

INTERAKSI METABOLISME INH & RIFAMPISIN MENGUNAKAN HEPATOSIT TIKUS

Fasih, Suharjono, Sri Wahyuni, I Ketut Mandikin*, dan Mulja Hadi Santosa**

*Lab. Biofarmasetika Farmakokinetika Fakultas Farmasi
Universitas Airlangga Surabaya

**Lab. Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRACT

Research on the interaction isoniazid metabolism and rifampicin using rat hepatocytes suspension has been done. As the system metabolism, hepatocytes suspension was prepared by perfusion in the calcium binding media containing EDTA, citrate and glycine was used.

Treatment at the hepatocytes suspension divided into two groups. One group research on the influence of isoniazid on rifampicin metabolism. Second research on the influence of rifampicin on isoniazid metabolism. Each group divided into five subgroups. Result calculated on the base of variation of rifampicin AUC-value beginning from 0 up to 180 minutes showed that isoniazid with concentration 5 µg, 10 µg, 15 µg, and 20 µg did not influence the metabolism of rifampicin (10 µg/ml) as showed by no significant changes of AUC values of rifampicin for $\alpha = 0,005$. On the otherhand result calculated on the base of variation of isoniazid AUC-value beginning from 0 up to 180 minutes showed that rifampicin with concentration 5 µg, 10 µg, 15 µg, and 20 µg did influence the metabolism of isoniazid (10 µg/ml) as showed by significant changes of AUC values of isoniazid for $\alpha = 0,005$. Showed that isoniazid metabolism decrease used as combination of rifampicin.

Key words: Isoniazid Rifampicin, metabolism, Rat hepatocytes.

PENDAHULUAN

Kuman penyebab tuberkulosis telah ditemukan lebih dari seratus tahun yang lalu, namun di Indonesia penyakit tuberkulosis baru sampai saat ini masih merupakan masalah.

Pengobatan tuberkulosis pada umumnya memerlukan waktu yang cukup lama yaitu antara 6-9 bulan untuk terapi jangka pendek dan antara 12-18 bulan untuk terapi jangka panjang. Untuk terapi jangka pendek digunakan Rifampisin dan INH sebagai obat inti. Sedangkan untuk terapi jangka panjang tanpa menggunakan Rifampisin. Selain Rifampisin dan INH ada beberapa obat antituberkulosis yang lain seperti Streptomisin, Etambutol dan Pirazinamid (RSUD Dr. Soetomo, 1998).

Di antara kombinasi yang ada, kombinasi Rifampisin dengan INH sering digunakan dalam pengobatan. Kombinasi ini menunjukkan kelebihan daripada kombinasi obat antituberkulosis yang lain. Kelebihan tersebut antara lain efektifitas yang tinggi, sinergis, bekerja bakterisida dan keduanya mampu menembus sel. Baik Rifampisin maupun INH diserap dengan baik dalam saluran cerna (Reynold, 1993; Sik Liang Han, 1972)

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menunjukkan kemungkinan adanya interaksi antara INH dengan Rifampisin. Acocella (1972) mengatakan bahwa farmakokinetik dari Rifampisin dan INH tidak berubah secara bermakna bila diberikan bersama-sama. Namun beberapa penelitian klinik menyebutkan bahwa kombinasi Rifampisin dengan INH lebih hepatotoksik daripada bila obat diberikan tunggal. Lorens *et al.*, 1978 dan Lal *et al.*, 1972 mengatakan bahwa INH meningkatkan toksisitas Rifampisin terhadap hati yang ditandai dengan meningkatkan enzim transaminase. Sedangkan Mouton *et al.* 1979 mengatakan bahwa INH tidak memberikan induksi tetapi pengaruhnya kurang baik terhadap kadar Rifampisin didalam serum. Sarma *et al.* 1986 melaporkan bahwa meningkatnya efek hepatotoksik disebabkan Rifampisin meningkatkan terbentuknya metabolit hidrazin di samping meningkatkan terbentuknya acylating agent dari monoasetilhidrazin.

