

FARMASIA

# ANALISIS FARMAKOKINETIKA LINIER DAN NONLINIER DENGAN DATA SALISILAT DALAM URIN SUBYEK NORMAL



TF 07/07  
04e  
01

**M I N I E**  
**PERPUSTAKAAN**  
**"UNIVERSITAS AIRLANGGA"**  
**SURABAYA**

OLEH

**DODDY DE QUELJOE**

**FAKULTAS PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**1987**

**ANALISIS FARMAKOKINETIKA LINIER DAN NONLINIER  
DENGAN DATA SALISILAT DALAM URIN SUBYEK NORMAL**

**TESIS**

**DIAJUKAN UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
PENDIDIKAN PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI**

Oleh :

**DODDY DE QUELJOE**

**NPM : 098410075M**


**Ketua Program Studi :**

**Pembimbing Ketua :**



**Dr. Noor Cholies Zaini**

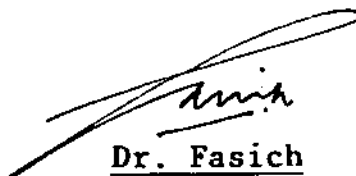
**NIP : 130355372**



**Dra. Ny. Siti Sjamsiah H.**

**NIP : 130220357**

**Pembimbing :**



**Dr. Fasich**

**NIP : 130517155**

**Team Penguji/Penilai Tesis :**

**Ketua : DR. A.Azis Hubeis, Apt.**

**Anggota : Prof. Nanizar Zaman - Joenoes, Pharm.D.**

**DR. Fasich, Apt.**

**DR. Gunawan Indrajangto, Apt.**

**Dra. Ny.Siti Sjamsiah H., Apt.**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Pengasih dan Penyayang yang hanya oleh perkenan-Nya, disertai berkat dan rahmat-Nya yang di limpahkan kepada saya, maka saya dapat menyelesaikan tesis untuk memenuhi persyaratan Pendidikan Pascasarjana Program Studi Ilmu Farmasi. Terima kasih yang tulus dan sedalam-dalamnya saya sampaikan kepada :

Ibu Dra. Ny. Siti Sjamsiah H., Apt. dan Dr. Fasich Apt., selaku Pembimbing yang telah mengorbankan waktunya untuk memberikan dorongan, bimbingan, nasihat dan bantuan pemikiran dengan penuh kesabaran, mulai dari persiapan dan penyusunan proposal penelitian hingga selesainya tesis ini.

Bapak Dr. Gunawan Indrajanto, Apt., selaku Konsultan bidang analisis kimia, yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

Bapak dr. Hari K. Lasmono, M.S., selaku Konsultan bidang medis, yang telah memberikan bantuan di bidang medis sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Prof. Nanizar Zaman - Joenoes, Pharm.D., atas diskusi dan saran yang telah diberikan demi penyempurnaan

tesis ini.

Tim Manajemen Program Doktor (TMPD) Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, yang telah memberikan bantuan beasiswa, sehingga saya dapat mengikuti Pendidikan Pascasarjana ini.

Universitas Airlangga khususnya Fakultas Pasca-sarjana dan Fakultas Farmasi yang mengelola dan memberikan kesempatan serta bantuan dalam menempuh pendidikan Pascasarjana ini.

Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan bantuan pemeriksaan laboratorium.

Perpustakaan Universitas Airlangga yang telah menyediakan pustaka yang sangat membantu dalam penyelesaian tesis ini.

Bapak Dr. Fasich, Apt., dan Bapak Dr. Noor Cholies Zaini, Apt., yang telah banyak berjasa dalam mengelola Pendidikan Pascasarjana Program Studi Ilmu Farmasi.

Universitas Surabaya dan Fakultas Farmasi Universitas Surabaya yang telah memberikan kesempatan, bantuan dan fasilitas kepada saya, sehingga saya dapat mengikuti Pendidikan Pascasarjana dan menyelesaikan tesis ini dengan lancar.

Semua rekan yang dengan sukarela dan tulus ikhlas telah sudi membantu pelaksanaan penelitian ini sehingga

penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan dan bantuan moral maupun material selama saya mengikuti Pendidikan Pascasarjana ini.

Akhirnya kepada istri dan anak saya, ibu dan adik-adik saya, atas pengertian dan kerjasama serta doa restunya.

Semoga Tuhan Yang Maha Pengasih memberikan balasan yang setimpal. Amin.

## ABSTRAK

Telah dilakukan analisis farmakokinetika nonlinier secara kinetika Michaelis-Menten dan kinetika linier order pertama, menggunakan data urin pada lima subyek normal dengan asam salisilat sebagai model obat. Setiap subyek mendapat perlakuan 3 dosis tunggal, yang diberikan selang 1 minggu, dalam bentuk sediaan larutan Natrium Salisilat dalam air setara dengan 250, 500 dan 750 mg asam salisilat (AS). Sampel urin ditampung pada interval waktu tertentu selama 72 jam.

Dari sampel urin ditentukan asam salisilat-total ( $AS_T$ ) dan asam salisilat (SU) dengan pereaksi  $Fe(NO_3)_3$  menurut metode Levy dan Chiou. Dari  $AS_T$  dapat ditentukan jumlah AS yang belum terekskresi. Dari SU yang terekskresi dalam urin ditentukan laju ekskresi SU.

Dari analisis kinetika linier dihasilkan perbedaan yang bermakna dari harga tetapan laju eliminasi (K) dan waktu paruh biologik ( $t_{1/2}$ ) untuk ketiga macam dosis. Hal ini menunjukkan adanya "dose-dependent kinetics".

Analisis kinetika nonlinier dengan kurva laju ekskresi SU (sebagai ordinat) terhadap jumlah AS yang belum terekskresi (sebagai absis) menunjukkan bahwa kinetika pembentukan SU mencapai kejenuhan. Analisis perbandingan untuk kinetika nonlinier dengan metode Lineweaver-Burk (LB), Hanes-Woolf (HW), dan Augustinsson-Hofstee (AH) menunjukkan bahwa metode HW menghasilkan kurva dengan ketelitian terbaik, yang dapat dilihat dari penyebaran dan penyimpangan titik dari garis yang dihasilkan dengan persamaan HW. Ketelitian harga  $K_m$  yang diperoleh dengan metode HW menunjukkan koefisien varian terkecil sedang harga  $V_m$  mempunyai koefisien varian yang relatif sama dengan yang diperoleh dengan metode AH.

Dengan menggunakan data urin dan dengan AS sebagai model obat, dapat ditunjukkan perbedaan karakteristik kinetika linier dan kinetika nonlinier.

## ABSTRACT

The analysis of nonlinier pharmacokinetics with Michaelis-Menten kinetics and first order linear kinetics have been performed, using urine data of five normal subjects with salicylic acid as the drug model. Each subject received 3 single doses of Sodium Salicylate solution in water equivalent to 250, 500 and 750 mg salicylic acid. The successive doses were given with an interval of 1 week. The urine specimens were collected at specified intervals for 72 hours.

Total salicylic acid and salicyluric acid were determined from urine specimens using  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  as reagent according to the method of Levy and Chiou. The amount of salicylic acid remaining to be excreted was determined from the total salicylic acid. The rate of salicyluric acid excretion was determined from salicyluric acid excreted in the urine.

Linear kinetics analysis of the data resulted in significance of differences of biologic half-life ( $t_{1/2}$ ) and the elimination rate constant (K) for the 3 doses, these characteristic indicating the existence of dose-dependent kinetics.

Further analysis for nonlinear kinetics by plotting the excretion rate of salicyluric acid (as ordinate) against salicylic acid remaining in the body (as absis) showed that salicyluric acid formation attained saturated kinetics. Comparative analysis were done for nonlinear kinetics according to the methods of Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf and Augustineson-Hofstee, showed that Hanes-Wolf method resulted in a curve with highest precision in terms of distribution and deviation of the data against the linear curve resulted from the equation. The precision of Michaelis-Menten constant  $K_m$  by Hanes-Woolf method resulted in the smallest coefficient of variance, and only small difference of coefficient of variance for  $V_m$  between Hanes-Woolf and Augustinsson-Hofstee methods.

Urine data with salicylic acid as a drug model can be used to show the difference between the chatacteristic of linear kinetics and nonlinier kinetics.

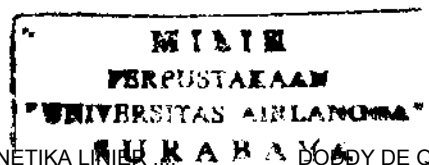


## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xxi
DAFTAR SINGKATAN .....	xxv
BAB I : PENDAHULUAN .....	1
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA .....	5
1. Farmakokinetika Nonlinier .....	5
1.1. Proses Nonlinier pada ADME ...	5
1.2. Reaksi Dasar Kinetika Michaelis- Menten .....	7
1.2.1. Pendekatan dengan Asas Kese- imbangan .....	8
1.2.2. Pendekatan dengan Asas Teori Keadaan Tunak .....	10
1.3. Farmakokinetika Michaelis-Menten	13
1.3.1. Karakteristik Kinetika Michaelis-Menten .....	13

	Halaman
1.3.2. Pengaruh Inhibisi Ensim ....	16
1.4. Pengaruh Induksi Ensim .....	20
1.5. Estimasi Harga $K_m$ dan $V_m$ .....	26
1.5.1. Penggunaan Data Darah .....	26
A. Pemberian Dosis Tunggak .	26
B. Pemberian Dosis Ganda ...	41
1.5.2. Penggunaan Data Urin .....	45
1.6. Klirens dan Waktu Paruh .....	49
1.7. Luas Daerah di Bawah Kurva dan Bioavalabilitas .....	52
1.8. Kinetika Nonlinier pada Keada- an Tunak .....	59
1.9. Ikatan Nonlinier .....	66
2. Asam Salisilat Sebagai Model Untuk Mempelajari Farmakokinetika Nonli- nier .....	78
2.1. Absorpsi dan Distribusi .....	78
2.2. Metabolisme dan Ekskresi .....	80
2.3. Penggunaan Data Urin untuk Ana- lisis Farmakokinetik Nonlinier Asam Salisilat .....	83
2.4. Penetapan Kadar Asam Salisilat dan Metabolit Asam Salisilat dalam Urin .....	87

x



	<b>Halaman</b>
3. Masalah, Tujuan Penelitian dan Jangkauan Penelitian .....	89
3.1. Masalah .....	89
3.2. Tujuan Penelitian .....	90
3.3. Jangkauan Penelitian .....	90
4. Dasar-dasar Pemikiran dalam Penelitian .....	91
<b>BAB III : ALAT, BAHAN DAN METODE .....</b>	<b>93</b>
A. Alat .....	93
B. Bahan .....	93
C. Metode .....	94
1. Subyek Penelitian .....	94
2. Rancangan Percobaan .....	94
3. Protokol .....	97
4. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat, Asam Salisilurat dan Asam Salisilat Total dalam Urin .....	98
4.1. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat dalam Urin .....	98
4.2. Penetapan Kadar Asam Salisilurat dalam Urin .....	100
4.3. Penetapan Kadar Asam Salisilat Total dalam Urin ....	100
5. Tahapan Analisis Sampel Urin ...	101
5.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	101
TESIS	DODDY DE QUELJOE

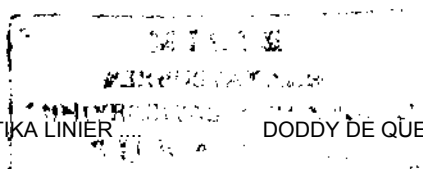
	<b>Halaman</b>
5.2. Pembuatan Kurva Asam Salisilat dan Asam Salisilat dengan larutan Pereaksi Warna Ferinitrat .....	102
5.3. Pembuatan Kurva Baku dengan Ekstraksi .....	103
5.3.1. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $\text{CCl}_4$ .....	103
5.3.2. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ .....	103
5.3.3. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ .....	103
5.3.4. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat-total, dengan Ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ .....	104
5.4. Pembuatan Kurva baku "Recovery" .....	104
5.4.1. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $\text{CCl}_4$ ...	104

	Halaman
5.4.2. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .	104
5.4.3. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilurat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .	105
5.4.4. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat-total dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$	105
6. Analisis Data.	
6.1. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat dalam Urin .....	106
6.2. Perhitungan Jumlah Asam Salisilurat dalam Urin .....	106
6.3. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat-total dalam Urin ..	106
6.4. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat yang Belum Terekskresi .....	107
6.5. Perhitungan Laju Pembentukan Asam Salisilurat .....	107
6.6. Perhitungan Tetapan Michaelis-Menten .....	108

	<b>Halaman</b>
6.6.1. Cara Lineweaver-Burk ....	108
6.6.2. Cara Hanes-Woolf .....	108
6.6.3. Cara Augustinsson-Hofstee	108
6.7. Perhitungan Tetapan Laju Eli- minasi (K) dan Waktu Paruh Biologik ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) .....	109
6.8. Analisis Statistik .....	109
<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>110</b>
1. Penentuan Panjang Gelombang Maksi- mum .....	110
2. Pembuatan Kurva Baku .....	110
2.1. Pembuatan Kurva Baku Zat dengan Pereaksi Warna Ferinitrat ....	110
2.2. Pembuatan Kurva Baku Dengan Ekstraksi .....	111
2.2.1. Kurva Baku Asam Salisilat de- ngan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .....	111
2.2.2. Kurva Baku Asam Salisilat de- ngan Ekstraksi $CCl_4$ .....	111
2.2.3. Kurva Baku Asam Salisilat- total dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .	111
2.2.4. Kurva Baku Asam Salisilurat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ ...	112

	<b>Halaman</b>
2.3. Pembuatan Kurva Baku "Recovery"	112
2.3.1. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .....	112
2.3.2. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan Ekstraksi $CCl_4$ .....	112
2.3.3. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat-total dengan Eks- traksi $C_2H_4Cl_2$ .....	113
2.3.4. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilurat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$ .....	113
3. Hasil Perhitungan Jumlah AS, SU, $AS_T$ , AS yang belum Terekskresi (S) dan Laju Pembentukan SU (v) .....	114
4. Hasil Perhitungan Tetapan Laju Eli- minasi (K) dan Waktu Paruh Biologik ( $t_{1/2}$ ) .....	114
5. Hasil Perhitungan Tetapan Michaelis- Menten .....	114
6. Analisis Statistik .....	115
<b>BAB V : PEMBAHASAN</b> .....	<b>154</b>

	<b>Halaman</b>
<b>BAB VI : KESIMPULAN</b> .....	163
<b>BAB VII : SARAN-SARAN</b> .....	165
<b>BAB VIII : RINGKASAN</b> .....	166
<b>BAB IX : DAFTAR PUSTAKA</b> .....	179





## DAFTAR TABEL

	Halaman
I : Harga koefisien korelasi dan persamaan regresi Kurva Baku Asam Salisilat dan Asam Salisilurat .....	118
II : Hasil perhitungan koefisien korelasi, prosentase "recovery", persamaan regresi dan kurva baku "recovery" .....	119
III : Ekskresi dalam urin dari Asam Salisilat (AS), Asam Salisilurat (SU), Asam Salisilat-total ( $AS_T$ ) harga S dan v, dengan dosis 250 mg AS pada subyek FR .....	120
IV : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, $AS_T$ , harga S dan v, dengan dosis 500 mg AS pada subyek FR .....	121
V : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, $AS_T$ , harga S dan v, dengan dosis 750 mg AS pada subyek FR .....	122
VI : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, $AS_T$ , harga S dan v, dengan dosis 250 mg AS pada subyek TD .....	123
VII : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, $AS_T$ , harga S dan v, dengan dosis 500 mg AS pada subyek TD .....	124

	<b>Halaman</b>
VIII : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 750 mg AS pada subyek TD .....	125
IX : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 250 mg AS pada subyek RD .....	126
X : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 500 mg AS pada subyek RD .....	127
XI : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 750 mg AS pada subyek RD .....	128
XII : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 250 mg AS pada subyek IW .....	129
XIII : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 500 mg AS pada subyek IW .....	130
XIV : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 750 mg AS pada subyek IW .....	131
XV : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 250 mg AS pada subyek KD .....	132

	Halaman
XVI : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 500 mg AS pada subyek KD .....	133
XVII : Ekskresi dalam urin dari AS, SU, AS <sub>T</sub> , harga S dan v, dengan dosis 750 mg AS pada subyek KD .....	134
XVIII : Analisis kinetika nonlinier koefisien korelasi (r), tg α (s), titik potong pa- da sumbu y (i), K <sub>m</sub> dan V <sub>m</sub> dengan metode Lineweaver-Burk (LB), Hanes-Woolf (HW), Augustinsson-Hofstee (AH), dan analisis kinetika linier tetapan laju eliminasi (K), dan waktu paruh biologik (t <sub>½</sub> ) pada subyek FR .....	135
XIX : Analisis kinetika nonlinier koefisien korelasi (r), tg α (s), titik potong pa- da sumbu y (i), K <sub>m</sub> dan V <sub>m</sub> dengan metode LB, HW, AH, dan analisis kinetika lini- er K dan t <sub>½</sub> pada subyek TD .....	136
XX : Analisis kinetika nonlinier koefisien korelasi (r), tg α (s), titik potong pa- da sumbu y (i), K <sub>m</sub> dan V <sub>m</sub> dengan metode LB, HW, AH, dan analisis kinetika lini- er K dan t <sub>½</sub> pada subyek RD .....	137

	<b>Halaman</b>
XXI : Analisis kinetika nonlinier koefisien korelasi ( $r$ ), $\text{tg}\alpha$ ( $s$ ), titik potong pada sumbu $y$ ( $i$ ), $K_m$ dan $V_m$ dengan metode LB, HW, AH, dan analisis kinetika linier $K$ dan $t_{\frac{1}{2}}$ pada subyek IW .....	138
XXII : Analisis kinetika nonlinier koefisien korelasi ( $r$ ), $\text{tg}\alpha$ ( $s$ ), titik potong pada sumbu $y$ ( $i$ ), $K_m$ dan $V_m$ dengan metode LB, HW, AH, dan analisis kinetika linier $K$ dan $t_{\frac{1}{2}}$ pada subyek KD .....	139
XXIII : Daftar harga $K_m$ .....	140
XXIV : Daftar harga $V_m$ .....	141
XXV : Daftar harga $K$ .....	142
XXVI : Daftar harga $t_{\frac{1}{2}}$ .....	143
XXVII : Tabel ANAVA untuk analisis harga $K_m$ ...	144
XXVIII : Tabel ANAVA untuk analisis harga $V_m$ ...	145
XXIX : Tabel ANAVA untuk analisis harga $K$ ....	146
XXX : Tabel ANAVA untuk analisis harga $t_{\frac{1}{2}}$ ...	147

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Hubungan antara laju eliminasi obat ( $-dC/dt$ ) dan kadar (C), pada kinetika Michaelis-Menten .....	12
2. Kadar Carbamazepine dalam serum pada pemberian infus i.v. dengan laju tetap selama 7 hari pada monyet .....	24
3. Kurva Lineweaver-Burk .....	28
4. Kurva Hanes-Woolf .....	29
5. Kurva Augustinsson-Hofstee .....	30
6. Metode grafik untuk menghitung $K_m$ dan $V_m$ setelah pemberian i.v. obat yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal ....	31
7. Perbandingan harga $t_{50\%}$ setelah pemberian i.v. dari obat yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal dan yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal yang paralel dengan proses kinetik order pertama .....	35
8. Kadar asam 4-hidroksi butirat (4-HBA) dalam plasma setelah pemberian i.v. Senyawa ini dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten yang paralel dengan proses order pertama ..	38

	<b>Halaman</b>
9. Metode grafik untuk estimasi harga $K'$ , $V_m$ dan $K_m$ .....	40
10. Kurva $C_{ss}$ terhadap $C_{ss}/R$ untuk menghitung $V_m$ dan $K_m$ menurut metode A .....	42
11. Kurva $R$ terhadap $R/C_{ss}$ untuk menghitung $V_m$ dan $K_m$ menurut metode B .....	43
12. Kurva $R$ terhadap $C_{ss}$ untuk menghitung $V_m$ dan $K_m$ menurut metode C .....	44
13. Perjalanan obat dalam tubuh sampai di urin .....	45
14. Pengaruh laju absorpsi dan dosis terhadap luas daerah di bawah kurva setelah pemberian dosis tunggal fenitoin .....	56
15. Hubungan antara kadar tunak dibagi dosis terhadap dosis yang diberikan .....	60
16. Akumulasi asam salisilat dalam tubuh sebagai fungsi dari nomor pemberian obat ..	61
17. Pengaruh ketergantungan kadar pada ikatan protein plasma, kadar obat bebas dan total dalam plasma .....	74
18. Kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu setelah dosis tunggal i.v. ....	77
19. Bagan Metabolisme dan Ekskresi Asam Salisilat .....	81

	<b>Halaman</b>
20. Kurva absorpsi terhadap panjang gelombang larutan Asam Salisilat .....	116
21. Kurva absorpsi terhadap panjang gelombang larutan Asam Salisilurat .....	116
22. Kurva absorpsi terhadap kadar larutan baku Asam Salisilat .....	117
23. Kurva absorpsi terhadap kadar larutan baku Asam Salisilurat .....	117
24a. Kurva Asam Salisilat-total yang belum ter-eks-kresi terhadap waktu dari subyek FR ..	148
24b. Kurva Lineweaver-Burk subyek FR .....	148
24c. Kurva Hanes-Woolf subyek FR .....	148
24d. Kurva Augustinsson-Hofstee subyek FR ....	148
25a. Kurva Asam Salisilat-total yang belum ter-eks-kresi terhadap waktu dari subyek TD ..	149
25b. Kurva Lineweaver-Burk subyek TD .....	149
25c. Kurva Hanes-Woolf subyek TD .....	149
25d. Kurva Augustinsson-Hafstee subyek TD ....	149
26a. Kurva Asam Salisilat-total yang belum ter-eks-kresi terhadap waktu subyek RD .....	150
26b. Kurva Lineweaver-Burk subyek RD .....	150
26c. Kurva Hanes-Woolf subyek RD .....	150
26d. Kurva Augustinsson-Hofstee subyek RD ....	150

	<b>Halaman</b>
27a. Kurva Asam Salisilat-total yang belum ter- ekskresi terhadap waktu dari subyek IW ...	151
27b. Kurva Lineweaver-Burk subyek IW .....	151
27c. Kurva Hanes-Woolf subyek IW .....	151
27d. Kurva Augustinsson-Hofstee subyek IW .....	151
28a. Kurva Asam Salisilat-total yang belum ter- ekskresi terhadap waktu subyek KD .....	152
28b. Kurva Lineweaver-Burk subyek KD .....	152
28c. Kurva Hanes-Woolf subyek KD .....	152
28d. Kurva Augustinsson-Hofstee subyek KD .....	152
29. Kurva v terhadap S dosis 250 mg Asam Sali- silat .....	153
30. Kurva v terhadap S dosis 500 mg Asam Sali- silat .....	153
31. Kurva v terhadap S dosis 750 mg Asam Sali- silat .....	153



## DAFTAR SINGKATAN

A	= Jumlah tempat ikatan total dalam jaringan
ADME	= Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi
AG	= Asam Gentsiat
AH	= Augustinsson-Hofstee
AS	= Asam Salisilat
AS <sub>T</sub>	= Asam Salisilat-total
C	= Kadar obat dalam darah/plasma
C <sub>b</sub>	= Kadar obat yang terikat dengan protein dalam ruang vaskuler
C <sub>f</sub>	= Kadar obat bebas dalam ruang vaskuler
C <sub>o</sub>	= Kadar plasma awal
C <sub>ss</sub>	= Kadar plasma dalam keadaan tunak
C <sub>t</sub> <sup>T</sup>	= Kadar obat total dalam jaringan
Cl <sub>I</sub>	= Klirens Intrinsik
Cl <sub>s</sub>	= Klirens sistemik
DR	= Laju pemberian obat yang konstan pada infus
e	= Bilangan alam
f <sub>B</sub>	= Fraksi obat bebas dalam ruang vaskuler
f <sub>T</sub>	= Fraksi obat bebas dalam jaringan
GU	= Asam Gentsurat
HW	= Hanes-Woolf
I	= Inhibitor
i.v.	= Intravena

- $K$  = Tetapan laju eliminasi  
 $K'$  = Tetapan laju ekskresi order pertama  
 $k_a$  = Tetapan laju absorpsi  
 $K_d$  = Tetapan disosiasi kompleks obat-protein  
 $K_d^T$  = Tetapan disosiasi kompleks obat-jaringan  
 $K_i$  = Tetapan inhibitor  
 $K_m$  = Tetapan Michaelis-Menten  
 $K_{mu}$  = Tetapan laju ekskresi metabolit order pertama  
 $LB$  = Lineweaver-Burk  
 $M$  = Metabolit  
 $M_u$  = Metabolit yang terekskresi dalam urin  
 $N$  = Laju sintesa enzim  
 $nP$  = Jumlah tempat ikatan protein vaskuler total  
 $P_f$  = Kadar protein bebas  
 $Q$  = Aliran darah  
 $R$  = Laju pemberian obat  
 $S$  = Jumlah obat (dalam tubuh) yang belum terekskresi  
 $SAG$  = Salisil-asil-glukuronida  
 $SFG$  = Salisil-fenol-glukuronida  
 $SU$  = Asam Salisilurat  
 $t_{\frac{1}{2}}$  = Waktu paruh biologik.  
 $tg \alpha$  = Tangens alfa (=koefisien arah = "slope")  
 $ttw$  = Titik tengah interval waktu  
 $v$  = Laju pembentukan metabolit



- $V$  = Volume distribusi
- $V_m$  = Laju maksimum pembentukan metabolit
- $X$  = Jumlah obat yang diberikan (=  $X_0$ )
- $X_B$  = Jumlah obat dalam ruang vaskuler
- $X_m$  = Jumlah obat dalam tubuh pada ttw pengambilan sampel
- $X_T$  = Jumlah obat dalam jaringan
- $X_u$  = Jumlah obat bentuk tak berubah yang terekskresi dalam urin (=  $X_E$ )
- $s$  = Waktu tak terhingga

## BAB I

### P E N D A H U L U A N

Proses yang terjadi dalam sistem biologi adalah proses yang kompleks. Dalam batas-batas dan keadaan tertentu, proses biologis dapat berlangsung menurut proses fisika-kimia yang dapat dipelajari secara kinetika linier, walaupun pada umumnya proses biologis melibatkan sistem enzim dan energi (Curry, 1980). Proses-proses *invivo* seperti transpor aktif, reaksi enzimatis dalam proses metabolisme, interaksi protein-obat dan interaksi obat-reseptor berlangsung dengan kinetika yang tidak sederhana seperti kinetika linier order pertama, tetapi seringkali dengan kinetika nonlinier.

Kinetika nonlinier atas dasar reaksi enzimatis yang mencapai kejenuhan, merupakan salah satu bentuk kinetika yang sejak lama telah diselidiki. Michaelis-Menten (1913) meneliti kinetika sistem enzim yang dapat mencapai kejenuhan, dan untuk pertama kali membahasnya secara kuantitatif.

Wagner (1973) menyatakan bahwa farmakokinetika nonlinier telah diketahui sejak tahun 1933, ketika Widmark mempublikasikan hasil penelitiannya terhadap etil-alkohol dan mengatakan bahwa eliminasi etil-

alkohol tidak mengikuti kinetika linier. Sejak itu diketakannya telah dipublikasi kira-kira 160 artikel mengenai farmakokinetika nonlinier dari berbagai obat.

Selama ini masih terdapat kesulitan dalam analisa kinetika untuk membedakan kinetika nonlinier dari yang linier. Keengganan menggunakan persamaan kinetika nonlinier disebabkan oleh karena pada kinetika nonlinier diperlukan analisis metabolit dari suatu obat, tetapi kesulitan ini sebenarnya merupakan suatu tantangan untuk dipelajari, karena proses-proses ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi), ikatan protein, sekresi tubular aktif dan interaksi reseptor-obat pada dasarnya dapat melibatkan kinetika nonlinier.

Dalam mempelajari perwatakan nonlinier ini penting untuk mengetahui tetapan-tetapan, yang tidak lagi dinyatakan sebagai tetapan laju eliminasi ( $K$ ) dan waktu paruh biologik ( $t_{1/2}$ ) dari kinetika linier, tetapi tetapan-tetapan nonlinier seperti  $K_m$  dan  $V_m$  dari suatu obat. Harga tetapan farmakokinetika nonlinier ini dapat dipergunakan sebagai petunjuk untuk memprediksi perubahan-perubahan kadar obat dalam darah yang disebabkan oleh karena perubahan atau peningkatan dosis, ataupun perubahan kadar akibat adanya perubahan metabolisme

yang terjadi karena induksi atau inhibisi enzim.

Adalah menarik, apabila di dalam melakukan analisis kinetika nonlinier untuk mengetahui tetapan Michaelis-Menten, dapat dipergunakan data urin. Hal ini dapat mempermudah pengambilan cuplikan sampel, karena tidak perlu invasive. Dari analisis kinetiknya, selama ini belum dijumpai suatu komparasi karakterisasi dan ketelitian dari metode analisis kinetika nonlinier yang ada seperti metode Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee yang didasarkan pada peningkatan pemberian dosis.

Oleh karena itu dengan menggunakan data urin subyek normal, penelitian ini bermaksud untuk melakukan analisis perbedaan kinetika linier dan nonlinier oleh pengaruh perubahan dosis dan mengetahui ketelitian metode Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee dengan cara pendekatan analisis kurva dan harga  $K_m$  dan  $V_m$ .

Penggunaan Asam Salisilat sebagai model memenuhi ketentuan-ketentuan dasar untuk dapat mempergunakan data urin, yang menghendaki diketahuinya dengan jelas jalur metabolisme yang terjadi dan besarnya substrat yang dapat diperhitungkan dari hasil ekskresi dalam urin.

Karena farmakokinetika nonlinier tidak hanya menyangkut harga tetapan  $K_m$  dan  $V_m$ , tetapi juga berbagai tetapan seperti waktu paruh biologik, klirens, bioavailabilitas dari kadar tunak dalam darah, maka diharapkan adanya penelitian lebih lanjut untuk menganalisis tetapan-tetapan itu secara farmakokinetika nonlinier.

**BAB 11****TINJAUAN PUSTAKA****1. Farmakokinetika Nonlinier****1.1. Proses Nonlinier pada ADME**

Farmakokinetika linier membahas kinetika obat dalam tubuh yang didasarkan pada sistem linier dari persamaan diferensial yang penyelesaiannya cukup dengan mempergunakan transformasi Laplace. Kinetika linier merupakan suatu kinetika dimana laju reaksi yang terjadi berbanding lurus dengan kadar atau perbedaan kadar reaktan dan karenanya dapat dikatakan bahwa kinetika linier adalah kinetika order pertama (Wagner, 1971).

Gibaldi (1982) menyebutkan bahwa farmakokinetika dari banyak obat, pada kadar plasma terapeutik atau kadar plasma nontoksik, mengikuti kinetika linier, tetapi terdapat pula obat-obat yang kinetikanya tidak mengikuti kinetika linier. Kinetika nonlinier merupakan kinetika dimana laju reaksinya tidak berbanding lurus dengan kadar atau tidak mengikuti kinetika order pertama.

Disanto (1972<sup>d</sup>) mengemukakan timbulnya (adanya) kesalahan yang bermakna apabila model dua-kompartemen terbuka linier diterapkan pada obat atau data yang mengikuti kinetika nonlinier.



Curry (1980) mengatakan bahwa farmakokinetika linier dapat diterapkan pada proses yang berlangsung secara fisika-kimia, tetapi dalam proses biologi yang melibatkan sistem enzim dan energi, farmakokinetika linier tidak sesuai lagi. Proses biologi tersebut harus dianalisa dengan farmakokinetika nonlinier dimana berlangsung suatu kinetika yang nonlinier. Sistem enzim adalah suatu sistem yang dapat menjadi jenuh, dan pada sistem seperti ini, kinetika nonlinier yang terjadi adalah kinetika Michaelis-Menten. Kinetika Michaelis-Menten ini dapat digunakan untuk kinetika pada proses biologik yang berlangsung baik secara invitro, insitu maupun invivo. Kinetika nonlinier dapat diterapkan untuk reaksi-reaksi yang berlangsung secara ensimatik, interaksi antara obat dan protein, maupun antara obat dan reseptor.

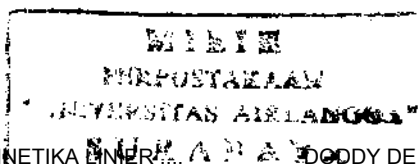
Penyimpangan dari farmakokinetika linier suatu obat dapat terjadi karena adanya kinetika nonlinier pada proses absorpsi, distribusi, metabolisme atau eksresi. Kruger-Thiemer, sebagaimana dikutip oleh Wagner (1971) menyebutkan bahwa penyimpangan dari kinetika linier pada proses absorpsi dapat disebabkan oleh bentuk sediaan lepas-

lambat atau proses absorpsi aktif yang menjadi jenuh. Penyimpangan pada proses distribusi disebabkan oleh karena adanya multi-kompartementalisasi cairan tubuh, atau ikatan protein-obat yang menjadi jenuh, baik dalam darah, cairan interstitial atau jaringan. Pada metabolisme dimana terlibat sistem enzim, kinetika nonlinier terjadi karena adanya proses penjenuhan enzim. Pada ekskresi, nonlinier terutama disebabkan oleh karena sekresi tubular yang aktif, sedang pada sekresi empedu, disebabkan karena adanya proses sekresi aktif.

Sebagai contoh dapat disebutkan, adanya kinetika nonlinier dalam proses absorpsi yang terjadi pada asam askorbat, dalam proses distribusi pada naproxen, dalam proses eliminasi pada fenitoin dan alkohol (Wagner, 1973 ; Gibaldi, 1982).

## 1.2. Reaksi Dasar Kinetika Michaelis-Menten

Proses biotransformasi obat, sekresi tubular-ginjal dan sekresi di kandung empedu umumnya berlangsung dengan sistem ensimatik atau sistem "Carrier". Sistem tersebut relatif spesifik untuk

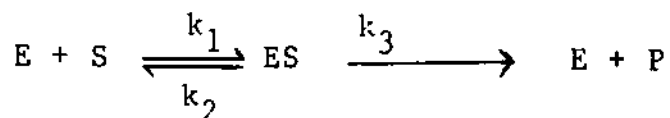


substrat dan mempunyai kapasitas yang terbatas, dalam arti dapat mencapai saturasi atau keadaan jenuh (sistem ini disebut kapasitas-terbatas). Kinetika dari proses yang dapat mencapai kejenuhan enzim dapat dijelaskan dengan kinetika reaksi enzim.

Analisa kinetika reaksi enzim dapat dilakukan dengan dua asas pendekatan, yaitu asas keseimbangan menurut Michaelis-Menten dan asas teori keadaan tunak menurut Briggs-Haldane. Berikut ini akan dibahas kinetika reaksi enzim dengan kedua pendekatan ini (Lehninger, 1970; Gibaldi, 1982).

### 1.2.1. Pendekatan dengan Asas Keseimbangan

Reaksi enzim dapat ditulis sebagai berikut:



E = enzim

S = substrat

ES = keadaan transisi dari kompleks E dan S.

P = hasil reaksi (produk)

$k_1$ ,  $k_2$  dan  $k_3$  = tetapan laju reaksi

Konstanta disosiasi yang pada reaksi ini disebut

$K_m$  adalah :

$$K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad (1)$$

$[E]$ ,  $[S]$  dan  $[ES]$  adalah kadar dalam keadaan keseimbangan, masing-masing dari E, S dan ES. Jika kadar enzim mula-mula adalah  $[E]_0$ , maka kadar enzim bebas adalah :

$$[E] = [E]_0 - [ES] \quad (2)$$

Bila pers. (2) dimasukkan ke dalam pers. (1)

didapat :

$$K_m = \frac{([E]_0 - [ES])[S]}{[ES]} \quad (3)$$

$$\text{atau } K_m [ES] = [E]_0 [S] - [ES][S] \quad (4)$$

$$\text{atau } [ES] = \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

Laju reaksi pembentukan P adalah :

$$v = k_3 [ES] \quad (6)$$

Penggabungan pers. (5) dan (6) menghasilkan

pers. :

$$v = \frac{k_3 \cdot [E]_0 \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (7)$$

Bila kadar S cukup besar sehingga semua enzim terikat kepadanya, yaitu dalam bentuk kompleks ES, maka akan didapat laju reaksi maksimum  $V_m$  :

$$V_m = k_3 [E]_0 \quad (8)$$

Substitusi pers. (8) ke pers. (7) menghasilkan pers. Michaelis-Menten :

$$v = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (9)$$

### 1.2.2. Pendekatan dengan Asas Teori Keadaan Tunak

Dari reaksi enzim yang telah dikemukakan pada butir 1.2.1., laju perubahan kadar kompleks ES adalah :

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 [E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] \quad (10)$$

Pada keadaan tunak,  $\frac{d[ES]}{dt} = 0$  sehingga pers. (10) menjadi :

$$k_1[E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] = 0 \quad (11)$$

$$\text{atau } \frac{[E] \cdot [S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_m \quad (12)$$

Apabila dimasukkan harga  $[E] = [E]_0 - [ES]$ , maka akan diperoleh pers. :

$$K_m = \frac{([E]_0 - [ES])[S]}{[ES]} \quad (13)$$

Yang dapat diselesaikan lebih lanjut menjadi :

$$[ES] = \frac{[E]_0 \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (14)$$

Apabila pers. (14) dimasukkan dalam pers.(6) dan (8) maka akan dihasilkan pers. Michaelis-Menten seperti pers. (9).

Jadi kedua pendekatan di atas menghasilkan pers. yang sama untuk hubungan antara laju reaksi ensim dan substrat.

Suatu keadaan khusus diperoleh apabila

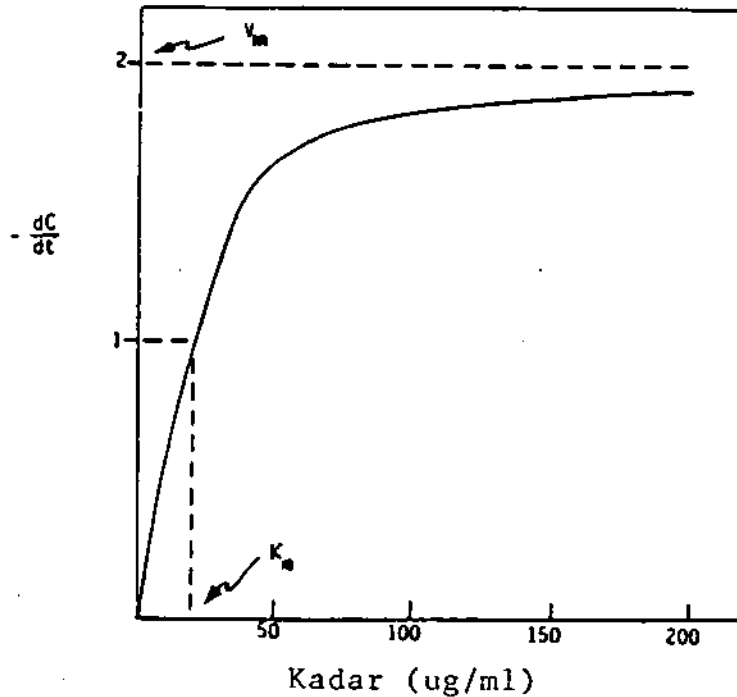
$$v = \frac{1}{2} V_m, \text{ yaitu :}$$

$$\frac{1}{2} V_m = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (15)$$

$$\text{Jadi } K_m = [S] \quad (16)$$

Dari pers. (16) terlihat bahwa harga  $K_m$  adalah kadar substrat pada saat laju reaksi sama dengan setengah dari laju reaksi maksimum, sedang satuan  $K_m$  sama dengan satuan kadar substrat.

