



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH pH URIN TERHADAP WAKTU PARUH
SULFADIAZIN YANG DIBERIKAN SECARA ORAL
PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**UMMI SA'ADAH
0706265043**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH pH URIN TERHADAP WAKTU PARUH
SULFADIAZIN YANG DIBERIKAN SECARA ORAL
PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

**UMMI SA'ADAH
0706265043**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ummi Sa'adah

NPM : 0706265043

Tanda Tangan : 

Tanggal : 12 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Ummi Sa'adah
NPM : 0706265043
Program Studi : Sarjana Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh pH Urin terhadap Waktu Paruh Sulfadiazin yang Diberikan secara Oral pada Tikus Putih Jantan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia


DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Drs. Umar Mansur, M.Sc. ()

Pembimbing : Santi Purna Sari, M.Si. ()

Penguji : Prof. Dr. Effionora A., MS. ()

Penguji : Dr. Arry Yanuar, M.Si. ()

Penguji : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed. ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 12 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi FMIPA UI. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Umar Mansur, M.Sc., selaku pembimbing I, atas bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Santi Purna Sari, M.Si., selaku pembimbing II, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan kesabarannya menanggapi permasalahan yang ada selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah memberikan kesempatan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.
4. Bapak Dr. Harmita, Apt., selaku pembimbing akademis atas dukungan, bimbingan, dan saran selama masa pendidikan.
5. Seluruh staf pengajar, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan dan penelitian.
6. Ibu, Ayah, dan keluarga besar tersayang di Palembang, Jakarta, dan Bekasi, yang telah meluangkan waktu untuk memberi dukungan, perhatian, kasih sayang, pengorbanan, dan doa yang sangat berarti.
7. Teman-teman penelitian Farmakologi (Diani, Nisa, Fitri, Diandra, Wulan, Ida, Citra, Nita, Diah, Ghina, Silvi, Dhita, Dewi, Armel, Nurli, Dian, Nurul, Vero) yang banyak membantu dan menemani selama masa penelitian.
8. Teman-teman, Ibu Yani, dan Adi di Pondok Putri Kania atas dukungan dan kebersamaan selama penulis menempuh pendidikan.
9. Teman-teman Farmasi S1 Reguler dan Ekstensi, terima kasih atas waktu dan kebersamaan kita selama menempuh pendidikan di Farmasi.

10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan hingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu dan semoga skripsi ini membawa manfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

2011



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ummi Sa'adah
NPM : 0706265043
Program Studi : S1
Departemen : Farmasi
Fakultas : MIPA
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pengaruh pH Urin terhadap Waktu Paruh Sulfadiazin yang Diberikan secara Oral pada Tikus Putih Jantan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok

Pada tanggal: 12 Juli 2011

Yang menyatakan



(Ummi Sa'adah)

ABSTRAK

Nama : Ummi Sa'adah
Program studi : Farmasi
Judul : Pengaruh pH Urin terhadap Waktu Paruh Sulfadiazin yang Diberikan secara Oral pada Tikus Putih Jantan

Sulfadiazin, salah satu terapi infeksi saluran kemih pilihan, berpotensi mengakibatkan kristaluria ataupun gangguan ginjal lainnya karena bersifat sukar larut dalam urin. Hal itu dapat dicegah dengan alkalinisasi urin karena ekskresi sulfadiazin meningkat pada pH urin basa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH urin terhadap waktu paruh sulfadiazin pada tikus putih jantan. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam lima kelompok, yaitu kontrol normal yang hanya diberi larutan CMC 0,5%; kontrol sulfadiazin (285,7 mg/kg BB); dan tiga kelompok yang diberi sulfadiazin serta larutan NaHCO₃ 10% tiap 6 jam dengan variasi dosis yang telah dipilih (dosis 1, 2, dan 3 berturut-turut adalah 0,9; 1,8; dan 2,7 mg/g BB). Pemberian seluruhnya dilakukan secara oral. Pemberian larutan NaHCO₃ 10% pada kelompok 3, 4, dan 5 dimulai dari satu jam sebelum pemberian sulfadiazin. Serapan yang diberikan oleh sulfadiazin dalam urin diukur pada jam ke-1,5; 3,5; 6,5; 10,5; 13,5; dan 18 menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa makin basa pH urin, maka makin banyak jumlah kumulatif sulfadiazin yang diekskresi dan makin singkat waktu paruh rata-ratanya pada tikus putih jantan.

Kata kunci : NaHCO₃, pH urin, sulfadiazin, waktu paruh
xiv + 68 halaman ; 20 gambar; 5 lampiran; 28 tabel
Daftar Pustaka : 26 (1964-2008)

ABSTRACT

Name : Umami Sa'adah
Program study: Pharmacy
Title : The Impact of Urinary pH on Half Time of Sulfadiazin which Given Orally on Male Albino Rats

Sulfadiazine, one of the chosen therapy for urinary tract infection, potentially causing crystalluria or other kidney disorders because it's difficult dissolve in urine. It can be prevented by alkalinization of urine due to increased excretion of sulfadiazine in alkaline urine. This research was carried out to know the impact of urinary pH on sulfadiazine's half-time on male albino rats. This study was conducted by using 25 male Sprague-Dawley rats which is divided into 5 groups: normal control that was given only CMC 0,5% solution; control sulfadiazine (285,7 mg/kg BW); and three groups were given sulfadiazine and NaHCO₃ 10% solution every 6 hours with variation doses which was selected (dose 1, 2, and 3 successively is 0,9; 1,8; and 2,7 mg/g BW). Giving all done orally. Solution of NaHCO₃ 10% given to group 3, 4, and 5 starting from one hour before giving sulfadiazine. Absorbance by sulfadiazine in urine was measured at hours-1,5; 3,5; 6,5; 10,5; 13,5; and 18 using UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the more alkaline pH of urine, then the greater number of sulfadiazine was excreted and the average half-time was sooner on male albino rats.

Keywords : half time, NaHCO₃, sulfadiazin, urinary pH
xiv + 68 pages ; 20 pictures; 28 tables; 5 appendices
Bibliography : 26 (1964-2008)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Hipotesis	2
1.3 Tujuan penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Ekskresi Obat.....	3
2.2 Analisis Obat dalam Urin	5
2.3 Sulfadiazin	7
2.4 Identifikasi Sulfadiazin dalam Urin.....	8
2.5 Agen Alkalinisasi dan Asidisasi Urin.....	9
2.6 Validasi Metode Analisis.....	12
3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Lokasi.....	16
3.2 Bahan	16
3.3 Alat.....	16
3.4 Cara kerja.....	17
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR ACUAN	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.2	Kurva semilogaritma hubungan antara waktu pengumpulan cuplikan urin terhadap laju ekskresi obat (dDu/dt) 6
Gambar 2.3	Struktur kimia sulfadiazin 7
Gambar 2.4	Reaksi diazotasi dalam suasana asam 8
Gambar 2.5.1.1	Struktur kimia asam sitrat (a) dan kalium sitrat (b)..... 10
Gambar 2.5.1.2	Struktur kimia asam askorbat 11
Gambar 3.2.1	Kandang metabolisme tikus 40
Gambar 3.2.2	Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601) 40
Gambar 3.2.3	pH-meter (Eutech) 40
Gambar 4.1	Spektrum serapan sulfadiazin dalam urin dengan konsentrasi 50 ppm 26
Gambar 4.2.1	Kurva kalibrasi sulfadiazin dalam urin 29
Gambar 4.3.1	Grafik hubungan antara kelompok perlakuan terhadap $t_{1/2}$ rata-rata sulfadiazin tiap kelompok..... 30
Gambar 4.3.1.1	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) rata-rata sulfadiazin pada kelompok 2 41
Gambar 4.3.1.2	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) rata-rata sulfadiazin pada kelompok 3 41
Gambar 4.3.1.3	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) rata-rata sulfadiazin pada kelompok 4 42
Gambar 4.3.1.4	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) rata-rata sulfadiazin pada kelompok 5 42
Gambar 4.3.2	Kurva hubungan antara kelompok perlakuan terhadap jumlah kumulatif rata-rata sulfadiazin dalam urin..... 32
Gambar 4.4.1	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 2 43
Gambar 4.4.2	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 3 44
Gambar 4.4.3	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 4 45
Gambar 4.4.4	Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt ($\mu g/mnt$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 5 46

