

BAB V

KESIMPULAN :

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa :

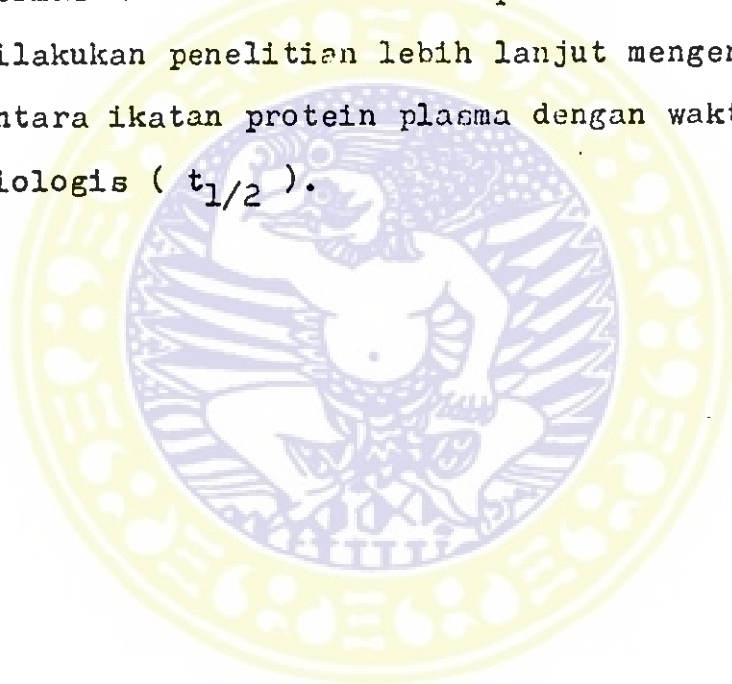
1. Antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi dari diazepam dan klordiazepoksida HCl pada pH 7,4 mempunyai hubungan positif.
2. Ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma diazepam dengan ikatan protein plasma dari klordiazepoksida HCl pada $\alpha = 0,05$.
3. Ada perbedaan yang bermakna antara koefisien partisi dari diazepam dengan koefisien partisi dari klordiazepoksida HCl pada $\alpha = 0,05$.

BAB VI

SARAN-SARAN.

Melihat hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka disarankan :

1. Dilakukan penelitian tentang hubungan koefisien partisi dengan ikatan protein plasma dari golongan tranquilizer: turunan Benzodiazepin dan yang tidak termasuk turunan Benzodiazepin.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara ikatan protein plasma dengan waktu paruh biologis ($t_{1/2}$).



RINGKASAN

Makin majunya masyarakat kita sebagai hasil pembangunan nasional, dan adanya sebagian masyarakat yang kurang mampu menyesuaikan diri dengan perkembangan yang cepat, menyebabkan makin banyak yang mengatasinya dengan obat-obatan, diantaranya dengan obat golongan tranquilizer dari derivat Benzodiazepin antara lain diazepam dan klordiazepoksida.

Seperti obat-obat yang lain, turunan Benzodiazepin untuk dapat menimbulkan efek farmakologis yang diinginkan tentunya obat tersebut harus dapat mencapai tempat aksi obat dan obat harus berada dalam bentuk bebas, tidak terikat oleh protein plasma dan sebelum mencapai tempat aksi obat, obat harus menembus membran biologis terlebih dahulu yang untuk hal tersebut obat dipengaruhi oleh sifat-sifat fisik obat diantaranya kelarutan dalam lemak atau koefisien partisinya.

Memperhatikan kenyataan yang ada bahwa aksi farmakologis obat turunan Benzodiazepin juga dipengaruhi oleh ikatan protein plasma dan koefisien partisi, maka kemudian dilakukan penelitian tentang bagaimana hubungan antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi pada pH 7,4.

Penentuan koefisien partisi dilakukan dengan metode pengocokan dan ikatan protein plasmanya dengan metode kesetimbangan partisi cair-cair.

Berdasarkan uji " r " (uji korelasi) pada $\alpha = 0,05$ diperoleh hasil bahwa antara ikatan protein plasma

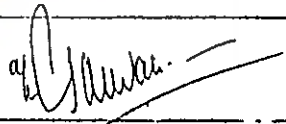
(dalam persentase) dengan koefisien partisi n-Oktanol - air dari Diazepam dan Klordiazepoksid pada pH 7,4 mempunyai hubungan positif yaitu makin tinggi koefisien partisi maka makin tinggi ikatan protein plasmanya.

Berdasarkan uji t (Pooled t test) dengan $\alpha = 0,05$, diperoleh hasil bahwa ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma dan koefisien partisi dari diazepam dengan klordiazepoksid.



KETERANGAN GUDANG		1985. No. B. : 316.
1. BAHAN BAKU : Diarupam	2. GRADE/CODE B.D. : AD/4	SUPV. GUDANG. 21/10/85
3. NAMA PAUBIK & NEGERI ASAL : Fabbrica Italiana Simetina SpA - Italy / R.W. Jkt.	4. TGL. MASUK : 16-10-85	PENGAMBIL CONTOH SUPV. D.Q.C. 21/10/85
5. ORDER PHAPROS : Ph-066	6. LOT. GUDANG : 85/04	ANALIS : 21/10/85
7. JUMLAH : 10 kg.		
... KEMASAN : Vat a 10 kg. tampal stikel	LAPORAN PEMERITAN : Bau	

KETERANGAN LABORATORIUM	
ANALISA & DAFTAR PUSTAKA :	NF 311/220 CIL H301 A30 GMR 284.75
Permisian: Urbus hablor warna putih.	
Milanten: memenuhi syarat.	
Ident : b)	
Misuran :	
Kacur air 0.47 (max 0.5 %)	
Jitio Cair 29 - 132 (131 - 135)	
Logam Berat 67	
Platur abu 07 (max 0.12%)	
Kacur 100.112 (108.5 - 121.07)	
HASIL : Bau	
MULAI DAN SELESAI ANALISA :	DIKERJAKAN OLEH :
21/10/85	Ajni 2.
KESIMPULAN : Penerima	
CATATAN UNTUK GUDANG : Bau. Kadon : loc. 11 9	

PARAF : 
TGL. : 21/10/85

KETERANGAN GUDANG		1985 No. U.D. : 295
1. BAHAN BAKU : <i>Chlordiazepoxide HCl.</i>		SUPV. GUDANG:
2. GRADE/CODE D.D. :		<i>[Signature]</i>
3. NAMA PABRIK & NEGARA ASAL : <i>SIBIS - Firenze - Italy.</i>		PERHAMBIL CUNTAM : SUPV. IP.Q.C.
4. TGL. MASUK : <i>2-10-85</i>		<i>4/10</i>
5. ORDER PHAPROS : <i>Rh. 059</i>		ANALIS :
6. LOT. GUDANG : <i>05/02</i>		<i>[Signature]</i>
7. JUMLAH : <i>5 kg.</i>		
3. KEMASAN : <i>Blok a 5 kg. Botol No. 393</i>	LAPORAN PEMERIAN : <i>baik</i>	

KETERANGAN LABORATORIUM		<i>C.6 H.14.11 0.10 HCl DNY : 326, 20.</i>
ANALISA & DAFTAR PUSTAKA : <i>SI II/12/1981</i>		
<i>Pemeriksaan. bentuk tablet, ukuran, mtd.</i>		
<i>Identifikasi. 2 @</i>		
<i>Komposisi:</i>		
<i>PH 10) :</i>	<i>2,31</i>	<i>(2,0 - 2,5)</i>
<i>kecepatan terd. :</i>	<i>0</i>	
<i>Ketukan air :</i>	<i>0,1</i>	<i>(maks 0,5)</i>
<i>usia penyusutan :</i>	<i>0</i>	<i>(maks 0,1)</i>
<i>Ketukan :</i>	<i>101,08</i>	<i>(99 - 100,5) @ 11 H.14.11.0.10 HCl</i>
HASIL : <i>Baik</i>		
MULAI DAN SELESAI ANALISA :		DIKERJAKAN OLEH :
<i>4-10-85</i>	<i>4-10-85</i>	<i>[Signature]</i>
KESIMPULAN : <i>Reliabel</i>		
CATATAN UNTUK GUDANG : <i>Baik. Ketukan: 101,08 ?</i>		

PARAF : *[Signature]*
TGL. : *4-10-85*

LAMPIRAN III

CARA PERHITUNGAN PERSAMAAN KURVA BAKU

Untuk perhitungan persamaan kurva baku, disini digunakan mesin hitung CASIO FX 4000 P yang mana dalam mesin hitung tersebut telah ada program untuk perhitungan persamaan regresi dan perhitungan disini berdasarkan rumus:

$$b = \frac{n \cdot \sum XY - \sum X \cdot \sum Y}{n \cdot \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{\sum Y - b \cdot \sum X}{n}$$

$$r = \frac{n \cdot \sum XY - \sum X \cdot \sum Y}{\sqrt{[n \cdot \sum X^2 - (\sum X)^2] \cdot [n \cdot \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Keterangan:

X = kadar

Y = serapan

b = koefisien regresi (slope)

a = konstanta regresi (intersep)

r = koefisien korelasi

LAMPIRAN IV

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 60,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 20,0 µg/ml UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,35	2,79	263,24
94,35	2,80	264,18
94,56	2,82	266,66
94,71	2,83	268,03
94,83	2,94	278,80
$\Sigma X =$ 472,80	$\Sigma Y =$ 14,18	$\Sigma XY =$ 1340,91

$$\bar{X} = 94,56$$

$$\Sigma X^2 = 44708,15$$

$$(\Sigma X)^2 = 223539,84$$

$$\bar{Y} = 2,84$$

$$\Sigma Y^2 = 40,23$$

$$(\Sigma Y) = 201,07$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1340,91) - (472,8)(14,18)}{\sqrt{5(44708,15) - 223539,84} \sqrt{5(40,23) - 201,07}}$$

$$r = \frac{6704,55 - 6704,30}{0,95 \times 0,28} = \frac{0,25}{0,27} = 0,9259$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9259.$

LAMPIRAN V

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 80,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 30,0 µg/ml UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,42	2,80	264,38
94,50	2,81	265,55
94,57	2,81	265,74
94,87	2,95	279,87
94,90	2,96	280,90
ΣX = 473,26	ΣY = 14,33	ΣXY = 1356,44

$$\bar{X} = 94,652$$

$$\Sigma X^2 = 44795,20$$

$$(\Sigma X)^2 = 223975,03$$

$$\bar{Y} = 2,866$$

$$\Sigma Y^2 = 41,10$$

$$(\Sigma Y)^2 = 205,35$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1356,44) - (473,26)(14,33)}{\sqrt{5(44795,2) - 223975,03} \sqrt{5(41,1) - 205,35}}$$

$$r = \frac{6782,2 - 6781,82}{0,99 \times 0,39} = 0,9744$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9744$.

LAMPIRAN VI

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 100,0 $\mu\text{g/ml}$ DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 40,0 $\mu\text{g/ml}$ UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,09	2,81	264,39
94,20	2,81	264,70
94,25	2,86	269,56
94,26	2,90	273,35
94,36	2,96	279,31
$\Sigma X =$ 471,16	$\Sigma Y =$ 14,34	$\Sigma XY =$ 1351,31

$$\bar{X} = 94,23$$

$$\Sigma X^2 = 44398,39$$

$$(\Sigma X)^2 = 221991,75$$

$$\bar{Y} = 2,868$$

$$\Sigma Y^2 = 41,14$$

$$(\Sigma Y)^2 = 205,64$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1351,31) - (471,16)(14,34)}{\sqrt{5(44398,39) - 221991,75} \sqrt{5(41,14) - 205,64}}$$

$$r = \frac{6756,55 - 6756,44}{0,45 \times 0,25} = 0,9977$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9977.$$

LAMPIRAN VII

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 60,0 $\mu\text{g/ml}$ DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 20,0 $\mu\text{g/ml}$ UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
84,83	2,43	206,14
84,63	2,42	204,83
84,53	2,41	203,72
84,34	2,36	199,04
84,11	2,39	201,02
$\Sigma X =$ 422,45	$\Sigma Y =$ 12,01	$\Sigma XY =$ 1014,75

$$\bar{X} = 84,49$$

$$\Sigma X^2 = 35693,11$$

$$(\Sigma X)^2 = 178464,0$$

$$\bar{Y} = 2,40$$

$$\Sigma Y^2 = 28,85$$

$$(\Sigma Y)^2 = 144,24$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1014,75) - (422,45)(12,01)}{\sqrt{5(35693,11) - 178464} \sqrt{5(28,85) - 144,24}}$$

$$r = \frac{5073,75 - 5073,63}{1,25 \times 0,1}$$

$$r = 0,96$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{\text{hitung}} = 0,96.$

LAMPIRAN VIII

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 80,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 30,0 µg/ml UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
85,08	2,40	204,19
85,09	2,42	205,92
85,22	2,43	207,08
85,34	2,47	210,79
85,44	2,49	212,87
$\Sigma X =$ 426,22	$\Sigma Y =$ 12,21	$\Sigma XY =$ 1040,85

$$\bar{X} = 85,244$$

$$\Sigma X^2 = 36332,82$$

$$(\Sigma X)^2 = 181663,49$$

$$\bar{Y} = 2,442$$

$$\Sigma Y^2 = 29,82$$

$$(\Sigma Y)^2 = 149,08$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1040,85) - (426,22)(12,21)}{\sqrt{5(36332,82) - 181663,49} \sqrt{5(29,82) - 149,08}}$$

$$r = \frac{5204,25 - 5204,15}{0,78 \times 0,14}$$

$$r = \frac{0,1}{0,11} = 0,9091$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9091$

LAMPIRAN IX

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 100,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 40,0 µg/ml UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
85,08	2,37	201,64
85,26	2,39	203,77
85,37	2,40	204,89
85,55	2,43	207,89
85,61	2,44	208,89
$\Sigma X =$ 426,87	$\Sigma Y =$ 12,03	$\Sigma XY =$ 1027,08

$$\bar{X} = 85,37$$

$$\Sigma X^2 = 36443,79$$

$$(\Sigma X)^2 = 182218,0$$

$$\bar{Y} = 2,406$$

$$\Sigma Y^2 = 28,95$$

$$(\Sigma Y)^2 = 144,72$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1027,08) - (426,87)(12,03)}{\sqrt{5(36443,79) - 182218} \sqrt{5(28,95) - 144,27}}$$

$$r = \frac{5135,4 - 5135,25}{0,9747 \times 0,17} = \frac{0,15}{0,1667} = 0,8998$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,8998.$

LAMPIRAN X

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 60,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,35	84,83
94,35	84,63
94,56	84,53
94,71	84,34
94,83	84,11
$\bar{X}_1 = 94,56$	$\bar{X}_2 = 84,49$
$S_1 = 0,2142$	$S_2 = 0,2755$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,2142)^2 + (5-1)(0,2755)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,2468$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,56 - 84,49}{0,2468 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 64,5227$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 64,5227$

LAMPIRAN XI

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 80,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,42	85,08
94,50	85,09
94,57	85,22
94,87	85,34
94,90	85,49
$\bar{X}_1 = 94,65$	$\bar{X}_2 = 85,24$
$S_1 = 0,2195$	$S_2 = 0,1739$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,2195)^2 + (5-1)(0,1739)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,3339$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,65 - 85,24}{0,3339 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 44,5455$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 44,5455$

LAMPIRAN XII

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 100,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,09	85,08
94,20	85,26
94,25	85,37
94,26	85,55
94,36	85,61
$\bar{X}_1 = 94,23$ $S_1 = 0,0983$	$\bar{X}_2 = 85,37$ $S_2 = 0,2157$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0983)^2 + (5-1)(0,2157)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,1676.$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,23 - 85,37}{0,1676 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 83,6638$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 83,6638$

LAMPIRAN XIII

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 20,0 µg/ml, DENGAN UJI "t" (Pooled t test)

X ₁ Diazepam	X ₂ Klordiazepoksida HCl
2,79	2,43
2,80	2,42
2,82	2,41
2,83	2,36
2,94	2,39
$\bar{X}_1 = 2,84$	$\bar{X}_2 = 2,40$
$S_1 = 0,0602$	$S_2 = 0,0277$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0602)^2 + (5-1)(0,0277)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,0468$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{0,0468 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 14,662$$

Keterangan :

X₁ = Koefisien partisi Diazepam

X₂ = Koefisien partisi Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Koefisien partisi rata-rata

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

t_{hitung} = 14,662.

LAMPIRAN XIV

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 30,0 µg/ml, DENGAN UJI " t " (Pooled t test)

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
2,80	2,40
2,81	2,42
2,81	2,43
2,95	2,47
2,96	2,49
$\bar{X}_1 = 2,87$	$\bar{X}_2 = 2,44$
$S_1 = 0,0814$	$S_2 = 0,037$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0814)^2 + (5-1)(0,037)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,0632$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{2,87 - 2,44}{0,0632 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 10,6079$$

Keterangan :

X_1 = Koefisien partisi Diazepam

X_2 = Koefisien partisi Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata koefisien partisi

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 10,6079$

LAMPIRAN XV

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 40,0 µg/ml, DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
2,81	2,37
2,81	2,39
2,86	2,40
2,90	2,43
2,96	2,44
$\bar{X}_1 = 2,87$	$\bar{X}_2 = 2,41$
$S_1 = 0,0638$	$S_2 = 0,0288$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0638)^2 + (5-1)(0,0288)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,04949$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{2,87 - 2,41}{0,04949 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 14,7601$$

Keterangan :

X_1 = Koefisien partisi Diazepam

X_2 = Koefisien partisi Klordiazepoksida

\bar{X} = Rata-rata koefisien partisi

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 14,7601$

LAMPIRAN XVI

TABEL KOEFISIEN KORELASI " r "

Derajat bebas (n-2)	Koefisien korelasi " r " dari	
	P = 0,05	P = 0,01
1	0,9969	0,9999
2	0,9500	0,9900
3	0,8783	0,9587
4	0,8114	0,9172
5	0,7545	0,8745
6	0,7067	0,8343
7	0,6664	0,7977
8	0,6319	0,7646
9	0,6021	0,7348
10	0,5760	0,7079
11	0,5529	0,6835
12	0,5324	0,6614
13	0,5139	0,6411
14	0,4973	0,6226
15	0,4821	0,6055

LAMPIRAN XVII

TABEL DISTRIBUSI " t "

d. f. (n+n-2)	t _{.90}	t _{.95}	t _{.975}	t _{.99}	t _{.995}
1	3,078	6,3138	12,706	31,821	63,657
2	1,886	2,9200	4,3027	6,965	9,9248
3	1,638	2,3534	3,1825	4,541	5,8409
4	1,533	2,1318	2,7764	3,747	4,6041
5	1,476	2,0150	2,5706	3,365	4,0321
6	1,440	1,9432	2,4469	3,143	3,7074
7	1,415	1,8946	2,3646	2,998	3,4995
8	1,397	1,8595	2,3060	2,896	3,3554
9	1,383	1,8331	2,2622	2,821	3,2498
10	1,372	1,8125	2,2281	2,764	3,1693
11	1,363	1,7959	2,2010	2,718	3,1058
12	1,356	1,7823	2,1788	2,681	3,0545
13	1,350	1,7709	2,1604	2,650	3,0123
14	1,345	1,7613	2,1448	2,624	2,9768
15	1,341	1,7530	2,1315	2,602	2,9467

DAFTAR PUSTAKA

1. Sulistian Gan., 1980. Cetak ulang 1981. Farmakologi Dan Terapi. Ed. II.; Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. pp. 2 - 3; 111 - 112; 125.
2. Frederich H. Meyer. Ernest Jawetz. Alan Golfien., 1970. Review of Medical Pharmacology. 2nd edition.; Lange Medical Publication.: Los Altos, California. pp. 213, 457 - 474.
3. Daftar Obat Essensial Nasional. 1980/1981. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. p. 13.
4. Reynold, James E.F., 1982. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 28th edition.; The Pharmaceutical Press.: London. pp. 1506 - 1508, 1519 - 1526.
5. Vallner, Joseph J., 1977. Binding of Drug by Albumin and Plasma Protein. Journal of Pharmaceutical Sciences 66. pp. 447 - 450.
6. Osol, Arthur., 1980. Remington's Pharmaceutical Science. 16th edition.; Mack Publishing Company. : Easton, Pennsylvania 18042. pp. 187 - 192, 704 - 705.
7. Steinhardt, Jacinto., et.al. 1969. Multiple Equilibrium in Proteins. Vol. II.; Academic Press.: New York and London. pp. 34 - 65.
8. Garret, Edward R., et.al. 1977. Drug Fate and Metabolism. Vol. 1.; Marcel Dekker Inc.: New York and Basel. pp. 188 - 227.