Kurva  $v$  terhadap kadar substrat  $[S]$  menghasilkan garis lengkung sebagaimana dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara laju berkurangnya kadar ( $-dC/dt$ ) dan kadar ( $C$ ), pada kinetika Michaelis-Menten.

Pada mulanya  $v$  akan meningkat secara linier dengan peningkatan  $[S]$ , dan dalam hal demikian, kinetiknya sama dengan kinetika order pertama. Selanjutnya, pada peningkatan  $[S]$  lebih tinggi, terlihat bahwa  $v$  tidak lagi meningkat secara linier dengan peningkatan  $[S]$ , tetapi mencapai suatu harga maksimum  $V_m$ . Hal seperti ini merupakan ciri dari kinetika Michaelis-Menten. (Wagner, 1973).

### 1.3. Farmakokinetika Michaelis-Menten

Beberapa hal penting dari obat-obat yang di dalam tubuh mengikuti kinetika Michaelis-Menten akan dibahas berikut ini, seperti karakteristik kinetika Michaelis-Menten, pengaruh inhibisi enzim dan induksi enzim (Gibaldi, 1982).

Untuk pembahasan obat dalam tubuh, maka yang dimaksud dengan [S] adalah kadar obat dalam plasma pada titik tengah interval waktu (C), sehingga pers. Michaelis-Menten dapat ditulis sebagai berikut :

$$v = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (17)$$

#### 1.3.1. Karakteristik Kinetika Michaelis-Menten

Dari penjabaran pers. Michaelis-Menten di atas, ada dua hal khusus yang dapat dijumpai. Pertama, apabila  $C \ll K_m$ , maka  $(K_m + C) \approx K_m$  dan pers. (9) dapat diubah menjadi :

$$v = (V_m/K_m) \cdot C \quad (18)$$

Oleh karena  $V_m/K_m$  adalah tetapan, maka persamaan ini sama dengan persamaan eliminasi order pertama. Hal ini terjadi apabila obat diberikan secara :

a. intra vaskular dan mengikuti model satu



kompartmenten.

- b. ekstra vaskular pada fase pasca-absorpsi dengan model satu kompartmenten.
- c. ekstra vaskular pada fase pasca-absorpsi dan pasca-distribusi dengan model multi-kompartmenten.

Jadi, untuk obat yang dieliminasi menurut kinetika order pertama, mengikuti model satu kompartmenten dan mengalami metabolisme dengan hanya satu macam metabolit (disebut biotransformasi tunggal), maka harga tetapan laju eliminasi order pertama  $K$  sebenarnya adalah  $V_m/K_m$ . Karena itu dapat disebutkan bahwa apabila obat dieliminasi menurut kinetika order pertama, maka  $C < K_m$ .

Apabila  $C \gg K_m$ , maka pers. (17) dapat diubah menjadi :

$$v = V_m \quad (19)$$

Dari pers. ini terlihat bahwa laju reaksi tidak dipengaruhi oleh  $C$ , sehingga lajunya mempunyai harga yang tetap yaitu sebesar  $V_m$ .

Penjabaran lebih lanjut dengan integral pers. Michaelis-Menten akan dihasilkan pers.

yang dapat digunakan untuk menganalisis perubahan kadar obat dalam plasma setelah pemberian injeksi bolus i.v. (Wagner, 1973).

Apabila laju reaksi ( $v$ ) adalah laju penurunan kadar obat dalam plasma ( $-dC/dt$ ) maka pers. (17) dapat ditulis :

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (20)$$

Perubahan lebih lanjut menghasilkan persamaan :

$$(-dC/C) (C + K_m) = V_m \cdot dt \quad (21)$$

$$\text{atau } -dC - \frac{K_m \cdot dC}{C} = V_m \cdot dt \quad (22)$$

Integral pers. (22) adalah :

$$-C - K_m \cdot \ln C = V_m \cdot t + i \quad (23)$$

$i$  = tetapan integral.

Pada  $t = 0$  dimana  $C = C_0$ , maka

$$i = -C_0 - K_m \ln C_0 \quad (24)$$

Substitusi  $i$  ke pers. (23) menghasilkan pers. :

$$t = \frac{C_0 - C}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \ln \frac{C_0}{C} \quad (25)$$

Apabila kadar awal  $C_0$  diukur pada waktu  $t'$ , maka pers. (25) dapat ditulis :

$$t - t' = \frac{C_0 - C}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \ln \frac{C_0}{C} \quad (26)$$

Perubahan pers. (25) ke dalam bentuk logaritma akan menghasilkan pers berikut ini :

$$\log C = \frac{C_0 - C}{2,303 K_m} + \log C_0 - \frac{V_m}{2,303 K_m} \cdot t \quad (27)$$

### 1.3.2. Pengaruh Inhibisi Ensim

Ada obat atau substan lain yang menekan aktivitas ensim sehingga terjadi perlambatan metabolisme, perpanjangan klirens dan  $t_{\frac{1}{2}}$  suatu obat. Obat atau substan tersebut dapat berinteraksi dengan ko faktor atau substrat dan karenanya menurunkan kadar efektif substansi ini. Ada pula yang berinteraksi dengan ensim, baik secara reversibel maupun irreversibel, sehingga aktivitas ensim berkurang. Akibat dari pengaruh inhibisi ensim adalah perubahan harga  $K_m$  dan atau  $V_m$ . Inhibisi dapat dibedakan atas (La Du, 1971):

#### a. Inhibisi Kompetitif.

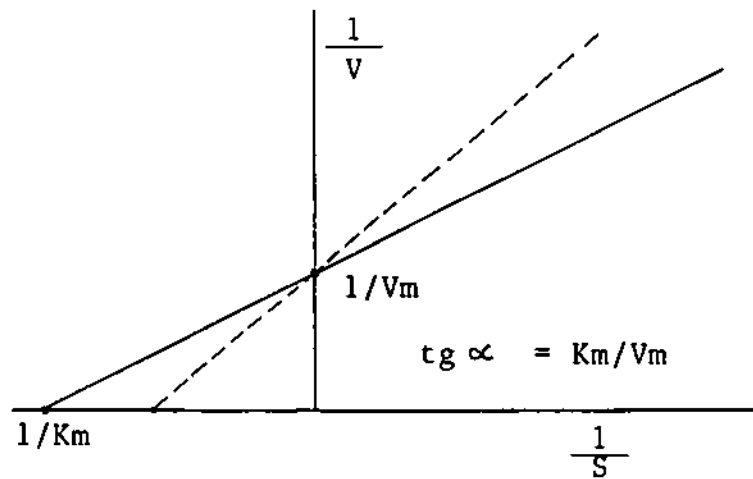
Inhibisi kompetitif menyebabkan  $K_m$  meningkat tetapi  $V_m$  tidak berubah. Ini berarti, dibutuhkan kadar substrat yang lebih tinggi

untuk mencapai laju maksimumnya. Pers. Michaelis-Menten berubah menjadi :

$$v = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m \left[1 + \frac{[I]}{K_i}\right] + [S]} \quad (28)$$

[I] = kadar inhibitor

$K_i$  = tetapan inhibitor



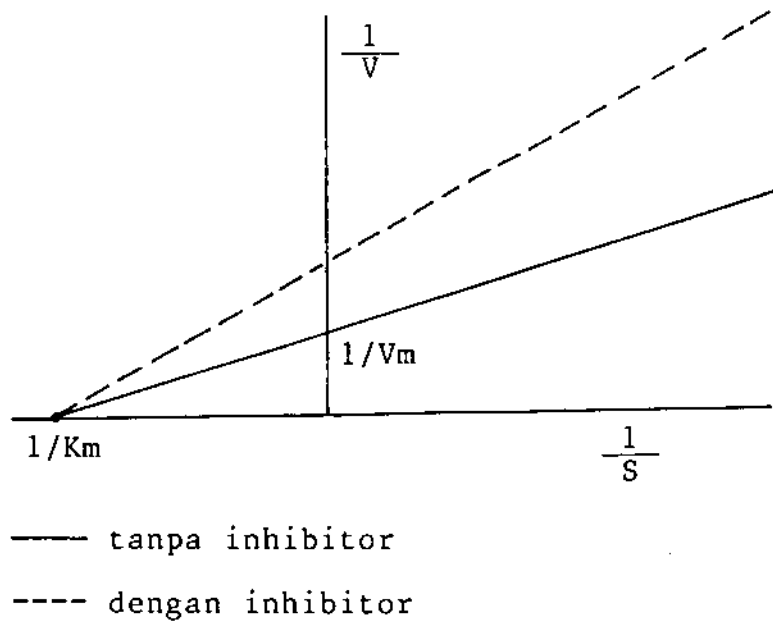
— tanpa inhibitor

---- dengan inhibitor

b. Inhibisi Nonkompetitif.

Inhibisi nonkompetitif menyebabkan  $V_m$  menurun, tetapi  $K_m$  tidak berubah. Pers. Michaelis-Menten untuk Inhibisi ini adalah :

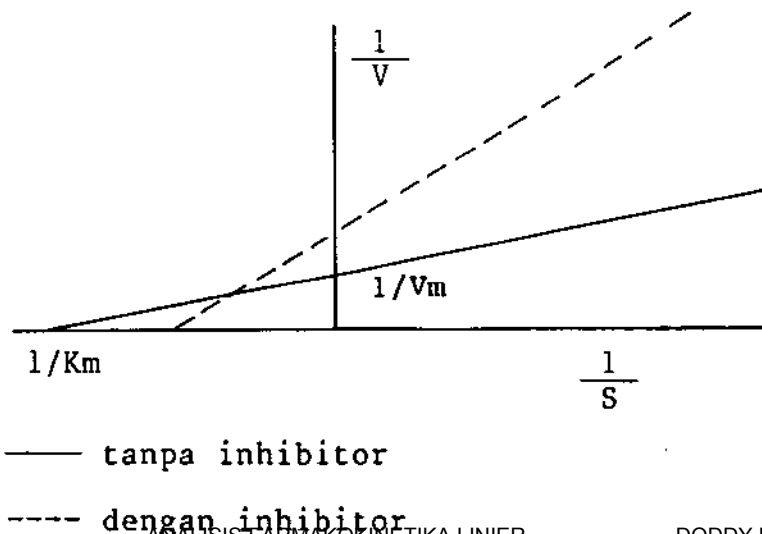
$$v = \frac{V_m \cdot [S]}{(K_m + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad (29)$$



c. Inhibisi Campuran.

Inhibisi ini menyebabkan  $V_m$  menurun dan  $K_m$  meningkat. Pers. Michaelis-Menten untuk inhibisi ini adalah :

$$v = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m (1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S] (1 + \frac{[I]}{K_i \cdot \alpha})} \quad (30)$$

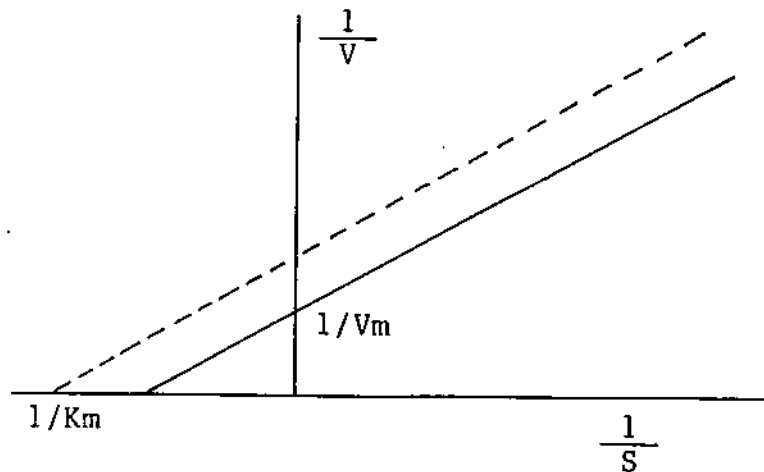


d. Inhibisi Ankompetitif atau inhibisi "Coupled".

Inhibisi ini menyebabkan baik  $V_m$  maupun  $K_m$  menurun, tetapi rasio  $K_m/V_m$  tidak berubah.

Persamaan Michaelis-Menten untuk inhibisi ini adalah :

$$v = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$



— tanpa inhibitor  
 ---- dengan inhibitor

Asam Benzoat menghambat secara kompetitif pembentukan Asam Salisilat dari Asam Salisilat dengan glisin (Levy, 1966), sedang Salisilamida dan Asam Salisilat saling menghambat reaksi konjugasi dengan glukuronida (Levy, 1968).

#### 1.4. Pengaruh Induksi Ensim

Kinetika nonlinier juga ditunjukkan oleh obat yang menginduksi metabolisemenya sendiri. Sebuah model untuk menjelaskan terjadinya perubahan kadar ensim yang mengikuti proses induksi telah dikemukakan oleh Berlin dan Schimke (1965), sebagaimana dikutip oleh Gibaldi (1982). Sebelum terjadi induksi, laju perubahan kadar ensim ( $dE/dt$ ) adalah fungsi dari laju sintesa ( $N$ ) dan laju degradasi ensim ( $k.E$ ).

$$\frac{dE}{dt} = N - k.E \quad (32)$$

$N$  adalah laju sintesa ensim yang mengikuti order nol, sedang  $k$  tetapan laju order pertama untuk degradasi ensim. Apabila sebelum induksi terjadi, ensim telah mencapai kadar tunak (yaitu  $dE/dt = 0$ ), maka :

$$E = \frac{N}{k} \quad (33)$$

Setelah induksi, kadar enzim mencapai keadaan tunak yang baru,  $E'$ , yang besarnya adalah :

$$E' = \frac{N'}{k'} \quad (34)$$

Laju perubahan  $E$  menjadi  $E'$  diberikan oleh pers. :

$$\frac{dE}{dt} = N' - k' \cdot E \quad (35)$$

Pers. ini dapat dirubah menjadi :

$$\frac{dE}{N' - k' \cdot E} = dt \quad (36)$$

Dari integral persamaan (36), didapat :

$$-\frac{1}{k'} \ln (N' - k' \cdot E_t) = t + i \quad (37)$$

$E_t$  adalah kadar enzim pada waktu  $t$  setelah pemberian obat. Pada  $t = 0$ ,  $E_t = E_0$ , yaitu kadar enzim sebelum induksi, sehingga harga  $i$  adalah:

$$i = -\frac{1}{k'} \ln (N' - k' \cdot E_0) \quad (38)$$

Substitusi harga  $i$  pada pers. (37) dan perubahan selanjutnya menghasilkan :

$$\ln \frac{N' - k' \cdot E_t}{N' - k' \cdot E_0} = -k' \cdot t \quad (39)$$

yang dalam bentuk eksponensial menjadi :

$$\frac{N' - k' \cdot E_t}{N' - k' \cdot E_0} = e^{-k' \cdot t} \quad (40)$$



Penyelesaian pers. (38) untuk  $E_t$  menghasilkan pers. :

$$E_t = \frac{N'}{k'} - \frac{N' - k' \cdot E_0}{k'} e^{-k' \cdot t} \quad (41)$$

Substitusi harga  $N/k$  untuk  $E_0$  sesuai pers. (33) dan penyederhanaan selanjutnya menghasilkan pers. untuk  $E_t$  sebagai berikut :

$$E_t = \frac{N'}{k'} - \left( \frac{N'}{k'} - \frac{N}{k} \right) e^{-k' \cdot t} \quad (42)$$

Dari pers. ini terlihat bahwa kadar enzim selama induksi bergantung pada kadar enzim dalam keadaan tunak, baik sebelum induksi ( $N/k$ ) maupun dalam keadaan terinduksi ( $N'/k'$ ), dan pada tetapan laju order pertama degradasi enzim ( $k'$ ).

Suatu pers. yang mirip dengan pers. (42) dapat diperoleh untuk menjelaskan perubahan laju maksimum  $V_{m_t}$  selama terjadi induksi.

Sebelum terjadi induksi,  $V_m = k_2 \cdot E$ , sedang pada keadaan tunak,  $V'_m = k_2 \cdot E'$ , dimana  $k_2$  adalah tetapan laju pembentukan metabolit. Bila digabungkan dengan pers. (33) dan (34) maka :

$$\frac{N}{k} = \frac{V_m}{k_2} \quad (43)$$

dan

$$\frac{N'}{K'} = \frac{V'_m}{k_2} \quad (44)$$

Selanjutnya, penggabungan dengan pers. (42) menghasilkan :

$$V_{m_t} = V'_m - (V'_m - V_m) e^{-k' \cdot t} \quad (45)$$

Kurun perubahan klirens sistemik ( $Cl_s$ ) dari obat setelah mengalami induksi diri ("self-induction, "auto-induction", oto-induksi) adalah :

$$Cl_{s_t} = Cl'_s - (Cl'_s - Cl_s) e^{-k' \cdot t} \quad (46)$$

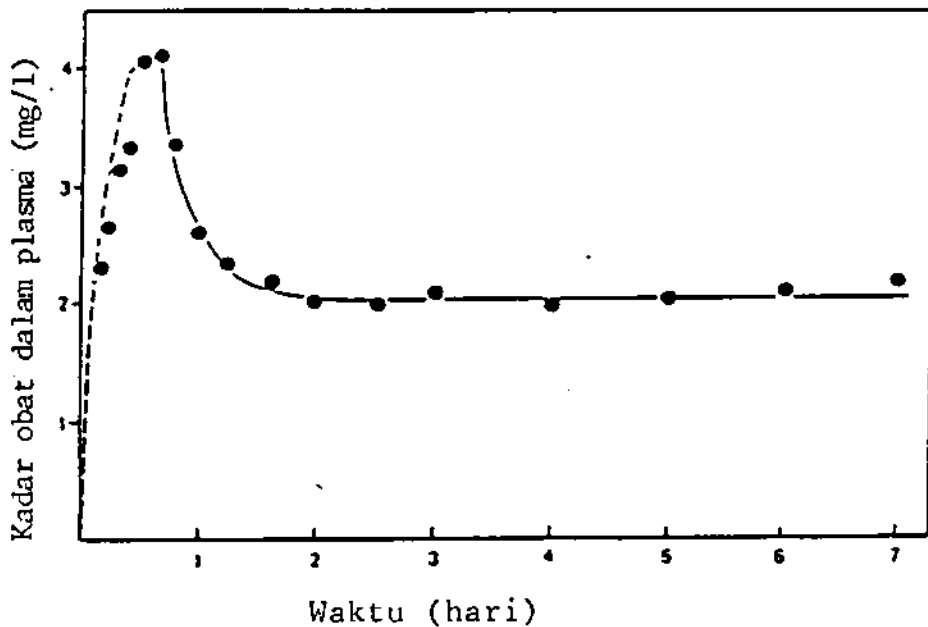
$Cl_s$  adalah harga klirens sebelum induksi dan  $Cl'_s$  klirens dalam keadaan tunak sesudah induksi.

Hal lain yang perlu dikemukakan adalah kurun perubahan kadar plasma dari obat yang mengalami induksi-diri. Pada model satu kompartemen dimana obat diberikan dalam laju yang tetap DR dan dieliminasi dengan kinetika order pertama, berlaku :

$$C = \frac{DR}{Cl_s} (1 - e^{-(Cl_s/V)t}) \quad (47)$$

Sesudah proses induksi-diri mulai, maka  $Cl_s$  akan menjadi "time-dependent" dan berlaku pers. (46). Karena itu, substitusi  $Cl_s$  pada pers.

(47) dengan  $Cl_s$  pada pers. (46) akan menghasilkan suatu pers. yang menjelaskan kadar plasma sebagai fungsi dari waktu untuk obat yang mengalami induksi-diri. Bilamana ada tenggang waktu antara pemberian obat dan dimulainya proses induksi-diri, maka  $t$  dalam persamaan (46) harus diganti dengan  $t - t_0$ , dimana  $t_0$  adalah waktu dimulainya proses induksi. Contoh obat dengan kinetika nonlinier sebagai akibat dari induksi-diri adalah carbamazepine (lihat gambar 2).



Gambar 2. Kadar Carbamazepine dalam serum pada pemberian infus i.v. dengan laju tetap selama 7 hari pada monyet. Data ini menunjukkan adanya efek oto-induksi pada metabolisme carbamazepine. (Pittick, 1977, sebagaimana dikutip Gibaldi, 1982, halaman 306).

Induksi enzim merupakan contoh farmakokinetika yang bergantung waktu ("time-dependent pharmacokinetics") dan bukan farmakokinetika bergantung-dosis atau bergantung-kadar ("dose-dependent or concentration-dependent pharmacokinetics"). Hal ini disebabkan karena perubahan yang dapat diamati pada harga klirens tidak berhubungan secara jelas dengan kadar obat atau dosis obat, tetapi merupakan fungsi dari waktu (lihat pers. 46). Perbedaan utama antara keadaan bergantung-dosis dan bergantung-waktu adalah bahwa yang terakhir menyangkut perubahan faal atau biokimia organ tubuh yang berhubungan dengan parameter disposisi obat. Ketergantungan waktu ini terlihat pada perubahan waktu paruh biologik dari salisilat pada pemberian aspirin pagi,  $\pm$  8 jam dan sore hari,  $\pm$  5 jam (Markiewicz, 1979). Tetapi, dalam keadaan bergantung-dosis tipe Michaelis-Menten, harga klirens berubah dengan berubahnya kadar. Oleh karena itu sistem seperti ini tidak dapat diartikan sebagai keadaan bergantung waktu, hanya karena harga parameter farmakokinetiknya berubah dengan waktu (Gibaldi, 1982).

Induksi diri terlihat pula dalam penggunaan salisilat jangka panjang pada reaksi pembentukan asam salisilat. (Day, 1983).

Dikenal 2 macam keadaan bergantung waktu, yaitu "Chrono pharmacokinetics" yang disebabkan karena perubahan faal dan "Chemically induced time dependency" (Dixon, 1982).

### 1.5. Estimasi Harga $K_m$ dan $V_m$

Yang dimaksud estimasi dalam hal ini adalah penentuan yang dilakukan secara invivo. Berikut ini akan dibahas tentang estimasi harga  $K_m$  dan  $V_m$  dengan menggunakan Data Darah dan Data Urin.

#### 1.5.1. Penggunaan Data Darah

##### A. Pemberian Dosis Tunggal

Penentuan harga parameter farmakokinetika nonlinier  $K_m$  dan  $V_m$  secara invivo dari obat yang mengalami kinetika nonlinier, dapat dilakukan dengan beberapa cara. Berikut akan dibahas beberapa metode yang dapat dipergunakan untuk estimasi  $K_m$  dan  $V_m$ .

1. Untuk obat yang dieliminasi dengan proses kapasitas terbatas tunggal (proses biotransformasi tunggal yang mencapai saturasi) estimasi  $K_m$  dan  $V_m$  melalui data kadar plasma-waktu dari obat yang diberikan secara intra vaskuler dapat dilakukan dengan pers. Michaelis-Menten. Untuk estimasi ini diperlukan penentuan laju perubahan kadar plasma ( $v$ ) dan kadar plasma pada titik te-

ngah interval waktu (C). Kemudian dengan mempergunakan bentuk linier dari persamaan Michaelis-Menten, yaitu pers. Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee dapat digambarkan kurva linier dan estimasi  $K_m$  serta  $V_m$ . (Gibaldi, 1982; Shargel, 1985).

a. Metode Lineweaver-Burk.

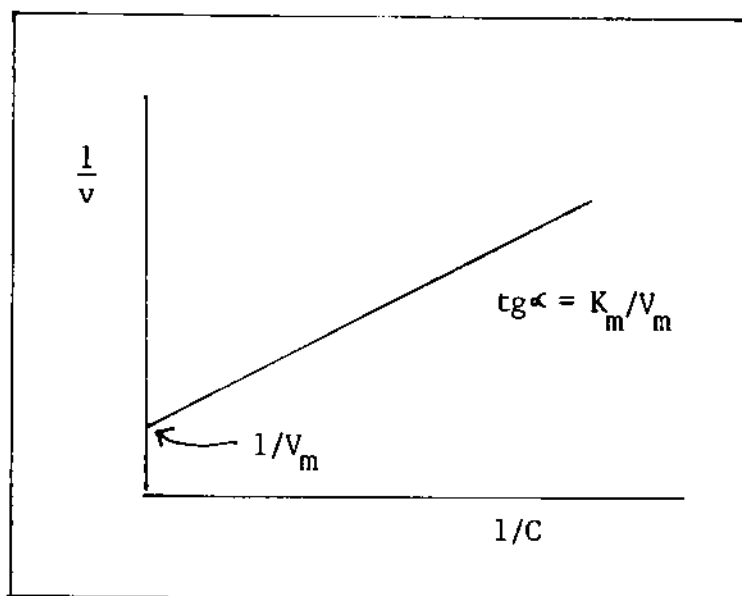
Metode ini disebut juga "double reciprocal method". Pers. Liniernya diturunkan dari pers. Michaelis-Menten dengan cara sebagai berikut :

$$v = \frac{K_m \cdot C}{K_m + C} \quad (48)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + C}{V_m \cdot C} = \frac{K_m}{V_m \cdot C} + \frac{C}{V_m \cdot C}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{C} + \frac{1}{V_m} \quad (49)$$

Pers. (49) disebut pers. Lineweaver-Burk  $1/v$  terhadap  $1/C$  menghasilkan garis lurus dengan titik potong pada sumbu  $y = 1/V_m$  dan  $\text{tg } \alpha = K_m/V_m$  (lihat gambar 3)



Gambar 3 : Kurva Lineweaver-Burk

b. Metode Hanes-Woolf

Pers. Hanes-Woolf diturunkan dari pers. Michaelis-Menten dengan cara sebagai

berikut :

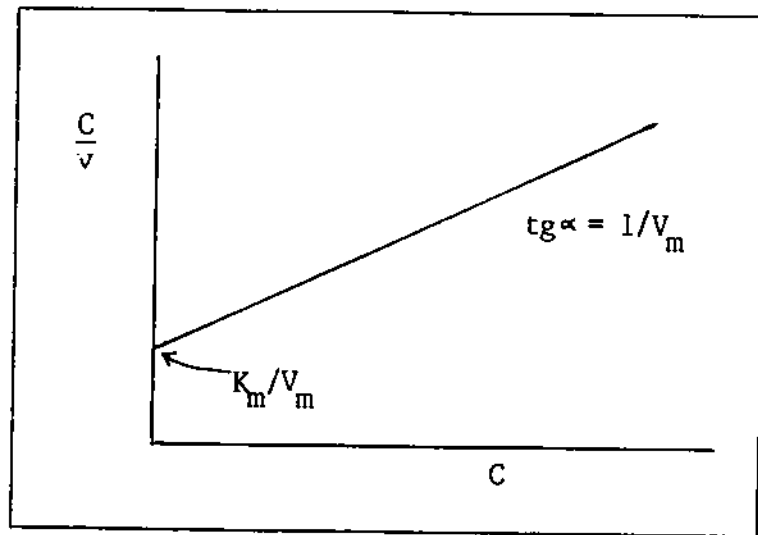
$$v = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + C}{V_m \cdot C}$$

Bila kedua pihak persamaan ini dikali dengan C, maka didapat pers. :

$$\frac{C}{v} = \frac{1}{V_m} \cdot C + \frac{K_m}{V_m} \quad (50)$$

Grafik  $C/v$  terhadap  $C$  menghasilkan garis lurus dengan titik potong pada sumbu  $y = K_m/V_m$  dan  $\text{tg } \alpha = 1/V_m$  (gambar 4)



Gambar 4 : Kurva Hanes-Woolf

#### c. Metode Augustinsson-Hofstee

Pers. Augustinsson-Hofstee diturunkan dari pers. Michaelis-Menten dengan cara sebagai berikut :

$$v = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C}$$

$$v \cdot K_m + v \cdot C = V_m \cdot C$$

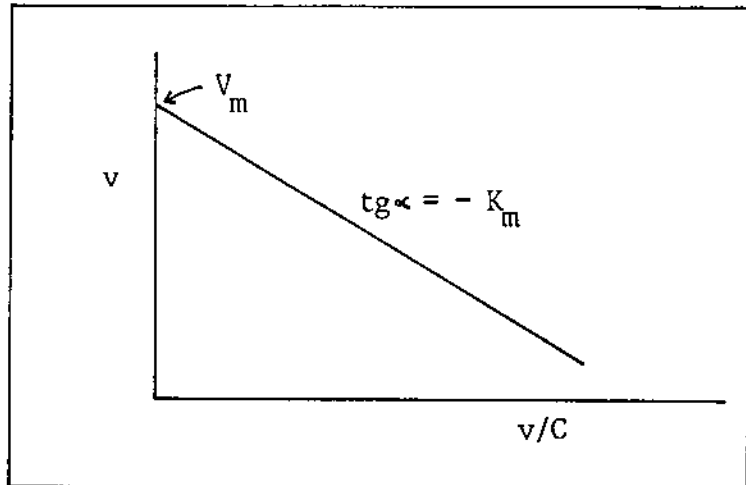
$$v \cdot C = -v \cdot K_m + V_m \cdot C$$



Bila kedua pihak dibagi  $C$ , didapat pers. :

$$v = -K_m \cdot \frac{v}{C} + V_m \quad (51)$$

Grafik  $v$  terhadap  $v/C$  menghasilkan garis lurus dengan titik potong pada sumbu  $y = V_m$  dan  $\text{tg } \alpha = -K_m$  (Gambar 5).

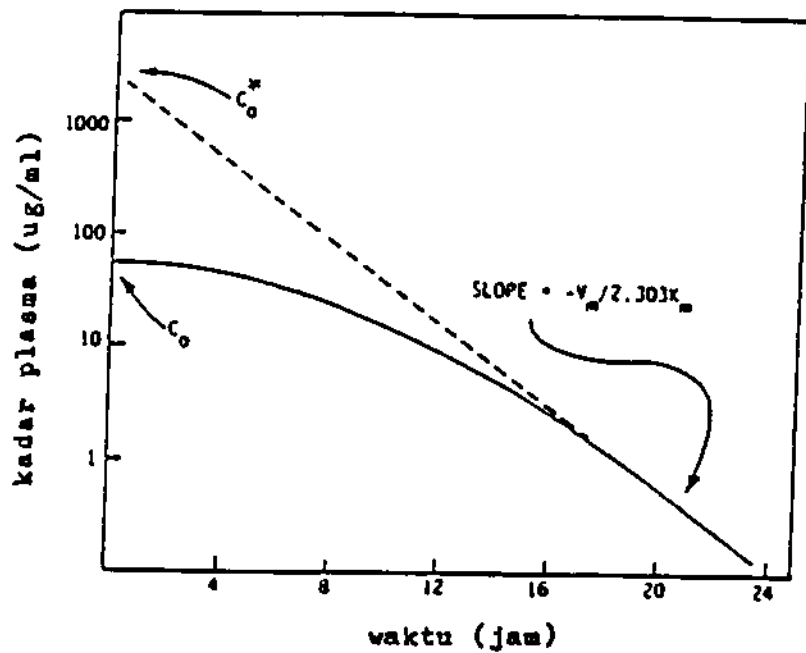


Gambar 5 : Kurva Augustinsson-Hofstee

2. Untuk obat yang diberikan secara injeksi bolus i.v. dan mengikuti model satu kompartemen, estimasi harga  $K_m$  dan  $V_m$  dari kurva  $\log C$  terhadap  $t$  (waktu) dapat diperoleh melalui pers. (27). Ekstrapolasi bagian terminal menghasilkan titik potong pada sumbu  $y = \log C_0^*$  (li-

hat gambar 6) dan pers. garisnya adalah :

$$\log C = \log C_0^* - \frac{V_m}{2,303 K_m} t \quad (52)$$



Gambar 6. Metode grafik untuk menghitung  $K_m$  dan  $V_m$  setelah pemberian i.v. obat yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal. — (pers. 27)  
----- (pers. 52).

Pada kadar plasma obat yang rendah, pers. (27) dan (52) dapat digabung dan menghasilkan pers. :

$$\begin{aligned} \frac{C_0 - C}{2,303K_m} + \log C_0 - \frac{V_m}{2,303 K_m} t \\ = \log C_0^* - \frac{V_m}{2,303 K_m} t \end{aligned} \quad (53)$$

yang apabila diselesaikan lebih lanjut menjadi :

$$\frac{C_0 - C}{2,303K_m} = \log \frac{C_0^*}{C_0} \quad (54)$$

Pers. (54) berlaku untuk  $C \ll C_0$ , sehingga  $(C_0 - C) \approx C_0$ . Karena itu penyelesaian lebih lanjut pers. (54) untuk menghitung harga  $K_m$  adalah :

$$K_m = \frac{C_0}{2,303 \log (C_0^*/C_0)} \quad (55)$$

Karena harga  $C_0^*$  dan  $C_0$  dapat ditentukan melalui grafik  $\log C$  terhadap waktu, maka harga  $K_m$  dapat dihitung dengan persamaan (55). Harga  $V_m$  dapat dihitung melalui  $\text{tg } \alpha$  dari bagian terminal, yaitu  $\text{tg } \alpha = -V_m/2,303K_m$

3. Untuk obat yang dieliminasi dengan proses

kapasitas terbatas yang paralel dengan satu atau lebih proses linier, mengikuti model satu kompartemen dan diberikan secara i.v, maka penentuan parameter farmakokinetiknya dapat dilakukan dengan cara berikut ini. Laju penurunan kadar plasma obat adalah :

$$-\frac{dC}{dt} = K' \cdot C + \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (56)$$

$K'$  adalah tetapan laju berbagai proses linier (order pertama) yang berlangsung secara paralel. Perubahan kadar obat dalam tubuh dapat ditentukan dengan integral pers. (56) dengan cara sebagai berikut :

$$\begin{aligned} -\frac{dC}{dt} &= \frac{K' \cdot C(K_m + C) + V_m \cdot C}{K_m + C} \\ &= \frac{K' \cdot K_m \cdot C + V_m \cdot C + K' \cdot C^2}{K_m + C} \end{aligned} \quad (57)$$

Perubahan lebih lanjut menghasilkan pers.:

$$\begin{aligned} -\frac{dC}{dt} &= \frac{C(K'K_m + V_m + K' \cdot C)}{K_m + C} \\ &= \frac{C(a + K' \cdot C)}{K_m + C} \end{aligned} \quad (58)$$

dimana  $a = K' \cdot K_m + V_m$

Dengan inversi dan perubahan lebih lanjut didapat :

$$\begin{aligned} \frac{dt}{dC} &= \frac{-(K_m + C)}{C(a + K'.C)} \\ &= \frac{K_m}{C(a + K'.C)} - \frac{1}{a + K'.C} \end{aligned} \quad (59)$$

yang dapat diubah menjadi :

$$dt = \frac{-K_m \cdot dC}{C(a + K'.C)} - \frac{dC}{a + K'.C} \quad (60)$$

Integral pers. (60) menghasilkan pers. :

$$t = \frac{K_m}{a} \ln \frac{a + K'.C}{C} - \frac{1}{K'} \ln(a + K'.C) + i \quad (61)$$

Pada  $t = 0$ , dimana  $C = C_0$ , maka harga  $i$  adalah :

$$i = -\frac{K_m}{a} \ln \frac{a + K'.C_0}{C_0} + \frac{1}{K'} \ln(a + K'.C_0) \quad (62)$$

Substitusi  $i$  ke pers. (61) menghasilkan pers. :

$$at = K_m \ln \frac{C_0}{C} + \left(\frac{a}{K'} - K_m\right) \ln \frac{a + K'.C_0}{a + K'.C} \quad (63)$$

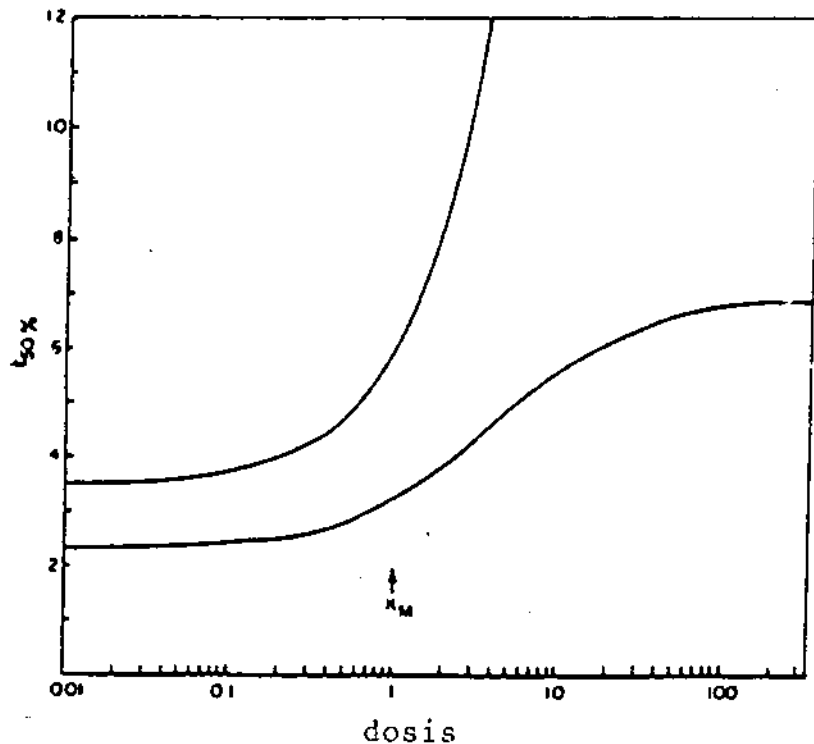
Karena  $a = K'K_m + V_m$ , maka :

$$\begin{aligned} (K'.K_m + V_m)t &= K_m \ln \frac{C_0}{C} + \left(\frac{K'.K_m + V_m}{K'} - K_m\right) \times \\ &\quad \ln \frac{K'.K_m + V_m + K'.C_0}{K'.K_m + V_m + K'.C} \end{aligned} \quad (64)$$

atau

$$t = \frac{1}{K' \cdot K_m + V_m} \left[ K_m \ln \frac{C_0}{C} + \frac{V_m}{K'} \ln \frac{(C_0 + K_m)K' + V_m}{K' + V_m} \right] \quad (65)$$

Pers. (65) menunjukkan bahwa waktu paruh dari obat bergantung pada dosis. Pada gambar 7 dapat dilihat pengaruh dosis terhadap  $t_{50\%}$  (waktu yang dibutuhkan untuk penurunan kadar sebesar 50% dari kadar awal).



Gambar 7. Perbandingan harga  $t_{50\%}$  setelah pemberian i.v. dari obat yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal (kurva A) dan yang dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten tunggal yang paralel dengan proses kinetik order pertama (kurva B) (Levy, 1968).