DAFTAR TABEL

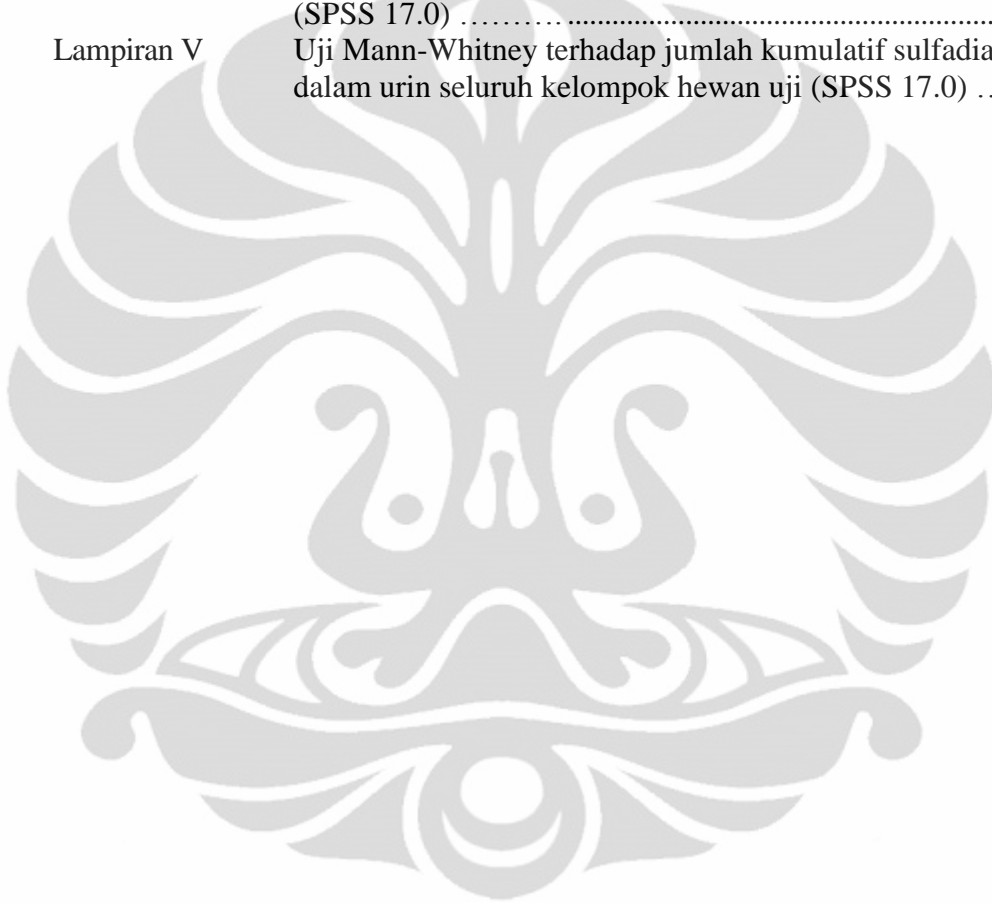
Tabel	Halaman
Tabel 3.4.5	Pembagian kelompok hewan uji..... 24
Tabel 4.2.1	Data kurva kalibrasi sulfadiazin dalam urin 29
Tabel 4.2.2	Data uji perolehan kembali (% UPK) sulfadiazin dalam urin..... 47
Tabel 4.3	Jumlah kumulatif rata-rata sulfadiazin dalam urin dari setiap kelompok perlakuan pada tiap waktu culikan 31
Tabel 4.3.1	Data urin tikus 1 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)..... 47
Tabel 4.3.2	Data urin tikus 2 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)..... 47
Tabel 4.3.3	Data urin tikus 3 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)..... 48
Tabel 4.3.4	Data urin tikus 4 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)..... 48
Tabel 4.3.5	Data urin tikus 5 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)..... 49
Tabel 4.3.6	Data urin tikus 1 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 49
Tabel 4.3.7	Data urin tikus 2 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 50
Tabel 4.3.8	Data urin tikus 3 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 50
Tabel 4.3.9	Data urin tikus 4 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 51
Tabel 4.3.10	Data urin tikus 5 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 51
Tabel 4.3.11	Data urin tikus 1 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB))..... 52
Tabel 4.3.12	Data urin tikus 2 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB))..... 52
Tabel 4.3.13	Data urin tikus 3 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB))..... 53
Tabel 4.3.14	Data urin tikus 4 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB))..... 53
Tabel 4.3.15	Data urin tikus 5 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB))..... 54
Tabel 4.3.16	Data urin tikus 1 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB))..... 54
Tabel 4.3.17	Data urin tikus 2 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB))..... 55
Tabel 4.3.18	Data urin tikus 3 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB))..... 55
Tabel 4.3.19	Data urin tikus 4 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB))..... 56
Tabel 4.3.20	Data urin tikus 5 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB))..... 56
Tabel 4.3.21	Data urin rata rata kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) 57
Tabel 4.3.22	Data urin rata rata kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO ₃ (0,9 mg/g BB))..... 57
Tabel 4.3.23	Data urin rata rata kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan

	dosis 2 NaHCO ₃ (1,8 mg/g BB)).....	58
Tabel 4.3.24	Data urin rata rata kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO ₃ (2,7 mg/g BB)).....	58



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
Lampiran I	Perhitungan bahan dan pembuatan suspensi sulfadiazin	59
Lampiran II	Sertifikat analisis sulfadiazin	60
Lampiran III	Cara perhitungan validasi metode analisis	61
Lampiran IV	Uji normalitas (Saphiro-Wilk) terhadap jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji (SPSS 17.0)	62
Lampiran V	Uji Mann-Whitney terhadap jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji (SPSS 17.0)	66



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Obat di dalam tubuh mengalami tahapan eliminasi melalui ekskresi atau biotransformasi (metabolisme). Ekskresi oleh ginjal merupakan rute eliminasi dominan untuk obat dengan sifat fisikokimia tertentu sehingga mengalami biotransformasi yang lambat oleh hati. Tahapan eliminasi dalam ginjal meliputi filtrasi glomerulus, sekresi tubular aktif, dan reabsorpsi tubular. Pada tahap reabsorpsi obat yang bersifat asam lemah atau basa lemah sangat dipengaruhi oleh pH cairan dalam tubulus ginjal (urin) dan pKa obat. Dua faktor tersebut mempengaruhi ionisasi obat dalam tubulus ginjal, berapa banyak prosentase obat terionisasi dan tidak terionisasi yang dapat direabsorpsi. Konstanta disosiasi (pKa) obat merupakan faktor pengaruh yang bersifat tetap, sedangkan pH urin dapat berubah karena makanan, minuman, obat yang sedang dikonsumsi, atau fisiologis tubuh yang abnormal (Shargel & Yu, 2005). Pengaruh pH urin terhadap farmakokinetika obat telah banyak diteliti dengan tujuan terapi atau pencegahan toksisitas obat tertentu ataupun untuk melihat pengaruhnya terhadap bioavailabilitas obat. Salah satunya yaitu siprofloksasin, ekskresi utamanya melalui tahapan sekresi tubular aktif, yang telah diteliti bahwa farmakokinetikanya tidak dipengaruhi oleh perubahan pH urin (Kamberi, et al., 1999).