9. Wiegand R.G. and Chun A.H.C., 1975. Serum protein Binding of Erythromycin and Erythromycin 2' - propionat ester. Journal of Pharmaceutical Sciences. 62. pp. 961 - 966.
10. Wolfgang Loscher., 1979. A Comparative Study of the Protein Binding of Anticonvulsant Drug for Dog and Man. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol. 208. no. 3. p. 429.
11. Dyer, John R., 1965. Application of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds. Printice - Hall Inc. : Englewood Cliffs, N.I., pp. 1 - 10.
12. Goldstein, Avram., et.al. 1974. Principles of Drug Action. The Basis of Pharmacology. 2nd edition.; John Wiley and Sons.: New York, London, Sydney, Toronto. pp. 42 - 53, 158 - 164, 190 - 191.
13. Higashi, Yutaka., et.al. 1978. Effect of Salicylate the Binding of Sulfonamides to Bovin Serum Albumin. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 26. pp. 3571 - 3576.
14. Chien W.Yie., et.al. 1975. Linear Relationship Between Plasma Binding and Lipophilicity of Disopyramide Derivat. Journal of Pharmaceutical Sciences. 64. pp. 916 - 966.
15. Inoue, Sho., et.al. 1974. The Partition Coefficient of Amino Uracil Derivat. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 22. pp. 2064 - 2068.

16. Par - Lin Hsu. Joseph K.H., et.al. 1977. Structure Relationship for Binding of Sulfonamides and Penicillins to Bovin Serum Albumin by Fluorescence Probe Technique. Journal of Pharmaceutical Sciences. 63. pp. 27 - 31.
17. Curry, Stephen H., 1980. Drug Disposition and Pharmacokinetics With A Consideration of Pharmacological and Clinical Relationships. 3rd edition. Blackwell Scientific Publications. : Oxford, London, Edinburgh Boston, Melbourne. pp. 14 - 15, 88 - 99.
18. Inagi, Toshio., 1981. Mechanism of Indomethacin Partition Between n. Oktanol and Water. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 29. pp. 2330 - 2337.
19. The Pharmaceutical Codex. 1979. In incorporating the British Pharmaceutical Codex. 11th edition.; London, The pharmaceutical Press. pp. 168,169, 286 - 270, 1012, 1015.
20. A. Macdonald, A.F. Michaelis. and B.Z. Saukawski. 1972. Analytical Profiles of Drug Substances. Volume I.; Academic Press.: New York, London, Sanfransisco,. pp. 40 - 51, 80 - 99.
21. Farmakope Indonesia.
Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979.
Farmakope Indonesia. Ed. III. Jakarta, pp. 149 - 150
211 - 212, 772 - 774.
22. Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of Drug. The Pharmaceutical Press, 17 Bloomsbury square W.C.I. ; London. pp. 248 - 249, 294, 738 - 739, 803.

23. Pecsok, Robert L., et.al. 1976. Modern Methods of Chemical Analysis. 2nd edition.; John Wiley & Sons.: New York Santa Barbara, London, Sydney, Toronto. pp. 133 - 136
24. Stauton, Edward., 1963. Text book of Biophysical Chemistry 3th edition.; The Macmillan Company.: New York. pp. 98 - 110.
25. Shoji Ozeki and Kikuo Tejima. 1974. Drug Interaction II, Binding of Pyrazolone and Pyrazolidin Derivat to Bovin Albumin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 22. (6). pp. 1297 - 1301.
26. Drs. Djarwanto PS. Drs. Pangestu Subagyo. 1981. Statistik Induktif. bagian kedua. Bagian Penerbitan Fakultas Ekanomi Universitas Gajahmada. Yogyakarta. pp. 140 - 142.
27. Wayne W. Daniel. 1974 & 1978. Biostatistics A Foundation for Analysis in the Health Sciences. 2nd edition.; John Wiley and Sons.: New York Chichester, Brisbane Toronto. pp. 174 - 182.

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Spektrum serapan inframerah dari sampel diazepam dan spektrum pembanding	34
2. Spektrum serapan inframerah dari sampel klordiazepoksida HCl dan spektrum pembanding.....	35
3. Kurva penentuan panjang gelombang maksimum diazepam dalam buffer pH 7,4	37
4. Kurva baku diazepam dalam buffer pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 226 nm serapan Vs. kadar.....	39
5. Kurva penentuan panjang gelombang maksimal diazepam dalam n. oktanol	41
6. Kurva baku diazepam dalam n. oktanol pada panjang gelombang maksimum 232 nm serapan Vs. kadar	43
7. Kurva penentuan panjang gelombang maksimum klordiazepoksida HCl dalam buffer pH 7,4	45
8. Kurva baku klordiazepoksida HCl dalam buffer pH 7,4 pada panjang gelombang maksimum 256 nm .serapan Vs. kadar	47
9. Kurva penentuan panjang gelombang maksimum klordiazepoksida dalam n. oktanol	49
10. Kurva baku klordiazepoksida HCl dalam n. oktanol pada panjang gelombang maksimum 270 nm serapan Vs. kadar	51

PENDAHULUAN

Pada saat ini makin majunya masyarakat kita sebagai hasil pembangunan nasional, perubahan-perubahan yang terjadi didalam masyarakat berjalan dengan cepat.

Akibat perubahan yang berjalan dengan demikian cepat rupanya tidak semua anggota masyarakat dapat langsung menyesuaikan diri, sehingga ada pula anggota masyarakat yang lambat atau sukar menyesuaikan diri dan merasa dirinya asing ditengah lingkungannya yang berubah dengan cepat tersebut. Keadaan ini dapat menyebabkan seseorang mengalami tekanan/ stress sehingga makin banyak pula yang ingin menanggulangi keadaan tersebut dengan obat-obatan yaitu dengan menggunakan obat-obatan golongan sedativa, hipnotika dan trnquilizer.

Diantara obat-obatan ini yang sampai saat ini umum dipakai adalah obat-obatan golongan Benzodiazepin yaitu antara lain diazepam, klordiazepoksida dan lain-lainnya. (1,2)

Seperti obat-obatan lain, turunan benzodiazepin untuk dapat menimbulkan efek farmakologis yang diinginkan tentunya obat tersebut harus dapat mencapai tempat aksi obat dan obat harus berada dalam bentuk bebas, tidak terikat oleh protein plasma.

Pada tempat aksi obat ini terjadi interaksi antara obat dengan reseptor sehingga timbul aksi farmakologis yang diinginkan. (6,13)

Tetapi sebelum mencapai tempat aksi obat, obat harus menembus membran biologis terlebih dahulu, yang untuk ini obat dipengaruhi oleh sifat-sifat fisik obat yang bersangkutan diantaranya kelarutan dalam lemak. Karena itu untuk dapat menimbulkan aksi farmakologis yang diinginkan, kelarutan obat dalam lemak atau koefisien partisi obat yang bersangkutan sangat memegang peranan. Disamping itu obat sebelum mencapai tempat aksi obat, sebagian obat akan berikatan dengan protein plasma, dan bila hal ini terjadi maka jumlah obat bebas yang mencapai tempat aksi obat akan berkurang sehingga aksi farmakologis yang ditimbulkan juga berkurang, karena hanya obat bebas yang dapat mencapai tempat aksi obat yang dapat menimbulkan efek farmakologis.

Dengan demikian, baik koefisien partisi maupun ikatan obat dengan protein plasma mempengaruhi aksi farmakologis yang diinginkan. (5)

Memperhatikan kenyataan yang ada bahwa aksi farmakologis obat-obat turunan benzodiazepin dipengaruhi oleh prosentase ikatan protein plasma dan koefisien partisinya, maka timbul masalah bagaimana hubungan antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi obat-obat turunan benzodiazepin. Apakah mempunyai hubungan yang positif atau negatif antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi.

Pada penelitian ini digunakan Klordiazepoksid dan Diazepam sebagai bahan percobaan dengan pertimbangan bahwa obat tersebut.....

tersebut merupakan obat yang saat ini banyak dipakai dan tercantum dalam daftar obat esensial nasional.(3)

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui secara *in vitro* apakah antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi dari Klordiazepoksid dan Diazepam sebagai turunan Benzodiazepin mempunyai hubungan yang positif atau negatif dan dilakukan pada pH 7,4.(9)

Metode yang digunakan untuk menentukan prosentase ikatan protein plasma adalah dengan kesetimbangan partisi antara dua cairan yang tidak saling campur. Dengan pertimbangan bahwa metode tersebut mudah dilakukan karena alatnya sederhana dan tidak memerlukan koreksi untuk ikatan obat yang terserap oleh membran seperti pada metode kesetimbangan dialisa, adapun kekurangan metode ini yaitu kemungkinan terjadinya denaturasi protein karena berinteraksi dengan pelarut organik yang digunakan, tetapi hal ini dapat diatasi dengan pemilihan pelarut organik yang sesuai dan pengadukan yang tidak terlalu kuat. Sedang untuk koefisien partisi digunakan metode penggojokan. (6,8,11,15)

Langkah-langkah yang akan dilakukan dalam melakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Pemeriksaan/identifikasi bahan, penelitian secara kualitatif.
- Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7,4.
- Pembuatan larutan baku induk.
- Penentuan.....

- Penentuan panjang gelombang maksimum.
- Pembuatan kurva baku.
- Penentuan koefisien partisi n oktanol/air pada
pH 7,4.
- Penentuan prosentase ikatan protein plasma pada
pH 7,4.

Dari penelitian ini diharapkan didapat secara pasti hubungan antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi dari diazepam dan klordiazepoksida pada pH 7,4.



BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Derivat Benzodiazepin.

1.1.1. Tinjauan umum mengenai Benzodiazepin(1,2,4,).

Klordiazepoksid dan diazepam merupakan derivat benzodiazepin, keduanya digunakan untuk terapi rasa takut dan kawatir, tetapi juga untuk relaksasi otot rangka dan terapi alkoholisme.

Kasiat benzodiazepin lebih luas dari pada meprobamate dan barbiturat, klordiazepoksid tidak saja berkasiat sentral, tetapi juga berkasiat perifer terhadap susunan saraf kolinerjik dan triptaminergik.

Klordiazepoksid dan diazepam bersifat nonselektif dalam penghambatan respons terkondisi, CPZ(klorpromazin) dapat menghambat respons terkondisi secara selektif, dan rupanya klordiazepoksid dan diazepam berguna sebagai obat yang dapat menimbulkan relaksasi otot secara sentral.

Derivat benzodiazepin berefek antikonvulsi lemah oleh karena itu lebih baik jangan diberikan pada penderita glaukoma untuk menghindari timbulnya serangan, dan sebaiknya jangan diberikan bersama alkohol, barbiturat atau fenotiazin, kombinasi dengan bahan diatas mungkin menimbulkan efek depresi yang berlebihan.

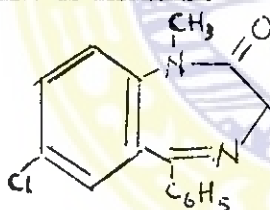
Pada pemakaian dalam dosis terapeutik rasa kantuk jarang timbul, pada over dosis bisa terjadi depresi susunan saraf pusat.

Banyak diantara penderita yang menggunakan obat penenang mempunyai psike yang lebih labil sehingga obat ini sering digunakan untuk percobaan bunuh diri. Derajat intoksikasi pada derivat benzodiazepin biasanya sangat ringan dan tidak memerlukan terapi khas. Efek yang unik adalah perangsangan nafsu makan, yang mungkin ditimbulkan oleh derivat benzodiazepin secara sentral.

1.1.2. Rumus bangun, rumus molekul, nama dagang, sifat fisika dan kimia dari turunan benzodiazepin. (1,2,4,19,20,21)

a. Diazepam.

- Rumus bangun:



7- Chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one.

- Rumus molekul: $C_{16} H_{13} Cl N_2 O$.

- Nama dagang :

Atensine, Tensium, Valium, Kalem, Diazepin, Paxate, Mentallium, Lovium, Medi-diazepam.

- Sifat fisika :

Pemerian: Serbuk putih, putih kekuningan, tidak berbau atau hampir tidak berbau, tidak berasa diikuti rasa pahit sesudahnya.

- Kelarutan: 1 : 333 dalam air
- 1 : 24 dalam alkohol
- 1 : 2 dalam kloroform
- 1 : 39 dalam ether
- 1 : 8 dalam aseton
- 1 : 60 dalam propilen glikol.

- Titik lebur: 131 - 135°C.

- Sifat kimia:

Sifat kimia disini meliputi absorpsi, distribusi dan ekskresi serta interaksi dengan zat lain.

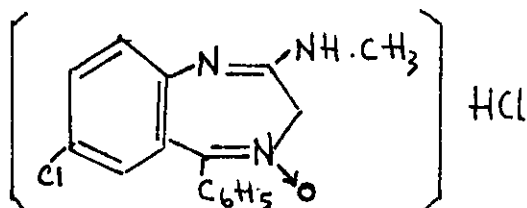
- Diabsorpsi secara cepat dan lengkap setelah pemakaian lewat mulut (per oral).
- Kira-kira 97% terikat oleh protein plasma.
- Dalam darah sebagian besar dimetabolisir dalam bentuk N-des-methyldiazepam.
- Kira-kira 70% diekskresi dalam urine dan 10% dalam faeces, diekskresi sedikit banyak dalam empedu.

b. Klordiazepoksida Hidroklorida.

- Rumus bangun :

b. Klordiazepoksida Hidroklorida.

- Rumus bangun :



7- Kloro-2-metiamino-5fenil-3H-1,4-benzodiazepin-4-oksida hidroklorida.

- Rumus molekul: $C_{16} H_{15} Cl_2 N_3 O$.

- Nama dagang:

Calmoden, Chlordiazepoxidi Hydrochloridum, Librium, Tro-
pium, Tensinyl, Cetabrium.

- Sifat fisika :

Pemerian: Serbuk putih, atau putih kekuningan, tidak ber-
bau dan rasa sangat pahit.

- Kelarutan: 1 : 10 dalam air pada $20^{\circ}C$.

1 : 40 dalam alkohol

sangat sedikit larut dalam kloroform dan ether

- Titik lebur: $212 - 218^{\circ}C$ dengan peruraian.

- Sifat kimia:

- Diabsorpsi dengan segera setelah pemberian lewat mulut/
per oral.

- Kira-kira 94% Klordiazepoksid dalam tubuh diikat oleh
protein plasma.

- Ekskresi: 60% diekskresi dalam urine dan 10 sampai 20%
dalam faeces, kurang dari 2% dari dosis/pemberian dieks-
kresi dalam urine dalam bentuk tidak berubah.

1.1.3. Identifikasi secara kualitatif (4,19,20,21)

Identifikasi secara kualitatif ini berlaku untuk klordiazepoksida HCl maupun diazepam yang dipergunakan dalam penelitian ini, yaitu meliputi:

- Reaksi warna.

Kurang lebih 20 mg bahan ditambahkan 5ml asam klorida dan 10ml air, panaskan sampai mendidih, dinginkan dan kemudian tambahkan 2ml 0,1% larutan natrium nitrit diamkan satu menit dan tambahkan 1 ml 0,5% larutan ammonium sulfamat, diamkan satu menit dan tambahkan 1 ml larutan 0,1% N-1-naftil etilen diamin dihidro klorida; akan timbul warna ungu kemerah-merahan.

- Titik lebur.

Prinsip dari penentuan titik lebur ini adalah membandingkan titik lebur zat yang dianalisa dengan zat standard/baku. Pelaksanaannya yaitu mencampur zat standard dengan zat yang akan dianalisa kemudian ditentukan titik leburnya dan bandingkan titik leburnya dengan zat standardnya sendiri, atau tentukan titik lebur zat yang dianalisa dan bandingkan dengan pustaka yang ada.

- Spektrum serapan infra merah.

Prinsipnya adalah menentukan spektrum puncak-puncak serapan dari zat yang dianalisa kemudian dibandingkan terhadap spektrum puncak-puncak serapan pembanding dari zat yang dianalisa tersebut.

1.2. Ikatan protein plasma

1.2.1. Tinjauan umum.

Pada umumnya, didalam tubuh manusia, obat mengadakan ikatan baik dengan protein plasma maupun dengan protein jaringan, yang mana ikatan obat dengan protein tersebut dapat mempengaruhi efek farmakologis dari obat tersebut. (12,13,16,17)

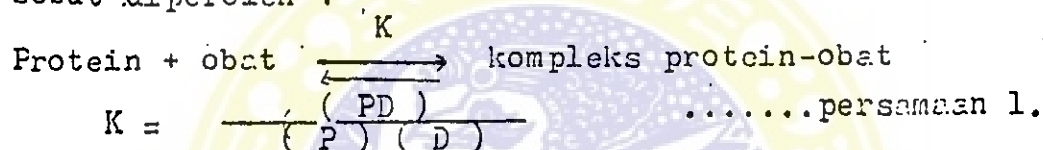
Goldstein menyatakan pendapatnya bahwa suatu obat dapat memberikan efek farmakologik yang diinginkan bila obat tersebut dapat mencapai tempat aksi obat sebab pada tempat inilah terjadi interaksi antara obat dengan reseptor sehingga memberikan efek yang diinginkan dari obat yang bersangkutan (12,13,17)

Ikatan antara obat dengan protein ini dapat menyebabkan persaingan antara protein dengan reseptor untuk berikatan dengan obat, sebagai akibatnya tidak seluruh obat mencapai tempat aksi obat. Sehingga hanya obat-obat yang bebas saja yang dapat mencapai tempat aksi obat untuk berikatan dengan reseptor sehingga menimbulkan efek farmakologis dari obat yang bersangkutan (6,13).

Ikatan obat protein ini mempengaruhi tahap tahap farmakokenetik yang meliputi distribusi, metabolisme dan eliminasi dari obat-obatan. Ikatan molekul obat dengan protein adalah merupakan salah satu persediaan obat dalam tubuh, yang mana bila molekul

obat bebas dalam darah menurun, maka obat yang terikat dengan protein dapat diubah kembali menjadi bentuk bebas yang aktif. Hal ini terjadi karena ikatan obat dengan protein umumnya bersifat bolak-balik / reversibel (6,12,17)

Ikatan obat-protein adalah merupakan suatu interaksi obat dengan protein yang dapat membentuk suatu kompleks yang serupa kompleks obat reseptor, atau kompleks enzim - substrat. Pada interaksi tersebut berlaku hukum massa (Mass Law Expression) sehingga berdasar hukum tersebut diperoleh :



dimana: K = konstanta asosiasi
 (PD) = kadar kompleks obat-protein
 (P) = kadar protein bebas yang tidak berikatan dengan obat.
 (D) = kadar obat yang tidak berikatan dengan protein.

Bila r adalah jumlah rata-rata molekul obat yang berikatan dengan setiap molekul protein, maka diperoleh :

$$r = \frac{(PD)}{(P)_t} \quad \dots\dots\dots \text{persamaan 2.}$$

dimana : $(P)_t$ = kadar total protein yang ada dalam sistem ikatan obat-protein.

Bila kuantitas r dihubungkan dengan K dan (D) atau persamaan 1 dan 2 digabung, maka diperoleh :

$$r = \frac{K(D)}{1 + K(D)} \quad \dots\dots\dots \text{persamaan 3.}$$

Dalam kenyataan

Dalam kenyataan molekul-molekul obat tidak berikatan pada satu tempat, melainkan dibanyak tempat pada protein(6,14,22) sehingga persamaan 3 dapat diturunkan menjadi :

$$r = \frac{n \cdot K(D)}{1 + K(D)} \quad \dots \dots \dots \text{persamaan 4.}$$

dimana : n = jumlah tempat ikatan dari molekul-molekul obat.