Penyelesaian lebih lanjut persamaan (65) untuk  $\ln C$  adalah :

$$\ln C = \ln C_0 + \frac{V_m}{K' \cdot K_m} \ln \frac{(C_0 + K_m)K' + V_m}{(C + K_m)K' + V_m} - \left(K' + \frac{V_m}{K_m}\right)t \quad (66)$$

yang dalam logaritma menjadi

$$\log C = \log C_0 + \frac{V_m}{K' \cdot K_m} \log \frac{(C_0 + K_m)K' + V_m}{(C + K_m)K' + V_m} - \frac{K' + V_m/K_m}{2,303} t \quad (67)$$

Pada kadar  $C \ll K_m$ , pers. (67) menjadi

$$\log C = \log C_0 + \frac{V_m}{K' \cdot K_m} \log \frac{(C_0 + K_m)K' + V_m}{K_m \cdot K' + V_m} - \frac{K' + V_m/K_m}{2,303} t \quad (68)$$

atau

$$\log C = \log C_0^* - \frac{K' + V_m/K_m}{2,303} t \quad (69)$$

dimana

$$\log C_0^* = \log C_0 + \frac{V_m}{K' \cdot K_m} \log \frac{(C_0 + K_m)K' + V_m}{K_m \cdot K' \cdot V_m} \quad (70)$$

Dari pers. (69) dapat diketahui bahwa  $\text{tg} \alpha$

dari bagian terminal kurva  $\log C$  terhadap  $t$ , pada kadar  $C$  yang rendah merupakan estimasi dari harga  $K' + V_m/K_m$  (lihat gambar 8), dan ekstrapolasi bagian terminal ini menghasilkan titik potong pada sumbu  $y = \log C_0^*$ .

Untuk obat yang dapat diberikan dengan dosis yang cukup tinggi secara intravena, sehingga kadar awal plasma  $C_0 > K_m$ , maka bagian awal dari kurva  $\log C$  terhadap  $t$  akan linier, dan  $tg \alpha$  mempunyai harga  $-K'/2,303$  (lihat gambar 8). Dengan cara ini dapat dihitung harga  $K'$  dan  $V_m/K_m$ . Untuk menghitung  $V_m$  dan  $K_m$  dapat dipergunakan pendekatan berikut ini. Perluasan pers. (70) adalah :

$$\frac{K' \cdot K_m}{V_m} \log \frac{C_0^*}{C_0} = \log \left( 1 + \frac{C_0 \cdot K'}{K_m \cdot K' + V_m} \right) \quad (71)$$

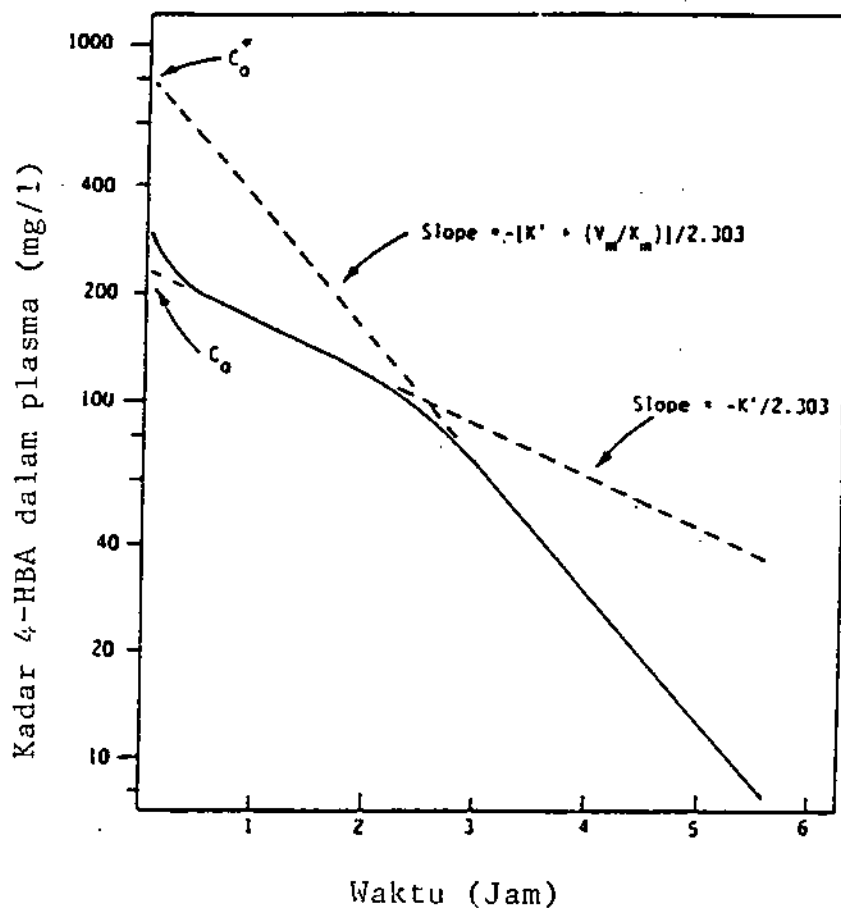
yang dapat diubah menjadi

$$\frac{K' \cdot K_m}{V_m} \log \frac{C_0^*}{C_0} = \log 1 + \frac{C_0 \cdot K'}{K_m (K' + V_m/K_m)} \quad (72)$$

Harga  $K_m$  dapat dihitung dengan pers.

$$K_m = \frac{C_0 \cdot K' / (K' + V_m/K_m)}{(C_0^*/C_0) \frac{K' \cdot K_m}{V_m} - 1} \quad (73)$$





Gambar 8. Kadar asam 4-hidroksi butirat (4-HBA) dalam plasma setelah pemberian i.v. Senyawa ini dieliminasi dengan proses Michaelis-Menten yang paralel dengan proses order pertama. (Ginnekan, 1974, sebagaimana dikutip Gibaldi, 1982, halaman 283).

dan selanjutnya  $V_m$  dapat dihitung pula.

Cara ini merupakan suatu pendekatan yang baik untuk menghitung harga  $K'$ ,  $K_m$  dan  $V_m$ . Tetapi perlu diperhatikan bahwa kadar plasma awal harus cukup tinggi ( $C \gg K_m$ ) agar diperoleh kurva  $\log C$  terhadap  $t$  yang linier.

4. Pendekatan lain yang dapat dipergunakan untuk estimasi tetapan farmakokinetika obat yang dieliminasi secara nonlinier yang paralel dengan proses linier adalah sebagai berikut : Pada kadar plasma yang tinggi ( $C \gg K_m$ ), pers. (56) menjadi

$$- \frac{dC}{dt} = K' \cdot C + \frac{V_m}{C} \quad (74)$$

Bila kedua pihak dibagi  $C$  dan karena  $(-dC/dt)/C$  sama dengan  $-d \ln C/dt$ , maka persamaan (74) dapat diubah menjadi

$$- \frac{d \ln C}{dt} = K' + \frac{V_m}{C} \quad (75)$$

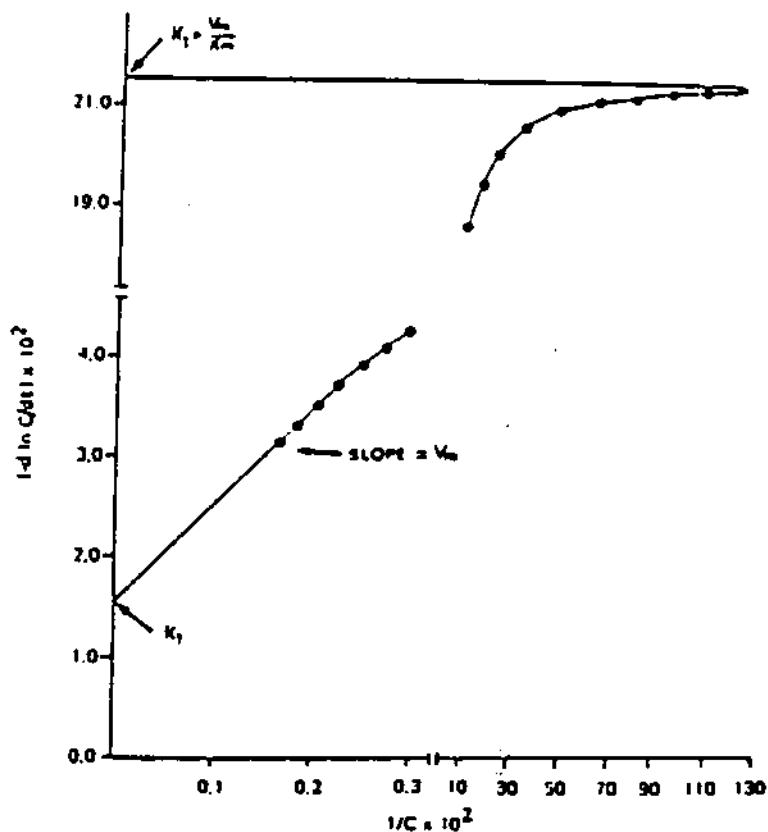
Pada kadar  $C$  yang rendah ( $C \ll K_m$ ), pers. (56) menjadi

$$- \frac{dC}{dt} = K' \cdot C + \frac{V_m}{K_m} \cdot C \quad (76)$$

yang dengan cara sama seperti di atas dapat diubah menjadi

$$-\frac{d \ln C}{dt} = K' + \frac{V_m}{K_m} \quad (77)$$

menurut pers. (75) kurva  $-\Delta \ln C/\Delta t$  terhadap  $1/C$  adalah linier dengan  $\text{tg} \alpha = V_m$  dan titik potong pada sumbu  $y = K'$ , tetapi akan mencapai nilai asimtotik  $K' + V_m/K_m$  pada kadar  $C$  yang rendah, sehingga  $K_m$  dapat dihitung (lihat gambar 9). Yang perlu diperhatikan pada penggunaan metode ini adalah bahwa kadar plasma harus cukup tinggi agar dapat diperoleh estimasi harga  $V_m$  dan  $K'$  yang akurat.



Gambar 9. Metode grafik untuk estimasi harga  $K'$  (tertulis  $K_1$  dalam grafik),  $V_m$  dan  $K_m$ . (Martis, 1973).

### B. Pemberian Dosis Ganda.

Kadar tunak dapat pula dipergunakan untuk menghitung parameter farmakokinetik non-linier. Untuk menentukan harga  $K_m$  dan  $V_m$ , dua macam dosis diberikan pada waktu yang berlainan sampai tercapai keadaan tunak. Pada keadaan tunak, laju metabolisme obat dapat dikatakan sama dengan laju pemberian obat ( $R$ ), dalam satuan dosis per hari. Selanjutnya dipergunakan pers. Michaelis-Menten dalam bentuk (Shargel, 1985) :

$$R = \frac{V_m \cdot C_{ss}}{K_m + C_{ss}} \quad (78)$$

Adapun  $C_{ss}$  adalah kadar obat dalam keadaan tunak. Ada 3 macam metode yang dapat dipergunakan untuk menghitung  $K_m$  dan  $V_m$ , kesemuanya dilakukan atas dasar bentuk linier dari pers. (78).

#### 1. Metode A

Inversi pers. (78) menghasilkan pers.

$$\frac{1}{R} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{C_{ss}} + \frac{1}{V_m} \quad (79)$$

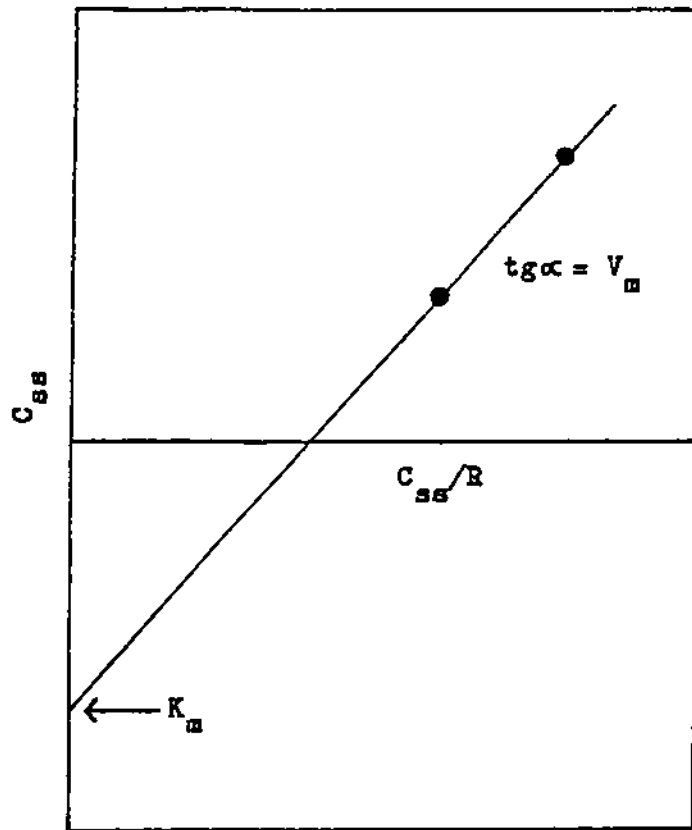
Setelah kedua pihak dikalikan  $C_{ss} \cdot V_m$ , maka didapat pers.

$$\frac{V_m \cdot C_{ss}}{R} = K_m + C_{ss} \quad (80)$$

Perubahan selanjutnya menjadi

$$C_{ss} = \frac{V_m \cdot C_{ss}}{R} - K_m \quad (81)$$

Bila dibuat kurva  $C_{ss}$  terhadap  $C_{ss}/R$  seperti terlihat pada gambar 10, maka  $\text{tg} \alpha = V_m$  dan titik potong pada sumbu  $y = K_m$ .



Gambar 10. Kurva  $C_{ss}$  terhadap  $C_{ss}/R$  untuk menghitung  $V_m$  dan  $K_m$  menurut metode A.

## 2. Metode B.

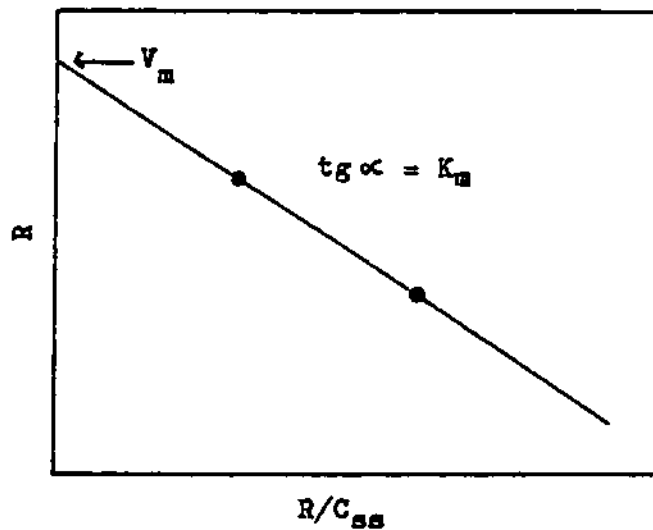
Pers. (78) dapat pula diubah menjadi

$$R \cdot K_m + R \cdot C_{ss} = V_m \cdot C_{ss} \quad (82)$$

Bila kedua pihak dibagi  $C_{ss}$ , maka didapat

$$R = V_m - \frac{K_m \cdot R}{C_{ss}} \quad (83)$$

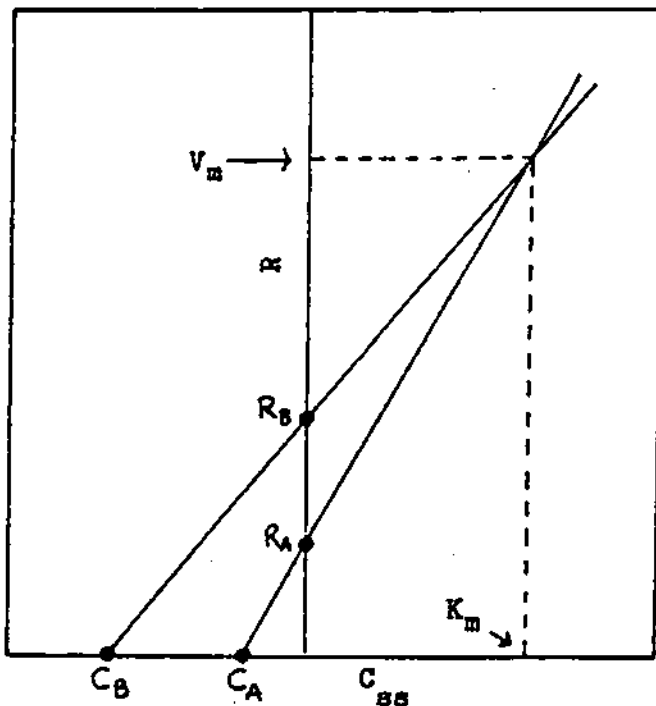
Bila dibuat kurva  $R$  terhadap  $R/C_{ss}$  seperti terlihat pada gambar 11, maka  $\text{tg } \alpha = K_m$ , dan titik potong sumbu pada  $y = V_m$ .



Gambar 11. Kurva  $R$  terhadap  $R/C_{ss}$  untuk menghitung  $V_m$  dan  $K_m$  menurut metode B.

### 3. Metode C.

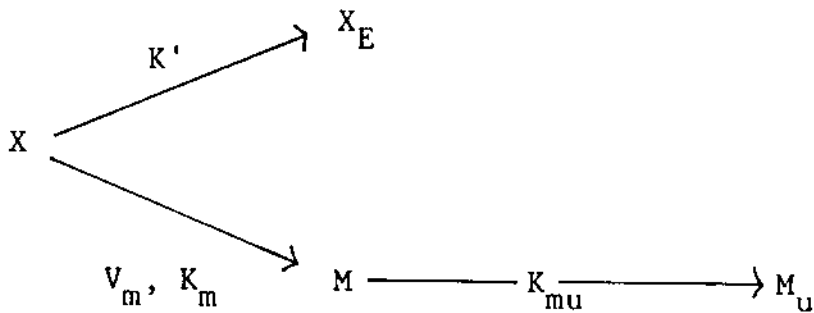
Metode ini menggunakan cara grafik, dengan membuat kurva R terhadap  $C_{ss}$ . Apabila pemberian dosis  $R_A$  menghasilkan kadar tunak  $C_A$  dan dengan dosis  $R_B$  menghasilkan kadar tunak  $C_B$ , maka harga  $K_m$  dan  $V_m$  dapat diperoleh dengan cara grafik seperti terlihat pada gambar 12. (Mullen, 1979)



Gambar 12. Kurva R terhadap  $C_{ss}$  untuk menghitung  $V_m$  dan  $K_m$  menurut metode C.

### 1.5.2. Penggunaan Data Urin.

Data urin dapat dipergunakan untuk menghitung parameter farmakokinetik nonlinier  $K_m$  dan  $V_m$ . (Schachter, 1958, Levy, 1969<sup>b</sup>, Gibaldi, 1982). Konsep dasar yang dipakai adalah kinetika obat seperti terlihat pada gambar 13.



Gambar 13. Perjalanan obat dalam tubuh sampai di urin.

Adapun yang dimaksud dengan  $X$  adalah jumlah obat dalam tubuh,  $X_E$  jumlah obat yang dieliminasi dengan proses linier,  $M$  jumlah metabolit dalam tubuh yang terbentuk dengan proses kapasitas-terbatas dan  $M_u$  jumlah metabolit yang ada dalam urin. Terapan  $K'$  dan  $K_{mu}$  adalah tetapan laju order pertama,  $V_m$  laju pembentukan metabolit maksimum dalam satuan jumlah per waktu, dan  $K_m$  tetapan Michaelis-Menten dalam satuan berat



Dengan asumsi bahwa laju ekskresi metabolit dalam urin ( $\Delta M_u / \Delta t$ ) ditentukan oleh laju pembentukannya dan karenanya menggambarkan laju pembentukannya, maka dapatlah diperoleh hubungan :

$$\frac{\Delta M_u}{\Delta t} = \frac{V_m \cdot X_m}{K_m + X_m} \quad (84)$$

$X_m$  adalah jumlah obat dalam tubuh pada ttw pengumpulan sampel urin. Pers. (84) dapat diselesaikan lebih lanjut untuk menghitung parameter farmakokinetik  $K_m$  dan  $V_m$  dengan merubahnya menjadi bentuk persamaan linier dari Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf atau Augustinsson-Hofstee. Contoh obat yang mengalami proses eliminasi secara nonlinier yang paralel dengan linier adalah Probenecid (Ho, 1986), salisilat (Levy, 1972) dan Indocyanine Green (Stoeckel, 1980).

Susunan hasil ekskresi dalam urin dari obat yang dieliminasi dari tubuh dengan kinetika nonlinier yang paralel dengan kinetika linier, bergantung pada dosis obat. Hal ini dapat ditunjukkan melalui persamaan-persamaan berikut ini : Apabila  $X_u$  adalah jumlah obat bentuk tak berubah yang terekskresi dalam urin, maka laju ekskresinya adalah :

$$\frac{dX_u}{dt} = K' \cdot X \quad (85)$$

$$\text{atau} \quad \frac{dX_u}{dt} = K' \cdot V.C. \quad (86)$$

karena  $X = V.C$ .

Integral pers. (86) menghasilkan

$$X_u^\infty = K' \cdot V \int_0^\infty C dt \quad (87)$$

Pers. (56) dapat diubah menjadi

$$C dt = - \frac{K_m + C}{K' \cdot K_m + V_m + K' C} dC \quad (88)$$

Integral pers. (88) untuk menghitung luas daerah di bawah kurva adalah :

$$\int_0^\infty C dt = \frac{C_0}{K'} - \frac{V_m}{(K')^2} \ln \left( \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} + 1 \right) \quad (89)$$

Substitusi pers. (89) ke pers. (87) menghasilkan

$$X_u^\infty = C_0 \cdot V - \frac{V \cdot V_m}{K'} \ln \left( \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} + 1 \right) \quad (90)$$

Pada kadar plasma yang rendah,

$$\ln \left( \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} + 1 \right) = \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} \quad (91)$$

karena untuk harga  $x$  yang kecil  $\ln(1 + x)$  sama dengan  $x$ . Jadi pada kadar plasma yang rendah, pers. (90) menjadi

$$X_u^\infty = C_0 \cdot V - \frac{V \cdot V_m}{K'} \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} \quad (92)$$

yang bila disederhanakan akan menghasilkan

$$X_u^\infty = C_0 \cdot V - \frac{C_m \cdot V \cdot V_m}{K' \cdot K_m + V_m} \quad (93)$$

dan perubahan lebih lanjut menghasilkan pers.

$$X_u^{\infty} = C_0 \cdot V \frac{K' \cdot K_m}{K' \cdot K_m + V_m} \quad (94)$$

Karena  $C_0 \cdot V = X_0$  maka pers. (94) dapat disederhanakan menjadi

$$X_u^{\infty} = X_0 \frac{K'}{K' + V_m/K_m} \quad (95)$$

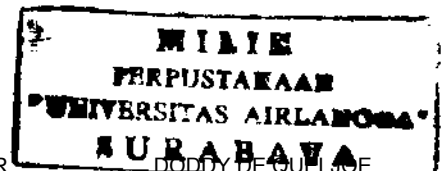
Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis yang rendah, jumlah obat bentuk tak berubah yang terdapat dalam urin berbanding lurus dengan dosis yang diberikan. Dengan meningkatnya dosis, kapasitas sistem enzim menjadi terbatas, dan jumlah obat bentuk tak berubah yang terekskresi dalam urine akan meningkat lebih dari sebanding dengan peningkatan dosis seperti ditunjukkan oleh pers. (90).

Sesuai dengan bagan dalam gambar 13, pada waktu yang tak terbatas ( $\infty$ ),

$$X_u^{\infty} + M_u^{\infty} = X_0 \quad (96)$$

Adapun  $M_u^{\infty}$  adalah jumlah total metabolit yang terekskresi dalam urin. Penggabungan pers. (96) dan (90) menghasilkan

$$M_u^{\infty} = X_0 - C_0 \cdot V + \frac{V \cdot V_m}{K'} \ln \left( \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} + 1 \right)$$



$$M_u^{\infty} = \frac{V \cdot V_m}{K'} \ln\left(\frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} + 1\right) \quad (97)$$

Pers. ini menunjukkan bahwa  $M_u^{\infty}$  akan meningkat, kurang dari sebanding dengan kenaikan dosis. Pada dosis yang rendah, pers. (97) menjadi

$$\begin{aligned} M_u^{\infty} &= \frac{V \cdot V_m}{K'} \frac{K' \cdot C_0}{K' \cdot K_m + V_m} \\ &= \frac{C_0 \cdot V \cdot V_m}{K' \cdot K_m + V_m} \end{aligned} \quad (98)$$

Substitusi  $X_0$  untuk  $C_0 \cdot V$  menghasilkan

$$M_u^{\infty} = X_0 \frac{V_m/K_m}{K' + V_m/K_m} \quad (99)$$

Dari persamaan (99) nampak bahwa pada dosis yang rendah,  $M_u^{\infty}$  berbanding lurus dengan dosis.

### 1.6. Klirens dan Waktu Paruh

Klirens tubuh total ( $Cl_s$ ) dapat dinyatakan dengan pers.

$$Cl_s = \frac{dX_E/dt}{C} \quad (88)$$

Adapun  $dX_E/dt$  adalah laju eliminasi obat dan  $C$  kadar obat dalam plasma. Dengan mengingat bahwa

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{V} \cdot \frac{dX_E}{dt},$$

maka laju eliminasi dari obat yang dieliminasi dengan proses kapasitas-terbatas tunggal adalah :

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dX_E}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (99)$$

atau

$$\frac{dX_E}{dt} = \frac{V_m \cdot V \cdot C}{K_m + C} \quad (100)$$

Bila kedua pihak dari pers. (100) dibagi C, maka akan dihasilkan pers. :

$$\frac{dX_E/dt}{C} = \frac{V_m \cdot V}{K_m + C} \quad (101)$$

Penggabungan pers. (98) dan (101) menghasilkan pers. untuk klirens sebagai berikut :

$$Cl_s = \frac{V_m \cdot V}{K_m + C} \quad (102)$$

Pada kadar plasma yang rendah, dimana  $C \ll K_m$

$$Cl_s = \frac{V_m}{K_m} \cdot V \quad (103)$$

sedangkan pada kadar plasma yang tinggi,  $C \gg K_m$ ,

$$Cl_s = \frac{V_m}{C} \cdot V \quad (104)$$

Dari pers. (103) terlihat bahwa, pada kadar plasma yang rendah, klirens tidak dipengaruhi oleh kadar C, tetapi dari pers. (104) terlihat bahwa dengan meningkatnya kadar, maka klirens akan turun. Ini berarti, makin tinggi kadar obat dalam plasma,

makin lambat plasma terbebaskan dari obat. Rose (1981) mengemukakan adanya ketergantungan dosis pada harga klirens dari prednisone dan prednisolone.

Pengaruh klirens yang nonlinier terhadap waktu paruh biologik dapat dilihat melalui pers.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693 V}{Cl_s} \quad (105)$$

Substitusi harga  $Cl_s$  pada pers. (102) ke dalam pers. (105) menghasilkan pers. :

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693(K_m + C)}{V_m} \quad (106)$$

Dari pers. ini terlihat bahwa kadar plasma yang rendah, waktu paruh obat tidak dipengaruhi oleh kadar plasma, sedang pada kadar plasma tinggi, waktu paruh akan meningkat dengan meningkatnya kadar obat dalam plasma.

Bilamana eliminasi terjadi secara linier yang paralel dengan proses nonlinier, maka laju eliminasinya adalah :

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dX_E}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} + K' \cdot C \quad (107)$$

Bila kedua pihak dikalikan dengan  $V/C$ , maka

$$\frac{dX_E/dt}{C} = \frac{V_m \cdot V}{K_m + C} + K' \cdot V \quad (108)$$

Karenanya, klirens dapat ditulis dengan pers. :

$$Cl_s = \frac{V_m \cdot V}{K_m + C} + K' \cdot V \quad (109)$$

Substitusi harga  $Cl_s$  ke pers. (105) memberikan hubungan antara waktu paruh dan kadar plasma sebagai berikut :

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{\frac{V_m}{K_m + C} + K'} \quad (110)$$

Pada kadar obat yang rendah, baik klirens maupun waktu paruh tidak dipengaruhi oleh kadar obat. Tetapi pada peningkatan kadar selanjutnya, klirens akan menurun, sedang apabila kadarnya sangat tinggi, harga klirens akan mencapai suatu batas sebesar  $(K' \cdot V)$ . Sebaliknya, waktu paruh akan meningkat dengan meningkatnya kadar sehingga mencapai suatu batas sebesar  $0,693/K'$ . Lin (1978) mengemukakan suatu persamaan pangkat tiga untuk menghitung volume distribusi obat yang mengikuti kinetika eliminasi Michaelis-Menten.

### 1.7. Luas Daerah di Bawah Kurva dan Bioavailabilitas

Untuk obat yang dieliminasi dengan kinetika order pertama, luas daerah di bawah kurva kadar obat dalam darah terhadap waktu berbanding lurus dengan dosis obat yang diberikan. Tetapi untuk obat yang dieliminasi dengan proses kapasitas-terbatas, luas daerah di bawah kurva tidak berban-

ding lurus dengan dosis yang diberikan. Peningkatan luas daerah ternyata lebih dari proporsional untuk pemberian dosis yang makin meningkat.

Luas total daerah di bawah kurva terhadap waktu ( $\int_0^{\infty} C dt$ ) setelah injeksi bolus i.v. dari obat yang dieliminasi dengan proses kapasitas-terbatas tunggal dan mengikuti model satu kompartemen adalah sebagai berikut. Inversi pers. Michaelis-Menten adalah :

$$C dt = - \frac{K_m + C}{V_m} dC \quad (111)$$

Integral pers. ini dalam daerah  $C = C_0$  pada  $t = 0$  sampai  $C = 0$  pada  $t = \infty$ , adalah

$$\int_0^{\infty} C dt = - \int_{C_0}^{0} \frac{K_m}{V_m} dC - \int_{C_0}^{0} \frac{C}{V_m} dC \quad (112)$$

Perubahan selanjutnya menghasilkan

$$\int_0^{\infty} C dt = - \frac{K_m}{V_m} C \Big|_{C_0}^0 - \frac{C^2}{2V_m} \Big|_{C_0}^0 \quad (113)$$

yang apabila diselesaikan menjadi

$$\int_0^{\infty} C dt = \frac{K_m}{V_m} C_0 + \frac{C_0^2}{2V_m} = \frac{C_0}{V_m} \left( K_m + \frac{C_0}{2} \right) \quad (114)$$

Pada dosis yang cukup rendah sehingga  $K_m \gg C_0/2$ ,

pers. (114) menjadi

$$\int_0^{\infty} C dt = \frac{K_m}{V_m} C_0 = \frac{K_m \cdot X_0}{V_m \cdot V} \quad (115)$$



Adapun  $X_0$  adalah dosis i.v.,  $V$  volume distribusi, dan  $C_0 = X_0/V$ . Dalam keadaan ini luas daerah di bawah kurva berbanding lurus dengan dosis  $X_0$ . Dari pers. (114) nampak bahwa pada keadaan nonlinier terdapat ketergantungan yang besar dari luas daerah terhadap dosis (karena faktor pangkat dua). Pada dosis tinggi, ( $C_0/2 \gg K_m$ ), pers. (114) berubah menjadi :

$$\int_0^{\infty} C \, dt = \frac{C_0^2}{2V_m} = \frac{X_0^2}{2V^2 \cdot V_m} \quad (116)$$

Pers. (116) menunjukkan bahwa dalam keadaan ini, luas daerah sebanding dengan dosis pangkat dua. Ini berarti, apabila ada kenaikan dosis, meskipun dalam jumlah yang kecil, sudah mengakibatkan kenaikan yang besar pada luas daerah di bawah kurva.

Laju absorpsi juga berpengaruh terhadap luas daerah di bawah kurva. Pada dosis yang tetap, makin cepat suatu obat diabsorpsi, maka luas daerah di bawah kurva akan mendekati hasil perhitungan pers. (114). Dengan perkataan lain, luas daerah yang dihitung dengan pers. (114) untuk suatu dosis tertentu adalah maksimum karena asumsi yang digunakan adalah absorpsi yang seketika terjadi seluruhnya. Apabila absorpsinya lambat, maka luas daerah akan mencapai minimum sebagaimana diberikan

oleh pers. (115). Gambar 14 menunjukkan pengaruh dosis dan laju absorpsi pada luas daerah di bawah kurva.

Perubahan yang nonlinier pada luas daerah sebagai akibat dari dosis menjadi penting apabila berkaitan dengan uji bioavailabilitas. Hal ini disebabkan karena bioavailabilitas suatu obat atau sediaan obat pada umumnya ditentukan dengan membandingkan luas daerah di bawah kurva dari obat atau sediaan tersebut dengan suatu standar. Bioavailabilitas dari obat yang dieliminasi dengan proses kapasitas-terbatas dapat dihitung dengan cara berikut :

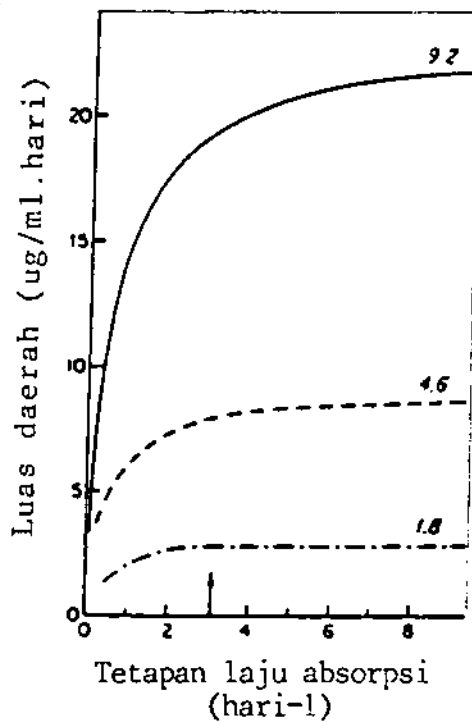
Integral  $-dC/dt$  adalah

$$\int_0^{\infty} -\frac{dC}{dt} dt = \int_0^{\infty} -dC = -C \Big|_0^{\infty} = C_0 \quad (117)$$

Adapun  $C_0$  adalah kadar plasma pada  $t = 0$ , setelah pemberian obat secara i.v. Karena  $C_0 = X_0/V$ , maka

$$\int_0^{\infty} -\frac{dC}{dt} dt = C_0 = \frac{X_0}{V} \quad (118)$$

Dari pers. (118) terlihat bahwa kurva  $\int_0^{\infty} (-dC/dt)dt$  terhadap  $C_0$  atau  $X_0/V$  akan selalu linier dan melalui titik asal tanpa perlu diperhatikan apakah proses yang diikuti itu linier atau tidak. Nilai  $C_0$  atau  $X_0/V$



Gambar 14. Pengaruh laju absorpsi dan dosis terhadap luas daerah di bawah kurva setelah pemberian dosis tunggal fenitoin. Kurva-kurva di atas menggambarkan dosis 1,8; 4,6 dan 9,2  $\text{mg/kg}$  (Jusko, 1976 sebagaimana dikutip Gibaldi, 1982).

dapat ditentukan dengan menggunakan diferensiasi numerik data kadar plasma i.v. terhadap waktu dan pengukuran luas daerah di bawah kurva yang diperoleh dari kurva  $-dC/dt$  terhadap waktu.

Setelah pemberian secara oral, laju eliminasi obat dari tubuh  $dX_E/dt$  diperoleh dari :

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dX_E}{dt} = K' \cdot C + \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (119)$$

Adapun  $X_E$  adalah jumlah obat yang dieliminasi hingga waktu  $t$ . Apabila jumlah seluruhnya yang dieliminasi sama dengan jumlah yang diabsorpsi (yaitu,  $(X_E)_{\infty} = FX_0$ , dimana  $F$  adalah fraksi dosis per oral yang diabsorpsi), maka :

$$\frac{1}{V} \int_0^{\infty} \frac{dX_E}{dt} dt = \int_0^{\infty} \left( K' \cdot C + \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \right) dt = \frac{F \cdot X_0}{V} \quad (120)$$

karena  $\int_0^{\infty} (dX_E/dt) dt$  sama dengan  $(X_E)_{\infty}$ .

Bioavailabilitas absolut dari dosis yang diberikan per oral dapat ditentukan dari perbandingan pers. (120) dan (118). Hasilnya adalah :

$$\frac{F \cdot X_0 / V}{X_0 / V} = \frac{[(1/V) \int_0^{\infty} (dX_E/dt) dt]_{\text{oral}}}{[\int_0^{\infty} - (dC/dt) dt]_{\text{i.v.}}} \quad (121)$$

Apabila dosis yang diberikan per oral dan i.v sama, dan dianggap bahwa volume distribusinya tetap, maka (Martis, 1973):

$$F = \frac{[(1/V) \int_0^{\infty} (dX_E/dt) \cdot dt]_{\text{oral}}}{[\int_0^{\infty} - (dC/dt) dt]_{\text{i.v.}}} \quad (122)$$

Karena itu, bioavailabilitas absolut dari bentuk sediaan oral dapat ditentukan dengan mengukur luas daerah di bawah kurva  $-dC/dt$  terhadap waktu berdasarkan data i.v., dan harga  $(dX_E/dt)/V$  dari data kadar plasma terhadap waktu dari obat yang diberikan secara oral dengan menggunakan pers. (119). Penentuan ini memerlukan harga  $K'$ ,  $V_m$  dan  $K_m$ , yang dapat diperoleh dari data i.v dengan metode yang telah dibahas sebelumnya. Setelah diperoleh data  $(dX_E/dt)V$ , maka luas daerah yang diperoleh dari grafik  $(dX_E/dt)/V$  terhadap waktu merupakan estimasi untuk pembilang pers. (122). Metode ini telah dipergunakan untuk menentukan bioavailabilitas fenitoin, dan ternyata dengan pendekatan nonlinier diperoleh harga bioavailabilitas sebesar 0,98, sedangkan dengan kinetika linier didapat hasil sebesar 0,87 (Jusko, 1976, sebagaimana dikutip Gibaldi, 1982). Veng-Pedersen (1985) menurunkan suatu persamaan yang menggunakan cara transformasi untuk menghitung bioavailabilitas absolut dari obat yang mengikuti kinetika nonlinier.

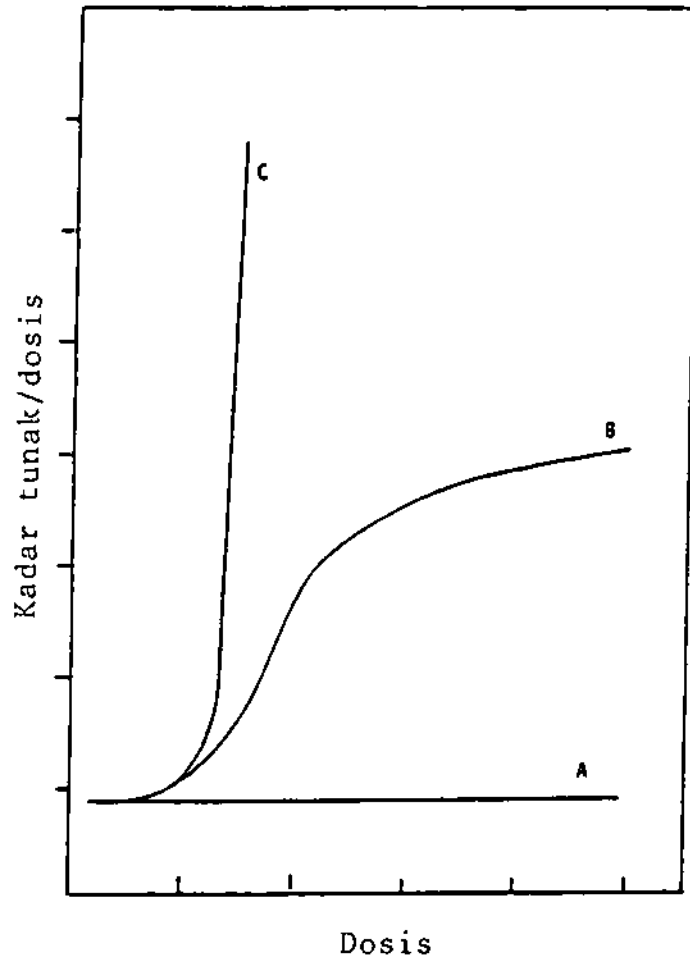
### 1.8. Kinetika Nonlinier pada Keadaan Tunak

Turunnya harga klirens dengan meningkatnya kadar obat dalam plasma tampak lebih jelas pada pemberian obat secara kronik.

