

PROFIL FARMAKOKINETIK OKSITETRASIKLIN PADA TIKUS

THE PHARMACOKINETIC PROFILES OF OXYTETRACYCLINE IN RAT

Agustina Dwi Wijayanti¹, Puspa Wikan Sari¹, dan Syarifuddin Tato¹

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

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil farmakokinetik oksitetrasiklin dalam plasma tikus menggunakan analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Larutan oksitetrasiklin standar dibuat dari senyawa murni yang diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, demikian pula standar pengukuran obat dalam plasma dibuat dengan *spiking blank* plasma dari larutan standar. Kurva standar obat dan *spiking blank* plasma dari beberapa konsentrasi menunjukkan persamaan garis regresi linier dengan koefisien regresi masing-masing 0,996 dan 0,997. Metode penelitian adalah dengan menyuntikkan oksitetrasiklin melalui vena ekor tikus yang telah dianestesi dengan eter. Darah ditampung dalam tabung berisi heparin dan diekstraksi dengan sentrifugasi dan penambahan asam trikloroasetat 10% dan solven (asetronitril dan aquabides 30:70). Sampel diinjeksikan ke HPLC dengan fase gerak asetronitril dan aquabides 30:70, kolom Shim-pack VP ODS diameter 150 x 4,6 mm, kecepatan alir 1 mL/menit, detektor pada UV 346 nm dan suhu 30°C. Hasil pengukuran konsentrasi obat dalam plasma kemudian dihitung untuk mendapatkan profil farmakokinetik oksitetrasiklin dan dihasilkan $C_{max} = 136,95 \mu\text{g/mL}$, $V_d = 0,15 \text{ L}$, $T_{1/2} = 1,66 \text{ jam}$, $k = 0,42/\text{jam}$, $clearance = 0,06 \text{ L/jam}$ dan $AUC = 333,30 \text{ mg jam/L}$.

Kata kunci: farmakokinetik, oksitetrasiklin, tikus

ABSTRACT

The aim of study was to find out the pharmacokinetic profiles of oxytetracycline in rat by high performance liquid chromatography analysis. The stock solution of pure oxytetracycline and spiking blank plasma was made by dilution to various concentrations. The linier regression equations were obtained for standard drug and spiking blank plasma by regression coefficients (r) 0.996 and 0.997 respectively. The method was injected oxytetracycline intravenously through the tail vein, then collected the blood on heparized tube to extracted by centrifugation then adding the 10% trichloroacetic acid and acetonitrile aquabidest solvent (30:70). Sampels were injected to HPLC system with mobile phase acetonitrile aquabidest (30:70), collum Shim-pack VP ODS diameter 150 x 4,6 mm, flow rate 1 mL/min, detector UV 346 nm and oven temperature was 30°C. The results of oxytetracycline pharmacokinetic profiles were $C_{max} = 136.95 \mu\text{g/mL}$, $V_d = 0.15 \text{ L}$, $T_{1/2} = 1.66 \text{ hr.}$, $k = 0.42/\text{hr}$, $clearance = 0.06 \text{ hr.}$ and $AUC = 333.30 \text{ mg.h/L}$.

Key words: pharmacokinetic, oxytetracycline, rat.

PENDAHULUAN

Analisis farmakokinetik secara umum sangat bermanfaat untuk penentuan dosis, memprediksi residu obat dalam jaringan, melihat korelasi konsentrasi obat dengan aktivitas farmakologi dan toksikologi, mengevaluasi tingkat ketersediaan obat, melihat aktivitas fisiologis maupun patologis akibat absorpsi, distribusi dan eliminasi obat serta untuk menjelaskan akibat dari berbagai interaksi obat (Shargel dan Yu, 1993).

Oksitetrasiklin merupakan golongan tetrasiklin yaitu merupakan antibiotika yang banyak digunakan dalam pengobatan penyakit hewan dan sebagai pemacu pertumbuhan untuk hewan produksi. Obat ini baik untuk mengobati infeksi bakteri Gram positif dan negatif seperti *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Brucella* spp., *Haemophilus* spp. serta *Mycoplasma* spp., *Spirocheta* spp., *Chlamidia* spp., dan rickettsia (Plumb, 1999). Golongan ini merupakan antibiotika yang sering digunakan di dalam pengobatan hewan karena sifatnya yang *broad spectrum*, mudah aplikasinya dan pada ruminansia tidak mengganggu mikroflora rumen (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 bentuk senyawa bebas (*free drug*).