K = konstanta asosiasi intrinsik yang menunjukkan kekuatan molekul-molekul obat dengan sebuah tempat ikatan.

Oleh karena tidak seluruh obat yang ada berikatan dengan protein, maka timbul istilah β atau fraksi dari obat total yang berikatan dengan protein.

$$\beta = \frac{(D)_b}{(D)_t} \quad \dots \dots \dots \text{persamaan 5.}$$

dimana : $(D)_b$ = kadar obat yang berikatan dengan protein
 $(D)_t$ = kadar obat total yang ada dalam sistem obat-protein.

Kenyataan yang ada, nilai β tidak konstan, dapat berubah-ubah tergantung dari kadar obat dalam sistim obat-protein
 (14)

Bila persamaan 4 ditulis sebagai berikut :

$$\frac{(D)_b}{(D)_t} = \frac{n \cdot K(D)}{1 + K(D)}$$

Kemudian persamaan 5 dan 6 digabungkan, maka diperoleh persamaan :

$$\beta = \frac{1}{1 + \frac{(D)}{n \cdot (P)_t} + \frac{1}{n \cdot K(P)_t}} \quad \dots \text{persamaan 7}$$

Dari rumus diatas dapat diketahui bahwa secara in vivo, nilai β selain tergantung dari kadar obat juga tergantung pada jumlah tempat ikatan obat.

1.2.2. Metode penentuan ikatan protein plasma

Beberapa metode yang sering digunakan dalam penentuan ikatan protein plasma adalah sebagai berikut:

a. Metode kesetimbangan dialisa (5,7,13,14,)

Pada metode ini, kompartemen yang terdiri dari protein dipisahkan dengan kompartemen lain dengan sebuah membran yang dapat ditembus oleh semua komponen yang berada dalam sistem kecuali protein. Beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan terjadinya kesetimbangan adalah penguapan, suhu dan ukuran membran.

b. Penyaringan ultra (8,11)

Metode ini serupa dengan metode kesetimbangan dialisa hanya saja fasa yang terdiri dari protein bebas dipisahkan dengan fasa yang lain oleh membran yang semipermeabel, dan untuk memisahkan protein bebas dengan fasa yang lain dapat juga dengan menggunakan tekanan ultrasentrifugal. Pada metode ini sampel yang berupa protein dan obat ditempatkan dalam tabung dialisa, lalu disentrifus dan ultrafiltratnya ditampung untuk ditentukan kadarnya. Dalam hal ini kadar...

ini kadar obat yang berada dalam filtrat, sama dengan kadar obat bebas setelah terjadi ikatan protein. Prosentase ikatan protein plasma dapat dihitung dengan rumus (in vitro) :

$$\% \text{ Ikatan protein plasma} = \frac{(D)_b}{(D)_t} \times 100 \%$$

dimana $(D)_b$ diperoleh dari kadar total $(D)_t$ dikurangi kadar obat dalam filtrat.

c. Kesetimbangan partisi (7,8)

Pada metode ini terjadi distribusi zat dalam fasa air yang mengandung protein dengan fasa organik yang tidak dapat bercampur dengan air dan protein. Pelaksanaan disini yaitu larutan zat dalam pelarut air dicampur dengan protein, lalu dicampur dengan pelarut organik yang tidak dapat bercampur dengan air dan protein, agar terjadi distribusi. Setelah terjadi distribusi, kadar zat dalam pelarut organik ditentukan. Adapun, prosentase ikatan protein plasma dapat diperoleh dari rumus dibawah ini :

$$\% \text{ Ikatan protein plasma} = \frac{C_b}{D_1} \times 100 \%$$

disini C_b = kadar obat yang terikat protein yang didapat dari :

$$C_b = \frac{(D_1 - D_2') P - D_2'}{P}$$

dimana: D_1 = kadar zat mula-mula dalam sistem obat-protein

D_2' = kadar

D'_2 = kadar zat dalam fasa organik setelah perlakuan

p = koefisien partisi sebelum adanya protein

Jadi prinsip metode ini adalah penentuan koefisien partisi sebelum dan sesudah adanya protein. Penggunaan metode tersebut diatas pada penelitian ini mengalami sedikit perubahan dan perubahan ini dikemukakan langsung pada pelaksanaannya.

d. Penyaringan gel (7,8)

Pada metode ini, campuran zat-protein dimasukkan kedalam kolom (Sephadex) kemudian dieluasi dengan buffer. Setelah itu dipisahkan dalam dua bagian, yaitu bagian yang terdiri dari zat bebas dan bagian yang lain terdiri dari campuran zat yang terikat oleh protein dan protein yang bebas. Bagian yang terdiri dari zat bebas inilah yang dianalisa.

1.3. Koefisien partisi.

1.3.1. Tinjauan umum (15,17,18).

Bila suatu zat ditambahkan kedalam dua macam pelarut yang tidak saling campur maka disini akan terjadi distribusi zat yang bersangkutan dalam dua pelarut tersebut. Umumnya pelarut yang

satu berupa.....

satu berupa air sedang yang lain adalah pelarut organik yang tidak bercampur dengan air, seperti n-oktanol, kloroform, sikloheksan dan karbon tetra klorida. Dalam distribusi ini perbandingan kadar zat dalam kedua pelarut tersebut adalah konstan pada suhu dan pH yang konstan.

Distribusi tersebut dapat terjadi akibat langsung dari kesetimbangan termodinamika, yang mana hal tersebut seperti yang diuraikan dibawah ini : Bila pelarut yang satu diberi simbol A dan yang lain diberi simbol B, maka diperoleh persamaan-persamaan (15) :

$$\bar{G}_A = \bar{G}_A^{\circ} + RT \ln a_A \dots\dots\dots (I).$$

$$\bar{G}_B = \bar{G}_B^{\circ} + RT \ln a_B \dots\dots\dots (II).$$

dimana : \bar{G}_A = molal energi bebas solut dalam pelarut A.

\bar{G}_B = molal energi bebas solut dalam pelarut B.

a_A = aktifitas solut dalam pelarut A.

a_B = aktifitas solut dalam pelarut B.

Pada saat terjadi kesetimbangan dalam dua pelarut tersebut, $\bar{G}_A = \bar{G}_B$ pada suhu dan tekanan tertentu sehingga :

$$\bar{G}_B^{\circ} + RT \ln a_B = \bar{G}_A^{\circ} + RT \ln a_A \dots\dots\dots (III).$$

Pada suhu yang tertentu harga \bar{G}_A° dan \bar{G}_B° adalah konstan, sehingga persamaan (III) dapat diubahmen-...

menjadi :

$$\ln \frac{a_B}{a_A} = \text{Konstan, atau } \frac{a_B}{a_A} = K.$$

Pernyataan K diatas merupakan pernyataan dari hukum Nernst, yang menyatakan bahwa suatu zat yang terdistribusi kedalam dua pelarut yang tidak saling campur, distribusinya sedemikian rupa sehingga pada saat terjadinya kesetimbangan, perbandingan aktifitas zat yang bersangkutan dalam dua pelarut tersebut adalah konstan pada suhu tertentu.

Bila larutannya cukup encer atau solutnya ideal, maka aktifitas zatnya sama dengan kadarnya sehingga diperoleh :

$$\frac{C_B}{C_A} = K$$

dimana K adalah koefisien partisi atau koefisien distribusi dalam dua macam pelarut yang tidak saling campur. Hukum Nernst ini hanya berlaku bila zat yang mengalami distribusi tidak berasosiasi atau disosiasi. Bila solutnya mengalami asosiasi menjadi molekul yang lebih kompleks atau mengalami disosiasi menjadi ion-ion atau molekul yang lebih sederhana, maka hukum Nernst tidak dapat digunakan. Umumnya hukum ini digunakan untuk ekstraksi, analisa dan penentuan konstanta kesetimbangan.

Koefisien partisi K tidak dipengaruhi oleh kadar zat mula-mula, tetapi dipengaruhi oleh pH dan ion yang berlawanan muatan (counter ion).

1.3.2. Metode penentuan koefisien partisi.

Beberapa metode yang sering digunakan dalam penentuan koefisien partisi adalah sebagai berikut :

a. Metode botol kocok ("Shaking Flask Method") (18)

Pada metode ini zat dilarutkan dalam pelarut yang satu (kelarutan zat dalam pelarut tersebut lebih besar dari pelarut satunya), lalu dicampur dengan pelarut satunya, dan dikocok perlahan-lahan pada suhu $25^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ selama waktu tertentu.

Kadar zat dalam fasa air setelah terjadi partisi ditentukan secara spektrofotometri atau kromatografi gas.

Bila :

- V_o = volume pelarut organik
- V_w = volume pelarut air
- C_o = kadar zat dalam fase organik
- C_w = kadar zat dalam fase air
- C_{in} = kadar zat mula-mula yang dilarutkan.

maka:

$$C_o = \frac{(C_{in} V_o - C_w V_w)}{V_o}$$

$$K = \frac{C_o}{C_w}$$

Metode ini sering digunakan untuk zat-zat yang mempunyai kelarutan yang besar dalam pelarut organik dibanding dalam air.

. b. Metode.....

b. Metode pengocokan ("Shaking Method")

Pada metode ini, dilakukan pengocokan larutan zat dalam air dengan pelarut organik pada suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama satu jam. Setelah terjadi distribusi, kadar dalam air ditentukan secara spektrofotometri atau kromatografi gas. Adapun penentuan koefisien partisi dapat ditentukan dari persamaan sebagai berikut :

$$K = \frac{C_1 - C_w}{C_w} \bar{X} \cdot \frac{V_w}{V_o}$$

dimana; C_1 = kadar zat mula-mula yang dilarutkan.

C_w = kadar zat dalam air setelah terjadi distribusi

V_o = Volume pelarut organik

V_w = Volume pelarut air.

1.4. Metode spektrometri yang digunakan

1.4.1. Metode spektrofotometri sinar lembayung ultra (11,21, 23,24).

Pada metode ini berlaku dua hukum yang selalu berhubungan erat yaitu:

1. Hukum Beer :

Suatu berkas sinar dengan panjang gelombang tertentu dan intensitas I_o , bila mengenai kuvet yang berisi larutan dengan kadar C , maka intensitas sinar yang diteruskan akan mengalami penurunan secara eksponensial.

$$I_t = I_o \cdot e^{-KC}$$

2. Hukum.....

2. Hukum Lambert:

Suatu sinar tunggal (monokromatis) dengan panjang gelombang tertentu dan intensitas I_0 , bila mengenai kuvet yang mempunyai ketebalan b dan berisi larutan, atau melalui suatu medium yang transparan, maka sinar yang diteruskan akan mengalami penurunan intensitas yang sebanding dengan tebal kuvet dan intensitas sinar yang datang. Atau dapat dikatakan bahwa penurunan intensitas tersebut sebanding dengan pangkat penambahan tebal kuvet.

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kb}$$

Hukum Lambert ini disebut juga hukum Bouguer, dan bila kedua hukum tersebut digabungkan, maka diperoleh hukum Lambert-Beer atau Beer-Bouguer atau biasa disebut hukum Beer saja :

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kbc}$$

$$\frac{I_t}{I_0} = e^{-kbc}$$

dimana transmisi $T = \frac{I_t}{I_0}$, sehingga:

$$T = \frac{I_t}{I_0} = e^{-kbc}$$

$$\text{atau } A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I_t} = abc.$$

dimana: a = absorpsifitas
 b = tebal kuvet (cm)
 c = kadar (mol/liter)

Metode.....

1.4.2. Metode spektrofotometri sinar tampak (11,21,23)

Pada dasarnya sama seperti metode spektrofotometri sinar lembayung ultra, hanya bedanya disini ialah larutan zat yang akan ditentukan kadarnya harus berwarna dengan penambahan pereaksi-pereaksi tertentu.

1.4.3. Cara penetapan kadar dengan metode spektrofotometri

Ada tiga cara untuk menetapkan kadar dengan metoda spektrofotometri ini yaitu:

1. Menggunakan larutan perbandingan (23)

Larutan baku dibuat sedemikian rupa sehingga mempunyai kadar yang kira-kira menyamai atau mendekati kadar zat yang diamati (ditentukan kadarnya, kemudian bandingkan serapan larutan baku dengan serapan larutan zat yang akan ditentukan kadarnya dengan memasukan pada persamaan sebagai berikut:

$$C_1 = \frac{A_1}{A_s} \times C_s$$

dimana : C_1 = larutan zat yang akan ditentukan kadarnya.

C_s = kadar larutan baku

A_1 = serapan zat yang akan ditentukan kadarnya.

A_s = serapan larutan baku.

2. Membuat kurva baku (23)

Prinsip dari cara ini adalah mengamati serapan larutan zat.....

larutan zat yang telah diketahui kadarnya dari berbagai kadar pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva serapan dari larutan zat terhadap kadar (dari kurva ini dapat diketahui persamaan garisnya). Bila suatu larutan zat diketahui serapannya, tetapi tidak diketahui kadarnya, maka dengan memasukan serapan tersebut pada persamaan garis yang telah dibuat sebelumnya, akhirnya akan diketahui kadarnya.

3. Membandingkan dengan serapan yang diperoleh (23)

Prinsip disini adalah membandingkan serapan dari suatu larutan zat yang tidak diketahui dengan serapan yang telah diketahui kadarnya dari zat yang sama (pelarut dan panjang gelombang -- yang digunakan sama).

Bila diketahui:

A (serapan = E (ekstingsi) = D (kerapatan optik berdasarkan hukum Lambert-Beer, maka:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-KbC}$$

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-0,4343 Kbc}$$

$$\log I_0 / I_t = \sum . b . C$$

Penentuan kadar disini tergantung dari satuan kadar yang digunakan, bila kadarnya mempunyai satuan molar dan tebal medium 1 cm, maka yang digunakan adalah koefisien ekstingsi spesifik yaitu :

$$\left(\sum \frac{1}{1 \text{ cm}} \right)$$

Cara penetapan ini sebenarnya sama seperti cara

1. yaitu

1. yaitu menggunakan larutan pambanding hanya disini larutan. pambandingnya adalah zat yang telah diketahui kadarnya, serapan dan panjang gelombangnya yang mana kesemuanya itu dilambangkan dengan suatu notasi yaitu $\epsilon \frac{1\%}{1\text{cm}}$ pada λ nm.



BAB II

BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN

2.1. Bahan penelitian

Dalam penelitian ini, digunakan bahan atau sampel dari turunan Benzodiazepines yaitu :

- Diazepam, diperoleh dari P.T. Phapros, Jl. Simongan 131 Semarang.

Berasal dari: Fabbrica Italiana Sintetici SPA - Italy.

Dengan No. Bahan Baku : 316.

Code Bahan Baku : AD/4.

Order Phapros : Ph - 066.

- Klordiazepoksida HCl diperoleh dari P.T. Phapros, Jl. Simongan 131 Semarang. Berasal dari : Siois - Fireuse - Italy.

Dengan No. Bahan Baku : 295.

Order Phapros : Ph - 059.

Bahan-bahan yang digunakan sebagai bahan penelitian yang tersebut diatas bukan merupakan bahan dengan kualitas untuk analisa, melainkan kualitas untuk farmasi, dengan sertifikat analisa terlampir.

Bahan-bahan lain yang digunakan :

- Plasma Protein Fraction (Human), 5%, USP, yang diproduksi oleh Cutter Biological Canada.
- N. Oktanol buatan Merck (p.a.)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ buatan Merck (p.a.)
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ buatan Merck (p.a.)

2.2. Alat yang digunakan.

- Beaker glass.
- Labu ukur.
- Pipet volume.
- Sentrifuse.
- Spektrofotometer Biochrom Ultrospec 3050 LK3.
- pH meter.
- Ainsworth monopan ballance.
- Thermostate
- Meltig Point Apparatus.
- Infra red Spektrofotometer Perkin Elmer 735 B

2.3. Metode penelitian.

2.3.1. Identifikasi bahan penelitian secara kualitatif (4,19,20,21,)

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menunjukkan bahwa bahan-bahan penelitian yang digunakan memang benar turunan Benzodiazepines.

Pelaksanaan:

- Kurang lebih 20 mg zat dilarutkan dalam 5ml Hcl dan 10 ml air panaskan sampai mendidih, dinginkan
...tambahkan.....

tambahkan 2 ml larutan natrium nitrit 0,1 %,
biarkan 1 menit tambah 1 ml larutan ammonium-
sulfamat 0,5 % diamkan 1 menit, tambahkan N-1-
naftiletilediamin dihidro klorida 0,1 %.
Amati warna yang terjadi.

- Titik lebur.

Zat dari turunan Benzodiazepine diambil sedi -
kit kemudian letakan pada gelas obyekt dari alat
Melting Point Apparatus lalu amati suhu pada
waktu zat mulai melebur.

3.2. Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7,4 (22,23,24)

Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7,4 adalah dengan
cara mencampur larutan asam lemah dengan garamnya
dalam jumlah perbandingan tertentu sehingga dipero-
leh larutan dengan pH 7,4.

Prosedur asli:

Larutan 0,067 Molar $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (9,465 gram
per 1000,0 ml) sebanyak 800,0 ml dicampur dengan la-
rutan 0,076 Molar NaH_2PO_4 (9,073 gram per 1000,0 ml
sebanyak 200,0 ml.

Pelaksanaan:

Menimbang dengan teliti $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak
9,4925 g larutkan dengan kurang lebih 700 ml aqua-
dest lalu masukkan dalam labu ukur 1000,0 ml kemudi-
an timbang lagi dengan tepat $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sebanyak
2,070 g.....

2,0870 g larutan dengan kurang lebih 150 ml aqua-dest lalu masukkan dalam labu ukur tersebut diatas kemudian di ad kan hingga 1000,0 ml.

Untuk menguji apakah bufer yang dibuat telah tepat dengan apa yang dimaksud maka disini dilakukan pengukuran dengan pH meter. Untuk melakukan pengukuran dengan pH meter ini maka sebelumnya alat ini dibakukan dahulu dengan pH baku(standard), baru dilakukan pengukuran pH dari bufernya. Disini pH yang diinginkan adalah antara pH 7,35 - 7,45.

2.3.3. Pembuatan larutan baku induk (21)

Pelaksanaan:

Menimbang dengan teliti zat-zat turunan benzodiazepine sebanyak 50 mg, masukkan dalam beker glass kemudian tambahkan dengan sedikit demi sedikit larutan bufer hingga larut, kemudian masukan dalam labu ukur 500,0 ml lalu di ad kan.

Disini larutan baku induk mempunyai kadar 100 µg per ml dan untuk tiap-tiap bahan dilakukan tiga kali penimbangan untuk membuat tiga larutan baku induk.

2.3.4. Penentuan panjang gelombang maksimum (22)

Prinsipnya adalah mencari panjang gelombang tertentu, yang mana pada panjang gelombang tersebut serapan zat mencapai maksimum.

Pelaksanaan:

Membuat larutan zat dari larutan baku induk, dengan cara mengencerkan hingga kadarnya kurang - lebih $4 \mu\text{g/ml}$ dan $6 \mu\text{g/ml}$. Setelah itu diamati pada spektrofotometer dan catat serapannya setiap perubahan panjang gelombang pada daerah panjang gelombang antara 200 nm hingga 300 nm, dimana kerapatan tiap kali pengamatan adalah 2 nm hingga 5 nm. Sebagai blangko digunakan bufer fosfat pH 7,4.

2.3.5. Pembuatan kurva bakuPrinsip:

Menentukan serapan dari beberapa kadar zat yang dipakai dalam penelitian pada panjang gelombang maksimum, dan serapan ini harus memenuhi hukum Lambert-Beer yaitu antara 0,2 - 0,8.

Pelaksanaan:

Membuat pengenceran terhadap ketiga larutan baku induk dari zat yang sama, dimana tiap larutan baku induk ini dibuat tiga larutan yang berbeda kadarnya satu sama lain, yaitu untuk larutan baku induk pertama dibuat pengenceran hingga kadarnya $2 \mu\text{g/ml}$, $3 \mu\text{g/ml}$ dan $4 \mu\text{g/ml}$. Sedang untuk baku induk yang kedua dibuat pengenceran hingga kadarnya $4 \mu\text{g/ml}$, $5 \mu\text{g/ml}$ dan $6 \mu\text{g/ml}$ begitu pula untuk baku induk yang ketiga dibuat pengenceran hingga kadarnya $7 \mu\text{g/ml}$

per ml, 8 $\mu\text{g/ml}$ dan 10 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian amati serapannya pada spektrofotometer ultra lembayung dan untuk blangkonya digunakan bufernya (pelarutnya).

