

PERBANDINGAN PROFIL FARMAKOKINETIK DOKSISIKLIN APLIKASI INTRAVENA DAN INTRAMUSKULER PADA ULAR SANCA (PHYTON RETICULATUS)

THE PHARMACOKINETIC PROFILES OF INTRAVENOUS AND INTRAMUSCULAR APPLICATION OF DOXYCYCLINE IN PHYTON RETICULATUS

Agustina Dwi Wijayanti¹, Slamet Rahardjo², Gagak Donny Satria¹

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

²Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email: tinabdy@ugm.ac.id.

ABSTRACT

A study of pharmacokinetic of doxycycline in *Phyton reticulatus* was conducted to reveal the drug profiles. This profiles were also measured to evaluate the effectiveness of the drug by comparing the drug concentration in plasma from MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) of some important infectious agents. Six adult snakes were used and divided in two groups. Snakes in group-1 were given doxycycline through dorsal palatine vein and those in group-2 were treated with the drug by one third of anterior musculus intramuscularly. Blood was collected by intracardia puncture at 30 minute, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, and 120 hour after injection. The dose of drug was 25/mg/bw. Plasma was collected by centrifugation and extracted with trichloroacetid acid solution. Plasma analysis and drug concentration measurement were conducted by means of *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, using the mobile phase of oxalate acid solution: methanol: acetonitrile (6:3:1) and C18 column. The pharmacokinetic parameters results were found to be AUC 7135,155 ug/mL.minute, *Clearence* 3,5 mL/min/bw, Cmax 95,465 ug/mL, Tmax 30 minutes, T1/2 44,42 hours dan Vd 13477,1 mL/bw for intravenous route and for intramuscular route AUC 1185,56µg/mL.min., *Clearence* 3,49mL/min/bw, Tmax 24 hours, Cmax 0,191ug, T1/220,6 hours, Vd 62500 mL/bw. The drug concentration up to 120 hours (5 days) were still above the MIC of some infectious agents in reptile. More research needed for the MICs of infectious agent to find out the effectiveness of doxycycline in *Phyton reticulatus*

Key words: pharmacokinetic profiles, doxycycline, phyton snake

ABSTRAK

Penelitian farmakokinetik doksisisiklin pada ular sanca (*Phyton reticulatus*) ini dilakukan untuk mengetahui profil farmakokinetik obat pemberian intravena dan intramuskuler serta untuk mengetahui tingkat efektivitasnya melalui perbandingan kadar dengan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) beberapa agen infeksi yang penting. Hewan yang digunakan adalah 6 ekor ular sanca dewasa yang dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan. Kelompok 1 diberi doksisisiklin dosis 25 mg/kg bb lewat vena palatina dorsalis dan kelompok 2 melalui muskulus bagian sepertiga anterior. Darah diambil secara intrakardia pada menit ke 30, jam ke-1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 dan 120 setelah pemberian obat. Plasma dikoleksi secara sentrifugasi dan diekstraksi menggunakan asam trikloroasetat. Selanjutnya plasma dianalisis dan dilakukan pengukuran kadar obat secara HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), menggunakan fase gerak larutan asam oxalat : metanol: asetonitril (6:3:1) dan kolom C18. Parameter farmakokinetik yang dihasilkan untuk intravena adalah AUC 7135,155 ug/mL.menit, *Clearence* 3,5 mL/menit/kg, Cmax 95,465 ug/mL, Tmax 30 menit, T1/2 44,42 jam dan Vd 13477,1 mL/kg bb dan untuk intramuskuler AUC 1185,56µg/mL.menit, *Clearence* 3,49mL/menit/kg, Tmax 24 jam, Cmax 0,191 ug, T1/220,6 jam, Vd 62500 mL/kg bb. Kadar rata-rata obat hingga jam ke 120 (5 hari) masih di atas *minimum inhibitory concentration (MIC)* beberapa agen infeksi yang penting pada reptilia. Untuk selanjutnya, diperlukan penelitian untuk mengetahui MIC agen-agen infeksi pada ular sanca untuk dapat secara tepat mengetahui efikasi doksisisiklin.

