

Ketersediaan hayati dispersi padat furosemid dengan polietilenglikol 4000 (PEG 4000) pada kelinci jantan

The bioavailability of furosemide-polyethylene glycol (PEG 4000) solid dispersion in male rabbits

Ellies Tianti ¹⁾, Annas Binarjo ¹⁾ dan Tedjo Yuwono ²⁾

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

²⁾ Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Furosemid merupakan obat diuretik kuat yang sering digunakan untuk penderita hipertensi. Bahan obat ini sangat sukar larut, sehingga ketersediaan hayatinya rendah. Pada pemberian oral hanya kira-kira 60 % obat yang terabsorpsi, oleh sebab itu perlu adanya upaya untuk mengatasi masalah ini.

Pada penelitian ini upaya tersebut dilakukan dengan praperlakuan pembentukan dispersi padat furosemid-PEG 4000 (1:1), dalam bentuk sediaan kapsul (formula A). Sebagai pembanding digunakan tablet Lasix yang diserbuk dalam sediaan kapsul pula (formula B), dan sebagai kontrol digunakan kapsul serbuk furosemid tanpa praperlakuan (formula C). Masing-masing kapsul mengandung 40 mg furosemid. Ketiga macam formula ini kemudian ditentukan ketersediaannya pada kelinci jantan setelah pemberian per oral, dengan menggunakan rancangan sama subyek (*Latin Square Cross Over Design*). Penentuan kadar obat dalam plasma darah dilakukan secara spektrofotometri setelah sampel plasma diekstraksi.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa ketersediaan hayati formula A dan formula B tidak memberikan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$), sedangkan formula C memberikan $C_{p_{maks}}$ lebih rendah dari formula A dan formula B secara bermakna ($P < 0,05$).

Kata kunci: furosemid, dispersi padat, ketersediaan hayati.

Abstract

Furosemide is a potential diuretic drug usually used for the secondary treatment of hypertension. Unfortunately this agent is very slightly soluble in water, so it has poor bioavailability. The oral administration of drug shows that only 60 % of the dose can be absorbed.

The aim of the present study is to increase the bioavailability of furosemide by mixing the furosemide-PEG 4000 solid dispersion (1 : 1) in capsule dosage forms (formula A). The powder of Lasix^R tablet in capsules was used as a standard reference (formula B), and the original powder of furosemide in capsules was used as control (formula C). All of the formulas contained 40 mg of furosemide.

The bioavailability of these formulas was evaluated following oral administration in male rabbits using The *Latin Square Cross Over Design*, then the plasma furosemide concentrations were analyzed spectrophotometrically.

The results indicated that the bioavailability of furosemide in the formula A was equal to that of the formula B ($P > 0,05$) or both formulas

were bioequivalent. But the $C_{p_{max}}$ value of the formula C was significantly lower in comparison with the formulas A and B.

Key words: furosemide, solid dispersion, bioavailability.

Pendahuluan

Obat-obat yang kelarutannya sangat kecil sering banyak menimbulkan masalah pada proses absorpsinya setelah obat diberikan, karena obat dapat diabsorpsi oleh tubuh bila sudah dalam bentuk terdistribusi secara molekular di tempat proses absorpsi berlangsung. Upaya mengatasinya antara lain dapat dilakukan melalui peningkatan kecepatan disolusinya.

Furosemid merupakan obat diuretik kuat, terutama diberikan pada penderita hipertensi. Pada pemberian secara oral, obat ini hanya sekitar 60 % yang dapat terabsorpsi. Pada pemberian dosis tunggal 80 mg, dicapai kadar puncak dalam plasma ($C_{p_{maks}}$) 2,3 $\mu\text{g/ml}$ setelah 60 sampai 70 menit dengan durasi 6 sampai 8 jam (Anonim, 2002).

