

PERPUSTAKAAN
F.K.U.I.

QV
55
K71 Kad
N85p

PENGARUH AMINOFILIN TERHADAP KEADAAN TIDUR
YANG DITIMBULKAN OLEH DIAZEPAM
PADA KELINCI

Oleh
KADARSYAH



TESIS

e.1

untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar
M A G I S T E R
FARMAKOLOGI

pada
Fakultas Pascasarjana Universitas Indonesia
Jakarta

Oktober 1985

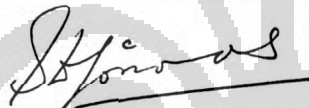
PENGARUH AMINOFILIN TERHADAP KEADAAN TIDUR
YANG DITIMBULKAN OLEH DIAZEPAM
PADA KELINCI

Tesis disetujui:



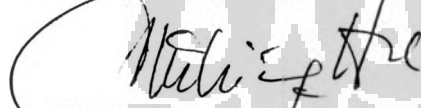
Dr. Rianto Setiabudy

Ketua



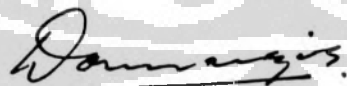
Dr. Sardjono O. Santoso

Anggota



Dr. Oen Liang Hie, MS

Anggota



Prof. Dr. Iwan Darmansjah

KBS IKD



Prof. DR. Goenawan Wardhana

Dekan FPS UI

KATA PENGANTAR

Diazepam merupakan obat yang sering digunakan, serta penggunaannya luas untuk berbagai keperluan. Seiring dengan hal di atas terdapat pula efek samping yang tidak menyenangkan, baik yang ringan maupun yang berat. Efek samping yang berat bahkan dapat menimbulkan koma serta depresi pernafasan, dimana diperlukan terapi suportif intensif untuk menanggulangnya. Dalam penelitian ini dilihat kemungkinan penggunaan aminofilin, suatu obat yang murah dan mudah didapat, sebagai antagonis diazepam.

Penulis ingin mengucapkan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Rianto Setiabudy selaku ketua komisi penasihat, atas segala bimbingan dan bantuannya sejak dari awal penelitian sampai selesainya tulisan ini disusun. Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan juga kepada anggota komisi penasihat lainnya, Dr. Sardjono O. Santoso dan Dr. Oen Liang Hie MS, atas segala bimbingan dan bantuannya.

Terima kasih ingin pula saya sampaikan kepada berbagai pihak yang memungkinkan penulis menyelesaikan pendidikan dan penulisan tesis ini, yaitu kepada:

1. Prof. DR. Ibrahim Hasan, MBA, Rektor Universitas Syiah Kuala Banda Aceh yang lalu serta pengganti beliau

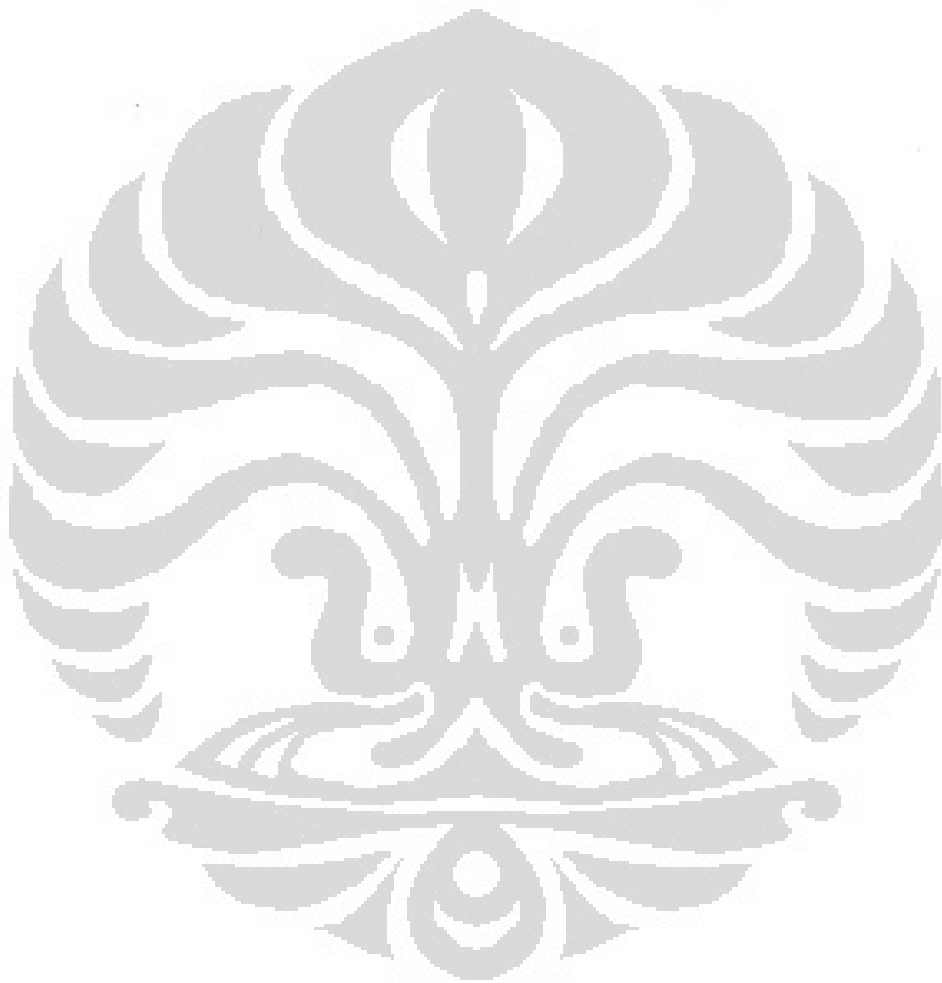
DR. Abdullah Ali, MSc; Dr. Abdulcholiq Chuseri, MSc, PhD, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala; Prof. Dr. Asri Rasad, MSc, PhD, selaku Koordinator Bidang Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang lalu serta pengganti beliau Prof. Dr. Iwan Darmansjah, yang juga selaku Kepala Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang lalu; Dr. Sardjono O. Santoso Kepala Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia saat ini. Atas izin dan bantuannya baik moril maupun materil dari beliau-beliau di atas, saya dapat mengikuti pendidikan lanjutan di bidang Farmakologi ini sampai selesai.

2. Dra. Arini Setiawati PhD, selaku Ketua Program Studi Farmakologi yang lalu serta pengganti beliau yaitu Dr. Sunaryo, yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama menempuh pendidikan saya ini.
3. Dr. Sunatrio, Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang memberikan saran dan penjelasan yang sangat berguna pada awal penelitian ini.
4. Tim Manajemen Program Doktor Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang memberikan beasiswa kepada penulis selama 2 tahun dan membiayai penelitian ini.
5. PT Roche Indonesia yang membantu penyediaan obat-obatan dan bantuan lainnya.

Akhirnya ucapan terima kasih saya sampaikan kepada istri tercinta, Ida Nurulhuda, atas segala pengertian dan

do'anya selama saya menempuh pendidikan maupun ketika menyusun tesis ini. Kepada kedua anak kami, Mohammad Raga dan Tara Qotrunnada, saya persembahkan tulisan ini semoga Allah menjadikannya anak yang saleh.

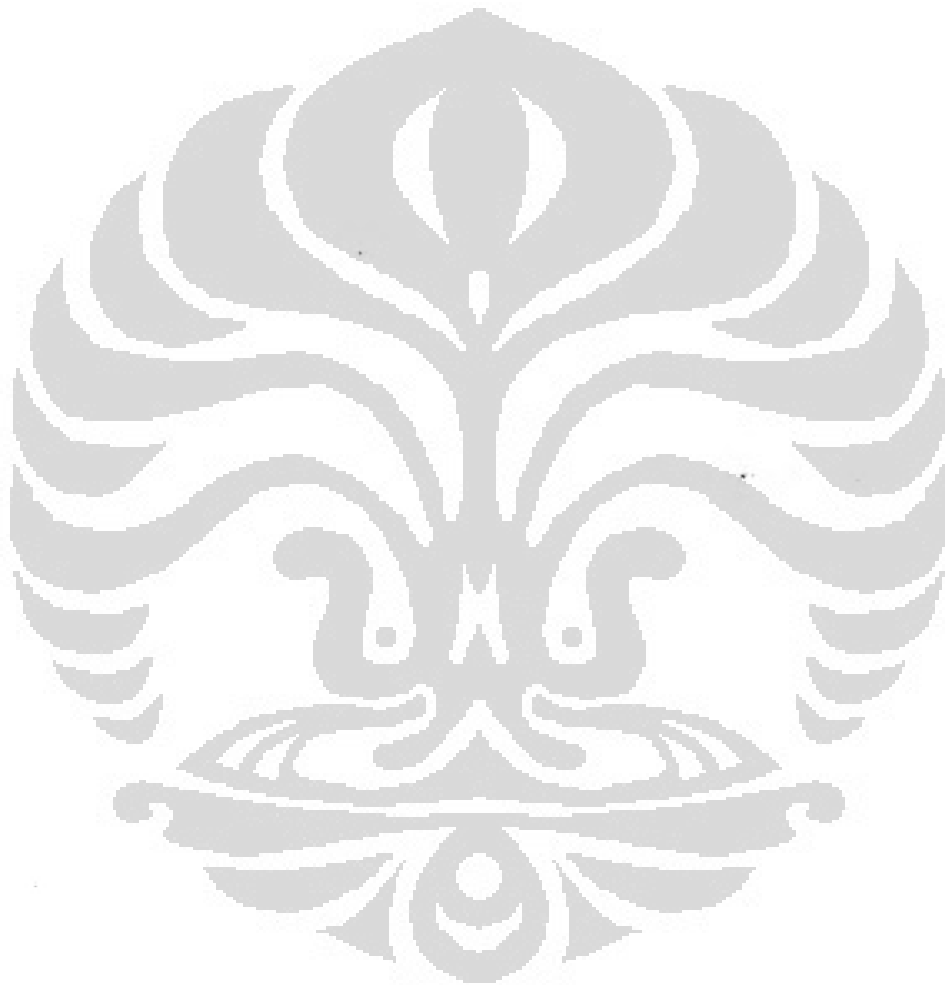
K.



DAFTAR ISI

| Bab | Halaman |
|---|---------|
| DAFTAR TABEL | viii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG | x |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar belakang dan permasalahan | 1 |
| B. Tujuan penelitian | 7 |
| C. Hipotesis | 7 |
| II. TINJAUAN KEPUSTAKAAN | 8 |
| A. Diazepam | 8 |
| 1. Struktur kimia | 8 |
| 2. Sifat-sifat kimia dan fisika | 9 |
| 3. Farmakodinamik | 9 |
| 4. Mekanisme kerja diazepam | 14 |
| 5. Farmakokinetik | 18 |
| 6. Efek samping | 22 |
| B. Aminofilin (Teofilin etilendiamin) | 23 |
| 1. Struktur kimia, sifat-sifat kimia dan fisika | 23 |
| 2. Farmakologi | 24 |
| 3. Mekanisme kerja teofilin | 25 |
| 4. Farmakokinetik | 26 |
| III. BAHAN DAN CARA | 28 |
| A. Hewan percobaan dan pemeliharannya | 28 |
| B. Alat-alat dan obat-obatan | 29 |
| C. Cara penyuntikan | 29 |
| D. Penilaian keadaan tidur | 30 |
| E. Disain percobaan | 34 |
| IV. HASIL | 38 |
| A. Penelitian pendahuluan | 38 |
| B. Penelitian akhir | 43 |

| Bab | Halaman |
|--|---------|
| V. DISKUSI | 49 |
| VI. RINGKASAN DAN KESIMPULAN | 56 |
| SUMMARY AND CONCLUSION | 58 |
| DAFTAR RUJUKAN | 60 |



DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| I. Jadwal pemberian obat | 36 |
| II. Variasi masa tidur pada kelinci setelah pemberian diazepam 6 mg/kg BB iv | 40 |
| III. Pengaruh pemberian aminofilin 1 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB pada kelinci | 42 |
| IV. Pengaruh pemberian aminofilin 5 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB pada kelinci | 45 |
| V. Pengaruh pemberian aminofilin 10 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB pada kelinci | 47 |
| VI. Perbandingan pengaruh pemberian 2 macam plasebo terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Struktur kimia diazepam | 8 |
| 2. Model yang menggambarkan hubungan antara reseptor GABA, pipa klorida dan reseptor benzodiazepin di membran plasma neuron | 19 |
| 3. Metabolisme diazepam | 21 |
| 4. Struktur kimia aminofilin | 24 |
| 5. Keadaan tidur kelinci | 32 |
| 6. Hubungan antara dosis diazepam dengan masa tidur pada kelinci | 39 |
| 7. Pengaruh pemberian aminofilin 1 mg/kg BB iv terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci | 41 |
| 8. Pengaruh pemberian aminofilin 5 mg/kg BB iv terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci | 44 |
| 9. Pengaruh pemberian aminofilin 10 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci | 46 |
| 10. Nekrosis pada telinga kelinci | 52 |

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| | | |
|-----------------|---|--|
| AMP | - | adenosin monofosfat |
| BB | - | berat badan |
| BW | - | body weight |
| BZ ₁ | - | reseptor benzodiazepin tipe 1 |
| BZ ₂ | - | reseptor benzodiazepin tipe 2 |
| cps | - | cycles per second |
| df | - | degree of freedom, derajat bebas |
| EEG | - | elektroensefalograf |
| EKG | - | elektrokardiograf |
| GABA | - | gamma aminobutyric acid |
| GAD | - | pyridoxal-phosphate-dependent glutamic acid decarboxylase |
| ³ H | - | isotop radioaktif tritium |
| iv | - | intravena |
| n | - | jumlah sample |
| non-REM | - | non rapid eye movement |
| p | - | probabilitas |
| PrCC | - | propyl-β-carboline-3-carboxylate |
| REM | - | rapid eye movement |
| SSP | - | susunan saraf pusat |
| SWS | - | slow wave sleep |
| t _½ | - | waktu paruh |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang dan permasalahan

Golongan benzodiazepin adalah salah satu golongan obat dari kelas ansiolitik sedatif (1). Benzodiazepin merupakan obat yang sering digunakan. Di Amerika Serikat setiap tahun ditulis kira-kira 100 juta resep benzodiazepin (2). Diazepam, salah satu obat golongan benzodiazepin, adalah merupakan obat ansiolitik sedatif yang paling sering digunakan (3). Pada tahun 1973 kira-kira 15% dari populasi orang dewasa di negara-negara Barat paling sedikit satu kali menggunakan benzodiazepin dalam tahun tersebut, yang digunakan untuk anti kejang, ansiolitik, atau hipnotik (4).

Benzodiazepin dapat menekan susunan saraf pusat (SSP) secara luas sehingga dapat digunakan juga sebagai obat antiepilepsi, pelemas otot, antiansietas, dan anestesia umum (2). Disamping penggunaannya yang luas benzodiazepin juga merupakan obat yang relatif aman, hampir tidak pernah terjadi kematian pada orang yang menelan dosis berlebihan (5). Angka kematian ('case fatality rate') keracunan diazepam dari suatu survai di 12 rumah sakit di Jakarta antara tahun 1971 sampai 1976 adalah sebesar 1,11%. Angka kematian

tersebut adalah angka kematian paling kecil di antara angka kematian dari 10 penyebab kasus keracunan akut dalam survai tersebut, yang berkisar antara 1,11 % - 42,5 % (6). Kedua hal di atas merupakan faktor-faktor yang ikut menyebabkan tingginya penggunaan benzodiazepin.