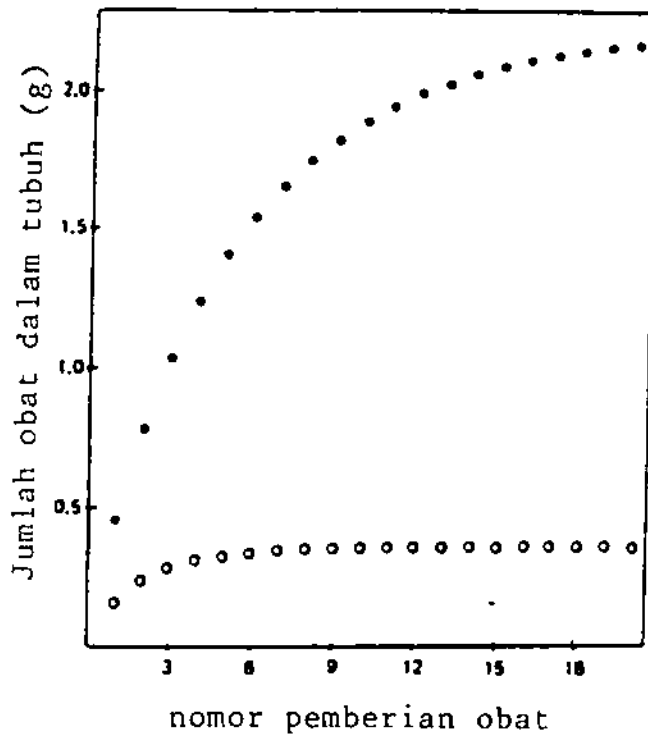
Kadar obat dalam keadaan tunak adalah :

$$C_{ss} = \frac{DR}{Cl_s} \quad (123)$$

DR adalah laju pemberian dosis, yang pada infus i.v. sama dengan laju infus dan pada pemberian dosis ganda secara oral adalah  $(\text{dosis} \cdot F) / \tau$ , dimana F adalah fraksi obat yang diserap dan  $\tau$  adalah interval waktu pemberian dosis. Dari gambar 15 dan pers. (123) terlihat, bahwa apabila untuk  $Cl_s$  berlaku pers. (102) dan (109), maka peningkatan dosis menyebabkan peningkatan yang lebih dari proporsional dalam kadar tunak obat. Makin besar peranan proses kapasitas-terbatas terhadap proses eliminasi secara keseluruhan, makin besar pula peningkatan kadar tunak yang diakibatkan karena peningkatan dosis. Sebagai contoh dapat dilihat salisilat, peningkatan dosis dua kali, dari 0,5 ke 1,0 gram setiap 8 jam mengakibatkan peningkatan lebih dari enam kali dalam kadar tunak salisilat (lihat gambar 16).



Gambar 15. Hubungan antara kadar tunak dibagi dosis terhadap dosis yang diberikan, untuk obat yang dieliminasi dengan kinetika order pertama (A), order pertama yang paralel dengan Michaelis-Menten (B), dan Michaelis-Menten (C). (Tsuchiya, 1972<sup>b</sup>).



Gambar 16. Akumulasi asam salisilat dalam tubuh sebagai fungsi dari nomor pemberian obat, apabila diberi dosis 0,500 g (o) atau 1,000 g (●) setiap 8 jam (Levy, 1972<sup>b</sup>).

Di samping itu, karena waktu paruh meningkat dengan meningkatnya kadar (lihat pers. 106 dan 110), maka waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar



tunak juga akan bertambah panjang dengan meningkatnya dosis pengobatan. Dalam contoh salisilat di atas, terlihat bahwa waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan tunak meningkat dari 2 hari menjadi 7 hari. Graham (1977) mengemukakan bahwa kadar plasma pada waktu tertentu sesudah pemberian dosis tunggal dapat dipergunakan untuk meramalkan kadar plasma dalam keadaan tunak.

Di dalam sistem nonlinier, ketergantungan dari waktu untuk mencapai keadaan tunak pada laju pemberian obat dapat ditunjukkan secara matematis sebagai berikut. Untuk suatu obat yang diberikan pada laju tetap sebesar  $k_0$  dan yang dieliminasi dengan proses kapasitas-terbatas tunggal, maka berlaku pers. diferensial berikut :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{K_0}{V} - \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (124)$$

Perluasan dan perubahan lebih lanjut dari pers. ini menghasilkan :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{(k_0 \cdot K_m / V) + [(k_0 / V) - V_m] C}{K_m + C} \quad (125)$$

Pers. tersebut secara umum dapat ditulis :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{x + y \cdot C}{z + C} \quad (126) \text{ yang dapat diubah menjadi :}$$

$$\frac{z}{x + yC} dC + \frac{C}{x + yC} dC = dt \quad (127)$$

Integral dari pers. (127) adalah

$$\frac{z}{y} \ln (x + yC) + \frac{C}{y} - \frac{x}{y^2} \ln (x + yC) = t + i \quad (128)$$

yang dapat disederhanakan menjadi

$$\frac{C}{y} + \frac{zy - x}{y^2} \ln(x + yC) = t + i \quad (129)$$

Pada  $t = 0$ , dan  $C = 0$ , harga  $i$  adalah :

$$i = \frac{zy - x}{y^2} \ln x \quad (130)$$

Substitusi  $i$  ke pers. (129) menghasilkan :

$$t = \frac{C}{y} + \frac{zy - x}{y^2} \ln\left(1 + \frac{y}{x} C\right) \quad (131)$$

Dengan memperhatikan pers. (125), (126) dan (131), maka dapat dirangkai pers. baru :

$$t = \frac{C}{(k_0/V) - V_m} - \frac{K_m \cdot V_m}{[(k_0/V) - V_m]^2} \ln \left(1 + \frac{k_0 - V \cdot V_m}{k_0 \cdot K_m} C\right) \quad (132)$$

Kadar tunak  $C_{ss}$  suatu obat yang mengikuti model di atas adalah

$$C_{ss} = \frac{k_0}{Cl_s} = \frac{k_0(K_m + C_{ss})}{V \cdot V_m} \quad (133)$$

dimana  $Cl_s$  ditetapkan dengan pers. (102).

Penyelesaian selanjutnya dari pers. (133) adalah

$$- C_{ss} = \frac{k_0 \cdot K_m}{k_0 - V \cdot V_m} \quad (134)$$

Apabila ditentukan bahwa

$$f_{ss} = C/C_{ss} \quad (135)$$

dimana  $f_{ss}$  adalah fraksi kadar terhadap kadar tunak, maka penggabungan pers. (132), (134) dan (135) menghasilkan :

$$t = \frac{f_{ss} \cdot C_{ss}}{(k_0/V) - v_m} + \frac{K_m \cdot v_m}{[(k_0/V) - v_m]^2} \ln(1 - f_{ss}) \quad (136)$$

Dari pers. (136) terlihat bahwa waktu untuk mencapai keadaan tunak dipengaruhi oleh frekuensi pemberian obat (dosis/waktu).

Pada frekuensi pemberian obat yang rendah ( $k_0$  dan  $C_{ss} \rightarrow 0$ ), pers. (136) dapat menjadi :

$$t = - \frac{1}{v_m/K_m} \ln(1 - f_{ss}) \quad (137)$$

sehingga nampak bahwa waktu untuk mencapai keadaan tunak tidak dipengaruhi oleh frekuensi pemberian obat, sedang pada laju infusi yang tinggi ( $k_0$  dan  $C_{ss} \rightarrow \infty$ ).  $t = \frac{f_{ss} \cdot C_{ss}}{k_0/V}$  (138)

terlihat bahwa waktu untuk mencapai keadaan tunak tidak dipengaruhi oleh kinetika eliminasi obat. Studi keadaan tunak obat yang mengalami eliminasi Michaelis-Menten telah dilakukan oleh Wagner (1978).

Untuk obat yang mengalami eliminasi dengan satu atau lebih kinetika order pertama yang paralel dengan kinetika nonlinier, maka waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan tunak atau suatu

fraksi dari keadaan tunak (atau suatu fraksi dari keadaan tunak) menjadi agak rumit, yaitu

$$t = \frac{1}{\sqrt{-q}} \left( K_m + \frac{b}{2K'} \right) \ln \frac{-2K'C + b - \sqrt{-q}}{b - \sqrt{-q}} - \frac{1}{1-f_{ss}} - \frac{1}{2K'} \ln \frac{a + bC - K'C^2}{a} \quad (139)$$

Adapun  $a = k_0 \cdot K_m / V$ ;  $b = (k_0 / V) - K' \cdot K_m - V_m$ ; dan

$$-q = b^2 + 4 k_0 \cdot K_m \cdot K' / V$$

Apabila laju pemberian obat ( $k_0$ ) rendah, maka pers. (139) menjadi

$$t = \frac{-1}{K' + (V_m / K_m)} \ln (1 - f_{ss}) \quad (140)$$

Bentuk pers. ini mirip dengan pers. (137), dan ini menunjukkan bahwa waktu untuk mencapai suatu fraksi dari keadaan tunak hanya dipengaruhi oleh tetapan laju atau waktu paruh dari kondisi yang non-linier. Tetapi apabila laju pemberiannya menjadi besar, maka pers. (140) menjadi

$$t = - \frac{1}{K'} \ln (1 - f_{ss}) \quad (150)$$

Karena itu, pada laju pemberian obat yang tinggi, waktu untuk mencapai keadaan tunak bergantung pada tetapan laju eliminasi untuk proses order pertama.

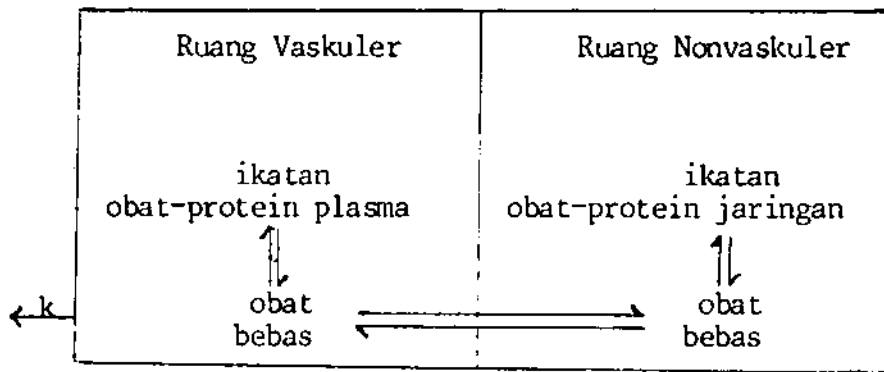
### 1.9. Ikatan Nonlinier

Dalam pembahasan farmakokinetika nonlinier, umumnya eliminasi kapasitas-terbatas mendapatkan perhatian yang terbesar, karena merupakan proses yang banyak dijumpai dan yang telah dipahami dengan baik. Berikut ini akan dibahas farmakokinetika nonlinier yang berhubungan dengan ikatan obat-protein.

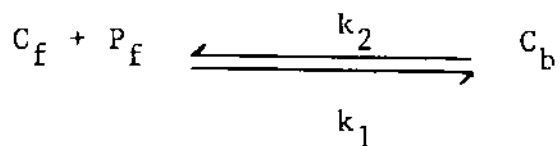
Telah diketahui bahwa molekul obat terikat secara reversibel dengan protein, baik yang terdapat dalam pembuluh atau cairan tubuh maupun dalam jaringan, dan bahwa fraksi yang terikat umumnya dianggap tetap, tidak dipengaruhi oleh kadar obat pada tempat ikatan. Tetapi, setiap jaringan mempunyai jumlah yang terbatas yang dapat berikatan dengan molekul obat tertentu dan bahwa banyaknya obat yang dapat diikat per gram jaringan tertentu berhubungan dengan jumlah tempat ikatan yang tersedia dan tipe ikatan. Sehubungan dengan itu, pada kadar yang cukup tinggi, akan dijumpai bahwa fraksi yang terikat berkurang dengan bertambahnya kadar. Hal ini mengakibatkan perubahan dalam kinetika obat. (Mc. Namara, 1979).

Model berikut ini dipergunakan sebagai dasar

untuk memahami pengaruh ikatan obat-protein yang nonlinier terhadap kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu, dan terhadap parameter farmakokinetika.



Parameter  $k$  adalah tetapan laju eliminasi order pertama. Di dalam kompartemen vaskular, molekul obat akan berinteraksi dengan protein dan membentuk kompleks obat-protein sesuai dengan reaksi berikut



Adapun  $C_f$  dan  $C_b$ , masing-masing adalah kadar dalam molar dari obat yang bebas dan terikat dalam ruang vaskuler.  $C_b$  juga sama dengan kadar protein yang telah tertempati.  $P_f$  adalah kadar dalam molar dari

protein yang bebas, dan parameter  $k_2$  dan  $k_1$  adalah tetapan lajunya.

Dari reaksi ini, dapat dipahami bahwa

$$\frac{dC_f}{dt} = k_2 \cdot C_b - k_1 \cdot C_f \cdot P_f \quad (151)$$

Atas dasar pendekatan keadaan tunak ( $dC_f/dt = 0$ ), maka

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{C_f \cdot P_f}{C_b} \quad (152)$$

Banyaknya tempat ikatan protein vaskuler total  $nP$  adalah

$$nP = P_f + C_b \quad (153)$$

dimana  $n$  adalah banyaknya tempat ikatan pada setiap molekul protein dan  $P$  kadar protein dalam molar. Dengan menggabungkan pers. (152) dan (153), dan dengan pengertian bahwa  $k_2/k_1$  adalah tetapan disosiasi kompleks obat-protein ( $K_d$ ), maka didapat

$$K_d = \frac{C_f (nP - C_b)}{C_b} \quad (154)$$

dan selanjutnya untuk  $C_b$  didapat

$$C_b = \frac{C_f \cdot n \cdot P}{K_d + C_f} \quad (155)$$

Kadar obat total dalam ruang vaskuler ( $C_t$ ) sama dengan jumlah obat bebas dan terikat,

$$C_t = C_f + C_b \quad (156)$$

Substitusi  $C_b$  dalam pers. (155) menghasilkan

$$C_t = C_f + \frac{C_f \cdot n \cdot P}{K_d + C_f} \quad (157)$$

Kadar obat total dalam jaringan ( $C_t^T$ ) dapat diperoleh dengan cara yang sama, dan hasilnya adalah

$$C_t^T = C_f + \frac{C_f \cdot A}{K_d^T + C_f} \quad (158)$$

Adapun  $K_d^T$  adalah tetapan disosiasi untuk kompleks obat-jaringan dan A adalah tetapan yang mirip dengan  $nP$ . Apabila ikatan dengan protein vaskuler atau jaringan adalah linier, maka kadar total obat dalam ruang vaskuler dan jaringan adalah

$$C_t = \frac{C_f}{f_B} \quad (159)$$

dan

$$C_t^T = \frac{C_f}{f_T} \quad (160)$$

Adapun  $f_B$  adalah fraksi obat bebas dalam ruang vaskuler dan  $f_T$  fraksi obat bebas dalam jaringan. Perluasan yang diikuti diferensial pers. (157) dan (158) menghasilkan pers. :



$$\frac{dC_t}{dt} = \frac{(dC_f/dt)[(K_d+C_f)(2C_f+K_d+nP) - \{C_f^2+(K_d+nP)C_f\}]}{(K_d + C_f)^2} \quad (161)$$

dan

$$\frac{dC_t^T}{dt} = \frac{(dC_f/dt)[(K_d^T+C_f)(2C_f+K_d^T+A) - \{C_f^2+(K_d^T+A)C_f\}]}{(K_d^T + C_f)^2} \quad (162)$$

Pers. (161) dan (162) dapat diselesaikan lebih lanjut menjadi

$$\frac{dC_t}{dt} = \frac{(dC_f/dt)(C_f^2 + 2C_f \cdot K_d + n \cdot P \cdot K_d + K_d^2)}{(K_d + C_f)^2} \quad (163)$$

dan

$$\frac{dC_t^T}{dt} = \frac{(dC_f/dt) \{C_f^2 + 2C_f \cdot K_d^T + A \cdot K_d^T + (K_d^T)^2\}}{(K_d^T + C_f)^2} \quad (164)$$

Bila ikatannya linier, maka diferensial pers. (159) dan (160) menjadi

$$\frac{dC_t}{dt} = \frac{dC_f/dt}{f_B} \quad (165)$$

dan

$$\frac{dC_t^T}{dt} = \frac{dC_f/dt}{f_T} \quad (166)$$

Apabila dosis D diberikan, maka

$$X_B + X_T + X_E = D \quad (167)$$

Adapun  $X_B$  dan  $X_T$  masing-masing adalah jumlah obat

dalam ruang vaskuler dan jaringan,  $X_E$  jumlah obat yang dieliminasi dari tubuh dengan semua jalur eliminasi. Diferensial pers. (167) menghasilkan :

$$\frac{dX_B}{dt} + \frac{dX_T}{dt} + \frac{dX_E}{dt} = 0 \quad (168)$$

Laju eliminasi,  $dX_E/dt$ , adalah :

$$\frac{dX_E}{dt} = k \cdot V_B \cdot C_t \quad (169)$$

$V_B$  adalah volume intravaskuler.

Atas dasar pers.  $X_B = V_B \cdot C_t$  dan  $X_T = V_T \cdot C_t^T$ , dimana  $V_T$  adalah volume jaringan, maka pers. (168) dapat ditulis sebagai :

$$V_B \frac{dC_t}{dt} + V_T \frac{dC_t^T}{dt} + \frac{dX_E}{dt} = 0 \quad (170)$$

Untuk memeriksa pengaruh ikatan protein vaskuler dan atau jaringan yang linier atau nonlinier pada disposisi obat, pers. untuk  $dX_E/dt$ ,  $dC_t/dt$ , dan  $dC_t^T/dt$  sebagaimana diberikan pada pers. (169) dan (163) sampai (166) dapat disubstitusikan ke pers. (170)

Berikut ini akan dibahas pengaruh ikatan nonlinier terhadap klirens. Pengaruh ikatan nonlinier terhadap klirens dapat dijelaskan dengan pers. berikut

$$V = V_B + \frac{f_B}{f_T} V_T \quad (171)$$

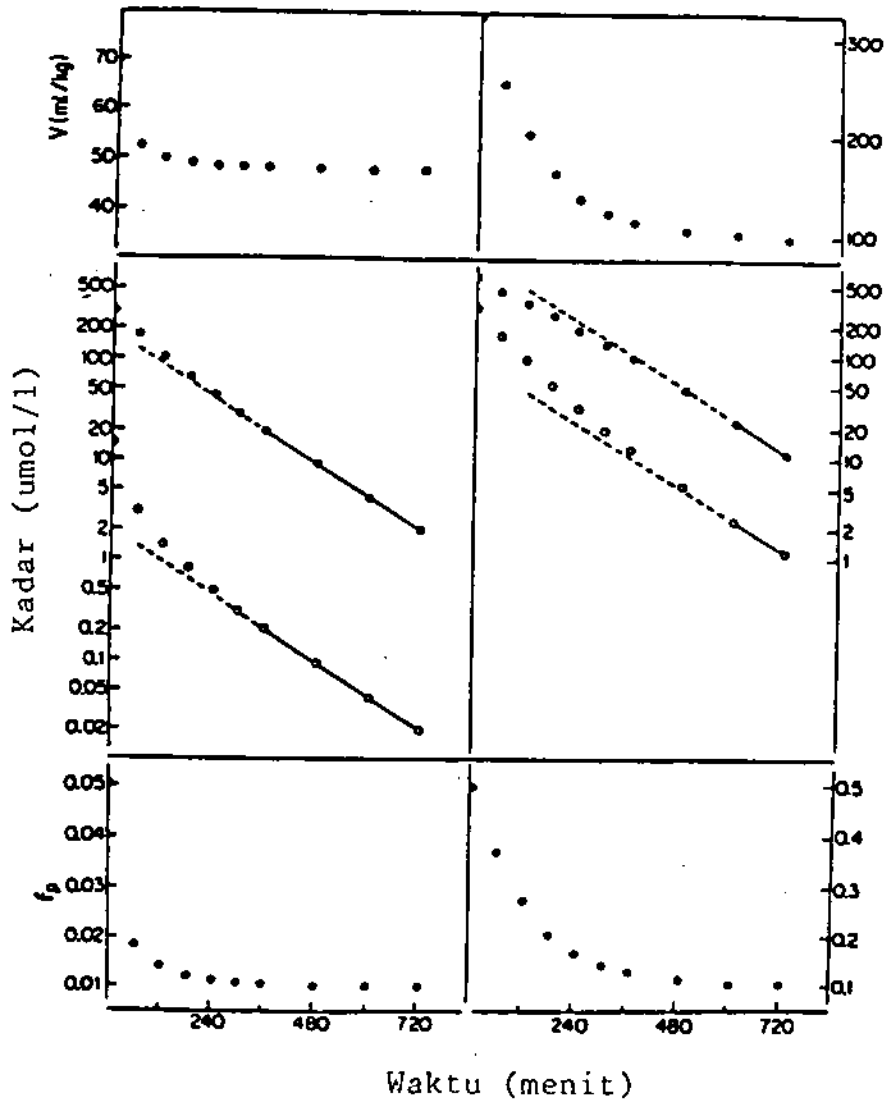
dan

$$Cl = Q \frac{f_B \cdot Cl'_I}{Q + f_B \cdot Cl'_I} \quad (172)$$

$Cl$  dan  $Cl'_I$  adalah klirens dan klirens intrinsik obat bebas dalam darah,  $Q$  aliran darah ke organ yang mengeliminasi. Pengaruh ikatan nonlinier terhadap bentuk kurva log kadar plasma terhadap waktu dapat dijelaskan dengan memahami bahwa waktu paruh ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) sama dengan  $0,693 \cdot V/Cl$ , dan jikalau waktu paruh meningkat atau menurun dengan waktu, maka akan terbentuk kurva yang konkaf atau konvek. Untuk obat dengan klirens intrinsik yang rendah ( $Q \gg f_B \cdot Cl'_I$ ), dimana ikatan nonlinier terjadi dalam ruang vaskuler, akan terlihat penurunan volume distribusi dan klirens sebagai fungsi dari waktu, setelah pemberian dosis bolus i.v., yang disebabkan karena terjadinya penurunan fraksi obat bebas bersamaan dengan turunnya kadar obat dalam ruang vaskuler. Di dalam keadaan seperti itu, kurva log kadar plasma terhadap waktu akan tampak melengkung sekalipun obat itu mengikuti model satu kompartemen dan dieliminasi dengan kinetik order pertama. Pengaruh ikatan terhadap klirens condong menyebabkan kurvanya berbentuk konkaf, sedangkan

pengaruh ikatan terhadap volume distribusi condong menyebabkan kurvanya berbentuk konvek (lihat gambar 17). Apabila ikatan obat jaringan yang linier meningkat, maka bentuk kurva log kadar plasma terhadap waktu yang konkaf sebagai akibat dari ikatan obat-protein yang nonlinier di ruang vaskuler, cenderung makin lurus. Ikatan obat-jaringan yang nonlinier bersamaan dengan ikatan obat-protein dalam ruang vaskuler yang linier, tidak menyebabkan perubahan harga klirens, tetapi menyebabkan peningkatan volume distribusi. Akibatnya adalah bahwa kurva log kadar plasma terhadap waktu menjadi konkaf, meskipun obat mengikuti model satu kompartemen. Furst (1977) mempelajari pengaruh ikatan obat-protein terhadap klirens salisilat, dan mengemukakan bahwa klirens obat tak terikat menurun sebagai akibat adanya kejenuhan ensim, tetapi klirens totalnya tidak berubah.

Ikatan obat-protein yang nonlinier dalam ruang vaskuler atau ikatan obat-jaringan yang nonlinier memberikan pengaruh yang sama terhadap volume distribusi dari obat dengan klirens yang tinggi, seperti juga pada obat dengan klirens yang rendah. Tetapi perubahan ikatan obat-protein dalam ruang vaskuler mempunyai pengaruh yang kecil atau sama sekali tidak berpengaruh pada obat dengan klirens yang tinggi ( $f_p \cdot Cl'1 \gg Q$ ), dan luas total



Gambar 17. Pengaruh ketergantungan kadar pada ikatan protein plasma (andaikan tak ada ikatan jaringan), pada kadar obat bebas (o) dan total (●) dalam plasma. (Mc.Namara, 1979).

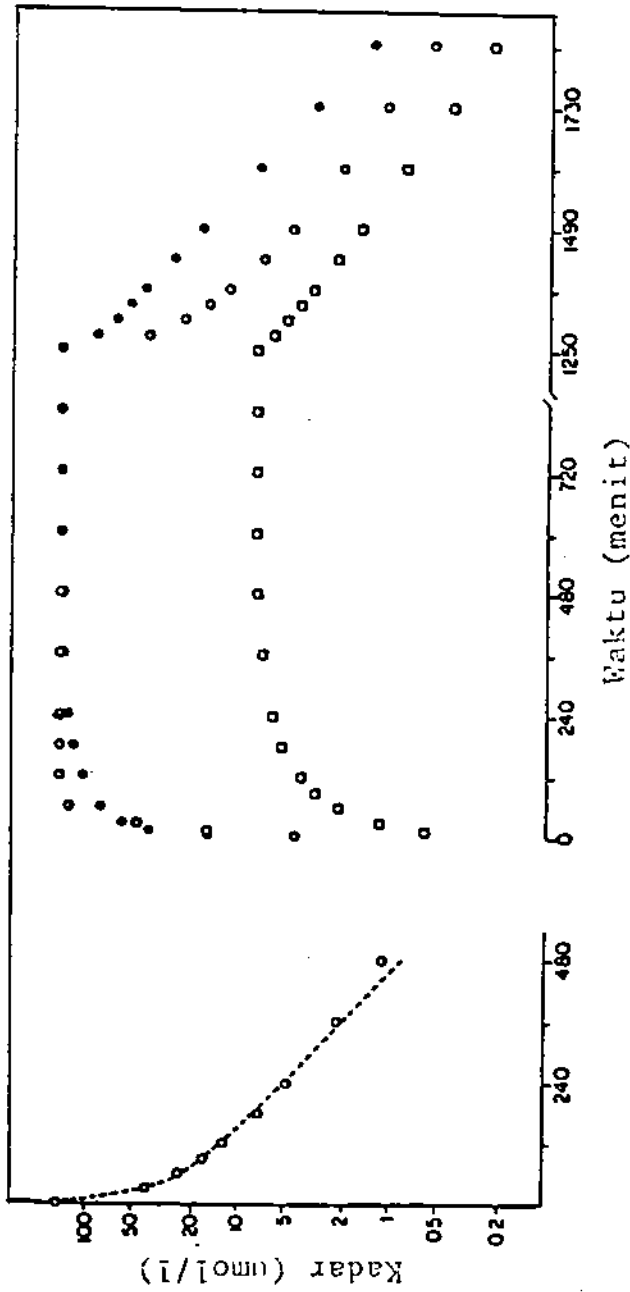
merupakan fungsi linier dari dosis atau jumlah obat yang terabsorpsi. Oleh karena itu bentuk kurva log kadar plasma terhadap waktu adalah konvek, karena pengaruh ikatan obat-protein dalam ruang vaskuler pada volume distribusi merupakan faktor utama yang mempengaruhi bentuk kurva. Kurva-kurva seperti itu dapat menyebabkan suatu interpretasi yang keliru terhadap eliminasi nonlinier.

Karena adanya kemungkinan pengaruh ikatan nonlinier pada kurva log kadar plasma terhadap waktu, maka penerapan farmakokinetika dengan model multikompartemen atau eliminasi nonlinier pada kurva log kadar plasma terhadap waktu tidaklah selalu benar. Interpretasi ini rumit mengingat bahwa karakterisasi ikatan obat-jaringan itu sulit, karena jaringan merupakan suatu fase yang heterogen. Apakah suatu kurva log kadar plasma terhadap waktu yang berbentuk multieksponensial merupakan akibat dari karakterisasi distribusinya atau sebagai akibat dari ikatan nonlinier dalam ruang vaskuler atau nonvaskuler, dapat diperiksa dengan pemberian dosis bolus i.v. dan infus i.v. sedemikian sehingga kadar obat segera sesudah bolus i.v.

dan pada saat terminasi infus i.v. adalah sama. Bilamana obat tersebut memberikan karakteristik multiekspensial pada tubuh sebagai akibat dari sifat distribusinya, maka fase distribusi setelah pemberian infus akan kurang nyata/jelas dibandingkan sesudah injeksi bolus i.v. Tetapi apabila karakteristik multiekspensial merupakan akibat dari ikatan nonlinier, maka fase distribusi sebelum infus dan sesudah injeksi bolus akan sama (lihat gambar 18.).

Cham (1982) mengemukakan adanya nonlinieritas dengan satu tipe tempat ikatan antara salisilat dengan protein plasma. Borga (1976) mengatakan bahwa ikatan salisilat-protein lebih rendah pada plasma uremik dibandingkan dengan plasma normal.

Atas dasar ikatan nonlinier antara obat dan jaringan-jaringan, DiSanto dan Wagner mengembangkan suatu model untuk mempelajari farmakokinetika nonlinier (Wagner, 1971, ; DiSanto 1972a, 1972b, 1972c; Wagner, 1975). Kunka (1979) menerapkan model ini untuk mempelajari kinetika dari Acetazolomide.



Gambar 18. Kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu (o) setelah dosis tunggal i.v. (sebelah kiri), selama dan sesudah infus i.v. dengan laju tetap (sebelah kanan) dari obat dengan ikatan jaringan nonlinier yang mengikuti model satu kompartemen. Infus dengan laju yang lebih rendah menghasilkan kadar tunak lebih rendah (●). Kadar obat dalam plasma setelah pemberian bolus i.v. (●). (Sedman, 1974).



## **2. Asam Salisilat Sebagai Model untuk Mempelajari Farmakokinetika Nonlinier**

Penggunaan salisilat sebagai model obat untuk mempelajari kinetika nonlinier dengan data urin didasarkan pada beberapa hal sebagai berikut :

1. Kinetika eliminasi salisilat melalui jalur kinetik linier yang paralel dengan kinetik nonlinier.
2. Hasil metabolisme yang terekskresi dalam urin dapat diperhitungkan kembali sebagai senyawa asal (substrat).
3. Laju pembentukan metabolit merupakan laju penentu dalam rangkaian proses eliminasinya ("rate determining step").
4. Analisa kinetika nonlinier "dose-dependent" dapat dilakukan dalam dosis pemakaian lazim.

Berikut akan dibahas ADME dari salisilat.

### **2.1. Absorpsi dan Distribusi**

Senyawa golongan salisilat, apabila diberikan secara oral, cepat diabsorpsi, sebagian di lambung dan sebagian besar di usus kecil bagian atas, dengan cara difusi pasif molekul tak terionisasi (Needs, 1985).

Menurut Rowland (1972), kinetika absorpsinya pada manusia berlangsung secara order pertama dan waktu paruh absorpsinya berkisar antara 4,5 sampai 16 menit. Kadar dalam plasma naik dengan cepat dan mencapai puncak setelah kira-kira 25 menit sampai 2 jam. Perbedaan laju absorpsi antara Natrium Salisilat, Aspirin dan bermacam-macam sediaan salisilat yang dibufer kecil sekali (Needs, 1985).

Tetapan laju absorpsi pada subyek yang tidak berpuasa lebih besar daripada yang berpuasa (Kojima, 1974) dan penentuannya dapat juga dilakukan dengan data urin (Levy, 1975).

Setelah absorpsi, salisilat dengan cepat didistribusi ke seluruh tubuh. Harga volume distribusinya 150 ml/kg berat badan (pada orang dewasa 9,6 sampai 12,7 liter, dan pada anak-anak 0,12 sampai 0,14 liter/kg berat badan). Ini berarti bahwa distribusi salisilat menyebar ke seluruh tubuh dan berada di ekstraseluler (Needs, 1985).

Kadar terapeutik berada dalam rentang 2 sampai 10 mg per 100 ml plasma, kadar toksik antara 15 sampai 30 mg per 100 ml dan kadar letal 50 mg/100 mg plasma (Wagner, 1979).

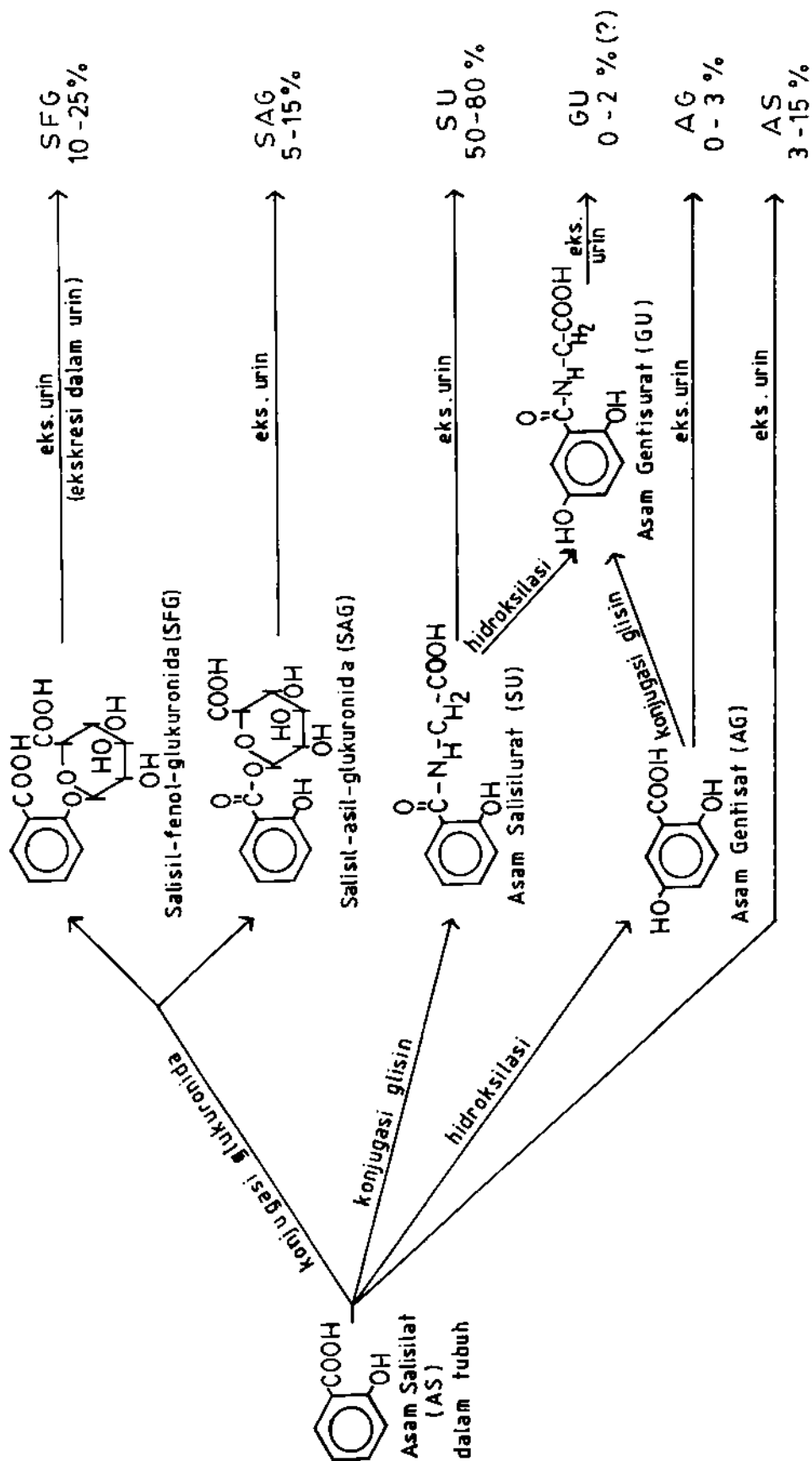
Fraksi obat yang terikat dengan protein, dalam kadar terapi berkisar antara 50 - 90%, sedang pada kadar yang lebih tinggi, fraksi bebasnya dapat lebih meningkat. Demikian pula bila kadar protein rendah, maka kadar obat bebas akan tinggi (Knobe, 1980; Goodman; 1982).

## 2.2. Metabolisme dan Ekskresi

Metabolisme salisilat dapat terjadi dalam berbagai jaringan, tetapi terutama terjadi pada sistem mikrosomal dan mitokondria dalam hati. Metabolit yang paling banyak terbentuk adalah asam salisilat, kemudian dalam jumlah lebih kecil, salisil-fenol-glukuronida dan salisil-asil-glukuronida. Metabolit lain yang terbentuk dalam jumlah sangat kecil adalah asam gentisat dan asam gentisurat. Bagan metabolisme dan ekskresi AS dapat dilihat pada gambar 19.

Di dalam darah, metabolit-metabolit ini dijumpai dalam jumlah yang sangat kecil, yaitu umumnya sekitar 1% dari salisilat total yang terdapat dalam plasma, hal ini disebabkan karena metabolit yang terbentuk cepat sekali terekskresi. (Schacter, 1958; Levy, 1965, 1972a, 1979).

Ekskresi salisilat dan metabolit-metabolitnya terutama terjadi di ginjal, dan dapat disebutkan bahwa semua obat yang diberikan secara oral terekskresi melalui ginjal, apabila semuanya terabsorpsi. (Schachter, 1958; Levy, 1965b; Levy, 1979).



Gambar 19 : Bagan Metabolisme dan Ekskresi Asam Salisilat (Schachter, 1958; Davison; 1971; Levy, 1972a; Wilson, 1978; Needs, 1985)

Pada dosis yang rendah (kurang dari 300 mg sekali minum) 95% terekskresi di urin dalam bentuk metabolit asam salisilat dan salisil-fenol-glukuronida, sedang pada dosis lazim (300 - 1000 mg sekali minum), yang terekskresi sebagai asam salisilat adalah sebesar 60-75% salisil-fenol-glukuronida 20-23% salisil-asil-glukuronida 2-5% asam salisilat bebas kurang dari 10% dan metabolit-metabolit lainnya kurang dari 1% (Levy, 1965b, 1979; Davison, 1971). Pada dosis yang tinggi, misalnya 3,0 gram sekali minum, didapatkan kira-kira 50% terekskresi sebagai asam salisilat, 18-23% salisil-fenol-glukuronida, ± 14% asam salisilat bebas, ± 11% salisil-asilglukuronida dan kurang dari 3% asam gentisat (Levy, 1972a).

Waktu paruh biologik salisilat sangat bervariasi, dari 2 sampai 19 jam, bergantung pada dosis. (Levy, 1965b, 1978a, 1978b, 1979; Davison, 1971; Avery, 1980; Needs, 1985).

Pada dosis yang rendah, kurang dari 3 gram sehari, waktu paruhnya 2 sampai 4,5 jam, sedang pada dosis yang tinggi, dapat sampai 19 jam. (Turner, 1979; Bowman, 1980; Reynolds, 1982).