Salah satu obat yang dominan diekskresi dalam urin adalah sulfadiazin dari golongan sulfonamida yang digunakan untuk pengobatan dan pencegahan infeksi saluran kemih pada manusia. Obat ini bersifat bakterisid dengan kadarnya yang tinggi dalam urin, lebih dari 40% bentuk utuhnya diekskresi. Sulfadiazin termasuk asam lemah yang ekskresinya dipengaruhi oleh pH urin. Klirensnya melalui ginjal meningkat dengan berkurangnya reabsorpsi tubular akibat suasana alkalis. Sulfadiazin sukar larut dalam urin sehingga berpotensi menyebabkan kristaluria dan komplikasi ginjal lainnya. Pencegahan resiko dari pemberian sulfadiazin dapat dilakukan dengan pemberian sediaan alkalis seperti natrium bikarbonat (Galichet, 2005; Setiabudy & Mariana, 2007). Pengaruh pH urin basa

yang dicapai dengan pemberian natrium bikarbonat terhadap ekskresi sulfadiazin perlu diketahui lebih lanjut, terutama terhadap parameter farmakokinetiknya. Begitu juga dengan pengaruh pH urin asam yang dapat dicapai dengan pemberian agen asidisasi urin (ammonium klorida atau asam askorbat). Salah satu parameter farmakokinetika obat yang dapat diketahui dari data urin adalah waktu paruhnya. Oleh karena itu, penelitian mengenai pengaruh pH urin terhadap waktu paruh sulfadiazin perlu dilakukan.

1.2 Tujuan penelitian

Mengetahui pengaruh pH urin yang lebih basa atau lebih asam dari pH urin normal terhadap waktu paruh sulfadiazin pada tikus putih jantan.

1.3 Hipotesis

Waktu paruh sulfadiazin dipengaruhi oleh pH urin yang lebih basa ataupun lebih asam dari pH urin normal pada tikus putih jantan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekskresi Obat

Obat yang larut dalam air, mempunyai berat molekul rendah ($BM \leq 300$), atau yang mengalami biotransformasi secara lambat oleh hati akan dieliminasi secara dominan dengan ekskresi oleh ginjal dalam bentuk utuh atau metabolitnya. Ekskresi oleh ginjal melibatkan 3 tahapan, yaitu filtrasi glomerulus, sekresi aktif tubulus proksimal, dan reabsorpsi pasif sepanjang tubulus. Obat-obat yang terikat dengan protein berkelakuan sebagai molekul-molekul besar, sehingga tidak dapat difiltrasi. Filtrasi oleh glomerulus berhubungan langsung dengan konsentrasi obat bebas atau yang terikat bukan dengan protein dalam plasma. Bila konsentrasi obat bebas dalam plasma naik, filtrasi glomerulus terhadap obat akan naik secara proporsional. Sekresi aktif pada tubulus proksimal merupakan proses transport aktif yang diperantarai oleh sistem pembawa yang membutuhkan energi, karena obat diangkut melawan gradien konsentrasi. Sistem pembawa tersebut memiliki kapasitas yang terbatas dan dapat mengalami kejenuhan akibat adanya obat atau senyawa lain dengan struktur yang hampir sama bersaing untuk menempatnya. Sekresi aktif melalui ginjal memiliki dua sistem pembawa yang selektivitasnya berbeda yaitu sistem untuk asam lemah dan basa lemah (Shargel & Yu, 2005).

Reabsorpsi tubular terjadi setelah obat difiltrasi melalui glomerulus. Jika suatu obat direabsorpsi secara sempurna dalam bentuk nonion yang larut dalam lemak, maka harga klirens obat mendekati nol. Obat-obat yang direabsorpsi sebagian, harga klirensnya menjadi lebih kecil dari GFR (*Glomerulus Filtration Rate*) normal (125-130 ml/menit). Reabsorpsi obat yang bersifat asam lemah atau basa lemah dipengaruhi oleh dua faktor yang secara bersamaan menjadi determinan prosentase obat terionisasi atau tidak terionisasi, yaitu pH cairan dalam tubulus ginjal (urin) dan pKa obat. Umumnya jenis obat yang tidak terionisasi lebih larut dalam lemak (sedikit larut dalam air) dan mempunyai permeabilitas membran lebih besar. Obat-obat tersebut dengan mudah direabsorpsi dari tubulus ginjal kembali ke dalam tubuh. Proses reabsorpsi obat secara bermakna dapat mengurangi jumlah obat yang diekskresi (Shargel & Yu,

2005). Nilai pKa obat adalah faktor yang bersifat konstan, sedangkan pH urin dapat berubah karena makanan dan minuman, fisiologis tubuh yang abnormal, dan obat yang dikonsumsi (Price & Wilson, 1994). Keadaan patofisiologis pada gangguan asam basa seperti alkalosis atau asidosis juga dapat menyebabkan perubahan pH urin menjadi lebih asam atau lebih basa daripada pH urin normal (4,8–7,5) (Jarret & Wirth, 1980).

Prosentase obat asam lemah yang terionisasi sehubungan dengan pengaturan pH dapat diperoleh dari persamaan *Henderson-Hasselbalch*:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{terionisasi}]}{[\text{tidak terionisasi}]} \quad (2.1)$$

rumus tersebut disusun kembali menjadi:

$$10^{\text{pH}-\text{pKa}} = \frac{[\text{terionisasi}]}{[\text{tidak terionisasi}]} \quad (2.2)$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen obat terionisasi} &= \frac{[\text{terionisasi}]}{[\text{terionisasi}] + [\text{tidak terionisasi}]} \\ &= \frac{10^{\text{pH}-\text{pKa}} [\text{tak terionisasi}]}{10^{\text{pH}-\text{pKa}} [\text{tak terionisasi}] + [\text{tak terionisasi}]} \\ &= \frac{10^{\text{pH}-\text{pKa}}}{10^{\text{pH}-\text{pKa}} + 1} \end{aligned} \quad (2.3)$$