Diazepam merupakan obat golongan benzodiazepin yang paling sering digunakan untuk premedikasi anestesia (7). Diazepam intravena juga digunakan untuk induksi anestesia (8).

Korelasi antara kadar plasma diazepam dan respon kliniknya ternyata lemah atau tidak konsisten (9). Terdapat beberapa sebab yang mungkin dapat menjelaskan hal tersebut. Pertama: sebab-sebab yang bersumber dari keadaan klinis penderita, misalnya adanya remisi spontan dari beberapa penderita; kondisi klinis yang tak menentu karena tergantung faktor luar (stres) dan respon plasebo yang berbeda-beda dari tiap penderita (orang yang tergolong sebagai 'placebo reactors' akan bereaksi berlebihan terhadap pemberian diazepam). Kedua: faktor farmakokinetik disebabkan oleh metabolit-metabolit diazepam yang aktif (derivat desmetil, temazepam, oksazepam). Pemberian satu dosis diazepam tertentu akan menghasilkan jumlah metabolit-metabolit yang bervariasi dari satu penderita ke lain penderita. Adanya induksi enzim-enzim hati setelah pemakaian diazepam jangka lama juga menyebabkan kadar diazepam darah yang berbeda-beda pula. Ketiga: faktor teknis. Yang dimaksud bukan teknik pengukuran diazepam dalam plasma (pengukuran

kadar plasma cukup memuaskan) melainkan teknik pengukuran kondisi klinis penderita, misalnya pengukuran derajat ansietas (9).

Keadan-keadaan di atas ternyata sesuai dengan pengalaman klinis selama ini. Dari pengalaman-pengalaman klinis, diketahui bahwa dosis diazepam mempunyai variasi interindividu yang besar. Kadang-kadang pada pemberian intravena dengan dosis antara 5 - 30 mg dapat menimbulkan tidur yang lama sekali bahkan sampai koma yang dalam¹. Pernah dilaporkan efek samping pemberian diazepam intravena dengan dosis yang lebih rendah yaitu 2,5 mg selain timbul koma juga disertai dengan depresi pernafasan (10). Penggunaan diazepam intravena untuk induksi maupun sebagai obat tambahan untuk mendapatkan efek amnesia pada anestesia umum kadang-kadang menimbulkan masalah, yaitu memanjangnya keadaan somnolen pasca operasi terutama bila diazepam diberikan dalam dosis besar (11). Kejadian efek samping maupun keracunan akan meningkat seiring dengan meningkatnya penggunaan diazepam. Keracunan akut diazepam di Jakarta terlihat meningkat dari tahun ke tahun. Tahun 1971/1972 ada 7 kasus, tahun 1973/1974 ada 29 kasus, tahun 1975/1976 ada 54 kasus, tahun 1977/1978 ada 56 kasus (6,12).

Untuk menanggulangi keadaan-keadaan di atas terapi yang diarahkan kepada pemeliharaan fungsi vital yaitu tera-

¹ Komunikasi pribadi dengan Dr. Sunatrio, Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta.

pi suportif intensif merupakan pilihan utama (13). Di tempat-tempat terpencil dengan fasilitas dan tenaga pelayanan kesehatan yang kurang memadai, terapi suportif dan perawatan intensif sulit dikerjakan. Karena itu akan ideal bila ada suatu antidotum spesifik. Hanya sayang obat demikian sampai saat ini belum ada. Oleh karena itu perlu dipikirkan pemberian obat yang secara lebih cepat mengakhiri efek diazepam yang tidak diinginkan tersebut.

Terdapat beberapa macam obat yang telah digunakan untuk menghilangkan efek diazepam tersebut di atas. Banyak peneliti seperti yang dikutip Larson et al (10) maupun mereka sendiri menggunakan fisostigmin intravena atau intramuskuler untuk menghilangkan efek diazepam yang tidak diinginkan tersebut. Fisostigmin dapat menembus sawar darah otak, mempunyai efek menghambat enzim kolinesterase sehingga menyebabkan peningkatan asetilkolin di otak terutama pada 'reticular activating system'. Peningkatan asetilkolin pada 'reticular activating system' ini menyebabkan terjaga (berefek 'general arousal') (10,14). Pada penelitian lain pemberian fisostigmin-atropin (pemberian atropin bertujuan untuk menghindari efek muskarinik fisostigmin yang tidak menyenangkan) ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibanding dengan pemberian larutan garam fisiologis dalam hal kecepatan bangun atau perbaikan fungsi psikomotor setelah sedasi oleh diazepam (15). Penelitian-penelitian di atas mungkin menunjukkan bahwa fisostigmin memperlihatkan hasil yang tidak konsisten untuk melawan

efek diazepam tersebut (16).

Obat lain yang pernah dicoba yaitu nalokson. Beberapa kasus memperlihatkan hasil yang memuaskan, antara lain dengan dosis 0,1 mg dapat menghilangkan gejala-gejala pada keracunan diazepam pada seorang anak berumur 27 bulan (17); dosis 0,4 mg/70 kg berat badan (BB) dapat menghilangkan koma, dan dosis 1,2 mg/70 kg BB dapat menghentikan depresi pernafasan yang disebabkan oleh diazepam (18). Di lain pihak terdapat laporan yang tidak mendukung hasil-hasil di atas. Dari suatu uji klinik dengan disain tersamar ganda ('double blind') ternyata nalokson 0,4 mg tidak memperlihatkan perbedaan yang bermakna dibanding dengan larutan garam faal untuk menghilangkan efek sedasi diazepam (19). Pada suatu uji yang terkontrol terlihat bahwa nalokson dosis besar (15 mg/70 kg BB) secara bermakna dapat mengurangi depresi pernafasan yang disebabkan pemberian diazepam intravena. Tampaknya nalokson dosis besar mempunyai efek terhadap SSP yaitu bekerja sebagai perangsang pernafasan (18). Diduga pemberian obat anestetik menyebabkan pelepasan morfin endogen di SSP yang dapat dihambat oleh nalokson (20). Berdasarkan penelitian-penelitian di atas tampaknya hal ini tidak cocok untuk menjelaskan kerja nalokson terhadap efek diazepam tersebut.

Selain relatif masih baru dan belum banyak dipelajari sebagai obat untuk melawan efek diazepam, aminofilin juga memperlihatkan beberapa segi yang menarik antara lain kemungkinan untuk mempengaruhi ligan endogen ('endogenous

ligand') dari reseptor benzodiazepin (4). Karena itu aminofilin dipilih untuk digunakan dalam penelitian ini. Terdapat beberapa penelitian yang memperlihatkan hasil yang memuaskan pada penggunaan aminofilin untuk menghilangkan efek diazepam.

Dalam suatu laporan kasus (16) disebutkan bahwa seorang laki-laki berumur 69 tahun dengan berat badan 56 kg, yang akan dilakukan sistoskopi dan reseksi transuretra, diberi induksi diazepam intravena sebanyak total 60 mg dalam jangka waktu 10 menit. Tiga puluh lima menit setelah penyuntikan diazepam terakhir penderita dalam keadaan tidak sadar (operasi telah selesai dilakukan), kemudian diberikan aminofilin 1 mg/kg BB intravena. Lima menit setelah penyuntikan aminofilin penderita sadar. Kadar aminofilin serum 1,9 mg/l (sampel berupa darah vena diambil 3 menit setelah pemberian aminofilin). Kadar aminofilin di atas berada di bawah kadar terapeutik teofilin untuk bronkodilatator yaitu 10 - 20 µg/ml.

Penelitian dengan 6 orang sukarelawan untuk melihat efek aminofilin intravena terhadap sedasi yang ditimbulkan oleh diazepam intravena dengan dosis 15 mg/kg BB memperlihatkan bahwa aminofilin 2 mg/kg BB intravena secara bermakna memperbaiki kewaspadaan ('vigilance') yang diukur dengan 'visual analogue scale' serta waktu reaksi ('reaction time'). Penelitian dilakukan secara acak, menyilang ('cross over'), serta tersamar ganda (21). Data-data yang mendukung dugaan bahwa aminofilin dapat digunakan untuk

menghilangkan efek diazepam masih terbatas. Oleh karena itu, untuk mendapatkan kesimpulan akhir perlu penelitian secara bertahap. Pada penelitian ini digunakan hewan percobaan yaitu kelinci. Ada beberapa alasan penggunaan kelinci dalam penelitian ini. Pertama: kriteria keadaan bangun pada kelinci dapat ditentukan dengan mudah dan jelas. Kedua: pemberian obat lebih mudah dilakukan dan dapat dipastikan masuk intravena. Ketiga: dengan melihat pola elektroensefalografi (EEG), kelinci telah digunakan dalam penelitian untuk melihat efek diazepam (22).

B. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui apakah pemberian aminofilin secara intravena dapat mempercepat pulihnya kesadaran dari keadaan tidur yang ditimbulkan oleh diazepam pada kelinci.

C. Hipotesis

Pemberian aminofilin secara intravena menyebabkan lebih cepat pulihnya kesadaran dari keadaan tidur yang ditimbulkan oleh diazepam pada kelinci, bila dibandingkan dengan pemberian NaCl fisiologis steril sebagai kontrol.

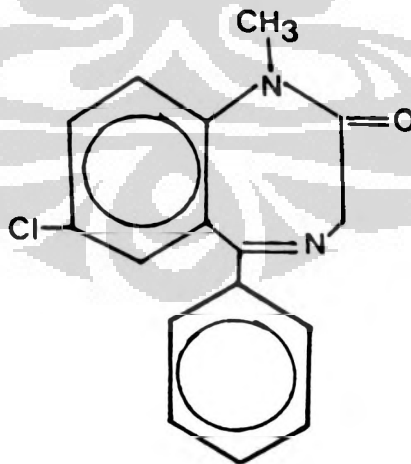
BAB II

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

A. Diazepam

1. Struktur kimia

Sampai saat ini telah disintesis lebih dari 2000 jenis benzodiazepin. Klordiazepoksid merupakan obat golongan benzodiazepin yang pertama kali disintesis pada tahun 1956. Tahun 1960 mulai diperkenalkan diazepam sebagai salah satu dari obat golongan benzodiazepin. Dengan rumus molekul



Gambar 1. Struktur kimia diazepam

Sumber: Farmakope Indonesia, 1979

$C_{16}H_{13}ClN_2O$. Mempunyai nama kimia 7-kloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2on, yang mempunyai struktur kimia seperti terlihat di atas (Gambar 1).

2. Sifat-sifat kimia dan fisika

Diazepam merupakan serbuk hablur putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, mula-mula tidak mempunyai rasa kemudian pahit. Agak sukar larut dalam air, tidak larut dalam etanol (95 %), mudah larut dalam kloroform. Berat molekul 284,74 (23).

Obat suntik diazepam terdapat dalam ampul dengan konsentrasi 5 mg/ml dengan pelarut organik yang terdiri dari propilen glikol, etil alkohol, natrium benzoat di dalam asam benzoat (24).

3. Farmakodinamik

a. Susunan saraf pusat (SSP). Pada percobaan dengan hewan terlihat adanya perbedaan spesies dalam respon terhadap diazepam. Pemberian diazepam dosis kecil pada kucing menimbulkan depresi sistem limbik tanpa disertai depresi korteks, dan hewan percobaan menjadi tenang. Pada tikus menyebabkan berkurangnya takut dan cemas tanpa menimbulkan sedasi yang jelas. Pada monyet diazepam lebih banyak menurunkan agresivitas daripada menurunkan aktivitas (24). Sedangkan pada kelinci menyebabkan tenang ('tranquilized state') (25).

Pada manusia diazepam dosis kecil menimbulkan keadaan

tenang, disebabkan adanya efek terhadap amigdala (bagian dari sistem limbik yang merupakan daerah 'relay' ekspresi emosi). Gambaran elektroensefalografi (EEG) mirip dengan gambaran EEG klordizepoksid, yaitu berupa gelombang aktivitas cepat voltase rendah sampai sedang, yang tetap bertahan selama seminggu setelah pengobatan dihentikan. Hal-hal di atas menyebabkan digunakannya diazepam untuk mengurangi ketegangan dan kecemasan. Diazepam mempunyai efek hipnotik, dimana dengan dosis 10 mg pada orang dewasa menyebabkan efek hipnotik. Untuk anestesia intravena diperlukan dosis diazepam yang lebih besar (24).

Tidur adalah keadaan tidak sadar untuk sementara waktu (26). Tingkatan-tingkatan ('stages') tidur dapat ditentukan dengan melihat pola gelombang pada EEG. Aktivitas gelombang EEG terdiri atas: gelombang alfa berupa gelombang sinusoidal dengan kecepatan 8 - 14 cps ('cycles per second') serta amplitudo tinggi, gelombang beta berupa amplitudo rendah dengan kecepatan 15 - 35 cps, gelombang delta berupa amplitudo tinggi dengan kecepatan 0,5 - cps, gelombang teta berupa amplitudo rendah dengan kecepatan 4 - 7 cps, 'spindles' berupa letupan-letupan gelombang dengan kecepatan 12 - 15 cps serta amplitudo tinggi dan tiap spindel berlangsung 0,5 detik, kompleks-K berupa gelombang negatif yang disertai gelombang positif dengan amplitudo tinggi yang kadang-kadang diselang oleh spindel-spindel. Dengan berpedoman gelombang-gelombang dari EEG tersebut disertai dengan ciri-ciri lainnya kita dapat membagi tidur dalam

beberapa tingkatan. Tingkat 0 ('stage' 0) yaitu keadaan terjaga terdapat gelombang-gelombang beta dan alfa. Bila kemudian mengantuk akan masuk ke tingkat 1, disini selain gelombang-gelombang beta dan alfa terdapat pula gelombang teta. Tingkat 0 dan 1 memanjang pada penderita insomnia. Kemudian akan memasuki tingkat 2, mulai muncul gelombang-gelombang spindel dan kompleks-K, subyek mudah dibangunkan. Kemudian akan memasuki tidur dalam atau 'slow-wave sleep' (SWS) yaitu tingkat 3 dan 4, ditandai dengan makin dominannya gelombang delta. Pada tingkat 3 subyek sukar dibangunkan, pada tingkat 4 subyek sangat sukar dibangunkan pada tingkat ini dapat terjadi 'night terrors' dan somnambulisme. Tingkat-tingkat di atas termasuk dalam tidur non-REM ('non Rapid Eye Movement'). Setelah itu akan memasuki tidur REM ('Rapid Eye Movement') ditandai dengan pergerakan bola mata yang cepat dengan gambaran EEG yang sama dengan keadaan mengantuk. Setelah tidur REM akan berulang ke tingkat 1,2,3,4 dan REM kembali demikian seterusnya, tingkat 0 bisa berulang pula terutama pada penderita insomnia. Tidur REM berlangsung antara 23 - 34 % dari seluruh masa tidur (2,27).

