

PENUNTUN PRAKTIKUM BIOFARMASETIKA

Nama Mahasiswa :
NIM :
Kelas :
Dosen : Kori Yati, M. Farm., Apt.
Septiana Tri Pamungkas, S. Farm., Apt
Anisa Amalia, M. Farm
Yudi Srifiana, M. Farm., Apt

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2017

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi	i
Praktikum 1 Pengaruh Formulasi terhadap Laju Disolusi	1
Praktikum 2 Penentuan Parameter Farmakokinetik Menggunakan Data Konsentrasi Obat Dalam Darah (Simulasi)	6
Praktikum 3 Penentuan Parameter Farmakokinetik Obat Melalui Rute Pemberian Intra Vena (Model In Vitro)	10
Praktikum 4 Penentuan Parameter Farmakokinetika Obat Melalui Rute Pemberian Infus (Model In Vivo)	14
Praktikum 5 Bioavailabilitas dan Bioekuivalensi	17
Praktikum 6 Penentuan Koefisien Partisi	22
Praktikum 6 Penetapan Parameter Farmakokinetika Obat Melalui Uji Difusi	26



PRAKTIKUM 1

PENGARUH FORMULASI TERHADAP LAJU DISOLUSI

A. Tujuan :

Setelah mengikuti percobaan ini mahasiswa diharapkan :

- Memahami profil disolusi obat dalam berbagai kondisi pH
- Memahami pengaruh formulasi terhadap laju disolusi

B. Pendahuluan :

Obat dapat diberikan dengan berbagai cara dan melalui beberapa rute yang bertujuan untuk menghasilkan efek terapi baik secara lokal maupun sistemik. Untuk mencapai sirkulasi sistemik obat dalam bentuk padat yang diberikan peroral akan mengalami beberapa proses yaitu, desintegrasi, disolusi dan absorpsi melalui membran sel saluran pencernaan. Disolusi merupakan tahap penentu dalam proses tersebut, terutama untuk zat aktif yang memiliki tingkat kelarutan kurang baik dalam air. Obat akan mencapai sirkulasi sistemik dimulai dengan tahapan paling lambat.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi disolusi antara lain sifat fisikokimia obat, faktor formulasi, anatomi fisiologi saluran cerna dan lain-lain.

C. Alat dan Bahan

Bahan :

Tablet parasetamol (generik dan merk dagang) dan larutan dapar fosfat pH 5,8.

Alat :

Dissolution tester, spektrofotometer UV-VIS, pipet ukur dan peralatan gelas.

D. Pelaksanaan percobaan :

1. Setiap kelompok menggunakan satu sampel uji dengan medium disolusi yang telah ditetapkan.
2. Penentuan panjang gelombang larutan parasetamol; buat larutan standar konsentrasi 10 µg/ml dan ukur serapannya pada panjang gelombang 220-350 nm.
3. Pembuatan kurva kalibrasi; buat larutan standar parasetamol dengan beberapa konsentrasi yaitu, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 µg/ml dan ukur serapannya pada panjang gelombang maksimum (hasil pengukuran pada no. 2)



4. Penentuan profil disolusi; wadah disolusi (chamber) diisi dengan air dan atur suhu pada 37°C, kemudian chamber diisi dengan medium disolusi sebanyak 900 ml. Tablet parasetamol dimasukkan dalam chamber yang sudah terisi medium disolusi kemudian atur alat disolusi pada kecepatan 50 rpm. Ambillah larutan dalam labu (melalui pipet) sebanyak 5 ml pada menit ke 5, 10, 15, 20 dan 30 dan setiap pengambilan harus digantikan dengan medium lagi sejumlah yang sama. Pipet larutan tersebut sebanyak 1 ml, lalu masukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan cukupkan volume dengan dapar fosfat pH 5,8 ad 100 ml. Masing-masing larutan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis, kemudian tentukan kadar parasetamol yang terdisolusi per satuan waktu menggunakan kurva kalibrasi.

E. Hasil Percobaan

1. Penentuan panjang gelombang maksimum
2. Kurva kalibrasi larutan
3. Profil disolusi parasetamol
4. ED₃₀ Paracetamol

F. Pembahasan

Dari data dan hasil percobaan lakukan analisa dan pembahasan tentang pengaruh faktor formulasi terhadap profil disolusi tablet parasetamol dari dua pabrik yang berbeda, dan tuliskan kesimpulan yang diperoleh dari percobaan ini.