Sangat rendahnya fraksi obat yang terabsorpsi tersebut merupakan akibat dari kelarutannya yang sangat kecil, karena furosemid sangat sukar larut dalam air (Anonim, 1995). Menurut Kaplan (1974), dari kelarutannya ini dapat diperkirakan bahwa kecepatan disolusi furosemid menjadi langkah penentu (*rate limiting step*) pada proses absorpsinya; artinya, dengan meningkatkan kecepatan disolusi furosemid akan disertai peningkatan kecepatan absorpsinya. Menurut Hukum Fick pertama, kecepatan disolusi dapat dinyatakan dengan persamaan (Carstensen, 1974):

$$dC/dt = \frac{D A}{V h} (C_s - C_b) \quad (1)$$

Dengan, dC/dt = kecepatan disolusi, D = koefisien difusi, A = luas bidang difusi, V = volume medium disolusi, h = tebal lapisan difusi, C_s kelarutan (*solubility*) bahan obat dan C_b = kadar obat yang terlarut setelah waktu t . Pada kondisi *sink* ($C_s \gg C_b$) persamaan (1) dapat diubah menjadi:

$$dC/dt = \frac{D A}{V h} C_s \quad (2)$$

Dari persamaan (2) terlihat bahwa dC/dt dapat ditingkatkan melalui peningkatan A dan C_s . Cara praktis untuk meningkatkan kedua parameter tersebut dapat dilakukan praperlakuan terhadap bahan obat melalui pembentukan dispersi padat. Melalui pembentukan dispersi padat ini memungkinkan terjadinya pengecilan ukuran partikel, perubahan struktur internal kristal, terbentuknya campuran eutektik, terjadinya larutan padat dan terbentuknya ikatan kompleks antara bahan obat dan bahan pembawa. Masing-masing merupakan pendukung untuk meningkatkan kecepatan disolusi bahan obat (Chiou dan Riegelman, 1971). Adanya peningkatan kecepatan disolusi ini akan disertai peningkatan kecepatan absorpsi obat, sehingga ketersediaan hayatinya juga akan meningkat (Shargel and Yu, 1993; Pan *et al.*, 2000).

Ada tiga parameter yang sering digunakan untuk mengevaluasi ketersediaan hayati obat, yaitu: AUC, t_{maks} dan $C_{p_{maks}}$. Ketiga parameter ini dapat memberikan gambaran mengenai jumlah dan kecepatan obat yang terabsorpsi ke sirkulasi sistemik (Shargel and Yu, 1993).

Beberapa bahan pembawa yang sering digunakan pada pembuatan dispersi padat antara lain: PEG 4000, PEG 6000 dan PVP (Chiou dan Riegelman, 1971) dan siklodekstrin (Ozdemir and Ordu, 1998). Peneliti terdahulu telah membuktikan bahwa PVP dapat meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati furosemid (Syukri *et al.*, 2001); Siklodekstrin dapat meningkatkan kecepatan disolusi furosemid (Ozdemir and Ordu, 1998); PEG 4000 dapat meningkatkan kecepatan disolusi dan ketersediaan hayati piroksikam (Pan, *et al.*, 2000), serta PEG 4000 dapat meningkatkan kecepatan disolusi intrinsik furosemid (Novtyana, 2001) juga meningkatkan kelarutan furosemid (Indariyani, 2001).

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian tersebut, yaitu akan mengetahui pengaruh pembentukan dispersi padat furosemid-PEG 4000 terhadap ketersediaan hayatinya pada kelinci jantan.

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah furosemid dan PEG 4000, masing-masing dengan derajat farmasetik, tablet Lasix^R (PT Aventis), heparin dan bahan-bahan kimia derajat pro analisis. Subyek uji pada penelitian ini digunakan 6 kelinci jantan domestik umur 5 sampai 6 bulan dengan berat antara 1,5 sampai 2 kg.

Alat

Alat utama yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofluorometer Hitachi F-2500, sentrifuga Mettler Toledo AG 285 dan Vortex Thermolyne 37600.

Pembuatan dispersi padat

Furosemid dan PEG 4000 dengan perbandingan berat (1 : 1) dilarutkan dalam aseton p.a. secukupnya, kemudian pelarut diuapkan. Kristal yang diperoleh diayak setelah dikeringkan.

Pembuatan sediaan furosemid

Dibuat tiga macam sediaan kapsul yang masing-masing mengandung 40 mg furosemid:

1. Formula A: kapsul berisi dispersi padat furosemid PEG 4000 (1 : 1)
2. Formula B: kapsul berisi tablet Lasix^R yang sebelumnya dibuat serbuk
3. Formula C: berisi serbuk furosemid tanpa pra-perlakuan

Masing-masing bahan yang akan diteliti sebelum dimasukkan dalam kapsul diayak lebih dulu dengan ayakan yang sama.