Diazepam memanjangkan waktu total masa tidur, memperpendek masa 'latency', dan mengurangi jaga selama tidur (28). Memperpendek tingkat 0, memperpanjang tingkat 1 dan 2 (tingkat 2 merupakan tingkat yang paling lama berlangsung) antara 40 - 52 % dari seluruh masa tidur), memperpendek tingkat 3,4, dan tidur REM. Menekan tidur dalam pada tingkat 4 menyebabkan diazepam dapat digunakan

mengobati 'night terrors' yang biasa timbul pada tidur tingkat 4 (2).

Pemberian diazepam intravena (iv) menimbulkan amnesia anterograd yang bersifat tergantung dosis ('dose related'). Bila disuntikkan dengan kecepatan 5 mg/menit efek puncak amnesia didapat 0,5 - 1 menit setelah penyuntikan selesai dan bertahan selama 5 - 15 menit. Pemberian dosis 0,3 mg/kg BB diazepam iv pada sukarelawan menyebabkan 90 % tidak ingat bahwa mereka telah dicubit kulit perutnya. Bila dosis diturunkan menjadi 0,15 mg/kg BB hanya 30 % mengalami amnesia. Dan bila dosis dinaikkan menjadi 0,45 mg/kg BB hasilnya sama dengan dosis 0,30 mg/kg BB. Dari penelitian di atas dan penelitian lainnya diduga penambahan dosis lebih dari 0,3 mg/kg BB lebih memanjangkan masa amnesia daripada penambahan kedalaman amnesia. Penyuntikan yang cepat menimbulkan efek sedatif dan amnesia yang lebih besar dibanding dengan penyuntikan lambat dalam dosis yang sama, tetapi lebih sering menimbulkan tromboflebitis (29).

Diazepam iv mempunyai efek analgesia selintas pada manusia, tetapi diazepam tidak meningkatkan sensitivitas terhadap nyeri somatik. Tidak dapat dipastikan apakah analgesia ini betul-betul suatu akibat efek analgesia diazepam ataukah akibat efek sedasinya (24).

Diazepam dapat menahan penyebaran letusan-letusan yang ditimbulkan pusat-pusat epilepsi di korteks, talamus, struktur limbik tetapi tidak menghilangkan letusan abnormal tersebut. Pada hewan memperlihatkan hasil yang efektif

sebagai antikonvulsi, setelah hewan diinduksi dengan pentametilentetrazol. Bekerja dengan menekan aktivitas polisinaptik pada medula spinalis, menekan aktivitas neuron sistem retikuler mesensefalon (30).

b. Sistem lain. Pada umumnya diazepam mempunyai efek minimal terhadap tekanan darah, denyut nadi. maupun gambaran elektrokardiografi (EKG). Dosis diazepam 0,6 - 0,8 mg/kg BB pada manusia menurunkan tekanan sistolik tidak lebih dari 20 mmHg. Tetapi walaupun demikian pernah pula dilaporkan terjadinya kolaps kardiovaskular pada seorang dewasa muda setelah pemberian 20 mg diazepam iv. Diazepam dosis lazim menyebabkan sedikit depresi pernafasan. Pernah dilaporkan adanya orang yang hipersensitif terhadap diazepam. Pemberian diazepam 10 mg iv pada seorang yang hipersensitif menyebabkan tidak sadar, apneu, dan sianotik setelah penyuntikan diazepam (24).

Diazepam mempunyai efek relaksasi otot. Terdapat perbedaan spesies dalam hal relaksasi otot ini. Dalam dosis yang sangat kecil pada kucing menyebabkan hipotoni. Hal ini terjadi juga pada mencit, tikus, dan monyet tetapi yang paling jelas pada kucing. Hal ini terjadi karena efek depresi terhadap neuron sumsum tulang belakang. Pada manusia efek relaksasi otot disebabkan karena efek depresi terhadap jalur-jalur polisinaptik di tingkat spinal maupun supraspinal. Diazepam dosis non-hipnotik dapat memperbaiki kejang otot pada sindroma 'stiff-man'. Tetapi pada peneli-

tian lain didapatkan hasil yang tidak menyokong. Pada penderita yang mengalami anestesia umum yang diberikan juga tubokurarin dosis tertentu dan disertai diazepam dengan dosis 2,5 - 10 mg menghasilkan relaksasi abdomen yang sama dengan penderita yang tidak diberi tambahan diazepam. Pada penelitian lain diazepam dosis 0,2 - 0,5 mg/kg BB tidak menghasilkan potensiasi yang bermakna baik dengan tubokurarin maupun suksinilkolin selama operasi abdominal (24).

4. Mekanisme kerja diazepam

a. Sistem 'gamma aminobutyric acid' (GABA). Di dalam SSP disamping terdapat neuron eksitasi terdapat pula neuron yang bersifat inhibisi yang sebagian besar terdiri dari sistem GABA. Diperkirakan antara 30 - 40 % sinaps pada SSP mamalia terdiri dari neuron yang ber-neurotransmitter GABA ('GABA-ergic'). Di semua bagian otak terdapat sejumlah besar GABA dengan kadar yang tinggi terdapat di substantia nigra, globus palidus dan hipotalamus. GABA dibentuk di dalam neuron GABA-ergik melalui dekarboksilasi asam glutamat oleh enzim 'pyridoxal-phosphate-dependent glutamic acid decarboxylase' (GAD). GABA disimpan di dalam vesikel-vesikel presinaptik yang akan dilepaskan bila ada depolarisasi di terminal akson. Setelah GABA dilepaskan ia akan masuk ke celah sinaps, dan kemudian akan sampai di reseptor GABA di membran pascasinaptik. GABA akan mengalami inaktivasi dengan cara diambil kembali oleh ujung saraf atau

diambil oleh sel-sel glia yang kemudian oleh enzim GABA transaminase menjadi 'succinic semialdehyde'.

GABA menimbulkan efek penghambatannya melalui interaksi dengan reseptor spesifik. Terdapat 2 tipe reseptor yaitu reseptor GABA_A dan reseptor GABA_B dikenal pula beberapa subtipenya. Peran dari reseptor GABA_B belum diketahui sehingga dalam pembicaraan selanjutnya yang dimaksud dengan reseptor GABA adalah reseptor GABA_A. GABA akan menduduki reseptor GABA di membran pascasinaptik yang akan menimbulkan pembukaan pipa klorida ('chloride channel') sehingga terjadi peningkatan aliran klorida ke dalam sel. Akibatnya timbul perubahan potensial membran dan timbul hiperpolarisasi neuron.

Efek GABA dapat dihambat oleh penyekat ('blocker') reseptor GABA (misalnya bikukulin), penyekat pipa klorida (misalnya pikrotoksin), penghambat sintesis GABA (misalnya hidrazid), dan penghambat penglepasan GABA (toksin tetanus). Kebanyakan neuron GABA-ergik merupakan interneuron dengan akson yang relatif pendek tetapi terdapat pula dengan akson yang panjang, misalnya pada neuron GABA-ergik striatonigra dan sel-sel Purkinje di korteks serebelum. Telah dapat diketahui beberapa sinaps dimana benzodiazepin menyebabkan peningkatan transmisi GABA-ergik antara lain: dalam sumsum tulang belakang yaitu motoneuron dan neuron aferen primer, dalam nuklei kolumna dorsalis (sel 'rela', interneuron inhibitor), dalam korteks serebelum (sel Purkinje, sel granula, sel Golgi, sel basket, sel 'stellate', 'climbing

'fibre', 'mossy fibre', neuron 'output' dari nukleus Deiters), dalam korpus striatum dan substantia nigra, dalam korteks serebri (sel piramidal, sel basket inhibisi), dalam hipokampus (sel piramidal dan sel basket inhibisi) (31).

Neuron GABA-ergik dapat bekerja sebagai penghambat presinaptik dan pascasinaptik (32).

b. Reseptor benzodiazepin. Adanya reseptor spesifik untuk benzodiazepin di dalam SSP vertebrata tingkat tinggi telah diketahui sejak tahun 1977. Kemudian diketahui bahwa molekul reseptor benzodiazepin dan molekul reseptor GABA berpasangan pada tingkat supramolekul yaitu berupa kompleks reseptor GABA/reseptor benzodiazepin, hal ini memberikan pengertian yang lebih jelas tentang interaksi fungsional antara benzodiazepin dan GABA. Reseptor benzodiazepin selain terdapat di SSP juga terdapat di jaringan perifer misalnya di hati, ginjal dan jaringan lain. Terdapat perbedaan fundamental antara reseptor di otak dan reseptor perifer. Klonazepam suatu benzodiazepin yang secara farmakologis sangat aktif menghambat ikatan ^3H -diazepam di otak dalam kadar yang rendah sedangkan ikatan di ginjal tidak dapat dihambat sekalipun dengan konsentrasi tinggi. Sebaliknya, Ro 5-4864 yang secara farmakologis tidak aktif tidak dapat menghambat ikatan ^3H -diazepam di otak dalam kadar rendah tetapi dapat menghambat ikatan ^3H -diazepam di ginjal dalam kadar nanomolar.

Reseptor benzodiazepin terdapat pada sel neuron dengan

distribusi yang tidak merata di dalam otak. Terdapat dalam jumlah besar di daerah korteks, baik korteks serebri maupun korteks serebeli, jumlah sedang didapat di korpus striatum dan talamus, dan dalam jumlah yang sangat kecil didapat di substantia alba. Diduga distribusi reseptor benzodiazepin ini berhubungan dengan efek farmakologiknya. Adanya reseptor benzodiazepin di sistem limbik dan sebagian dari korteks serebri berhubungan dengan aksi ansiolitik benzodiazepin; di kompleks sistem limbik yang melibatkan hipokampus, amigdala dan bagian korteks frontal yang dikenal sebagai substrat anatomik untuk emosi maka benzodiazepin bekerja menekan sistem ini; efek antikonvulsan diduga bekerja melalui reseptor benzodiazepin di korteks; sedangkan ataksia dan inkoordinasi motorik berhubungan dengan reseptor di serebelum; efek pelemas otot melalui reseptor di kornu dorsalis medula spinalis.

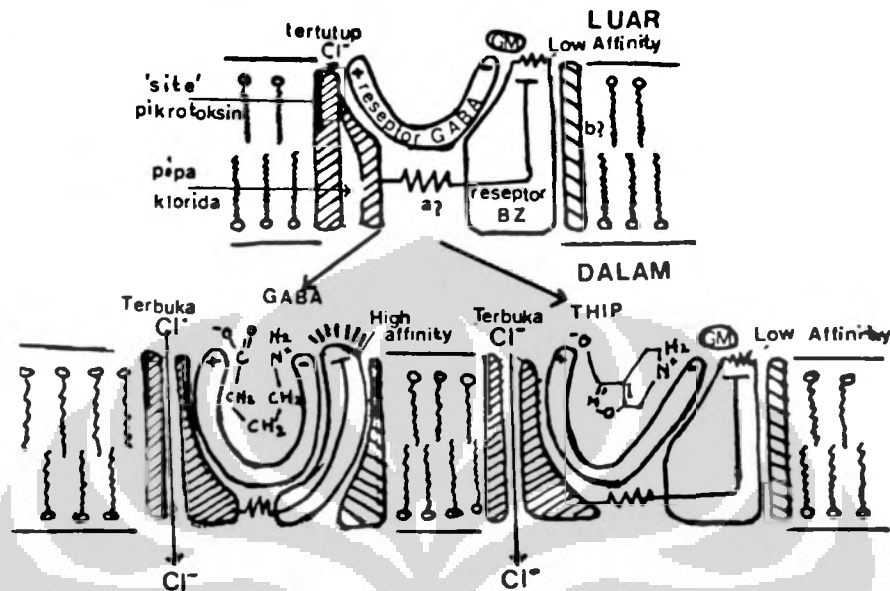
Dikenal pula adanya tipe-tipe reseptor benzodiazepin yaitu reseptor BZ_1 'high-affinity' dan reseptor BZ_2 'low-affinity'. Yang dibedakan atas beberapa karakteristiknya antara lain reseptor BZ_1 berikatan secara selektif dengan 3H -PrCC ('propyl- β -carboline-3-carboxylate). Baik reseptor BZ_1 maupun BZ_2 tampaknya secara fungsional berpasangan dengan reseptor GABA. Benzodiazepin ternyata juga mengadakan potensiasi dengan agonis GABA. Telah diketahui bahwa GABA meningkatkan aktivitas benzodiazepin, tetapi belum jelas bagaimana benzodiazepin dapat meningkatkan efek GABA (4). Model hipotesis dari kompleks reseptor GABA/reseptor

benzodiazepin dapat dilihat pada Gambar 2. Dari studi-studi elektrofisiologis terlihat bahwa benzodiazepin meningkatkan banyaknya pipa klorida yang dibuka oleh GABA, sedangkan aliran ion ('conductance') di dalam pipa dan masa menutupnya pipa klorida tidak berubah. Akibat terbukanya pipa klorida ini maka neuron menjadi hiperpolarisasi, sehingga neuron mengalami inhibisi.

Bila membran plasma otak diberi Triton X-100 maka akan dilepaskan protein yang stabil terhadap panas dengan berat molekul 15 000 dalton yang disebut GABA-modulin. GABA-modulin ini berinteraksi dengan reseptor GABA dan reseptor benzodiazepin sehingga reseptor GABA berada dalam konformasi 'low-affinity'. Kehilangan GABA-modulin ini sebagai akibat pemberian Triton X-100 akan merubah konformasi reseptor GABA menjadi 'high-affinity' dimana akan terjadi peningkatan afinitas GABA untuk berikatan dengan reseptor GABA.

5. Farmakokinetik

a. Absorpsi, nasib dan ekskresi. Diazepam merupakan benzodiazepin yang paling cepat diabsorpsi, kadar puncak pada orang dewasa dicapai kira-kira 1 jam sedangkan pada anak-anak antara 15 - 30 menit. Terdapat kadar puncak kedua yaitu antara 6 - 12 jam, hal ini disebabkan adanya resirkulasi enterohepatik (33). Bioavailabilitas oral diazepam $100 \pm 14 \%$. Terikat dengan plasma protein dalam jumlah yang besar yaitu $98,7 \pm 0,2 \%$; hal ini merupakan



Gambar 2. Model yang menggambarkan hubungan antara reseptor GABA, pipa klorida, dan reseptor benzodiazepin (BZ) di membran plasma neuron. GABA-modulin (GM) mempengaruhi reseptor GABA dan reseptor benzodiazepin. Terdapat hubungan antara pipa klorida dengan reseptor benzodiazepin yang tidak jelas (a). Tidak seluruh efek benzodiazepin dapat dijelaskan melalui sistem GABA, karena itu diduga ada mekanisme lain yang belum diketahui (b). Gambar di atas memperlihatkan perubahan konformasi reseptor GABA karena pengaruh 'full agonist' GABA (GABA) dan pengaruh 'partial agonist' GABA (THIP = analog siklik dari muscimol). Barbiturat mempengaruhi pipa klorida melalui 'site' picrotoksin.

Sumber: Braestrup, C. et al, 1983.