G. Tabel Pengamatan

Waktu (Menit)	Konsentrasi	Absorbansi	% Kadar	Faktor Koreksi	% Terdisolusi
0					
5					
10					
15					
30					
45					
60					



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

H. Perhitungan



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA



PRAKTIKUM II

PENENTUAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA MENGGUNAKAN DATA KONSENTRASI OBAT DALAM DARAH (SIMULASI)

A. Tujuan :

Setelah mengikuti percobaan ini mahasiswa diharapkan mampu untuk :

- Menentukan kadar obat yang terdapat dalam sampel darah sukarelawan.
- Menentukan orde eliminasi obat yang diberikan.
- Menentukan model kompartemen dari obat yang diberikan.

B. Pendahuluan :

Farmakokinetika adalah pengetahuan yang mempelajari keadaan obat dan metabolitnya di dalam tubuh makhluk hidup sebagai fungsi dari waktu setelah proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi.

Penentuan konsentrasi obat dalam darah umumnya dilakukan terhadap plasma atau serum dengan menganggap bahwa kadar obat dalam plasma mempunyai keseimbangan dinamik dengan kadar obat dalam jaringan maka perubahan konsentrasi obat dalam plasma akan dapat menggambarkan perubahan kadar obat dalam jaringan.

Melalui data konsentrasi obat dalam plasma sebagai fungsi dari waktu akan diperoleh gambaran menyeluruh tentang kinetika obat di dalam tubuh setelah pemberian obat melalui rute tertentu. Dari kurva hubungan antara konsentrasi terhadap waktu akan dapat diketahui model farmakokinetika yang diikuti oleh obat tersebut serta dapat dihitung parameter farmakokinetikanya.

Obat yang masuk ke dalam tubuh dapat mengikuti beberapa model farmakokinetika. Model yang paling banyak digunakan adalah model kompartemen, yang terdiri dari model kompartemen satu terbuka dan model multi-kompartemen.

Parameter konsentrasi puncak (C_{maks}) merupakan parameter yang menyatakan konsentrasi maksimum yang dapat dicapai obat dalam plasma. Parameter ini berhubungan dengan dosis, konstanta kecepatan absorpsi dan konstanta kecepatan eliminasi dari obat. Waktu untuk mencapai konsentrasi puncak (T_{maks}) merupakan parameter yang menggambarkan kecepatan absorpsi obat. Kedua parameter tersebut dapat ditentukan dari kurva. Luas area di bawah kurva dari waktu $t = 0$ sampai $t = \infty$ merupakan parameter yang menggambarkan jumlah obat yang di absorpsi (AUC). Untuk menghitung parameter ini dapat digunakan cara trapezoidal dan persamaan farmakokinetika. Ketiga parameter tersebut biasanya



digunakan untuk menilai apakah suatu sediaan obat mempunyai ketersediaan hayati yang baik. Parameter waktu paroh eliminasi ($t_{1/2}$) dapat digunakan untuk pengaturan regimen dosis suatu obat.

C. Percobaan & Evaluasi

- Dari contoh data yang diberikan, tentukan apakah eliminasi obat mengikuti orde 0 atau orde 1.
- Hitung parameter farmakokinetika dari data yang diberikan meliputi K , $t_{1/2}$, V_d , Cl_t , C_{maks} , t_{maks} dan AUC.
- Buat kurva hubungan antara logaritme konsentrasi obat yang diperoleh terhadap waktu.
- Tentukan model kompartemen dari kurva yang diperoleh (hitung kompartemen tunggal atau multi kompartemen α dan β).

D. Perhitungan



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

E. Hasil dan Pembahasan



PRAKTIKUM III

PENENTUAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA OBAT DENGAN PEMBERIAN SECARA INTRAVENA (MODEL IN VITRO)

A. Tujuan :

Setelah mengikuti percobaan ini mahasiswa diharapkan :

- Memahami proses in vitro dan perkembangan kadar obat dalam darah setelah pemberian obat secara bolus intravena.
- Mampu memplot data kadar obat dalam fungsi waktu pada skala semilogaritmik.
- Mampu menentukan berbagai parameter farmakokinetika obat yang berkaitan dengan pemberian obat secara bolus intravena.