Kata kunci: profil farmakokinetik, doksisisiklin, ular sanca

PENDAHULUAN

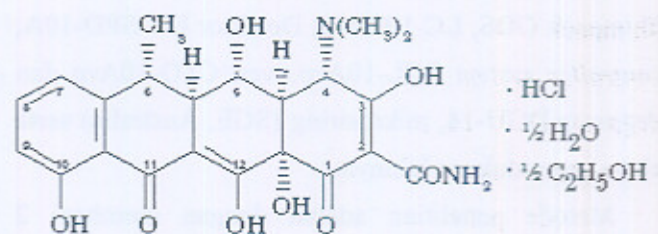
Ular merupakan hewan dengan metabolisme yang unik karena bersuhu eksoterm. Tingkat metabolisme akan berpengaruh terhadap biotransformasi obat dan senyawa dalam tubuh. Menurut Klingenberg (1996) studi terapi pada reptil tidak terlepas dari sifat-sifatnya sebagai hewan ektoterm, dan diperlukan teknik terapi yang sesuai dengan kondisi fisiologisnya. Farmakokinetik doksisisiklin pada mamalia telah memberikan nilai-nilai yang dapat dipergunakan untuk menentukan manajemen terapi pada mamalia, tetapi nilai-nilai tersebut belum bisa diterapkan pada manajemen terapi pada ular atau reptilia lainnya karena belum ada data-data yang mendukung.

Infeksi oleh mikrobial yang terjadi pada reptil menyebabkan angka kesakitan dan kematian yang cukup tinggi. Bakteri merupakan penyebab infeksi primer dan sekunder dan jumlah kejadiannya tiap tahun terus bertambah. Menurut Cooper 1981, bakteri gram positif lebih sering menyebabkan kejadian penyakit dan diidentifikasi dari hewan yang sakit maupun sehat. Beberapa bakteri yang sering diisolasi dari reptil diantaranya *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophyla*, *Providentia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Salmonella arizonae* dan *Klebsiella oxytoca* dan bakteri-bakteri ini bisa menjadi invasif karena infeksi primer oleh penyakit virus (Jacobson and Gaskin, 1992).

Beberapa studi farmakokinetik senyawa antimikrobia pada reptil pernah dilaporkan seperti karbenisilin pada ular phyton, *yellow rat snake*, *king snake*, *black snake*. Dengan dosis 400 mg/kg bb intramuskuler didapatkan konsentrasi tertinggi dalam plasma sebesar 177-270 ug/mL pada satu jam setelah pemberian (Lawrence dkk., 1984). Studi ini belum memberikan keterangan tentang interval pemberian obat. Mader dkk., (1985) meneliti amikasin yang

diberikan pada ular gopher 5 mg/kg bb (*loading dose*) dan diikuti 2,5 mg/kg bb setiap 72 jam. Penelitian farmakokinetik doksisisiklin pada ular sanca yang hidup di Indonesia hingga saat ini belum pernah dilaporkan.

Doksisisiklin merupakan bentuk turunan dari oksitetrasiklin dan memiliki waktu paruh lebih panjang dan ekskresi lebih lama. Aktivitasnya secara *in vitro* dua kali lebih besar dibandingkan tetrasiklin (Brander dkk., 1991).



Gambar 1. Struktur kimia doksisisiklin

Doksisisiklin baik digunakan untuk pengobatan penyakit karena riketsia, klamidia, mikoplasma dan spirocheta (Plumb, 1999). Menurut Helmick dkk., (1997) doksisisiklin dapat diberikan pada jenis penyu *Testudo Hermanni* dengan dosis awal 50 mg/kg bb, selanjutnya diulang setiap tiga hari dengan dosis 25 mg/kg bb untuk mengobati infeksi *Staphylococcus* dan *Klebsiella*. Penelitian pada jenis reptilia yang lain belum pernah dilaporkan.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian meliputi bahan dan alat-alat yang digunakan dalam penelitian. Bahan penelitian terdiri dari 6 ekor ular sanca dengan berat antara 3-7 kg dan panjang rata-rata 2 meter, berasal dari daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur, kandang dan peralatan *handling*, heparin, doksisisiklin *hyclate* (D-9891, *HPLC grade*, Sigma-Aldrich, USA), metanol dan asetonitril (*HPLC grade*, Merck, Jerman), asam oxalat dan asam