Obat yang berada dalam darah, organ dan jaringan termasuk di dalam susu dan telur, memiliki aspek-aspek farmakologi yang mempengaruhi keberadaannya seperti t_{max} (waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi tertinggi dalam plasma), C_{max} (konsentrasi tertinggi dalam plasma), AUC (*Area Under Curve*, yaitu area di bawah kurva kadar obat-plasma), kecepatan absorpsi (k_a), tingkat eliminasi konstan (k), jumlah obat yang terekskresi dan sebagainya. Secara dinamis terdapat hubungan antara pelepasan obat dan disolusi, obat yang beredar dalam sirkulasi, ekskresi dan metabolisme serta efek klinis

dengan obat yang terdapat dalam jaringan (Shargel dan Yu, 1993).

Aturan dosis obat yang dipakai untuk hewan di Indonesia selama ini didasarkan pada data farmakokinetik yang diperoleh dari negara barat, padahal profil farmakokinetik suatu obat hewan di Indonesia belum tentu sama dengan hewan di negara barat karena banyak faktor yang berbeda sehingga aturan dosis tersebut bisa tidak tepat. Profil farmakokinetik senyawa obat pada setiap individu dipengaruhi oleh banyak faktor seperti umur, jenis kelamin, berat badan, genetik, kondisi patologis, lingkungan dan sebagainya. Oksitetrasiklin merupakan salah satu obat yang sering digunakan di Indonesia maka perlu diteliti profil farmakokinetiknya. Pada ternak digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pencernaan disebabkan oleh *E.coli* dan *salmonella*, *footrot*, *anaplasmosis*, *theileriosis* dan *ehrlichiosis* (Brander *et al.*, 1991). Parameter farmakokinetik oksitetrasiklin sangat penting dalam manajemen terapi suatu penyakit oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ini. Dalam penelitian ini profil farmakokinetik oksitetrasiklin ditentukan secara kromatografi cair kinerja tinggi.

MATERI DAN METODE

Hewan yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley jantan umur 3 bulan, berat berkisar 250-300 gram (dari LPPT UGM), bahan yang diteliti adalah *oxytetracycline hydrochloride* (05975-10G, HPLC grade, Sigma, USA). Bahan-bahan untuk analisis adalah *trichloroacetic acid* (TCA) (pro analisis, Merck, Jerman), asetonitril (HPLC grade, Merck, Jerman), metanol (pro analisis, Merck, Jerman) aquabides (Ikapharmindo P.Pharm., Lab. Jakarta).

Alat yang digunakan adalah seperangkat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Shimadzu versi 6,1 dengan LC-10Advp, Detector UV SPD-10A, *controller system* SCL-10Avp, oven CTO-10Avp, *degasser* DGU-14 dan kolom Shim-pack VP ODS 150 x 4,6 mm, *ultrasonic bath*, *injector*, pipet mikro, tip, *glass beaker*,

timbangan Sartorius, sentrifus, dan filter. Metode penelitian yang digunakan merupakan modifikasi dari penelitian Alsarra *et al.* (2005). Metode analisis meliputi beberapa tahapan yaitu :

1. Pembuatan larutan standar oksitetrasiklin

Larutan standar dibuat dengan mengencerkan oksitetrasiklin sebanyak 100 mg dengan 100 mL aquabides (konsentrasi 1 mg/mL).

2. Pengambilan sampel darah

Darah diambil dari vena ekor tikus sebanyak kurang lebih 0,5 mL dan ditampung dalam tabung yang berisi heparin, kemudian disentrifus 3.000 rpm selama 10 menit, dan disimpan di dalam *freezer* sebelum proses analisis.

3. Pembuatan kurva standar

Kurva standar dibuat dari larutan standar oksitetrasiklin dan *spiking blank plasma* dengan cara pengenceran untuk memperoleh konsentrasi 1 mg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL, 1 µg/mL, 0,5 µg/mL dan 0,1 µg/mL. Setiap konsentrasi disuntikkan sebanyak 20 µL ke HPLC (dengan perulangan 3 kali) dan didapatkan sejumlah *peak area*.

4. Perlakuan hewan untuk analisis farmakokinetik

Enam ekor tikus disuntik oksitetrasiklin secara intravena (via vena ekor) dengan dosis 20 mg/kg BB. Darah ditampung ke dalam tabung berisi heparin sebanyak 6–7 tetes (0,5 mL) pada menit ke 0 (sesaat setelah penyuntikan), menit ke 5, 10, 20, 30 dan 60,

disentrifus 3.000 rpm selama 20 menit, dan plasma disimpan di dalam *freezer* sebelum proses analisis.

Sebanyak 100 µL plasma ditambah 200 µL fase gerak dan 100 µL TCA dicampur dan disentrifus 5.000 rpm selama 20 menit dan supernatan disuntikkan ke HPLC.