Rancangan penelitian

Ketiga formula A, B dan C, diuji ketersediaan hayatinya pada kelinci jantan ($n = 6$) dengan menggunakan rancangan sama subyek (*Latin Square Cross Over Design*).

Pembuatan kurva baku furosemid

Ditimbang secara saksama 50,0 mg furosemid lalu dilarutkan dengan 1 ml NaOH 1 N, kemudian diencerkan dengan air suling hingga 500 ml. Dengan mikropipet sejumlah larutan ini dimasukkan dalam 250 μ l plasma, sehingga didapat kadar 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 μ g/ml furosemid dalam plasma, selanjutnya masing-masing diekstraksi.

Proses ekstraksi dilakukan sebagai berikut: 250 μ l plasma darah yang mengandung furosemid ditambah 50 μ l HCl 0,1 N, lalu campuran ini diekstraksi dengan 3,0 ml etilasetat. Setelah di-*vortex* selama 2 menit, 2,0 ml lapisan etilasetat diambil ke tabung lain dan ditambah 2,5 ml dapar fosfat pH 8,0 ($\mu = 0,1$ M) lalu di-*vortex* selama 2 menit dan disentrifuga dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Fase airnya diambil 2,0 ml lalu diasamkan dengan 1,0 ml HCl 0,5 N.

Pada larutan ini kemudian dicari panjang gelombang eksitasi dan emisi serapan maksimumnya dengan menggunakan spektrofluorometer (Kelly *et al.*, 1974 yang dimodifikasi Hakim, 1996) dan diukur serapannya. Sebelum kurva baku dibuat, terlebih dulu dilakukan uji perolehan kembali untuk maksud validasi metode analisis yang akan digunakan, dengan larutan furosemid yang kadarnya: 5, 10 dan 30 μ g/ml.

Pengambilan sampel darah

Kepada subyek uji setelah diberi kapsul obat secara oral lalu diambil darahnya melalui *vena marginalis* pada jam ke: 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 4,5; 5; 6; 7; 8; 10; 12 dan 24. Sampel darah tersebut masing-masing disentrifuga dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, lalu diambil plasmanya sebanyak 250 μ l, selanjutnya ditentukan kadar furosemidnya secara spektrofluorometri setelah diekstraksi terlebih dahulu dengan cara seperti pada pembuatan kurva baku.

Analisis data

Hasil yang diperoleh dari data hubungan antara kadar obat dalam plasma sebagai fungsi waktu dari formula A, formula B dan formula C, masing-masing ditentukan: AUC, t_{maks} dan $C_{p_{maks}}$, kemudian dibandingkan dengan analisis varian (ANAVA) satu jalan dan *Post Hoc Tests* (Uji *Tukey* dan *Bonferroni*) dengan taraf kepercayaan 95 %.

Hasil Dan Pembahasan

Perolehan kembali kadar furosemid, sebelum pembuatan kurva baku diperoleh hasil seperti terlihat pada Tabel I

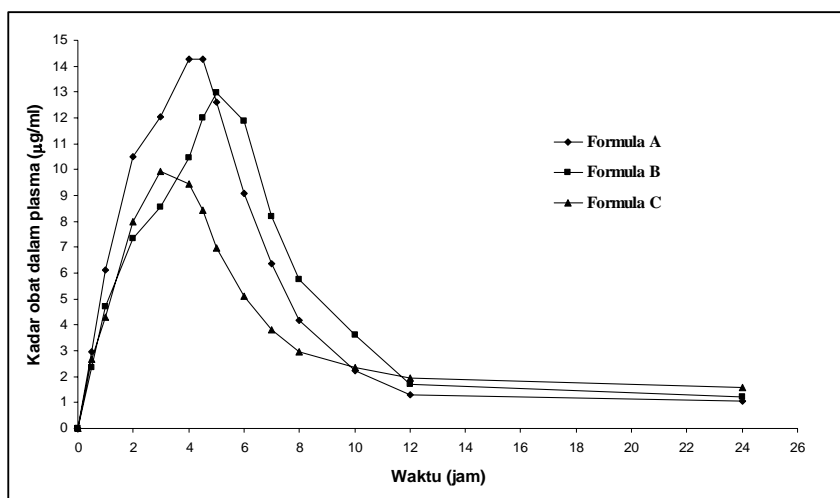
Menurut Pachla *et al.*, (1978), suatu metode analisis untuk uji farmakokinetik dan biofarmasetik dikatakan memenuhi syarat apabila harga perolehan kembali berkisar antara 70 – 100 % dengan kesalahan acak maksimal 10 %. Dari data perolehan kembali penetapan kadar furosemid pada tabel I menunjukkan bahwa metode yang digunakan memenuhi syarat.