Hal-hal tersebut di atas terjadi karena adanya penjumlahan pada sistem enzim yang terlibat dalam pembentukan metabolit asam salisilat dan salisil-fenol-glukuronida (Levy, 1965a, 1965b, 1969a, 1972a; Tsuchiya, 1972a; Bochner, 1981). Kinetika eliminasi metabolit-metabolit lain mengikuti order pertama, demikian juga ekskresi asam salisilat dalam urin berlangsung secara order pertama. Jadi salisilat dieliminasi secara linier yang paralel dengan nonlinier (Levy, 1972a, 1979; Bochner, 1981; Needs, 1985). Kinetika nonlinier yang paralel dengan linier pada salisilat menyebabkan pemberian salisilat untuk berbagai pengobatan dilakukan dengan cermat dan secara individual (Levy, 1978a, 1978b).

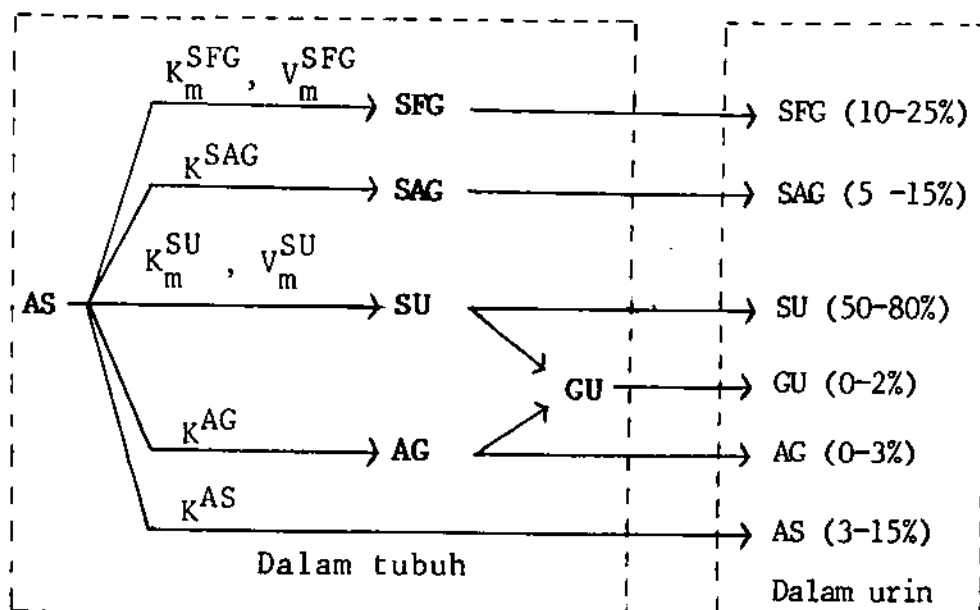
### **2.3. Penggunaan Data Urin untuk Analisis Farmakokinetik Nonlinier Asam Salisilat**

Data urin dapat dipergunakan untuk menganalisis farmakokinetik nonlinier suatu obat, apabila laju pembentukan metabolit merupakan tahap penentu laju atau "rate determining step" dalam rangkaian proses eliminasi obat tersebut. Dengan demikian laju ekskresi metabolit dalam urin ( $\Delta M_u / \Delta t$ ) dapat menggambarkan laju pembentukan metabolitnya ( $\Delta M / \Delta t$ ) dan jumlah obat dalam tubuh ( $S$ ) dapat diperhitungkan dari jumlah obat total yang terekskresi dalam urin sampai waktu tak terhingga ( $X_{u\infty}$ ) dikurangi dengan jumlah obat total yang terekskre-

si dalam urin pada suatu periode waktu tertentu ( $X_{u_{kum}}$ ). (Levy, 1972).

Salisilat mempunyai laju pembentukan metabolit yang lambat, sedang ekskresi metabolit di ginjal berlangsung cepat. Karena itu, di dalam plasma kadar metabolit rendah sekali, yaitu < 1% kadar salisilat (Schachter, 1958). Dengan demikian data urin dapat dipergunakan untuk menganalisis farmakokinetik nonlinier Asam Salisilat.

Sehubungan dengan jalur metabolisme dan ekskresi salisilat sebagaimana dapat dilihat pada gambar 19, maka secara kinetik, eliminasi salisilat, pembentukan metabolitnya di dalam tubuh manusia dan ekskresinya dalam urin dapat digambarkan sebagai berikut (Levy, 1972; Wilson, 1978; Needs, 1985) :



Adapun AS, SFG, SAG, SU, GU dan AG adalah sebagaimana telah dikemukakan dalam gambar 19, sedang  $K_m^{SFG}$ ,  $V_m^{SFG}$ ,  $K_m^{SU}$  dan  $V_m^{SU}$  adalah tetapan-tetapan kinetika Michaelis-Menten dari SFG dan SU, dan  $K^{SAG}$ ,  $K^{AG}$  serta  $K^{AS}$  masing-masing adalah tetapan laju eliminasi order pertama dari SAG, AG dan AS.

Dari jalur kinetika eliminasi salisilat dapat dilihat bahwa salisilat dieliminasi baik melalui kinetika linier maupun kinetika nonlinier. Proses yang berlangsung dengan kinetika nonlinier adalah pembentukan metabolit utama SU dan metabolit SFG, sedang kinetik eliminasi SAG, GU, AG dan AS adalah linier. Mengingat bahwa :

1. Hasil Ekskresi dalam urin dapat diperhitungkan kembali sebagai senyawa asal.
2. Dalam pembahasan kinetik, kadar kecil dapat diabaikan.
3. Sebagian besar AS dalam tubuh dieliminasi sebagai SU, dan oleh karena itu laju perubahan AS dalam tubuh terutama dipengaruhi oleh laju pembentukan SU.

Maka dalam percobaan ini tetapan kinetik nonlinier yang bermakna untuk diselidiki adalah  $K_m$  dan  $V_m$  dari metabolit SU yang terbentuk dengan proses



kapasitas terbatas. Harga  $K_m$  dan  $V_m$  dihitung dengan mempergunakan bentuk linier dari pers. Michaelis-Menten, yaitu pers. Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee, sebagaimana telah dibahas di depan.

Analisis kinetika eliminasi obat untuk menyatakan bahwa eliminasinya tidak mengikuti kinetika linier, dapat dilakukan dengan mempelajari kurva jumlah obat yang belum terekskresi ("amount unexcreted") pada beberapa macam dosis. Pada dosis yang rendah, diharapkan masih tampak sifat linieritasnya, sedang pada dosis yang lebih tinggi, akan terlihat penyimpangan dari keadaan linier. Di samping itu, dapat pula dilakukan perbandingan parameter farmakokinetik linier  $K$  dan  $t_{1/2}$  dengan beberapa macam dosis. Apabila kinetiknya linier, maka harga  $K$  dan  $t_{1/2}$  pada berbagai dosis besarnya tetap. (Wagner, 1973, 1979; Gibaldi, 1982).

Dari data urin, harga  $K$  dapat diperoleh dengan cara sigma minus melalui pers. (Gibaldi, 1982).

$$X_{u\infty} - X_u = \frac{X_u}{k_a - K} (K_a \cdot e^{-Kt} - K \cdot e^{-k_a \cdot t}) \quad (173)$$

Adapun  $X_{u\infty}$  adalah jumlah salisilat total yang diekskresi dalam urin,  $X_u$  jumlah salisilat yang di-

eksresi hingga waktu  $t$ ,  $X_{u\infty} - X_u$  jumlah obat yang belum terekskresi atau jumlah obat dalam tubuh,  $K$  adalah tetapan laju eliminasi, dan  $k_a$  adalah tetapan laju absorpsi. Untuk pemberian salisilat dalam bentuk larutan natrium salisilat, maka  $k_a \gg K$  sehingga  $K \cdot e^{-k_a \cdot t} \ll k_a \cdot e^{-Kt}$  dan pers. 173 dapat di-

$$\text{ubah menjadi : } X_{u\infty} - X_u = \frac{X_{u\infty} \cdot k_a}{k_a - K} \cdot e^{-Kt} \quad (174)$$

$$\text{atau } \ln (X_{u\infty} - X_u) = \ln \frac{X_{u\infty} \cdot k_a}{k_a - K} - Kt \quad (175) \text{ atau}$$

$$\log (X_{u\infty} - X_u) = \log \frac{X_{u\infty} \cdot k_a}{k_a - K} - \frac{K \cdot t}{2,303} \quad (176)$$

Kurva jumlah obat dalam tubuh,  $\log (X_{u\infty} - X_u)$  terhadap  $t$ , memberikan  $\text{tg} \alpha = -K/2,303$  dan  $t_b = 0,693/K$ . Wagner (1975) menyebutkan, untuk mengetahui adanya nonlinieritas, harus digunakan lebih dari dua macam dosis yang besarnya minimal adalah harga  $K_m$ .

#### **2.4. Penetapan Kadar Asam Salisilat (AS) dan Metabolit Asam Salisilurat (SU) dalam Urin**

Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menetapkan kadar AS dan SU dalam cairan biologis, antara lain dengan mempergunakan kromatografi gas-cair atau GLC (Rowland, 1967) dan kromatografi cair bertekanan tinggi atau HPLC (Blair, 1978; Peng, 1978; Rumble, 1981; Reidl, 1983). Day (1981) mengemukakan adanya kesalahan yang dapat terjadi pada penetapan kadar SU dengan HPLC karena terbentuknya senyawa ester metil dari SU. Di samping itu, pene-

tapan kadar AS dan SU dapat pula dilakukan dengan cara spektrofotometri (Seligson, 1961; Levy, 1968; Chiou, 1974). Dalam percobaan ini dipergunakan cara Levy (1968) dan Chiou (1974).

Dari ekskresi urin sebagaimana dapat dilihat pada gambar 19, akan ditetapkan jumlah AS bebas, SU dan AS total ( $AS_T$ ) dengan metode Levy (1968) dan Chiou (1974) dengan cara Spektrofotometri. Senyawa-senyawa yang akan ditetapkan kadarnya diekstraksi dari urin dengan menggunakan pelarut organik  $CCl_4$  dan  $C_2H_4Cl_2$  dalam suasana asam. Dalam pelarut  $CCl_4$  akan terekstraksi hanya bentuk AS bebas sedang metabolit lainnya tidak ikut terekstraksi. Dalam pelarut  $C_2H_4Cl_2$  terekstraksi baik AS bebas maupun SU, sedang metabolit lain tidak ikut terekstraksi (Levy, 1968). Zat yang terlarut dalam pelarut organik tersebut kemudian diekstraksi kembali dengan larutan pereaksi warna  $Fe(NO_3)_3$  dalam suasana  $HNO_3$ . Karena baik AS maupun SU mempunyai gugus fenol, maka akan dapat bereaksi dengan ion  $Fe^{+3}$  dan terbentuk senyawa kompleks yang berwarna violet (Neislich, 1983). Warna yang terbentuk ini kemudian diukur absorpsinya dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Dengan diketahuinya kadar AS bebas dalam urin, dapat dihitung kadar SU dalam Urin.

Untuk menetapkan kadar  $AS_T$  dalam urin, dila-

kukan hidrolisa metabolit koningetnya terlebih dahulu dengan cara pemanasan 100°C selama 17 jam dalam suasana asam, dan setelah itu, dilakukan ekstraksi dengan pelarut  $C_2H_4Cl_2$ .  $AS_T$  dalam pelarut  $C_2H_4Cl_2$  kemudian diekstraksi kembali dengan larutan pereaksi warna  $Fe(NO_3)_3$  dalam suasana  $HNO_3$ . Warna violet yang timbul diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm.

Pada analisis ini dilakukan pembuatan kurva baku dan "recovery" untuk AS dan SU dengan pelarut  $CCl_4$  dan  $C_2H_4Cl_2$ , sesuai dengan prosedur analisis sampel urin. Atas dasar kurva baku "recovery", dihitung kadar AS, SU dan  $AS_T$  dalam sampel urin. Perhitungan jumlah SU dan  $AS_T$  dalam sampel urin dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Jumlah SU ( $X_u^{SU}$ ) = kadar SU x Volume urin.

Jumlah  $AS_T$  ( $X_u^{AST}$ ) = kadar  $AS_T$  x Volume urin.

$v^{SU}$  diperlukan untuk menghitung laju ekskresi SU ( $\Delta X^{SU}/\Delta t$ ) sedang  $v^{AST}$  untuk menghitung jumlah  $AS_T$  yang belum terekskresi ( $X_{u\infty}^{AST} - X_u^{AST}$ ).

### 3. Masalah, Tujuan Penelitian dan Jangkauan Penelitian

#### 3.1. Masalah

1. Bagaimana dapat diketahui bahwa suatu obat mengikuti kinetika nonlinier dan bukan kinetika linier ?

2. Dari beberapa metode analisis kinetika nonlinier, metode mana lebih teliti untuk menghitung  $V_m$  dan  $K_m$  ?
3. Bagaimana data dari sampel urin dapat dipergunakan untuk melakukan analisis kinetika nonlinier ?

### 3.2. Tujuan Penelitian

1. Melakukan analisis perbandingan farmakokinetika linier dan farmakokinetika nonlinier.
2. Membandingkan beberapa metode perhitungan parameter farmakokinetika nonlinier  $K_m$  dan  $V_m$ .
3. Menggunakan data urin dari eliminasi salisilat dan metabolit utamanya untuk analisis kinetika linier dan nonlinier.

### 3.3. Jangkauan Penelitian

Dalam proses ADME obat senantiasa terdapat proses yang melibatkan sistem enzim, atau sistem "carrier", atau sistem transport aktif atau ikatan obat protein yang mengikuti kinetika nonlinier dan bukan kinetika linier yang sederhana. Oleh karena itu, penggunaan analisis kinetika nonlinier pada penelitian kinetika ADME obat akan merupakan suatu hal yang diperlukan, agar diperoleh data yang lebih mendekati keadaan sebenarnya.

#### 4. Dasar-dasar Pemikiran yang digunakan pada penelitian ini

Mengingat masalah dan tujuan penelitian di atas, maka dasar pemikiran pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Digunakan rancangan "cross over" dimana setiap subyek menerima tiga macam dosis tunggal, dengan pemberian secara meningkat (Westlake, 1973).
2. Dosis salisilat yang diberikan berada dalam rentang dosis terapi, Untuk orang dewasa 300 - 1000 mg, anak 3 tahun ke atas 225 - 300 mg sekali pakai dan sehari tidak lebih dari 4 kali. (Turner, 1979; Reynolds 1982)
3. Ketergantungan dosis dari kinetika eliminasi salisilat dibuktikan dengan tiga macam dosis tunggal yang diperhitungkan atas dasar  $0,1 K_m \leq \text{dosis} \leq 10K_m$  (Dixon, 1982) dengan harga  $K_m = 338 \text{ mg}$  (Levy, 1972a).
4. Jarak pemberian antar dosis ("wash out period") lebih dari sepuluh kali waktu paruh biologik yaitu dalam rentang 2 - 4,5 jam apabila dosis  $\leq 3,0 \text{ gram}$  (Avery, 1980; Gibaldi, 1982)
5. Analisis kinetika dari data urin pada pemberian salisilat dilakukan atas dasar penentuan salisilat-total dan metabolit utama asam salisilat yang terekskresi (Schachter, 1958; Levy, 1968, 1972a)

6. Metode analisis farmakokinetika untuk mempelajari perbedaan perwatakan kinetika linier dan nonlinier dilakukan dengan menggunakan tiga metode (Levy 1965a, 1965b, 1968, 1972a, 1972b; La Du, 1972; Lehninger, 1976; Wagner, 1972, 1979; Gibaldi, 1982) :
- (a) cara grafik dengan metode "sigma minus" untuk penentuan harga  $K$  dan  $t_{1/2}$
  - (b) kurva laju pembentukan metabolit ( $v$ ) terhadap substrat ( $S$ ) berdasarkan persamaan Michaelis-Menten.
  - (c) bentuk linier persamaan Michaelis-Menten yaitu persamaan Lineweaver-Burk, Hanes-woolf, dan Augustinsson-Hofstee untuk penentuan harga  $K_m$  dan  $V_m$
7. Dilakukan ANAVA terhadap parameter farmakokinetika linier dan nonlinier dengan variabel :
- dosis
  - subyek
  - metode analisis kinetika
- (Snedecor, 1974; Steel, 1981; Hadi, 1982).

### BAB III

#### ALAT, BAHAN DAN METODE

##### A. A L A T

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini :

1. Spectrophotometer HITACHI Model 100-60, Digital, 5985-05
2. Oven MEMMERT Type U-30, No.843494
3. Vortex GENIE Model K-550-GE, No.11456
4. Electric Centrifuge Model YJ03-43-4000
5. Analytical Balance SARTORIUS Type 2842, No.3404163
6. pH meter SCHOTT GERATE CG 832, No.301011.
7. Stopwatch HERWINS Type NR47727

##### B. B A H A N

1. Natrium Salisilat (MERCK, Art.6601, 2521097)  
memenuhi syarat Farmakope Indonesia III (1979)
2. Asam Salisilat (MERCK, Art.631, 2335681)  
Titik lebur  $158^{\circ} - 159^{\circ}\text{C}$ .
3. Asam Salisilurat (SIGMA, H.7254, 84F-3703)  
Titik lebur  $165^{\circ} - 166^{\circ}\text{C}$ .
4. 1,2-Di kloretan (MERCK, Art.955, K4645955)
5. Karbontetra klorida (MERCK, Art.2222, K870722)
6. Asam Klorida (MERCK, K1316117)
7. Feri Nitrat (MERCK, Art.3883, CC422283)



## C. M E T O D E

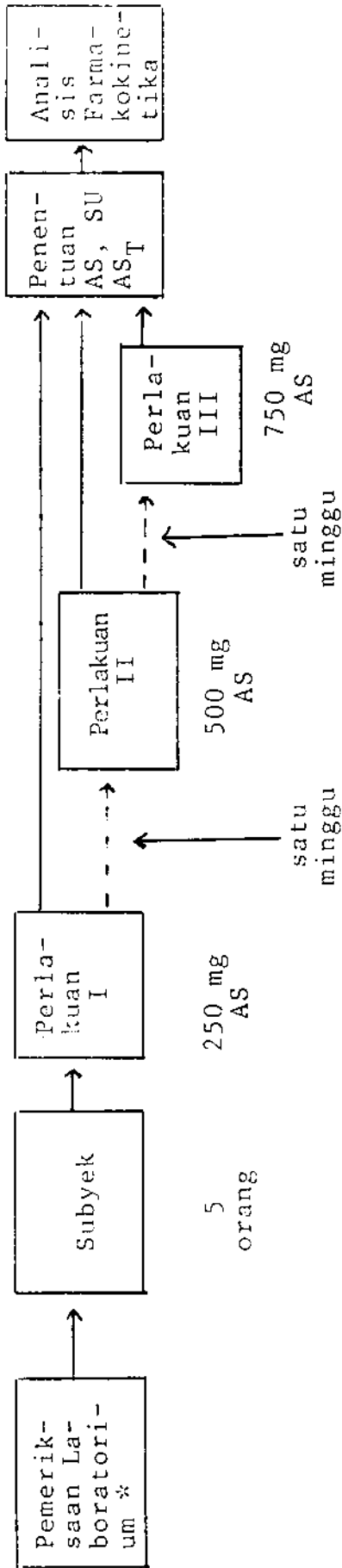
### 1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah subyek normal, pria, usia 22 - 25 tahun, berat badan 53 - 65 kg. Dari riwayat penyakitnya, tidak ada kelainan fungsi ginjal dan hati. Tes laboratorik dilakukan untuk Kreatinin serum, BUN, SGOT, SGPT, Bilirubin langsung dan tak langsung. (Ritschell, 1980).

### 2. Rancangan Percobaan

Masing-masing subyek mendapat tiga perlakuan dengan pemberian dosis tunggal Natrium Salisilat yang setara dengan Asam Salisilat 250 mg, 500 mg, dan 750 mg. Jarak waktu pemberian antar dosis adalah satu minggu, yaitu merupakan "wash out period" yang lebih dari sepuluh kali waktu paruh biologiknya. (Gibaldi, 1982).

A. Rancangan Percobaan.



Keterangan : \* Meliputi : Kreatinin serum, BUN, SCOT, SCPT, Bilirubin langsung dan tak langsung.

## B. Rancangan Analisis Data

### 1. Variabel Metode Analisis Kinetika

1.1. Analisis Kinetika Linier : Metode Sigma Minus dengan parameter  $K$  dan  $t_{\frac{1}{2}}$ .

1.2. Analisis Kinetika Nonlinier : Metode LB, HW, AH dengan parameter  $K_m$  dan  $V_m$

### 2. Variabel Dosis

Dosis 250 mg, 500 mg dan 750 mg AS

### 3. Variabel Subyek

Jumlah subyek normal : 5 orang yaitu FR, TD, RD, IW dan KD.

### 4. Analisis Statistik : ANAVA

DOSIS	SUBYEK	KINETIKA NONLINIER			KINETIKA LINIER
		LB	HW	AH	
250	FR TD RD IW KD				
500	FR TD RD IW KD				
750	FR TD RD IW KD				

### 3. Protokol

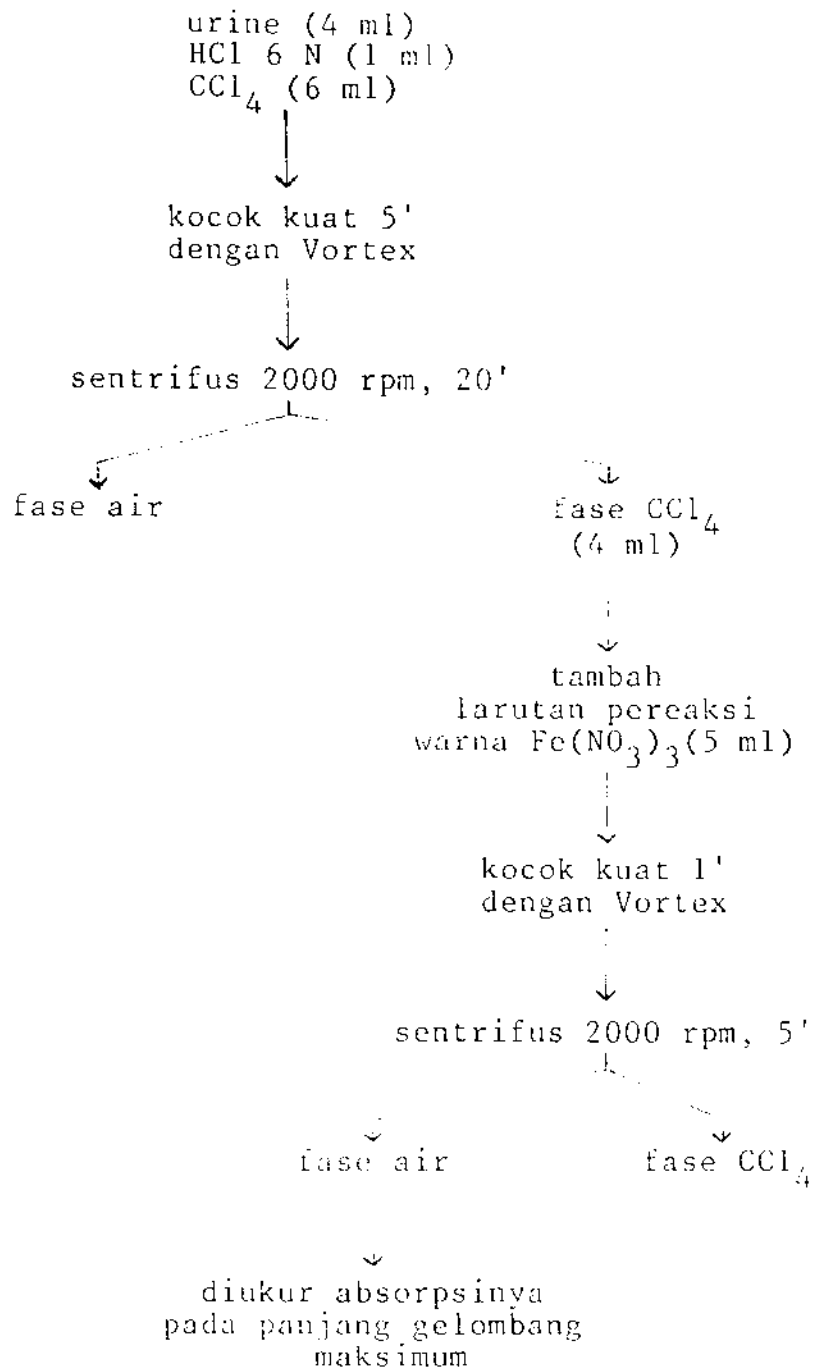
Selama satu minggu sebelum percobaan dilakukan, subyek tidak diperbolehkan minum obat apapun. Semalam sebelum percobaan, subyek berpuasa mulai pukul 22.00 wib. Pagi harinya, satu jam sebelum percobaan, subyek diberi minum 400 ml air. Sesaat sebelum pemberian obat, kandung seni "dikosongkan" dan sebagian dari urin ditampung untuk dipergunakan sebagai blanko dalam percobaan. Dalam keadaan lambung kosong, subyek diberi Natrium Salisilat dalam 200 ml air. Pemberian minum sebanyak 200 ml air dilakukan setiap jam sampai empat jam setelah pemberian obat. Dua jam sesudah pemberian obat, subyek mendapatkan sarapan ringan dan sesudah empat jam, makan siang. Penampungan urin dilakukan selama 72 jam, yaitu lebih dari 7-10 kali waktu paruh biologik 2-4,5 jam. Setiap penampungan sampel urin, dicatat volume dan pH nya. Selanjutnya dilakukan analisis kadar asam Salisilat, Asam Salisilat dan Asam Salisilat-total, atau disimpan dalam lemari es selama-lamanya 48 jam, sampai dilakukan analisis lebih lanjut. (Ritschel, 1974, 1980).

#### 4. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat (AS), Asam Salisilat (SU) dan Asam Salisilat-total (AS<sub>T</sub>) dalam Urin

##### 4.1. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat dalam Urin

Sampel urin (4 ml), HCL 6 N (1 ml) dan CCl<sub>4</sub> (6 ml) dimasukkan dalam tabung reaksi dan dikocok dengan "Vortex mixer" selama 5 menit. Kemudian disentrifus pada kecepatan 2000 rpm, selama 20 menit. Pada fase CCl<sub>4</sub> (4 ml) ditambahkan pereaksi warna Ferinitrat 0,05% (5 ml), dan kocok dengan Vortex selama 1 menit. Setelah disentrifus selama 5 menit untuk memisahkan fase CCl<sub>4</sub> dan fase air, kemudian fase air diukur harga absorpsinya pada panjang gelombang maksimum. Dari pembacaan nilai absorpsi dapat dihitung kadar asam salisilat dalam urin dengan persamaan regresi kurva baku "recovery" asam salisilat. Adapun prosedur tersebut dapat dilihat pada bagan berikut ini :

## BAGAN PENETAPAN KADAR ASAM SALISILAT DALAM URIN



#### 4.2. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat dalam Urin

Sampai urin (4 ml), HCl 6 N (1 ml) dan  $C_2H_4Cl_2$  (6 ml) dimasukkan dalam tabung reaksi dan dikocok dengan Vortex selama 5 menit. Kemudian disentrifus pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Pada fase  $C_2H_4Cl_2$  (4 ml) ditambahkan pereaksi warna Ferinitrat 0,05% (5 ml), dan kocok dengan Vortex selama 1 menit. Setelah disentrifus selama 5 menit untuk memisahkan fase  $C_2H_4Cl_2$  dan fase air, kemudian fase air diukur harga absorpsinya pada panjang gelombang maksimum.

Dari pembacaan nilai absorpsi dapat dihitung kadar asam salisilat dalam urin dengan persamaan regresi kurva baku "recovery" asam salisilat. Bagan penetapan kadar ini sama dengan bagan penetapan kadar asam salisilat, dimana  $CCl_4$  diganti dengan  $C_2H_4Cl_2$ .

#### 4.3. Metode Penetapan Kadar Asam Salisilat-Total dalam Urin

Sampel urin (2 ml) dan HCl pekat (2 ml) dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup rapat. Campuran ini dimasukkan dalam oven dan dipanaskan selama 17 jam pada temperatur  $100^\circ C$ . Setelah dingin, pada campuran ini (2 ml) ditambahkan aqua

dest (3 ml) dan  $C_2H_4Cl_2$  (6 ml), kocok dengan Vortex selama 5 menit. Kemudian disentrifus pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Pada fase  $C_2H_4Cl_2$  (4 ml) ditambahkan pereaksi warna Ferinitrat 0,05% (5 ml), dan kocok dengan Vortex selama 1 menit. Setelah disentrifus selama 5 menit, kemudian fase air diukur harga absorpsinya pada panjang gelombang maksimum. Dari pembacaan nilai absorpsi dapat dihitung kadar asam salisilat total dalam urin dengan persamaan regresi kurva baku "recovery" asam salisilat-total. Bagan penetapan kadar ini pada prinsipnya sama dengan bagan penetapan kadar asam salisilat, hanya sebelumnya dilakukan pemanasan.

## 5. Tahapan Analisis Sampel Urin

### 5.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum larutan asam salisilat (AS) dan asam salisilat (SU) dengan pereaksi warna Ferinitrat, maka dibuat larutan AS kadar 25  $\mu\text{g/ml}$  dan 50  $\mu\text{g/ml}$ , dan larutan SU kadar 50  $\mu\text{g/ml}$  dan 100  $\mu\text{g/ml}$  dengan pereaksi warna Ferinitrat. Selanjutnya dibuat kurva absorpsinya dalam rentang panjang gelombang 550 nm sampai dengan 510 nm.



Pembuatan larutan pereaksi warna Ferinitrat adalah sebagai berikut :

- a. Larutan pereaksi warna Ferinitrat 1% dalam 0,07 N asam nitrat dipergunakan sebagai induk, dan dapat disimpan dalam lemari es.
- b. Larutan pereaksi warna Ferinitrat 0,05% untuk penetapan kadar selalu dibuat baru dengan mencampur 5 ml larutan pereaksi warna induk dan 95 ml aqua dest.

#### 5.2. Pembuatan Kurva Abs Terhadap Kadar Asam Salisilat dan Asam Salisilat dengan Larutan Pereaksi Warna Ferinitrat

Untuk membuat kurva AS dengan pereaksi warna Ferinitrat, dibuat larutan AS kadar 10, 25, 50, 75 dan 100  $\mu\text{g/ml}$  dengan pereaksi warna Ferinitrat. Absorpsinya diukur pada panjang gelombang maksimum. Untuk kurva SU dengan pereaksi warna Ferinitrat, dibuat larutan SU kadar 25, 50, 75, 100 dan 125  $\mu\text{g/ml}$  dengan pereaksi warna Ferinitrat. Absorpsinya diukur pada panjang gelombang maksimum.

### 5.3. Pembuatan Kurva Baku dengan Ekstraksi

#### 5.3.1. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $\text{CCl}_4$

Kurva baku AS dengan ekstraksi  $\text{CCl}_4$  dibuat sesuai prosedur penetapan kadar AS butir 4.1., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja AS. Untuk itu buat larutan baku kerja AS kadar 50, 100, 150, 200 dan 250  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 5.3.2. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$

Kurva baku AS dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$  dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.1., dimana sampel urin diganti dengan larutan baku kerja AS. Untuk itu dibuat larutan baku kerja AS kadar 50, 75, 100, 125 dan 150  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 5.3.3. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$

Kurva baku SU dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$  dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.2., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja SU. Untuk itu dibuat larutan baku kerja SU kadar 200, 400, 600, 800 dan 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 5.3.4. Pembuatan Kurva Baku Asam Salisilat-Total, dengan ekstraksi $C_2H_4Cl_2$

Kurva baku  $AS_T$  dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$  dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.3., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja AS. Untuk itu dibuat larutan baku kerja AS kadar 200, 300, 400, 500 dan 600  $\mu g/ml$ .

#### 5.4. Pembuatan Kurva Baku "Recovery"

Kurva Baku "recovery" dibuat untuk setiap subyek.

##### 5.4.1. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $CCl_4$

Kurva baku "recovery" AS dengan ekstraksi  $CCl_4$ , dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.1., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja "recovery" AS. Untuk itu dibuat larutan baku kerja "recovery" AS kadar 50, 100, 150, 200 dan 250  $\mu g/ml$  dengan urin subyek.

##### 5.4.2. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat, dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$

Kurva baku "recovery" AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.2., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja "recovery" AS. Untuk itu dibuat la-

rutan baku kerja "recovery" AS kadar 50, 75, 100, 125 dan 150  $\mu\text{g/ml}$  dengan urin subyek.

#### **5.4.3. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$**

Kurva baku "recovery" SU dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ , dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.2., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja "recovery" SU. Untuk itu dibuat larutan baku kerja "recovery" SU kadar 200, 400, 600, 800 dan 1000  $\mu\text{g/ml}$  dengan urin subyek.

#### **5.4.4. Pembuatan Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat Total dengan ekstraksi $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$**

Kurva baku "recovery"  $\text{AS}_T$  dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ , dibuat sesuai prosedur penetapan kadar butir 4.3., dimana sampel urin diganti larutan baku kerja "recovery" AS. Untuk itu dibuat larutan baku kerja "recovery" AS kadar 200, 300, 400, 500 dan 600  $\mu\text{g/ml}$  dengan urin subyek.

## 6. Analisis Data

### 6.1. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat dalam Urin

Jumlah AS bebas dalam sampel urin diperoleh dari hasil perkalian volume urin dan kadar AS bebas dalam urin, sedangkan kadar AS bebas dalam urin didapat melalui pengukuran absorpsi dan persamaan regresi kurva baku "recovery" AS.

### 6.2. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat dalam Urin

Jumlah SU dalam sampel urin diperoleh dari hasil perkalian volume urin dan kadar SU dalam urin. Untuk itu dihitung lebih dahulu selisih nilai absorpsi campuran AS dan SU dalam  $C_2H_4Cl_2$  dan nilai absorpsi AS dalam  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperoleh nilai absorpsi SU. Selanjutnya kadar SU dapat dihitung dengan persamaan regresi kurva baku "recovery" SU.

### 6.3. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat Total dalam Urin

Jumlah AS dalam sampel urin diperoleh dari hasil perkalian volume urin dan kadar  $AS_T$  dalam urin, sedangkan kadar  $AS_T$  diperoleh melalui nilai absorpsi dan persamaan regresi kurva baku "recovery"  $AS_T$ .

#### 6.4. Perhitungan Jumlah Asam Salisilat yang Belum terekskresi

Jumlah Asam Salisilat yang belum terekskresi dari tubuh (S) pada setiap waktu tertentu dihitung dari selisih antara jumlah  $AS_T$  seluruhnya yang terekskresi dalam urin ( $X_{u\infty}^{AS}$ ) dan jumlah  $AS_T$  kumulatif yang terekskresi pada setiap periode waktu tertentu ( $X_{u_{kum}}^{AS}$ ), atau :

$$S = X_{u\infty}^{AS} - X_{u_{kum}}^{AS}$$

#### 6.5. Perhitungan Laju Pembentukan Asam Salisilurat

Laju pembentukan Asam Salisilurat pada setiap waktu T (v) dapat dihitung melalui persamaan :

$$v = \left(\frac{dX_u}{dt}\right)_T = \frac{\Delta X_u}{\Delta t}$$

$$\text{atau } v = \frac{X_{u2} - X_{u1}}{t_2 - t_1}$$

dimana : v = laju pembentukan Asam Salisilurat pada waktu T

$X_{u1}$  = jumlah Asam Salisilurat yang terekskresi dari  $t = 0$  hingga  $t = t_1$

$X_{u2}$  = jumlah Asam Salisilurat yang terekskresi dari  $t = 0$  hingga  $t = t_2$

### 6.6. Perhitungan Tetapan Michaelis-Menten

Tetapan Michaelis-Menten  $K_m$  dan  $V_m$  dihitung dengan persamaan Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee.

#### 6.6.1. Cara Lineweaver-Burk

Tetapan Michaelis-Menten dihitung dengan persamaan :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_m}$$

$$\text{tg } \alpha = K_m/V_m$$

$$\text{titik potong sumbu } y = 1/V_m$$

#### 6.6.2. Cara Hanes-Woolf

Tetapan Michaelis-Menten dihitung dengan persamaan :

$$\frac{S}{v} = \frac{1}{V_m} \cdot S + \frac{K_m}{V_m}$$

$$\text{tg } \alpha = 1/V_m$$

$$\text{titik potong pada sumbu } y = K_m/V_m$$

#### 6.6.3. Cara Augustinsson-Hofstee

Tetapan Michaelis-Menten dihitung dengan persamaan :

$$v = -K_m \cdot \frac{v}{S} + V_m$$

$$\text{tg } \alpha = -K_m$$

titik potong pada sumbu y =  $V_m$

### 6.7. Perhitungan Tetapan Laju Eliminasi (K) dan Waktu Paruh Biologik ( $t_{1/2}$ )

Tetapan laju eliminasi (K) dan waktu paruh biologik ( $t_{1/2}$ ) dihitung dengan persamaan :

$$\ln \left( \frac{AS_T}{X_{u\infty}} - \frac{AS_T}{X_{u_{kum}}} \right) = \ln \frac{AS_T \cdot k_e}{k_e \cdot K} - Kt$$

$$\text{tg } \alpha = -K$$

$$\text{dan } t_{1/2} = 0,693/K$$

### 6.8. Analisis Statistik

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari antara  $K_m$ ,  $V_m$ , K dan  $t_{1/2}$  di antara ketiga macam dosis, di antara ketiga macam metoda perhitungan tetapan Michaelis-Menten dan di antara kelima subyek, dipergunakan ANAVA dengan derajat kemaknaan 5% ( $P < 0,05$ ). (Snedecor, 1974; Steel, 1981; Hadi, 1982).



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### 1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Kurva absorpsi terhadap panjang gelombang larutan AS dan SU, dengan pereaksi warna Ferinitrat dapat dilihat pada gambar 20 dan 21. Panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 530 nm.

#### 2. Pembuatan Kurva Baku

##### 2.1. Pembuatan Kurva Baku Zat dengan Pereaksi Warna Ferinitrat

- a. Kurva absorpsi terhadap kadar dari larutan AS dengan pereaksi warna Ferinitrat dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.
- b. Kurva absorpsi terhadap kadar dari larutan SU dengan pereaksi warna Ferinitrat dapat dilihat pada gambar 23. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.

## **2.2. Pembuatan Kurva Baku dengan Ekstraksi**

### **2.2.1. Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$**

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , yang diperlakukan sesuai prosedur 5.3.2., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.

### **2.2.2. Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $CCl_4$**

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $CCl_4$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.3.1., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.

### **2.2.3. Kurva Baku Asam Salisilat Total dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$**

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.3.4., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.

#### 2.2.4. Kurva Baku Asam Salisilat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$

Kurva absorpsi terhadap kadar dari SU dengan  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.3.3., dapat dilihat pada gambar 23. Hasil perhitungan koefisien korelasi dan persamaan regresinya dapat dilihat pada tabel I.

### 2.3. Pembuatan Kurva Baku "Recovery"

#### 2.3.1. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.4.2., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien, prosentase "recovery" dan persamaan regresi dari setiap subyek dapat dilihat pada tabel II.