2.3.6. Penentuan koefisien partisi n oktanol - air pada pH 7,4 (15)

Prinsipnya adalah mencampur larutan zat turunan benzodiazepine dalam bufer dengan pelarut organik yang tidak dapat-campur lalu digojok. Setelah terjadi kesetimbangan partisi maka kadar dalam pelarut bufer ditentukan kadarnya dengan spektrofotometer.

Pelaksanaan:

Membuat pengenceran hingga kadar 20 $\mu\text{g/ml}$, 30 μg per ml dan 40 $\mu\text{g/ml}$ terhadap ketiga larutan baku induk dari zat yang sama, kemudian ambil dari tiap pengenceran 10,0 ml dan campur dengan n oktanol dengan volume yang sama lalu gojok selama dua menit dalam corong pisah. Setelah digojok di pisahkan fase airnya kemudian sentrifuse selama lima menit, lalu amati serapannya pada panjang gelombang maksimum. Untuk blanko digunakan bufer yang diperlakukan sama seperti diatas.

2.3.7. Penentuan prosentase ikatan protein plasma pada pH 7,4 (7,8,9,10)

Prinsip dari metode yang digunakan ini ialah : adanya kesetimbangan partisi antara dua pelarut yang

tidak saling campur yaitu antara larutan zat dalam protein plasma dengan pelarut organik (n,oktanol). Disini kadar zat yang bebas (yang tidak terikat dengan protein plasma) akan mengalami kesetimbangan partisi dengan n. oktanol. Sedang untuk penentuan kadarnya, yang diamati adalah serapan dari pada fasa n.oktanolnya yang mana serapan ini disetarakan dengan kadar zat yang tidak terikat dengan protein plasma. Dengan kata lain bahwa serapan dari fasa oktanol setelah terjadi kesetimbangan partisi akan sebanding/setara dengan kadar zat yang bebas dalam protein plasma sebelum terjadi kesetimbangan partisi.

Untuk menentukan kadar zat yang bebas dalam protein plasma maka dibuat kurva baku serapan zat dalam fasa n.oktanol setelah terjadi kesetimbangan partisi Vs. kadar zat mula-mula dalam pelarut bufer sebelum ditambahkan n.oktanol. (sebelum terjadi kesetimbangan partisi). Pembuatan kurva baku disini dikerjakan seperti perlakuan koefisien partisi.

Pelaksanaan:

- Pembuatan kurva baku untuk penentuan kadar zat yang bebas dalam protein plasma.

Membuat pengenceran terhadap ketiga larutan baku induk dari zat yang sama, dimana tiap larutan baku induk ini dibuat larutan yang berbeda satu --

sama lain, yaitu untuk diazepam : dibuat pengenceran hingga kadarnya 2 $\mu\text{g/ml}$, 4 $\mu\text{g/ml}$, 6 $\mu\text{g/ml}$, 8 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$.

Untuk klordiazepoksida HCl dibuat pengenceran 8 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 12 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$.

Dari semua pengenceran diatas masing-masing dipipet 10,0 ml dan ditambahkan oktanol sama banyak kemudian dikerjakan seperti perlakuan koefisien partisi kemudian fasa oktanolnya dipisahkan lalu disentrifuse selama lima menit.

Fasa oktanol dari kadar 4 $\mu\text{g/ml}$, 6 $\mu\text{g/ml}$, 8 $\mu\text{g/ml}$ diamati serapannya untuk menentukan panjang gelombang maksimum, catat serapannya setiap perubahan panjang gelombang pada daerah panjang gelombang antara 200 nm - 300 nm. Untuk blangko digunakan fasa oktanol yang telah diperlakukan sama seperti diatas hanya larutan zat yang digunakan diganti dengan bufer.

Selanjutnya untuk pembuatan kurva baku, yaitu dari masing-masing fasa oktanol yang telah diperlakukan seperti koefisien partisi diamati serapannya pada panjang gelombang maksimum.

Hasil dari pengamatan ini dibuat kurva baku serapannya dalam fasa oktanol setelah terjadi kesetimbangan Vs. kadar zat mula-mula sebelum terjadi kesetimbangan.

- Penentuan prosentase ikatan protein plasma pada pH 7,4 (9,10)

Melakukan pengenceran hingga kadar 100 $\mu\text{g/ml}$, 80 $\mu\text{g/ml}$ dan 60 $\mu\text{g/ml}$ terhadap ketiga larutan baku induk dari zat yang sama kemudian ambil dari tiap pengenceran dengan pipet volume sebanyak 5,0 ml dan campur dengan protein plasma sebanyak 5,0 ml lalu letakkan pada thermostate yang telah diatur pada suhu $37^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ biarkan selama satu jam sambil sekali-kali menggoyangkan tabungnya .

Setelah satu jam diambil kemudian ditambahkan oktanol sebanyak 10,0 ml, kemudian diaduk perlahan-lahan yaitu dengan menggoyangkan tabungnya selama dua menit, lalu fase oktanolnya dipisahkan kemudian disentrifuse selama lima menit, dan amati serapannya, sebagai blangkonya diperlakukan sama seperti diatas hanya larutan zat mula-mula yang ditambahkan disini diganti dengan buffer fosfat pH 7,4.

BAB III

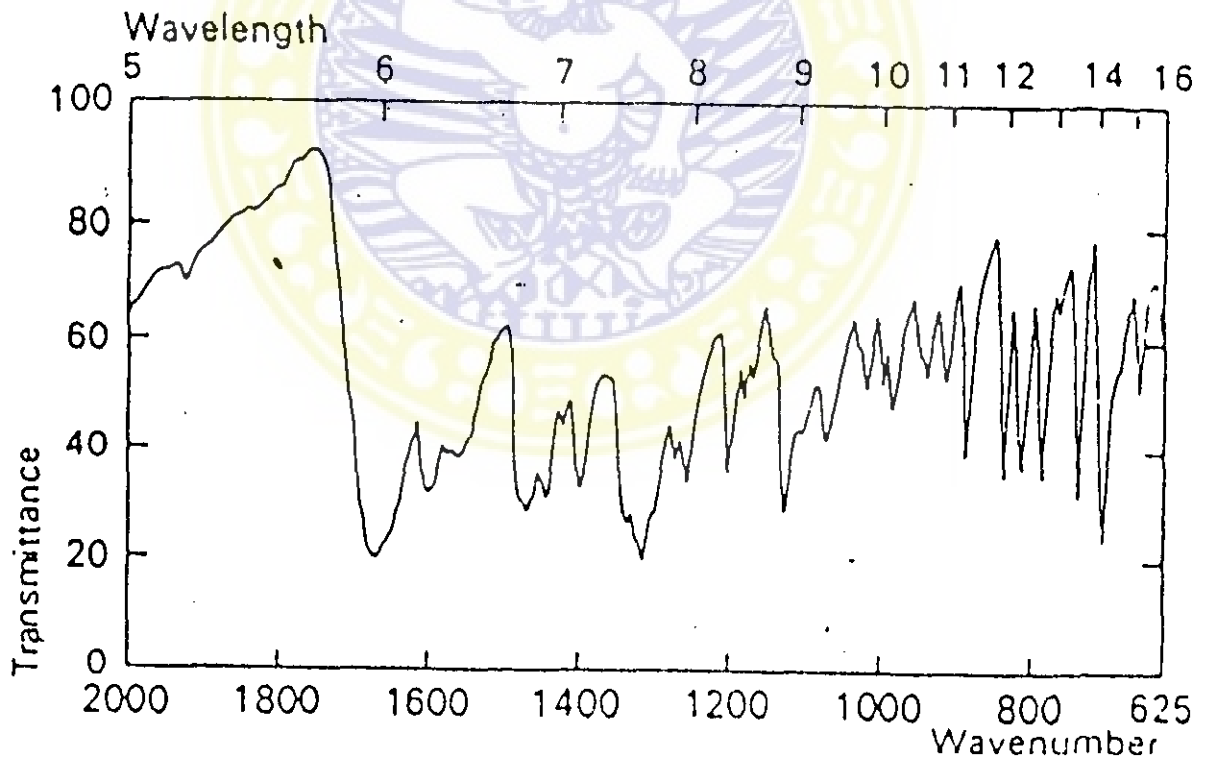
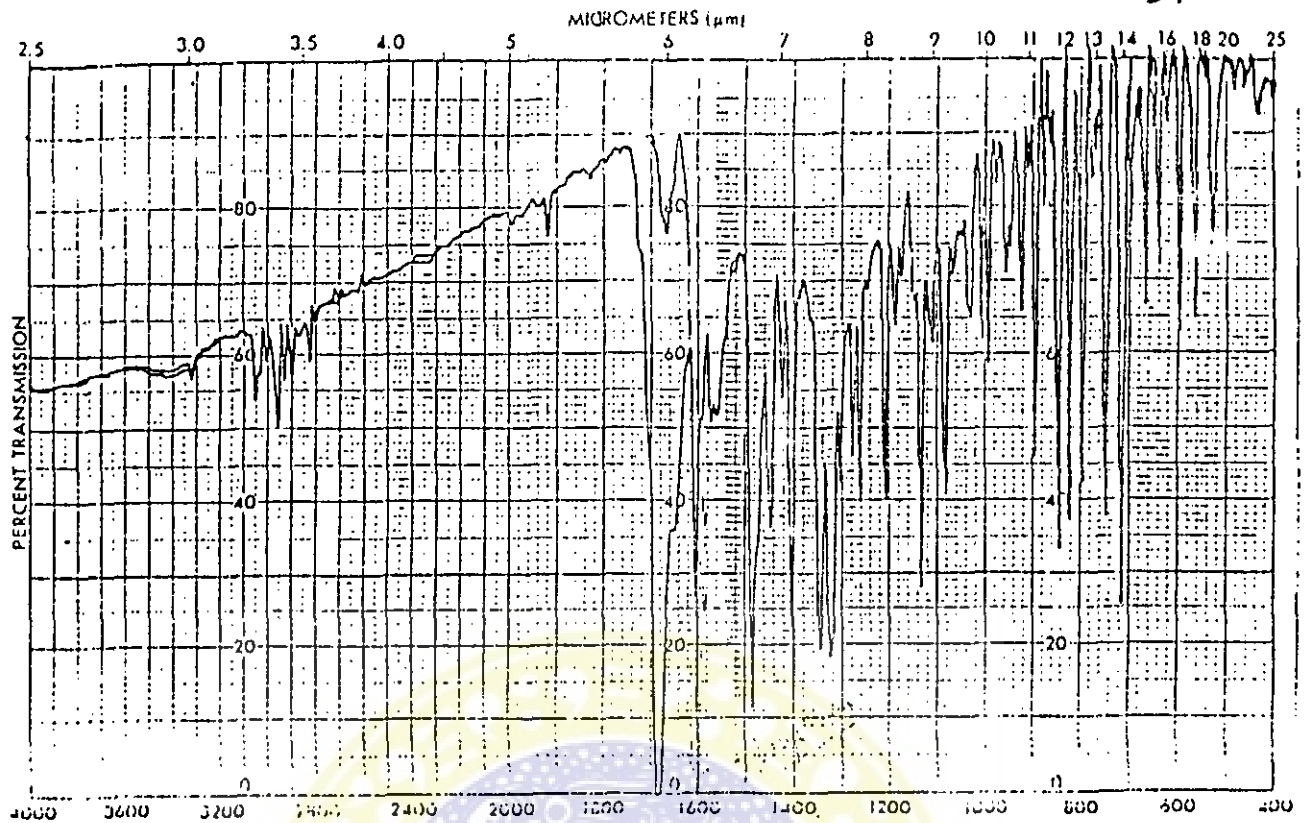
HASIL PENELITIAN

3.1. Identifikasi bahan penelitian secara kualitatif.

TABEL I

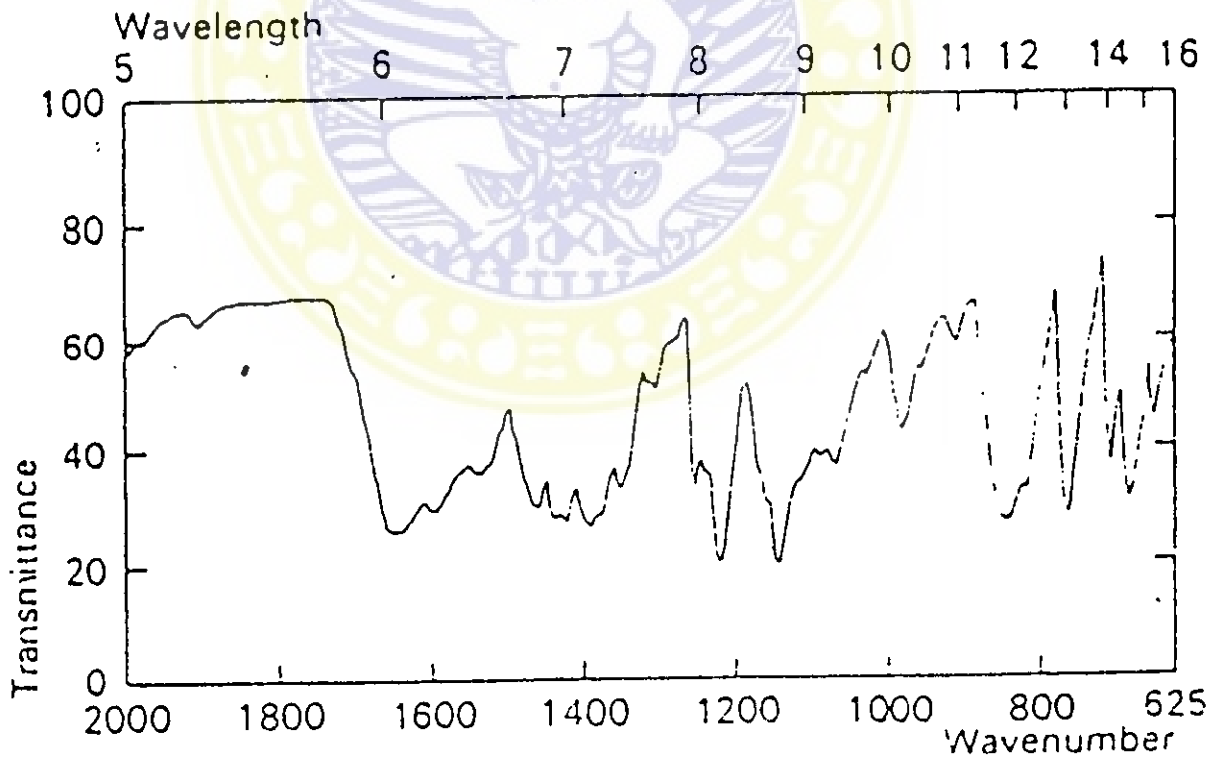
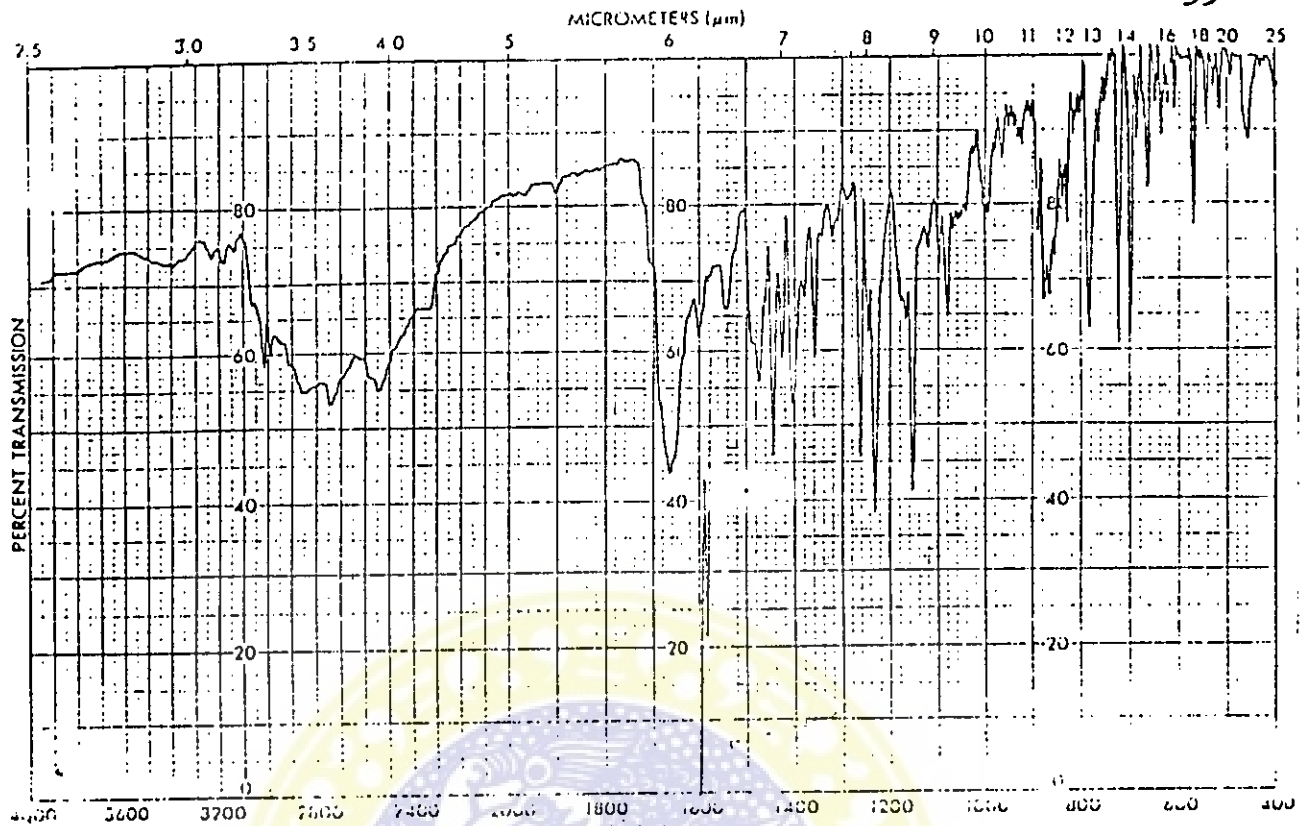
REAKSI WARNA DAN TITIK LEBUR
DARI KLORDIAZEPOKSID DAN DIAZEPAM

	Reaksi warna yang terjadi	Titik lebur (°C)	
		sampel	pustaka
Diazepam	+ Timbul warna violet kemerah-merahan	132-137	131-135
Klordiazepoksid	+ Timbul warna violet kemerah-merahan	214-220	212-218



DIAZEPAM - KBr disk
705, 1128, 1315, 1338, 1470, 1671

GAMBAR 1: Spektrum serapan infra merah dari sampel Diazepam(atas) dan spektrum pembandingnya (bawah), dikutip dari: The pharmaceutical codex incorporating the British Pharmaceutical Codex, 1979, hal 1015.



CHLORDIAZEPOXIDE HYDROCHLORIDE - KBr disk
845, 1146, 1222, 1394, 1425, 1650

GAMBAR 2: Spektrum serapan infra merah dari sampel Klordiazepoksida Hidro klorida(atas) dan spektrum pembandingnya(bawah), dikutip dari : The Pharmaceutical Codex, 1979, hal. 1012.

