

**PROFIL FARMAKOKINETIK OKSITETRASIKLIN HIDROKLORID
DALAM BERBAGAI JARINGAN TIKUS *SPRAGUE DAWLEY***

**PHARMACOKINETIC PROFILE OF OXYTETRACYCLINE HYDROCHLORIDE
IN VARIOUS TISSUES OF *SPRAGUE DAWLEY* RAT**

Agustina Dwi Wijayanti¹, Lukman Hakim², Irkham Widiyono³

¹Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

³Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

A research of measuring oxytetracycline hydrochloride concentration in liver, kidney and muscle of male Sprague Dawley rats was done to find the pharmacokinetic profiles of different tissues. The research aim was to find the profiles of absorption, distribution, metabolism and excretion of oxytetracycline in various tissues in the body. The method research was collected the samples from tissues after injected of oxytetracycline hydrochloride by intravenous administration with single dose of 20 mg/kg of body weight. Animals had sacrificed with ether to collect the liver, kidney and muscle at minute of 1, 5, 15, 20, 30, 60, 120 and 240. All tissues were kept frozen (-20°C) before analysis. The drug concentrations measured by High Performance Liquid Chromatography analysis and pharmacokinetic parameters were determined by non compartment model. The results of the research indicated that there were different profiles and parameters of pharmacokinetic of oxytetracycline hydrochloride in liver, kidney and muscle showing the different characteristics of distribution, metabolism and excretion of drug.

Key words: oxytetracycline hydrochloride, pharmacokinetic profiles, tissues.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai kadar oksitetrasiklin hidroklorida dalam hati, ginjal dan otot tikus Sprague Dawley jantan untuk mendapatkan profil farmakokinetik dalam jaringan tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi oksitetrasiklin hidroklorida pada berbagai jaringan tubuh yang berbeda. Metode penelitian yang digunakan adalah pengambilan sampel jaringan setelah tikus disuntik senyawa oksitetrasiklin secara intravena dengan dosis tunggal 20 mg/kg berat badan. Organ hati, ginjal dan otot diambil setelah tikus dietanasi menggunakan eter pada menit ke 1, 5, 15, 20, 30, 60, 120 dan 240. Selanjutnya semua sampel jaringan disimpan dalam freezer (-20°C) kemudian diekstraksi dan dianalisis serta diukur kadarnya menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Parameter farmakokinetik obat ditentukan menggunakan model non kompartemen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar, profil dan parameter farmakokinetik oksitetrasiklin hidroklorida pada hati, ginjal dan otot yang menunjukkan perbedaan sifat distribusi, metabolisme dan ekskresi obat.

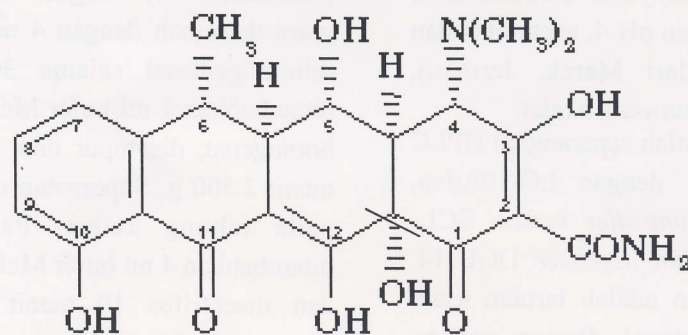
Kata kunci: oksitetrasiklin hidroklorida, profil farmakokinetik, jaringan.

PENDAHULUAN

Oksitetrasiklin merupakan senyawa turunan tetrasiklin yang diperoleh dari *Streptomyces rimosus*, dengan struktur kimia dapat dilihat pada Gambar 1. Oksitetrasiklin berbentuk basa, berwarna kuning dan berasa pahit serta kelarutannya dalam air sangat sedikit. Senyawa ini dapat diberikan per oral ataupun secara parenteral. Konsentrasi maksimal di

paruh eliminasi obat 4-6 jam pada anjing dan kucing, 4,3-9,7 jam pada sapi, 6,7 pada babi, dan 3,6 jam pada domba (Brander *et al.*, 1991).