Derajat disosiasi obat dipengaruhi oleh pH larutan dimana obat tersebut berada. Hal itu dimanfaatkan untuk mempercepat ekskresi obat pada keracunan suatu obat asam atau obat basa, dan obat-obat yang berpotensi menyebabkan gangguan ginjal. Tingkat disosiasi yang dialami lebih dipengaruhi oleh perubahan pH urin untuk obat asam dengan pKa 3,0-8,0 dan obat basa dengan pKa 7,5-10,5 dibandingkan dengan obat asam dengan pKa ≤ 2 atau obat basa dengan pKa $\geq 10,5$. Untuk obat basa lemah, persamaan *Henderson-Hasselbalch* menjadi:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{terionisasi}]}{[\text{tidak terionisasi}]} \quad (2.4)$$

dan

$$\text{Prosen obat terionisasi} = \frac{10^{\text{pH}-\text{pKa}+1}}{10^{\text{pH}-\text{pKa}}} \quad (2.5)$$

Dari persamaan *Henderson-Hasselbalch*, perbandingan konsentrasi distribusi asam lemah atau basa lemah dalam urin dan plasma dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Untuk asam lemah:

$$\frac{U}{P} = \frac{10^{\text{pH urin}-\text{pKa}+1}}{10^{\text{pH plasma}-\text{pKa}+1}} \quad (2.6)$$

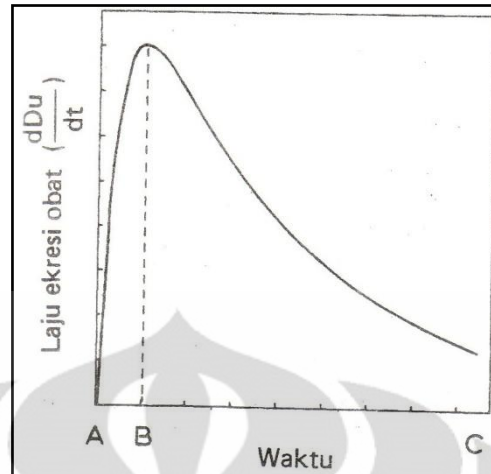
Untuk basa lemah:

$$\frac{U}{P} = \frac{10^{pK_a - pH_{urin} + 1}}{10^{pK_a - pH_{plasma} + 1}} \quad (2.7)$$

2.2 Analisis Obat dalam Urin

Data ekskresi obat melalui urin dapat digunakan untuk memperkirakan bioavailabilitasnya. Obat harus diekskresi dalam jumlah yang bermakna di dalam urin dan cuplikan urin harus dikumpulkan secara lengkap agar bioavailabilitasnya dapat diperkirakan dengan baik. Pada pelaksanaan percobaan, cuplikan urin dikumpulkan secara berkala setelah obat diberikan. Tiap cuplikan ditetapkan kadar obat bebasnya dengan cara yang spesifik. Kemudian dibuat grafik yang menghubungkan jumlah kumulatif obat yang diekskresi melalui urin terhadap jarak waktu pengumpulan. Laju ekskresi obat melalui urin (dD_u/dt) tidak dapat ditentukan dengan percobaan segera setelah pemberian obat. Data serapan yang diperoleh dari pengukuran tiap cuplikan digunakan dalam perhitungan jumlah obat dalam urin (D_u) dengan diketahui konsentrasi obat dalam urin (C_u) dan volume urin tiap cuplikan. Setelah itu, laju ekskresi obat lewat urin (dD_u/dt) dapat ditentukan dengan menghitung jumlah obat dalam urin per satuan waktu pengumpulan cuplikan.

Laju ekskresi urin (dD_u/dt) rata-rata dihitung untuk tiap waktu pengumpulan. Waktu yang merupakan harga tengah (titik tengah) dari waktu pengumpulan tiap cuplikan diplot pada skala semilogaritmik terhadap laju ekskresi (dD_u/dt) rata-rata.



[Sumber: Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan, 2005]

Gambar 2.2 Kurva semilogaritma hubungan antara waktu pengumpulan cuplikan urin terhadap laju ekskresi obat (dDu/dt)

Keterangan: A: laju ekskresi obat minimum; B: laju ekskresi obat maksimum; C: laju ekskresi obat saat telah dieliminasi secara sempurna.

Plot data waktu pengumpulan cuplikan urin terhadap laju ekskresi obat (dDu/dt) dapat digunakan untuk memperoleh garis lurus yang diwakili oleh titik-titik cuplikan. Garis lurus tersebut adalah tetapan laju eliminasi (K) yang dianggap sebagai orde kesatu dan dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

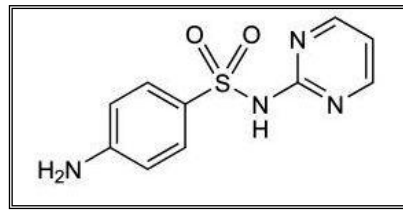
$$K = \frac{\ln\left(\frac{dDu}{dt}\right)_1 - \ln\left(\frac{dDu}{dt}\right)_2}{t_{mid 2} - t_{mid 1}} \quad (2.8)$$

Setelah diperoleh nilai K obat, waktu paruhnya dapat dihitung sebagai berikut:

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K} \quad (2.9)$$

Pada prakteknya, urin dikumpulkan pada jarak waktu tertentu dengan pertimbangan waktu paruh obat yang dianalisis. Oleh karena itu, banyak faktor yang berpotensi mengganggu kestabilan urin yang akan dianalisis selama waktu pengumpulan. Beberapa di antaranya adalah proliferasi bakteri, pH urin yang semakin basa, oksidasi pigmen empedu, dan evaporasi keton. Pencegahan ketidakstabilan urin dapat dilakukan dengan pemakaian pengawet urin, seperti toluen, kloroform, atau formalin (Jarret & Wirth, 1980).

2.3 Sulfadiazin



[Sumber: Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 2005]

Gambar 2.3 Struktur kimia sulfadiazin

Sulfadiazin, $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ (berat molekul: 250,3 g/mol), atau 4-Amino-N-2-pirimidinilbenzen sulfonamid dikelompokkan sebagai antibakteri dari golongan sulfonamida yang bekerja sebagai penghambat kompetitif PABA (asam p-aminobenzoat) yang dibutuhkan oleh bakteri (Galichet, 2005). Obat ini digunakan dalam pengobatan infeksi saluran kemih dan nocardiosis. Mekanisme kerjanya adalah menyebabkan terbentuknya analog asam folat yang tidak fungsional bagi bakteri (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005).

Sulfadiazin tidak larut dalam air, kloroform, dan eter; agak sukar larut dalam etanol dan aseton; larut dalam larutan natrium hidroksida dan ammonium hidroksida. Konstanta disosiasinya (pKa) sebesar 6,5 pada suhu $25^{\circ}C$ (Galichet, 2005; Farmakope Indonesia Edisi IV, 1995). Sulfadiazin tersedia dalam bentuk tablet 500 mg dengan dosis pemberian untuk orang dewasa sebanyak 1 g dua kali sehari (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005); untuk bayi berumur lebih dari dua bulan sebanyak 500 mg sekali sehari; dan untuk anak-anak sebanyak 500 mg dua kali sehari (Setiabudy & Mariana, 2007). Pemberian dalam uji secara in vivo harus mempertimbangkan data toksisitasnya pada hewan uji. LD_{50} sulfadiazin pada tikus sebesar 1500 mg/kg BB pada pemberian secara oral (Sulfadiazine, 2010).