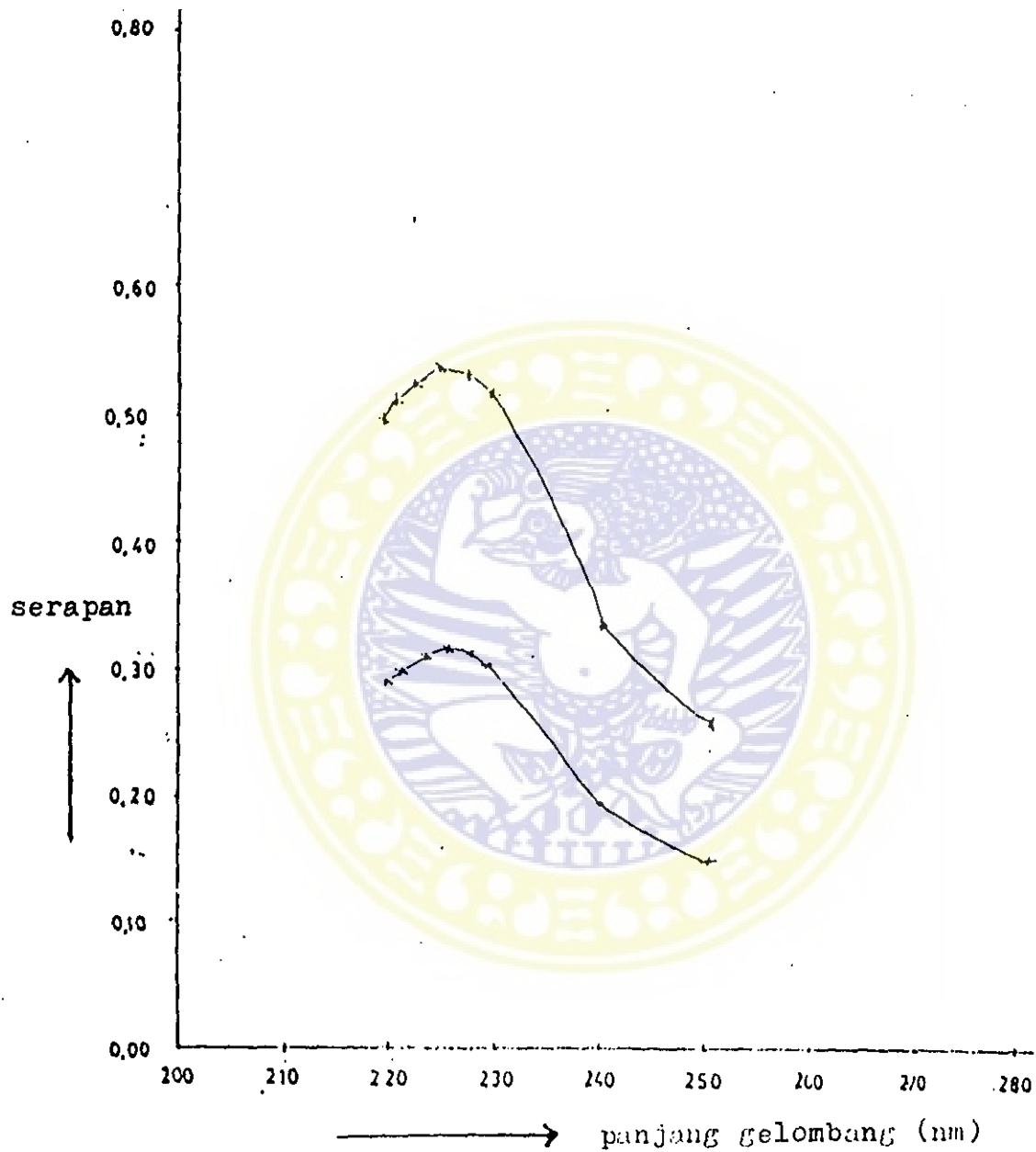
3.2. Pembuatan kurva baku dari Diazepam dan Klordiazepoksid untuk penentuan koefisien partisi pada pH 7,4.

a. Diazepam.

TABEL II
PENENTUAN PANJANG GELOMBANG (λ) MAKSIMUM DARI DIAZEPAM DALAM PELARUT BUFER PH 7,4.

λ (nm)	Rata-rata serapan	
	Kadar 4,016 $\mu\text{g/ml}$	Kadar 6,024 $\mu\text{g/ml}$
220	0,289	0,494
222	0,298	0,515
224	0,310	0,527
226	0,316	0,536
228	0,310	0,531
230	0,303	0,516
240	0,199	0,337
250	0,151	0,262

Dari data diatas, maka untuk selanjutnya pada pembuatan kurva baku dan penentuan koefisien partisi pada fasa bufernya digunakan panjang gelombang maksimum 226 nm.



Gambar 3 : Kurva penentuan panjang gelombang maksimum Diazepam dalam buffer pH 7,4. Serapan Vs. Panjang gelombang.

TABEL III
KURVA BAKU DARI DIAZEPAM DALAM BUFER PH 7,4
PADA PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM : 226 nm.
(Serapan Vs. Kadar)

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata Serapan ($\lambda = 226 \text{ nm}$)
2,008	0,231
4,016	0,316
6,024	0,536
8,032	0,676
10,040	0,842

Dari perhitungan data tersebut diatas didapatkan

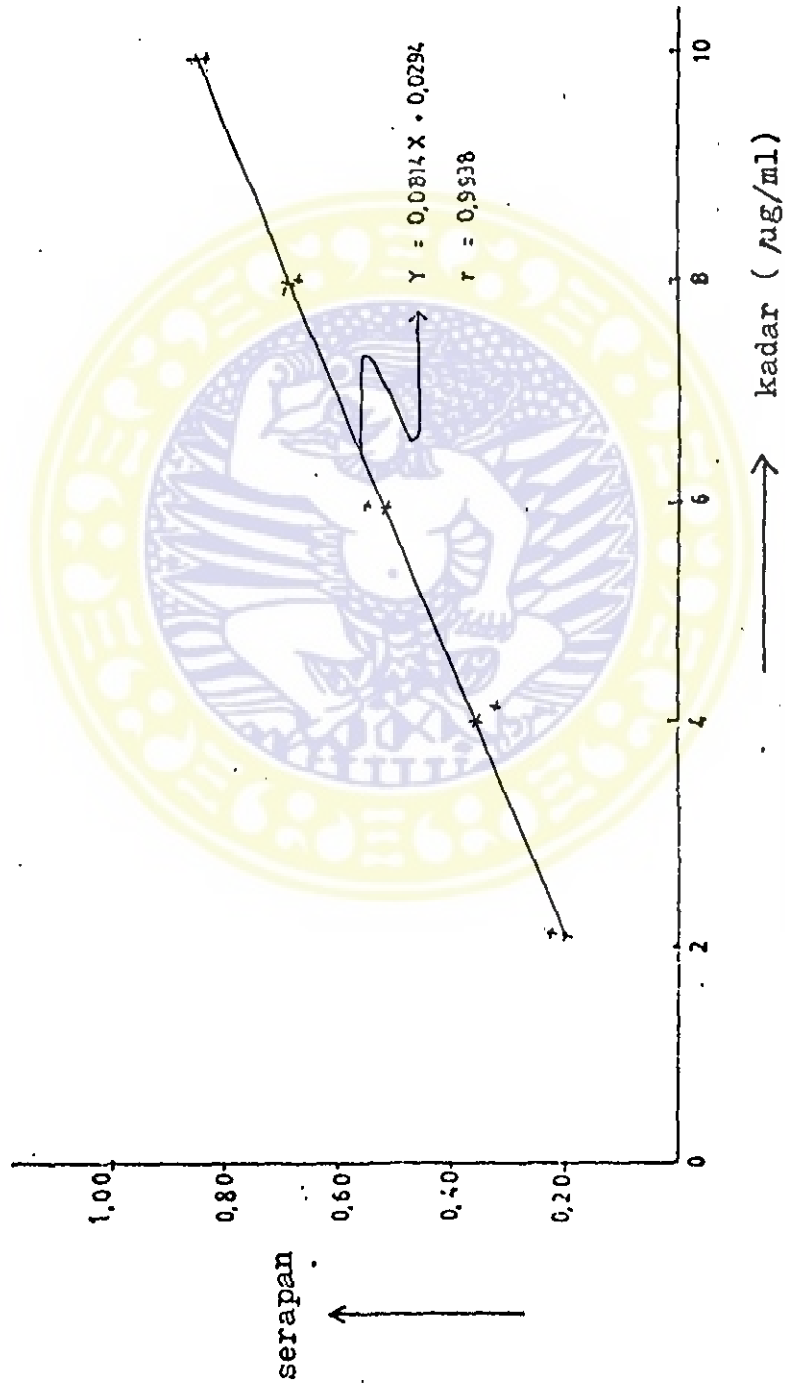
hasil : $a = 0,0294$

$b = 0,0814$

$r = 0,9938$

Maka persamaan garis regresi kurva bakunya adalah :

$$\underline{Y = 0,0814 X + 0,0294.}$$



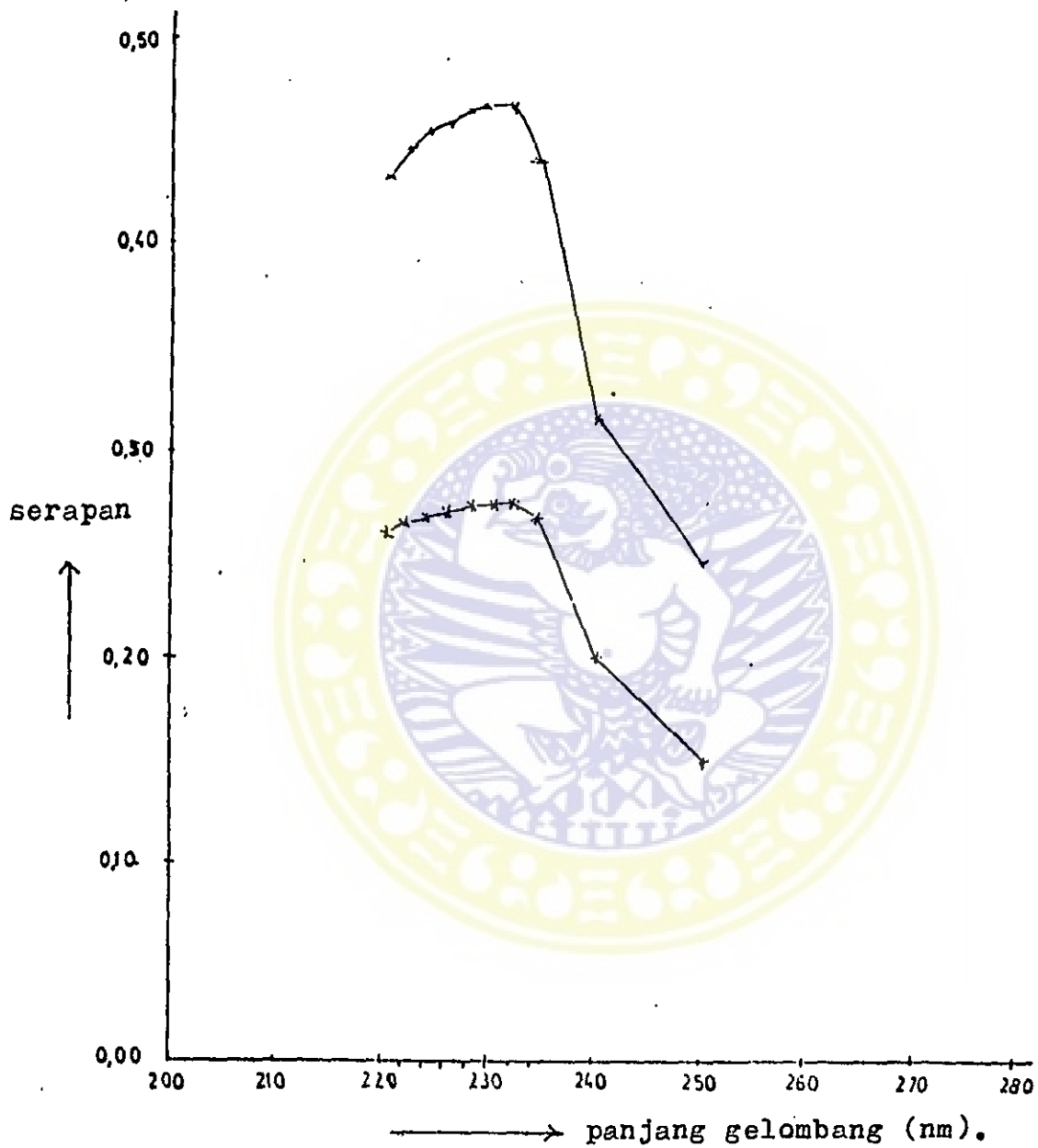
Gambar 4 : Kurva baku serapan di zepam dalam bufer pH 7,4.
pada λ maksimum 226 nm Vs. kadar.

3.3. a. Pembuatan kurva baku untuk menentukan kadar Diazepam bebas dari protein plasma.

TABEL IV
PENENTUAN PANJANG GELOMBANG (λ) MAKSIMUM DARI
DIAZEPAM DALAM OKTANOL.

λ (nm)	Rata-rata serapan	
	Kadar 4,016 $\mu\text{g/ml}$	Kadar 6,024 $\mu\text{g/ml}$
220	0,257	0,431
222	0,263	0,448
224	0,265	0,455
226	0,268	0,459
228	0,271	0,463
230	0,271	0,465
232	0,273	0,466
234	0,265	0,440
240	0,194	0,315
250	0,149	0,244

Dari data diatas, maka untuk selanjutnya pembuatan kurva baku dan penentuan ikatan protein pada fase oktanol digunakan panjang gelombang maksimum 232 nm.



Gambar 5 : Kurva penentuan panjang gelombang maksimum
Diazepam dalam oktanol.
Serapan Vs. Panjang gelombang.

TABEL V
 KURVA BAKU DARI DIAZEPAM DALAM ETANOL
 PADA PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM : 232 nm.
 (Serapan Vs. Kadar)

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata serapan ($\lambda = 232 \text{ nm}$)
2,008	0,126
4,016	0,273
6,024	0,466
8,032	0,633
10,04	0,874

Dari perhitungan data tersebut diatas didapatkan

$$\text{hasil : } a = 1,56 \times 10^{-2}$$

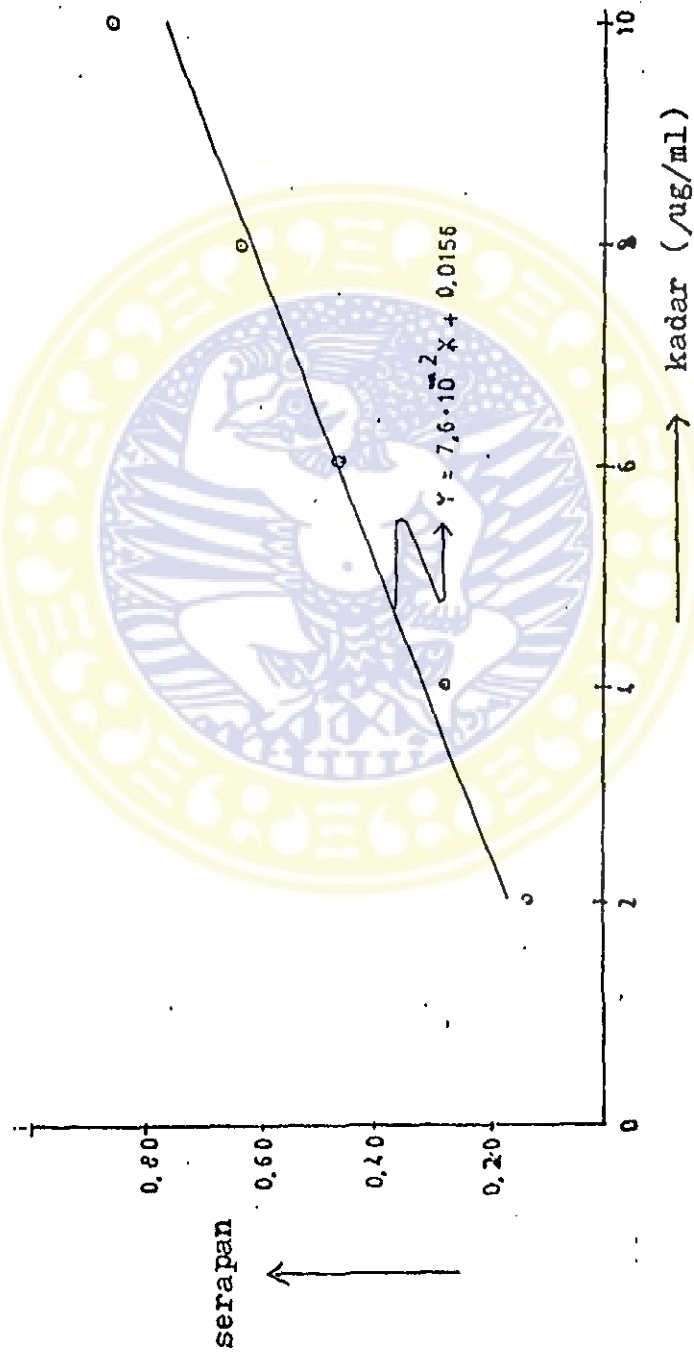
$$b = 7,61 \times 10^{-2}$$

$$r = 0,9966$$

Maka persamaan garis regresi kurva bakunya adalah :

$$Y = 7,61 \cdot 10^{-2} X + 1,56 \cdot 10^{-2}$$

=====



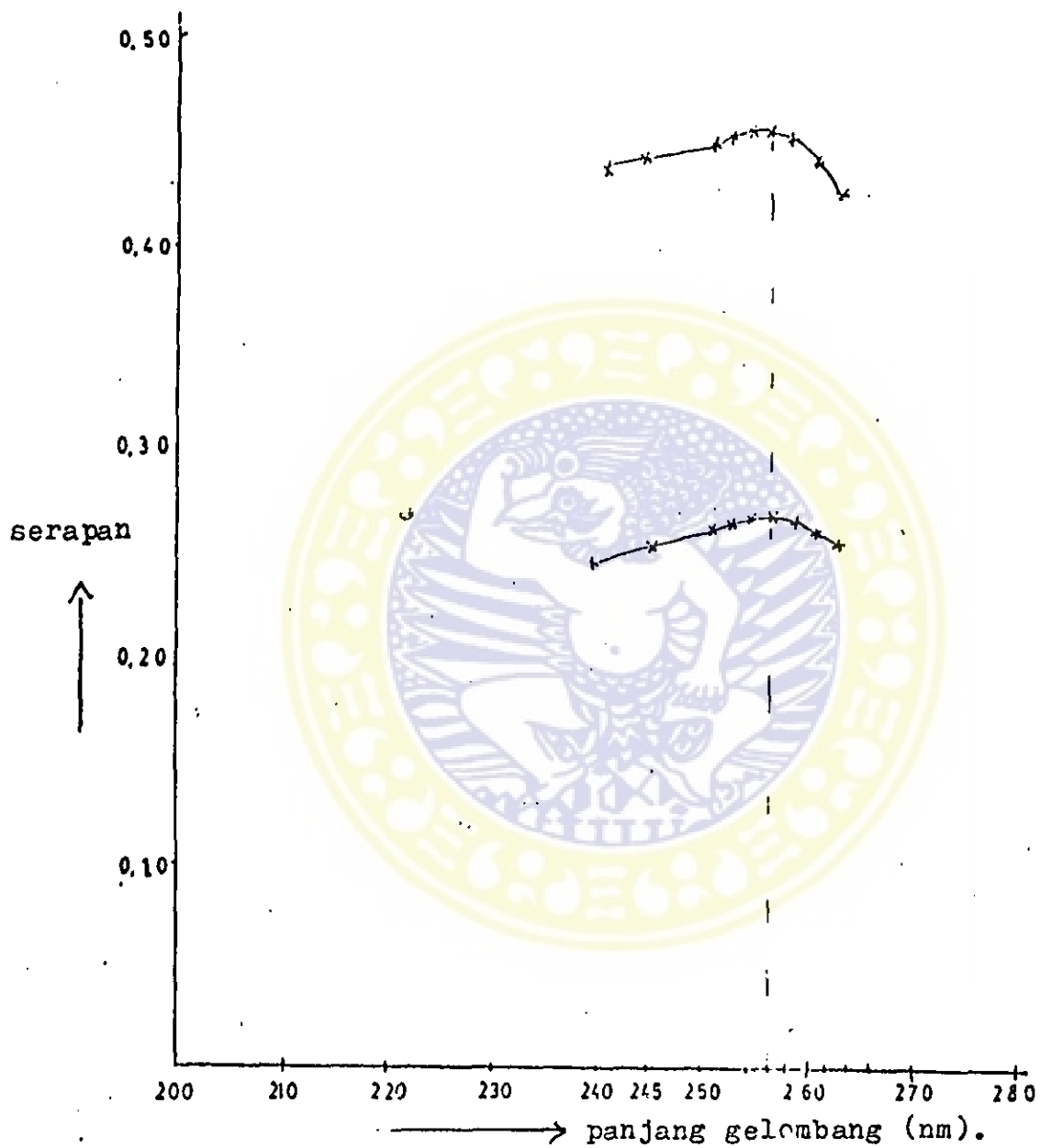
Gambar 6 : Kurva baku serapan Diazepam dalam n. oktanol pada λ maksimum 232 nm Vs. Kadar.

b. Klordiazepoksid.