Pada penelitian ini digunakan seperangkat alat HPLC Shimadzu versi 6,1 dengan kolom Shim-pack VP-ODS, ukuran partikel 4,60±0,30 mm dan dimensi 150 x 4,6 mm, fase gerak acetronitril:aquabides=30:70, detektor pada UV 346 nm, kecepatan alir 1 mL/menit dan suhu 30°C.

5. Analisis hasil

Puncak (*peak*) kromatogram dari sampel plasma tikus yang memiliki waktu retensi identik dengan waktu retensi obat standar dan *spiking* obat dalam plasma merupakan konsentrasi/kadar obat dari sampel. Konsentrasi yang didapat dari tiap-tiap interval waktu setelah penyuntikan merupakan data yang akan dihitung untuk mengetahui parameter-parameter farmakokinetik oksitetrasiklin dalam plasma tikus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva baku standar oksitetrasiklin dibuat dengan menggunakan delapan kadar yang masing-masing diinjeksikan ke HPLC sehingga diperoleh tinggi puncak (*peak*) kromatogram. Konsentrasi dihitung berdasarkan area dari puncak tertinggi. Selanjutnya dilakukan analisis regresi dan didapatkan

Tabel 1. Konsentrasi oksitetrasiklin dalam plasma tikus yang diberikan intravena dengan dosis 20 mg/kg BB (µg/mL)

Menit ke-	Tikus no:						X + SD
	1	2	3	4	5	6	
0	136,10	140,20	134,20	133,90	139,80	137,00	136,05±2,70
5	45,90	42,50	50,30	48,30	47,70	49,80	47,56±2,54
10	44,20	40,80	46,80	45,60	47,00	45,50	45,14±2,28
20	38,40	43,70	39,30	41,20	43,00	37,10	40,45±2,60
30	31,60	36,00	33,10	35,20	31,20	32,80	33,32±1,40
60	30,30	40,50	30,10	29,80	29,30	32,10	32,00±4,26

persamaan garis regresi linier sebagai kurva baku obat $Y = 705526,2x + 28141,9$ dengan $r = 0,996$. Sementara dari *spiking* tiga konsentrasi oksitetrasiklin ke dalam plasma didapatkan persamaan garis regresi linier sebagai kurva baku obat dalam plasma, $Y = 159847,5x + 14512,7$ dengan $r = 0,997$.

Gambaran kromatogram menunjukkan puncak oksitetrasiklin dengan waktu retensi 2,3 hingga 2,4 tanpa adanya *overlaps* puncak-puncak lain. Puncak oksitetrasiklin pada standar dan sampel tampak serupa dengan waktu retensi yang identik.

Kadar oksitetrasiklin dalam plasma sampel pada interval waktu yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Terlihat pada tabel rata-rata kadar puncak oksitetrasiklin dalam plasma (C_{max}) dicapai pada saat $t = 0$ (sesaat setelah obat diberikan) sebesar $136,95 \pm 2,70 \mu\text{g/mL}$. Pada $t = 5$ kadar oksitetrasiklin turun tajam menjadi $47,56 \pm 2,54 \mu\text{g/mL}$. Selanjutnya kadar akan terus menurun sampai pada $t = 60$ yaitu sebesar $32,00 \pm 4,26 \mu\text{g/mL}$. Profil farmakokinetik oksitetrasiklin selanjutnya dihitung dengan rumus-rumus farmakokinetik satu kompartemen menurut Rowland dan Tozer, 1989), seperti terlihat pada Tabel 2.

Analisis HPLC terhadap oksitetrasiklin dalam darah menunjukkan tingkat linearitas yang tinggi (koefisien korelasi = 0,997). Hal ini menunjukkan bahwa metode pengukuran konsentrasi obat dengan HPLC memiliki tingkat ketepatan yang cukup baik.

Pemberian obat secara intravena dilakukan dengan tujuan untuk mencapai kadar

terapi obat dalam darah secara cepat. Pada penelitian ini konsentrasi tertinggi obat dicapai sesaat setelah pemberian obat. C_{max} terjadi pada saat T_{max} yaitu pada menit ke-0 (sesaat setelah obat diberikan) sebesar $136,95 \mu\text{g/mL}$. Penelitian kadar oksitetrasiklin dalam darah dengan dosis yang sama pada domba secara intramuskuler menunjukkan nilai $5,13 \mu\text{g/mL}$ (Baydan *et al.*, 1999). Nilai $T_{1/2}$ dan AUC pada penelitian ini adalah 1,66 jam dan 333,30 mg/jam/L dan nilai-nilai ini lebih tinggi dibandingkan pada domba (1,14 jam dan 106,24 mg/jam/L) seperti yang dilakukan oleh Baydan *et al.* (1999). Sementara itu menurut penelitian Verma dan Paul (1983) pada sapi nilai $T_{1/2}$ setelah pemberian intra vena (dosis 22 mg/kg BB) adalah 2,82 jam.

