

KETERSEDIAAN HAYATI SULFAMETOKSAZOL POLIMORFI IIA PADA KELINCI

THE SULPHAMETHOXAZOLE BIOAVAILABILITY OF POLYMORPH IIA IN RABBITS

Siti Nurasyiah dan Tedjo Yuwono
Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRAK

Sulfametoksazol merupakan antibakteri golongan sulfonamid. Biasanya obat ini dikombinasi dengan trimetoprim, dengan nama kotrimoksazol dan menghasilkan efek yang lebih poten. Tetapi bahan obat ini sangat sukar larut dalam air, sehingga menyebabkan kecepatan disolusinya menjadi sangat lambat. Dengan demikian pada proses absorpsinya, kecepatan disolusi menjadi langkah penentu. Salah satu upaya untuk meningkatkan kecepatan disolusi suatu obat dapat dilakukan melalui pembentukan polimorfi metastabil.

Penelitian sebelumnya, telah didapatkan suatu hasil modifikasi struktur internal kristal sulfametoksazol yaitu polimorfi IIA. Penelitian ini bertujuan melanjutkan hasil penelitian tersebut, untuk mengetahui ketersediaan hayatinya, yang diberikan dalam bentuk sediaan kapsul pada kelinci jantan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketersediaan hayati sulfametoksazol polimorfi IIA dapat meningkat dua kali dibanding polimorfi I. Perubahan parameter ketersediaan hayati kedua bentuk kristal tersebut, yaitu dari polimorfi I ke polimorfi IIA: luas daerah bawah kurva (AUC) meningkat dari 872 menjadi 1530 mg jam L⁻¹ waktu puncak (t_{maks}) lebih pendek dari 2 jam menjadi 0,9 jam dan kadar obat puncak (C_{p maks}) meningkat dari 104 menjadi 136 mg /L.⁻¹.

Kata kunci: ketersediaan hayati, polimorfi, sulfametoksazol.

ABSTRACT

Sulphamethoxazole, a sulphonamide antibacteria, is usually combined with trimetoprim, namely cotrimoxazole, to obtain higher potency. Because of the solubility of sulphamethoxazole in water is minute, its dissolution rate would be slow. Consequently, dissolution rate become the limiting step in the absorption process. In order to overcome this problem, therefore, some polymorph forms of sulphamethoxazole were created.

The previous study found a polymorph IIA crystal form, a new modified internal crystal structure of sulphamethoxazole. This study was a continuing investigation of the bioavailability of the polymorph IIA, in capsule dosage forms, in rabbits.

It was evident that the bioavailability of polymorph IIA was twice of that polymorph I. The bioavailability parameter changes of polymorph I to polymorph IIA were: the AUC increased from 872 to 1,530 mg hr L⁻¹, the peak time (t_{max}) increased from 2 hours to 0.9 hours, the blood plasma level peak (C_{p max}) increased from 104 to 136 mg/L⁻¹.

Key words: bioavailability, sulphamethoxazole polymorph

PENDAHULUAN

Pada penggunaan obat secara oral, bahan aktif obat dari sediaan akan mengalami beberapa proses, yaitu bahan aktif obat lepas dari bentuk sediaan, melarut dalam cairan gastrointestinal, kemudian diabsorpsi, didistribusikan ke berbagai jaringan tubuh, dan dalam tubuh akan mengalami proses eliminasi meliputi ekskresi dan biotransformasi.

Obat setelah diabsorpsi, akan mengalami proses eliminasi dengan tetapan kecepatan tertentu. Dengan demikian, proses absorpsi harus cepat agar kadar obat dalam plasma dapat naik sampai kadar efektif minimum (KEM) (Shargel dan Yu, 1993).