Obat yang masuk tubuh baik secara oral maupun parenteral akan melalui serangkaian proses biotransformasi, masuk sirkulasi darah serta terikat pada reseptor di dalam jaringan dan akhirnya akan dieliminasi. Di dalam darah obat akan terikat dengan protein plasma (*protein-bound drug*) atau dalam



Gambar 1. Struktur kimia oksitetrasiklin

dalam darah dicapai dalam dua jam setelah pemberian intramuskuler. Distribusi dalam tubuh cukup cepat dan obat dapat mencapai hampir semua jaringan dan cairan tubuh. Ekskresi obat melalui sistem urinaria dan empedu. Aksi antibakterial obat adalah berspektrum luas dengan menghambat sintesis protein bakteri pada ribosom 30S. Pada ternak digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pencernaan oleh *E. coli* dan *salmonella*, infeksi pernafasan, footrot, anaplasmosis, theileriosis dan ehrlichiosis (Brander *et al.*, 1991).

Obat ini dapat melalui plasenta, memasuki sirkulasi fetus dan terdistribusi ke dalam air susu. Volume distribusi oksitetrasiklin mencapai 2,1 L/kg pada hewan kecil, 1,4 L/kg pada kuda, dan 0,8 L/kg pada sapi. Jumlah protein terikat plasma oksitetrasiklin mencapai 40% (Plumb, 1999). Waktu

berbentuk senyawa bebas (*free drug*). Obat yang terikat protein plasma umumnya tidak aktif, namun obat yang bebas akan terikat reseptor dan berada di dalam jaringan. Profil farmakokinetik fisiologis (*physiologically based pharmacokinetic*) suatu senyawa obat adalah distribusi senyawa tersebut di dalam jaringan atau organ tertentu yang diterangkan berdasar model fisiologis (Leahy, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil dan parameter farmakokinetik oksite-trasiklin dalam berbagai jaringan tubuh untuk menerangkan sifat-sifat absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi senyawa tersebut dalam tubuh. Dengan mengetahui profil farma-kokinetik obat di dalam jaringan atau organ akan diperoleh banyak informasi yang bermanfaat terutama untuk terapi penyakit tertentu, menentukan *drug of choice*, manajemen terapi dan analisis residu (Shargel dan Yu, 1993).

MATERI DAN METODE

Materi penelitian adalah tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 3 bulan, rata-rata berat badan 250 gram yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (UPHP,LPPT) UGM, (05975, HPLC grade, Sigma-Aldrich, USA), bufer McIlvine *ethylenediamine tetraacetid acid* (McIlvine EDTA) yaitu larutan sodium fosfat dibasik, asam sitrat monohidrat dan disodium *ethylene diamine tetra acetic acid* dalam air dengan pH 4, asetonitril dan metanol (HPLC grade dari Merck, Jerman), aquabides (Ikapharmindo) dan asam oxalat.

Alat yang digunakan adalah seperangkat HPLC merk Shimadzu versi 6,1 dengan LC-10Advp, Detector UV SPD-10A, *controller system* SCL-10Avp, oven CTO-10Avp dan *degasser* DGU-14. Fase gerak yang digunakan adalah larutan asam oxalat, asetonitril dan metanol dengan perbandingan 6:3:1. Kecepatan alir adalah 1 mL/menit, suhu oven 30 °C dan pembacaan pada UV 350 nm dan volume injeksi sebesar 20 µL. Validasi metode dilakukan terhadap obat murni oksitetrasiklin hidroklorida melalui serangkaian pengenceran (6 pengenceran mulai 0,05 sampai 25 µg/mL).