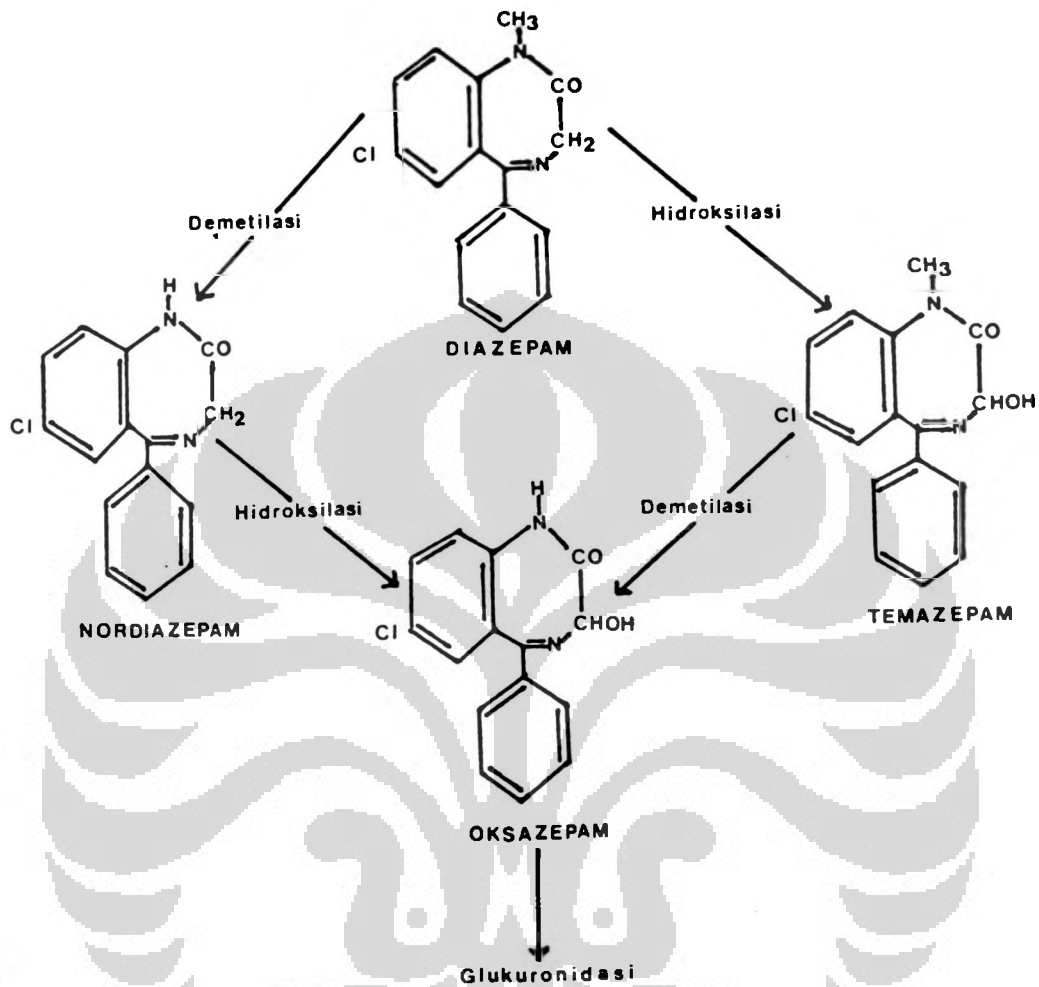


pembatas keberhasilan dialisis pada keracunan akut. Volume distribusi diazepam $1,1 \pm 0,3$ l/kg. Waktu paruh ($t_{1/2}$) diazepam tergantung dari umur berkisar antara 20 - 90 jam. Bersihan ('clearance') sebesar $0,38 \pm 0,06$ ml/menitkg, dengan asumsi berat badan 70 kg dan bioavailabilitas oral 100 % (34).

Diazepam mengalami metabolisme sebagai hasil proses enzimatik di mikrosom hepar, menjadi metabolit-metabolit yang masih aktif (nordiazepam = N-desmetil diazepam, temazepam = 3-hidroksi diazepam, oksazepam). Oksazepam akan mengalami glukuronidasi menjadi metabolit yang inaktif (Gambar 3).

Hampir seluruh benzodiazepin diekskresi melalui urin dalam bentuk teroksidasi maupun konjugasi dengan glukuronid. Pembentukan metabolit aktif ini dapat merubah lamanya waktu paruh biologis yang sebenarnya (sebagai contoh pembentukan nordiazepam dari diazepam dapat memperpanjang waktu paruh 2 - 3 kali). Waktu paruh nordiazepam 30 - 60 jam, temazepam 4 - 10 jam, dan oksazepam 6-24 jam (33,35).

b. Faktor-faktor yang mempengaruhi farmakokinetik (36). Waktu paruh diazepam mempunyai variasi yang besar. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain volume distribusi dan bersihan. Bersihan sendiri ditentukan oleh aktivitas enzim yang dipengaruhi oleh faktor genetik, umur, seks, dan lain-lain (merokok, alkohol, nutrisi, penyakit hepar, interaksi obat, dll). Waktu paruh diazepam pada



Gambar 3. Metabolisme diazepam

neonatus hampir 80 jam, kemudian menurun sehingga pada tahun pertama menjadi 15 - 20 jam. Kemudian naik lagi, pada orang tua antara 60 - 70 jam (hampir 2 kali waktu paruh orang dewasa muda), hal ini disebabkan karena peningkatan volume distribusi dan penurunan aktivitas enzim metabolik.

Tidak terlihat adanya perbedaan seks yang mempengaruhi farmakokinetik benzodiazepin. Pengaruh merokok terhadap diazepam belum diketahui, sekalipun telah diketahui bahwa merokok dapat mempercepat aktivitas enzim metabolik (beberapa zat dalam rokok bersifat menginduksi enzim). Alkohol dapat menghambat kecepatan metabolisme diazepam dan nordiazepam. Pada penyakit hati terjadi penurunan kecepatan metabolisme diazepam.

Interaksi benzodiazepin dengan obat lain secara praktis tidak begitu penting. Hanya kadang-kadang saja ada beberapa obat yang perlu mendapat perhatian antara lain: kontrasepsi oral, disulfiram, dan simetidin yang dapat menurunkan kecepatan konversi dengan jalan menghambat enzim. Beberapa obat yang telah dikenal dapat menginduksi enzim seperti barbiturat, fenitoin, rifampisin dapat mempercepat metabolisme diazepam.

6. Efek samping

Efek samping diazepam umumnya merupakan kelanjutan efek farmakologiknya berupa depresi SSP. Setelah pemberian dosis hipnotik benzodiazepin pada saat mencapai kadar puncak dapat timbul: sakit kepala, lelah, inkoordinasi motorik, ataksia, bingung, disartria, amnesia retrograd, mulut kering dan merasa pahit. Bisa pula terjadi muntah, nausea, sakit epigastrium, dan diare. Diazepam bisa menimbulkan efek sisa (residual) yang berupa gangguan psikomotor (2).

Pada kadar plasma 400 - 600 µg/ml timbul efek ansietas,

pada beberapa orang efek sedasi dan gangguan psikomotor bisa mulai timbul di atas 300 - 400 µg/ml. Intoksikasi SSP timbul pada kadar 900 - 1000 µg/ml. Kematian bisa timbul bila kadar melebihi 700 µg/ml (33).

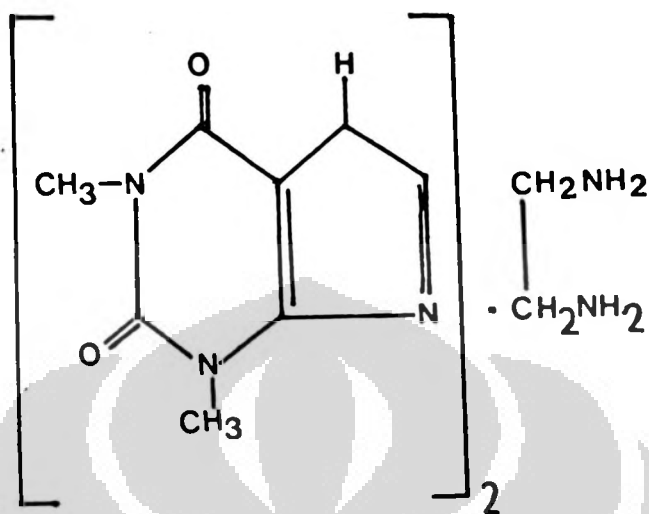
Pemberian diazepam intravena sering menimbulkan kerusakan vena ('venous sequelae'), insiden tromboflebitis karena diazepam iv cukup tinggi yaitu sebesar 39 %. Hal ini diduga disebabkan karena endapan-endapan diazepam yang berpenetrasi ke dalam vena, terutama karena pelarut propilen glikol sehingga ada usaha untuk mengganti pelarut ini. Kerusakan vena dapat dikurangi dengan cara penyuntikan lambat 5 mg/menit dan kemudian menyuntikkan larutan garam fisiologik (29).

B. Aminofilin (Teofilin etilendiamin)

1. Struktur kimia, sifat-sifat kimia dan fisika

Aminofilin (teofilin etilendiamin) mempunyai struktur kimia seperti di bawah ini (Gambar 4).

Aminofilin mengandung tidak kurang dari 78,0 % dan tidak lebih dari 83,5 % teofilin ($C_7H_8N_4O_2$), tidak kurang dari 12,8 % dan tidak lebih dari 14,1 % etilendiamin ($C_2H_8N_2$) masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat. Aminofilin berupa butir atau serbuk putih atau agak kekuningan, bau lemah mirip amoniak, rasa pahit. Larut dalam lebih kurang 5 bagian air, jika dibiarkan mungkin menjadi keruh, praktis tidak larut dalam etanol 95 % dan eter (23).



Gambar 4. Struktur kimia aminofilin

Sumber: Farmakope Indonesia, 1979

2. Farmakologi

Kadar plasma terapeutik optimal dari teofilin berkisar antara 10 - 20 g/ml digunakan sebagai bronkodilator, ia menimbulkan relaksasi otot polos bronkus (37). Disamping itu ia bersifat sebagai perangsang susunan saraf pusat (SSP), menimbulkan diuresis dan merangsang otot jantung. Sebagai perangsang SSP teofilin diduga mempunyai kekuatan sebanding dengan kafein yang secara tradisional dianggap sebagai perangsang SSP yang paling kuat dari golongan metil xantin. Perangsang SSP ini sangat jelas bila kadar plasma di atas kadar terapeutik. Stimulasi SSP bisa berupa gelisah, insomnia, tremor dan hiperestesia. Pada kadar di

atas 15 g/ml dapat timbul nausea, muntah; kadar 30 g/ml dapat menyebabkan konvulsi umum dan fokal, sedangkan di atas 40 g/ml bisa berakibat fatal (38).

Teofilin juga merangsang pusat-pusat respirasi meduler meningkatkan sensitivitas pusat-pusat respirasi terhadap rangsangan CO₂. Teofilin mempunyai efek terhadap sistem sirkulasi. Ia sedikit menurunkan resistensi perifer, kadang-kadang merangsang jantung, meninggikan perfusi pada kebanyakan organ. Merangsang pusat vasomotor dan vagal di batang otak. Pada konsentrasi plasma terapeutik teofilin menyebabkan peningkatan denyut jantung. Pada kadar yang lebih tinggi bisa timbul takikardia, malahan pada individu yang sensitif bisa timbul aritmia. Teofilin oral maupun parenteral merangsang lambung mensekresi asam dan pepsin (38).

3. Mekanisme kerja teofilin

Teofilin menimbulkan efek farmakologik yang bermacam-macam seperti diterangkan di atas. Terdapat beberapa mekanisme kerja yang berhubungan dengan hal tersebut. Pertama: disebabkan karena kerja teofilin yang berhubungan dengan translokasi kalsium intraseluler. Teofilin bekerja lebih lemah dibanding dengan kafein dalam hal ini. Kafein (0,5 - 1 mM) menimbulkan 'twitching' karena sensitisasi mekanisme pengeluaran kalsium dari sisterna terminal retikulum endoplasma. Pada kadar yang lebih tinggi timbul kontraktur karena terjadi peningkatan permeabilitas kalsium retikulum

endoplasma sehingga kalsium terlepas, padahal seharusnya diambil oleh retikulum endoplasma untuk menghentikan kontraksi. Kedua: teofilin bekerja sebagai penghambat enzim fosfodiesterase nukleotida siklik yang mengkatalisis perubahan adenosin monofosfat siklik (AMP siklik) menjadi 5-AMP. AMP siklik berfungsi sebagai mediator intraseluler, diantaranya menimbulkan bronkodilatasi. Ketiga: teofilin mengadakan antagonis kompetitif dengan adenosin yang dilepas sel-sel otak. Adenosin berfungsi sebagai autakoid yang bekerja melalui reseptor membran plasma yang terdapat dalam berbagai jenis sel. Adenosin menyebabkan dilatasi pembuluh darah terutama sirkulasi koroner dan serebral, menurunkan 'discharge' sel-sel pacu jantung dan beberapa jenis neuron di SSP, menghambat lipolisis yang diinduksi hormon, menurunkan pengeluaran norepinefrin dari ujung-ujung saraf otonom, dan mungkin menghambat neurotransmiter eksitasi di SSP. Terakhir: yang masih menjadi perhatian adalah kerja teofilin yang berpotensi dengan penghambat sintesis prostaglandin, dan kemungkinan metil xantin menurunkan ambilan ('uptake') dan/atau metabolisme katekolamin di jaringan non neural (38).

4. Farmakokinetik

Teofilin diabsorpsi dengan baik dari saluran cerna. Pada pemberian per oral dalam keadaan lambung kosong kadar puncak dicapai dalam waktu kurang dari 2 jam. Dalam bentuk aminofilin absorpsinya kurang dari 1 jam. Volume distribusi

teofilin sebesar $0,50 \pm 0,16$ l/kg. Ikatan teofilin dengan protein plasma sebesar 56 ± 4 %, variasi interindividu sedikit. Waktu paruh teofilin $9,0 \pm 2,1$ jam. Teofilin sebagian besar (kurang lebih 90 %) dieliminasi melalui biotransformasi dalam hati sebagian kecil melalui renal. Bersihan ('clearance') teofilin sebesar $0,69 \pm 0,30$ ml/menit/kg, pada anak-anak bersihan total teofilin lebih besar dibanding orang dewasa.

Pada perokok metabolisme teofilin menjadi lebih cepat, karena rokok mengandung senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon yang menginduksi enzim hati. Beberapa penyakit dapat memperlambat eliminasi teofilin, antara lain: sirosis hepatis, kegagalan jantung kongestif, edema akut paru-paru, kor pulmonalis. Beberapa obat yang diminum bersama dengan teofilin dapat mempengaruhi eliminasi teofilin. Obat-obat yang menurunkan bersihan total antara lain: troleandomisin, eritromisin, dan simetidin. Obat-obat yang menaikkan bersihan total antara lain: benzodiazepin, fenobarbital dan etanol. Hasil metabolisme teofilin umumnya diekskresi dalam kemih (37).

BAB III

BAHAN DAN CARA

A. Hewan percobaan dan pemeliharaannya

Hewan percobaan yang digunakan adalah kelinci (Lepus californicus) jenis New Zealand White dengan ciri-ciri: albino, mata kemerah-merahan, dan daun telinga tegak. Umur antara 3 - 5 bulan, berat badan antara 1 - 3 kg, yang diperoleh dari pasar. Dari segi klasifikasi termasuk kelas Mammalia, infrakelas Eutheria, ordo Lagomorpha (39).