2.3.1 Farmakokinetika dan farmakodinamika

Sulfadiazin diabsorpsi secara cepat dengan pemberian secara oral. Obat ini terdistribusi melalui jaringan-jaringan tubuh dan cairan tubuh termasuk pleural, peritoneal, sinovial, dan cairan okular. Metabolisme yang dialaminya adalah N-asetilasi. Lebih dari 15% sulfadiazin yang diberikan berada dalam bentuk tidak aktif dalam darah, yaitu turunan N-asetil. Waktu paruh eliminasinya sekitar 6-17

jam. Ekskresinya berkisar antara 43% hingga 60% dalam bentuk utuh dan 15% hingga 40% dalam bentuk metabolitnya (Galichet, 2005; Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005).

2.4 Identifikasi Sulfadiazin dalam Urin

Identifikasi sulfadiazin bebas (bentuk utuhnya) dalam darah dan urin yang dilakukan pada tahun 1939 oleh Bratton-Marshall telah menjadi acuan penelitian-penelitian selanjutnya. Identifikasi tersebut dilakukan berdasarkan reaksi diazotasi dan kolorimetri terhadap sulfadiazin sehingga dapat ditentukan keberadaannya dalam darah dan urin (Sadusk & Tredway). Metode tersebut telah terbukti dapat digunakan untuk analisis sulfadiazin dengan tujuan kuantitatif dalam cairan biologis (darah ataupun urin) sebagai bentuk utuhnya (Annino, 1964). Reaksi diazotasi yang terjadi adalah pembentukan garam diazonium dari gugus amin aromatik primer pada sulfadiazin dengan menggunakan reagen nitrit dalam suasana asam (Harmita, Nitrimetri, 2006). Berikut reaksi diazotasi yang terjadi:



[Sumber: Merck Index, 2001]

Gambar 2.4 Reaksi diazotasi dalam suasana asam

Modifikasi dari metode Bratton-Marshall terus dikembangkan dengan tujuan memperoleh prosedur kuantitatif yang paling efektif untuk menganalisis sulfadiazin dalam urin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah reaksi diazotasi dan kolorimetri terhadap sulfadiazin berdasarkan modifikasi yang telah dilakukan oleh Whitehouse dan Paul pada tahun 1979. Modifikasi tersebut dimulai dari cuplikan urin yang direaksikan secara kuantitatif dengan TCA 10% terlebih dahulu dengan tujuan pengasaman urin untuk kondisi reaksi diazotasi saat direaksikan dengan reagen nitrit. Selain itu, pemberian TCA 10% dan sentrifugasi setelahnya bertujuan untuk memastikan ekstraksi yang baik terhadap sulfadiazin bebas dari ikatan protein dalam urin. Sentrifugasi dengan tujuan tersebut dalam beberapa penelitian dilakukan selama 10-30 menit. Selanjutnya supernatan yang diperoleh direaksikan dengan natrium nitrit 0,1% dan didiamkan selama 3 menit untuk mencapai reaksi diazotasi yang sempurna. Terdapat kemungkinan adanya kelebihan nitrit dari hasil diazotasi sehingga perlu direaksikan dengan ammonium

sulfamat 0,5%, lalu campuran didiamkan selama 2 menit setelah dihomogenkan untuk memperoleh reaksi yang sempurna. Setelah itu, pewarnaan dilakukan menggunakan N-(1-naftil)etilendiamin 0,1% yang menghasilkan warna ungu muda jernih pada urin yang tidak mengandung sulfadiazin, dan warna ungu intensif pada urin yang mengandung sulfadiazin. Pewarnaan tersebut bertujuan agar dapat diukur serapannya pada sinar tampak (visibel) yang dilakukan dalam rentang panjang gelombang 450-650 nm. Panjang gelombang maksimum yang digunakan pada penelitian-penelitian sebelumnya berkisar antara 540-550 nm (Whitehouse & Paul, 1979; Annino, 1964).

2.5 Agen Alkalinisasi dan Asidisasi Urin

Pengaruh pH urin terhadap waktu paruh obat dapat dianalisis pada pH urin yang bervariasi, yaitu pada pH urin normal dan pH urin yang lebih basa atau lebih asam dari pH urin normal. Penggunaan agen alkalinisasi dan asidisasi urin bertujuan untuk memperoleh kondisi pH urin yang diperlukan selama analisis berlangsung. Beberapa agen alkalinisasi dan asidisasi urin adalah sebagai berikut:

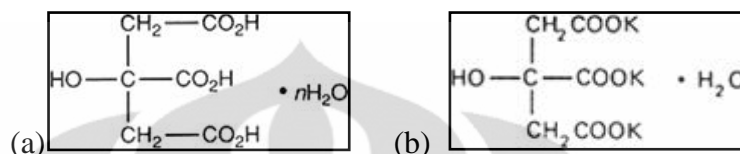
2.5.1 Agen alkalinisasi urin

a. Natrium bikarbonat

Natrium bikarbonat atau natrium subkarbonat, NaHCO_3 (berat molekul: 84,01 g/mol), larut dalam air dan tidak larut dalam etanol (Farmakope Indonesia Edisi IV, 1995). Pemberiannya ditujukan untuk pengaturan pH dalam mengatasi kondisi asidosis metabolik dan overdosis obat-obat tertentu, hiperasiditas gastrik, hiperkalemia, dan sebagai agen alkalinisasi urin. Disosiasi ion bikarbonatnya dapat menetralkan konsentrasi ion hidrogen dari sistem penyangga bikarbonat yang paling banyak secara kuantitatif dalam tubuh, sehingga konsentrasi ion HCO_3^- meningkat dan pH menjadi lebih basa (Price & Wilson, 1994). Dosis pemberiannya secara oral sebesar 4 g untuk dosis awal dan dilanjutkan dengan pemberian setiap 4 jam sebesar 1-2 g sebagai agen alkalinisasi urin, dan sebesar 325 mg hingga 2 g yang diberikan 1-4 kali sehari sebagai antasida. Onsetnya pada pemberian melalui oral sangat cepat, durasi kerja 8-10 menit, diabsorpsi dengan baik, dan diekskresi melalui urin. Larutan natrium bikarbonat stabil dengan penyimpanan dalam wadah tertutup baik pada suhu ruangan, terlindung

dari panas dan pembekuan, dan hanya digunakan bila larutan jernih (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005). LD₅₀ natrium bikarbonat pada tikus sebesar 4000 mg/kg BB pada pemberian secara oral (Sodium Bicarbonate, 2002).

b. Kalium sitrat dan asam sitrat



[Sumber: WHO pharmacopoeia library, 2008]

Gambar 2.5.1.1 Struktur kimia asam sitrat (a) dan kalium sitrat (b)

Kombinasi dari kalium sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, berat molekul: 324,4 g/mol) dan asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, berat molekul: 192,1 g/mol) diindikasikan sebagai agen alkalinisasi urin saat dibutuhkan urin dengan pH basa dalam waktu yang lama, misalnya pada asidosis metabolik. Dosis yang diberikan untuk orang dewasa sebesar 3300 mg kalium sitrat dan 1002 mg asam sitrat yang dilarutkan dalam air minum setelah makan dan waktu tidur (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005; WHO, 2008).