Metode penelitian ini meliputi: 1) penelitian farmakokinetik dari berbagai jaringan dengan pengambilan sampel tiap interval tertentu, 2) proses ekstraksi jaringan, 3) analisis jaringan dengan HPLC dan 4) pembuatan kurva konsentrasi versus waktu untuk obat serta pengukuran parameter farmakokinetik jaringan, dengan parameter yang diukur adalah: T max, C max, T_{1/2} eliminasi, dan AUC jaringan.

Hewan diadaptasikan dalam kandang dalam ruangan dengan pakan yang sama dan air minum *ad libitum* selama 1 minggu. Selanjutnya hewan dikelompokkan menjadi 8, masing-masing berjumlah 4 ekor. Tiap perlakuan obat memerlukan 8 kelompok. Selanjutnya oksitetrasiklin hidroklorida diberikan lewat vena ekor dengan dosis 20 mg/kg

BB. Hewan dietanasi dengan eter pada menit ke 0 (sebelum disuntik obat, sebagai blangko) dan diambil jaringan hati, ginjal dan muskulus abdominal. Setelah dilakukan penyuntikan obat, diambil sampel jaringannya pada menit ke-1, 5, 10, 15, 30, 60, 120 dan 240. Selanjutnya jaringan disimpan dalam suhu -20° Celcius untuk diekstraksi.

Ekstraksi jaringan dilakukan menurut standar *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC) internasional untuk golongan tetrasiklin (Anonim, 1996). Organ ditimbang sebanyak 1 gram ditambah dengan 4 mL bufer McIlvine dan dihomogenisasi selama 30 detik. Setelah itu ditambahkan 1 ml bufer McIlvine EDTA ke dalam homogenat, dicampur dan disentrifus selama 10 menit 2.500 g. Supernatan diambil dan ditampung pada tabung kedua. Pada tabung pertama ditambahkan 4 ml bufer McIlvine EDTA, dicampur dan disentrifus 10 menit 2.500 g selanjutnya supernatan ditambahkan pada supernatan tabung kedua. Sisa homogenat dari tabung pertama dibilas dengan 2 mL bufer McIlvine EDTA, dicampur dan disentrifus 10 menit 2.500 g. Supernatan ditambahkan kembali pada tabung kedua selanjutnya supernatan kolektif pada tabung kedua disentrifus selama 20 menit 2.500 g dan disaring.

