gambar 20. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus II perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XIX. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus III perlakuan

Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	1055344	29,55	1,47		3,59	36,21	6,66	1,90
1	1181387	33,06	1,52		3,54	34,52	1,46	0,38
2	1096543	30,70	1,49		3,45	31,37	0,68	-0,39
3	1111670	31,12	1,49		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2} = 6,93$ jam $t_{maks} = 2,02$ jam $C_{p_{maks}} = 30,56$ $\mu\text{g/mL}$ $AUC_{0-inf} = 373,96$ $\mu\text{g.jam/mL}$ $V_d = 4754,37$ mL/kg $Cl_T = 475,44$ mL/jam.kg			
4	1046577	29,30	1,47					
6	790933	22,17	1,35					
8	683579	19,18	1,28	2,95				
10	480199	13,51	1,13	2,60				
11	464577	13,07	1,12	2,57				
23	149260	4,28	0,63	1,45				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,64			B = 38,09 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,10			k = 0,10 jam^{-1}					
r = -0,995			Ln Cp = 3,64 - 0,10.t					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 2,28			A = 9,78 $\mu\text{g/mL}$					
B (- k_a) = -1,41			$k_a = 1,41$ jam^{-1}					
r = -0,930			Ln Cr = 2,28 - 1,41.t					

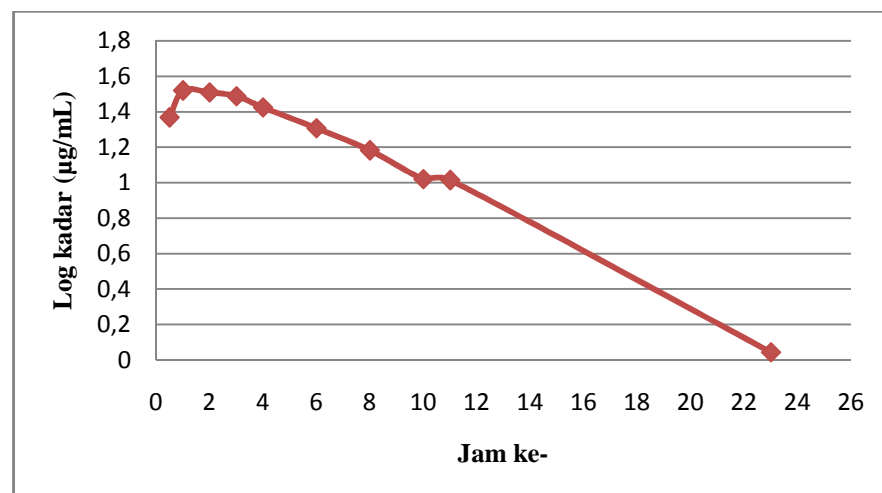


Gambar 21. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus III perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)

Tabel XX. Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus IV perlakuan

Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	838034	23,49	1,37		3,72	41,28	17,80	2,88
1	1173502	32,84	1,52		3,66	38,67	5,83	1,76
2	1147066	32,10	1,51		3,52	33,93	1,82	0,60
3	1093345	30,61	1,49		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 5,33 jam t_{max} = 1,81 jam $C_{p_{max}}$ = 32,76 $\mu\text{g/mL}$ AUC_{0-inf} = 318,81 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1489,35 mL/kg Cl_T = 193,62 mL/jam.kg			
4	948988	26,58	1,42					
6	733640	20,58	1,31					
8	558335	15,69	1,20	2,75				
10	396036	11,16	1,05	2,41				
11	390840	11,02	1,04	2,40				
23	73520	2,17	0,34	0,77				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
$\text{Ln Cp} = \text{Ln B} - k.t$								
A (Ln B) = 3,79			B = 44,26 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k) = -0,13			k = 0,13 jam^{-1}					
r = -0,998			$\text{Ln Cp} = 3,79 - 0,13.t$					
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
$\text{Ln C}' = \text{Ln B} - k.t$								
Penentuan Cr								
$\text{Cr} = \text{C}' - \text{Cp}$								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
$\text{Ln Cr} = \text{Ln A} - k_a.t$								
A (Ln A) = 3,46			A = 31,82 $\mu\text{g/mL}$					
B (-k _a) = -1,47			k _a = 1,47 jam^{-1}					
r = -0,984			$\text{Ln Cr} = 3,46 - 1,47.t$					



Gambar 22. Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus IV perlakuan.