B. Pendahuluan :

Secara garis besar obat dapat diberikan secara intravaskuler (langsung masuk ke dalam pembuluh darah) dan ekstravaskuler (di luar pembuluh darah seperti pemberian secara oral, rektal, injeksi intramuskular, dll). Pemberian secara ekstravaskular, obat akan masuk ke dalam sistem peredaran darah melalui proses absorpsi. Pemberian secara intravaskular dapat dilakukan secara bolus (sekaligus seperti injeksi intravena) atau secara kontinyu dengan suatu kecepatan yang konstan seperti cara infus.

Setelah masuk ke dalam sistem peredaran darah, obat akan mengalami proses distribusi, metabolisme dan ekskresi. Proses “metabolisme” dan “ekskresi” merupakan proses eliminasi. Berbagai proses tersebut akan menyebabkan terjadinya perubahan kadar obat dalam darah dalam fungsi waktu. Melalui pendekatan pemodelan matematis, kinetika obat dalam darah dapat digambarkan dengan suatu model kompartemenal: satu kompartemen dan multi-kompartemen. Kinetika perubahan kadar obat untuk setiap proses yang terjadi mengikuti kinetika orde satu.

Pada pemberian secara bolus intravena, obat seluruhnya akan masuk sekaligus ke dalam sistem peredaran darah sehingga pada waktu pemberian, kadar obat dalam darah adalah yang tertinggi dan kadar obat akan menurun karena terjadi proses distribusi ke dalam jaringan lain dan eliminasi.

Persamaan kinetika obat dalam darah pada pemberian secara bolus intravena dengan suatu dosis D yang mengikuti model satu kompartemen diberikan dengan persamaan berikut :

$$C_p = C_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$



dimana C_{pt} adalah kadar obat dalam waktu t , C_0 adalah kadar obat pada waktu 0, k atau k_e adalah konstanta kecepatan eliminasi obat.

Dengan menentukan kadar obat pada berbagai waktu, harga C_0 dan k dapat dihitung dengan regresi linier setelah persamaan ditransformasikan ke dalam nilai logaritmik :

$$\log C_{pt} = \log C_0 - k/2,303.t$$

Setelah ditentukan nilai C_0 dan k , berbagai parameter farmakokinetik obat yang berkaitan dengan cara pemberian obat secara bolus intravena dapat dihitung, seperti nilai volume distribusi (V_d), klirens (Cl) dan paro waktu ($T_{1/2}$).

C. Percobaan

Percobaan berikut ini merupakan simulasi dari pemberian obat secara bolus intravena dengan mengambil suatu senyawa obat sebagai model (Vitamin C 100 mg/10 ml) . Larutan obat (dianggap sediaan injeksi) dimasukkan sekaligus (bolus) ke dalam suatu wadah (dianggap sebagai kompartemen darah). Cairan dalam wadah kemudian akan dikeluarkan dengan suatu kecepatan konstan (dianggap sebagai proses ekskresi renal). Cairan yang hilang karena ekskresi kemudian diganti dengan air (dianggap sebagai air yang diminum).

1. Isi wadah dengan 250 ml dengan aqua destillata.
2. Buat sejumlah volume larutan obat kadar tertentu; masukkan sekaligus ke dalam wadah.
3. Jalankan segera pompa peristaltik/kran untuk mengeluarkan cairan dari dalam wadah dan pompa peristaltik untuk penggantian air yang hilang dari wadah.
4. Ambil cuplikan sebanyak 5ml pada waktu 5, 10, 15, 30, 45, 60 dan 90 menit setelah rangkaian dijalankan. Setiap kali pengambilan cuplikan tambahkan sejumlah air volume sama dengan volume cuplikan (1 ml/ 100 ml).
5. Tentukan kadar obat dalam cuplikan (secara spektrofotometri).
6. Plot data kadar obat terhadap waktu pada kertas semilogaritmik.
7. Hitung harga C_0 dan k .
8. Hitung harga V_d , Cl dan $T_{1/2}$



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

D. Hasil Perhitungan



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

E. Pembahasan



PRAKTIKUM IV

PENENTUAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA OBAT SETELAH PEMEBERIAN SECARA INFUS (MODEL IN VITRO)

A. Tujuan

Setelah mengikuti percobaan ini mahasiswa diharapkan :

- Memahami proses in vivo dan perkembangan kadar obat dalam darah setelah pemberian obat secara infus.
- Mampu memplot data kadar obat dalam fungsi waktu pada skala semilogaritmik.
- Mampu menentukan berbagai parameter farmakokinetika obat yang berkaitan dengan pemberian obat secara bolus intravena.