Kelinci dipelihara di dalam kandang di laboratorium Bagian Farmakologi Universitas Indonesia Jakarta pada suhu ruangan. Tiap kandang berisi paling banyak 2 ekor kelinci yang sejenis kelamin. Tiap-tiap kelinci diberi nomor kode. Makanan kelinci terdiri dari rumput-rumputan, umbi-umbian, dedak, dan makanan penguat berupa pelet yang diperoleh dari pasar ternak; semua makanan diberikan ad libitum, demikian pula air minum.

Sebelum dilakukan percobaan kelinci mengalami aklimatisasi paling sedikit selama 1 minggu.

B. Alat-alat dan obat-obatan

Alat-alat yang digunakan yaitu:

- Timbangan berat
- 'Stopwatch'
- Alat suntik 1 ml; 2,5 ml; 5 ml
- Lampu sorot 60 watt
- Gunting
- Kapas

Obat-obatan yang dipakai ialah:

- Obat suntik Valium® 2 ml = 10 mg, no. batch Dj011 dan Dj962
- Obat suntik aminofilin (Kimia Farma) 10 ml = 240 mg, no. batch 014192 B.
- NaCl fisiologik steril (Otsuka) no. batch 14G78.
- Alkohol 70 %.

C. Cara penyuntikan

Suntikan diberikan intravena (iv) melalui vena lateral telinga kelinci. Vena biasanya jelas terlihat, bila agak sukar terlihat dapat dibantu dengan menyorotkan lampu sorot dari bawah ke arah telinga kelinci sehingga vena akan jelas terlihat dari atas. Vena dipastikan dengan melihat aliran-nya yaitu ke arah proksimal dengan cara: satu tangan mem-bendung vena di distal telinga kelinci, tangan yang lain mengurut vena ke arah proksimal sehingga vena tampak ko-song. Kemudian bila dilepaskan satu tangan yang distal

maka akan terlihat aliran darah ke arah proksimal, vena akan terisi kembali yang lama kelamaan akan membesar dan menggembung karena terbung. Bila tangan sebaliknya yang dilepas yaitu tangan yang proksimal, tidak terlihat pengisian vena kembali.

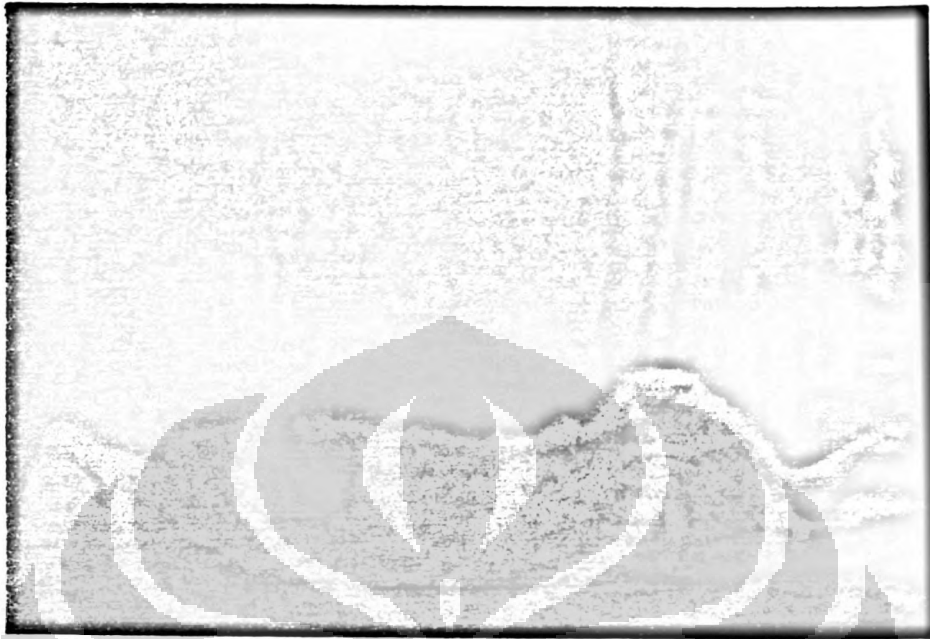
Setelah dipastikan vena yang akan disuntik, dipilih tempat penyuntikan sedistal mungkin, agar vena tersebut dapat digunakan lagi. Kelinci diletakkan di atas meja dengan dasar yang cukup kasar, agar ia mendapat tempat berpijak yang nyaman (tidak terpeleset bila meronta). Kelinci dipegang dengan erat dan baik oleh seorang pembantu. Bulu di sekitar tempat penyuntikan dicukur dengan gunting, vena dibendung agar membesar dan memudahkan penyuntikan serta sedikit diurut-urut. Kemudian dilakukan tindakan antisepsis dengan alkohol 70 %. Setelah itu suntikan dapat dilakukan. Suntikan dipastikan masuk bila diaspirasi tersedot darah, kemudian bila obat disuntikkan terlihat dengan jelas aliran obat di dalam vena. Setelah selesai percobaan kelinci dikembalikan ke dalam kandang, dan dapat digunakan lagi setelah istirahat paling sedikit 1 minggu. Bila tidak dapat digunakan lagi misalnya karena terjadi penutupan vena, maka digunakan vena di telinga sebelahnya.

D. Penilaian keadaan tidur

Keadaan sadar adalah keadaan terjaga dan waspada, dimana kelinci akan bereaksi sepenuhnya dan adekuat terhadap

rangsang visual, rangsang auditoris, atau rangsang sensibel. Keadaan tidur adalah keadaan tidak sadar untuk sementara waktu. Keadaan tidur dapat dibangunkan dengan rangsangan yang cukup keras (26). Kriteria yang populer untuk menentukan keadaan anestesia atau hipnotik pada hewan percobaan kecil adalah hilangnya 'righting reflex' (40). Carrington dan Raventos seperti dikutip dari (36) menggunakan hilangnya 'righting reflex' untuk mengukur hipnosis dan kegagalan berespon terhadap insisi kecil pada kulit untuk mengukur keadaan anestesia. Peneliti lain menggunakan hilangnya 'righting reflex' dan hilangnya kemampuan untuk menarik tungkai atau hilangnya reflex mencicit bila tungkai dijepit atau ekor dijepit, atau hilangnya reflex kornea atau reflex pinna (cuping telinga). Pengukuran aktivitas hipnotik selain dengan hilangnya 'righting reflex' juga digunakan pengukuran masa tidur dengan menggunakan EEG, pengukuran hilangnya koordinasi motorik dengan silinder berputar, atau pengukuran aktivitas volunter dalam kandang khusus (40). Dalam penelitian ini akan digunakan hilangnya 'righting reflex' untuk mengukur aktivitas hipnotik pada kelinci. Kelinci dinyatakan tidur bila dibalikkan menjadi telentang ia tidak mampu membalikkan badan (Gambar 5).

Hilangnya 'righting reflex' oleh diazepam mempunyai mekanisme kerja yang sama dengan efek pelemas otot yaitu karena diazepam menekan susunan saraf pusat. Efek pelemas otot benzodiazepin yang bekerja sentral ini diduga melalui



Gambar 5. Keadaan tidur kelinci

reseptor di kornu anterior medula spinalis (4), dugaan lain (41) menyatakan bahwa dalam mengontrol tonus otot benzodiazepin tampaknya lebih selektif terhadap neuron retikuler dibanding dengan aktivitas interneuron spinal. Efek pelemas otot terutama nyata pada kucing (24).

Kelinci dikatakan bangun bila ia secara spontan membalikkan badan dari posisi telentang, dan bila tiga kali berturut-turut dalam waktu 1 menit dicoba ditelentangkan kembali ia akan spontan membalik. Bila ketika ia dicoba ditelentangkan kembali, ia tidak dapat membalikkan badan maka ia belum bangun dan perhitungan waktu diteruskan. Hilangnya 'righting reflex' ini merupakan kriteria yang mudah dan hasilnya konsisten (40).

Penggunaan hewan percobaan berupa mencit untuk melihat efek hipnotik diazepam tidak memberikan hasil yang memuaskan (25). Hilangnya 'righting reflex' baru terjadi pada dosis yang tinggi (120 mg/kg BB) yang juga menimbulkan beberapa kematian.

1. Pengukuran mula tidur

Pengukuran mula tidur dimulai pada saat diazepam telah masuk semuanya ke dalam vena. Kemudian dengan selang waktu 1 menit, yang dimulai segera setelah pengukuran waktu dimulai, kelinci dicoba ditelentangkan.

Cara pencatatan waktu mula tidur adalah sebagai berikut:

- a. Mula tidur 0 menit atau segera yaitu bila kelinci mulai bisa tidur antara 0 - 60 detik.
- b. Mula tidur 1 menit yaitu bila kelinci mulai bisa tidur antara 1 menit 1 detik - 2 menit.
- c. Mula tidur 2 menit yaitu bila kelinci mulai bisa tidur antara 2 menit 1 detik - 3 menit.
- d. Demikian seterusnya dengan selang waktu 1 menit.

Mula tidur sebenarnya tidak dapat ditentukan dengan pasti, oleh karena tidur merupakan keadaan yang berangsur-angsur dan kontinu. pembagian ini perlu dilakukan untuk menentukan saat yang optimal untuk penyuntikan aminofilin atau plasebo (NaCl fisiologik steril). Dari penelitian pendahuluan dengan dosis diazepam 6 mg/kg BB iv, mula tidur kelinci antara 0 - 3 menit (n = 6). Setelah mula tidur

diketahui untuk penelitian selanjutnya mula tidur tidak diperhitungkan lagi.

2. Pengukuran masa tidur

Pengukuran masa tidur merupakan parameter yang jelas dan tegas sehingga digunakan sebagai parameter untuk menguji hipotesis penelitian ini. Pengukuran masa tidur dimulai dari saat diazepam telah masuk semuanya ke dalam vena sampai kelinci dinyatakan bangun (Halaman 32). Bila didapatkan hasil lebih atau sama dengan 30 detik maka dibulatkan ke atas, bila kurang dari 30 detik dibulatkan ke bawah.

E. Disain percobaan

1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mendapatkan dosis diazepam dan saat penyuntikan aminofilin/kontrol serta dosis awal aminofilin/kontrol yang optimal yang akan digunakan dalam penelitian pengujian hipotesis.

Tujuan pertama penelitian pendahuluan ini ialah memperoleh dosis diazepam yang menghasilkan keadaan tidur pada kelinci antara 60 - 120 menit. Masa tidur diupayakan agar cukup lama, kelinci tidak terganggu oleh penyuntikan kedua (aminofilin/kontrol), dan volume diazepam tidak terlalu besar sehingga masih mungkin diberikan sebagai bolus. Kedua: dengan dosis yang telah diperoleh di atas dicobakan pada beberapa ekor kelinci untuk melihat variasi interindividu. Ketiga: dengan data di atas dilakukan suatu uji

coba lengkap terhadap sekelompok kelinci untuk mendapatkan gambaran yang lebih pasti. Terakhir: akan diperoleh data mengenai dosis diazepam, saat penyuntikan aminofilin/plasebo, dan dosis awal aminofilin yang definitif yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya.

2. Penelitian pengujian hipotesis

Dengan data yang diperoleh dari penelitian pendahuluan kemudian dimulai penelitian selanjutnya yaitu penelitian pengujian hipotesis. Penelitian dilakukan secara menyilang ('cross-over'). Kelinci sebanyak 12 ekor dibagi dalam 3 kelompok masing-masing terdiri dari 4 ekor yang dipilih secara acak. Masing-masing kelompok dikerjakan dalam 1 hari, dilakukan pada siang hari antara pukul 09.00 - 16.00. Tiap kelompok kemudian dibagi dalam 2 subkelompok (masing-masing terdiri dari 2 ekor yang dipilih secara acak), satu subkelompok akan mendapat aminofilin dan subkelompok lain akan mendapat suntikan plasebo. Pada hari berikutnya dilakukan kelompok yang kedua, demikian seterusnya. Setelah beristirahat paling sedikit 1 minggu dilakukan silangannya ('cross-over'), jadwal lengkap terurai di bawah ini (Tabel I).

Prosedur dalam penelitian lanjutan ini adalah sebagai berikut:

- a. Kelinci dalam keadaan sadar disuntik (Halaman 29) dengan diazepam intravena (iv) dengan dosis yang telah didapat dari penelitian pendahuluan.

TABEL I
JADWAL PEMBERIAN OBAT

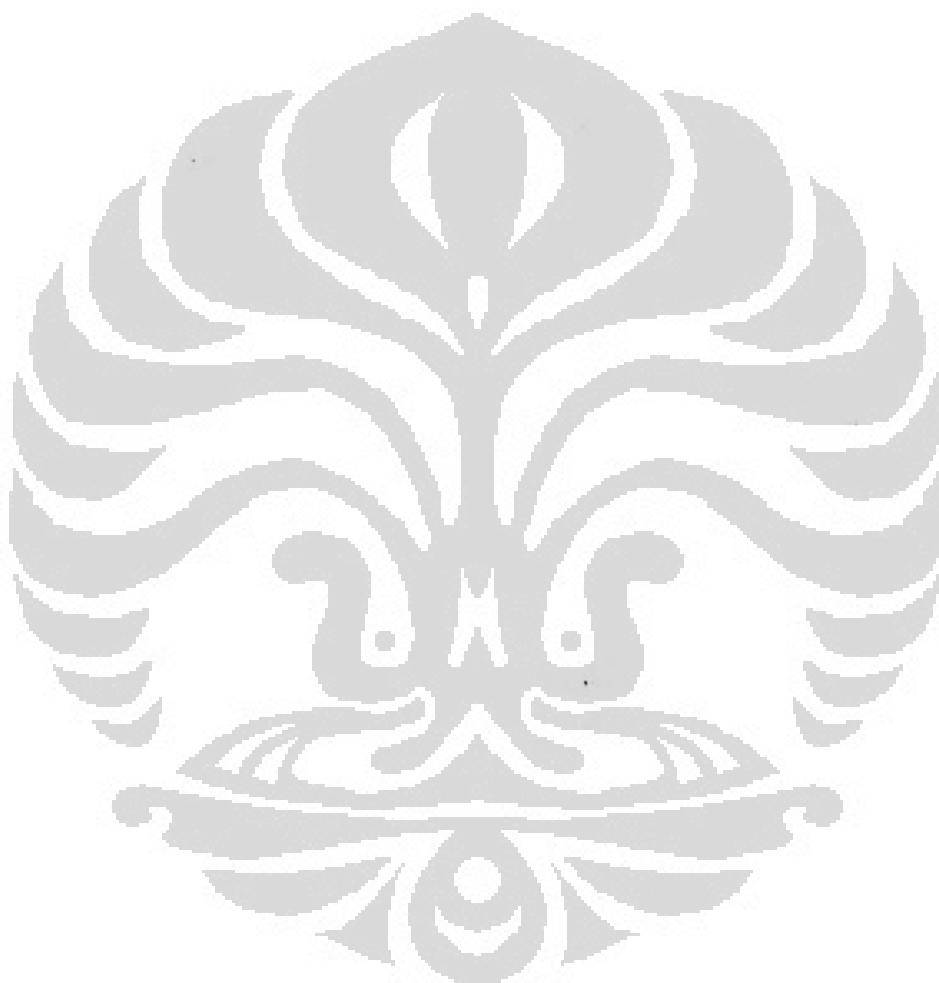
| Minggu I | Aminofilin | | Kontrol | | Minggu II | Aminofilin | | Kontrol | |
|----------|------------|---|---------|---|-----------|------------|---|---------|---|
| Hari 1 | A | B | C | D | Hari 1 | C | D | A | B |
| Hari 2 | E | F | G | H | Hari 2 | G | H | E | F |
| Hari 3 | I | J | K | L | Hari 3 | K | L | I | J |

Keterangan: A - L diisi oleh kelinci-kelinci percobaan yang dipilih secara acak (kelinci-kelinci dengan nomor kode angka Arab, ditempatkan di dalam jadwal di atas, misalnya kelinci no. 3 = A, no. 5 = B, dst).