Penelitian metabolisme dapat menggunakan suspensi hepatosit tikus (hepatosit terisolasi), karena hepatosit dapat mewakili organ hepar yang merupakan tempat terjadinya metabolisme utama. Metode hepatosit terisolasi ini dipilih karena lebih efektif, dimana dengan satu organ hepar (satu hewan percobaan) dapat diperoleh suspensi sel dalam jumlah yang cukup untuk suatu rancangan penelitian lengkap (Muller-Wellensick, 1987). Pada penelitian ini digunakan metode penetapan kadar obat secara KLT-Densitometri, dimana yang diukur adalah kadar obat dalam bentuk tidak berubah yang tersisa dalam sistem sebagai parameter terjadinya proses metabolisme dalam sistem tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan percobaan

Media perfusi hati (tanpa EDTA) yang ditimbangkan terlebih dahulu dengan gas O₂/CO₂ (95/5 vol. %), Media disintegrasi hati (dengan EDTA) yang ditimbangkan terlebih dahulu dengan gas O₂/CO₂ (95/5 vol. %), Media WME (Sigma), HEPES (Sigma), Fetal Bovine Serum (Sigma). Larutan tripan biru (0.4% tripan biru dalam larutan NaCl 0.9%), Rifampisin p.g. (PT. Coronet Crown Pharm. Ind.), Isoniazid p.g. (PT. Coronet Crown Pharm. Ind.)

Subyek penelitian

Tikus putih dewasa strain Wistar dengan berat badan 150-300 g didapatkan dari Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Tabel 1. Area Bawah Kurva hubungan antara prosen kadar Rifampisin dengan waktu (hewan percobaan I)

Tabel 3. Area Bawah Kurva hubungan antara prosen kadar INH dengan waktu (hewan percobaan I)

Perlakuan	Replikasi	AUC	X
RIF 10 ppm	1	14389,38	13506,24 ± 1178,94
	2	12167,48	
	3	13961,87	
RIF 10 ppm INH 5 ppm	1	12523,20	13163,02 ± 581,99
	2	13305,55	
	3	13660,52	
RIF 10 ppm INH 10 ppm	1	12467,18	12572,94 ± 122,95
	2	12707,84	
	3	12543,81	
RIF 10 ppm INH 15 ppm	1	11185,70	11626,84 ± 945,24
	2	10982,82	
	3	12712,97	
RIF 10 ppm INH 20 ppm	1	10082,57	11706,25 ± 1432,11
	2	12789,56	
	3	12246,63	

X = rata-rata ± standar deviasi

Perlakuan	Replikasi	AUC	X
INH 10 ppm	1	12983,025	13039,03 ± 49,905
	2	13078,785	
	3	13055,280	
INH 10 ppm RIF 5 ppm	1	12701,400	12779,54 ± 253,359
	2	13062,765	
	3	12574,455	
INH 10 ppm RIF 10 ppm	1	12075,650	12307,27 ± 276,289
	2	11743,800	
	3	12292,365	
INH 10 ppm IRIF 15 ppm	1	10600,590	10814,62 ± 306,136
	2	11165,280	
	3	10677,990	
INH 10 ppm RIF 20 ppm	1	10550,280	10081,74 ± 419,694
	2	9954,690	
	3	9740,250	

X = Harga rata-rata ± standar deviasi

Tabel 2. Area Bawah Kurva hubungan antara prosen kadar Rifampisin dengan waktu (hewan percobaan II)

Tabel 4. Area Bawah Kurva hubungan antara prosen kadar INH dengan waktu (hewan percobaan II)

Perlakuan	Replikasi	AUC	X
RIF 10 ppm	1	16396,71	15416,53 ± 854,11
	2	14831,91	
	3	15020,97	
RIF 10 ppm INH 5 ppm	1	16039,86	15021,15 ± 1217,33
	2	15350,58	
	3	13673,01	
RIF 10 ppm INH 10 ppm	1	14984,93	14399,92 ± 998,55
	2	13246,95	
	3	14967,90	
RIF 10 ppm INH 15 ppm	1	14306,39	13965,89 ± 604,67
	2	13267,74	
	3	14323,53	
RIF 10 ppm INH 20 ppm	1	12527,93	13075,92 ± 664,38
	2	13814,87	
	3	12884,96	

X = rata-rata ± standar deviasi

Perlakuan	Replikasi	AUC	X
INH 10 ppm	1	12448,455	12434,315 ± 427,016
	2	12008,405	
	3	12854,085	
INH 10 ppm RIF 5 ppm	1	11784,540	11664,840 ± 147,283
	2	11500,365	
	3	11709,615	
INH 10 ppm RIF 10 ppm	1	11166,465	11282,250 ± 497,569
	2	10770,855	
	3	11759,430	
INH 10 ppm RIF 15 ppm	1	10489,590	10482,685 ± 289,526
	2	10189,920	
	3	10768,860	
INH 10 ppm RIF 20 ppm	1	9391,335	9434,425 ± 331,477
	2	9785,340	
	3	9126,600	

X = Harga rata-rata ± standar deviasi

Setelah dilakukan analisis statistik dari data pengaruh INH terhadap metabolisme Rifampisin ternyata tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada $\alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan tidak adanya pengaruh INH terhadap metabolisme Rifampisin.