Lampiran 8. (lanjutan)**Tabel XXI.** Perhitungan parameter farmakokinetik teofilin tikus V perlakuan

Jam ke-	Luas area	Cp	Log Cp	Ln Cp	Ln C'	C'	Cr	Ln Cr
0,5	905590	25,37	1,40		3,64	38,17	12,80	2,55
1	1164310	32,58	1,51		3,59	36,25	3,66	1,30
2	1150086	32,19	1,51		3,49	32,68	0,50	-0,70
3	1094419	30,64	1,49		Parameter farmakokinetik: $t_{1/2}$ = 6,93jam t_{max} = 1,50 jam C_{pmax} = 33,06 $\mu\text{g/mL}$ AUC_{1-inf} = 384,13 $\mu\text{g.jam/mL}$ V_d = 1301,86 mL/kg Cl_T = 130,19 mL/jam.kg			
4	966958	27,08	1,43					
6	742363	20,82	1,32					
8	652071	18,30	1,26	2,91				
10	518024	14,56	1,16	2,68				
11	425285	11,98	1,08	2,48				
23	130729	3,76	0,58	1,33				
Persamaan kurva baku untuk mencari Cp $\rightarrow y = 35862,59 x - 4265,40$								
Persamaan titik-titik eliminasi (LR 1)								
Ln Cp = Ln B - k.t								
A (Ln B) = 3,69				B = 40,04 $\mu\text{g/mL}$				
B (-k) = -0,10				k = 0,10 jam^{-1}				
r = -0,997				Ln Cp = 3,69 - 0,10.t				
Penentuan C' dengan mengekstrapolasi titik-titik absorpsi pada LR 1								
Ln C' = Ln B - k.t								
Penentuan Cr								
Cr = C' - Cp								
Persamaan titik-titik Cr dan t absorpsi (LR 2)								
Ln Cr = Ln A - k_a .t								
A (Ln A) = 3,55				A = 34,81 $\mu\text{g/mL}$				
B (- k_a) = -2,14				k_a = 2,14 jam^{-1}				
r = -0,998				Ln Cr = 3,55 - 2,14.t				

**Gambar 23.** Kurva profil farmakokinetika teofilin tikus V perlakuan.

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

Tabel XXII. Kadar teofilin kelompok kontrol (diberikan teofilin dosis 54 mg/kgBB)

Jam ke-	Kadar teofilin kelompok kontrol ($\mu\text{g/mL}$)					
	Tikus I	Tikus II	Tikus III	Tikus IV	Tikus V	Rata-rata \pm SE
0,5	26,10	18,93	13,49	16,42	23,39	19,67 \pm 2,28
1	31,18	30,15	25,72	27,01	33,92	29,60 \pm 1,47
2	31,97	31,46	29,56	28,80	35,47	31,45 \pm 1,16
3	37,20	32,04	30,00	31,55	36,61	33,48 \pm 1,44
4	26,19	27,37	28,43	24,86	29,51	27,27 \pm 0,82
6	19,58	24,79	22,57	19,09	24,73	22,15 \pm 1,22
8	19,49	20,92	17,37	18,51	22,78	19,81 \pm 0,94
10	15,26	19,58	12,92	10,32	17,41	15,10 \pm 1,63
11	15,17	14,13	10,51	9,61	15,04	12,89 \pm 1,18
23	2,13	2,37	2,78	2,32	3,53	2,63 \pm 0,25

Tabel XXIII. Kadar teofilin kelompok perlakuan (diberikan air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB)