2.5.2 Agen asidisasi urin

a. Ammonium klorida

Ammonium klorida, NH_4Cl (berat molekul: 53,49 g/mol), mudah larut dalam air dan gliserin, lebih mudah larut dalam air mendidih, dan sedikit larut dalam etanol (Farmakope Indonesia Edisi IV, 1995). Indikasinya sebagai terapi alkalosis metabolik, meningkatkan konsentrasi ion hidrogen, dengan dosis sebesar 0,1 g/kg BB sehari sekali untuk pemberian secara oral pada orang dewasa (Jin Suk Han, Gheun-ho Kim, Earm, & Joo, 1998). Absorpsinya terjadi secara cepat melalui saluran pencernaan, dimetabolisme di hati menjadi urea dan HCl, dan diekskresi dalam urin. Peningkatan konsumsi air diperlukan selama terapi menggunakan ammonium klorida. LD₅₀ pada tikus sebesar 1650 mg/kg BB pada pemberian secara oral (Chem One Corporation, 1999). Larutannya stabil dengan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat pada suhu 15⁰-30⁰C. Larutan bisa

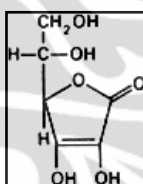
Universitas Indonesia

mengalami kristalisasi jika terpapar pada suhu rendah. Jika teramati adanya kristal, larutan dalam vial dihangatkan pada penangas air sebelum dipakai (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005).

b. Kalium dihidrogen fosfat

Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4 , berat molekul: 136,09 g/mol) diindikasikan sebagai agen asidisasi urin. Mekanisme kerjanya adalah meningkatkan kation intraselular termasuk pada transmisi terhadap impuls saraf, kontraksi otot, dan aktivitas enzim. Obat ini diabsorpsi dengan baik melalui saluran pencernaan dan didistribusi ke dalam sel melalui transport aktif dari cairan ekstraseluler. Ekskresi utamanya melalui urin, sebagian kecil melalui kulit dan feses. Dosisnya untuk pemberian secara oral diberikan sebesar 1 g yang dilarutkan dalam 6-8 ml air empat kali sehari pada orang dewasa. Pemberian sediaan ini harus disertai dengan makanan karena efek sampingnya yang tidak diinginkan pada saluran cerna, yaitu diare, mual, sakit perut, kembung, dan muntah (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005).

c. Asam askorbat



[Sumber: WHO pharmacopoeia library, 2008]

Gambar 2.5.1.2 Struktur kimia asam askorbat

Asam askorbat yang biasa diindikasikan untuk pencegahan dan pengobatan skorbut dapat diberikan sebagai agen asidisasi urin dengan dosis pemberian secara oral sebesar 4-12 g/hari dalam 3-4 kali pemberian untuk orang dewasa, dan sebesar 500 mg setiap 6-8 jam untuk anak-anak. Asam askorbat termasuk salah satu vitamin yang mudah larut dalam air. Kestabilan larutannya dijaga dengan penyimpanan yang terlindung dari cahaya (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005). Efek samping dari dosisnya sebagai agen asidisasi urin adalah diare karena terjadi iritasi pada mukosa usus yang mengakibatkan

peningkatan peristaltik (Dewoto, 2007). LD₅₀ pada tikus sebesar 11.900 mg/kg BB pada pemberian secara oral (Material Safety Data Sheet: Ascorbic Acid, 2005).

2.6 Validasi Metode Analisis

Validasi dari metode analisis bertujuan untuk menjamin bahwa metode tersebut mampu memberikan hasil yang cermat, handal, dan terpercaya. Pada validasi metode bioanalisis terdapat tiga tipe dan tingkatan validasi, yaitu sebagai berikut (FDA U.S., 2001):

a. Validasi lengkap

Validasi lengkap sangat penting apabila tujuan yang hendak dicapai adalah mengembangkan dan mengimplementasikan metode bioanalisis untuk pertama kalinya. Validasi ini juga penting untuk obat baru dan untuk penemuan metabolitnya

b. Validasi parsial

Validasi parsial dilakukan terhadap modifikasi dari metode bioanalisis yang sudah divalidasi. Beberapa tipe analisis yang termasuk dalam validasi parsial adalah:

1. Metode bioanalisis yang ditransfer antar laboratorium atau analisis
2. Terdapat perubahan pada metode analisisnya (misal: perubahan pada sistem deteksi)
3. Perubahan antikoagulan
4. Perubahan matriks pada spesies yang sama
5. Perubahan prosedur proses *sampling*
6. Perubahan spesies pada matriks yang sama
7. Perubahan kisaran konsentrasi
8. Perubahan instrumen atau *platform software*
9. Volume sampel terbatas
10. Matriksnya jarang.

c. Validasi silang

Validasi silang dilakukan dengan membandingkan parameter-parameter validasi apabila digunakan dua atau lebih metode bioanalisis untuk mendapatkan data pada studi yang sama atau pada studi yang berbeda. Pada validasi ini digunakan metode validasi yang asli sebagai referensi dan metode bioanalisis lainnya sebagai pembanding.

Pada umumnya, sampel biologis dapat dianalisis dengan penetapan tunggal (tanpa duplikat atau replikasi) jika variabilitas metode ujinya telah diterima berdasarkan data validasi. Beberapa kriteria validasi yang disyaratkan adalah sebagai berikut:

1. Sampel standar dan kontrol kualitas (QC) dapat dipreparasi dari larutan stok *spiking* yang sama
2. Kurva sampel standar dan QC yang diperoleh sesuai dengan pertimbangan pemakaian metode tersebut
3. Sampel standar-matriks kalibrasi yang digunakan minimal sebanyak 6 standar. Beberapa parameter validasi metode analisis adalah selektivitas, akurasi, presisi, linearitas, batas kuantitasi (LOQ), dan batas deteksi (LOD) (FDA U.S., 2001; Harmita, Validasi Metode Analisis, 2006).

2.6.1 Selektivitas

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuan suatu metode untuk membedakan dan mengukur kadar analit dengan keberadaan komponen lain dalam sampel. Untuk selektivitas, analisis sampel blanko dari matriks biologis yang sesuai (plasma, urin, atau matriks lainnya) harus diperoleh dari sedikitnya enam sumber. Setiap sampel blanko harus diuji terhadap interferensi dan selektivitasnya harus dipastikan pada batas terendah dari limit kuantitasnya.

2.6.2 Kecermatan (akurasi)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan rata-rata hasil pengujian yang diperoleh menggunakan metode tertentu dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali

(*recovery*) analit yang ditambahkan. Cara menentukannya ada dua, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo), lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis, lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya. Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel plasebo (eksipien obat atau cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu, kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi.

2.6.3 Keseksamaan (presisi)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual. Parameter ini diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Percobaan keseksamaan dilakukan terhadap paling sedikit enam replika sampel yang diambil dari campuran sampel dengan matriks yang homogen.

2.6.4 Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon, secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik, yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linearitas yang dapat diterima.

Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linear $y = a + bx$. Hubungan linear yang ideal dicapai jika

nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung yaitu simpangan baku residual (S_y), sehingga akan diperoleh standar deviasi fungsi regresi (S_{x_0}), dan koefisien variasi fungsi regresi (V_{x_0}). Syarat-syarat dari kelinearan garis adalah sebagai berikut:

1. Koefisien korelasi (r) $\geq 0,9990$
2. Jumlah kuadrat sisa masing-masing titik temu (r_i) mendekati nol (0), $(r_i)^2$ sekecil mungkin ≈ 0 . r_i diperoleh dari: $r_i = y_i - (b x_i + a)$
3. Koefisien fungsi regresi (V_{x_0}) $\leq 2,0\%$ untuk sediaan farmasi dan $\geq 5,0\%$ untuk sediaan biologis.
4. Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$)
5. $\Delta y/\Delta x = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \approx \frac{y_3 - y_2}{x_3 - x_2} \approx \frac{y_n - y_{n-1}}{x_n - x_{n-1}}$

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakokinetika - Farmakologi dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Penelitian dilakukan dari bulan Maret 2011 hingga bulan Mei 2011.