trikloroasetat (pro analisis, Merck, Jerman), aquabides (Ikapharmindo Putramas, Jakarta), aquades, alkohol 70% (Aldrich Lab. Yogyakarta) serta bahan pendukung yang lain.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi spuit dan tabung penyimpan sampel (Eppendorf), labu takar, gelas ukur, gelas Baker, sentrifus (Hettich, Jerman), vortex mixer (Barnstead), ultrasonic bath (Sibata), timbangan (Sartorius), mikropipet (Socorex, Acura 825, Swiss), pH meter (Hanna), dan seperangkat HPLC Shimadzu versi 6,1 dengan kolom C18 Shimpack ODS, LC-10Advp, Detektor UV SPD-10A, controller system SCL-10Avp, oven CTO-10Avp dan degasser DGU-14, mikrosiring (SGE, Australia) serta alat-alat pendukung lainnya.

Metode penelitian adalah dengan membagi 2 kelompok ular (n=3) menjadi 2 perlakuan. Pada kelompok 1 hewan disuntik obat intravena melalui vena palatina dorsalis dan kelompok 2 disuntik intramuskuler pada muskulus sepertiga bagian anterior, masing-masing dengan dosis 25 mg/kg bb. Selanjutnya darah diambil secara intrakardial pada menit ke 30, jam ke-1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 dan 120 setelah pemberian obat. Darah ditampung dalam tabung berisi heparin. Plasma dikoleksi dengan sentrifugasi 2500 g, ditampung dan disimpan dalam freezer sebelum dilakukan analisis. Ekstraksi plasma dilakukan dengan mencampur 100 uL plasma dengan 100 uL asam trikloroasetat 10% dan 200 uL fase gerak. Campuran selanjutnya divortex selama 20 detik dan disentrifus 2500 g selama 15 menit. Supernatan diambil dan siap diinjeksikan ke HPLC. Analisis kadar dilakukan menggunakan HPLC dengan pengaturan kecepatan alir 1 mL/menit, pembacaan spektrum pada UV 350 nm, suhu oven 30° Celcius, dengan komposisi fase gerak larutan asam oxalat : asetonitril : metanol (6:3:1), waktu pembacaan 5 menit, dan penyuntikkan sampel sebanyak 20 mL.

Parameter farmakokinetik (*Area Under Curve/AUC*, *Clearance/Cl*, *Tmax*, *Cmax*, *T1/2*

eliminasi, dan *Vd/Volume of distribution*) dilakukan secara non kompartemental. *AUC* dihitung menggunakan metode trapezoidal linier. *Clearance* dihitung menggunakan rumus $\frac{F \cdot \text{dose}}{AUC}$ dengan *F* adalah ketersediaan obat, nilai *Cmax* dan *Tmax* diperoleh dari grafik kadar, *T1/2* eliminasi dihitung dengan rumus $\frac{0.693}{k}$, dimana *k* adalah slope atau kemiringan pada fase terminal grafik kadar yaitu nilai $\log \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$ dan *Vd* dihitung dengan rumus. Untuk menghitung nilai *F* intramuskuler digunakan perbandingan *AUC* intramuskuler dengan *AUC* intravena. Nilai *F* intravena adalah 1 (Shargel and Yu, 1993).