#### 2.3.2. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan Ekstraksi $CCl_4$

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $CCl_4$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.4.1., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi, prosentase "recovery" dan persamaan regresi dari setiap

subyek dapat dilihat pada tabel II.

### **2.3.3. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat Total dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$**

Kurva absorpsi terhadap kadar dari AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.4.4., dapat dilihat pada gambar 22. Hasil perhitungan koefisien korelasi, prosentase "recovery" dan persamaan regresi dari setiap subyek dapat dilihat pada tabel II.

### **2.3.4. Kurva Baku "Recovery" Asam Salisilat dengan Ekstraksi $C_2H_4Cl_2$**

Kurva absorpsi terhadap kadar dari SU dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$ , dan diperlakukan sesuai prosedur 5.4.3., dapat dilihat pada gambar 23. Hasil perhitungan koefisien korelasi, prosentase "recovery" dan persamaan regresi dari setiap subyek dapat dilihat pada tabel II.

3. Hasil Perhitungan Jumlah Asam Salisilat ( $X_u^{AS}$ ), Asam Salisilurat ( $X_u^{SU}$ ), Asam Salisilat Total ( $X_u^{AST}$ ), Asam Salisilat yang Belum Terekskresi (S) dan Laju Pembentukan Asam Salisilurat (V)

Hasil perhitungan jumlah AS yang terekskresi dalam urin ( $X_u^{AS}$ ), jumlah SU yang terekskresi dalam urin ( $X_u^{SU}$ ), jumlah  $AS_T$  yang terekskresi dalam urin ( $X_u^{AST}$ ), jumlah Asam Salisilat yang belum terekskresi (S) dan laju pembentukan Asam Salisilurat (v) dapat dilihat pada tabel III - XVII.

4. Hasil Perhitungan Tetapan Laju Eliminasi (K) dan Waktu Paruh Biologik ( $t_{1/2}$ ) Secara Kinetika Linier

Kurva jumlah AS yang belum terekskresi terhadap waktu dari masing-masing subyek dapat dilihat pada gambar 24a - 28a. Hasil perhitungan tetapan laju eliminasi (K) dan waktu paruh biologik ( $t_{1/2}$ ) dari masing-masing subyek dapat dilihat pada tabel XVIII - XXII.

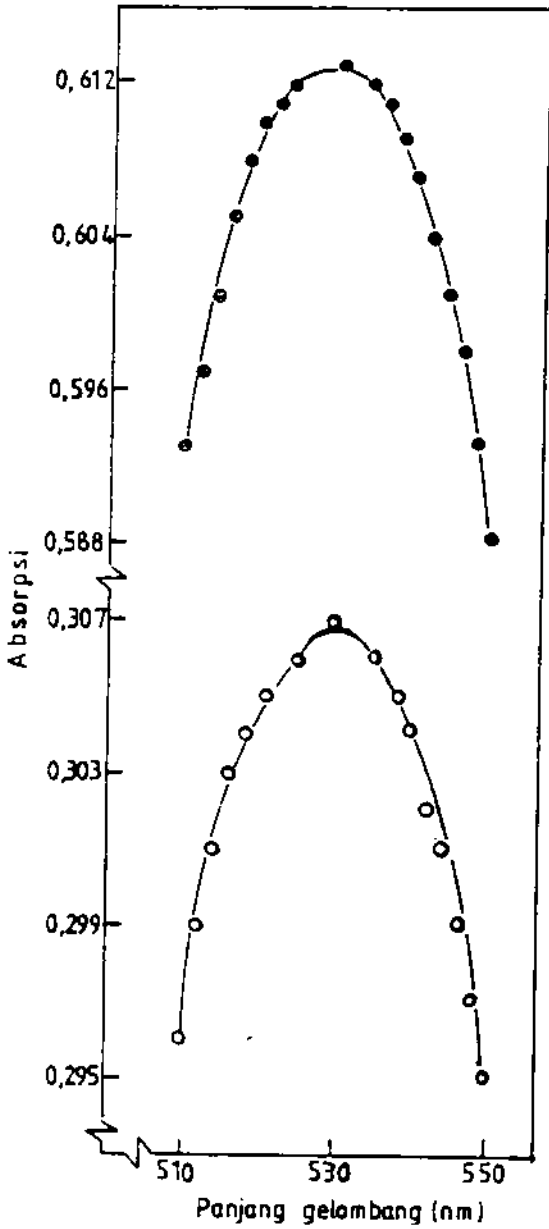
5. Hasil Perhitungan Tetapan Michaelis-Menten Secara Kinetika Nonlinier

Hasil perhitungan tetapan Michaelis-Menten  $K_m$  dan  $V_m^*$  dengan cara Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augus-

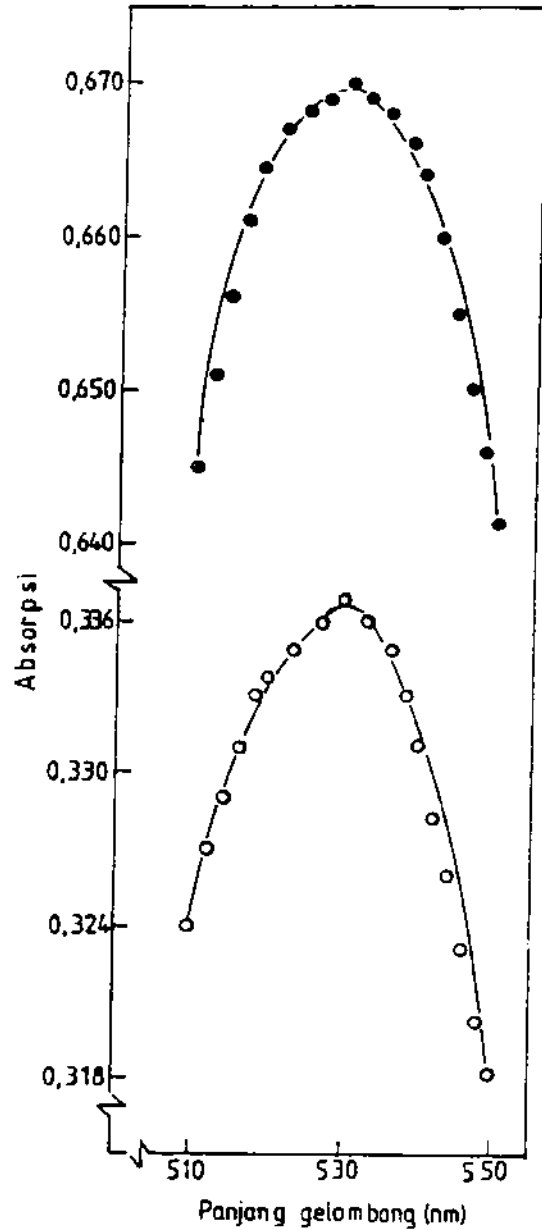
Lincoln-Hofstee dari masing-masing subyek dapat dilihat pada tabel XVIII - tabel XXII. Kurva Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf dan Augustinsson-Hofstee dari masing-masing subyek dapat dilihat pada gambar 24<sub>b,c,d</sub> - 28<sub>b,c,d</sub>.

## 6. Analisis Statistik

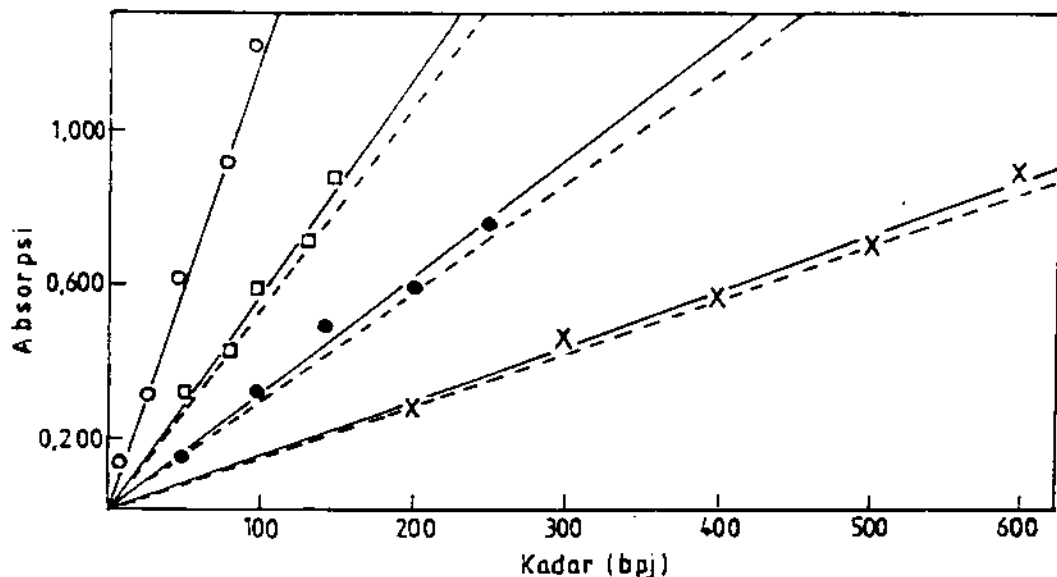
Analisis statistik yang dipergunakan untuk menguji kemaknaan perbedaan adalah ANAVA dengan variabel metoda analisis kinetika nonlinier, dosis dan subyek. Untuk itu, disusun daftar harga  $K_m$ ,  $V_m$ ,  $K$  dan  $t_{1/2}$  yang dapat dilihat pada tabel XXIII - tabel XXVI. Tabel hasil perhitungan ANAVA dapat dilihat pada tabel XXVII - XXX.



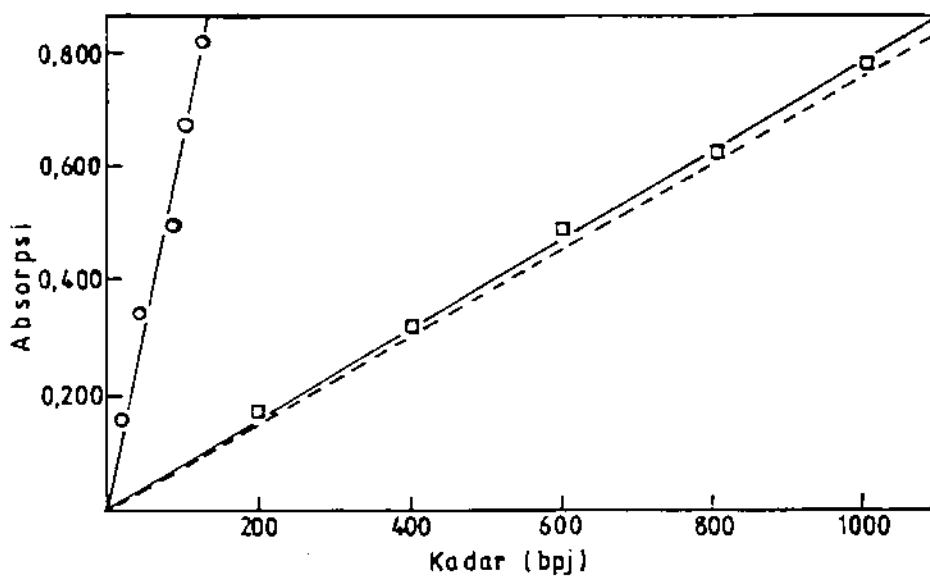
Gambar 20: Kurva absorpsi terhadap panjang gelombang dari larutan AS kadar 25 bpj (●) dan 50 bpj (○), dengan pereaksi warna ferinitrat.



Gambar 21: Kurva absorpsi terhadap panjang gelombang dari larutan SU kadar 50 bpj (●) dan 100 bpj (○), dengan pereaksi warna ferinitrat.



Gambar 22 : Kurva absorpsi terhadap kadar dari larutan baku AS dengan pereaksi warna Ferinitrat (o), ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$  (□), ekstraksi  $CCl_4$  (•), ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$   $AS_T$  (x) dan kurva baku "recovery" subyek FR (----)



Gambar 23 : Kurva absorpsi terhadap kadar dari larutan baku SU dengan pereaksi warna Ferinitrat (o), ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$  (□), dan kurva baku "recovery" subyek FR ( ---- )



TABEL I  
HARGA KOEFISIEN KORELASI DAN PERSAMAAN REGRESI  
KURVA BAKU ASAM SALISILAT DAN  
ASAM SALISILURAT

P e r l a k u a n	r*	Persamaan regresi
AS dengan pereaksi warna Ferinitrat	0,9998	$y = 1,216.10^{-2}x + 1,5.10^{-3}$
AS dengan ekstraksi $C_2H_4Cl_2$	0,9983	$y = 5,728.10^{-3}x - 3,6.10^{-3}$
AS dengan ekstraksi $CCl_4$	0,9872	$y = 3,014.10^{-3}x - 3,7.10^{-3}$
AS <sub>T</sub> dengan ekstraksi $C_2H_4Cl_2$	0,9981	$y = 1,430.10^{-3}x - 4,0.10^{-3}$
SU dengan pereaksi warna Ferinitrat	0,9996	$y = 6,636.10^{-3}x - 5,7.10^{-3}$
SU dengan ekstraksi $C_2H_4Cl_2$	0,9987	$y = 7,860.10^{-4}x + 1,0.10^{-3}$

Keterangan : \*)  $r_{\text{tabel}} (DF = 3; P 0,01) = 0,959$

TABEL 11

HASIL PERHITUNGAN KOEFISIEN KORELASI, PROSENTASE "RECOVERY"  
PERSAMAAN REGRESI DAN KURVA BAKU "RECOVERY"

SUBYEK	PERLAKUAN	KOEFISIEN KORELASI	PROSENTASE RECOVERY	PERSAMAAN REGRESI
FR	AS/C	0,9973	97,7	$y = 2,946 \cdot 10^{-3}x - 1,3 \cdot 10^{-3}$
	AS/D	0,9967	98,6	$y = 5,656 \cdot 10^{-3}x - 3,0 \cdot 10^{-3}$
	SU/D	0,9976	99,2	$y = 7,920 \cdot 10^{-4}x - 2,7 \cdot 10^{-3}$
	AS/T/D	0,9977	98,9	$y = 1,414 \cdot 10^{-3}x - 2,0 \cdot 10^{-3}$
TD	AS/C	0,9975	95,3	$y = 2,856 \cdot 10^{-3}x - 6,0 \cdot 10^{-4}$
	AS/D	0,9967	97,7	$y = 5,572 \cdot 10^{-3}x + 2,0 \cdot 10^{-4}$
	SU/D	0,9972	96,7	$y = 7,575 \cdot 10^{-4}x + 1,3 \cdot 10^{-3}$
	AS/T/D	0,9967	97,8	$y = 1,393 \cdot 10^{-3}x + 1,0 \cdot 10^{-4}$
RD	AS/C	0,9974	92,2	$y = 2,690 \cdot 10^{-3}x + 2,3 \cdot 10^{-3}$
	AS/D	0,9975	98,7	$y = 5,640 \cdot 10^{-3}x - 6,0 \cdot 10^{-4}$
	SU/D	0,9978	98,4	$y = 7,835 \cdot 10^{-4}x - 1,7 \cdot 10^{-3}$
	AS/T/D	0,9973	99,2	$y = 1,410 \cdot 10^{-3}x + 1,0 \cdot 10^{-3}$
IW	AS/C	0,9982	92,7	$y = 2,746 \cdot 10^{-3}x - 1,1 \cdot 10^{-4}$
	AS/D	0,9980	98,8	$y = 5,624 \cdot 10^{-3}x - 2,3 \cdot 10^{-4}$
	SU/D	0,9981	96,4	$y = 7,620 \cdot 10^{-4}x - 2,2 \cdot 10^{-4}$
	AS/T/D	0,9975	99,0	$y = 1,406 \cdot 10^{-3}x - 8,0 \cdot 10^{-4}$
KD	AS/C	0,9984	90,4	$y = 2,680 \cdot 10^{-3}x - 3,0 \cdot 10^{-4}$
	AS/D	0,9985	99,0	$y = 5,660 \cdot 10^{-3}x - 2,1 \cdot 10^{-4}$
	SU/D	0,9988	97,4	$y = 7,720 \cdot 10^{-4}x - 1,3 \cdot 10^{-3}$
	AS/T/D	0,9985	99,3	$y = 1,416 \cdot 10^{-3}x - 2,0 \cdot 10^{-4}$

Keterangan : AS/C = AS dengan ekstraksi  $CCl_4$

AS/D = AS dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$

SU/D = SU dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$

AS/T/D = AS<sub>T</sub> dengan ekstraksi  $C_2H_4Cl_2$

Harga  $r_{tabel}$  (DF = 3 ; P 0,01) = 0,959

TABEL III

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 250 mg AS PADA SUBYEK "FR"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u<sub>kum</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup>) (mg)</sub>	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> / Δt) (mg)
1	0,38	13,38	13,96	239,71	14,21
2	0,46	15,04	17,24	222,47	15,31
3	1,24	15,58	21,39	201,08	13,44
4	1,80	11,30	16,04	185,04	8,32
5	3,29	5,33	25,21	159,83	9,65
6	2,26	13,96	14,86	144,97	10,78
7	2,52	7,59	14,26	130,71	7,26
8	tt	6,93	15,28	115,43	10,88
10	tt	29,00	33,33	82,10	10,63
12	tt	13,53	18,58	63,52	5,87
14	tt	9,93	11,22	52,30	6,02
16	tt	14,13	14,14	38,16	4,22
18	tt	2,74	3,19	34,97	2,11
22	tt	tt	15,28	19,69	1,01
26	tt	8,06	11,39	8,30	-
30	tt	tt	3,42	4,88	-
34	tt	1,39	4,88	0,00	-
34	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi (kadar kurang dari 9,6 mg/l AS; 37,5 mg/l SU; 20,5 mg/l AS<sub>T</sub>)

TABEL IV  
 EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM  
 SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>),  
 HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 500 mg  
 AS PADA SUBYEK "FR"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	AS <sub>T</sub> X <sub>u</sub> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub>kurang</sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> / Δt) (mg/jam)
0,5	1,56	6,54	8,61	495,68	18,20
1,0	1,32	11,66	13,73	481,95	25,84
1,5	tt	14,18	16,49	465,46	18,82
2,0	2,08	4,64	12,25	453,21	16,09
3,0	3,80	13,36	25,10	428,11	20,55
4,0	2,05	27,74	31,49	396,62	25,40
5,0	2,88	23,06	26,92	369,70	21,26
6,0	3,10	19,45	24,97	344,73	20,80
7,0	1,52	22,14	24,49	320,24	21,87
8,0	5,27	21,59	28,63	291,61	20,60
9,0	6,80	19,60	29,60	262,01	19,60
12,0	12,52	54,25	74,58	187,43	17,40
14,0	1,01	28,68	30,97	156,46	16,34
16,0	1,73	36,68	38,27	118,19	12,43
22,0	tt	59,70	63,14	55,05	5,88
24,0	tt	tt	9,17	45,88	5,62
28,0	tt	10,81	13,55	32,35	1,34
34,0	tt	5,29	9,71	22,64	-
48,0	tt	tt	15,78	6,86	-
58,0	tt	tt	6,86	0,00	-
59,0	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi;

(kadar kurang dari 9,6 mg/l AS;

37,5 mg/l SU; 20,5 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,50 - 6,83

TABEL V  
 EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM  
 SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>),  
 HARGA "S" DAN "v" DENGAN DOSIS 750 mg<sub>T</sub>,  
 AS PADA SUBYEK "FR"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u<sub>u</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup> - X<sub>u<sub>kum</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup>) (mg)</sub></sub>	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	4,67	2,68	11,34	722,31	19,73
2	tt	36,77	41,89	680,42	33,75
3	3,17	30,73	35,01	645,41	20,09
4	tt	9,45	10,34	635,07	15,06
5	0,94	20,66	29,38	605,69	22,99
6	1,50	25,32	33,12	572,57	25,58
8	4,12	56,33	70,36	502,21	27,46
10	4,03	53,50	66,45	435,76	26,04
12	5,81	50,64	60,24	375,52	25,97
14	2,65	53,23	63,54	311,98	23,94
16	4,57	42,52	51,95	260,03	28,33
18	tt	70,81	78,76	181,27	22,30
22	3,95	65,10	74,14	107,13	10,66
26	0,80	20,16	22,66	84,47	6,22
30	tt	29,62	32,51	51,96	4,82
34	tt	8,91	12,14	39,82	3,82
42	tt	2,38	3,45	36,37	1,29
50	tt	18,24	21,27	15,10	1,61
58	tt	7,57	7,85	7,25	-
66	tt	6,56	7,25	0,00	-
66	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,6 mg/l AS;

37,5 mg/l SU; 20,5 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,44 - 6,34

TABEL VI

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 250 mg AS PADA SUBYEK "TD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S	v
				(X <sub>u<sub>0</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u<sub>kum</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> ) (mg)	(ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	tt	22,96	27,08	225,51	30,83
2	tt	38,69	43,05	182,46	30,12
3	tt	21,55	23,91	158,55	22,26
4	tt	22,96	25,58	132,97	21,20
6	0,69	40,27	43,01	89,96	17,52
8	0,75	29,81	34,31	55,65	12,28
10	1,34	19,31	26,14	29,51	6,05
12	0,47	4,88	6,41	23,10	3,14
14	0,76	7,68	11,84	11,26	2,84
16	tt	3,66	5,81	5,45	1,84
20	2,15	3,39	5,45	0,00	-
>20	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,7 mg/l AS;

33,9 mg/l SU; 19,3 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,20 - 7,02

TABEL VII

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 500 mg AS PADA SUBYEK "TD"

Waktu (Jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u<sub>o</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u<sub>kum</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	tt	45,66	52,73	424,65	42,92
2	5,28	40,18	47,33	377,32	34,30
3	1,69	28,41	33,05	344,27	29,36
4	2,91	30,30	35,88	308,39	25,04
6	1,21	41,43	49,16	259,23	21,27
8	2,94	43,65	49,52	209,71	21,78
10	5,16	43,46	50,65	159,15	19,87
12	8,13	36,01	46,75	112,40	16,48
14	2,60	29,90	34,40	78,00	13,48
16	0,53	24,02	29,46	48,54	8,86
20	tt	16,93	23,48	25,06	3,83
24	tt	13,69	14,83	10,23	2,41
28	tt	5,58	6,42	3,81	1,00
32	tt	2,38	3,81	0,00	-
32	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,7 mg/l AS;

33,9 mg/l SU; 19,3 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,21 - 7,03

TABEL VIII

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALUSILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v" DENGAN DOSIS 750 mg AS PADA SUBYEK "TD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u,c</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u,kum</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	8,80	38,29	49,19	674,02	37,47
2	5,47	36,64	44,58	629,44	31,01
3	10,85	25,37	45,91	583,53	27,83
4	2,76	30,28	37,44	546,09	33,75
6	36,21	79,34	122,76	423,33	32,69
8	2,62	51,41	64,33	359,00	26,13
10	1,42	53,09	59,86	299,14	24,63
12	0,91	45,44	54,12	245,02	22,69
14	0,66	45,32	50,54	194,48	20,86
16	0,69	38,12	39,34	155,14	18,31
20	2,34	63,04	82,16	72,98	10,66
24	tt	22,27	25,49	47,49	7,42
28	tt	37,09	37,67	9,82	5,32
32	tt	5,45	5,96	3,86	1,04
36	tt	2,89	3,86	0,00	-
>36	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,7 mg/l AS;

33,9 mg/l SU; 19,3 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,30 - 7,45



TABEL IX

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALUSILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "s" DAN "v", DENGAN DOSIS 250 mg<sup>T</sup>, AS PADA SUBYEK "RD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	(X <sub>u<sub>u</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup> - X<sub>u<sub>kum</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup>) (mg)</sub></sub>	(ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	0,34	19,36	22,62	230,98	22,09
2	1,34	24,82	30,82	200,16	24,24
3	1,21	23,65	31,65	168,51	24,54
4	1,27	25,42	29,08	139,43	26,92
5	2,77	28,41	35,31	104,12	24,07
6	4,29	19,72	31,02	73,10	16,64
8	3,38	18,42	25,06	48,04	8,99
10	2,90	17,54	24,30	23,74	6,66
12	1,70	9,08	14,04	9,70	4,18
14	tt	7,65	9,70	0,00	-
>14	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,2 mg/l AS;

36,6 mg/l SU; 18,4 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,86 - 7,26

TABEL X  
 EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM  
 SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>)  
 HARGA "S" DAN "v" DENGAN DOSIS 500 mg  
 AS PADA SUBYEK "RD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (ng)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u<sub>c</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u<sub>kum</sub></sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> / Δt) (mg/jam)
1	4,51	28,89	32,72	455,17	30,56
2	10,56	32,23	42,89	412,28	30,58
3	5,12	28,93	36,38	375,90	31,13
4	5,61	33,32	41,07	334,83	30,81
6	12,19	60,97	81,96	252,87	29,56
8	1,40	57,26	61,02	191,85	27,65
10	0,93	53,35	55,33	136,52	21,38
12	2,08	32,15	35,77	100,75	16,43
14	tt	33,58	35,26	65,49	12,76
16	tt	17,46	18,88	46,61	8,35
20	tt	15,73	17,09	29,52	3,74
24	tt	14,21	16,72	12,80	1,78
28	tt	tt	4,10	8,70	-
32	tt	tt	4,22	4,48	-
36	tt	tt	tt	tt	-
40	tt	tt	4,48	0,00	-
48	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,2 mg/l AS;

36,6 mg/l SU; 18,4 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,77 - 7,34

TABEL XI

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 750 mg AS PADA SUBYEK "RD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> <sub>kum</sub> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	9,21	32,32	44,40	698,84	44,01
2	9,51	55,70	67,09	631,75	44,90
3	3,28	34,09	42,00	589,75	33,83
4	15,68	33,56	54,14	535,61	24,99
6	38,59	32,29	97,63	437,94	25,41
8	2,20	69,33	77,54	360,40	38,11
10	2,34	83,12	89,18	271,22	34,20
12	1,38	53,67	58,16	213,06	25,17
14	tt	47,01	53,87	159,19	21,03
16	tt	37,11	42,50	116,69	19,94
20	tt	75,41	78,30	38,39	12,22
24	tt	22,34	25,81	12,58	4,09
28	tt	10,37	12,58	0,00	-
28	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,2 mg/l AS;

36,6 mg/l SU; 18,4 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,84 - 7,61

TABEL XII

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>) HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 250 mg AS PADA SUBYEK "IW"

Waktu (jam)	$X_u^{AS}$ (mg)	$X_u^{SU}$ (mg)	$X_u^{AS_T}$ (mg)	S ( $X_{u_{kes}}^{AS_T} - X_{u_{kum}}^{AS_T}$ ) (mg)	v ( $\Delta X_u^{SU} / \Delta t$ ) (mg/jam)
1	2,55	19,33	22,55	226,07	19,69
2	3,66	20,05	26,05	200,02	21,32
3	2,62	22,59	26,97	173,05	22,99
4	2,84	23,38	26,69	146,36	20,75
5	2,75	18,11	22,26	124,10	18,17
6	1,99	18,22	20,66	103,44	14,85
8	2,73	23,08	29,63	73,81	11,81
10	2,02	24,14	28,92	44,89	8,98
12	tt	11,78	12,27	32,63	5,21
14	tt	9,07	9,51	23,11	3,60
16	tt	5,32	9,20	12,91	2,65
20	tt	6,80	10,06	3,85	1,12
24	tt	2,14	3,85	0,00	-
>24	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,9 mg/l AS;

35,7 mg/l SU; 19,8 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 6,09 - 8,04

TABEL XIII

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 500 mg AS PADA SUBYEK "IW"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> <sub>kum</sub> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	0,66	19,79	26,79	442,23	25,94
2	1,43	32,09	43,14	399,09	34,94
3	1,07	37,78	50,94	348,15	33,83
4	0,70	29,88	41,80	306,35	31,28
6	2,54	57,46	74,12	232,23	18,33
8	1,18	55,86	68,87	163,36	20,73
10	2,27	27,04	39,77	123,59	13,02
12	3,94	25,02	36,29	87,30	13,78
14	6,07	30,01	40,41	46,89	8,99
18	4,52	16,90	26,65	20,24	2,49
22	3,28	2,98	7,37	12,87	0,70
26	3,05	2,59	7,79	5,08	0,54
30	1,46	1,73	5,08	0,00	-
>30	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,9 mg/l AS;

35,7 mg/l SU; 19,8 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,46 - 6,38

TABEL XIV

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v" DENGAN DOSIS 750 mg AS PADA SUBYEK "IW"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub> kum</sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> / Δt) (mg/jam)
1	2,84	22,59	31,94	709,08	27,73
2	3,98	32,87	45,59	665,49	39,24
3	4,18	45,61	57,29	608,20	36,47
4	5,25	27,32	46,79	561,41	28,90
6	11,02	42,67	71,53	489,88	26,98
8	10,31	65,24	99,78	390,10	39,43
10	2,58	92,47	99,76	290,34	32,78
12	5,77	38,66	52,12	238,22	20,99
14	3,20	45,31	52,61	185,61	27,83
16	6,19	66,00	75,42	110,19	18,18
20	3,37	34,10	41,19	69,00	8,80
24	tt	36,30	36,58	32,42	6,45
28	tt	15,33	17,13	15,29	3,20
32	1,74	10,30	15,29	0,00	-
>32	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 9,9 mg/l AS;  
35,7 mg/l SU; 19,8 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,49 - 6,69

TABEL XV

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 250 mg AS PADA SUBYEK "KD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> <sub>kum</sub> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	2,56	19,24	22,58	209,03	24,44
2	5,52	29,64	38,43	170,60	32,19
3	tt	34,74	38,41	132,19	30,42
4	5,27	26,09	32,09	100,10	23,17
5	5,11	20,24	27,54	72,56	17,53
6	1,47	15,05	17,76	54,80	14,09
8	2,87	19,05	29,60	25,20	7,97
10	tt	12,83	13,42	11,78	4,12
12	tt	3,65	7,84	3,94	1,77
14	tt	3,41	3,94	0,00	-
>14	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 10,2 mg/l AS;

36,7 mg/l SU; 19,2 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 6,47 - 7,56

TABEL XVI

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 500 mg AS PADA SUBYEK "KD"

Waktu (jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> - X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub> kum</sup> ) (mg)	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	1,85	21,15	23,96	456,67	30,40
2	6,37	39,65	46,21	410,46	37,65
3	5,83	35,65	42,09	368,37	39,40
4	5,21	43,28	49,96	318,41	45,96
5	9,05	48,63	50,63	267,78	37,70
6	11,48	26,76	48,89	218,89	30,65
8	7,42	47,22	62,02	156,87	19,67
10	15,36	31,47	50,46	106,41	16,37
12	4,32	33,96	40,76	65,65	17,37
14	tt	35,54	37,28	28,37	10,37
18	tt	13,46	18,06	10,31	2,90
22	tt	9,76	10,31	0,00	-
>22	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 10,2 mg/l AS;

36,7 mg/l SU; 19,2 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 6,02 - 7,67



TABEL XVII

EKSKRESI DALAM URIN DARI ASAM SALISILAT (AS), ASAM SALISILURAT (SU), ASAM SALISILAT TOTAL (AS<sub>T</sub>), HARGA "S" DAN "v", DENGAN DOSIS 750 mg<sup>T</sup>, AS PADA SUBYEK "KD"

Waktu (Jam)	X <sub>u</sub> <sup>AS</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>SU</sup> (mg)	X <sub>u</sub> <sup>AS<sub>T</sub></sup> (mg)	S (X <sub>u<sub>c</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup> - X<sub>u<sub>kum</sub><sup>AS<sub>T</sub></sup>) (mg)</sub></sub>	v (ΔX <sub>u</sub> <sup>SU</sup> /Δt) (mg/jam)
1	4,44	28,80	33,60	715,91	36,62
2	3,48	44,44	46,16	666,75	64,45
3	5,48	84,45	100,25	566,50	71,09
4	1,31	57,73	61,06	505,44	57,88
6	6,38	89,34	105,22	400,22	39,34
8	8,80	68,03	80,34	319,88	32,17
10	4,10	69,63	66,09	253,79	29,79
12	10,46	58,53	71,60	182,19	28,80
14	1,69	56,67	60,38	121,81	23,08
16	9,80	35,65	37,16	84,55	15,48
20	tt	31,50	33,90	50,75	5,77
24	tt	14,69	15,71	35,64	2,98
28	tt	9,11	10,08	24,96	1,81
32	tt	5,38	6,43	18,56	-
36	tt	9,50	10,16	8,37	-
40	tt	7,22	8,37	0,00	-
>40	tt	tt	tt	-	-

Keterangan : - tt = tidak terdeteksi

(kadar kurang dari 10,2 mg/l AS;

36,7 mg/l SU; 19,2 mg/l AS<sub>T</sub>)

- pH urine 5,68 - 7,20

TABEL XVIII

ANALISIS KINETIKA NONLINIER KOEFISIEN KORELASI ( $r$ ),  $TG_{\infty}$  (s) TITIK POTONG PADA SUMBU y (i),  $K_m$  DAN  $V_m$  DENGAN METODA LINEWEAVER-BURK (LB), HANES-WOOLF (HW),<sup>m</sup> AUGUSTINSSON-HOFSTEE (AH), DAN ANALISIS KINETIKA LINIER TETAPAN LAJU ELIMINASI (K), DAN WAKTU PARUH BIOLOGIK ( $t_{1/2}$ ) PADA SUBYEK "FR"

Macam Kinetik	Metoda	Parameter	Dosis 250 mg	Dosis 500 mg	Dosis 750 mg
NONLINIER	LB	$r^*$	0,9297	0,9846	0,8412
		s	0,7034	0,7160	1,1018
		i	4,4111	2,6521	3,1191
		$K_m$ (mg)	159,46	269,99	353,25
		$V_m$ (mg/jam)	22,67	37,71	32,06
	HW	$r^*$	0,7358	0,9180	0,8250
		s	0,0476	0,0345	0,0351
		i	7,1364	5,2030	5,4053
		$K_m$ (mg)	149,88	150,74	154,04
		$V_m$ (mg/jam)	21,00	28,97	28,50
	AH	$r^*$	0,8954	0,7594	0,4914
		s	- 1,8098	- 1,7084	- 1,9980
		i	15,5228	30,6386	34,4196
		$K_m$ (mg)	180,98	170,84	199,80
		$V_m$ (mg/jam)	25,51	30,64	34,42
LINIER	$r^*$	0,9923	0,9979	0,9952	
	s	- 0,1459	- 0,1141	- 0,1049	
	i	6,0162	6,5998	7,1505	
	K ( $\text{jam}^{-1}$ )	0,1459	0,1141	0,1049	
	$t_{1/2}$ (jam)	4,75	6,07	6,60	
*) $r_{\text{tabel}}$ (P 0,05)			0,576 (DF=10)	0,514 (DF=13)	0,468 (DF=16)

TABEL XIX

ANALISIS KINETIKA NONLINIER KOEFISIEN KORELASI ( $r$ ),  $TG_{\infty}$  (s)  
 TITIK POTONG PADA SUMBU y (i),  $K_m$  DAN  $V_m$  DENGAN METODA  
 LINEWEAVER-BURK (LB), HANES-WOOLF (HW), AUGUSTINSON-  
 HOFSTEE (AH), DAN ANALISIS KINETIKA LINIER TETAPAN  
 LAJU ELIMINASI (K), DAN WAKTU PARUH BIOLOGIK  
 ( $t_{1/2}$ ) PADA SUBYEK "TD"

Macam Kinetik	Metoda	Parameter	Dosis 250 mg	Dosis 500 mg	Dosis 750 mg
NONLINIER	LB	$r^*$	0,9363	0,9827	0,9749
		s	0,4237	0,4219	0,3373
		i	2,2768	2,7021	2,2871
		$K_m$ (mg)	186,11	156,13	147,49
		$V_m$ (mg/jam)	43,92	37,01	43,72
		$r^*$	0,9273	0,8906	0,9657
	HW	s	0,0148	0,0182	0,0220
		i	4,0218	4,9638	5,2466
		$K_m$ (mg)	271,93	273,06	238,23
		$V_m$ (mg/jam)	67,61	55,01	45,41
		$r^*$	0,8823	0,7935	0,8943
	AH	s	- 2,2314	- 1,9558	- 2,2322
		i	59,0080	45,3861	44,4822
		$K_m$ (mg)	223,14	195,58	223,22
		$V_m$ (mg/jam)	59,01	45,39	44,48
$r^*$		0,9925	0,9975	0,9768	
LINIER	s	- 0,2722	- 0,1999	- 0,1869	
	i	6,1880	7,0815	7,7596	
	$K$ (jam <sup>-1</sup> )	0,2722	0,1999	0,1869	
	$t_{1/2}$ (jam)	2,55	3,47	3,71	
	$r^*$	0,9925	0,9975	0,9768	
	*) $r_{tabel}$ (P 0,05)	0,707 (DF=6)	0,553 (DF=11)	0,576 (DF=10)	

TABEL XX

ANALISIS KINETIKA NONLINIER KOEFISIEN KORELASI ( $r$ ),  $TG \propto (s)$   
 TITIK POTONG PADA SUMBU  $y (i)$ ,  $K_m$  DAN  $V_m$  DENGAN METODA  
 LINEWEAVER-BURK (LB), HANES-WOOLF (HW), AUGUSTINSSON-  
 HOFSTEE (AH), DAN ANALISIS KINETIKA LINIER TETAPAN  
 LAJU ELIMINASI ( $K$ ), DAN WAKTU PARUH BIOLOGIK  
 ( $t_{1/2}$ ) PADA SUBYEK "RD"

Macam Kinetik	Metoda	Parameter	Dosis 250 mg	Dosis 500 mg	Dosis 750 mg
NONLINIER	LB	$r^*$	0,9639	0,9874	0,9947
		$s$	0,3160	0,4401	0,2748
		$i$	2,3008	1,8268	2,2954
		$K_m$ (mg)	137,36	240,92	119,70
		$V_m$ (mg/jam)	43,46	54,74	43,57
	HW	$r^*$	0,8599	0,9827	0,8898
		$s$	0,0217	0,0232	0,0226
		$i$	3,0733	3,4928	3,3104
		$K_m$ (mg)	141,73	150,34	146,58
		$V_m$ (mg/jam)	46,12	43,04	44,28
	AH	$r^*$	0,7408	0,9104	0,7885
		$s$	- 0,9563	- 1,4093	- 1,0125
		$i$	39,6224	42,7439	40,7619
		$K_m$ (mg)	95,63	140,93	101,25
		$V_m$ (mg/jam)	39,62	42,74	40,76
LINIER	$r^*$	0,9878	0,9978	0,9991	
	$s$	- 0,3382	- 0,1557	- 0,1394	
	$i$	6,4446	6,4377	7,0092	
	$K$ ( $\text{jam}^{-1}$ )	0,3382	0,1557	0,1394	
	$t_{1/2}$ (jam)	2,05	4,45	4,97	
	*) $r_{\text{tabel}}$ (P 0,05)	0,707 (DF=6)	0,632 (DF=8)	0,576 (DF=10)	

TABEL XXI

ANALISIS KINETIKA NONLINIER KOEFISIEN KORELASI ( $r$ ),  $TG^\alpha$  (s) TITIK POTONG PADA SUMBU y (i),  $K_m$  DAN  $V_m$  DENGAN METODA LINEWEAVER-BURK (LB), HANES-WOOLF<sup>m</sup> (HW)<sup>m</sup>, AUGUSTINSSON-HOFSTEE (AH), DAN ANALISIS KINETIKA LINIER TETAPAN LAJU ELIMINASI (K), DAN WAKTU PARUH BIOLOGIK ( $t_{1/2}$ ) PADA SUBYEK "IW"