3.2 Bahan

Hewan uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley*, dengan berat badan 150-250 gram sebanyak 25 ekor. Tikus ini diperoleh dari Fakultas Peternakan Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

Bahan uji:

Sulfadiazin standar (Nanhai Beisha, RRC)

Bahan kimia:

Toluen (Merck), asam trikloroasetat (Merck), natrium nitrit (Merck), ammonium sulfamat (Merck), N-(1-naftil)etilendiamin (Merck), natrium bikarbonat (Merck), natrium hidroksida (Merck), dan aquadest.

3.3 Alat

Sonde lambung, spuit 5 ml, timbangan analitik (Ohaus), timbangan tikus (Ohaus), kandang metabolisme, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601), pH meter (Eutech), indikator pH universal, stopwatch, refrigerator, vortex, sentrifugator (Digisystem Lab Instrument, Inc.), mortir, alu, pot plastik 10 - 20 ml, dan alat-alat gelas.

3.4 Cara kerja

3.4.1 Persiapan hewan uji

Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu di kandang hewan FMIPA UI. Aklimatisasi bertujuan agar tikus beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stres pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismenya dan dapat mengganggu penelitian. Setiap tikus diberi makan dan minum secara rutin. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal.

3.4.2 Penetapan dosis

3.4.2.1 Sulfadiazin

Sulfadiazin diberikan dalam bentuk suspensi oral dengan konversi dari dosis pemberian dalam sehari sebesar 2 g pada manusia. Dosis yang diberikan pada tikus uji dalam sekali pemberian sebesar: $2000 \text{ mg}/70 \text{ kg BB manusia} \times 10 = 285,7 \text{ mg/kg BB}$.

3.4.2.2 Natrium bikarbonat

Natrium bikarbonat diberikan dalam bentuk larutan dan dosis pemberiannya dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap tikus dg BB 200 g setara dengan 0,018 kali dosis manusia lalu dikalikan faktor farmakokinetik (10). Dosis natrium bikarbonat yang diberikan pada tikus uji bervariasi guna melihat pengaruh pH urin basa yang dicapai terhadap waktu paruh sulfadiazin. Variasi dosis yang dipakai dalam perlakuan adalah 1, 2, dan 3 g pada manusia (dewasa). Dosis pada tikus sebesar 0,9; 1,8; dan 2,7 mg/g BB tikus setiap 6 jam untuk stabilitas pH urin yang diperlukan selama analisis.

3.4.2.3 Ammonium klorida

Dosis ammonium klorida untuk terapi alkalosis metabolik dengan mekanisme pengasaman darah dan urin sebesar 0,1 g/kg BB sehari sekali untuk pemberian secara oral. Dosis pada tikus sebesar 0,1 mg/g BB tikus per hari.

3.4.2.4 Asam askorbat

Dosis asam askorbat dengan tujuan asidisasi urin yang dicoba adalah 6 g/hari pada manusia (dewasa). Dosis pada tikus setelah dikonversi, berdasarkan konversi Paget dan Barnes, sebesar 1080 mg/hari dalam 3-4 kali pemberian.

3.4.3 Penyiapan bahan uji dan bahan kimia

3.4.3.1 Suspensi sulfadiazin

Sulfadiazin diberikan dalam bentuk suspensi oral dengan menggunakan CMC 0,5% sebagai *suspending agent*. Tikus yang diberi suspensi sulfadiazin yaitu tikus pada kelompok 2, 3, 4, dan 5. Konsentrasi sulfadiazin yang dibuat sebesar 50 mg/ml suspensi sehingga rentang volume yang diberikan sekitar 0,8-1,5 ml. Pada pembuatannya dilebihkan menjadi 10 ml untuk pemberian tiap satu *batch* pada pelaksanaan uji. Prosedur perhitungan bahan dan pembuatan suspensi sulfadiazin secara rinci dapat dilihat pada Lampiran I.

3.4.3.2 Larutan natrium bikarbonat

Natrium bikarbonat (NaHCO_3) ditimbang seksama 10,0 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 100,0 ml, sehingga diperoleh larutan natrium bikarbonat 10%.

3.4.3.3 Larutan ammonium klorida

Ammonium klorida (NH_4Cl) ditimbang seksama 0,25 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 25,0 ml, sehingga diperoleh larutan ammonium klorida 1%.

3.4.3.4 Larutan asam askorbat

Asam askorbat ditimbang seksama 5,0 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 50,0 ml, sehingga diperoleh larutan asam askorbat 10%.

3.4.3.5 Larutan asam trikloroasetat

Asam trikloroasetat ditimbang seksama sebanyak 10,0 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 100,0 ml, sehingga diperoleh larutan asam trikloroasetat 10%.

3.4.3.6 Larutan natrium nitrit

Natrium nitrit (NaNO_2) ditimbang seksama sebanyak 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 50,0 ml, sehingga diperoleh larutan natrium nitrit 0,1%.

3.4.3.7 Larutan ammonium sulfamat

Ammonium sulfamat ditimbang seksama sebanyak 0,5 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 100,0 ml, sehingga diperoleh larutan ammonium sulfamat 0,5%.

3.4.3.8 Larutan N-(1-naftil)etilendiamin

N-(1-naftil)etilendiamin ditimbang seksama sebanyak 0,1 g, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 100,0 ml, sehingga diperoleh larutan N-(1-naftil)etilendiamin 0,1%.

3.4.3.9 Larutan NaOH 1 N (Farmakope Indonesia Edisi IV, 1995)

Natrium hidroksida ditimbang seksama sebanyak 2,0 gram, kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai volume 50,0 ml, sehingga diperoleh larutan NaOH 1 N.

3.4.4 Uji Pendahuluan

Analisis *in vivo* memiliki beberapa faktor kendala dalam pelaksanaannya, yaitu variasi biologis dalam pemilihan hewan uji, dosis obat dan rute pemberiannya, serta waktu yang sesuai untuk pengambilan cuplikan dari cairan biologis guna memperoleh data yang relevan dengan analisis eliminasi obat (Trevor, Rowland, & Way, 1972). Variasi biologis dari hewan uji terhadap kondisi percobaan dan kontrol urinasi pada tiap cuplikan harus diorientasi terlebih dahulu. Hal itu dilakukan dengan tujuan minimalisasi pengaruh dari faktor kendala pada analisis obat dalam urin. Selain itu, waktu analisis cuplikan bergantung pada stabilitas sulfadiazin dalam urin. Stabilitas sulfadiazin dalam urin mempengaruhi nilai serapannya sehingga diperlukan uji pendahuluan terhadap stabilitasnya.