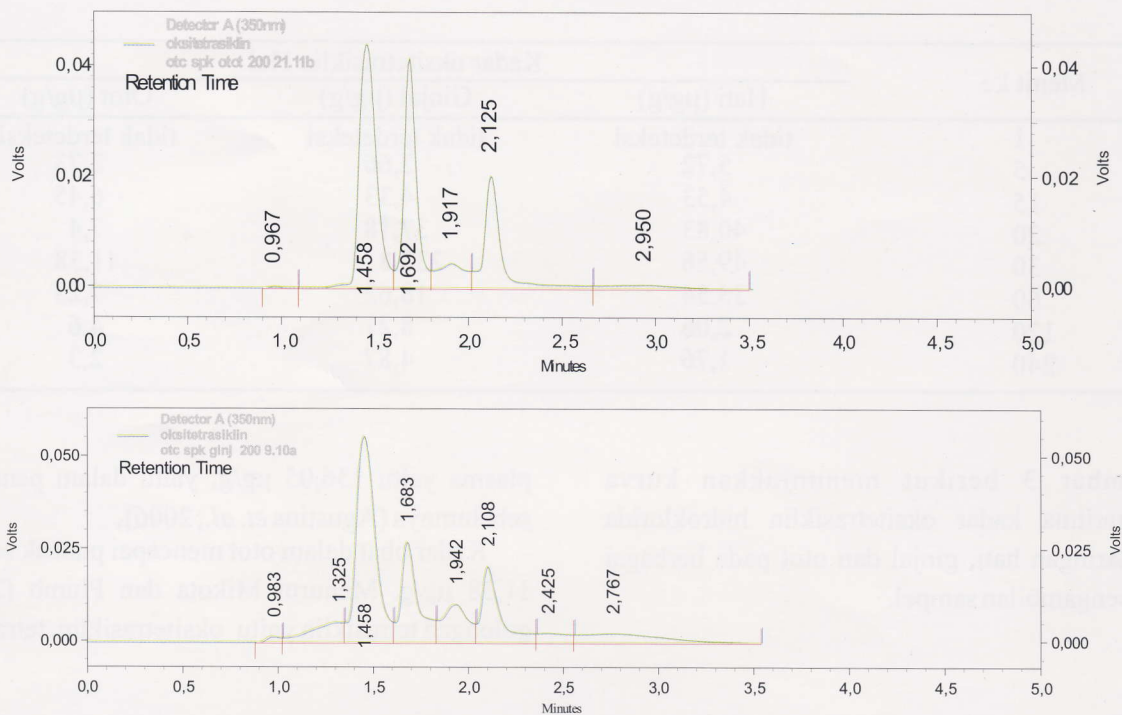
Kadar oksitetrasiklin hidroklorida dalam jaringan yang diperoleh dari kromatogram dijabarkan sebagai grafik konsentrasi versus waktu, dan parameter farmakokinetik akan dihitung dengan model non kompartemen untuk jaringan (Shargel dan Yu, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode dilakukan terhadap obat murni oksitetrasiklin hidroklorida, melalui serangkaian pengenceran (6 pengenceran mulai 0,05 sampai 25 µg/mL) dan didapatkan puncak yang jelas dalam kromatogram dan tidak tumpang tindih, dengan waktu retensi berkisar pada 1,6 menit untuk oksitetrasiklin hidroklorida. Kromatogram

oksitetrasiklin hidroklorida pada jaringan otot dan ginjal dapat dilihat pada Gambar 2.

Adapun hasil validasi analisis dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kromatogram oksitetrasiklin hidroklorida dalam otot (atas) dan ginjal (bawah), ditunjukkan sebagai puncak gelombang (*peak*) pada waktu retensi berkisar 1,6 menit.

Tabel 1. Data validasi analisis obat dan spiking obat dalam jaringan

Pengukuran	Hasil
Limit deteksi	0,005 g
Limit kuantifikasi	0,01 µg
Akurasi	
<i>Intraday</i> (dalam satu hari)	90-103%
<i>Interday</i> (antar hari)	87-106%
Stabilitas (4°C)	12 minggu
Linearitas dan koefisien korelasi	
1. Obat murni	$y=54577,45+16776,74x$ $r=0,997$
2. <i>Spiking</i> obat dalam jaringan hati	$y=102829,5+509,5x$ $r=0,9995$
3. <i>Spiking</i> obat dalam jaringan ginjal	$y=39608,6+642,6x$ $r=0,999$
4. <i>Spiking</i> obat dalam jaringan otot	$y=0,0017x-130,6$ $r=0,997$

Sementara itu hasil pengukuran kadar obat berdasarkan analisis kadar dengan HPLC tertera pada Tabel 2.

pada menit ke-240. Kadar obat tertinggi di dalam ginjal tercapai pada menit ke -30 dengan 136,8 µg/g. Kadar ini hampir sama dengan kadar awal dalam