Macam Kinetik	Metoda	Parameter	Dosis 250 mg	Dosis 500 mg	Dosis 750 mg
NONLINIER	LB	$r^*$	0,9907	0,9581	0,9926
		s	0,5243	0,4392	0,4450
		i	1,7645	2,2182	2,2799
		$K_m$ (mg)	297,12	198,01	195,19
		$V_m$ (mg/jam)	56,67	45,08	43,86
	HW	$r^*$	0,8591	0,8656	0,9165
		s	0,0221	0,0208	0,0216
		i	4,7771	4,5443	4,4000
		$K_m$ (mg)	215,83	218,11	203,99
		$V_m$ (mg/jam)	45,18	48,00	46,36
	AH	$r^*$	0,7286	0,7094	0,7391
		s	- 1,6966	- 1,7448	- 1,5612
		i	38,6921	43,7685	41,4052
		$K_m$ (mg)	169,66	174,48	156,12
		$V_m$ (mg/jam)	38,69	43,77	41,41
LINIER	$r^*$	0,9897	0,9956	0,9966	
	s	- 0,2375	- 0,1942	- 0,1618	
	i	6,2854	6,6829	7,3546	
	$K$ (jam <sup>-1</sup> )	0,2375	0,1942	0,1618	
	$t_{1/2}$ (jam)	2,92	3,57	4,28	
	* $r_{tabel}$ (P 0,05)	0,576 (DF=10)	0,666 (DF=7)	0,553 (DF=11)	

TABEL XXII

ANALISIS KINETIKA NONLINIER KOEFISIEN KORELASI ( $r$ ),  $TG\alpha$  ( $s$ )  
 TITIK POTONG PADA SUMBU  $y$ , ( $i$ ),  $K_m$  DAN  $V_m$  DENGAN METODA  
 LINEWEAVER-BURK (LB), HANES-WOOLF<sup>m</sup> (HW),<sup>m</sup>AUGUSTINSSON-  
 HOFSTEE (AH), DAN ANALISIS KINETIKA LINIER TETAPAN  
 LAJU ELIMINASI ( $K$ ), DAN WAKTU PARUH BIOLOGIK  
 ( $t_{1/2}$ ) PADA SUBYEK "KD"

Macam Kinetik	Metoda	Parameter	Dosis 250 mg	Dosis 500 mg	Dosis 750 mg
NONLINIER	LB	$r^*$	0,9978	0,9889	0,8641
		$s$	0,2637	0,3261	0,3777
		$i$	1,9619	1,6619	1,4371
		$K_m$ (mg)	134,40	196,26	262,85
		$V_m$ (mg/jam)	50,97	60,17	69,59
	HW	$r^*$	0,8973	0,9016	0,8266
		$s$	0,0136	0,0163	0,0155
		$i$	2,8992	3,4234	3,7729
		$K_m$ (mg)	212,86	210,57	243,42
		$V_m$ (mg/jam)	73,42	61,51	64,52
	AH	$r^*$	0,7960	0,7292	0,8556
		$s$	- 1,1245	- 1,0841	- 1,3689
		$i$	46,3959	44,7659	46,8863
		$K_m$ (mg)	112,45	108,41	136,89
		$V_m$ (mg/jam)	46,40	44,77	46,89
LINIER	$r^*$		0,9946	0,9943	0,9914
	$s$	-	0,4639	- 0,2821	- 0,1236
	$i$		6,9940	7,4153	6,6209
	$K$ (jam <sup>-1</sup> )		0,4639	0,2821	0,1236
	$t_{1/2}$ (jam)		1,49	2,46	5,61
	*) $r_{tabel}$ (P 0,05)		0,707 (DF=61)	0,602 (DF=9)	0,632 (DF=8)

DAFTAR HARGA  $K_m$ 

Metoda	Subyek	Dosis I 250 MG	Dosis II 500 MG	Dosis III 750 MG	Rata- rata	S.D	K V.
LB	FR	159,46	269,99	353,25	260,90	79,38	30,4
	TD	186,11	156,13	147,49	163,24	16,55	10,1
	RD	137,36	240,92	119,70	165,99	53,47	32,2
	IW	297,12	198,01	195,19	230,11	47,40	20,6
	KD	134,40	196,26	262,85	197,84	52,45	26,5
	Rata <sup>2</sup>	182,89	212,26	215,70	203,62	49,8 <sup>5</sup>	24,0
	S.D.	60,05	39,41	84,18	*65,56	-	-
K.V.	32,8	18,6	39,0	30,1	-	-	
HW	FR	149,88	150,74	154,04	151,55	1,79	1,2
	TD	271,93	273,06	238,23	261,07	16,16	6,2
	RD	141,73	150,34	146,58	146,22	3,52	2,4
	IW	215,83	218,11	203,99	212,64	6,19	2,9
	KD	212,86	210,57	243,42	222,28	14,98	6,7
	Rata <sup>2</sup>	198,45	200,56	197,25	198,75	8,53	3,9
	S.D.	47,93	46,19	40,72	*45,07	-	-
K.V.	24,1	23,0	20,6	22,6	-	-	
AH	FR	180,98	170,84	199,80	183,87	12,00	6,5
	TD	223,14	195,58	223,22	213,98	13,01	6,1
	RD	95,63	140,93	101,25	112,60	20,16	17,9
	IW	169,66	174,48	156,12	166,75	7,77	4,7
	KD	112,45	108,41	136,89	119,25	12,58	12,6
	Rata <sup>2</sup>	156,37	158,05	163,46	159,29	13,10	9,1
	S.D.	46,60	30,33	43,64	*40,92	-	-
K.V.	29,8	19,2	26,7	25,2	-	-	

LB = Cara Lineweaver-Burk

IW = Cara Hanes-Woolf

AH = Cara Augustinsson-Hofstee

\* = Standard Deviasi keseluruhan

KV = Koefisien Variasi

TABEL XXIV

DAFTAR HARGA  $V_m$ 

Metoda	Subyek	Dosis I 250 MG	Dosis II 500 MG	Dosis III 750 MG	Rata- rata	S.D	K.V.
LB	FR	22,67	37,71	32,06	30,81	6,20	20,1
	TD	43,92	37,01	43,72	41,55	3,21	7,7
	RD	43,46	54,74	43,57	47,26	5,29	11,2
	IW	56,67	45,08	43,86	48,54	5,77	11,9
	KD	50,97	60,17	69,59	60,24	7,60	12,6
	Rata <sup>2</sup>	43,54	46,94	46,56	45,68	5,61	12,7
	S.D.	11,52	9,20	12,37	*11,21		
K.V.	26,4	19,6	26,5	24,2			
HW	FR	21,00	28,97	28,50	26,16	3,65	13,9
	TD	67,61	55,01	45,41	56,01	9,09	16,2
	RD	46,12	43,04	44,28	44,48	1,26	2,8
	IW	45,18	48,00	46,36	46,51	1,16	2,5
	KD	73,42	61,51	64,52	66,48	5,06	7,6
	Rata <sup>2</sup>	50,67	47,31	45,81	47,93	4,04	8,6
	S.D.	18,63	11,10	11,42	*14,30		
K.V.	36,7	23,5	24,9	28,4			
AH	FR	25,51	30,64	34,42	30,19	3,65	12,1
	TD	59,01	45,39	44,48	49,63	6,65	13,4
	RD	39,62	42,74	40,76	41,04	1,29	3,1
	IW	38,69	43,77	41,41	41,29	2,08	5,0
	KD	46,40	44,77	46,89	46,02	0,91	2,0
	Rata <sup>2</sup>	41,85	41,46	41,59	41,63	2,92	7,1
	S.D.	10,93	5,49	4,21	* 7,47		
K.V.	26,1	13,2	10,1	16,4			

LB = Cara Lineweaver-Burk

HW = Cara Hanes-Woolf

AH = Cara Augustinsson-Hofstee

\* = Standard Deviasi keseluruhan

TESIS ANALISIS FARMAKOKINETIKA LINIER ....

DODDY DE QUELJOE

KV = Koefisien Varian



**TABEL. XXV**  
**DAFTAR HARGA K**

Subyek	Dosis I 250 MG	Dosis II 500 MG	Dosis III 750 MG	Rata <sup>1</sup>	S.D	K.V
FR	0,1459	0,1141	0,1049	0,1216	0,0176	14,4
TD	0,2722	0,1999	0,1896	0,2206	0,0368	16,6
RD	0,3382	0,1557	0,1394	0,2111	0,0901	42,6
IW	0,2375	0,1942	0,1618	0,1978	0,0310	15,6
KD	0,4639	0,2821	0,1236	0,2898	0,1390	47,5
Rata <sup>2</sup>	0,2915	0,1892	0,1437	0,2082		27,4
S.D.	0,1062	0,0557	0,0295			
K.V.	36,4	29,4	20,5	28,8		

TABEL XXVI  
DAFTAR HARGA  $t_{1/2}$

Subyek	Dosis I 250 MG	Dosis II 500 MG	Dosis III 750 MG	Rata <sup>2</sup>	S.D.	K.V.
FR	4,75	6,07	6,60	5,81	0,78	13,4
TD	2,55	3,47	3,71	3,24	0,50	15,4
RD	2,05	4,45	4,97	3,82	1,27	33,2
IW	2,92	3,57	4,28	3,59	0,55	15,3
KD	1,49	2,46	5,61	3,19	1,76	55,1
Rata <sup>2</sup>	5,75	4,00	5,03	3,93		26,5
S.D.	1,11	1,21	1,01			
K.V.	40,3	30,2	20,0	30,2		

TABEL. XXVII  
**TABEL ANAVA UNTUK ANALISIS  
 HARGA  $K_m$**

Sumber Variasi	Derajat Bebas (DF)	Jumlah Kuadrat (JK)	Mean Kuadrat (MK)	$F_{hitung}$	$F_{tabel}$ (P 0,05)
1. Antar Dosis	2	1459,97	729,99	0,29	3,26
2. Antar Metode	2	17727,53	8863,77	3,54	3,26
3. Antar Subyek	4	28587,80	7146,95	2,86	2,63
4. Dalam Sampel	26	90021,55	2500,60		

- Kesimpulan :
1. Antar Dosis :  $F_{hitung} < F_{tabel}$  Tidak ada perbedaan yang signifikan dari harga  $K_m$  antara ketiga macam dosis.
  2. Antar Metoda :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga  $K_m$  antara ketiga macam metoda.
  3. Antar subyek :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga  $K_m$  antara kelima subyek.

**TABEL XXVIII**  
**TABEL ANAVA UNTUK ANALISIS**  
**HARGA  $V_m$**

Sumber Variasi	Derajat Bebas (DF)	Jumlah Kuadrat (JK)	Mean Kuadrat (MK)	$F_{hitung}$	$F_{tabel}$ (P 0,05)
1. Antar Dosis	2	4,17	2,09	0,4	3,26
2. Antar Metoda	2	305,32	152,66	2,87	3,26
3. Antar Subyek	4	3868,44	967,11	18,17	2,63
4. Dalam Sampel	36	1916,00	53,22		

- Kesimpulan :
1. Antar Dosis :  $F_{hitung} < F_{tabel}$  Tidak ada perbedaan yang signifikan dari harga  $V_m$  antara ketiga macam dosis
  2. Antar Metoda :  $F_{hitung} < F_{tabel}$  Tidak ada perbedaan yang signifikan dari harga  $V_m$  antara ketiga macam metoda.
  3. Antar Subyek :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga  $V_m$  antara kelima subyek.

**TABEL XXIX**  
**TABEL ANAVA UNTUK ANALISIS**  
**HARGA K**

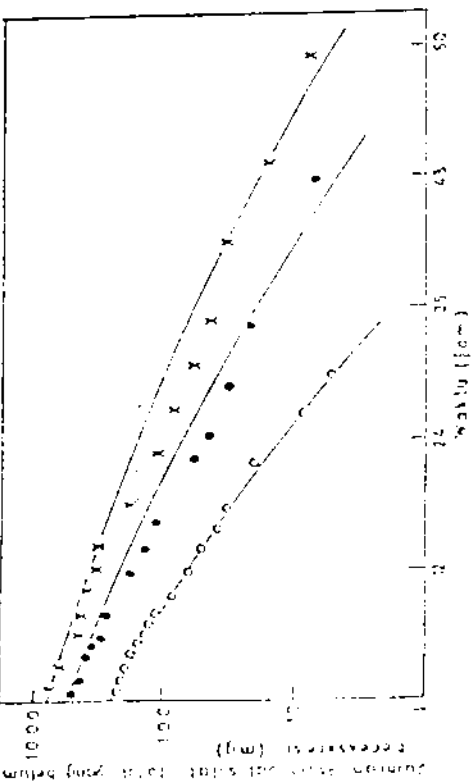
Sumber Variasi	Derajat Bebas (DF)	Jumlah Kuadrat (JK)	Mean Kuadrat (MK)	$F_{hitung}$	$F_{tabel}$ (P 0,05)
1. Antar Dosis	2	0,0572	0,0286	6,98	4,46
2. Antar Subyek	4	0,0433	0,0108	2,63	3,84
3. Dalam Sampel	8	0,0330	0,0041		

- Kesimpulan :
1. Antar Dosis :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga K antara ketiga macam dosis.
  2. Antar Subyek :  $F_{hitung} < F_{tabel}$  Tidak ada perbedaan yang signifikan dari harga K antara kelima subyek.

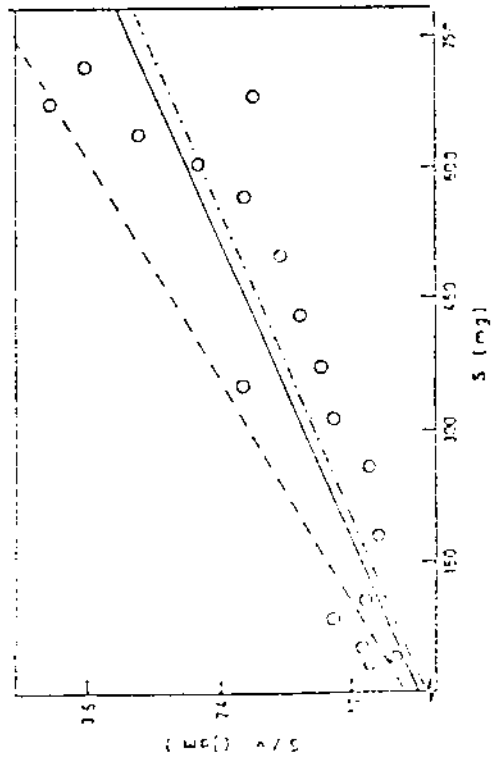
**TABEL XXX**  
**TABEL ANAVA UNTUK ANALISIS**  
**HARGA  $t_{\frac{1}{2}}$**

Sumber Variasi	Derajat Bebas (DF)	Jumlah Kuadrat (JK)	Mean Kuadrat (MK)	$F_{hitung}$	$F_{tabel}$ (P 0,05)
1. Antar Dosis	2	13,06	6,53	11,46	4,46
2. Antar Subyek	4	14,02	3,51	6,16	3,84
3. Dalam Sampel	8	4,56	0,57		

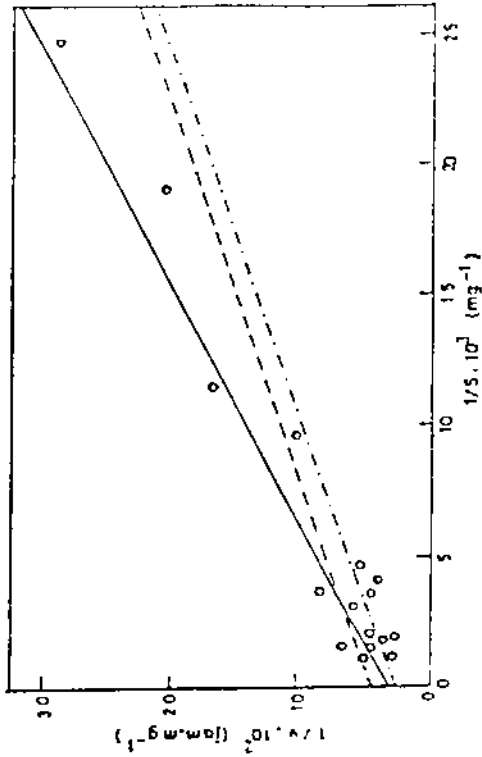
- Kesimpulan :
1. Antar Dosis :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga  $t_{\frac{1}{2}}$  antara ketiga macam dosis.
  2. Antar Subyek :  $F_{hitung} > F_{tabel}$  Ada perbedaan yang signifikan dari harga  $t_{\frac{1}{2}}$  antara kelima subyek.



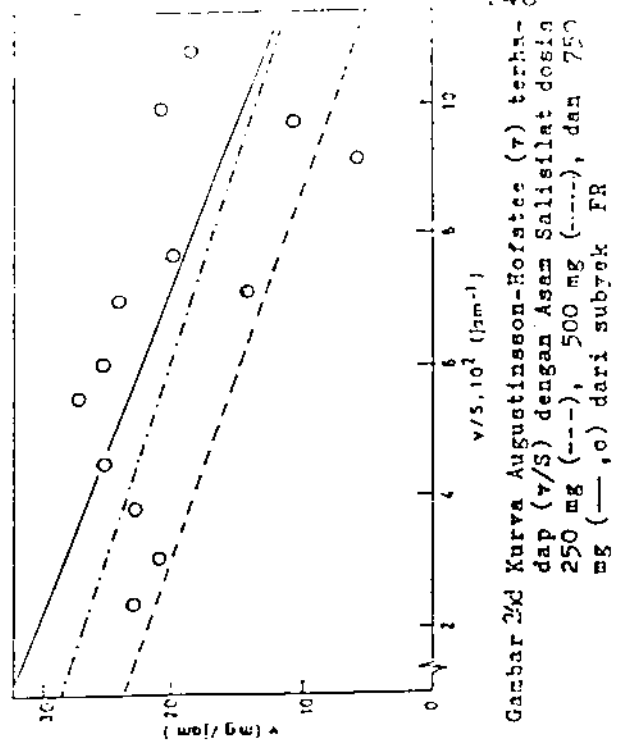
Gambar 243 Kurva Asam Salisilat total yang belum berekskresi terhadap waktu, dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg(x) dari subyek FR



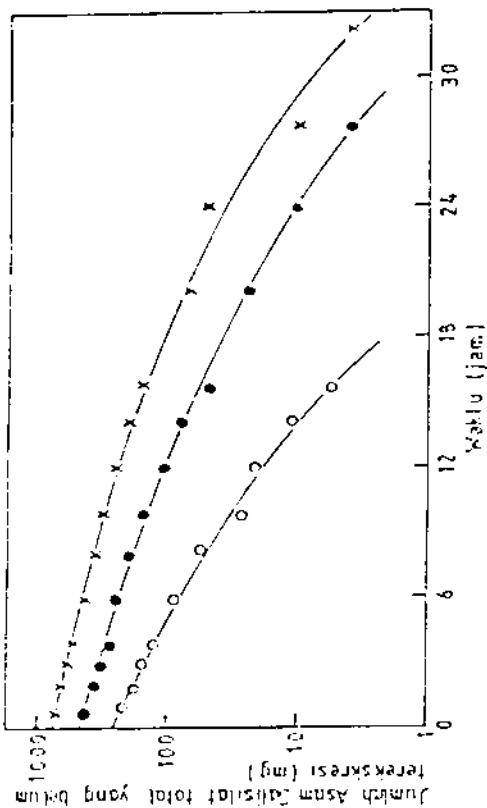
Gambar 242 Kurva Hanes-Woolf (S/V) terhadap (S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg (x) dari subyek FR



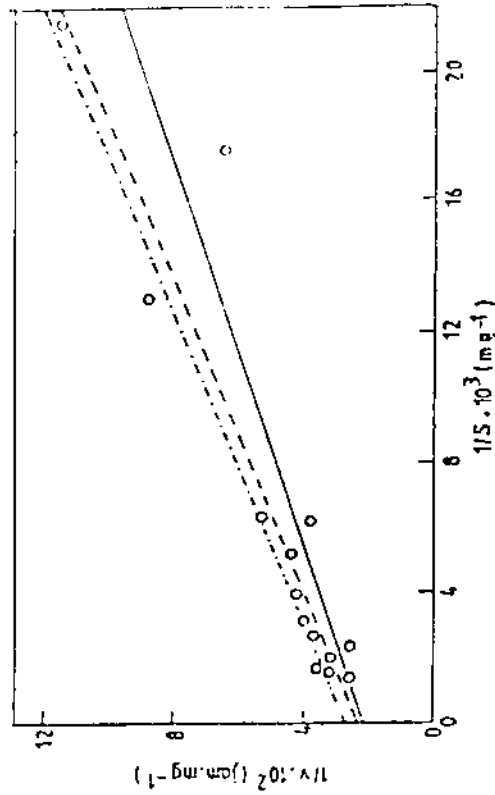
Gambar 245 Kurva Lineaveaver-Burk (1/V) terhadap (1/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg (x) dari subyek FR



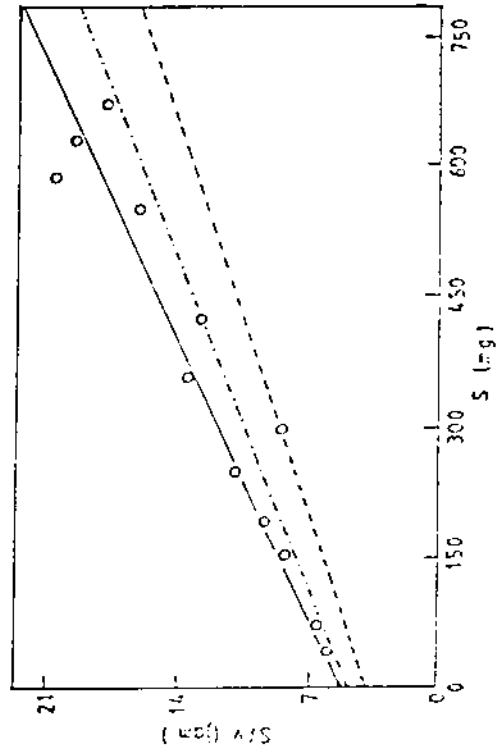
Gambar 244 Kurva Augustinsson-Hofstee (v) terhadap (v/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg (x) dari subyek FR



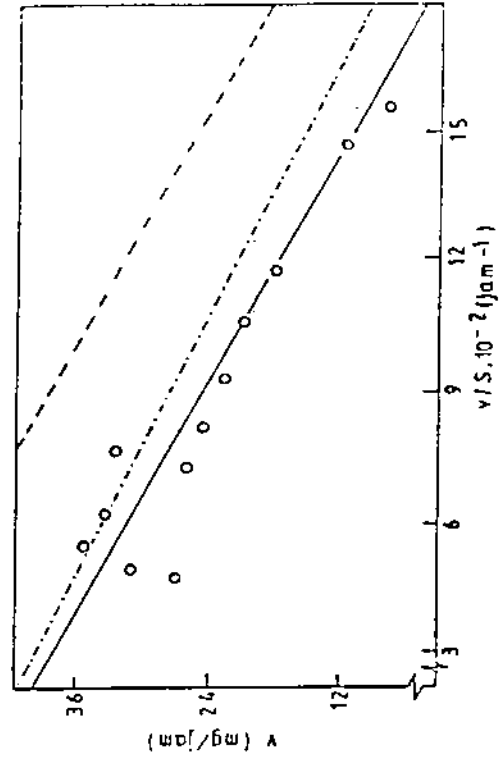
Gambar 25a Kurva Asam Salisilat total yang belum terokresasi terhadap waktu, dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg (x) dari subyek TD



Gambar 25b Kurva Lineweaver-Burk (1/v) terhadap (1/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (---), dan 750 mg (---, o) dari subyek TD

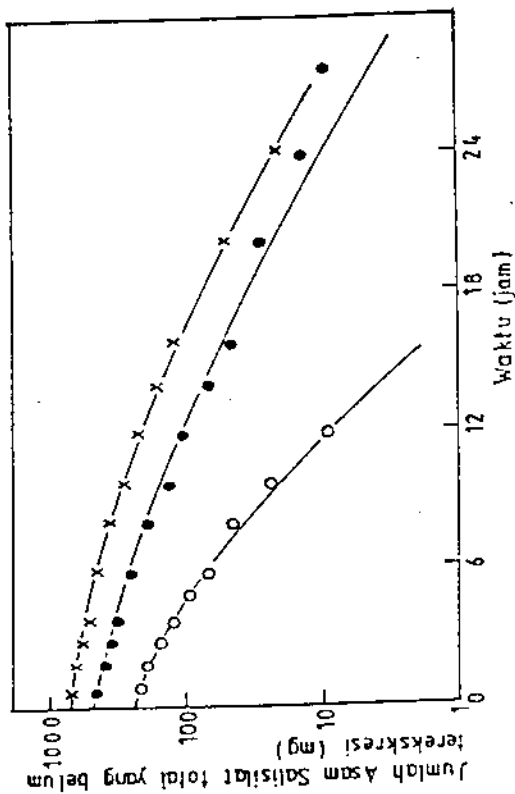


Gambar 25c Kurva Hanes-Woolf (S/v) terhadap (S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (---), dan 750 mg (---, o) dari subyek TD

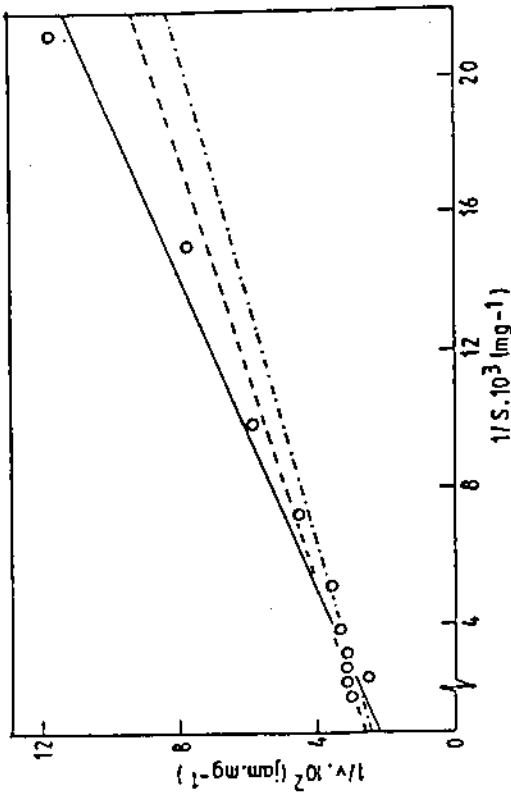


Gambar 25d Kurva Augustinsson-Hofstee (v) terhadap (v/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (---), dan 750 mg (---, o) dari subyek TD

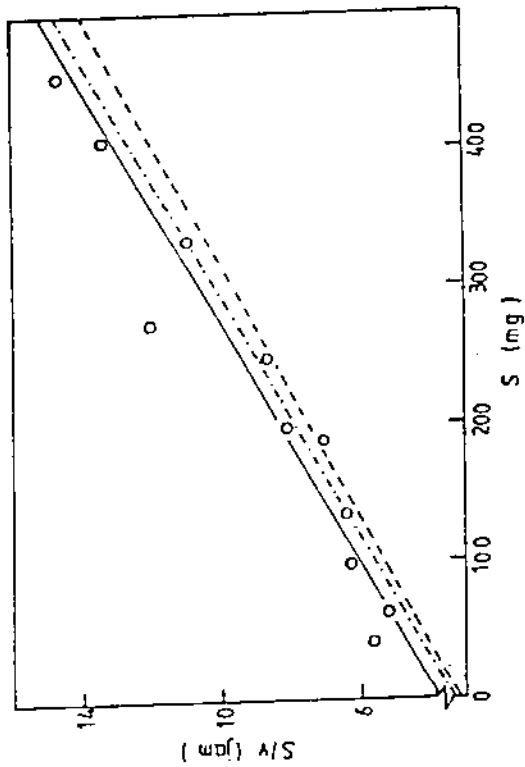




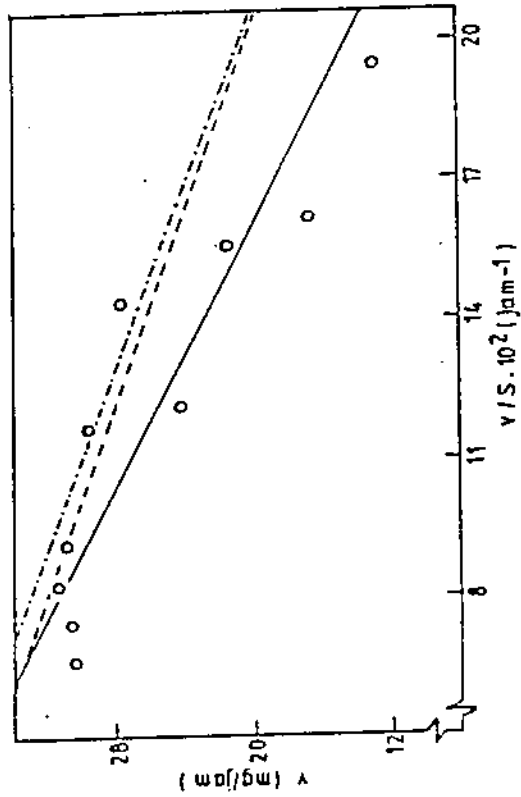
Gambar 26a Kurva Asam Salisilat total yang belum terekresi terhadap waktu, dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg (x) dari subyek RD



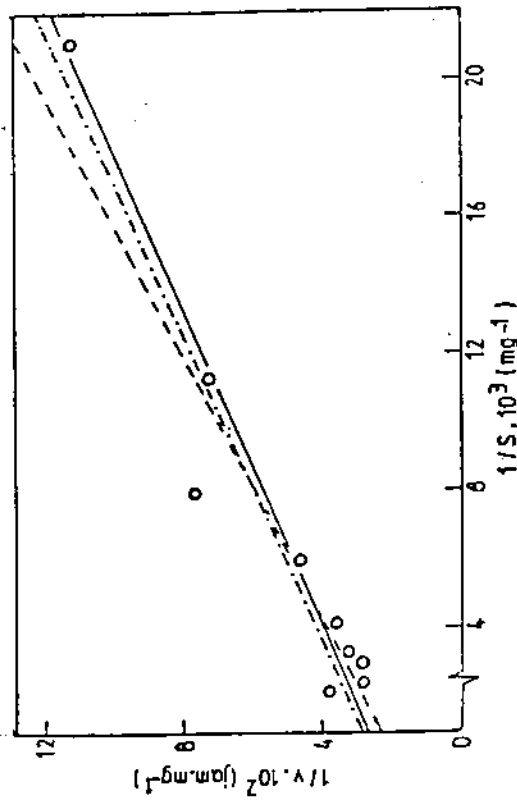
Gambar 26b Kurva Lineaveaver-Burk (1/v) terhadap (1/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (----) dari subyek RD



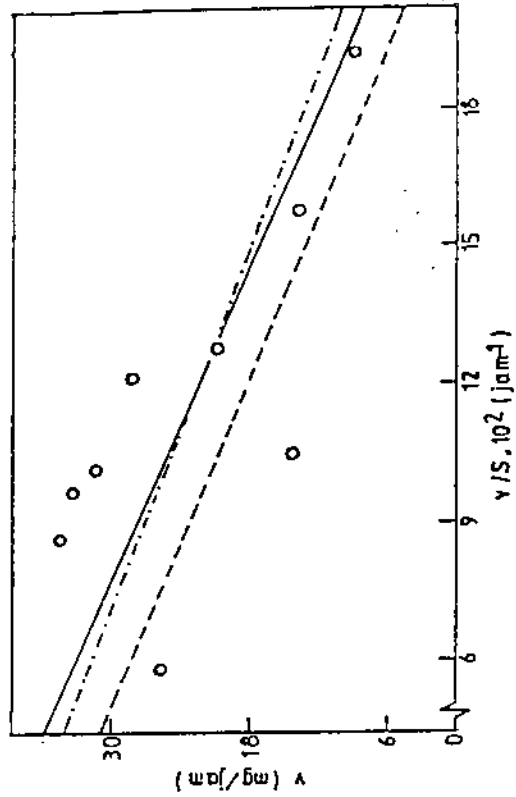
Gambar 26c Kurva Hanes-Woolf (S/v) terhadap (S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (----) dari subyek RD



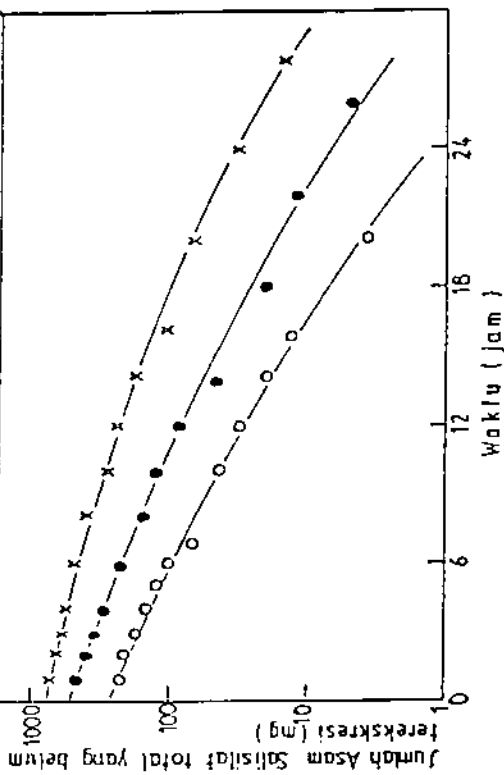
Gambar 26d Kurva Augustinsson-Hofstee (v) terhadap (v/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (----) dari subyek RD



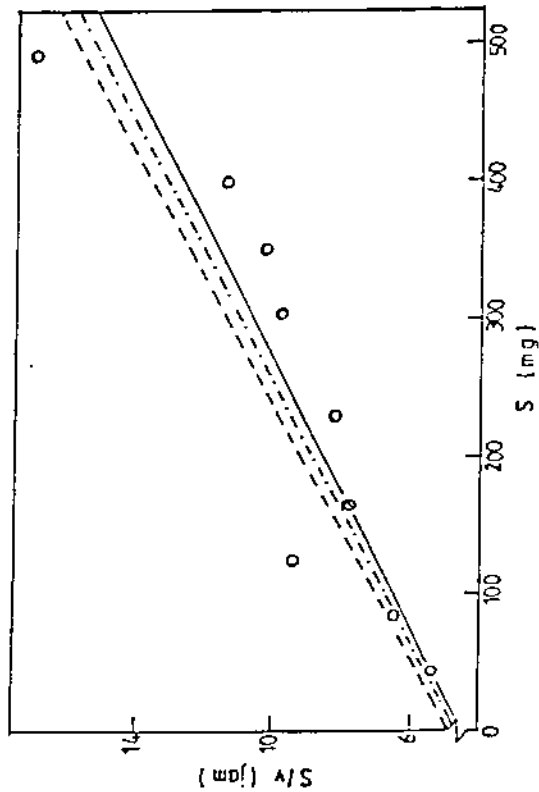
Gambar 27b Kurva Lineaver-Burk ( $1/v$ ) terhadap ( $1/S$ ) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (-----) dari subyek IW



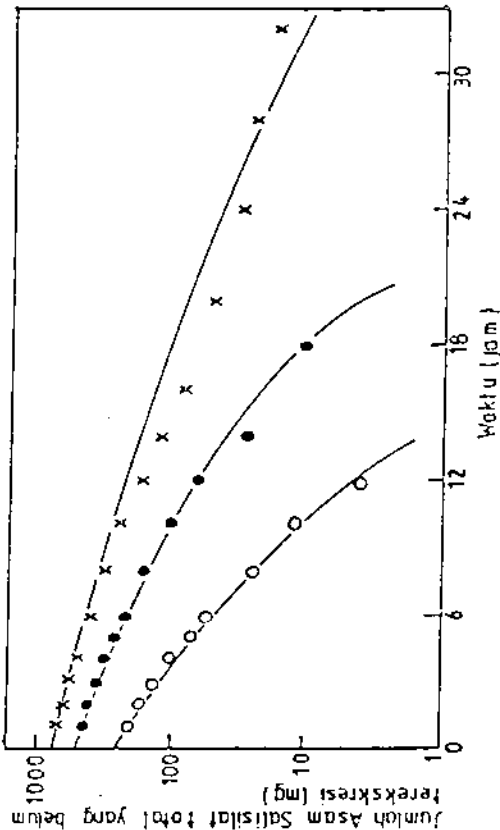
Gambar 27d Kurva Augustinsson-Hofstee ( $v$ ) terhadap ( $v/S$ ) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (-----) dari subyek IW



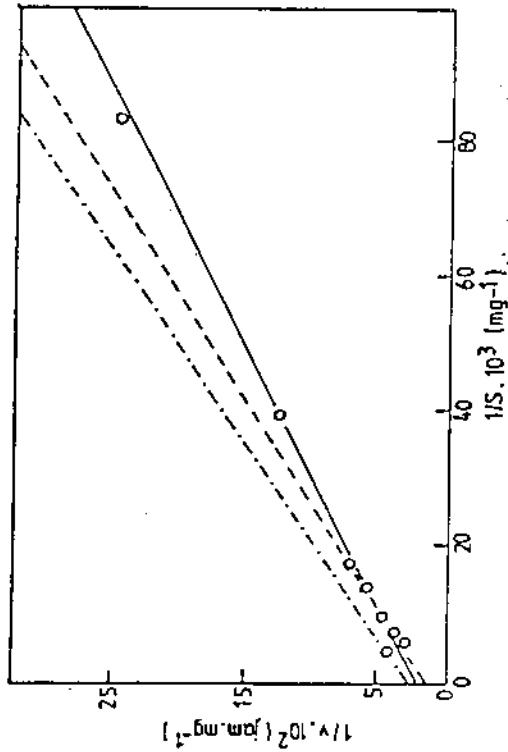
Gambar 27a Kurva Asam Salisilat total yang belum terekskresi terhadap waktu, dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (●), dan 750 mg(x) dari subyek IW



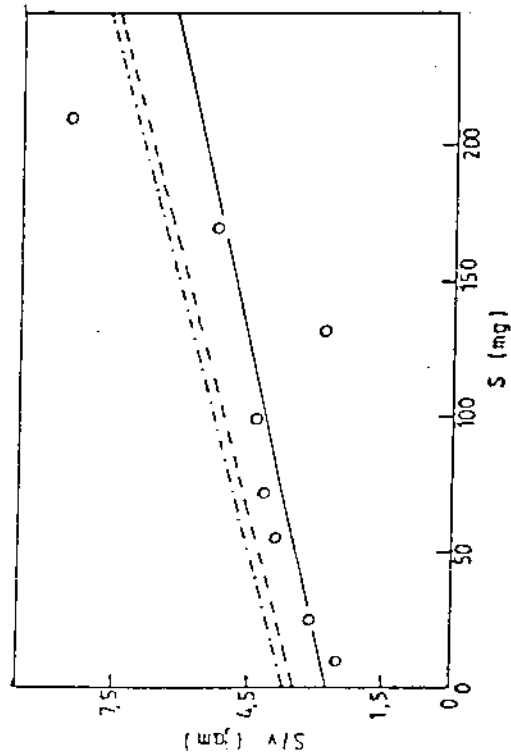
Gambar 27c Kurva Hanes-Woolf ( $S/v$ ) terhadap ( $S$ ) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (---), 500 mg (—, o), dan 750 mg (-----) dari subyek IW



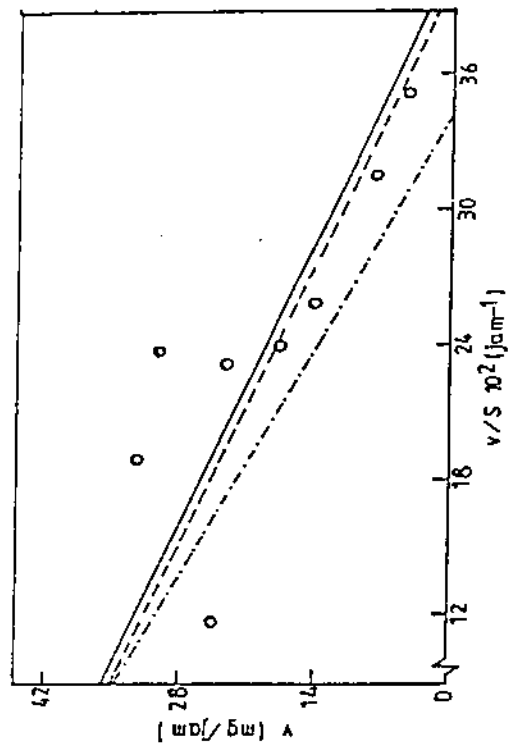
Gambar 283 Kurva Asam Salisilat total yang belum terokreski terhadap waktu, dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (o), 500 mg (•), dan 750 mg(x) dari subyek KD.