Sulfametoksazol merupakan obat antibakteri golongan sulfonamid. Obat ini biasa dikombinasi dengan trimetoprim untuk meningkatkan potensinya, dengan nama generik kotrimoksazol, tetapi sulfametoksazol sangat sukar larut dalam air. Kelarutannya 1 : 3400 (Nichols, 1995), dari kelarutannya ini dapat diperkirakan bahwa kecepatan disolusinya akan sangat lambat, yang pada kondisi *sink* antara kelarutan dan kecepatan disolusi mengikuti persamaan berikut (Carstensen, 1974):

$$dC/dt = D.A. C_s / V.h. \quad (1)$$

dengan, dC/dt = kecepatan disolusi, D = koefisien difusi, A = luas kontak obat dengan medium disolusi, V = volume medium disolusi dan h = tebal lapisan difusi. Disolusi yang lambat, maka kecepatan disolusi akan menjadi langkah penentu dalam proses absorpsinya (Kaplan, 1973), sehingga dengan upaya meningkatkan kecepatan disolusi akan disertai peningkatan absorpsinya. Hubungan antara kecepatan disolusi dan kecepatan absorpsinya, sesuai dengan persamaan (Tumer, *et al.*, 1970):

$$dQ/dt = D_m \cdot P_{m/s} \cdot A_m \cdot (C_{G.L} - C_{BI}) / X_m \quad (2)$$

dengan dQ/dt = kecepatan absorpsi, D_m = koefisien difusi, $P_{m/s}$ = koefisien partisi, A_m = luas bidang absorpsi, $C_{G.L}$ = kadar obat dalam cairan saluran cerna, C_{BI} = kadar obat data sampel darah dan X_m = ketebalan membran.

Dari persamaan (2), jika harga C_{BI} dapat diabaikan karena $C_{G.L} \gg C_{BI}$, maka kecepatan absorpsi obat akan sebanding dengan kadar obat yang larut dalam cairan gastrointestinal, yang kadarnya sangat ditentukan oleh kecepatan disolusi obat.

Salah satu upaya untuk meningkatkan kecepatan disolusi tersebut dapat dilakukan melalui pembentukan polimorfi metastabil, yang pada umumnya lebih mudah larut daripada bentuk kristal yang stabil (Haleblian, 1975).

Yang dan Guillory (1972), menemukan adanya polimorfi pada sulfametoksazol. Ada tiga macam polimorfi sulfametoksazol yang ditemukan, yaitu polimorfi I, II dan III. Dari termogram masing-masing terlihat adanya perbedaan, polimorfi I langsung melebur pada suhu 167° C, sedangkan pada polimorfi II dan III dijumpai adanya perubahan bentuk kristal berturut-turut dengan suhu transisi 125° C dan 163° C, kemudian baru melebur.

Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan bentuk polimorfi baru sulfametoksazol, yaitu yang diberi nama polimorfi IIA. Polimorfi ini menghasilkan kecepatan disolusi intrinsik lebih besar daripada polimorfi I (Yuwono dan Namtini, 1991). Termogram DTA polimorfi IIA mirip dengan polimorfi II hasil penemuan Yung dan Guillory (1972). Perbedaan hanya pada energi transisi yang pada polimorfi IIA lebih besar, tetapi spektra inframerahnya berbeda. Tujuan penelitian ini adalah melanjutkan temuan tersebut ke tingkat absorpsi dan bioavailabilitasnya.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sulfametoksazol (derajat farmasi), kelinci jantan dengan berat 2 - 2,5 kg (keturunan kelinci Australia) yang diperoleh dari peternak di Wonosari, Yogyakarta, berbagai macam pelarut derajat p.a. (E Merck), dan es kering buatan sendiri.

Jalan Penelitian

Pembuatan polimorfi I: Sulfametoksazol dilarutkan dengan pemanasan pada suhu didih di atas penangas air sampai mendekati keadaan jenuh. Larutan tersebut tetap berada di atas penangas air dan dibiarkan mendingin sampai suhu kamar sehingga terbentuk kristal. Kristal yang terbentuk disaring dengan penyaring Buchner kemudian dikeringkan dengan eksikator. Kristal yang diperoleh dihaluskan dan diayak dengan nomor ayakan 40/80.

Pembuatan polimorfi II dan polimorfi IIA

Sulfametoksazol dilarutkan dalam metanol (untuk polimorfi II) dan etanol (untuk polimorfi IIA) pada suhu didihnya di atas penangas air sampai mendekati kejenuhan. Larutan tersebut segera didinginkan di atas es kering sambil diaduk hingga terbentuk kristal. Kristal yang terjadi disaring dengan penyaring Buchner lalu dikeringkan dalam eksikator vakum. Kristal yang diperoleh dihaluskan dan diayak dengan ukuran ayakan 40/80.