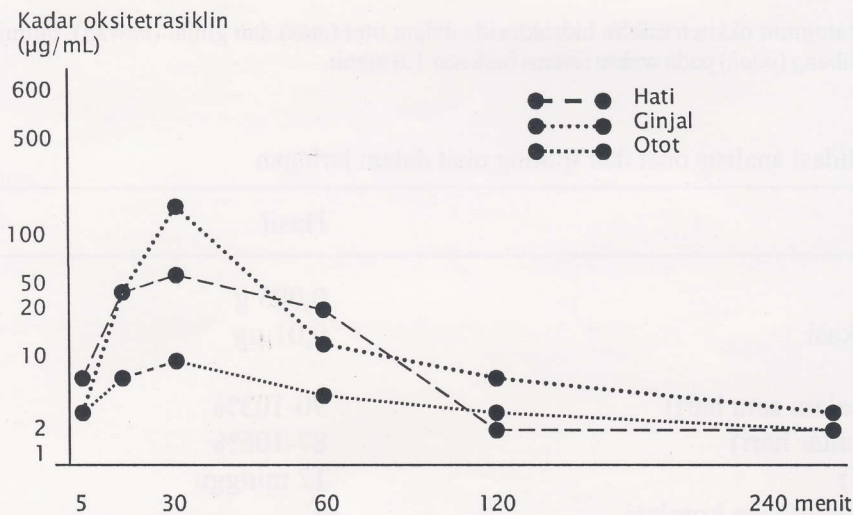
Tabel 2. Kadar oksitetrasiklin HCl dalam tiap-tiap jaringan pada tiap-tiap waktu pengambilan sampel

Menit ke	Kadar oksitetrasiklin Hcl		
	Hati (µg/g)	Ginjal (µg/g)	Otot (µg/g)
1	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
5	5,72	2,66	2,73
15	4,53	4,33	6,45
20	40,83	37,18	7,4
30	49,58	238,8	11,38
60	35,54	18,62	7,23
120	2,06	8,21	4,6
240	1,76	4,87	2,3

Gambar 3 berikut menunjukkan kurva semilogaritma kadar oksitetrasiklin hidroklorida dalam jaringan hati, ginjal dan otot pada berbagai waktu pengambilan sampel.

plasma yaitu 136,05 µg/g, yaitu dalam penelitian sebelumnya (Agustina *et. al.*, 2006).

Kadar obat dalam otot mencapai puncak sebesar 11,38 µg/g. Menurut Mikota dan Plumb (2003), golongan tetrasiklin yaitu oksitetrasiklin, tetrasiklin



Gambar 3. Grafik semilogaritma kadar oksitetrasiklin HCl dalam jaringan terhadap waktu

Oksitetrasiklin hidroklorida memberikan kadar tertinggi pada hati pada menit ke-30 sebesar 49,58 µg/g. Obat dimetabolisme dan tinggal 1,76 µg/g

dan doksisisiklin memiliki perbedaan struktur molekul pada rantai karbon C5 dan C6. Pengaruh basa dan asam kuat dapat merusak gugus hidroksil

pada C6 dan dapat mempengaruhi aktivitas, namun penambahan gugus metil pada C6 dapat meningkatkan kadar obat di dalam darah. Reaktivitas gugus hidroksil dan hidrogen pada C6 dan C5 mengakibatkan berkurangnya kestabilan kimia serta akan mempengaruhi struktur molekul dari golongan tetrasiklin (Perlman, 1996). Berdasarkan parameter farmakokinetik oksitetrasiklin hidroklorida dalam plasma dan jaringan hati, ginjal dan otot tikus dapat diketahui adanya perbedaan sifat distribusi obat di dalam tubuh berdasarkan sifat fisiologis, anatomis maupun biokimia jaringan penyusunnya. Perbedaan struktur menyebabkan kestabilan suatu obat berbeda dan akan mempengaruhi sifat fisikokimia masing-masing obat terhadap sifat distribusinya pada jaringan-jaringan di dalam tubuh.

Profil farmakokinetik obat dihitung secara non kompartemental dan dapat dilihat pada Tabel 3.