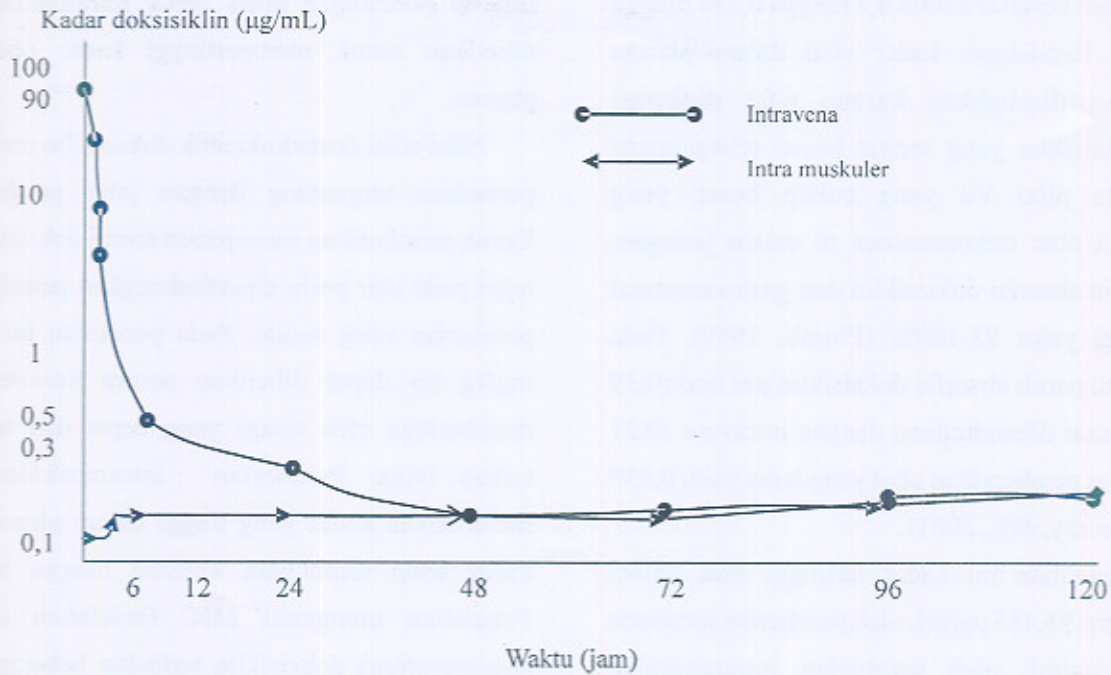
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar obat dalam plasma ular dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar doksisisiklin (µg/mL) dalam plasma ular menggunakan HPLC (rerata±SD)

Waktu	Cara pemberian	
	Intravena	Intramuskuler
30 menit	95,465±7,07	0,157±0,09
1 jam	61,12±9,5	0,139±0,05
2 jam	9,85±0,80	0,151±0,06
4 jam	3,16±0,042	0,161±0,03
8 jam	0,53±0,32	0,153±0,08
24 jam	0,29±0,24	0,191±0,07
48 jam	0,189±0,023	0,188±0,08
72 jam	0,159±0,06	0,187±0,03
96 jam	0,188±0,03	0,107±0,02
120 jam	0,172±0,003	0,129±0,02

Hasil pengukuran kadar doksisisiklin dalam plasma menunjukkan bahwa obat dengan cepat mencapai kadar maksimal dalam plasma segera setelah pemberian intravena (30 menit setelah injeksi obat) dan terus turun hingga waktu ke 120 jam. Kurva semilogaritma kadar obat dalam plasma terhadap waktu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva semilogaritma kadar doksisisiklin dalam plasma ular terhadap waktu

Pada grafik semilogaritma kadar obat terhadap waktu terlihat bahwa pemberian intravena memberikan kadar obat tertinggi hingga 24 jam setelah pemberian yaitu $0,29 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$. Pemberian intra muskuler memberikan kadar tertinggi pada jam ke 24 sebesar $0,191 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$, dan kadar terus terpelihara tetap di atas $0,1 \mu\text{g/mL}$ hingga jam ke 120 (hari ke-5). Hasil ini menunjukkan sebelum mencapai 48 jam kadar obat secara intravena jauh lebih tinggi dibandingkan dengan intramuskuler namun setelah 48 jam kadar obat dari kedua pemberian hampir sama yaitu berkisar antara $0,129-0,189$ hingga jam ke-120. Kemiringan terminal obat terlihat landai pada kedua pemberian dan menunjukkan bahwa kadar obat masih terpelihara konstan. Keadaan ini menyebabkan waktu paruh eliminasi obat sangat panjang, yaitu 44,42 untuk pemberian intravena, serta 20,6 untuk pemberian intramuskuler.