TABEL VI
 PENENTUAN PANJANG GELOMBANG (λ) MAKSIMUM DARI
 KLORDIAZEPOKSID DALAM PELARUT BUFER PH 7,4.

λ (nm)	Rata-rata Serapan	
	Kadar 4,08 $\mu\text{g/ml}$	Kadar 6,12 $\mu\text{g/ml}$
240	0,246	0,438
245	0,255	0,445
250	0,262	0,449
252	0,264	0,453
254	0,266	0,454
256	0,268	0,455
258	0,267	0,452
260	0,261	0,441
262	0,253	0,426

Dari data diatas, maka untuk selanjutnya pembuatan kurva baku dan penentuan koefisien partisi pada fasa bufernya digunakan panjang gelombang maksimum 256 nm.



Gambar 7 : Kurva penentuan panjang gelombang maksimum .
Klordiazepoksida HCl dalam buffer pH 7,4.
Serapan Vs. Panjang gelombang.

TABEL VII

KURVA BAKU DARI KLORDIAZEPOKSID DALAM BUFER PH 7,4
 PADA PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM : 256 nm.
 (Serapan Vs, Kadar)

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata Serapan ($\lambda = 256 \text{ nm}$)
2,04	0,223
4,08	0,268
6,12	0,455
8,16	0,608
10,20	0,781

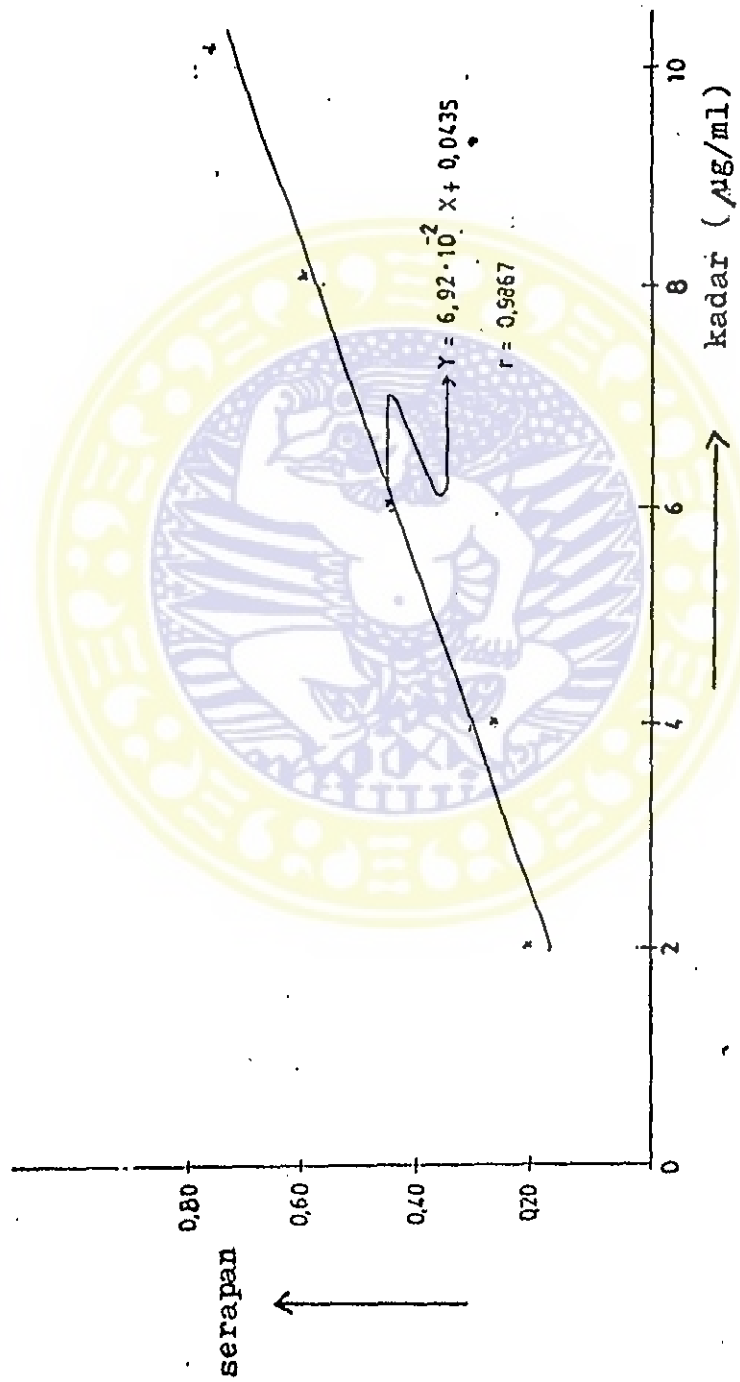
Dari perhitungan data tersebut diatas didapatkan
 hasil : $a = 0,0435$

$$b = 6,92 \cdot 10^{-2}$$

$$r = 0,9867$$

Maka persamaan garis regresi kurva bakunya adalah :

$$Y = 6,92 \cdot 10^{-2} X + 0,0435.$$



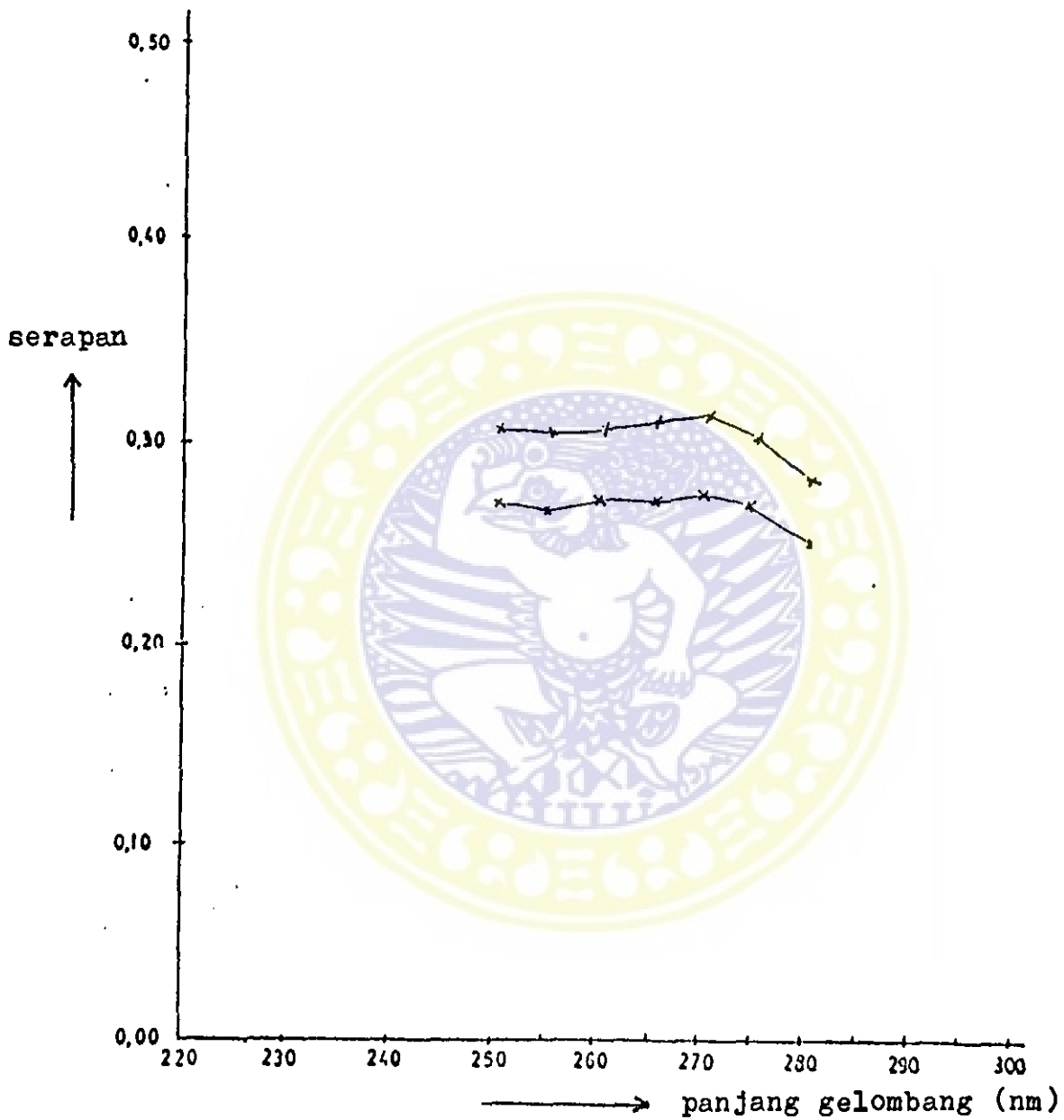
Gambar 8 : Kurva baku serapan Klordiazepoksida dalam buffer pH 7,4 pada λ maksimum 256 nm Vs. kadar.

3.3.b. Klordiazepoksida.

TABEL VIII
 PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM DARI
 KLORDIAZEPOKSIDA DALAM OKTANOL.

λ (nm)	Rata-rata serapan	
	Kadar 10,20 $\mu\text{g/ml}$	Kadar 12,24 $\mu\text{g/ml}$
250	0,270	0,306
255	0,266	0,304
260	0,269	0,308
265	0,270	0,310
270	0,274	0,312
275	0,266	0,302
280	0,249	0,280

Dari data diatas, maka untuk selanjutnya pembuatan kurva baku dan penentuan ikatan protein plasma dari Klordiazepoksida dalam fase oktanol digunakan panjang gelombang maksimum : 270 nm.



Gambar 9 : Kurva penentuan panjang gelombang maksimum
Klordiazepoksida dalam oktanol.
Serapan Vs. Panjang gelombang.

TABEL IX
 KURVA BAKU DARI KLORDIAZEPOKSID DALAM OKTANOL
 PADA PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM : 270 nm.
 (Serapan Vs. Kadar)

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata serapan ($\lambda = 270 \text{ nm}$)
8,16	0,251
10,20	0,274
12,24	0,312
15,30	0,409
20,40	0,559

Dari perhitungan data tersebut diatas didapatkan

hasil : $a = 1,3945 \times 10^{-2}$

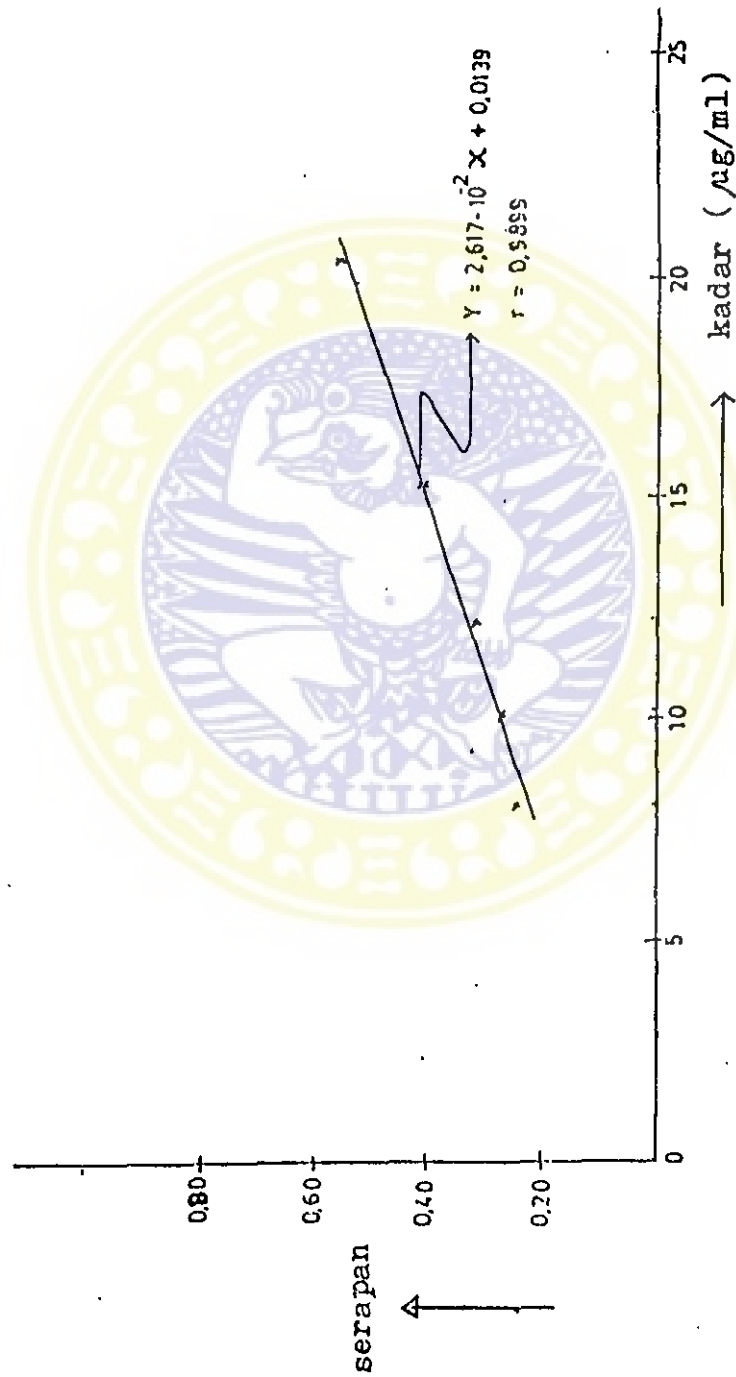
$b = 2,617 \times 10^{-2}$

$r = 0,9899$

Maka persamaan garis regresi kurva bakunya adalah :

$$Y = 2,617 \cdot 10^{-2} X + 1,3945 \cdot 10^{-2}$$

=====



Gambar 10 : Kurva baku serapan Klordiazepoksida dalam oktanol pada λ maksimum 270 nm Vs. kadar.

3.4. Penentuan koefisien partisi dari turunan Benzodiazepin.a. Diazepam.

TABEL X

PENENTUAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DENGAN KADAR :

20 $\mu\text{g/ml}$; 30 $\mu\text{g/ml}$; 40 $\mu\text{g/ml}$.

C_{in} ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan	C_w ($\mu\text{g/ml}$)	C_o ($\mu\text{g/ml}$)	K n Oktanol/air
20,08	0,461	5,30	14,78	2,79
20,16	0,462	5,31	14,85	2,80
20,04	0,457	5,25	14,80	2,82
20,56	0,466	5,36	15,20	2,83
20,64	0,456	5,24	15,40	2,94
30,12	0,674	7,92	22,20	2,80
30,06	0,672	7,89	22,17	2,81
30,84	0,688	8,09	22,75	2,81
30,24	0,652	7,65	22,59	2,95
30,96	0,666	7,82	23,14	2,96
40,08	0,886	10,52	29,56	2,81
40,16	0,888	10,55	29,61	2,81
41,12	0,896	10,65	30,47	2,86
41,32	0,870	10,33	29,99	2,90
41,28	0,878	10,43	30,85	2,96

Keterangan dari tabel X :

C_{in} = Kadar zat dalam fasa air sebelum terjadi distribusi.

C_w = Kadar zat dalam fasa air setelah terjadi distribusi.

C_o = Kadar zat dalam n Oktanol = $(C_{in} - C_w)$.

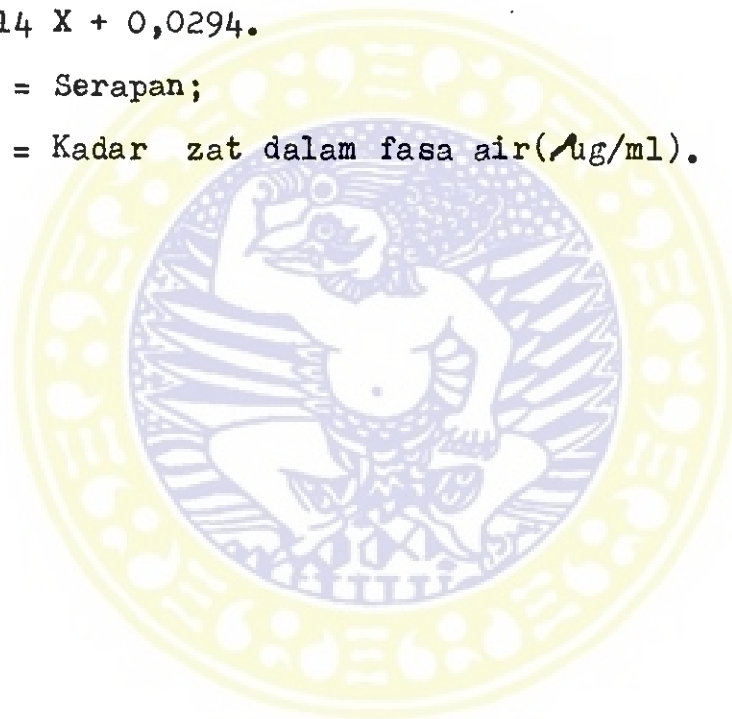
K = Koefisien partisi n Oktanol/air ($K = \frac{C_o}{C_w} \times \frac{V_w}{V_o}$ berhubung
 $V_w = V_o = 10,0$ ml maka $K = \frac{C_o}{C_w}$).

C_w = Didapat dari hasil serapan yang dimasukkan pada persamaan kurva baku 3.2.a. yaitu :

$$y = 0,0814 X + 0,0294.$$

dimana y = Serapan;

X = Kadar zat dalam fasa air ($\mu\text{g/ml}$).



b. Klordiazepoksida Hidro Klorida.

TABEL XI

PENENTUAN KOEFISIEN PARTISI DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl DENGAN
KADAR 20 $\mu\text{g/ml}$; 30 $\mu\text{g/ml}$; 40 $\mu\text{g/ml}$.

C_{in} ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan	C_w ($\mu\text{g/ml}$)	C_o ($\mu\text{g/ml}$)	K n Oktanol/air
20,44	0,456	5,96	14,48	2,43
20,00	0,448	5,85	14,15	2,42
20,08	0,451	5,89	14,19	2,41
19,88	0,453	5,92	13,96	2,36
20,52	0,463	6,06	14,46	2,39
30,78	0,670	9,05	21,73	2,40
30,12	0,653	8,81	21,31	2,42
30,00	0,648	8,74	21,26	2,43
30,66	0,655	8,84	21,82	2,47
29,82	0,635	8,55	21,27	2,49
39,76	0,860	11,80	27,96	2,37
40,16	0,864	11,86	28,30	2,39
40,00	0,857	11,76	28,24	2,40
41,04	0,872	11,97	29,07	2,43
40,88	0,866	11,89	28,99	2,44

Keterangan :

C_w = didapat dari memasukkan serapan pada persamaan kurva baku

$$3.2.b \text{ yaitu : } Y = 6,92 \cdot 10^{-2} X + 0,0435$$

dimana Y = Serapan ; X = kadar zat dalam fasa air ($\mu\text{g/ml}$).

3.5. Penentuan ikatan protein plasma dari turunan Benzodiazepin pada pH 7,4.

a. Diazepam.

TABEL XII

PENENTUAN IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DENGAN

KADAR : 60 $\mu\text{g/ml}$; 80 $\mu\text{g/ml}$; 100 $\mu\text{g/ml}$.