B. Pendahuluan

Secara garis besar dapat diberikan secara intravaskular (lansung masuk ke dalam pembuluh darah) dan ekstrasvaskular (di luar pembuluh darah seperti pemberian secara oral, rektal, injeksi intramuskular, dll). Pada pemberian secara ekstrasvaskular, obat akan masuk ke dalam sistem peredaran darah melalui proses absorpsi. Pemberian secara intracaskular dapat dilakukan secara bolus (sekaligus, seperti injeksi intravena) atau secara kontinyu dengan suatu kecepatan yang konstan seperti cara infus.

Setelah masuk ke dalam sistem peredaran darah, obat akan mengalami proses distribusi, metabolisme dan ekskresi. Proses metabolisme dan ekskresi merupakan proses eliminasi. Adanya berbagai proses yang terjadi akan menyebabkan terjadinya perubahan kadar obat dalam darah dalam fungsi waktu. Melalui pendekatan pemodelan matematis, kinetika obat dalam darah dapat digambarkan dengan suatu model kompartemen; satu kompartemen dan multi-kompartemen. Kinetika perubahan kadar obat setiap proses terjadi mengikuti kinetika orde satu.

Pada pemberian secara infus obat akan masuk ke dalam sistem peredaran darah dengan suatu kecepatan yang konstan (orde nol) dan kadar obat dalam darah akan naik secara perlahan sampai mencapai suatu kadar yang konstan (jika infus diberikan cukup lama) atau sampai infus dihentikan. Setelah infus dihentikan kadar obat akan menurun karena obat mengalami eliminasi tanpa ada lagi obat yang masuk.



Persamaan kinetika obat dalam darah pada pemberian secara infus dengan suatu kecepatan k_0 yang mengikuti model satu kompartemen diberikan dengan persamaan berikut :

- waktu antara 0 sampai t (lama pemberian infus) :
- waktu lebih besar dari t

dengan menentukan kadar obat pada berbagai waktu, harga V_d dan k dapat dihitung. Mula-mula dihitung parameter k dari fase eliminasi dengan persamaan (2), kemudian harga V_d dihitung dengan memakai persamaan (1) dengan mengambil data kadar obat pada suatu waktu antara 0 sampai t.

Setelah ditentukan nilai V_d dan k , berbagai parameter farmakokinetik obat yang berkaitan dengan cara pemberian obat secara infus dapat dihitung, seperti nilai klirens (Cl) dan waktu paroh eliminasi ($t_{1/2}$).

C. Percobaan

Percobaan berikut merupakan simulasi dari pemberian obat secara infus dengan mengambil suatu senyawa obat sebagai model. Larutan obat (dianggap sediaan infus) dimasukkan dengan suatu kecepatan konstan ke dalam suatu wadah (dianggap sebagai kompartemen darah). Cairan dalam wadah kemudian akan dikeluarkan dengan suatu kecepatan konstan (dianggap sebagai proses ekskresi renal). Volume cairan dalam wadah dipertahankan konstan dengan menyeimbangkan kecepatan air yang dikeluarkan dengan kecepatan infus.

Cara Kerja :

1. Isi wadah dengan 250 ml larutan.
2. Buat sejumlah volume larutan obat dengan kadar tertentu (Vitamin C 100 mg/100 ml); masukkan sekaligus ke dalam wadah.
3. Jalankan secara bersamaan pompa peristaltik untuk pengeluaran cairan dari dalam wadah dan pompa peristaltik untuk pemasukan infus.
4. Hentikan infus pada menit ke 30 dan setelah itu infus diganti dengan air dan dimasukkan ke dalam wadah dengan kecepatan yang sama, teruskan proses sampai menit ke 90.
5. Ambil cuplikan sebanyak 5ml pada waktu 5, 10, 15, 30, 45, 60 dan 90 menit setelah rangkaian alat dijalankan. Setiap kali pengambilan cuplikan tambahkan sejumlah air volume sama dengan volume cuplikan (1 ml/100 ml).
6. Tentukan kadar obat dalam cuplikan (secara spektrofotometri).