Jam ke-	Kadar teofilin kelompok perlakuan ($\mu\text{g/mL}$)					
	Tikus I	Tikus II	Tikus III	Tikus IV	Tikus V	Rata-rata \pm SE
0,5	17,20	32,53	29,55	23,49	25,37	25,63 \pm 2,63
1	24,23	32,94	33,06	32,84	32,58	31,13 \pm 1,73
2	27,46	33,55	30,70	32,10	32,19	31,20 \pm 1,04
3	30,18	29,03	31,12	30,61	30,64	30,32 \pm 0,35
4	27,58	26,67	29,30	26,58	27,08	27,44 \pm 0,50
6	21,80	24,26	22,17	20,58	20,82	21,93 \pm 0,65
8	16,72	21,44	19,18	15,69	18,3	18,27 \pm 1,00
10	13,8	17,5	13,51	11,16	14,56	14,11 \pm 1,02
11	12,15	16,66	13,07	11,02	11,98	12,98 \pm 0,97
23	4,36	5,73	4,28	2,17	3,76	4,06 \pm 0,57

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

Tabel XXIV. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol (diberikan teofilin dosis 54 mg/kgBB)

Parameter farmakokinetika teofilin kelompok kontrol								
Tikus	k_a (jam ⁻¹)	t_{maks} (jam)	$C_{p_{maks}}$ (μ g/mL)	AUC_{0-inf} (μ g.jam/mL)	V_d (mL/kg)	Cl_T (mL/jam.kg)	k (jam ⁻¹)	$t_{1/2}$ (jam)
I	0,43	3,76	30,77	360,58	1383,87	207,58	0,15	4,62
II	0,46	3,61	32,82	376,23	1030,93	154,64	0,15	4,62
III	1,27	2,05	29,48	314,20	1025,53	123,06	0,12	5,78
IV	1,10	2,20	28,95	296,44	1311,99	170,56	0,13	5,33
V	0,69	3,07	36,22	436,21	1229,89	147,59	0,12	5,78
Rata-rata \pm SE	0,79 \pm 0,17	2,94 \pm 0,35	31,65 \pm 1,32	356,73 \pm 24,65	1196,44 \pm 72,87	160,69 \pm 14,00	0,13 \pm 0,009	5,23 \pm 0,26

Tabel XXV. Hasil perhitungan parameter farmakokinetika teofilin kelompok perlakuan (diberikan air seduhan teh hitam bersamaan pemberian teofilin dosis 54 mg/kgBB)

Parameter farmakokinetika teofilin kelompok perlakuan								
Tikus	k_a (jam ⁻¹)	t_{maks} (jam)	$C_{p_{maks}}$ (μ g/mL)	AUC_{0-inf} (μ g.jam/mL)	V_d (mL/kg)	Cl_T (mL/jam.kg)	k (jam ⁻¹)	$t_{1/2}$ (jam)
I	2,43	1,41	27,31	344,50	789,40	71,05	0,09	7,70
II	0,84	2,98	31,72	460,86	3521,40	316,93	0,09	7,70
III	1,41	2,02	30,56	373,96	4754,37	475,44	0,10	6,93
IV	1,47	1,81	32,76	318,81	1489,35	193,62	0,13	5,33
V	2,14	1,50	33,06	384,13	1301,86	130,19	0,10	6,93
Rata-rata \pm SE	1,66 \pm 0,28	1,94 \pm 0,28	31,08 \pm 1,04	376,45 \pm 24,02	2371,28,41 \pm 755.84	237,45 \pm 72,14	0,10 \pm 0,009	6,92 \pm 0,43

Lampiran 11. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
k_a	10	1.2240	.67106	.43	2.43
$C_{p_{maks}}$	10	31.3650	2.52683	27.31	36.22
t_{maks}	10	2.4410	.85162	1.41	3.76
AUC_{0-inf}	10	3.6659E2	52.34652	296.44	460.86
V_d	10	1.7839E3	1290.24071	789.40	4754.37
Cl_T	10	1.9906E2	116.77199	71.05	475.44
k	10	.1180	.02251	.09	.15
$t_{1/2}$	10	6.0720	1.16721	4.62	7.70