Tabel I. Harga perolehan kembali dan kesalahan acak penetapan kadar furosemid dalam plasma darah (n = 3)

Kadar sebenarnya ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar terukur ($\mu\text{g/ml}$)	Perolehan kembali (%)	Kesalahan acak (%)
5	4,25 \pm 0,09	84,9 \pm 1,9	2,1
15	14,23 \pm 0,22	94,9 \pm 1,5	1,55
30	28,47 \pm 0,07	94,9 \pm 0,2	0,3

Tabel II. Hubungan antara kadar furosemid dalam plasma dengan intensitas fluoresensinya

Kadar obat dalam plasma ($\mu\text{g/ml}$)	Intensitas fluoresensi
5	14,57
10	31,20
15	45,52
20	62,31
25	76,63
30	92,45

Gambar 1. Kurva kadar purata furosemid dalam plasma sebagai fungsi waktu setelah pemberian sediaan kapsul furosemid formula A (kapsul disperse padat furosemid-PEG 4000), formula B (kapsul serbuk tablet Lasix^R) dan formula C (kapsul serbuk furosemid tanpa praperlakuan) pada kelinci jantan (n=6) secara oral.

Tabel III Harga purata parameter ketersediaan hayati pada kelinci jantan (n = 6) dari sediaan kapsul furosemid formula A, formula B dan formula C

Parameter	Formula A	Formula B	Formula C
[AUC] ($\mu\text{g/ml}$)	97,4 \pm 11,9	99,5 \pm 4,8	80,3 \pm 15,1
t_{maks} (jam)	4,3 \pm 0,2	5,1 \pm 0,2	3,8 \pm 0,2
$C_{\text{p maks}}$ ($\mu\text{g/ml}$)	15,7 \pm 0,6	14,0 \pm 0,9	10,6 \pm 1,0

Keterangan:

Formula A : kapsul yang mengandung dispersi padat furosemid-PEG 4000

Formula B : kapsul yang mengandung serbuk Lasix^R

Formula C : kapsul yang mengandung serbuk furosemid tanpa praperlakuan

Hasil percobaan pembuatan kurva baku furosemid diperoleh panjang gelombang eksitasi serapan maksimum pada 275 nm dan panjang gelombang emisi serapan maksimum pada 409 nm.

Kurva baku hubungan antara kadar furosemid dalam plasma dan intensitas fluoresensinya yang diukur pada panjang gelombang eksitasi serapan maksimum 275 nm dan pada panjang gelombang emisi serapan maksimum 409 nm diperoleh data seperti terlihat pada Tabel II.

Dari data tersebut setelah dibuat persamaan regresi linear diperoleh persamaan:

$$Y = 3,0999 X - 0,468 \quad (3)$$

dengan Y = intensitas fluoresensi dan X = kadar furosemid dalam plasma. Koefisien korelasinya $r_{hitung} = 0,9992$, lebih besar dari harga $r_{tabel} = 0,874$. Dengan demikian persamaan (3) dapat digunakan untuk penentuan kadar furosemid dalam plasma.

Hasil perhitungan kadar purata furosemid dalam plasma setelah pemberian kapsul furosemid formula A, formula B dan formula C pada hewan uji, kemudian dibuat kurva hubungan antara kadar obat dalam plasma sebagai fungsi waktu, hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1.

Lebih lanjut, hasil perhitungan ketiga parameter ketersediaan hayati furosemid formula A, formula B dan formula C dapat dilihat pada Tabel III.

Besarnya [AUC] dari ketiga formula, dari hasil perhitungan setelah dibandingkan dengan ANOVA satu jalan ternyata tidak memberikan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$). Ini berarti

bahwa fraksi obat total yang terabsorpsi tidak berbeda bermakna antara formula A, formula B dan formula C.