7. Plot data kadar obat terhadap waktu pada kertas semilogaritmik.
8. Hitung harga V_d , k , Cl dan $t_{1/2}$.

D. Hasil Pembahasan



PRAKTIKUM V

BIOVAIBILITAS DAN BIOEKIVALENSI

A. Tujuan

Setelah mengikuti percobaan ini mahasiswa diharapkan mampu untuk :

- Menentukan status bioekivalensi sari suatu produk uji
- Merancang penelitian uji bioavailabilitas dan bioekivalensi satu produk obat

B. Pendahuluan

Setiap produk yang akan beredar di pasaran harus terjamin kualitasnya sehingga dengan pemakaian produk tersebut efek terapeutik yang diinginkan akan tercapai. Produk generik atau “me too” yang akan dipasarkan juga tidak lepas dari persyaratan ini. Suatu produk generik atau “me too” harus memenuhi standar yang sama dengan produk innovator dalam hal kualitas, efikasi dan keamanan. Selain evaluasi *in vitro*, evaluasi bioekivalensi *in vivo* perlu pula dilakukan untuk menjamin bioavailabilitas produk generik atau “me too” tidak berbeda secara berarti (*statistical insignificant*) dari suatu produk pembanding. Pada umumnya yang dijadikan sebagai produk pembanding adalah produk innovator yang terlebih dahulu mendapatkan persetujuan dari pihak yang berwenang untuk dipasarkan. Diperolehnya status biobioekivalen dari suatu produk diharapkan diperolehnya respon efek dan keamanan yang sama dengan produk pembanding. Hal ini akan memberikan kesempatan kepada para dokter maupun pasien untuk memilih berbagai merek obat dengan jaminan bahwa setiap produk akan memberikan efek klinis dan keamanan yang sebanding.

Uji bioekivalensi menjadi sangat penting pada saat mana masa paten suatu produk innovator habis. Selain itu uji bioekivalensi juga dilakukan pada periode pengembangan suatu produk, adanya perubahan metode atau tempat manufaktur, adanya pergantian peralatan manufaktur, ataupun adanya perubahan sumber bahan baku yang digunakan.

Parameter farmakokinetika yang digunakan untuk evaluasi status bioekivalen suatu produk adalah :

- AUC (*area the curve of concentration-time relationship*, luas area dibawah kurva hubungan konsentrasi dan waktu)
- C_{maks} (konsentrasi maksimum)
- T_{maks} (waktu untuk mencapai konsentrasi maksimum)



Dalam praktek Cmaks dan Tmaks diperoleh dari konsentrasi maksimum hasil pengukuran konsentrasi dalam sampel yang diperoleh dan waktu tercapainya konsentrasi maksimum tersebut. Perlu diperhatikan dalam penetapan Tmaks bahwa pada daerah puncak kurva hubungan konsentrasi dan waktu profil kurva relatif mendatar sehingga dengan adanya variabilitas, metode penetapan kadar yang digunakan maka nilai Tmaks yang diperoleh mungkin bukan merupakan Tmaks yang sebenarnya. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penelitian bioekivalensi agar hasil yang diperoleh dapat digunakan antara lain adalah :

- Subyek, yang meliputi penetapan kriteria inklusi dan eksklusi pada saat seleksi subyek penelitian, perlakuan awal yang perlu dilakukan terhadap subyek sebelum uji bioekivalensi dilaksanakan.
- Rancangan, antara lain berapa jumlah subyek yang akan digunakan, jenis kelamin, dan rancangan penelitian.
- Perlakuan yang akan diberikan, yang meliputi dosis obat yang digunakan, cara pemberian, rancangan pengambilan sampel seperti sampel apa yang akan dikumpulkan (darah, plasma, atau urin) dan waktu pengambilan sampel.
- Evaluasi hasil yang diperoleh, antara lain uji statistik yang akan digunakan dan penetapan definisi dari bioekivalen sebelum uji dimulai.