- b. Selang beberapa waktu kemudian (ditentukan melalui penelitian pendahuluan) disuntikkan aminofilin (dosis ditentukan dari penelitian pendahuluan, dosis permulaan pada penelitian pendahuluan sebesar 1 mg/kg BB) atau disuntikkan kontrol (garam faal steril) iv dengan vólum yang setara secara lambat.
- c. Diukur masa tidur (Halaman 34).
- d. Kelinci diistirahatkan paling sedikit selama 1 minggu untuk menghilangkan obat dari tubuh ('wash-out') dan untuk memulihkan kembali vena.
- e. Seminggu setelah istirahat prosedur a sampai d diulang kembali, bedanya aminofilin diganti dengan plasebo (NaCl fisiologik steril) atau sebaliknya.
- f. Bila dengan dosis aminofilin di atas belum diperoleh

hasil yang memuaskan dosis ditingkatkan menjadi 5 mg/kg BB dan selanjutnya menjadi 10 mg/kg BB.

Nomor kode kelinci percobaan menggunakan angka Arab:
1, 2, 3, 4, ... dst.



BAB IV

HASIL

A. Penelitian pendahuluan

Untuk mendapatkan masa tidur antara 60 - 120 menit digunakan dosis awal diazepam iv sebesar 1,2 mg/kg BB, yang kemudian dinaikkan sebesar 0,6 mg/kg BB tiap peningkatan (Gambar 6).

Bila diperhatikan ternyata hubungan antara dosis (mg/kg BB) dengan masa tidur (menit) merupakan hubungan linier. Dari perhitungan statistik diperoleh koefisien korelasi (r) = 0,899; persamaan garis regresi $Y = 13,75 X - 5,83$. Rumus-rumus yang digunakan untuk menghitung koefisien korelasi dan persamaan garis regresi (42) adalah sebagai berikut:

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

r = koefisien korelasi

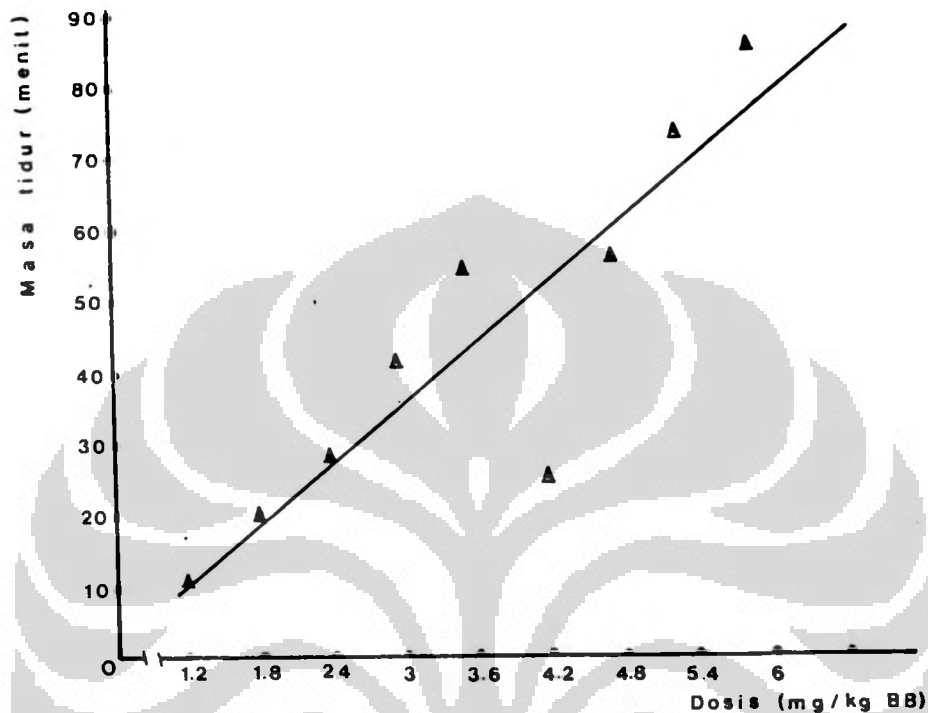
N = jumlah pasangan

X = dosis (mg/kg BB)

Y = masa tidur (menit)

Persamaan garis regresi: $Y = bX + C$

$$b = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{N \sum X^2 - (\sum X)^2} \quad \text{dan} \quad C = \frac{\sum Y - b \sum X}{N}$$



Gambar 6. Hubungan antara dosis diazepam dengan masa tidur pada kelinci. Kelinci no. kode 6 digunakan untuk dosis 1,2; 1,8; 2,4; 6,0 mg/kg BB. No. 9 untuk dosis 4,2 mg/kg BB. No. 12 untuk dosis 4,8 mg/kg BB. No. 4 untuk dosis 5,4 mg/kg BB.

Dari hasil di atas diambil dosis 6 mg/kg BB sebagai dosis yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya. Untuk itu dilakukan percobaan pada 6 ekor kelinci untuk melihat variasinya (Tabel II).

Dari Tabel II terlihat bahwa dengan dosis diazepam 6 mg/kg BB iv menimbulkan masa tidur yang bervariasi antara

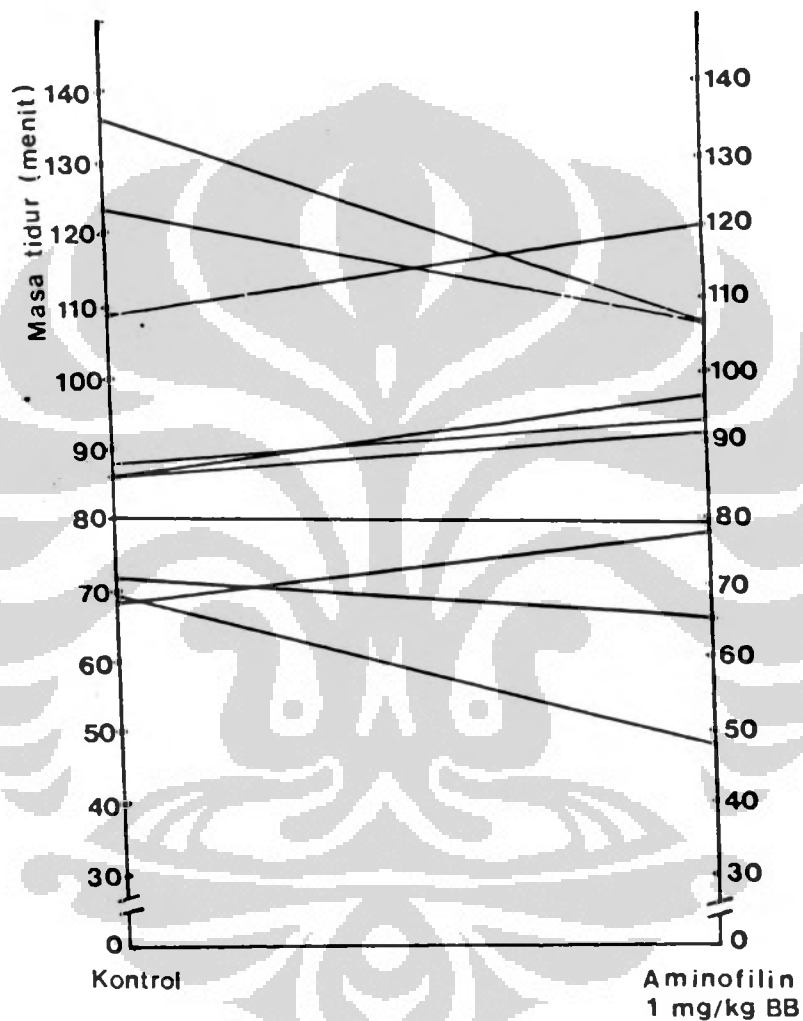
TABEL II
 VARIASI MASA TIDUR PADA KELINCI SETELAH
 PEMBERIAN DIAZEPAM 6 mg/kg BB IV

| No. kode kelinci | Berat badan (kg) | Seks | Masa tidur (menit) | Mula tidur (menit) |
|------------------|------------------|------|--------------------|--------------------|
| 25 | 2 | J | 77 | 3 |
| 24 | 2 | J | 103 | 0 |
| 28 | 2,1 | B | 93 | 0 |
| 22 | 1,3 | B | 78 | 3 |
| 23 | 1,4 | B | 115 | 1 |
| 6 | 2,5 | J | 85 | 0 |

Keterangan: B = betina; J = jantan

77 - 115 menit (n = 6). Nilai rata-rata (\bar{X}) = 91,83 menit, standar deviasi (SD) = 14,97 menit. Dengan dosis diazepam 6 mg/kg BB iv dilakukan uji coba pada 10 ekor kelinci, dengan memberikan aminofilin 1 mg/kg BB iv 10 menit setelah pemberian diazepam (Gambar 7, Tabel III).

Dari data-data pada Tabel III di atas diperoleh hasil untuk kontrol: $\bar{X} \pm SD = 91,7 \pm 23,39$ menit; untuk aminofilin 1 mg/kg BB iv: $\bar{X} \pm SD = 88 \pm 21,27$ menit. Untuk melihat kemaknaan perbedaan tersebut dilakukan analisis statistik dengan 't-test' yang berkaitan (42). Ternyata perbedaan di atas tidak bermakna ($t = 0,79$; $df = 9$; $p > 0,05$). Rumus 't-test' yang berkaitan adalah sebagai berikut (41):



Gambar 7. Pengaruh pemberian aminofilin dan kontrol (larutan garam faal) 1 mg/kg BB iv terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci (n = 10). Aminofilin/kontrol diberikan 10 menit setelah penyuntikan diazepam.

TABEL III

PENGARUH PEMBERIAN AMINOFILIN 1 mg/kg BB TERHADAP MASA
TIDUR YANG DITIMBULKAN OLEH DIAZEPAM
6 mg/kg BB PADA KELINCI

| n | No. kode kelinci | Masa tidur (menit) | |
|----|------------------|--------------------|------------|
| | | kontrol | Aminofilin |
| 1 | 14 | 68 | 77 |
| 2 | 15 | 80 | 79 |
| 3 | 16 | 72 | 65 |
| 4 | 18 | 86 | 91 |
| 5 | 19 | 88 | 93 |
| 6 | 20 | 86 | 96 |
| 7 | 27 | 69 | 48 |
| 8 | 17 | 109 | 120 |
| 9 | 21 | 123 | 107 |
| 10 | 26 | 136 | 104 |

Keterangan: Aminofilin/kontrol diberikan 10 menit setelah penyuntikan diazepam 6 mg/kg BB.

$$t = \frac{\sum D}{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n - 1}}$$

D = perbedaan skor antar pasangan

n = jumlah pasangan

Dari hasil di atas dipikirkan kemungkinan-kemungkinan yang menyebabkan tidak terlihatnya efek aminofilin yaitu:

1. Sepuluh menit setelah pemberian diazepam, efek hipnotik masih terlalu kuat untuk dapat diantagonisasi oleh

aminofilin. Karena itu dalam penelitian selanjutnya saat pemberian aminofilin perlu diundurkan. Dalam hal ini ditetapkan 45 menit setelah pemberian diazepam.

2. Dosis aminofilin sebesar 1 mg/kg BB terlalu kecil untuk menimbulkan antagonisme terhadap diazepam. Karena itu dalam percobaan selanjutnya dosis ditingkatkan menjadi 5 mg/kg BB.

B. Penelitian akhir

Dengan berpedoman pada hasil di atas dilakukan percobaan untuk melihat pengaruh pemberian aminofilin 5 mg/kg BB iv (Gambar 8, Tabel IV).

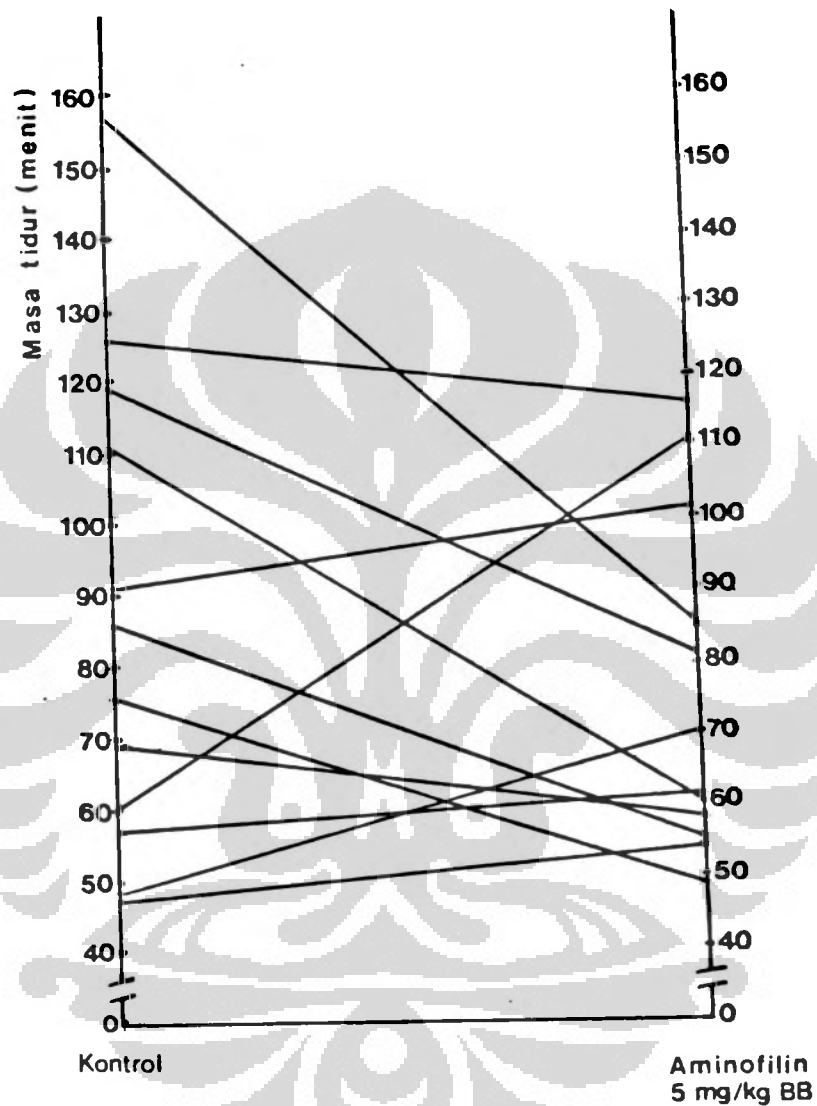
Oleh karena dengan dosis aminofilin 5 mg/kg BB di atas memberikan hasil yang tidak bermakna ($t = 1,25$; $df = 11$; $p < 0,05$), selanjutnya percobaan diteruskan dengan dosis aminofilin 10 mg/kg BB iv (Gambar 9, Tabel V).