Jika dilihat gambar 1, harga t_{maks} formula A paling kecil, tetapi bukan berarti bahwa kecepatan absorpsinya paling tinggi, melainkan disebabkan oleh jumlah furosemid yang terabsorpsi pada awal waktu, yaitu absorpsi pada segmen saluran cerna bagian atas hanya sebagian, sisa furosemid baru terabsorpsi kemudian di segmen saluran cerna bagian bawah, akibatnya sebelum obat terabsorpsi secara maksimal, kadar obat dalam plasma sudah turun. Dugaan ini diperkuat dari angka arah kurva naik pada gambar 1. Sebaliknya absorpsi obat formula A dan formula B sejak awal obat yang terabsorpsi hampir maksimal, sehingga memberikan kadar puncak obat dalam plasma $C_{p_{maks}}$ tinggi, yaitu berturut-turut 15,7 $\mu\text{g/ml}$ dan 14,0 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan formula C hanya 10,6 $\mu\text{g/ml}$. Dari hasil perhitungan secara statistik dengan taraf kepercayaan 95 % ternyata harga $C_{p_{maks}}$ antara formula A dan formula B tidak berbeda bermakna, sedangkan untuk formula C ada perbedaan bermakna, baik dengan formula A maupun dengan formula B.

Kesimpulan

Dari analisis data secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa, adanya peningkatan kelarutan dan disolusi intrinsik melalui pembentukan dispersi padat furosemid-PEG 4000 (1 : 1) dapat meningkatkan ketersediaan hayatinya, dan ternyata bioekuivalen dengan pembandingnya, yaitu serbuk Lasix^R tablet, yang masing-masing dalam bentuk sediaan kapsul.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Ed. IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 400 – 402.
- Anonim, 2002, *AHFS Drug Information*, Book 5, American Society of Health-System Pharmacist, USA, 2566 – 2570.
- Carstensen, J.T., 1974, Theories of Dissolution Single Particulate System, in: *Dissolution Technology*, (Leeson, L.G., and Cartensen, J.T. Ed.), The Industrial Pharmaceutical Technology Section of Pharmaceutical Sciences, Washington DC, 1 – 28.
- Chiou, W.L., and Riegelman, S., 1971, Pharmaceutical Application of Solid Dispersion System, *J. Pharm. Sci.*, 60 (9), 1281 – 1301.
- Hakim, L., 1996, Ekstraksi Urin Furosemida pada Kelinci setelah Pra-Perlakuan dengan Bunga Kubis, *Laporan Penelitian*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Indriyani, K., 2001, Peningkatan Kelarutan Furosemida melalui Pembentukan Kompleks dengan PEG 4000, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Kaplan, S., 1974, Biological Implication of *In Vitro* Dissolution Testing, in: *Dissolution Technology*, (Leeson, L., and Cartensen, J.T., Ed.), The Industrial Pharmaceutical Technology Section of Pharmaceutical Sciences, Washington DC, 167.
- Kelly, M.R., Cutler, R.E., Forrey, A.W., and Kimpel, B.M., 1974, Pharmacokinetics of Orally Administered Furosemide, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 15: 178 – 186.
- Novtyana, E., 2001, Peningkatan Kecepatan Disolusi Intrinsik Furosemida melalui Pembentukan Dispersi Padat dengan PEG 4000, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Ozdemir, N., and Ordu, S., 1998, Improvement of Dissolution Properties of Furosemide by Complexation with β -Cyclodextrine, *Drug-Dev. Ind. Pharm.* 24 (1): 19 – 25.
- Pachla, L.A., Wright, D.S., and Chen, R.R.L., 1978, Bioanalytic Consideration for Pharmacokinetics and Biopharmaceutics Studies, *J. Clin. Pharmacol.*, 26: 332 – 335.
- Pan, R.N., Chen, J.H., and Chen, R.R.L., 2000, Enhancement of Dissolution and Bioavailability of Piroxicam in Solid Dispersion System, *Drug-Dev. Ind. Pharm.*, 26 (9): 984 – 994.
- Shargel, L., and Yu, A.B.C., 1993, *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 3rd Ed., Appleton & Lange, Norwalk, 202 - 215.
- Syukri, Y., Hakim, L., Yuwono, T., 2001, Ketersediaan Hayati Relatif Furosemid dalam bentuk Dispersi Padat, *Sains Kesehatan*, 14 (3): 311 – 317.