C. Pelaksanaan percobaan (Tugas)

- Lakukan analisa terhadap data yang diperoleh dari suatu penelitian bioekivalensi suatu produk generik yang diberikan kepada saudara.
- Simpulkan status bioekivalensi dari produk uji yang diberikan.
- Jika kesimpulan saudara untuk produk uji adalah bioekivalensi, analisa kemungkinan apa yang mungkin mejadi penyebab bioinekivalensi serta ajukan saran apa yang perlu dilakukan untuk dicapainya status bioekivalensi dari produk uji.



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

D. Hasil Perhitungan dan Pembahasan



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA



PRAKTIKUM VI

PENENTUAN KOEFISIEN PARTISI

A. Tujuan

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu untuk :

- Menentukan nilai koefisien partisi dari suatu zat uji
- Menganalisa pengaruh koefisien partisi terhadap kemampuan penetrasi zat uji

B. Pendahuluan

Suatu senyawa obat harus mampu menembus membran biologis dan mencapai jaringan target dalam jumlah yang cukup untuk dapat memberikan aktivitas. Parameter sifat fisika kimia yang paling berperan dalam proses distribusi tersebut adalah parameter lipofilik. Parameter sifat lipofilik yang sering digunakan dalam hubungan kuantitatif struktur aktivitas salah satunya adalah logaritma koefisien partisi ($\log P$). Koefisien partisi adalah perbandingan kadar obat dalam lipid dan kadar obat dalam air setelah terjadi kesetimbangan. Atau bisa juga sebagai kelarutan obat dalam lipid dibagi kelarutan obat dalam air. Koefisien partisi berpengaruh pada proses disolusi maupun permeasi suatu obat. Umumnya semakin besar koefisien partisi suatu obat maka semakin sulit larut dalam air sehingga disolusi akan lambat, sebaliknya semakin kecil koefisien partisi semakin sulit larut dalam lipid sehingga permeasi menjadi lambat.

Koefisien partisi (P) dapat dihitung melalui persamaan sebagai berikut :

$$P = C_o / C_w$$

dimana,

C_o = kadar obat dalam minyak (pelarut non polar)

C_w = kadar obat dalam air (pelarut polar)

Pada umumnya obat-obat bersifat asam lemah atau basah lemah. Jika obat tersebut dilarutkan dalam air, sebagian akan terionisasi. Besarnya fraksi obat yang terionkan tergantung pH larutannya. Obat-obat yang tidak terionkan (*unionized*) lebih mudah larut dalam lipida, sebaliknya yang dalam bentuk ion kelarutannya kecil atau



bahkan praktis tidak larut, dengan demikian pengaruh pH terhadap kecepatan absorpsi obat yang bersifat asam lemah atau basa lemah sangat besar.

Bila tidak ada interaksi antara zat dan pelarut, maka :

$$C. C_o = C_m - C_w$$

dimana, C_m = kadar zat mula-mula

Untuk senyawa yang terionisasi, pengaruh derajat ionisasi (α) tidak boleh diabaikan.

$$D. P = C_o / C_w (1-\alpha)$$

Nilai P senyawa sangat bervariasi dengan jarak yang sangat besar, untuk memudahkan perhitungan biasanya digunakan dalam bentuk logaritmanya ($\log P$)

$$\log P = \log C_o / \log C_w$$

E. Alat dan Bahan

Alat :

Corong pisah, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik, labu Erlenmeyer

Bahan :

Asam salisilat, kloroform, aquadest, $FeCl_3$

F. Cara Kerja

1. Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 100 gram asam salisilat menggunakan kloroform hingga melarut sempurna dalam labu erlenmeyer. Cukupkan volumenya hingga 100 ml menggunakan kloroform.
2. Sebanyak 25 ml larutan uji dimasukkan kedalam corong pisah, dan ditambahkan dengan 25 ml air, kocok selama 5 menit. Kemudian diamkan selama 10 – 15 menit hingga kedua cairan memisah satu sama lain.
3. Pisahkan antara lapisan atas dan lapisan bawah.
4. Pada masing-masing lapisan tambahkan $FeCl_3$, ukur absorbansinya pada masing-masing lapisan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hitung konsentrasi asam salisilat pada masing-masing lapisan.
5. Koefisien partisi dapat dihitung menggunakan rumus :

$$P = \frac{[\text{asam salisilat di dalam lapisan kloroform}]}{[\text{asam salisilat di dalam lapisan air}]}$$