Pada pemberian intravena obat tidak mengalami fase absorpsi yang berarti, sehingga waktu paruh lebih pendek dibandingkan rute pemberian yang lain. Dari fase eliminasi dapat ditentukan parameter-parameter pokok seperti *clearance* (Cl) dan volume distribusi (Vd). Pemberian obat secara intravena umumnya akan memperlihatkan fase absorpsi yang sangat singkat dan tidak terdeteksi serta fase eliminasi yang panjang. Profil konsentrasi obat memiliki nilai *clearance* obat 0,06 L/jam dan menunjukkan tingkat eliminasi oksitetrasiklin pada tikus yang panjang serta masa tinggal obat yang cukup lama dalam darah. *Clearance* total pada sapi dilaporkan 0,01 L/jam pada pemberian dosis 22 mg/kg BB (Verma dan Paul, 1983) sementara domba adalah 0,03 L/jam pada pemberian dosis 10 mg/kg BB

Tabel 2. Profil farmakokinetik oksitetrasiklin dalam plasma tikus (berdasarkan rumus-rumus farmakokinetik satu kompartemen menurut Rowland dan Tozer, 1989)

Parameter	Nilai
Volume distribusi (Vd)	0,146 L (146 mL)
Konsentrasi maksimal dalam plasma (C_{max})	136,95 $\mu\text{g/mL}$
T_{max} (waktu untuk mencapai C_{max})	menit ke 0 (sesaat setelah penyuntikan)
Waktu paruh ($T_{1/2}$)	1,66 jam
Konstanta laju eliminasi (k)	0,417/jam
<i>Clearance</i>	0,06 L/jam
<i>Area Under Curve</i> (AUC)	333,30 mg/jam/L

(Bukhari *et al.*, 2000).

Pengukuran nilai parameter farmakokinetik oksitetrasiklin dalam darah tikus menggunakan metode HPLC terbukti cukup sensitif dan akurat. Profil farmakokinetik oksitetrasiklin dalam plasma tikus yang diperoleh adalah konsentrasi tertinggi dicapai pada menit ke-0 dan terus turun hingga menit ke-60. Nilai-nilai farmakokinetik yang diperoleh adalah $C_{max} = 6,95 \mu\text{g/mL}$, $V_d = 0,15 \text{ L}$, $T_{1/2} = 1,66 \text{ jam}$, $k = 0,42/\text{jam}$, $clearance = 0,06 \text{ L/jam}$ dan $AUC = 333,30 \text{ mg /jam/L}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsarra, I.A., Niazy, E.M., Al-Sayed, Y.M., Al-Khamnis and Ibrahim, M.E. 2005. High performance liquid chromatographic for determination of doxycycline in human plasma and its application in pharmacokinetics studies. *Saudi Pharm. J.*, Vol 13(1): 23–27.
- Baydan, E., Yarsan, E., Kaya, S., Akkaya, R. and Aksoy A., 1999. Comparison of the pharmacokinetics of conventional and long acting formulations of oxytetracycline in Sheep. *Turk J. Anim. Sci.* 173–177.
- Brander, G.C., Pugh, R.J., Bywater, W.L., 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*, 5th ed. Bailliere Tindall ELBS. 467–472.
- Bukhari, N.I., Ahmad, M., Yar, M., and Khawaja M.N.A., 2000. Pharmacokinetics of oxytetracycline in sheep after various intravenous doses. *Turk J. Anim. Sci.* 135–138.
- Plumb, D.C., 1999, *Veterinary Drug Handbook*, 3rd ed. 122–123, Iowa State University Press/Ames. pp. 597–572.
- Rowland, M and Tozer, T.N., 1989. *Clinical Pharmacokinetics. Concepts and Applications*. 2nd ed. Lea and Febiger. Philadelphia. pp. 23–27.
- Shargel, L. and Yu, A.B.C., 1993. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics*, 3rd ed. Appleton and Lange. Connecticut. pp. 54–58.
- Verma, K. dan Paul, B.S. 1983. Pharmacokinetics and plasma protein binding (*in vitro*) of oxytetracycline in buffalo (*Babalus bubalis*). *Am. J. Vet. Res.* 44(3): 497–499.
- Brander, G.C., Pugh, R.J., Bywater, W.L., 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and*