Kadar mula-mula ($\mu\text{g/ml}$)	C_{in} ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan	C_o ($\mu\text{g/ml}$)	C_b ($\mu\text{g/ml}$)	% Ikatan
61,68	30,84	0,148	1,74	29,10	94,35
61,92	30,96	0,149	1,75	29,21	94,35
60,12	30,06	0,140	1,63	28,43	94,56
60,48	30,24	0,138	1,60	28,64	94,71
60,24	30,12	0,134	1,56	28,56	94,83
80,32	40,16	0,186	2,24	37,92	94,42
82,56	41,28	0,188	2,27	39,01	94,50
80,64	40,32	0,182	2,19	38,13	94,57
80,16	40,08	0,172	2,06	38,02	94,87
82,24	41,12	0,175	2,09	39,03	94,90
103,20	51,60	0,248	3,05	48,55	94,09
100,40	50,20	0,237	2,91	47,29	94,20
100,20	50,10	0,235	2,88	47,22	94,25
102,80	51,40	0,240	2,95	48,45	94,26
100,80	50,40	0,232	2,84	47,56	94,36

Keterangan dari tabel XII :

- Kadar mula - mula adalah kadar zat sebelum dicampur dengan protein plasma.
- C_{in} adalah kadar zat setelah dicampur dengan protein plasma disini volume zat mula-mula dengan protein plasma yang ditambahkan adalah sama yaitu 5,0 ml.
- C_o adalah kadar obat yang bebas dalam protein plasma dimana diperoleh dari hasil serapan yang dimasukkan pada persamaan kurva baku 3.3a. Yaitu :

$$Y = 7,61 \cdot 10^{-2} X + 1,56 \cdot 10^{-2}$$
 dimana $Y =$ serapan, $X =$ kadar.
- C_b adalah kadar zat yang terikat oleh protein plasma yang didapat dari $C_{in} - C_o = C_b$.

Maka untuk perhitungan % zat yang terikat = $\frac{C_b}{C_{in}} \times 100\%$.

3.5.b. Klordiazepoksida HCl.

TABEL XIII

PENENTUAN IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl
DENGAN KADAR : 60 µg/ml; 80 µg/ml; 100 µg/ml.

kadar mula-mula (µg/ml)	C _{in} (µg/ml)	Serapan	C _o (µg/ml)	C _b (µg/ml)	% Ikatan
60,00	30,00	0,133	4,55	25,45	84,83
60,24	30,12	0,135	4,63	25,49	84,64
60,32	30,66	0,138	4,74	25,92	84,53
59,64	29,82	0,136	4,67	25,15	84,14
61,56	30,78	0,142	4,89	25,89	84,11
80,00	40,00	0,170	5,97	34,03	85,08
82,08	41,04	0,174	6,12	34,92	85,09
81,76	40,88	0,172	6,04	34,84	85,22
80,32	40,16	0,168	5,89	34,27	85,34
79,52	39,76	0,165	5,77	33,99	85,49
102,60	51,30	0,214	7,65	43,65	85,08
102,20	51,10	0,211	7,53	43,57	85,26
100,40	50,20	0,206	7,34	42,86	85,37
100,00	50,00	0,203	7,23	42,77	85,55
99,40	49,70	0,201	7,15	42,55	85,61

Keterangan :

C_o dihitung dari persamaan kurva baku 3.3.b. yaitu :

$$Y = 2,617 \cdot 10^{-2} X + 1,39 \cdot 10^{-2}$$

dimana Y = serapan dan X = kadar dalam µg/ml.

3.6. Perhitungan hubungan antara % ikatan protein plasma dengan koefisien partisi pada pH 7,4.

TABEL XIVA.

HASIL % IKATAN PROTEIN PLASMA DENGAN KADAR:60,0 $\mu\text{g/ml}$; 80,0 $\mu\text{g/ml}$; 100,0 $\mu\text{g/ml}$ DAN KOEFISIEN PARTISI DENGAN KADAR : 20,0 $\mu\text{g/ml}$; 30 $\mu\text{g/ml}$; 40,0 $\mu\text{g/ml}$ DARI DIAZEPAM.

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	% Ikatan Protein plasma	K. n Oktanol/air	r_{hitung}
61,68;20,08	94,35	2,79	0,9259
61,92;20,16	94,35	2,80	
60,12;20,04	94,56	2,82	
60,48;20,56	94,71	2,83	
60,24;20,64	94,83	2,94	
80,32;30,12	94,42	2,80	0,9744
82,56;30,06	94,50	2,81	
80,64;30,84	94,57	2,81	
80,16;30,24	94,87	2,95	
80,24;30,96	94,90	2,96	
103,2;40,08	94,09	2,81	0,9777
100,4;40,16	94,20	2,81	
100,2;41,12	94,25	2,86	
102,8;41,32	94,26	2,90	
100,8;41,28	94,36	2,96	

Berdasarkan uji korelasi atau uji "r" yang dilakukan terhadap data diatas, perhitungan dapat dilihat pada lampiran)

dan r_{tabel} dapat dilihat pada lampiran TABEL KOEFISIEN KORELASI " r ".

Dimana didapatkan harga $r_{\text{tabel}} (0,05;3) = 0,8783$, ternyata harga r_{hitung} lebih besar dari pada r_{tabel} , sehingga ada hubungan yang bermakna antara hasil percobaan % ikatan protein plasma pada kadar $60,0 \mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar $20,0 \mu\text{g/ml}$; % ikatan protein plasma pada kadar $80,0 \mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar $30,0 \mu\text{g/ml}$ dan % ikatan protein plasma pada kadar $100,0 \mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar $40,0 \mu\text{g/ml}$ dari diazepam pada $\alpha = 0,05$.



3.6.b. Klordiazepoksida HCl.

TABEL XIVb.

HASIL % IKATAN PROTEIN PLASMA DENGAN KADAR : 60,0 $\mu\text{g/ml}$
 80,0 $\mu\text{g/ml}$; 100,0 $\mu\text{g/ml}$ DAN KOEFISIEN PARTISI DENGAN
 KADAR : 20,0 $\mu\text{g/ml}$; 30,0 $\mu\text{g/ml}$; 40,0 $\mu\text{g/ml}$ DARI KLOR-
 DIAZEPOKSIDA HCl.

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	% Ikatan Protein plasma	K. n Oktanol/air	r_{hitung}
60,00;20,44	84,83	2,43	0,96
60,24;20,00	84,64	2,42	
60,32;20,08	84,53	2,41	
59,64;19,88	84,14	2,36	
61,56;20,52	84,11	2,39	
80,00;30,78	85,08	2,40	0,9091
82,08;30,12	85,09	2,42	
81,76;30,00	85,22	2,43	
80,32;30,66	85,34	2,47	
79,52;29,82	85,49	2,49	
102,6;39,76	85,08	2,37	0,8998
102,2;40,16	85,26	2,39	
100,4;40,00	85,37	2,40	
100,0;41,04	85,55	2,43	
99,4;40,88	85,61	2,44	

Berdasarkan hasil dari uji korelasi atau uji " r " seperti yang tercantum pada tabel. diatas(perhitungan pada lampiran) dan harga $r_{\text{tabel}} (0,05;3) = 0,8783$, ternyata r_{hitung} lebih besar dari pada r_{tabel} , sehingga ada hubungan yang bermakna antara hasil percobaan % ikatan protein plasma pada kadar : 60,0 $\mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar 20,0 $\mu\text{g/ml}$; % ikatan protein plasma pada kadar 80,0 $\mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar 30 $\mu\text{g/ml}$ dan % ikatan protein plasma pada kadar 100,0 $\mu\text{g/ml}$ dengan koefisien partisi pada kadar 40,0 $\mu\text{g/ml}$ dari klordiazepoksida HCl, pada $\alpha = 0,05$.



3.7. Perhitungan perbedaan antara % ikatan protein plasma dan koefisien partisi dari Diazepam dan Klordiazepoksida HCl

TABEL XVa.

HASIL % IKATAN PROTEIN PLASMA DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOK-SIDA HCl DENGAN KADAR : 60,0 µg/ml; 80 µg/ml; 100,0 µg/ml

Kadar (µg/ml)	% Ikatan Protein Plasma Diazepam	% Ikatan Protein Plasma Klordiazepoksida HCl	t _{hitung}
60,0	94,35	84,83	64,5227
	94,35	84,63	
	94,56	84,53	
	94,71	84,34	
	94,83	84,11	
80,0	94,42	85,08	44,5455
	94,50	85,09	
	94,57	85,22	
	94,87	85,34	
	94,90	85,49	
100,0	94,09	85,08	83,6638
	94,20	85,26	
	94,25	85,37	
	94,26	85,55	
	94,36	85,61	

Berdasarkan hasil dari "Pooled t test" atau uji " t " seperti yang tercantum pada tabel diatas(perhitungan pada lampiran).

dan harga t_{tabel} dengan $\alpha = 0,05$; two side test : $t_{\alpha/2} = 0,025$
d.f. = $n_1 + n_2 - 2 = 8$; jadi $t_{\text{tabel}}(0,025;8) = 2,3060$; ternyata
harga t_{hitung} berada pada daerah tolak H_0 ; sehingga ada perbe-
daan antara hasil percobaan % ikatan protein plasma Diazepam
dan Klordiazepoksida HCl dengan kadar $60,0 \mu\text{g/ml}$; $80,0 \mu\text{g/ml}$
dan $100,0 \mu\text{g/ml}$, pada $\alpha = 0,05$.



3.7.b. Koefisien partisi.

TABEL XVb.

HASIL KOEFISIEN PARTISI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA
HIDRO KLORIDA DENGAN KADAR 20,0 $\mu\text{g/ml}$; 30 $\mu\text{g/ml}$ dan
40 $\mu\text{g/ml}$.

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	K. n Oktanol/air Diazepam	K. n Oktanol/air Klordiazepoksida HCl	t_{hitung}
20,0	2,79	2,43	14,662
	2,80	2,42	
	2,82	2,41	
	2,83	2,36	
	2,94	2,39	
30,0	2,80	2,4	10,6079
	2,81	2,42	
	2,81	2,43	
	2,95	2,47	
	2,96	2,49	
40,0	2,81	2,37	14,7603
	2,81	2,39	
	2,86	2,40	
	2,90	2,43	
	2,96	2,44	

Berdasarkan hasil dari "Pooled t test" atau uji " t " seperti yang tercantum pada tabel diatas (perhitungan pada lampiran) dan harga t_{tabel} dengan $\alpha = 0,05$; two side test; $t_{\alpha/2} = 0,025$

d.f. = $n + n - 2 = 8$; jadi $t_{\text{tabel}} (0,025;8) = 2,3060$, ternyata t_{hitung} berada pada daerah tolak H_0 , sehingga ada perbedaan antara hasil percobaan koefisien partisi Diazepam dan Klordiazepoksida HCl dengan kadar : $20,0 \mu\text{g/ml}$; $30,0 \mu\text{g/ml}$; $40,0 \mu\text{g/ml}$ pada $\alpha = 0,05$.



BAB IV

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, sebagai bahan obat yang digunakan adalah turunan Benzodiazepin yaitu Diazepam dan Klordiazepoksid. Sebagai awal penelitian dilakukan identifikasi secara kualitatif yang berupa reaksi warna untuk Diazepam dan klordiazepoksid dan penentuan titik lebur, untuk membuktikan bahwa bahan-bahan tersebut memang Diazepam dan Klordiazepoksid sesuai dengan sertifikat analisa dari perusahaan yang memberikannya.

Dari hasil penelitian yang didapat, maka dapat diketahui bahwa prosentase ikatan protein plasma dari Diazepam lebih besar dari pada Klordiazepoksid demikian juga koefisien partisipasinya, disini dapat dilihat bahwa sifat kepolaritasan dari zat secara langsung mempengaruhi koefisien partisipasinya dan sifat kepolaritasan tersebut sangat memegang peranan dalam ikatan hidrofobik yang merupakan sebagian besar ikatan antara obat dengan protein plasma.

Metode yang digunakan untuk penentuan ikatan protein plasma adalah kesetimbangan partisi cairan-cairan, dengan pemikiran bahwa metode tersebut mudah dilakukan karena alatnya sederhana, dan tidak memerlukan jumlah protein plasma yang besar seperti pada metode kesetimbangan dialisa dan adanya obat yang terserap/terikat pada membran dialisa yang digunakan, juga waktu yang diperlukan pada kesetimbangan partisi relatif lebih singkat dan tidak terdapat masalah perubahan kadar protein plasma seperti pada penyaringan ultra.

Dalam pelaksanaan.....

Dalam pelaksanaan kesetimbangan partisi ini yang perlu diperhatikan adalah pengadukan larutan zat-protein plasma dengan pelarut organik (n-oktanol). Bila pengadukan terlalu kuat kemungkinan terjadi denaturasi dari protein plasma yang digunakan, hal ini merupakan kelemahan metode ini, namun kelemahan tersebut dapat diatasi dengan pengadukan yang tidak terlalu kuat/keras pada larutan zat-protein plasma pada waktu partisi.

Dari hasil penelitian yang diperoleh, dapat diketahui bahwa ikatan protein plasma dan koefisien partisi diazepam lebih besar dari klordiazepoksida HCl, seperti yang kita ketahui baik ikatan protein plasma maupun koefisien partisi dipengaruhi oleh faktor kepolaritasan selain ada faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap keduanya.

Oleh karena kedua-duanya dipengaruhi kepolaritasan maka antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi ada hubungan yang bermakna setelah dilakukan uji statistik dengan uji korelasi (r) pada $\alpha = 0,05$, terhadap hasil penelitian yang diperoleh, yaitu ternyata harga r_{XY} hitung dari uji statistik tersebut lebih besar dari pada r_{XY} tabel.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara ikatan protein plasma (dalam persen) dengan koefisien partisi dari diazepam dan klordiazepoksida HCl pada pH 7,4 ; sehubungan harga r_{XY} hitung yang diperoleh bertanda positif, maka dapat dikatakan bahwa antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi mempunyai hubungan yang positif, (bila ikatan protein plasma meningkat maka koefisien partisinya juga meningkat atau sebaliknya).

Dari hasil penelitian yang diperoleh, dapat diketahui bahwa ikatan protein plasma dan koefisien partisi diazepam lebih tinggi dari klordiazepoksida HCl, maka disini dilakukan uji " t " (Pooled t test) antara ikatan protein plasma diazepam dan klordiazepoksida HCl dengan kadar yang sama serta antara koefisien partisi dari diazepam dan klordiazepoksida HCl untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma diazepam dengan klordiazepoksida HCl dan koefisien partisi diazepam dengan klordiazepoksida HCl.

Setelah dilakukan uji statistik dengan uji " t " (Pooled t test) pada $\alpha = 0,05$, maka didapatkan harga t_{hitung} lebih besar dari pada t_{tabel} dengan kata lain t_{hitung} berada pada daerah tolak dari tabel.

Dengan demikian dapat disimpulkan ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma diazepam dengan klordiazepoksida HCl dan antara koefisien partisi diazepam dengan klordiazepoksida HCl pada $\alpha = 0,05$.

BAB V

KESIMPULAN :

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa :

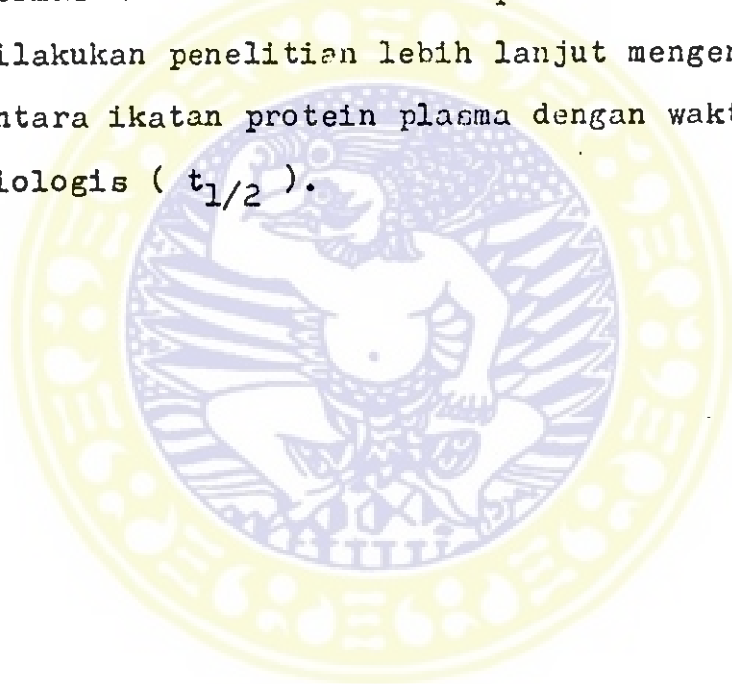
1. Antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi dari diazepam dan klordiazepoksida HCl pada pH 7,4 mempunyai hubungan positif.
2. Ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma diazepam dengan ikatan protein plasma dari klordiazepoksida HCl pada $\alpha = 0,05$.
3. Ada perbedaan yang bermakna antara koefisien partisi dari diazepam dengan koefisien partisi dari klordiazepoksida HCl pada $\alpha = 0,05$.

BAB VI

SARAN-SARAN.

Melihat hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka disarankan :

1. Dilakukan penelitian tentang hubungan koefisien partisi dengan ikatan protein plasma dari golongan tranquilizer: turunan Benzodiazepin dan yang tidak termasuk turunan Benzodiazepin.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara ikatan protein plasma dengan waktu paruh biologis ($t_{1/2}$).



RINGKASAN

Makin majunya masyarakat kita sebagai hasil pembangunan nasional, dan adanya sebagian masyarakat yang kurang mampu menyesuaikan diri dengan perkembangan yang cepat, menyebabkan makin banyak yang mengatasinya dengan obat-obatan, diantaranya dengan obat golongan tranquilizer dari derivat Benzodiazepin antara lain diazepam dan klordiazepoksida.

Seperti obat-obat yang lain, turunan Benzodiazepin untuk dapat menimbulkan efek farmakologis yang diinginkan tentunya obat tersebut harus dapat mencapai tempat aksi obat dan obat harus berada dalam bentuk bebas, tidak terikat oleh protein plasma dan sebelum mencapai tempat aksi obat, obat harus menembus membran biologis terlebih dahulu yang untuk hal tersebut obat dipengaruhi oleh sifat-sifat fisik obat diantaranya kelarutan dalam lemak atau koefisien partisinya.

Memperhatikan kenyataan yang ada bahwa aksi farmakologis obat turunan Benzodiazepin juga dipengaruhi oleh ikatan protein plasma dan koefisien partisi, maka kemudian dilakukan penelitian tentang bagaimana hubungan antara ikatan protein plasma dengan koefisien partisi pada pH 7,4.

Penentuan koefisien partisi dilakukan dengan metode pengocokan dan ikatan protein plasmanya dengan metode kesetimbangan partisi cair-cair.

Berdasarkan uji " r " (uji korelasi) pada $\alpha = 0,05$ diperoleh hasil bahwa antara ikatan protein plasma

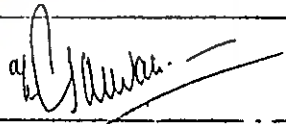
(dalam persentase) dengan koefisien partisi n-Oktanol - air dari Diazepam dan Klordiazepoksid pada pH 7,4 mempunyai hubungan positif yaitu makin tinggi koefisien partisi maka makin tinggi ikatan protein plasmanya.

Berdasarkan uji t (Pooled t test) dengan $\alpha = 0,05$, diperoleh hasil bahwa ada perbedaan yang bermakna antara ikatan protein plasma dan koefisien partisi dari diazepam dengan klordiazepoksid.