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA
G. Hasil dan Perhitungan



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA



PRAKTIKUM VII
PENETAPAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA OBAT
MELALUI UJI DIFUSI

A. Tujuan

Setelah mengikuti praktikum ini setiap mahasiswa dan mahasiswi diharapkan mampu:

- Memahami proses difusi obat menembus melalui membrane
- Menentukan parameter farmakokinetika berdasarkan uji difusi

B. Pendahuluan

Difusi adalah sebagai suatu proses perpindahan massa molekul suatu zat yang dibawa oleh gerakan molekular secara acak (gerakan Brownian) dan berhubungan dengan adanya polimer, merupakan suatu cara yang mudah untuk menyelidiki proses difusi. Perjalanan suatu zat melalui batas biasa terjadi oleh suatu permeasi molekular sederhana atau oleh gerakan melalui pori dan lubang (saluran).

Difusi molekular atau penetrasi melalui media yang tidak berpori bergantung pada disolusi dari molekul yang menembus dalam keseluruhan membrane, sedang proses kedua menyangkut perjalanan suatu zat melalui pori suatu membrane, yang berisi pelarut dan dipengaruhi ukuran relatif molekul yang menembusnya serta diameter dari pori tersebut.

Penelitian kuantitatif yang pertama membuktikan bahwa sebagian besar molekul kimia diserap melalui kulit secara difusi pasif. Laju penyerapan melintasi kulit tidak tunak tetapi selalu teramati adanya waktu laten. Waktu laten mencerminkan penundaan penembusan senyawa kebagian dalam struktur tanduk dan pencapaian gradient difusi. Waktu tersebut beragam antara satu senyawa dengan lainnya.



Bila keseimbangan dicapai, jumlah senyawa yang meninggalkan membrane permukaan dermik adalah sama dengan senyawa yang menembus lapisan epidermis, dalam hal ini difusi mengikuti hukum Fick:

$$\frac{dQ}{dt} = K_p S (C_1 - C_2)$$

Keterangan:

dQ/dt : Jumlah senyawa yang diserap setiap satuan waktu

K_p : Tetapan permeabilitas

S : Luas permukaan membrane

$C_1 - C_2$: Perbedaan konsentrasi pada kedua sisi membrane

Dengan demikian tetapan permeabilitas menjadi:

$$K_p = \frac{K_m D}{e}$$

Tetapan permeabilitas K_p mencerminkan kemampuan menembus suatu senyawa melintasi suatu membrane tertentu, semakin tinggi nilai tetapan tersebut maka kemampuannya semakin nyata. Tetapan permeabilitas suatu senyawa yang berdifusi ke dalam semua lapisan kulit merupakan jumlah beberapa tetapan K_c , K_e , K_d yang secara berurutan merupakan tetapan permeabilitas terhadap *stratum corneum*, epidermis dan dermis menggunakan metode yang sesuai.

Tahanan setiap jaringan yang berhadapan pada difusi akan meningkat dan dapat dikaitkan dengan tetapan permeabilitas kulit keseluruhan melalui persamaan:

$$\frac{1}{K_p} = R_p = \sum R_i$$

Keterangan:

R_p : tahanan difusi kulit keseluruhan

$\sum R_i$: Jumlah tahanan difusi pada berbagai jaringan



$$R_p = R_c + R_e + R_d$$

Penunjukkan c, e dan d secara berurutan merupakan tahanan difusi lapisan tanduk, epidermis dan dermis. Pada sebagian besar sediaan, tahanan difusi melintasi lapisan tanduk (*Stratum corneum*) adalah sangat tinggi dan merupakan faktor penentu pada penyerapan percutan. Sebaliknya tahanan epidermis malfigi dan dermis dapat diabaikan.

Dengan demikian terlihat bahwa difusi air seribu kali lebih cepat melintasi lapisan tanduk (*stratum corneum*) dari pada lapisan epidermis dan lapisan dermis yang hidup.

C. Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan: alat difusi, sel difusi frankz, membran *milipore*, spektrofotometer UV-Vis, labu tentu ukur, beaker glass, gelas ukur, pipet volume

Bahan yang digunakan: Krim ketokonazol, Metanol, Isopropyl miristat, dapar fosfat pH 7,4 dan Aquadest.