Nilai AUC untuk oksitetrasiklin paling tinggi dicapai pada ginjal. Ini menunjukkan bahwa distribusi obat di dalam ginjal sangat baik. Dalam ginjal obat mencapai konsentrasi tertinggi sebesar 136,8 µg/g dan menyamai kadar dalam plasma 5 menit setelah penyuntikkan yaitu sebesar 136,05 µg/g (Agustina *et al.*, 2006). Akan tetapi keberadaan obat dalam hati ternyata lebih lama karena nilai T1/2 yang paling panjang yaitu 1108,8 menit atau sekitar 18 jam. Pada semua jaringan, obat mencapai kadar maksimal (C max) setelah 30 menit (T max), dan mengalami penurunan hingga 4 jam dengan kadar tersisa paling tinggi pada ginjal sebesar 4,87 µg/g.

Data farmakokinetik ini sangat berguna untuk menjelaskan sifat distribusi obat di dalam jaringan-jaringan. Dalam aplikasi klinik, data farmakokinetik ini akan bermanfaat diantaranya adalah untuk memilih *drug of choice* suatu penyakit, uji terapeutik dan toksisitas obat, menentukan kebijakan manajemen terapi, serta untuk uji residu dalam produk makanan yang berasal dari hewan.

Profil farmakokinetik oksitetrasiklin hidroklorida dalam berbagai jaringan (hati, ginjal,

Tabel 3. Parameter farmakokinetik oksitetrasiklin HCl pada hati, ginjal,otot tikus yang diberikan secara intravena 20 mg/kg berat badan.

Parameter	satuan	hati	ginjal	otot
AUC	µg/g	3222,2	4930,2	1222,475
C max	µg/mL	49,58	136,8	11,38
T max	menit	30	30	30
T ½ eliminasi	menit	1108,8	366,6	277,2

Area Under Curve (AUC) dihitung dengan metode trapezoid. Nilai k adalah *slope* terminal yang didapat dari nilai $\log \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$

Waktu paruh eliminasi (T1/2 eliminasi) didapatkan dari pembagian konstanta 0,693 dengan *slope* (k). Nilai Vd dan *clearance* jaringan tidak bisa ditentukan karena dosis yang masuk ke jaringan tidak diketahui. Nilai farmakokinetik oksitetrasiklin hidroklorida jaringan dapat dilihat pada Tabel 3.

dan otot) menunjukkan perbedaan nilai AUC, Tmax, Cmax, T1/2 eliminasi dan menunjukkan adanya perbedaan sifat distribusi, metabolisme dan ekskresi obat dalam berbagai kompartemen tubuh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih khususnya kami sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) UGM yang telah memberikan dana melalui Program Desentralisasi tahun 2006-2007, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, DW., Puspa WS., Syarifuddin T. 2006. Profil Farmakokinetik Oksi-tetrasiklin pada tikus. *J. Sain Vet.* Vol. 24 (2) : 157-161.
- _____. 1996. *Official Methods of Analysis of AOAC International, Food composition, Additives, Natural contaminants.* Vol I & II. 16th ed. Pub. By AOAC International. Maryland. USA. pp.19-24.
- Brander, G.C., Pugh, R.J., Bywater, W.L. 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics.* 5th ed. Bailliere Tindall ELBS. 467-473.
- Leahy, D.E. 2004. Drug discovery information integration: virtual human for pharmacokinetics. *Reviews. DDT: BIOSILICO 2 (2) : 215-222.*
- Mikota, S.K., Plumb, D.C. 2003. *Doxycycline, The Elephant Formulary.* Pub. Elephant Care International. 23-26.
- Perlman D. 1996. *Prinsip-prinsip Kimia Medisinal.* Jilid 2 ed. William O. Foye. Translation from English language. ed. Pub. By Lea & Febiger. Gadjah Mada Univ. Press 1412, 1549, 1550.
- Plumb, D.C., 1999, *Veterinary Drug Handbook,* 3rd ed. 122-123, Iowa State University Press/Ames. 475-479.
- Shargel, L., Yu, A.B.C. 1993. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics.* 3rd ed. Appleton and Lange. Connecticut. 212-257.