KETERANGAN GUDANG		1985. No. B. : 316.
1. BAHAN BAKU : Diarupam	2. GRADE/CODE B.D. : A.D/4	SUPV. GUDANG. 21/10/85
3. NAMA PAUBIK & NEGERI ASAL : Fabbrica Italiana Simetina SpA - Italy / R.W. Jkt.	4. TGL. MASUK : 16-10-85	PENGAMBIL CONTOH SUPV. D.Q.C. 21/10/85
5. ORDER PHAPROS : Ph-066	6. LOT. GUDANG : 85/04	ANALIS : 21/10/85
7. JUMLAH : 10 kg.		
... KEMASAN : Vat a 10 kg. tampal etikel	LAPORAN PEMERITAN : Bau	

KETERANGAN LABORATORIUM	
ANALISA & DAFTAR PUSTAKA :	NF 311/220 CIL H311 230 GMR 284.75
Permisian : Urbus hablor warna putih.	
Milanten : memenuhi syarat.	
Ident : b)	
Mimunan :	
Kacur air	0.47 (max 0.5 %)
Titik cair	(29 - 132) (131 - 135)
Logam Berat	↳
Mater abu	07. (max 0.12%)
Kandur	100.112 (98.5 - 101.07)
HASIL : Bau	
MULAI DAN SELESAI ANALISA :	DIKERJAKAN OLEH :
21/10/85	Ajini 2.
KESIMPULAN : Penerima	
CATATAN UNTUK GUDANG : Bau. Kadon : loc. 11 2	

PARAF : 
TGL. : 21/10/85

KETERANGAN GUDANG		1985 No. U.D. : 295
1. BAHAN BAKU : <i>Chlordiazepoxide HCl.</i>		SUPV. GUDANG:
2. GRADE/CODE D.D. :		<i>[Signature]</i>
3. NAMA PABRIK & NEGARA ASAL : <i>SIBIS - Firenze - Italy.</i>		PERHAMBIL CUNTAM : SUPV. IP.Q.C.
4. TGL. MASUK : <i>2-10-85</i>		<i>[Signature]</i>
5. ORDER PHAPROS : <i>Rh. 059</i>		ANALIS :
6. LOT. GUDANG : <i>05/02</i>		<i>[Signature]</i>
7. JUMLAH : <i>5 kg.</i>		
3. KEMASAN : <i>Bilik a 5 kg. Bilik no. 393</i>	LAPORAN PEMERIAN : <i>[Signature]</i>	

KETERANGAN LABORATORIUM		<i>C.6 H.14.11 0.10 HCl DNY : 326, 20.</i>
ANALISA & DAFTAR PUSTAKA : <i>SE II/12/1985</i>		
<i>Pemeriksaan. bertitik ketubuh, ukuran pellet.</i>		
<i>Identifikasi. 20</i>		
<i>Komunikasi:</i>		
<i>PH 10) :</i>	<i>2,31</i>	<i>(2,0 - 2,5)</i>
<i>kecepatan katal :</i>	<i>0</i>	
<i>Katikan air :</i>	<i>0,1</i>	<i>(maks 0,5)</i>
<i>usia penyusutan :</i>	<i>0</i>	<i>(maks 0,1)</i>
<i>Katikan :</i>	<i>101,08</i>	<i>(99 - 100,5) @ 11 Hiv. 1.5.0 HCl</i>
HASIL : <i>Baik</i>		
MULAI DAN SELESAI ANALISA :		DIKERJAKAN OLEH :
<i>4-10-85</i>	<i>4-10-85</i>	<i>[Signature]</i>
KESIMPULAN : <i>Reliabel</i>		
CATATAN UNTUK GUDANG : <i>Baik. Kadalu : 101,08 ?</i>		

PHAPROS : *[Signature]*
TGL. : *4-10-85*

LAMPIRAN III

CARA PERHITUNGAN PERSAMAAN KURVA BAKU

Untuk perhitungan persamaan kurva baku, disini digunakan mesin hitung CASIO FX 4000 P yang mana dalam mesin hitung tersebut telah ada program untuk perhitungan persamaan regresi dan perhitungan disini berdasarkan rumus:

$$b = \frac{n \cdot \sum XY - \sum X \cdot \sum Y}{n \cdot \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{\sum Y - b \cdot \sum X}{n}$$

$$r = \frac{n \cdot \sum XY - \sum X \cdot \sum Y}{\sqrt{[n \cdot \sum X^2 - (\sum X)^2] \cdot [n \cdot \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Keterangan:

X = kadar

Y = serapan

b = koefisien regresi (slope)

a = konstanta regresi (intersep)

r = koefisien korelasi

LAMPIRAN IV

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 60,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 20,0 µg/ml UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,35	2,79	263,24
94,35	2,80	264,18
94,56	2,82	266,66
94,71	2,83	268,03
94,83	2,94	278,80
ΣX = 472,80	ΣY = 14,18	ΣXY = 1340,91

$$\bar{X} = 94,56$$

$$\Sigma X^2 = 44708,15$$

$$(\Sigma X)^2 = 223539,84$$

$$\bar{Y} = 2,84$$

$$\Sigma Y^2 = 40,23$$

$$(\Sigma Y) = 201,07$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1340,91) - (472,8)(14,18)}{\sqrt{5(44708,15) - 223539,84} \sqrt{5(40,23) - 201,07}}$$

$$r = \frac{6704,55 - 6704,30}{0,95 \times 0,28} = \frac{0,25}{0,27} = 0,9259$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9259.$

LAMPIRAN V

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 80,0 $\mu\text{g/ml}$ DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 30,0 $\mu\text{g/ml}$ UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,42	2,80	264,38
94,50	2,81	265,55
94,57	2,81	265,74
94,87	2,95	279,87
94,90	2,96	280,90
$\Sigma X =$ 473,26	$\Sigma Y =$ 14,33	$\Sigma XY =$ 1356,44

$$\bar{X} = 94,652$$

$$\Sigma X^2 = 44795,20$$

$$(\Sigma X)^2 = 223975,03$$

$$\bar{Y} = 2,866$$

$$\Sigma Y^2 = 41,10$$

$$(\Sigma Y)^2 = 205,35$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1356,44) - (473,26)(14,33)}{\sqrt{5(44795,2) - 223975,03} \sqrt{5(41,1) - 205,35}}$$

$$r = \frac{6782,2 - 6781,82}{0,99 \times 0,39} = 0,9744$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9744$.

LAMPIRAN VI

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM PADA KADAR 100,0 $\mu\text{g/ml}$ DENGAN KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM PADA KADAR 40,0 $\mu\text{g/ml}$ UNTUK UJI " r "

X	Y	XY
94,09	2,81	264,39
94,20	2,81	264,70
94,25	2,86	269,56
94,26	2,90	273,35
94,36	2,96	279,31
$\Sigma X =$ 471,16	$\Sigma Y =$ 14,34	$\Sigma XY =$ 1351,31

$$\bar{X} = 94,23$$

$$\Sigma X^2 = 44398,39$$

$$(\Sigma X)^2 = 221991,75$$

$$\bar{Y} = 2,868$$

$$\Sigma Y^2 = 41,14$$

$$(\Sigma Y)^2 = 205,64$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1351,31) - (471,16)(14,34)}{\sqrt{5(44398,39) - 221991,75} \sqrt{5(41,14) - 205,64}}$$

$$r = \frac{6756,55 - 6756,44}{0,45 \times 0,25} = 0,9977$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9977.$$

LAMPIRAN VII

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 60,0 $\mu\text{g/ml}$ DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 20,0 $\mu\text{g/ml}$ UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
84,83	2,43	206,14
84,63	2,42	204,83
84,53	2,41	203,72
84,34	2,36	199,04
84,11	2,39	201,02
$\Sigma X =$ 422,45	$\Sigma Y =$ 12,01	$\Sigma XY =$ 1014,75

$$\bar{X} = 84,49$$

$$\Sigma X^2 = 35693,11$$

$$(\Sigma X)^2 = 178464,0$$

$$\bar{Y} = 2,40$$

$$\Sigma Y^2 = 28,85$$

$$(\Sigma Y)^2 = 144,24$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1014,75) - (422,45)(12,01)}{\sqrt{5(35693,11) - 178464} \sqrt{5(28,85) - 144,24}}$$

$$r = \frac{5073,75 - 5073,63}{1,25 \times 0,1}$$

$$r = 0,96$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,96.$

LAMPIRAN VIII

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 80,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 30,0 µg/ml UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
85,08	2,40	204,19
85,09	2,42	205,92
85,22	2,43	207,08
85,34	2,47	210,79
85,44	2,49	212,87
$\Sigma X =$ 426,22	$\Sigma Y =$ 12,21	$\Sigma XY =$ 1040,85

$$\bar{X} = 85,244$$

$$\Sigma X^2 = 36332,82$$

$$(\Sigma X)^2 = 181663,49$$

$$\bar{Y} = 2,442$$

$$\Sigma Y^2 = 29,82$$

$$(\Sigma Y)^2 = 149,08$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1040,85) - (426,22)(12,21)}{\sqrt{5(36332,82) - 181663,49} \sqrt{5(29,82) - 149,08}}$$

$$r = \frac{5204,25 - 5204,15}{0,78 \times 0,14}$$

$$r = \frac{0,1}{0,11} = 0,9091$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,9091$

LAMPIRAN IX

PERHITUNGAN HUBUNGAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 100,0 µg/ml DENGAN KOEFISIEN PARTISI KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 40,0 µg/ml UNTUK UJI "r"

X	Y	XY
85,08	2,37	201,64
85,26	2,39	203,77
85,37	2,40	204,89
85,55	2,43	207,89
85,61	2,44	208,89
$\Sigma X =$ 426,87	$\Sigma Y =$ 12,03	$\Sigma XY =$ 1027,08

$$\bar{X} = 85,37$$

$$\Sigma X^2 = 36443,79$$

$$(\Sigma X)^2 = 182218,0$$

$$\bar{Y} = 2,406$$

$$\Sigma Y^2 = 28,95$$

$$(\Sigma Y)^2 = 144,72$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} \sqrt{n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1027,08) - (426,87)(12,03)}{\sqrt{5(36443,79) - 182218} \sqrt{5(28,95) - 144,27}}$$

$$r = \frac{5135,4 - 5135,25}{0,9747 \times 0,17} = \frac{0,15}{0,1667} = 0,8998$$

Keterangan :

X = % Ikatan protein plasma

Y = Koefisien partisi

$r_{XY} = r_{hitung} = 0,8998.$

LAMPIRAN X

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 60,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,35	84,83
94,35	84,63
94,56	84,53
94,71	84,34
94,83	84,11
$\bar{X}_1 = 94,56$	$\bar{X}_2 = 84,49$
$S_1 = 0,2142$	$S_2 = 0,2755$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,2142)^2 + (5-1)(0,2755)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,2468$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,56 - 84,49}{0,2468 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 64,5227$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 64,5227$

LAMPIRAN XI

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 80,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,42	85,08
94,50	85,09
94,57	85,22
94,87	85,34
94,90	85,49
$\bar{X}_1 = 94,65$	$\bar{X}_2 = 85,24$
$S_1 = 0,2195$	$S_2 = 0,1739$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,2195)^2 + (5-1)(0,1739)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,3339$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,65 - 85,24}{0,3339 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 44,5455$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 44,5455$

LAMPIRAN XII

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA % IKATAN PROTEIN PLASMA DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 100,0 µg/ml DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
94,09	85,08
94,20	85,26
94,25	85,37
94,26	85,55
94,36	85,61
$\bar{X}_1 = 94,23$ $S_1 = 0,0983$	$\bar{X}_2 = 85,37$ $S_2 = 0,2157$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0983)^2 + (5-1)(0,2157)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,1676.$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{94,23 - 85,37}{0,1676 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 83,6638$$

Keterangan :

X_1 = % Ikatan protein plasma Diazepam

X_2 = % Ikatan protein plasma Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata % ikatan protein plasma

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 83,6638$

LAMPIRAN XIII

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 20,0 µg/ml, DENGAN UJI "t" (Pooled t test)

X ₁ Diazepam	X ₂ Klordiazepoksida HCl
2,79	2,43
2,80	2,42
2,82	2,41
2,83	2,36
2,94	2,39
$\bar{X}_1 = 2,84$	$\bar{X}_2 = 2,40$
$S_1 = 0,0602$	$S_2 = 0,0277$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0602)^2 + (5-1)(0,0277)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,0468$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{0,0468 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 14,662$$

Keterangan :

X₁ = Koefisien partisi Diazepam

X₂ = Koefisien partisi Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Koefisien partisi rata-rata

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

t_{hitung} = 14,662.

LAMPIRAN XIV

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 30,0 µg/ml, DENGAN UJI " t " (Pooled t test)

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
2,80	2,40
2,81	2,42
2,81	2,43
2,95	2,47
2,96	2,49
$\bar{X}_1 = 2,87$	$\bar{X}_2 = 2,44$
$S_1 = 0,0814$	$S_2 = 0,037$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0814)^2 + (5-1)(0,037)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,0632$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{2,87 - 2,44}{0,0632 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 10,6079$$

Keterangan :

X_1 = Koefisien partisi Diazepam

X_2 = Koefisien partisi Klordiazepoksida HCl

\bar{X} = Rata-rata koefisien partisi

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 10,6079$

LAMPIRAN XV

PERHITUNGAN PERBEDAAN ANTARA KOEFISIEN PARTISI DARI DIAZEPAM DAN KLORDIAZEPOKSIDA HCl PADA KADAR 40,0 µg/ml, DENGAN UJI " t " (Pooled t test).

X_1 Diazepam	X_2 Klordiazepoksida HCl
2,81	2,37
2,81	2,39
2,86	2,40
2,90	2,43
2,96	2,44
$\bar{X}_1 = 2,87$ $S_1 = 0,0638$	$\bar{X}_2 = 2,41$ $S_2 = 0,0288$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(S_1)^2 + (n_2-1)(S_2)^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(5-1)(0,0638)^2 + (5-1)(0,0288)^2}{(5 + 5 - 2)}}$$

$$S_p = 0,04949$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{2,87 - 2,41}{0,04949 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$t = 14,7601$$

Keterangan :

X_1 = Koefisien partisi Diazepam

X_2 = Koefisien partisi Klordiazepoksida

\bar{X} = Rata-rata koefisien partisi

S = Standard Deviasi

S_p = Standard Deviasi Pooled

$t_{hitung} = 14,7601$

LAMPIRAN XVI

TABEL KOEFISIEN KORELASI " r "

Derajat bebas (n-2)	Koefisien korelasi " r " dari	
	P = 0,05	P = 0,01
1	0,9969	0,9999
2	0,9500	0,9900
3	0,8783	0,9587
4	0,8114	0,9172
5	0,7545	0,8745
6	0,7067	0,8343
7	0,6664	0,7977
8	0,6319	0,7646
9	0,6021	0,7348
10	0,5760	0,7079
11	0,5529	0,6835
12	0,5324	0,6614
13	0,5139	0,6411
14	0,4973	0,6226
15	0,4821	0,6055

LAMPIRAN XVII

TABEL DISTRIBUSI " t "

d. f. (n+n-2)	t _{.90}	t _{.95}	t _{.975}	t _{.99}	t _{.995}
1	3,078	6,3138	12,706	31,821	63,657
2	1,886	2,9200	4,3027	6,965	9,9248
3	1,638	2,3534	3,1825	4,541	5,8409
4	1,533	2,1318	2,7764	3,747	4,6041
5	1,476	2,0150	2,5706	3,365	4,0321
6	1,440	1,9432	2,4469	3,143	3,7074
7	1,415	1,8946	2,3646	2,998	3,4995
8	1,397	1,8595	2,3060	2,896	3,3554
9	1,383	1,8331	2,2622	2,821	3,2498
10	1,372	1,8125	2,2281	2,764	3,1693
11	1,363	1,7959	2,2010	2,718	3,1058
12	1,356	1,7823	2,1788	2,681	3,0545
13	1,350	1,7709	2,1604	2,650	3,0123
14	1,345	1,7613	2,1448	2,624	2,9768
15	1,341	1,7530	2,1315	2,602	2,9467

DAFTAR PUSTAKA

1. Sulistian Gan., 1980. Cetak ulang 1981. Farmakologi Dan Terapi. Ed. II.; Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. pp. 2 - 3; 111 - 112; 125.
2. Frederich H. Meyer. Ernest Jawetz. Alan Golfien., 1970. Review of Medical Pharmacology. 2nd edition.; Lange Medical Publication.: Los Altos, California. pp. 213, 457 - 474.
3. Daftar Obat Essensial Nasional. 1980/1981. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. p. 13.
4. Reynold, James E.F., 1982. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 28th edition.; The Pharmaceutical Press.: London. pp. 1506 - 1508, 1519 - 1526.
5. Vallner, Joseph J., 1977. Binding of Drug by Albumin and Plasma Protein. Journal of Pharmaceutical Sciences 66. pp. 447 - 450.
6. Osol, Arthur., 1980. Remington's Pharmaceutical Science. 16th edition.; Mack Publishing Company. : Easton, Pennsylvania 18042. pp. 187 - 192, 704 - 705.
7. Steinhardt, Jacinto., et.al. 1969. Multiple Equilibrium in Proteins. Vol. II.; Academic Press.: New York and London. pp. 34 - 65.
8. Garret, Edward R., et.al. 1977. Drug Fate and Metabolism. Vol. 1.; Marcel Dekker Inc.: New York and Basel. pp. 188 - 227.

9. Wiegand R.G. and Chun A.H.C., 1975. Serum protein Binding of Erythromycin and Erythromycin 2' - propionat ester. Journal of Pharmaceutical Sciences. 62. pp. 961 - 966.
10. Wolfgang Loscher., 1979. A Comparative Study of the Protein Binding of Anticonvulsant Drug for Dog and Man. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol. 208. no. 3. p. 429.
11. Dyer, John R., 1965. Application of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds. Printice - Hall Inc. : Englewood Cliffs, N.I., pp. 1 - 10.
12. Goldstein, Avram., et.al. 1974. Principles of Drug Action. The Basis of Pharmacology. 2nd edition.; John Wiley and Sons.: New York, London, Sydney, Toronto. pp. 42 - 53, 158 - 164, 190 - 191.
13. Higashi, Yutaka., et.al. 1978. Effect of Salicylate the Binding of Sulfonamides to Bovin Serum Albumin. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 26. pp. 3571 - 3576.
14. Chien W.Yie., et.al. 1975. Linear Relationship Between Plasma Binding and Lipophilicity of Disopyramide Derivat. Journal of Pharmaceutical Sciences. 64. pp. 916 - 966.
15. Inoue, Sho., et.al. 1974. The Partition Coefficient of Amino Uracil Derivat. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 22. pp. 2064 - 2068.

16. Par - Lin Hsu. Joseph K.H., et.al. 1977. Structure Relationship for Binding of Sulfonamides and Penicillins to Bovin Serum Albumin by Fluorescence Probe Technique. Journal of Pharmaceutical Sciences. 63. pp. 27 - 31.
17. Curry, Stephen H., 1980. Drug Disposition and Pharmacokinetics With A Consideration of Pharmacological and Clinical Relationships. 3rd edition. Blackwell Scientific Publications. : Oxford, London, Edinburgh Boston, Melbourne. pp. 14 - 15, 88 - 99.
18. Inagi, Toshio., 1981. Mechanism of Indomethacin Partition Between n. Oktanol and Water. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 29. pp. 2330 - 2337.
19. The Pharmaceutical Codex. 1979. In incorporating the British Pharmaceutical Codex. 11th edition.; London, The pharmaceutical Press. pp. 168,169, 286 - 270, 1012, 1015.
20. A. Macdonald, A.F. Michaelis. and B.Z. Saukawski. 1972. Analytical Profiles of Drug Substances. Volume I.; Academic Press.: New York, London, Sanfransisco,. pp. 40 - 51, 80 - 99.
21. Farmakope Indonesia.
Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979.
Farmakope Indonesia. Ed. III. Jakarta, pp. 149 - 150
211 - 212, 772 - 774.
22. Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of Drug. The Pharmaceutical Press, 17 Bloomsbury square W.C.I. ; London. pp. 248 - 249, 294, 738 - 739, 803.

23. Pecsok, Robert L., et.al. 1976. Modern Methods of Chemical Analysis. 2nd edition.; John Wiley & Sons.: New York Santa Barbara, London, Sydney, Toronto. pp. 133 - 136
24. Stauton, Edward., 1963. Text book of Biophysical Chemistry 3th edition.; The Macmillan Company.: New York. pp. 98 - 110.
25. Shoji Ozeki and Kikuo Tejima. 1974. Drug Interaction II, Binding of Pyrazolone and Pyrazolidin Derivat to Bovin Albumin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 22. (6). pp. 1297 - 1301.
26. Drs. Djarwanto PS. Drs. Pangestu Subagyo. 1981. Statistik Induktif. bagian kedua. Bagian Penerbitan Fakultas Ekanomi Universitas Gajahmada. Yogyakarta. pp. 140 - 142.
27. Wayne W. Daniel. 1974 & 1978. Biostatistics A Foundation for Analysis in the Health Sciences. 2nd edition.; John Wiley and Sons.: New York Chichester, Brisbane Toronto. pp. 174 - 182.