Nilai-nilai farmakokinetik doksisisiklin tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter farmakokinetik doksisisiklin dalam plasma ular setelah pemberian dosis tunggal 25 mg/kg bb. secara intravena dan intramuskuler

Parameter	satuan	jalur pemberian	
		Intravena	Intramuskuler
AUC	$\mu\text{g/mL}\cdot\text{menit}$	7135,155	1186,56
Clearance	$\text{mL}/\text{menit}/\text{kgbb}$	3,5	3,49
Tmax	menit atau jam	3,0	menit 24 jam
Cmax	μg	95,465	0,191
T1/2 eliminasi	menit atau	2665,4	1237,5
	jam	44,42	206
Volume distribusi	mL/kgbb	13477,1	62500

Nilai-nilai parameter doksisisiklin dengan jalur pemberian yang berbeda memberikan perbedaan kadar terutama pada awal pemberian hingga jam ke 24 setelah pemberian. Nilai clearance hampir sama untuk kedua jalur pemberian yaitu antara 3,5 hingga 3,49 $\text{mL}/\text{menit}/\text{kg bb}$. Hal ini disebabkan karena setelah 24

jam kadar obat berkisar antara 0,1 hingga 0,287 hingga hari ke-5. Rendahnya kadar obat dalam plasma kemungkinan disebabkan karena sifat penetrasi jaringan doksisisiklin yang sangat besar, sebagaimana terlihat pada nilai Vd yang cukup besar, yang menunjukkan obat terkonsentrasi di dalam jaringan. Pada mamalia absorpsi doksisisiklin dari gastrointestinal sangat tinggi yaitu 93-100% (Plumb, 1999). Pada broiler, waktu paruh absorpsi doksisisiklin per oral (0,39 jam) lebih besar dibandingkan dengan intravena (0,21 jam), dan nilai pembersihan obat yang lama yaitu 0,139 L/jam.kg (Laczay, dkk., 2001).

Pada penelitian ini kadar tertinggi obat dalam plasma sebesar 95,465 µg/mL oleh pemberian intravena dan 0,191 µg/mL oleh pemberian intramuskuler. Dengan demikian pemberian doksisisiklin intravena mengakibatkan kadar obat dalam plasma yang lebih tinggi dibandingkan pemberian intramuskuler hingga 5 hari setelah pemberian obat.

Kadar obat oleh pemberian intravena cukup tinggi hingga 24 jam yaitu diatas 0,2 µg/mL dan melampaui *minimum inhibitory concentration* (MIC) untuk *Mycoplasma gallisepticum* (Ismail & Kattan, 2004), *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus* (Bryant, dkk., 2000), *Streptococcus zooepidemicus* (Aronson, 1980) dan *Chlamydia psitacci* (Bryant, dkk., 2000). Kadar obat diatas 3 µg/mL dicapai pada 4 jam dan melampaui MIC untuk beberapa bakteri seperti *E. Coli*, *Mycoplasma pneumoniae* serta *Staphylococcus spp.* dan *Streptococcus spp.* pada penyu (Sporle, 1991).

Pemberian secara intramuskuler memberikan kadar kurang dari 0,2 µg/mL dan menunjukkan obat tidak efektif terhadap bakteri-bakteri dalam plasma yang memiliki MIC lebih dari 0,2 µg/mL. Menurut penelitian Sporle (1991) doksisisiklin diberikan intramuskuler dalam dosis permulaan 50 mg/kg dan dosis pemeliharaan 25 mg/kg setiap 3 hari sekali untuk infeksi *Staphylococcus* dan *Klebsiella* pada penyu. Berdasarkan hasil penelitian ini, pemberian dosis inisial

disertai perulangan dosis untuk intramuskuler perlu diberikan untuk mempertinggi kadar obat dalam plasma.