Bagi Rifampisin, proses hidrolisis merupakan reaksi utama pada jalur metabolismenya dan menghasilkan metabolit deasetilrifampisin. Pada sisi lain INH mengalami asetilasi menjadi asetilisoniazid dan reaksi ini merupakan jalur utama dari metabolismenya. Selanjutnya akan diubah menjadi asam nikotinat dan hidrazin. Selain itu INH juga mengalami konjugasi dengan asam piruvat membentuk piruvat hidrazon dan dengan asam ketoglutarat membentuk ketoglutarat hidrazon.

Menurut Gibson *et al.* (1991) INH digolongkan sebagai obat yang dapat menghambat metabolisme obat lainnya. Penghambatan ini terjadi melalui pembentukan kompleks antara INH dengan oksidase fungsi campur (MFO = Mixed Function Oxydase).

Tidak adanya pengaruh INH terhadap metabolisme Rifampisin pada penelitian ini mungkin disebabkan karena jalur metabolisme Rifampisin tidak dapat dihambat oleh INH. Hal yang sama juga pernah dilaporkan oleh Acocella *et al.* (1972) yang menggunakan subyek manusia. Dosis Rifampisin pada pemakaian tunggal digunakan 600 mg diberikan secara per oral selama 7 hari. Sedangkan pada pemakaian bersama, dosis rifampisin digunakan 600 mg dan INH 300 mg diberikan secara per oral selama 7 hari. Dari hasil penelitiannya dilaporkan bahwa tidak ada perbedaan absorpsi, metabolisme dan ekskresi rifampisin pada pemakaian tunggal maupun kombinasi.

Pada penelitian pengaruh Rifampisin terhadap metabolisme INH diperoleh bahwa, harga area bawah kurva dari INH tanpa Rifampisin memang nampak lebih tinggi dari harga area di bawah kurva INH yang dikombinasi dengan rifampisin. Walaupun demikian pada pemberian INH 10 µg/ml yang dikombinasi dengan Rifampisin 5 µg/ml berdasarkan hasil perhitungan HSD menunjukkan bahwa selisih tersebut tidak mempunyai perbedaan yang bermakna pada derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Proses metabolisme INH pada suspensi hepatosit dapat diketahui dari turunya kadar INH dan adanya noda lain pada kromatogram. Pada penelitian ini terlihat bahwa metabolisme INH meningkat dengan adanya penambahan Rifampisin pada pemakaian secara kombinasi. Hal ini dapat dilihat dari adanya penurunan harga area bawah kurva hubungan prosen kadar INH dengan waktu. Pemakaian INH yang dikombinasi dengan Rifampisin memperbesar proses metabolisme INH, karena Rifampisin bersifat menginduksi enzim. Pada jalur metabolisme INH, Rifampisin menginduksi N-asetil transferase yang berperan dalam proses asetilasi INH menjadi asetilisoniazida. Selain itu Rifampisin juga menginduksi isoniazidhidrolase yang berperan dalam proses hidrolisis isoniazida menjadi hidrazin (Muller-Wellensiek, 1987) Dari hal ini, maka suatu *acylating agent* yang terbentuk dari monoasetil hidrazin dan hidrazin akan semakin banyak. Hal inilah yang dapat meningkatkan terjadinya efek hepatotoksik. Hal ini juga dilaporkan oleh

Sarma, 1986 yang dalam penelitiannya menggunakan subyek manusia yang diberikan INH 300 mg yang dikombinasi dengan Rifampisin 600 mg secara oral selama 10 hari. Dari penelitiannya diperoleh hasil bahwa asetilisoniazid dan hidrazin yang terbentuk pada subyek yang diberi INH dengan Rifampisin lebih banyak daripada yang diberi INH saja (Sarma, 1986).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian pengaruh INH terhadap metabolisme Rifampisin dalam suspensi hepatosit tikus yang diamati berdasarkan perubahan harga AUC Rifampisin mulai waktu ke-0 sampai waktu ke-180 menit, terbukti bahwa IN dengan kadar 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, dan 20 µg/ml tidak mempengaruhi metabolisme rifampisin 10 µg/ml berdasarkan atas tidak adanya perubahan bermakna harga AUC-Rifampisin pada $\alpha = 0,05$. Tetapi sebaliknya, peneliti pengaruh Rifampisin terhadap INH ternyata bahwa Rifampisin dengan kadar µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml dan 20 µg/ml dapat meningkatkan metabolisme INH 1 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Acocella, G., Acocella, G. Pagani, V., Marciotti, M., Baroni, C., and Nicolis, F.F. 1972. Kinetics of Rifampisin and Isoniazid Administered Alone and Combination to Normal Subjects and Patients with Liver Disease. *Gi* 13 : 47-53.
- Aszalos, A., 1986. *Modern Analysis of Antibiotics*, Marcel Dekker, Inc., New York p. 197-203, 218.
- Clarke, E.G.C., 1975. *Isolation and Identification of Drugs*, vol 2, London U Pharmaceutical Press. p. 1092-1093.
- Gibson, G.G., Skett, P., 1991. *Introduction to Drug Metabolism*, (Terjemahan: I Aisyah B.), UI Press. hal. 88-106.
- Lal, S.; Singhal, S.N.; Burley, P.M & Crossley, G., 1972. Effect of Rifampicin and Isoniazid on Liver Function. *British Medical Journal*, : 145-150.
- Lorent, J., Serrano, R.J., and Sanchez, R., 1978. Pharmacodynamic Interferen between Rifampicin and Isoniazid. *Chemotherapy*, 24 : 97-103.
- Mouton, R.P., Mattie, H., Swart, K., Kreukniet, J. and de Wael, J., 1979. Bio Level of Rifampicin, Desacetyl Rifampicin and Isoniazid Duri Combined Therapy. *Antimicrob. Chem.* 5 : 447-454.
- Muller-Wellensiek, A. 1987. *Anwendung Der Elektrisch Induzierten Zell Fusi und Kryokon Servierung Zur Herstellung Fremdstoff Metabolisieren D in Vitro Systeme*. Dissertation. Eberhard-Karls Universitat zu Tubigen. 11, 23.