Dari Tabel V diperoleh hasil untuk kontrol:

$\bar{x} \pm SD = 91,5 \pm 21,6$ menit; untuk aminofilin:

$\bar{x} \pm SD = 64,92 \pm 16,23$ menit. Dengan analisis statistik ('t test' yang berkaitan) perbedaan tersebut sangat bermakna ($t = 4,29$; $df = 11$; $p < 0,05$).

Terdapat 11 ekor kelinci yang pernah mendapat penyuntikan kontrol yang setara dengan aminofilin 5 mg/kg BB maupun plasebo yang setara dengan aminofilin 10 mg/kg BB. Untuk melihat besarnya variasi intraindividu akan dibandingkan hasil di atas (Tabel VI).



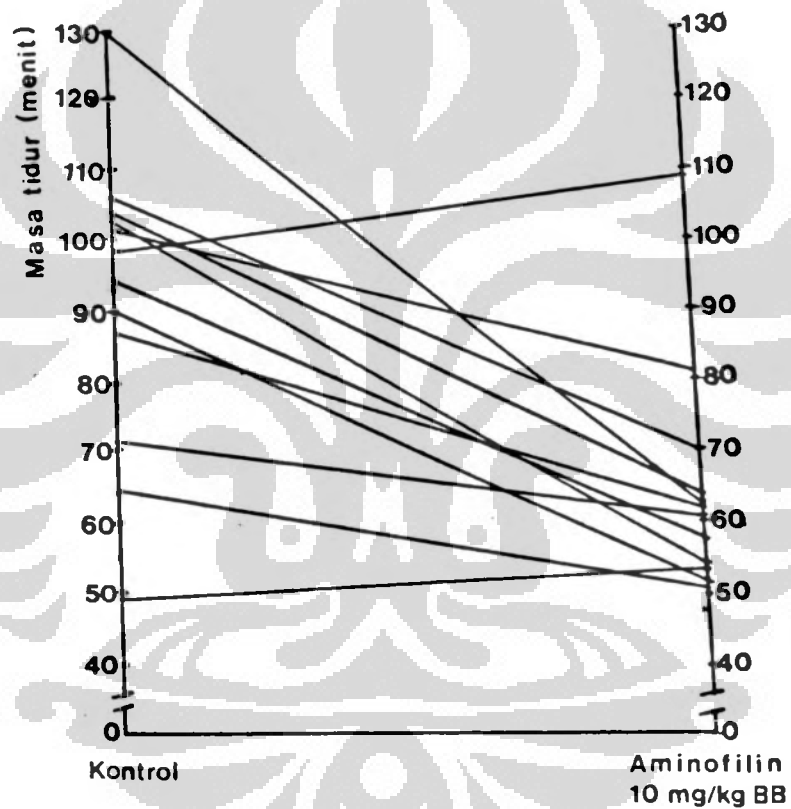
Gambar 8. Pengaruh pemberian aminofilin 5 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci (n = 12). Aminofilin/kontrol diberikan 45 menit setelah penyuntikan diazepam.

TABEL IV

PENGARUH PEMBERIAN AMINOFILIN 5 mg/kg BB TERHADAP MASA
TIDUR YANG DITIMBULKAN OLEH DIAZEPAM
6 mg/kg BB PADA KELINCI

| n | No. kode kelinci | Masa tidur (menit) | |
|----|------------------|--------------------|------------|
| | | Kontrol | Aminofilin |
| 1 | 15 | 47 | 54 |
| 2 | 19 | 60 | 111 |
| 3 | 24 | 126 | 116 |
| 4 | 28 | 111 | 60 |
| 5 | 17 | 158 | 85 |
| 6 | 16 | 48 | 70 |
| 7 | 20 | 69 | 58 |
| 8 | 21 | 119 | 81 |
| 9 | 22 | 86 | 55 |
| 10 | 23 | 91 | 101 |
| 11 | 25 | 57 | 61 |
| 12 | 26 | 76 | 49 |

Keterangan: Aminofilin/kontrol diberikan 45 menit
setelah penyuntikan diazepam 6 mg/kg BB.



Gambar 9. Pengaruh pemberian aminofilin 10 mg/kg BB terhadap masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam 6 mg/kg BB iv pada kelinci (n = 12). Aminofilin/kontrol diberikan 45 menit setelah penyuntikan diazepam.

TABEL V

PENGARUH PEMBERIAN AMINOFILIN 10 mg/kg BB TERHADAP
MASA TIDUR YANG DITIMBULKAN OLEH DIAZEPAM
6 mg/kg BB PADA KELINCI

| n | No. kode kelinci | Masa tidur (menit) | |
|----|------------------|--------------------|------------|
| | | Kontrol | Aminofilin |
| 1 | 17 | 104 | 64 |
| 2 | 22 | 87 | 62 |
| 3 | 24 | 95 | 57 |
| 4 | 20 | 130 | 63 |
| 5 | 26 | 103 | 55 |
| 6 | 21 | 90 | 52 |
| 7 | 16 | 49 | 54 |
| 8 | 19 | 64 | 51 |
| 9 | 28 | 101 | 81 |
| 10 | 15 | 106 | 70 |
| 11 | 18 | 71 | 61 |
| 12 | 23 | 98 | 109 |

Keterangan: Aminofilin/kontrol diberikan 45 menit setelah penyuntikan diazepam 6 mg/kg BB iv.

TABEL VI
 PERBANDINGAN PENGARUH PEMBERIAN 2 MACAM KONTROL
 TERHADAP MASA TIDUR YANG DITIMBULKAN OLEH
 DIAZEPAM 6 mg/kg BB IV PADA KELINCI

| No. | No kode kelinci | Masa tidur (menit) setelah pemberian | |
|-----|-----------------|--------------------------------------|-------------------------|
| | | kontrol I ^a | kontrol II ^b |
| 1 | 15 | 47 | 106 |
| 2 | 19 | 60 | 64 |
| 3 | 24 | 126 | 95 |
| 4 | 28 | 111 | 101 |
| 5 | 17 | 158 | 104 |
| 6 | 16 | 48 | 49 |
| 7 | 20 | 69 | 130 |
| 8 | 21 | 119 | 90 |
| 9 | 22 | 86 | 87 |
| 10 | 23 | 91 | 98 |
| 11 | 26 | 76 | 103 |

^aKontrol I adalah NaCl fisiologik steril dengan volume setara dengan aminofilin 5 mg/kg BB, diberikan 45 menit setelah penyuntikan diazepam.

^bKontrol II adalah NaCl fisiologik steril dengan volume setara dengan aminofilin 10 mg/kg BB, diberikan 45 menit setelah penyuntikan diazepam.

BAB V

DISKUSI

Masa tidur kelinci digunakan waktu antara 60 - 120 menit dimaksudkan agar tercapai tidur dalam (tidur tingkat 3 atau tingkat 4), dimana hewan percobaan akan sukar dibangunkan (2,28) sehingga diharapkan tidak mengganggu penyuntikan obat berikutnya (aminofilin/kontrol). Dosis diazepam 1,2 mg/kg BB iv sebagai dosis awal untuk mendapatkan efek di atas cukup memadai, karena diketahui bahwa pada kelinci dosis diazepam 1 - 2 mg/kg BB iv menimbulkan sedasi dengan pola EEG seperti pada keadaan mengantuk (22). Dari hasil yang tertera pada Gambar 6 terdapat dua dosis yang menimbulkan masa tidur lebih dari 60 menit yaitu dosis 5,4 mg/kg BB dan 6 mg/kg BB. Masa tidur dengan dosis 5,4 mg/kg BB hanya sedikit di atas 60 menit, sedangkan dosis 6 mg/kg BB mencapai 85 menit. Karena variasi dosis interindividual diazepam cukup besar (36), maka dipilih dosis 6 mg/kg BB dengan harapan masa tidur yang diperoleh akan berkisar antara 60 - 120 menit. Hal ini terlihat pada Tabel II, dimana variasi masa tidur antara 77 - 115 menit (n = 6) dengan $\bar{x} \pm SD = 91,83 \pm 14,97$ menit.

Bila kita lihat Gambar 6 titik-titik pada gambar tersebut pada umumnya berada sekitar garis regresinya, hanya

pada kelinci no. 3 (dosis 4,2 mg/kg BB) terlihat jauh dari garis regresi. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa hal. Diazepam mengalami metabolisme melalui proses enzimatik di mikrosom hati menjadi metabolit-metabolit yang masih aktif (35). Aktivitas enzim ini terutama dipengaruhi oleh faktor genetik dan umur (36). Dalam kasus kelinci no. 3 di atas kemungkinan faktor genetik yang mempengaruhi keadaan tersebut, karena kelinci yang digunakan bukan suatu 'strain yang inbred'. Sedangkan umur dapat dikatakan sama yaitu digunakan kelinci dengan umur yang masih muda (3 - 5 bulan). Kemungkinan lain timbulnya perbedaan tersebut adalah karena teknik penyuntikan. Cara penyuntikan iv yang dilakukan dalam penelitian ini adalah cara yang lazim digunakan (43), walaupun demikian ketika disuntikkan diazepam iv kelinci meronta-ronta sehingga memerlukan pegangan yang cukup kuat. Keadaan di atas mungkin menyebabkan ada diazepam yang keluar dari pembuluh darah. Faktor ini mungkin merupakan salah satu faktor yang menimbulkan hasil yang variabel. Misalnya pada kelinci no. 15, pemberian kontrol menghasilkan masa tidur 80 menit, 47 menit, dan 106 menit (Tabel III, IV, V). Disamping itu keadaan tidur sendiri merupakan keadaan yang dapat dibangunkan dengan rangsang yang cukup keras (26), sehingga pada saat penelitian dilakukan; rangsang taktil, visual maupun auditoris harus dihindari. Rangsangan taktil dan visual dapat dihindari tetapi untuk rangsang auditoris diperlukan suatu ruangan kedap suara, ruangan tersebut tidak terdapat dilaboratorium

kami. Faktor-faktor di atas adalah faktor-faktor yang mungkin dapat menjelaskan keadaan kelinci no. 3 tersebut.

Faktor-faktor konstitusi, teknik dan rangsangan-rangsangan dari luar seperti yang diuraikan di atas ikut mempengaruhi penelitian ini. Walaupun demikian faktor-faktor di atas dapat diatasi dengan merancang percobaan ini dengan disain menyilang ('cross-over'), dimana yang menjadi kontrol adalah dirinya sendiri, kecuali faktor rangsangan luar.

Metode yang dipakai ini belum seluruhnya memuaskan karena hasilnya variabel. Hewan percobaan yang telah digunakan untuk melihat efek tidur diazepam adalah kelinci dan mencit (22,25). Mencit ternyata tidak memuaskan (25), sehingga tampaknya perlu dicoba untuk menggunakan hewan percobaan lain misalnya anjing (44).

Terdapat 11 ekor kelinci yang pernah menerima 2 macam kontrol (NaCl fisiologik steril) dengan volume yang berbeda (Tabel VI).

Diazepam menimbulkan iritasi vena sehingga timbul rasa sakit pada waktu penyuntikan bahkan sering menimbulkan tromboflebitis dengan kejadian ('incidence') sebesar 39 % (29). Pada tiga ekor kelinci timbul nekrosis dengan ukuran 3 cm x 5 cm (Gambar 10). Keluarnya diazepam dari pembuluh darah akan memperburuk keadaan ini. Keadaan ini tampaknya bisa diperbaiki dengan cara memasang kateter masuk ke dalam vena, menyuntikkan diazepam dengan kecepatan 5 mg/menit yang kemudian diikuti penyuntikan NaCl fisiologik, dan



Gambar 10. Nekrosis pada telinga kelinci

mengganti pelarutnya dari propilen glikol dengan polietilen glikol (29). Pemasangan kateter dapat mengurangi manipulasi hewan percobaan pada saat pemberian aminofilin/plasebo, sehingga pemberian obat makin baik.

Sensitivitas kelinci terhadap aminofilin belum diketahui. Dosis awal aminofilin pada kelinci digunakan 1 mg/kg BB, dengan pertimbangan bahwa dosis aminofilin yang secara klinik pernah dilaporkan efektif untuk mengantagonisasi efek diazepam pada manusia ialah 1 mg/kg BB iv (16). Selanjutnya bila dosis tersebut belum memberikan hasil yang diharapkan akan dipakai dosis 5 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB.

Masa tidur terpendek pada Tabel II adalah 77 menit, dan mula tidur terpanjang adalah 3 menit. Untuk uji coba dipilih selang waktu yang singkat dimana diharapkan mula tidur kelinci kurang dari selang waktu tersebut. Karena itu aminofilin diberikan 10 menit setelah pemberian diazepam.

Ternyata dari hasil uji coba (Gambar 7) perbedaan yang ada antara plasebo dengan aminofilin 1 mg/kg BB iv tidak bermakna ($p > 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan karena dosis terlalu kecil atau selang waktu penyuntikan aminofilin terlalu cepat (lihat juga halaman 42).

Dari Gambar 8 terlihat bahwa perbedaan antara plasebo dengan aminofilin 5 mg/kg BB iv tidak bermakna ($p > 0,05$). Baru pada dosis aminofilin 10 mg/kg BB iv (Gambar 9) terlihat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,005$). Penggunaan aminofilin untuk melawan efek diazepam yang pernah dilaporkan selain 1 mg/kg BB (16) juga sebesar 2 mg/kg BB (21). Tampaknya hasil percobaan dengan menggunakan kelinci ini menyokong penggunaan aminofilin iv untuk menghilangkan efek diazepam pada manusia. Dosis yang digunakan untuk manusia sebaiknya dosis aminofilin 1 mg/kg BB iv, karena dosis tersebut cukup kecil sehingga terhindar dari kemungkinan efek samping aminofilin. Pada manusia pemberian aminofilin 1 mg/kg BB menghasilkan kadar aminofilin serum 1,9 mg/l, jauh di bawah kadar toksik (20 mg/l ke atas) (16). Walaupun demikian perlu pula diingat bahwa terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi sensitivitas;

misalnya perbedaan-perbedaan kondisi/lingkungan binatang percobaan, adanya perbedaan species yang terutama berbeda dalam hal metabolisme (45). Sehingga hasil percobaan ini hanya bermakna sebagai penyokong atau memperkuat hasil yang telah dicapai pada manusia (16,21).

Aminofilin (teofilin etilendiamin) dapat mengantagonisasi efek diazepam mungkin bekerja dengan jalan seperti akan diuraikan di bawah ini. Setelah dikenal adanya reseptor benzodiazepin maka kemudian dipikirkan kemungkinan adanya ligan endogen. Yang dimaksud dengan ligan endogen yaitu suatu molekul dari dalam tubuh sendiri yang bereaksi dengan molekul lain, dalam hal ini makromolekul reseptor benzodiazepin. Beberapa zat yang potensial sebagai ligan endogen telah berhasil diisolasi dari bahan-bahan biologis, antara lain: β -karbolin, golongan purin, dan nikotinamid. Salah satu zat dari golongan purin yang diduga sebagai ligan endogen adalah adenosin (4).