Pembuatan spektra inframerah

Kira-kira 300 mg kalium bromida *pro spectrophotometry*, dihaluskan dengan *vibrating mill* selama 2 menit, kemudian kira-kira 2 mg hasil rekristalisasi ditambahkan dan dicampur dengan alat yang sama selama 30 menit. Campuran ini lalu dibuat *pellet* dengan tekanan 5 ton selama 3 menit hingga diperoleh *pellet* yang transparan. *Pellet* KBr ini kemudian direkam spektranya dengan spektrofotometer inframerah Shimadzu IR-435.

Penentuan kadar sulfametoksazol dalam plasma darah

Kelinci jantan dengan berat 2 - 2,5 kg dipuasakan selama 24 jam. Hewan percobaan ini dibagi secara acak menjadi dua kelompok, masing-masing terdiri dari 3 ekor. Rancangan uji dilakukan secara silang (*Cross over design*). Sulfametoksazol diberikan dalam bentuk kapsul dengan takaran 100 mg/kg berat badan.

Sampel darah diambil dari *vena marginalis* pada telinga. Sampel darah yang diambil, sebanyak 2 ml tiap kali pengambilan. Sampel tersebut masing-masing ditambah 3,8 ml larutan natrium klorida 0,9 % dan 1,0 ml larutan asam triklorasetat 20 %. Setelah dicampur dengan baik dengan *vortex mixer*, dibiarkan selama 10 menit, lalu dipusing dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan selanjutnya ditetapkan kadarnya berdasarkan reaksi Brattan-Marshall (Richterich dan Colombo (1981), yaitu sebanyak 2,0 ml ditambah 0,1 ml larutan natrium nitrit 0,1 % , setelah dicampur dengan baik lalu dibiarkan selama 10 menit. Campuran ini lalu ditambah 0,2 ml larutan amonium sulfamat 0,5 % , dicampur dengan baik didiamkan selama 5 menit dan ditambah 0,2 ml larutan N (1-naftil) etilendiamonium klorida 0,1 % dalam etanol. Setelah dicampur, dibiarkan selama 10 menit ditempat yang gelap lalu ditambah 4,0 ml air. Warna yang terjadi diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimumnya (514 nm) dengan spektrofotometer UV-VIS, NIR Shimadzu UV-365.

Dengan cara yang sama dibuat kurva baku, yang terdiri dari larutan sulfametoksazol dalam darah dengan kadar 1,90, 2,65, 3,80, 5,0, 6,0, 9,0, 11,40, dan 13,25 mg %.

Analisis Data

Analisis kristal sulfametoksazol dilakukan dengan membandingkan profil spektra inframerah hasil penelitian Yang dan Guillory (1972) dan hasil penelitian Yuwono dan Namtini (1991). Sedangkan analisis ketersediaan hayatinya dilakukan dengan membandingkan secara statistik harga tetapan kecepatan absorpsi (k_a) dan ketiga parameter ketersediaan hayati antara polimorfi dan pofimorfi IIA sulfametoksazol, yang diberikan dalam bentuk kapsul meliputi: t_{maks} , $C_{p_{maks}}$, k_a dan AUC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian Yuwono dan Namtini (1991) pofimorfi II dan IIA sulfametoksazol dapat terbentuk jika kristafisasinya dilakukan dengan pendinginan cepat dari larutan yang pelarutnya memiliki tetapan dielektrik di atas 25,7. Pada penelitian ini digunakan pelarut metanol dan etanol, yang beturut-turut memiliki tetapan dielektrik 32,6 dan 30.

Hasil kristalisasi dengan pelarut metanol dengan cara pendinginan lambat dan pendinginan cepat dengan bantuan es kering diperoleh spektra seperti terlihat pada gambar 1a dan 1b. Sedangkan dengan pelarut etanol disertai pendinginan cepat, diperoleh spektra gambar 1c.

Dari spektra inframerah tersebut, jika dibandingkan dengan profit spektra inframerah peneliti sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa :

1. Polimorfi I: terbentuk dari hasil kristalisasi dengan pelarut metanol, dengan pendinginan lambat, dengan spektra gambar 1a.
2. Pofimorfi II: terbentuk dari hasil kristalisasi dengan pelarut metanol, dengan pendinginan cepat, dengan spektra gambar 1 b.