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	k_a	$C_{p_{maks}}$	t_{maks}	AUC_{0-inf}	V_d	Cl_T	k	$t_{1/2}$
N	10	10	10	10	10	10	10	10
Normal Parameters ^a	1.2240	31.3650	2.4410	3.6659E2	1.7839E3	1.9906E2	.1180	6.0720
	.67106	2.52683	.85162	5.23465E1	1.29024E3	1.16772E2	.02251	1.16721
Most Extreme Differences	.157	.151	.211	.169	.390	.271	.188	.199
	.157	.151	.211	.169	.390	.271	.188	.199
	-.118	-.110	-.137	-.108	-.220	-.158	-.135	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z	.496	.478	.669	.534	1.234	.857	.595	.629
Asymp. Sig. (2-tailed)	.966	.976	.763	.938	.095	.455	.871	.824

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 12. Hasil uji t tidak berpasangan

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ka	kontrol	5	.7900	.37914	.16956
	perlakuan	5	1.6580	.63132	.28234
C _p _{maks}	kontrol	5	31.6480	2.95918	1.32339
	perlakuan	5	31.0820	2.32571	1.04009
t _{maks}	kontrol	5	2.9380	.78706	.35199
	perlakuan	5	1.9440	.62835	.28101
AUC _{0-inf}	kontrol	5	3.5673E2	55.12674	24.65343
	perlakuan	5	3.7645E2	53.69684	24.01396
V _d	kontrol	5	1.1964E3	162.94516	72.87129
	perlakuan	5	2.3713E3	1690.09600	755.83391
Cl _T	kontrol	5	1.6068E2	31.29873	13.99722
	perlakuan	5	2.3745E2	161.30022	72.13565
k	kontrol	5	.1340	.01517	.00678
	perlakuan	5	.1020	.01643	.00735
t _{1/2}	kontrol	5	5.2260	.58291	.26068
	perlakuan	5	6.9180	.96761	.43273

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	1.672	.232	-2.636	8	.030	-.86800	.32934	-1.62746	-.10854
	Equal variances not assumed			-2.636	6.553	.036	-.86800	.32934	-1.65766	-.07834
C _p _{maks}	Equal variances assumed	.434	.529	.336	8	.745	.56600	1.68319	-3.31545	4.44745
	Equal variances not assumed			.336	7.577	.746	.56600	1.68319	-3.35351	4.48551
t _{maks}	Equal variances assumed	.887	.374	2.207	8	.058	.99400	.45040	-.04462	2.03262
	Equal variances not assumed			2.207	7.626	.060	.99400	.45040	-.05356	2.04156
AUC _{0-inf}	Equal variances assumed	.044	.840	-.573	8	.582	-19.72000	34.41601	-99.08345	59.64345
	Equal variances not assumed			-.573	7.994	.582	-19.72000	34.41601	-99.09299	59.65299
V _d	Equal variances assumed	22.484	.001	-1.547	8	.160	-1174.83400	759.33861	-2925.87197	576.20397
	Equal variances not assumed			-1.547	4.074	.195	-1174.83400	759.33861	-3268.00854	918.34054
k	Equal variances assumed	8.779	.018	-1.045	8	.327	-76.76400	73.48112	-246.21176	92.68376
	Equal variances not assumed			-1.045	4.301	.351	-76.76400	73.48112	-275.27446	121.74646
Cl _T	Equal variances assumed	.092	.769	3.200	8	.013	.03200	.01000	.00894	.05506
	Equal variances not assumed			3.200	7.949	.013	.03200	.01000	.00891	.05509
t _{1/2}	Equal variances assumed	.237	.640	-3.349	8	.010	-1.69200	.50518	-2.85695	-.52705
	Equal variances not assumed			-3.349	6.565	.013	-1.69200	.50518	-2.90279	-.48121