Telah diperiksa berbagai macam derivat adenin yang berperan dalam depresi SSP. Dari hasil yang didapat ternyata bermacam-macam derivat adenin ini mempunyai gradasi dalam menimbulkan efek depresi. Adenosin merupakan depresi yang kuat terhadap berbagai bagian otak, antara lain terhadap korteks serebri, bulbus olfaktorius, kaudatus, hipokampus, talamus dan lain-lain (46 - 49). Dengan menggunakan fraksi sinaptosom dari otak marmot (fraksi sinaptosom diperoleh dengan menggunakan metode 'sucrose gradient centrifugation' dari homogenat marmot, fraksi terdiri dari

vesikel-vesikel sinaps) terlihat bahwa adenosin dilepaskan oleh sinaptosom, rangsangan listrik menambah pelepasan adenosin tersebut (50). Dari penelitian lain, mungkin adenosin merupakan suatu transmitter inhibisi yang dikeluarkan oleh ujung saraf presinaptik (51).

Diazepam dan (+)-isomer dari oksazepam hemisuksinat menghambat 'uptake' ^3H -adenosin di sinaptosom otak, irisan otak, dan sel glia (4,52), diazepam mengadakan potensiasi dengan adenosin yang diberikan secara iontoforetik untuk menimbulkan efek depresi pada neuron korteks serebri tikus (53). Teofilin dan berbagai macam metil xantin bekerja mengantagonisasi efek inhibisi adenosin pada berbagai jaringan antara lain atrium kiri marmot, arteri basilaris kelinci, dan sediaan ileum marmot (54). Teofilin yang bersifat antagonis adenosin ini ternyata juga menurunkan supresi neuron korteks serebri yang ditimbulkan oleh flurazepam (55). Beberapa jenis purin termasuk adenosin, inosin dan hipoxantin dapat berkompetisi untuk menduduki tempat ikatan ('binding site') benzodiazepin pada jaringan otak (56-58). Dari uraian di atas dapat diperkirakan bahwa teofilin bekerja mengantagonisasi adenosin, yang diduga sebagai ligan endogen bagi reseptor benzodiazepin.

BAB VI

RINGKASAN DAN KESIMPULAN

Beberapa peneliti memperlihatkan bahwa aminofilin dapat mengantagonisasi efek diazepam. Penelitian ini bertujuan untuk melihat apakah pemberian aminofilin intravena dapat mempersingkat masa tidur yang ditimbulkan oleh diazepam intravena pada kelinci. Penelitian dilakukan dengan menggunakan disain menyilang ('cross-over').

Pemberian dosis diazepam intravena yang semakin meningkat menghasilkan masa tidur yang semakin meningkat pula (dosis awal 1,2 mg/kg BB yang ditingkatkan 0,6 mg/kg BB setiap peningkatan sampai dosis 6 mg/kg BB; persamaan garis regresi:

$$Y = 13,75 X - 5,83; \text{ koefisien korelasi } r = 0,899).$$

Variasi masa tidur pada kelinci ($n = 6$) setelah pemberian diazepam 6 mg/kg BB intravena berkisar antara 77 - 115 menit ($\bar{x} \pm SD = 91,83 \pm 14,97$ menit), dan mula tidur berkisar antara 0 - 3 menit.

Pemberian aminofilin 1 mg/kg BB intravena 10 menit setelah pemberian diazepam 6 mg/kg BB intravena menghasilkan perbedaan yang tidak bermakna bila dibanding dengan plasebo (NaCl fisiologik steril) ($n = 10, p > 0,05$).

Pemberian aminofilin 5 mg/kg BB intravena 45 menit

setelah pemberian diazepam 6 mg/kg BB intravena juga menghasilkan perbedaan yang tidak bermakna bila dibandingkan dengan plasebo ($n = 12$; $p > 0,05$).

Pemberian aminofilin 10 mg/kg BB intravena 45 menit setelah pemberian diazepam 6 mg/kg BB intravena menghasilkan perbedaan yang sangat bermakna ($n = 12$; $p < 0,005$). Tampaknya hal ini menyokong penggunaan aminofilin intravena untuk menghilangkan efek diazepam pada manusia.



SUMMARY AND CONCLUSIONS

Some authors reported the efficacy of intravenous (IV) aminophylline in antagonizing diazepam. The author compared the effect of aminophylline and control (saline solution) on the sleeping time following diazepam administration in cross-over trial in rabbits.

Diazepam (6 mg/kg BW) was given intravenously to each of 10 rabbits. Ten minutes later each rabbit received either a dose of aminophylline, 1 mg/kg BW, intravenously, or the equivalent volume of saline solution as control. The sleeping times of the treatment group and the control group were not significantly different ($p > 0,05$). The related t-test was used to compare the differences between the sleeping times in the two groups.

Forty five minutes after receiving IV diazepam, 6 mg/kg BW, the animals received either aminophylline, 5 mg/kg BW intravenously or the same volume of saline solution. Again the related t-test showed no significant differences between the sleeping times of the two groups ($n = 12$; $p > 0,05$). By the same method, the dose of aminophylline was increased to 10 mg/kg BW. At this dose level, highly significant difference was found between the sleeping times in the two groups ($n = 12$; $p < 0,005$).

The results support the evidences that hypnotic effect of diazepam could be antagonized by aminophylline.

The sleeping times were increased by incremental doses of IV diazepam administration (regression equation: $Y = 13,75 X - 5,85$; Pearson's correlation coefficient: $r = 0,899$).

The sleeping times following IV administered, 6 mg/kg BW, in rabbits ($n = 6$) varied between 77 - 115 minutes ($\bar{x} \pm SD = 91,83 \pm 14,97$ minutes), and the onsets of sleeping are between 0 - 3 minutes.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO Tech Rep Ser no. 371. Research in psychopharmacology. Geneva: World Health Organization, 1967.
2. Harvey SC. Hypnotics and sedatives. Dalam: Gillman AG, Goodman LS, Gilman A, et al, eds. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 6th ed. New York: MacMillan, 1980: 339 - 51.
3. Ban TA. Psychopharmacology for the aged. Basel: Karger, 1980: 78 - 9.
4. Braestrup C, Nielsen M. Benzodiazepin receptors. Dalam: Iversen LL, Iversen SD, Snyder SH, eds. Handbook of psychopharmacology. New York: Plenum, 1983: 285 - 384.
5. Oswald I, Adam K. Get a better night's sleep. London: Martin Dunitz, 1983: 82.
6. Darmansjah I, Syamsudin U. Tindakan darurat pada keracunan. Cermin Dunia Kedokteran 1979: 1 - 6.
7. Smith TC, Cooperman LH, Wollman H. History and principles of anaesthesiology. Dalam rujukan 2: 270.
8. Marshall BE, Wollman H. General anesthetics. Dalam rujukan 2: 296.
9. Lader M. Correlation of plasma concentrations of benzodiazepin with clinical effects. Dalam: Priest RG, Pletscher A, Ward J, eds. Sleep research. Lancaster: MTP Press, 1979: 99 - 122.
10. Larson GF, Hurlbert BJ, Wingard DW. Pysostigmine reversal of diazepam-induced depression. Anesth Analg 1977; 56: 384 - 51.
11. Bidwai AV, Stanley TH, Rogers C, et al. Reversal of diazepam-induced postanesthetic somnolence with physostigmine. Anesthesiology 1979; 51: 256 - 9.

12. Sjamsudin U, Darmansjah I, Handoko T. Kasus keracunan yang dirawat di rumahsakit-rumahsakit Jakarta 1977 - 1978. MKI 1981; 31: 109 - 12.
13. Matthew H, Lawson AAH. Penanggulangan keracunan akut. Jakarta: Medipress, 1982.
14. Ghoneim MM. Antagonism of diazepam by physostigmine. Anesthesiology 1980; 52: 372.
15. Garber JG, Ominsky AJ, Orkin FK. Physostigmine reversal of diazepam sedation. Anesthesiology 1979; 51: S37.
16. Stirt JA. Aminophylline is a diazepam antagonist. Anesth Analg 1981; 60: 767 - 8.
17. Bell EF. The use of naloxone in the treatment of diazepam poisoning. J Pediatr 1975; 87: 803.
18. Jordan C, Lehane JR, Jones JG. Respiratory depression following diazepam: reversal with high-dose naloxone. Anesthesiology 1980; 53: 293 - 8.
19. Christensen KN, Huttel M. Naloxone does not antagonize diazepam-induced sedation. Anesthesiology 1979; 51: 187.
20. Bennett PB. Naloxone fails to antagonize the righting response in rat anesthetized with halothane. Anesthesiology 1978; 49: 9 - 11.
21. Meyer BH, Weis OF. Antagonism of diazepam by aminophylline in healthy volunteers. Anesth Analg 1984; 63: 900 - 2.
22. Watanabe S, Kawasaki H, Ueki S. Electroencephalographic effects of 3-methyl-5- β -N-(N'-m-chlorophenyl-piperazino)-ethyl-pyrazol (EMD 16923) in rabbits (abstr). Excerpta Medica, 1980: 327.
23. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1979: 221 - 2.
24. Dundee JW, Keilty SR. Diazepam. Dalam: International anesthesiology clinics. Newer intravenous anesthetics. Boston: Little, Brown, 1969: 91 - 121.
25. Bradshaw EG, Pleuvry BJ. Respiratory and hypnotic effects of nitrazepam, diazepam and pentobarbitone and their solvents in the rabbit and the mouse. Br J Anaesth 1971; 43: 637 - 43.

26. Rumawas RT. Patologi dan patofisiologi gangguan kesadaran. Dalam: Lumbantobing SM, Samino, Almat-sier M, eds. Koma. Jakarta: Bagian Neurologi FKUI, 1983: 1 - 15.
27. Johns MW. Normal sleep. Dalam: Priest RG, ed. Sleep. An international monograph. Cradly Heath: Update Books, 1984: 13 - 7.
28. Nicholson AN, Borland RG, Stone BM. Effects of benzodiazepines on performance: studies in healthy man. Dalam rujukan 9: 109.
29. Korttila K. Amnestic action and residual effects of benzodiazepine used for intravenous sedation. Dalam rujukan 9: 123.
30. Rall TW, Schleifer LS. Drug effective in the therapy of the epilepsies. Dalam rujukan 2: 466.
31. Haefely WE. Mechanism of action of the benzodiazepines. Basle: F Hoffman-La Roche, tt.
32. Costa E, Guidotti A, Mao CC, et al. Minireview. New concepts on the mechanism of action of benzodiazepin. Life Sci 1973; 17: 167 - 86.
33. Baldessarini RJ. Drugs and the treatment of psychiatric disorders. Dalam rujukan 2: 436 - 47.
34. Benet LZ, Sheiner LB. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. Dalam rujukan 2: 1702.
35. Breimer DD. Clinical pharmacokinetic and biopharmaceutical aspects of hypnotic drug therapy. Dalam rujukan 9: 63 - 81.
36. Breimer DD. Pharmacokinetics of benzodiazepines. Dalam rujukan 27: 34 - 45.
37. Hubeis AA. Teofilina studi eksperimental profil farmakokinetik. Surabaya: Universitas Airlangga, 1983.
38. Rall TW. Central nervous system stimulants. The xanthines. Dalam rujukan 2: 592 - 607.
39. Storer TI, Usinger RL. General zoology. 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 1957: 586 - 94.

40. Mason DFJ. Hypnotics and general anesthetics. Dalam: Laurence DR, Bacharach AL, eds. Evaluation of drug activities: pharmacometrics. London: Academic, 1969: 261 - 86.
41. Bianchine JR. Drugs for Parkinson's disease: centrally acting muscle relaxants. Dalam rujukan 2: 488.
42. Meddis R. Statistical handbook for non-statisticians. London: McGraw-Hill, 1975: 116 - 7, 148 - 9.
43. Wilson WK. The rabbit. Dalam: Worden AN, ed. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. London: Bailliere, Tindall and Cox, 1947: 65 - 95.
44. Jones DJ, Stehling LC, Zauder HL. Cardiovascular responses to diazepam and midazolam maleate in the dog. Anesthesiology 1979; 51: 430 - 4.
45. Rumke CL. Some limitations of animal tests. Dalam rujukan 40: 126 - 33.
46. Phillis JW, Kostopoulos GK. Adenosine as a putative transmitter in the cerebral cortex. Studies with potentiators and antagonists. Life Sci 1975; 17: 1085 - 94.
47. Kostopoulos GK, Limacher JJ, Phillis JW. Action of various adenine derivatives on cerebellar Purkinje cells. Brain Res 1975; 88: 162 - 5.
48. Kostopoulos GK, Phillis JW. Purinergic depression of neurons in different areas of the rat brain. Exp Neurol 1977; 55: 719 - 24.
49. Phillis JW, Kostopoulos GK, Limacher JJ. Depression of corticospinal cells by various purines and pyrimidines. Can J Physiol 1974; 52: 1226 - 9.
50. Kuroda Y, McIlwain H. Uptake and release of ¹⁴C adenine derivatives at beds of mammalian cortical synaptosomes in a superfusion system. J Neurochem 1974; 22: 691 - 9.
51. Sulakhe PV, Phillis JW. The release of ³-adenosine and its derivatives from cat sensorimotor cortex. Life Sci 1975; 17: 551 - 6.
52. Mah HD, Daly JW. Adenosin-dependent formation of cyclic AMP in brain slices. Pharmacol Res Commun 1976; 8: 65 - 79.

53. Phillis JW Diazepam potentiation of purinergic depression of central neurons. Can J Physiol Pharmacol 1979; 57: 432 - 5.
54. Griffith SG, Meghji P, Moody CJ, Burnstock G. 8-phenyl theophylline: a potent P₁-purinoceptor antagonist. Eur J Pharmacol 1981; 75: 61 - 4.
55. Phillis JW, Edstrom JP, Ellis SW, et al. Theophylline antagonizes flurazepam-induced depression of cerebral cortical neurons. Can J Physiol Pharmacol 1979; 57: 917 - 20.
56. Skolnick P, Marangos PJ, Goodwin FK, et al. Identification of inosine and hypoxanthine as endogenous inhibitors of ³H diazepam binding in the central nervous system. Life Sci 1978; 23: 1473 - 80.
57. Asano T, Spector S. Identification of inosine and hypoxanthine as endogenous ligand for the brain benzodiazepin-binding sites. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76: 977 - 81.
58. Marangos PJ, Paul SM, Parma AM et al. Purinergic inhibition of diazepam binding to rat brain (in vivo). Life Sci 1979; 24: 851 - 8.

RIWAYAT HIDUP

Nama : Kadarsyah

Lahir : 6 Oktober 1955 di Bandung

Agama : Islam

Pendidikan: Lulus SMA Negeri VII Bandung, 1973; memperoleh gelar dokter dari Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung, 1982.

Pengalaman Kerja: Sejak tahun 1982 diangkat sebagai staf pengajar pada Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Darussalam - Banda Aceh.

Organisasi Profesi: -