3. Polimorfi IIA: terbentuk dari hasil kristalisasi dengan pelarut etanol, dengan pendinginan cepat, dengan spektra gambar 1c.

Gambar 1. Spektra inframerah sulfametoksazol; 1a. polimorfi 1, hasil rekristalisasi lambat dengan pelarut metanol ; 1b. polimorfi II, hasil rekristalisasi dengan cepat dengan pelarut metanol ; 1c. polimorfi III hasil rekristalisasi dengan cepat dengan pelarut etanol.

Profil spektra, perbedaan nyata antara ketiga polimorfi tersebut terlihat pada daerah vibrasi regang N-H gugus amid, yang menyerap pada angka gelombang 3500 sampai 3100 cm^{-1} . Spektrum polimorfi IIA sulfametoksazol pada rentang angka gelombang tersebut, serapan kuat terjadi pada angka gelombang 3454 cm^{-1} , dan serapan lemah terjadi pada 3240 cm^{-1} , dan serapan sedang terjadi pada 3125 cm^{-1} . Pada daerah angka gelombang 1640 cm^{-1} sampai 1550 cm^{-1} , yaitu pada N-H amid tekuk, terlihat adanya puncak pada sekitar 1633 cm^{-1} . Puncak lain yaitu vibrasi regang S-O asimetri dan simetri, serapan terjadi pada 1327 cm^{-1} dan 1158 cm^{-1} dengan puncak tambahan pada 1134 cm^{-1} . Spektrum tersebut sama dengan spektrum hasil penelitian Yuwono dan Namtini (1991).

Hasil percobaan absorpsi *in vivo* sulfametoksazol yang diberikan dalam bentuk kapsul melalui pemberian oral pada kelinci jantan (Gambar 2), yaitu kurva hubungan antara kadar obat dalam darah sebagai fungsi waktu.

Gambar 2. Kurva kadar obat dalam darah sebagai fungsi waktu pada pemberian kapsul sulfametoksazol polimorfi I dan II A, pada kelinci jantan dengan dosis 100 mg/kg berat badan

Terlihat pada gambar 2 fase absorpsi sulfametoksazol berlangsung lama, yang dapat ditunjukkan dengan lama waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar puncak (t_{maks}). Lamanya waktu puncak ini disebabkan oleh kecilnya kelarutan sulfametoksazol, sehingga proses disolusinya selain lambat juga memerlukan waktu lama.

Hubungan antara logaritma kadar obat dalam darah sebagai fungsi waktu (Gambar 3) menunjukkan bahwa kinetika distribusi eliminasi sulfametoksazol mengikuti kompartemen dua dan fase eliminasinya terjadi setelah 6 jam. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa harga $t_{1/2\text{el}} = 9$ jam. Hasil ini sesuai dengan pendapat Ritschel (1980), $t_{1/2\text{el}}$ sulfametoksazol antara 6 sampai 9 jam.

Untuk membandingkan adanya perbedaan ketersediaan hayati antara polimorfi I dan polimorfi IIA, dilakukan dengan membandingkan harga tetapan kecepatan absorpsi (k_a) serta ketiga parameter ketersediaan hayati, meliputi luas daerah bawah kurva (AUC), kadar puncak (C_{maks}) dan waktu puncak (t_{maks}). Data perhitungan ini dapat dilihat pada tabel I.

Gambar 3. Kurva log kadar obat sebagai fungsi waktu pada pemberian kapsul sulfametoksazol polimorfi I dan IIA, pada kelinci jantang dengan dosis 100 mg/kg berat badan

Tabel I. Parameter ketersediaan hayati sulfametoksazol polimorfi I dan polimorfi IIA

Parameter ketersediaan hayati	Polimorfi I	Polimorfi IIA
AUC ($\text{mg}^{-1} \text{ jam}$)	872 + 57	1530 + 48
t_{maks} (jam)	2 + 0,4	0,9 + 0,2
C_{maks} (mg L^{-1})	104 + 2	136 + 4
k_a (jam^{-1})	1,3 + 0,8	2,3 + 0,5