D. Cara Kerja

a. Penetapan kadar ketokonazol

- 1) Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4

Larutan dapar fosfat pH 7,4 dapat dibuat dengan cara mencampurkan 500 mL larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M dan 391 mL larutan NaOH 0,1 N. kemudian ditambahkan dengan aquadest sampai tanda batas 1000 mL.

- 2) Pembuatan larutan baku induk ketokonazol dalam larutan dapar fosfat pH 7,4

Larutan baku induk dengan menimbang teliti 50 mg ketokonazol lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian dilarutkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga tanda batas sehingga didapat konsentrasi ketokonazol sebesar 500 µg/mL.



- 3) Penentuan panjang gelombang maksimum ketokonazol dalam medium dapar fosfat pH 7,4

Dalam larutan baku Induk Ketokonazol dipipet sebanyak 1,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml setelah itu ditambahkan dapar fosfat pH 7,4 sampai tanda batas, maka diperoleh larutan baku kerja dengan konsentrasi 10 µg/ml. Ukur serapan larutan kerja dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 200-400 nm, maka akan didapat panjang gelombang maksimum ketokonazol.

- 4) Pembuatan kurva kalibrasi ketokonazol dalam medium dapar fosfat pH 7,4

Kurva kalibrasi ketokonazol dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dibuat dengan dapar yang diperoleh dari data serapan di atas dan dihitung dengan menggunakan rumus $A = a \cdot b \cdot c$ sehingga diperoleh konsentrasi terendah dan tertinggi. Setelah rentang kadar, ukur serapan tiap-tiap konsentrasi pada panjang gelombang maksimum. Persamaan garis regresi kurva kalibrasi diperoleh dari plot antara nilai serapan dan kadar larutan baku kerja.

b. Uji difusi ketokonazol secara in vitro

- 1) Optimasi waktu impregnasi membrane milipore dalam isopropyl miristate

Membrane milipore yang digunakan, ditimbang kemudian diimpregnasikan dalam isopropyl miristate selama 10, 30, 45, 60, 75 menit. Setelah itu, membrane diambil dan dikeringkan di atas kertas saring. Bobot membrane sebelum dan sesudah impregnasi ditimbang untuk mendapatkan kondisi yang sama pada setiap membrane.

Prosentase impregnasi = $(B_t - B_o) \times 100\%$

B_o



Dimana B_t adalah bobot membrane sesudah impregnasi dan B_o adalah bobot membrane sebelum impregnasi. Waktu dimana membrane mencapai berat konstan ditetapkan sebagai waktu optimum dan selanjutnya waktu tersebut diunakan untuk mengimpregnasi membrane milipore dengan isopropyl miristate.

2) Uji difusi krim ketokonazol

Uji laju difusi dilakukan dengan menggunakan metode flow through yang dimodifikasi dari sel difusi Franz yang terdiri dari sel difusi, pompa peristaltic, pengaduk, gelas piala, tangas air, penampung reseptor, thermometer dan selang. Formula uji ditimbang 1 gram kemudian dioleskan di atas membrane yang telah diimpregnasi secara merata dan tipis. Suhu system $37 \pm 1^\circ\text{C}$ dengan cairan reseptor 330 ml larutan dapar fosfat pH 7,4. Pompa peristaltic akan menarik cairan reseptor dari gelas kimia, kemudian dipompa ke sel difusi. Kemudian cairan dialirkan langsung ke reseptor, proses dilakukan selama 3 jam, cuplikan diambil dari cairan reseptor dalam gelas kimia sebanyak 10 ml dan setiap pengambilan larutan dapar fosfat pH 7,4 10 ml, diganti dengan larutan dalam jumlah yang sama. Pengambilan cuplikan dilakukan pada menit 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 100, 120, 140, 180. Cuplikan diatur serapannya pada panjang gelombang maksimum.



Laboratorium Biofarmasetika
Fakultas Farmasi dan Sains – UHAMKA

E. Hasil dan Perhitungan



Daftar Pustaka

Shargel L and Yu ABC. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. 4th ed. Stamford Conn: Appleton & Lange: 1999.

Wagner, JG. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc:1993.