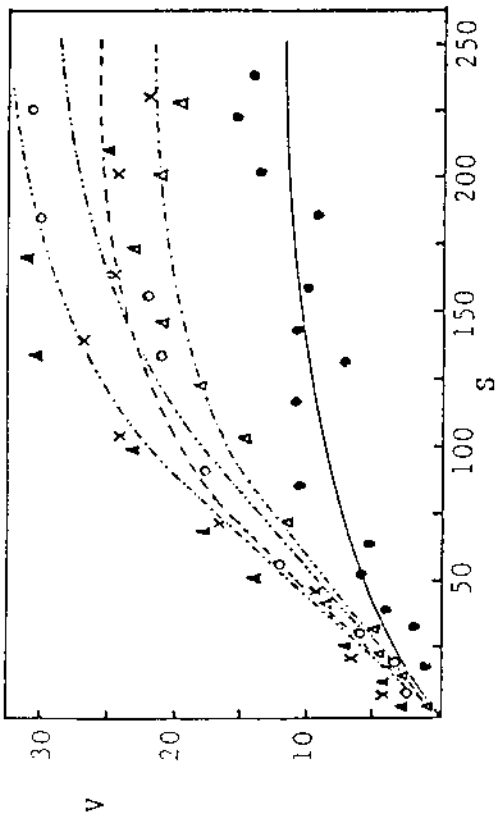
Gambar 28b Kurva Lineweaver-Burk (1/v) terhadap (1/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (—, o), 500 mg (---, o), dan 750 mg (-·-·-) dari subyek KD.



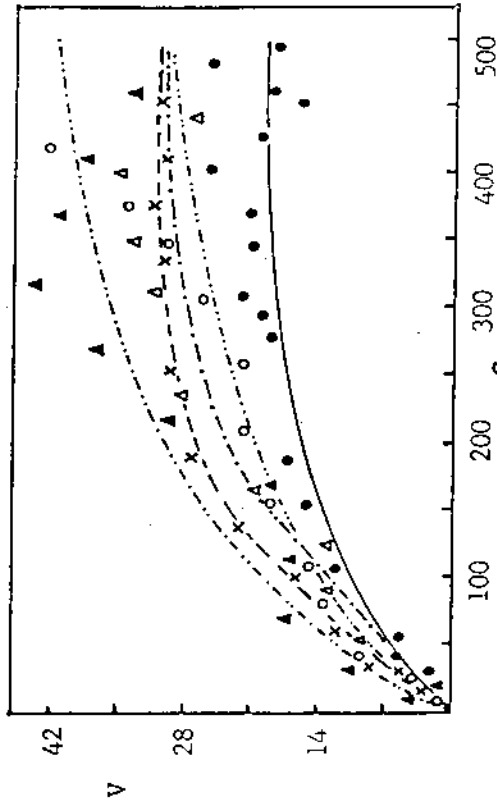
Gambar 28c Kurva Hanes-Woolf (S/v) terhadap (S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (—, o), 500 mg (---, o), dan 750 mg (-·-·-) dari subyek KD.



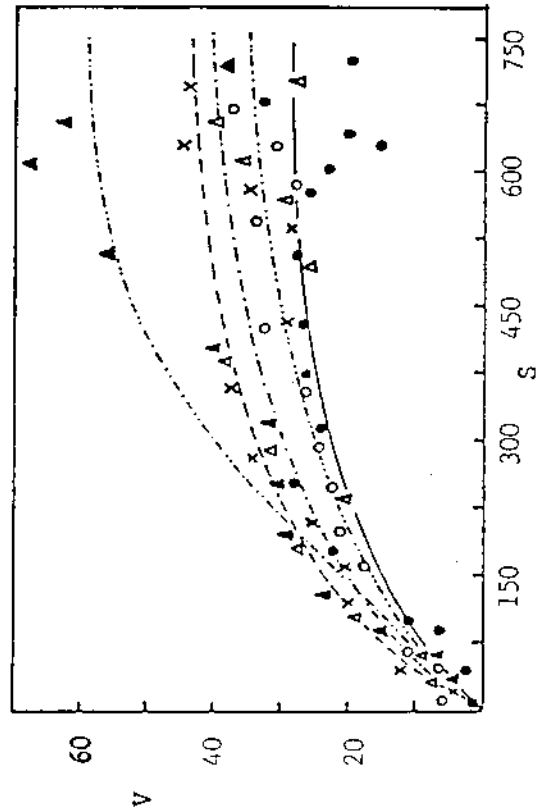
Gambar 28d Kurva Augustinsson-Hofstee (v) terhadap (v/S) dengan Asam Salisilat dosis 250 mg (—, o), 500 mg (---, o), dan 750 mg (-·-·-) dari subyek KD.



Gambar 29 : Kurva v terhadap S, dari subyek FR (●), TD (o), RD (x), IW (Δ) dan KD (▲) dengan dosis 250mg AS



Gambar 30 : Kurva v terhadap S dari subyek FR (●), TD (o), RD (x), IW (Δ) dan KD (▲) dengan dosis 500 mg AS



Gambar 31 : Kurva v terhadap S dari subyek FR (●), TD (o), RD (x), IW (Δ) dan KD (▲) dengan dosis 750 mg AS.

BAB V  
P E M B A H A S A N

Telah dilakukan analisis kinetika nonlinier dengan persamaan Michaelis-Menten dan analisis kinetika linier order pertama, pada model obat salisilat dengan menggunakan data urin pada subyek normal. Dengan kinetika linier diteliti eliminasi asam salisilat yang terjadi pada peningkatan dosis dan dengan kinetika nonlinier diteliti kinetika pembentukan asam salisilat (SU). Laju pembentukan SU dan besarnya asam salisilat (AS) yang belum terekskresi dalam urin, ditentukan dari asam salisilat-total ( $AS_T$ ), yang diperoleh dari hidrolisa metabolit konjugasi yang terbentuk dalam proses metabolisme yang terjadi pada subyek manusia (Davison ; 1971; Levy, 1972a).

Analisis kimia dilakukan terhadap SU dan  $AS_T$  dalam urin (Levy, 1968; Chiou, 1974), yaitu ekstraksi dengan  $CCL_4$  dalam HCL 6 N, terlarut AS bebas, sedang ekstraksi dengan  $C_2H_4Cl_2$  dalam HCL 6 N, terlarut AS bebas dan SU. Di dalam  $CCL_4$ , SU tidak terlarut, karena dengan larutan baku 1000  $\mu g/ml$  SU, pada  $\lambda$  maks, absorpsinya hanya 0,019. Penentuan AS dan SU dilakukan

dengan ekstraksi kembali fase organik dengan penambahan pereaksi  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , dan diamati pada  $\lambda_{\text{maks}} = 530 \text{ nm}$  (Gb. 20, 21). Harga  $\text{AS}_T$  didapat dari hasil hidrolisa urin pada pemanasan  $100^\circ\text{C}$  selama 17 jam dalam HCL pekat (Chiou, 1974).

Kurva baku AS dengan ekstraksi  $\text{CCL}_4$  mempunyai korelasi,  $r = 0,9983$ , AS dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ ,  $r = 1,9872$ , SU dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ ,  $r = 0,9987$  dan  $\text{AS}_T$  dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ ,  $r = 0,9981$ . Harga  $r > r_{\text{tabel}} = 0,959$  ( $P < 0,01$ ). Persamaan regresi kurva baku dari masing-masing senyawa tersebut dengan prosedur ekstraksinya, dapat dilihat pada Tabel I.

Penemuan kembali ("recovery") dilakukan untuk setiap subyek dengan kadar yang sama dengan pada penentuan kurva baku. Penemuan kembali kadar AS dengan ekstraksi  $\text{CCL}_4 = (90,4 - 97,7\%)$ ,  $\text{SD} = (1,4 - 2,3\%)$ , kadar AS dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2 = (97,7 - 99,0\%)$ ,  $\text{SD} = (1,0 - 2,2\%)$ , kadar SU dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2 = (96,4 - 99,2)$ ,  $\text{SD} = (1,5 - 2,1\%)$ ,  $\text{AS}_T$  dengan ekstraksi  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2 = (97,8 - 99,3\%)$ ,  $\text{SD} = (1,2 - 2,0\%)$ . Hal ini menunjukkan bahwa ketepatan dan ketelitian metode ini cukup baik untuk dapat digunakan dalam percobaan ini. Persamaan regresi kurva baku "recovery" dapat dilihat pada Tabel II, dan Gb. 22, 23 .

Sediaan diberikan dalam bentuk larutan Natrium Salisilat dalam air dengan dosis tunggal masing-masing setara 250, 500 dan 750 mg AS. Sediaan ini merupakan sediaan yang dapat terabsorpsi sempurna (Levy, 1968, 1972a). Waktu penampungan sampel urin sampai dengan 72 jam setelah pemakaian obat, adalah merupakan  $t_{\infty}$  (Levy, 1972a) (Tabel III - XVII). Hal ini sesuai dengan kenyataan bahwa SU untuk subyek FR dengan dosis 750 mg terdeteksi dalam urin sampai 66 jam, sedangkan untuk subyek lainnya, tidak terdeteksi lagi setelah 40 jam.

Pengamatan kadar sampel urin pada spektrofotometer dilakukan dalam rentang harga absorpsi 0,027 - 1,217, yang merupakan pengamatan dalam batas kesalahan < 5%. Hal ini dapat dibuktikan dengan rumus  $\frac{\Delta c}{c} = \frac{0,434}{T} \frac{\Delta T}{\log T}$  (Skoog, 1971), dimana alat tersebut mempunyai kesalahan "transmittance"  $\Delta T = 0,3\%$ .

$\Delta c/c$  adalah kesalahan relatif kadar,  $\Delta T$  kesalahan "transmittance" dan T pembacaan "transmittance". Apabila  $\Delta c/c = 5\%$  dan  $\Delta T$  alat = 0,3%, maka  $T_1 = 0,938$ ,  $T_2 = 0,014$  dan didapat harga  $A_1 = 0,027$ ,  $A_2 = 1,852$ . Dengan demikian rentang pembacaan absorpsi 0,027 - 1,852 merupakan batas kesalahan < 5%.

Hasil perhitungan jumlah SU ( $X_u^{SU}$ ) dan ( $X_u^{AS}$ ) dalam

urin masing-masing subyek dapat dilihat pada Tabel III - XVIII. Penentuan jumlah AS yang belum terekskresi (S) dinyatakan dengan  $S = X_{u_s}^{AS_T} - X_{u_{kum}}^{AS_T}$ . Perhitungan ini di-

lakukan atas dasar bahwa metabolit salisilat yang terbentuk, terekskresi dengan cepat dalam urin (Scharhter, 1958). Hasil perhitungan S untuk masing-masing subyek dapat dilihat pada tabel III - XVII.

Analisis kinetik linier dengan harga S dan menggunakan metode "sigma minus" (Gibaldi, 1982) didapat kurva semilog S terhadap t (Gb. 24a-28a) yang menghasilkan harga K dan  $t_{\frac{1}{2}}$  ( $= 0,693/K$ ). Terlihat pada masing-masing subyek dengan 3 macam dosis, bahwa pada peningkatan dosis, terjadi penurunan harga K dan kenaikan harga  $t_{\frac{1}{2}}$  (Tabel XXV-XXVI). Dengan ANAVA untuk variabel dosis, didapatkan adanya perbedaan harga K dan  $t_{\frac{1}{2}}$  yang bermakna ( $P < 0,05$ , lihat Tabel XXV, XXVI, XXIX, XXX). Adanya perbedaan untuk variabel dosis menunjukkan adanya ketergantungan kinetika pada dosis ("dose-dependent kinetics") dan merupakan petunjuk bahwa eliminasi obat tersebut tidak mengikuti kinetika linier, atau dengan kata lain mengikuti kinetika nonlinier.

Analisis kinetika nonlinier selanjutnya dilakukan dengan menggambarkan kurva laju ekskresi SU (metabolit



utama) yang dinyatakan dengan  $v$  terhadap  $S$  (Gb. 29-31). Dari kurva ini terlihat ciri kinetika nonlinier yaitu adanya kejenuhan, dengan tercapainya laju metabolisme maksimum, yang diikuti oleh kinetika order nol dari kinetika Michaelis-Menten. Ini berarti bahwa penambahan substrat tidak berpengaruh pada laju maksimum metabolisme SU.

Dengan analisis menurut metode LB (Lineweaver-Burk), HW (Hanes Woolf) dan AH (Augustinsson-Hofstee) didapatkan kurva seperti yang terlihat pada gambar 24<sub>b,c,d</sub> sampai dengan 28<sub>b,c,d</sub>. Harga  $K_m$  dan  $V_m$  dari kurva tersebut untuk masing-masing subyek dengan 3 macam dosis dapat dilihat pada Tabel XVIII-XXII. Harga  $K_m$  dan  $V_m$  adalah suatu tetapan, sehingga apabila suatu reaksi kinetika memang mengikuti kinetika nonlinier, maka pada peningkatan dosis, harga  $K_m$  dan  $V_m$  akan konstan. Hal ini terbukti dengan analisis statistik untuk variabel dosis, secara ANAVA ( $P < 0,05$ ) harga  $K_m$  dan  $V_m$  tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Tabel XXVII, XXVIII).

Dari analisis terhadap kurva yang terjadi dengan metode LB, HW dan AH, dapat dilihat perwatakan berikut ini. Pada kurva LB (absis  $1/S$  dan ordinat  $1/v$ ) terlihat adanya penumpukan titik pada kadar substrat yang ting-

gi. Ini menyebabkan kesulitan untuk melihat adanya perubahan kinetik yang terjadi pada penambahan substrat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh La Du (1972), yang menyatakan bahwa penumpukan ini disebabkan oleh karena penggunaan "double reciprocal coordinates" yaitu  $1/S$  dan  $1/v$  (Gb. 24 a - 28 a).

Pada kurva HW (absis  $S$  dan ordinat  $S/v$ ) dan AH (absis  $v/S$  dan ordinat  $v$ ), adanya penumpukan titik dapat dihindari. Hal ini sesuai pula dengan yang dikemukakan oleh Shargel (1985). Perbedaan dari kedua metode ini ialah bahwa pada kurva HW (GB. 24c - 28c), penyebaran titik terletak sangat mendekati garis yang terjadi, sedang pada kurva AH, penyebaran titik tersebut, terletak tersebar yang kurang mendekati garis dari kurva yang terjadi. Dari pengamatan ini, terlihat bahwa pengolahan data dengan metode HW menghasilkan kurva yang lebih teliti dibandingkan terhadap kedua metode yang lain.

Adapun ketelitian perhitungan parameter farmakokinetik nonlinier yang diperoleh dengan ketiga metode tersebut, dapat diketahui dari Koefisien Variannya (KV). Harga KV dari  $K_m$  dengan 3 macam dosis pada subyek yang sama, seperti terlihat pada Tabel XXIII, dengan metode LB = 24,0%, metode HW = 3,9%, metode AH = 9,1%. Harga KV yang terkecil terdapat pada metode HW. Hal ini

menunjukkan bahwa metode HW mempunyai ketelitian yang terbaik di antara ketiga metode untuk penentuan  $K_m$ . Harga KV untuk  $V_m$ , seperti terlihat pada Tabel XXIV, dengan metode LB = 12,7%, metode HW = 8,6% dan metode AH = 7,1%. Perbedaan harga KV antara metode HW dan AH relatif kecil (1,5%). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh karena pada metoda AH, harga  $V_m$  diperoleh dari titik potong persamaan garis pada ordinat  $v$ , sedang pada metode HW,  $V_m$  diperoleh melalui perhitungan harga  $tg \alpha (= 1/V_m)$ . Dari data ini menunjukkan bahwa metode HW menghasilkan analisis sebagai berikut :

- penyebaran titik pada kurva lebih baik, yaitu mendekati kurva yang terjadi,
- KV harga  $K_m$  lebih kecil (KV terkecil),
- KV harga  $V_m$  masih mempunyai perbedaan yang relatif kecil (metode HW = 8,6%, metode AH = 7,1%).

Adapun Asam Salisilat sebagai model obat dalam penelitian ini, didasarkan pada sifat kinetiknya yang tidak mengalami siklus enterohepatik dan tidak mengalami "first pass effect" (Davison, 1971), sedangkan hasil metabolisme dalam urin (SU) dapat terdeteksi dan dapat diperhitungkan kembali sebagai senyawa induk (AS), yang dalam perhitungan dengan persamaan Michaelis-Menten, harga-harga tersebut masing-masing merupakan  $v$  dan  $S$ .

Selain itu, proses eliminasi AS merupakan kombinasi kinetika linier dan kinetika nonlinier, dan laju pembentukan metabolit SU merupakan laju penentu dalam rangkaian proses eliminasinya ("rate determining step") (Schachter, 1958; Levy, 1972 a).

Dari analogi pembahasan AS, maka apabila data urin ingin digunakan untuk analisis kinetika nonlinier suatu obat, hal ini dimungkinkan apabila :

- Substrat dapat diperhitungkan dari komponen (hasil urai) yang tereliminasi,
- Adanya metabolit utama yang terjadi dari reaksi nonlinier dapat terdeteksi,
- Laju pembentukan metabolit merupakan laju penentu ("rate determining step") dalam rangkaian proses kinetiknya.

Studi kinetika nonlinier mempunyai arti yang penting, mengingat bahwa sebenarnya kinetika nonlinier ini dapat terjadi pada proses ADME obat-obatan yang melibatkan kinetika yang kompleks, meliputi kinetika linier dan order nol atau gabungan kinetika linier dan nonlinier lainnya. Oleh karena itu analisis ADME obat yang didasarkan hanya pada kinetika linier, sering memberikan hasil yang dapat menyebabkan kesalahan interpretasi. DiSanto (1972) mengemukakan timbulnya kesalah-

an yang bermakna apabila kinetika linier diterapkan pada obat yang sebenarnya mengikuti kinetika nonlinier. Kinetika nonlinier juga mempunyai peranan penting dalam pengaturan dosis obat-obat tertentu, karena peningkatan dosis pada kinetika nonlinier dapat mengakibatkan kenaikan kadar obat di dalam darah yang sangat tinggi, sehingga dapat terjadi intoksikasi. Apabila harga  $K_m$  dan  $V_m$  suatu obat diketahui, maka terjadinya intoksikasi dapat dicegah, karena kadar obat dalam darah dapat dikendalikan. Dalam percobaan ini pada Asam Salisilat terlihat bahwa untuk dosis  $\geq K_m$  ( $\pm 200$  mg) telah menunjukkan adanya nonlinieritas. Selain parameter kinetik dasar Michaelis-Menten  $K_m$  dan  $V_m$ , kinetika nonlinier juga mempunyai cara perhitungan yang berbeda untuk bioavailabilitas, kadar tunak obat, waktu paruh biologik atau klirens. Hal tersebut membuka suatu kesempatan luas untuk perkembangan analisis kinetika nonlinier dalam penelitian kinetik obat-obatan secara *invivo*.

## BAB VI

## K E S I M P U L A N

Dari analisis farmakokinetika nonlinier menggunakan data urin dengan Asam Salisilat sebagai model obat pada lima subyek normal yang telah dilakukan, dapat dinyatakan bahwa :

- 1a. Perwatakan farmakokinetika linier dapat ditunjukkan dari harga parameter yang konstan untuk tetapan laju eliminasi ( $K$ ) dan waktu paruh biologik ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) pada setiap perubahan dosis.
- 1b. Perwatakan farmakokinetika nonlinier dapat ditunjukkan dari perubahan tetapan laju eliminasi ( $K$ ) dan waktu paruh biologik ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) pada setiap perubahan dosis, dan dari harga yang konstan untuk tetapan Michaelis-Menten  $K_m$  dan  $V_m$ , pada perubahan dosis  $> 0,1 K_m$ .
2. Analisis kinetika nonlinier dengan metode HW menghasilkan kurva yang lebih teliti, harga  $K_m$  mempunyai KV yang terkecil dan harga  $V_m$  mempunyai KV yang relatif tidak berbeda dengan metode AH.
- 3a. Dari data urin dapat ditunjukkan adanya perwatakan kinetika nonlinier dan dapat diperhitungkan harga  $K_m$  dan  $V_m$  suatu obat, apabila jumlah substrat dan metabolit dalam urin dapat ditentukan.

3b. Asam salisilat pada penelitian ini dapat digunakan untuk membedakan adanya kinetika linier dan terjadinya kinetik nonlinier oleh perubahan dosis.

## BAB VII

### SARAN-SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menganalisis parameter farmakokinetika nonlinier lainnya untuk harga klirens, kadar tunak, bioavailabilitas dari obat-obatan.
2. Perlu dilakukan penelitian analisis farmakokinetika lebih lanjut untuk membandingkan ketelitian hasil analisis antara data darah dan data urin.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mempergunakan dosis ganda dalam analisis kinetika nonlinier.



## BAB VIII

### R I N G K A S A N

Telah dilakukan analisis farmakokinetika nonlinier secara kinetika Michaelis-Menten dan kinetika linier order pertama menggunakan data urin dari lima subyek normal dengan AS sebagai model obat.

Analisis kimia untuk penentuan jumlah  $AS_T$  dan SU dalam urin menurut metode Levy dan Chiou mempunyai ketelitian dan ketepatan yang cukup baik. Hal ini ditunjukkan oleh koefisien korelasi dan persamaan garis yang memenuhi syarat dari kurva "recovery" untuk masing-masing subyek.

Setiap subyek mendapat 3 macam dosis tunggal, sediaan bentuk larutan Natrium Salisilat dalam air, setara 250, 500 dan 750 mg AS yang pemberian antar dosis dilakukan selang 1 minggu. Sampel urin ditampung sampai  $t_{\infty} = 72$  jam setelah pemberian obat. Setelah penetapan kadar  $AS_T$  dan SU dilakukan, ditentukan jumlah AS yang belum terekskresi (S) dan laju ekskresi SU (v).

Analisis kinetika linier dengan harga S dan metode "sigma-minus" memperlihatkan terjadinya penurunan harga tetapan laju eliminasi (K) dan kenaikan harga waktu paruh biologik ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) pada peningkatan dosis. Hal

ini menunjukkan adanya ketergantungan kinetika pada dosis ("dose-dependent kinetics") dan merupakan petunjuk bahwa eliminasi obat tersebut mengikuti kinetika nonlinier.

Analisis kinetika nonlinier dengan persamaan Michaelis-Menten dari kurva  $v$  terhadap  $S$  menunjukkan bahwa kinetika pembentukan SU mencapai kejenuhan dan merupakan proses kapasitas terbatas ("capacity-limited process"). Analisis kurva dan tetapan Michaelis-Menten ( $K_m$  dan  $V_m$ ) dengan metode LB, HW dan AH menunjukkan bahwa metode HW memberikan hasil yang paling teliti. Hal ini diperlihatkan oleh penyebaran titik pada kurva mendekati garis yang dihasilkan dari persamaan HW, harga  $K_m$  mempunyai koefisien varian yang paling kecil dan harga  $V_m$  mempunyai koefisien varian yang relatif tidak berbeda dengan metode AH dan lebih kecil daripada hasil per-hitungan dengan metode LB.

Penggunaan AS sebagai model obat untuk analisis farmakokinetika nonlinier dengan data urin dapat dilakukan, karena dari sifat kinetiknya diketahui bahwa AS tidak mengalami siklus enterohepatik dan tidak mengalami "first pass effect". Sifat lain ialah hasil metabolisme dalam urin dapat diperhitungkan kembali sebagai senyawa induk, eliminasi metabolit utama ber-

langsung, secara kinetika nonlinier, dan laju pembentukan metabolit utama merupakan laju penentu reaksi ("rate determining step").

Dengan menggunakan data urin, dan dengan AS sebagai model, dapat ditunjukkan perbedaan karakteristik dari kinetika linier dan kinetika nonlinier.

## BAB IX

### DAFTAR PUSTAKA

- Avery GS; 1980, Drug Treatment; 2<sup>nd</sup> Ed; Adis Press, Sidney : 1213.
- Blair D, Rumack BH, Peterson RG; 1978, Analysis for Salicylic Acid in Serum by High Performance Liquid Chromatography; Clin Chem 24 : 1543 - 1544.
- Bochner F, Graham GG, Cham BE, Imhoff DB, Haaviston TM; 1981, Salicylate Metabolite Kinetics after several Salicylates; Clin Pharmacol Therap 30 : 266 - 275.
- Borga O, Odar-Cederlof I, Ringberger VA, Norlin A; 1976, Protein Binding of Salicylate in Uremic and Normal Plasma; Clin Pharmacol Therap 20 : 464 - 475.
- Bowman WC, Rand MJ; 1980, Textbook of Pharmacology; 2<sup>nd</sup> Ed; Blackwell Scientific Publications, Oxford : 740.
- Cham BE, Bochner F, Imhoff BM, Byrne G, Gunsberg M; 1982, In Vivo and In Vitro Studies on the Binding of Salicylate to Human Plasma Proteins : Evidence for One Type of Binding Site; J Pharmacol Exp Therap 220 : 648 - 652.
- Chiou Wl, Inyemelukwe I; 1974, Simple Modified Colorimetric Method for Total Salicylate Assay in Urine after Salicylate Administration; J Pharm Sci 63 : 630 - 632.

- Curry SH; 1980, Drug Disposition and Pharmacokinetics; 3<sup>rd</sup> Ed; Blackwell Scientific Publications, London : 197 - 201.
- Davison C; 1971, Salicylate Metabolism in Man; Annals for the New York Academy of of Sciences 1979 : 249 - 268.
- Day R , Dromgoole SH, Furst DE, Hignite C, Paulus HE; 1981, Formation of Methyl Ester of Salicyluric Acid during Quantitation of Salicyluric Acid in Urine by High Performance Liquid Chromatography; J Pharm Sci 70 : 1090 - 1092.
- DiSanto AR, Wagner JG; 1972a, Pharmacokinetics of Highly Ionized Drugs I : Methylene Blue - Whole Blood, Urine, and Tissue Assays; J Pharm Sci 61 : 598 - 602.
- DiSanto AR, Wagner JG; 1972b, Pharmacokinetics of Highly Ionized Drugs II : Methylene Blue - Absorption, Metabolism, and Excretion in Man and Dog after Oral Administration; J Pharm Sci 61 : 1086 - 1090.
- DiSanto AR, Wagner JG; 1972c, Pharmacokinetics of Highly Ionized Drugs III : Methylene Blue - Blood Levels in the Dog and Tissue Levels in the Rat following Intravenous Administration; J Pharm Sci 61 : 1090 - 1094.

- DiSanto AR, Wagner JG; 1972d, Potential Erroneous Assignment of Nonlinear Data to the Classical Linear Two-Compartment Open Model; J Pharm Sci 61 : 552 - 555.
- Dixon MW, Penry JK, Pippenger CE (Ed); 1982, Antiepileptic Drugs; 2<sup>nd</sup> Ed; Raven Press, New York.
- Gibaldi M, Levy G; 1972, Dose Dependent Decline of Pharmacologic Effects of Drugs with Linear Pharmacokinetic Characteristics; J Pharm Sci 61 : 567 - 569.
- Gibaldi M, Perrier D; 1982, Pharmacokinetics; 2<sup>nd</sup> Ed; Marcel Dekker Inc New York : 271 - 318.
- Gibaldi M; 1984, Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics; 3<sup>rd</sup> Ed; Lea Febiger, Philadelphia : 206 - 226.
- Goldstein A, Aronow L, Kalman SM; 1974, Principles of Drug Action; 2<sup>nd</sup> Ed; John Wiley & Sons, New York : 227 - 289.
- Goodman LS, Gilman A; 1982, The Pharmacological Basis of Therapeutics; 7<sup>th</sup> Ed; Mac Millan Publishing Co New York : 325 - 358.
- Graham GG, Champion GD, Day RO, Paull PD; 1977, Patterns of Plasma Concentrations and Urinary Excretion of Salicylate in Rheumatoid Arthritis; Clin Pharmacol Therap 22 : 410 - 420.

- Hadi S; 1982, Statistik; Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi UGM, Yogyakarta : 367 - 430.
- Ho JC, Conway WD, Melethil S; 1986, Probenecid Disposition by Parallel Michaelis-Menten and Dose Dependent Pseudo-First-Order Processes; J Pharm Sci 75 : 664 - 668.
- Knoben JE, Anderson PO, Watanabe AS; 1980; Handbook of Clinical Drug Data; 4<sup>th</sup> Ed; Hamilton Press Inc Hamilton : 188.
- Kojima S, Tanaka R; 1974, Factors influencing Absorption and Excretion of Drugs. III. Effect of Fasting on Absorption and Excretion of Sodium Salicylate and Aspirin in Rabbits; Chem Pharm Bull 22 : 2270 - 2275.
- Kunka RL, Mattocks AM; 1979, Nonlinear model for Acetazolamide; J Pharm Sci 68 : 342 - 346.
- La Du BN, Mandel HG, Way EL; 1972, Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition; 1<sup>st</sup> Ed; the Williams & Wilkins Comp, Baltimore : 405 - 408.
- Lehninger AL; 1976 Biochemistry, 2<sup>nd</sup> Ed; Worth Publishers Inc, New York : 183 - 212.
- Levy G; 1965a, Salicylurate Formation - Demonstration of Michaelis-Menten Kinetics in Man; J Pharm Sci 54 : 496.

- Levy G; 1965b, Pharmacokinetics of Salicylate Elimination in Man; J Pharm Sci 54 : 959 - 967.
- Levy G, Amsel LP; 1966, Kinetics of Competitive Inhibition of Salicylic Acid Conjugation with glycine in Man; Biochem Pharmacol 15 : 1033 - 1038.
- Levy G, Procknal JA; 1968, Drug Biotransformation Interactions in Man I : Mutual Inhibition in Glucuronide Formation of Salicylic Acid and Salicylamide in Man; J Pharm Sci 57 : 1330 - 1335.
- Levy G, Vogel AW, Amsel LP; 1969a, Capacity-Limited Salicylurate Formation During Prolonged Administration of Aspirin to Healthy Human Subjects; J Pharm Sci 58 : 503 - 504.
- Levy G, Amsel LP, Elliott HC; 1969b, Kinetics of Salicyluric Acid Elimination in Man; J Pharm Sci 58 : 827 - 829.
- Levy G, Tsuchiya T, Amsel LP; 1972a, Limited Capacity for Salicyl Phenolic Glucuronide Formation and its Effect on the Kinetics of Salicylate Elimination in Man; Clin Pharmacol and Therap 13 : 258 - 268.
- Levy G, Tsuchiya T; 1972b, Salicylate Accumulation Kinetics in Man; N Engl J Med 287 : 430 - 432.
- Levy G, Yacobi A; 1975, Assessment of Aspirin Absorption Rate from Urinary Excretion Rate Measurements; J Clin Pharmacol 15 : 525 - 529.



- Levy G; 1978a, Clinical Pharmacokinetics of Aspirin; Pediatrics 62 : 867 - 872.
- Levy G, Giacomini KM; 1978b, Rational aspirin dosage regimens; Clin Pharmacol Therap 23 : 247 - 252.
- Levy G; 1979, Phamacokinetics of Salicylate in Man; Drug Metab Rev 9 : 3 - 19.
- Lin YJ, Weidler DJ; Garg BC, Wagner JG; 1978, Novel Method of Estimating Volume of Distribution of a Drug Obeying Mechaelis-Menten Elimination Kinetics; J Pharmacokin Biopharm 6 : 197 - 207.
- Markiewics A, Semenowics K; 1979, Time Dependent Changes in the Pharmacokinetics of Aspirin; Int J Clin Pharmacol Biopharm 17 : 409 - 411.
- Martis L, Levy RH; 1973, Bioavailability Calculation for Drugs showing simultaneous First Order and Capacity Limited Elimination Kinetics; J Pharmacokin Biopharm 1 : 283 - 293.
- McNamara PJ, Levy G, Gibaldi M; 1979, Effect of Plasma Protein and Tissue Binding on the Time Course of Drug Concetration in Plasma; J Pharmacokin Biopharm 7 : 195 - 206.
- Meislich H, Nechamkin H, Sharefkin J; 1983, Organic Chemistry; McGraw Hill, Singapore : 375.

- Mullen PW, Foster RW; 1979, Comparative evaluation of six techniques for determining the Michaelis-Menten parameters relating Phenytoin dose and steady-state serum concentrations; J Pharm Pharmacol 31 : 100 - 104.
- Needs CJ, Brooks PM; 1985, Clinical Pharmacokinetics of the Salicylates; Clin Pharmacokin 10 : 164 - 177.
- Pedersen PV; 1985, Novel Method of Calculating Absolute Bioavailability in Nonlinear Pharmacokinetics; J Pharm Sci 74 : 90 - 93.
- Peng GW, Gadalla MAF, Smith V, Peng A, Chiou WL; 1977, Simple and Rapid High Performance Liquid Chromatography Simultaneous Determination of Aspirin, Salicylic Acid and Salicylic acid in Plasma; J Pharm Sci 67 : 710 - 712.
- Reidl U; 1983, Determination of acetylsalicylic acid and metabolites in Biological Fluids by High Performance Liquid Chromatography; J Chromat 272 : 325 - 331.
- Reynolds EF, Prasad AB; 1982; Martindale The Extra Pharmacopeia; 28<sup>th</sup> Ed; The Pharmaceutical Press, London : 632 - 675.
- Ritschel WA; 1974, Laboratory Manual of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics; Drug Intelligence Publications Inc, Hamilton : 231 - 256.

- Ritschel WA; 1980, Handbook of Basic Pharmacokinetics; 2<sup>nd</sup> Ed; Drug Intelligence Publications Inc, Hamilton: 284 - 295.
- Rowland M, Riegelman S; 1967, Determination of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid in Plasma; J Pharm Sci 56 : 717 - 720.
- Rowland M, Benet LZ, Riegelman S; 1970, Two Compartment Model for a Drug and Its Metabolite : Application to Acetylsalicylic Acid Pharmacokinetics; J Pharm Sci 59 : 364 - 367.
- Rowland M, Riegelman S, Harris PA, Sholkaff SD; 1972, Absorption Kinetics of Aspirin in Man following Oral Administration of an Aqueous Solution; J Pharm Sci 61 : 379 - 385.
- Rumble RH, Robberts MS; 1981, Determination of Aspirin and its major metabolites in plasma by High Performance Liquid Chromatography without solvent extraction; J Chromat 225 : 252 - 260.
- Schachter D, Manis JG; 1958, Salicylate and Salicyl Conjugates; Fluorimetric Estimation, Biosynthesis and Renal Excretion in Man; J Clin Invest 37 : 800 - 807.
- Sedman AJ, Wagner JG; 1974, Quantitative Pooling of Michaelis-Menten Equations in Models with Parallel

- Metabolite Formation Paths; J Pharmacokin Biopharm 2 : 149 - 160.
- Seligson D; 1961, Standard Methods of Clinical Chemistry; Vol 3; Academic Press, New York : 194 - 199.
- Shargel L, Tu ABC; 1985, Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 2<sup>nd</sup> Ed; Appleton Century Crofts Connecticut : 253 - 278.
- Snedecor GW, Cochran WG; 1974, Statistical Methods; 6<sup>th</sup> Ed; The Iowa State University Press, Iowa : 299 - 334.
- Steel RGD, Torrie JH; 1981, Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach; 2<sup>nd</sup> Ed; McGraw Hill, Auckland : 195 - 233.
- Stoeckel K, McNamara PJ, McLean AJ, du Souich P, Lalka D, Gibaldi M; 1980, Nonlinear Pharmacokinetics of Indocyanine Green in the Rabbit and Rat; J Pharmacokin Biopharm 8 : 483 - 496.
- Thomas BH, Solomonraj G, Coldwell BB; 1973, The estimation of acetylsalicylic acid and salicylate in biological fluids by Gas Liquid Chromatography; J Pharm Pharmacol 25 : 201 - 204.
- Tsuchiya T, Levy G; 1972a, Biotransformation of Salicylic Acid to its Acyl and Phenolic Glucuronides in Man; J Pharm Sci 61 : 800 - 801.

- Tsuchiya T, Levy G; 1972b, Relationship between Dose and Plateau Levels of Drugs Eliminated by Parallel First-Order and Capacity-Limited Kinetics; J Pharm Sci 61 : 541 - 544.
- Turner P (Chairman); 1979, The Pharmaceutical Codex; 11<sup>th</sup> Ed; The Pharmaceutical Press, London : 834.
- Wagner JG; 1971, Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics; 1<sup>st</sup> Ed; Drug Intelligence Publications Inc, Hamilton : 302 - 330.
- Wagner JG; 1972, Properties of the Michaelis-Menten Equation and Its Integrated Form Which Are Useful in Pharmacokinetics; J Pharmacokin Biopharm 1 : 103 - 121.
- Wagner JG; 1973, A Modern View of Pharmacokinetics; J Pharmacokin Biopharm 1 : 363 - 401.
- Wagner JG; 1978, time to Reach Steady State and Prediction of Steady State Concentrations for Drugs Obeying Michaelis-Menten Elimination Kinetics; J Pharmacokin Biopharm 6 : 209 - 225.
- Wagner JG; 1979, Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics; 1<sup>st</sup> Ed; Drug Intelligence Publications Inc Hamilton : 247 - 283.
- Wagner JG, Popat KD, Das SK, Sakmar E, Movahhed H; 1981, Evidence of Nonlinearity in Digoxin Pharmacokinetics; J Pharmacokin Biopharm 9 : 147 - 166.

- Westlake WJ; 1973, the Design and Analysis of Comparative Blood Level Trials; In : Swarbrick J (Ed); Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences : Dosage Form Design and Bioavailability; Lea & Febiger, Philadelphia : 150 - 179.
- Wilson JT, Howell RL, Holladay MW, et-al., 1978, Gentisuric acid : Metabolic formation in Animals and Identification as a Metabolite of Aspirin in Man; Clin Pharmacol Therap 23 : 635 - 643.