Melalui uji-t terbukti bahwa ketersediaan hayati sulfametoksazol polimorfi IIA lebih besar daripada polimorfi I secara bermakna ($P < 0,05$). Fraksi obat yang terabsorpsi, yang digambarkan secara relatif oleh nilai AUC meningkat 86,7 %. Ini menginformasikan pula bahwa hampir 50 % sulfametoksazol polimorfi I tidak terabsorpsi. Sedangkan parameter yang lain yaitu C_{maks} meningkat kira-kira 30 % dari 104 mg L^{-1} menjadi 136 mg L^{-1} dan t_{maks} turun dari 120 menit menjadi 54 menit. Kedua data ini menunjukkan adanya peningkatan besarnya tetapan kecepatan absorpsi (k_a), dan ini terbukti pada data tabel I, yaitu meningkatnya harga k_a dari $1,3 \text{ jam}^{-1}$ menjadi $2,3 \text{ jam}^{-1}$. Hasil sejalan dengan hasil penelitian Yuwono dan Namtini (1991), yang pada penelitian tersebut terbukti ada peningkatan kecepatan disolusi secara bermakna antara polimorfi I dan polimorfi IIA. Sedangkan untuk bahan obat ini, kecepatan disolusi menjadi langkah penentu pada proses absorpsinya, sehingga adanya peningkatan kecepatan disolusi akan diikuti pula peningkatan kecepatan absorpsinya. Peningkatan absorpsi ini disebabkan oleh kelarutan kristal polimorfi IIA yang lebih besar daripada polimorfi I, bukan oleh adanya perbedaan ukuran partikel sulfametoksazol, karena sebelum percobaan masing-masing kristal sudah diayak lebih dulu dengan ukuran ayakan 40/80.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa:

Polimorfi I, II dan IIA sulfametoksazol dapat diperoleh dengan cara yang sama seperti yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Rekristalisasi lambat sulfametoksazol dengan pelarut metanol diperoleh polimorfi I, sedangkan rekristalisasi cepat dengan pelarut metanol dan etanol berturut-turut akan diperoleh polimorfi II dan polimorfi IIA.

Perubahan bentuk kristal dari polimorfi I menjadi polimorfi IIA dapat meningkatkan ketersediaan hayati secara bermakna. Fraksi obat yang terabsorpsi meningkat hampir dua kalinya. Harga tetapan kecepatan absorpsi (k_a) meningkat dari $1,3 \text{ jam}^{-1}$ menjadi $2,3 \text{ jam}^{-1}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Carstensen, J. T., 1974, Theories of Dissolution Single Particulate Systems in: Leeson L.J. and Carstensen, J. T. (Ed.) *Dissolution Technology*, The Industrial Pharmaceutical Technology Section of the Academy Pharmaceutical Science, Washington, D.C., 1-28.
- Haleblian, J. K., 1975, Characterization of Habits and Crystalline Modification of Solids and Their Pharmaceutical Applications, *J Pharm. Sci.*, 64, 1269 - 1288.
- Kaplan, S.A., 1973, Biopharmaceutics in the Preformulation Studies Stages of Drug Development in: Swarbrick, J. (Ed.), *Current Concepts in Pharmaceutical Science: Dosage Form Design and Bioavailability*, Chapter I, Lea & Febiger, Philadelphia, 2 - 30.
- Nichols, W. K., 1995, Anti-Infectives in: Gennaro, A. R., (Ed.), *The Science and practice of Pharmacy*, 19th Ed., Vol. II, Mack Publishing Company, Easton, 1263 - 1336.
- Richterich, R. and Colombo, L. P., 1981, *Clinical Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 467.
- Ritschel, W. A., 1980, Handbook of Basic Pharmacokinetics, 2nd, Drug Intelligence Publication, Inc., Hamilton, 322- 327.
- Shargel, L., and Yu, A. B. C., 1993, *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 3rd Ed., Appleton & Lange, Norwalk, 33 -45, 193 - 223.
- Turner, R.H., Mehta, C.S., and Benet, L.Z., 1970, Apparent Directional Permeability Coefficient for Drug Ions: *In Vitro* Intestinal Perfusion Studies, *J. Pharm. Sci.*, 59, 590 - 595.
- Yang, S. S. and Guillory, J. K., 1972, Polymorphism of Sulfonamide, *J. Pharm. Sci.*, 61, 26 - 40.
- Yuwono, T., dan Namtini, S. S., 1991, Pembentukan Polimorfi Sulfametoksazol, *MFI*, 2, 27 - 33.