- Ostle, B. 1969. *Statistics in Research*, 2nd Ed. The Iowa State University Press, Iowa.
- Reynold, J.E.F., 1993. *Martindale The Extra Pharmacopocia*, 30th edition, The Pharmaceutical Press, London, p. 174-199.
- Rumah Sakit Umum Daerah Dokter Sutomo, 1988. *Pedoman Diagnosis dan Terapi*, Lab./UPF Ilmu Penyakit Dalam, hal. 203-205.
- Sarma, G.R., 1986. Rifampin Induced Release of Hidrazine from Isoniazid. *Am. Review Respir. Dis.*, 133 : 1072-1075.
- Seglen, P.O., 1976. Preparation of Isolated Rat Liver Cells, *In Meth. Cell Biology*, 13, Chapter 4 : 29-64.
- Sik Liang Han, 1972. *Penggunaan Rifampisin Sebagai Obat Tuberkulose*, Balai Pemberantasan Penyakit Paru-paru Malang, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, hal. 1-34.

PENDAHULUAN

Salah satu masalah dalam pengobatan tuberkulosis adalah terjadinya resistensi terhadap obat anti tuberkulosis. Resistensi ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah karena ketidakpatuhan dalam minum obat.

Penggunaan rifampisin pada tuberkulosis merupakan salah satu cara untuk meningkatkan kepatuhan minum obat. Rifampisin dapat menghambat metabolisme isoniazid dan rifampisin sendiri juga dapat menghambat metabolisme rifampisin. Oleh karena itu, rifampisin dan isoniazid akan terakumulasi yang dapat menimbulkan toksisitas dan resistensi (RSUD Dr. Sutomo, 1981).

Salah satu masalah yang dihadapi rifampisin dengan obat anti tuberkulosis adalah resistensi. Resistensi ini merupakan bahaya karena menghambat obat anti tuberkulosis yang lain. Resistensi ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah karena ketidakpatuhan dalam minum obat. Rifampisin dapat menghambat metabolisme isoniazid dan rifampisin sendiri juga dapat menghambat metabolisme rifampisin.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mempelajari pengaruh rifampisin terhadap metabolisme isoniazid dengan menggunakan heparatisit tikus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rifampisin terhadap metabolisme isoniazid dengan menggunakan heparatisit tikus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus.

Pengaruh rifampisin dapat meningkatkan resistensi isoniazid yang disebabkan karena rifampisin dapat menghambat metabolisme isoniazid. Metode penelitian yang digunakan adalah dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan heparatisit tikus yang diisolasi dari hati tikus.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Media kultur sel tikus (DMEM) yang diperkaya dengan glukosa 10% dibuat dengan menggunakan serum fetal sapi (FCS) yang diperkaya dengan glukosa 10% dengan menggunakan serum fetal sapi (FCS) yang diperkaya dengan glukosa 10%. Media kultur sel tikus (DMEM) yang diperkaya dengan glukosa 10% dibuat dengan menggunakan serum fetal sapi (FCS) yang diperkaya dengan glukosa 10%.

Prosedur Penelitian

Salah satu masalah dalam pengobatan tuberkulosis adalah terjadinya resistensi terhadap obat anti tuberkulosis. Resistensi ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah karena ketidakpatuhan dalam minum obat.