Nilai-nilai farmakokinetik doksisisiklin memberikan perbedaan tergantung dengan jalur pemberiannya. Untuk memberikan manajemen terapi doksisisiklin yang tepat pada ular perlu dipertimbangkan pemilihan jalur pemberian yang sesuai. Pada penelitian ini dosis 25 mg/kg bb dapat diberikan secara intravena untuk memberikan efek terapi yang cepat dan terpelihara cukup lama. Pemberian intramuskuler kurang memberikan kadar yang tinggi dalam plasma namun kadar tetap terpelihara konstan hingga hari ke-5. Penelitian mengenai MIC (*minimum inhibitory concentration*) doksisisiklin terhadap beberapa bakteri dan mikroorganisme lain perlu dilakukan untuk dapat menetapkan kadar efektif obat dalam plasma ular.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih khususnya kami sampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah mendanai penelitian ini melalui Proyek PHK A2 tahun 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Aronson, A.L. 1980. Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. *J Am Vet Med Assoc.* 176.:1061-1068.
- Brander, G.C., Pugh, R.J., Bywater, W.L. 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics.* 5th ed. Bailliere Tindall ELBS.
- Bryant, J.E., Brown, M.P, Gronwall, R.R., Merrit, K.A. 2000. Study of Intra gastric administration of doxycycline : pharmacokinetic including body fluid, endometrial and minimum inhibitory concentrations. *Equine Vet J.* 32.: 233-238.
- Cooper, J.E. 1981. Bacteria. In Cooper JE, Jackson OF (eds). *Disease of the Reptilia.* London. Academic Press. 1: 165-191.

- Helmick, K.E., Papich, M.G., Vliet, K.A. 1997. Preliminary kinetics of single dose intravenously administered enrofloxacin and oxytetracycline in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Ann Proc Amer Assoc Zoo Vet*, October 26-30. Houston. Pp 27-28.
- Ismail, M.M. , El-Kattan, Y.A. 2004. Disposition kinetics of doxycycline in chickens naturally infected with *Mycoplasma gallisepticum*. *British Poultry Science*. Volume 45.No. 4:5. 550-556.
- Jacobson, E.R., Gaskin, J.M. 1992. Paramyxovirus infection of viperid snakes. In *Biology of Pit Vipers*. Selva. Tyler.Texas. 415-419.
- Klingenberg, R.J. *Therapeutics in Reptile Medicine and Surgery*. 1996. Ed by Mader DR. WB Saunders Co. New York.
- Laczay, P., Semjen, G., Lehel, J. 2001. Pharmacokinetic and bioavailability of doxycycline in fasted and non fasted broiler chicken. *Acta veterinaria Hungarica*. Vol 49,No.1. 31-37.
- Lawrence K., Needham, J.R., Palmer, G.H. 1984. A preliminary study on the use of carbenicillin in snakes. *J. Vet Pharmacol Ther* 7:119-124
- Mader, D.R., Conzelman, G.H, Baggot, J.G. 1985. Affect of ambient temperature on the half-live and dosage regimen of Amikacin in the gopher snake: *J Am. Vet Med Assoc* 187 :1134-1136
- Plumb, D.C. 1999, *Veterinary Drug Handbook*, 3rd ed, Iowa State University Press/Ames.:122-123
- Shargel, L., Yu, A.B.C. 1993. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics*. 3th. Appleton and Lange. Connecticut.:198-200.
- Sporle, H., Gobel, T., Schildger, B. 1991. *Blood levels of some anti-infectives in the Hermann's tortoise (Testudo hermanni)*. In 4th International Colloquium on Pathology and Medicine of Reptiles and Amphibians.Abstract.