3.4.4.1 Uji metode analisis sulfadiazin dalam urin secara in vitro

Sulfadiazin standar yang ditimbang seksama sebanyak 0,025 g dilarutkan dengan NaOH 1 N dalam labu ukur 50,0 ml sehingga diperoleh konsentrasinya sebesar 500 ppm. Kemudian diambil 5,0 ml secara kuantitatif dan diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur 25,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Setelah itu, diambil 5,0 ml secara kuantitatif ke dalam labu ukur 10,0 ml, volume dicukupkan dengan urin blanko dari tikus yang tidak diberi perlakuan uji, diperoleh sulfadiazin dalam urin dengan konsentrasi 50 ppm.

Larutan sulfadiazin dalam urin dengan konsentrasi 50 ppm dipipet 1,0 ml ke dalam tabung sentrifuse dan ditambahkan TCA 10% sebanyak 1,0 ml secara kuantitatif, divortex hingga homogen. Setelah homogen, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, bagian jernih (supernatan) yang diperoleh dipindahkan ke tabung reaksi. Bagian jernih tersebut kemudian direaksikan dengan NaNO_2 0,1% sebanyak 1,0 ml, didiamkan selama 3 menit. Larutan ditambah dengan ammonium sulfamat 0,5% sebanyak 2,0 ml, divortex hingga homogen, dan didiamkan selama 2 menit. Warna ungu akan terlihat dengan penambahan reagen N-(1-naftil)etilendiamin 0,1% sebanyak 2,0 ml, divortex hingga homogen, dan didiamkan dalam tempat gelap selama 5 menit. Setelah itu, pada suhu ruang diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur *baseline*-nya menggunakan larutan blanko (urin blanko yang tidak ditambahkan sulfadiazin standar dan direaksikan dengan prosedur yang sama). Bentuk spektrum serapan yang diperoleh diamati dan dilihat panjang gelombang maksimumnya.

3.4.4.2 Uji stabilitas sulfadiazin dalam urin

Sulfadiazin dalam urin yang ditampung dan disimpan terlebih dahulu sebelum dianalisis bisa mengalami ketidakstabilan. Oleh karena itu, pengamatan kestabilan sulfadiazin dalam urin dengan waktu dan suhu penyimpanan tertentu sebelum dianalisis perlu dilakukan. Uji stabilitas sulfadiazin dalam urin dilakukan dengan tujuan orientasi waktu pengukuran cuplikan yang sesuai dalam pelaksanaan uji yang sebenarnya. Uji ini dilakukan pada 3 konsentrasi sulfadiazin dalam urin, yaitu 10 ppm, 20 ppm, dan 30 ppm. Masing-masing larutan tersebut

diperoleh dari pengambilan secara kuantitatif larutan sulfadiazin 100 ppm pada prosedur sebelumnya sebanyak 1,0; 2,0; dan 3,0 ml yang diencerkan dengan urin blanko dalam labu ukur 10,0 ml. Waktu pengukuran dilakukan pada jam ke-0 dan jam ke-2, setelah sulfadiazin berada dalam urin, dengan penyimpanan pada suhu ruang dan suhu pendinginan dalam refrigerator. Panjang gelombang dimana serapan maksimumnya diperoleh pada tiap waktu pengukuran dengan dua kondisi suhu penyimpanan yang diuji diamati sebagai parameter kestabilan sulfadiazin dalam urin.

3.4.4.3 Uji urinasi

Urinasi pada tikus, terutama waktu urinasi dan volume urin yang dihasilkan, mempengaruhi titik cuplikan urin yang akan dianalisis. Uji urinasi dilakukan pada 3 ekor tikus dengan pemberian air hangat (30° - 40° C) sebanyak 3 ml setiap jam selama 19 jam. Waktu dan volume urin yang dihasilkan tiap kali urinasi dicatat dan diambil data rata-ratanya sebagai pertimbangan dalam menentukan titik cuplikan urin pada pelaksanaan uji dengan perlakuan sebenarnya.

3.4.4.4 Uji alkalinisasi dan asidisasi urin

Pengaturan pH urin diuji dengan pemberian natrium bikarbonat sebagai agen alkalinisasi, dan pemberian ammonium klorida atau asam askorbat sebagai agen asidisasi. Uji ini perlu dilakukan terlebih dahulu guna mengetahui pH urin yang dicapai dan kestabilannya. Uji ini dilakukan pada 3 ekor tikus untuk setiap kondisi pH urin yang hendak dicapai (asam dan basa). Urin yang dihasilkan oleh tikus sebelum diberi agen alkalinisasi maupun asidisasi urin diukur terlebih dahulu dengan pH meter sebagai pH normal. Kemudian agen alkalinisasi ataupun asidisasi diberikan dan disertai dengan pemberian air hangat (30° - 40° C) sebanyak 5 ml/100 gram BB. Setelah itu, pemberian air hangat dilakukan secara rutin sebanyak 3 ml/jam selama 19 jam. Pengukuran pH urin dilakukan setiap jam dan dicatat.

Pada uji alkalinisasi urin, dosis natrium bikarbonat yang dicoba adalah 0,9; 1,8; dan 2,7 mg/g BB tikus yang diberikan setiap 4 jam dan setiap 6 jam.

Sedangkan pada uji asidisasi urin, dosis ammonium klorida yang dicoba adalah 0,1 mg/gr BB tikus yang diberikan setiap 6 jam. Selain itu, agen asidisasi urin lain yang dicoba adalah asam askorbat dengan dosis 1080 mg/hari dalam 3-4 kali pemberian atau setiap 4 jam.

3.4.5 Pelaksanaan Percobaan

3.4.5.1 Prosedur pembuatan larutan blanko

Sebanyak 1,0 ml dari urin tikus yang tidak diberi sulfadiazin maupun agen alkalinisasi urin (kontrol normal) diambil secara kuantitatif. Selanjutnya urin tersebut diberi perlakuan sama seperti urin pada prosedur uji metode analisis secara *in vitro* dan digunakan sebagai larutan blanko pada pengukuran.

3.4.5.2 Prosedur penetapan panjang gelombang analisis dan pembuatan kurva kalibrasi

a. Pembuatan larutan induk

Sulfadiazin standar ditimbang seksama sebanyak 0,025 g, kemudian dilarutkan dalam NaOH 1 N dalam labu ukur 50,0 ml hingga larut sempurna. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 5,0 ml dan 3,0 ml, masing-masing diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur 25,0 ml hingga diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 100 ppm dan 60 ppm.

b. Pembuatan larutan kerja

Larutan induk sulfadiazin 100 ppm dipipet 1,0; 2,0; 3,0; dan 5,0 ml, sedangkan larutan induk sulfadiazin 60 ppm dipipet 2,0; 3,0; dan 4,0 ml secara kuantitatif dan dimasukkan ke labu ukur 10,0 ml. Volume dicukupkan dengan urin blanko sampai batas labu ukur sehingga diperoleh larutan kerja dengan konsentrasi 10, 12, 18, 20, 24, 30, dan 50 ppm.

c. Penetapan panjang gelombang analisis

Larutan kerja sulfadiazin 50 ppm dipipet sebanyak 1,0 ml, lalu diberi perlakuan seperti pada prosedur uji metode secara *in vitro*. Setelah itu, pada suhu ruang serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur

baseline-nya menggunakan larutan blanko. Panjang gelombang dimana serapan maksimumnya diperoleh yang dipilih sebagai panjang gelombang analisis dan digunakan pada prosedur pengukuran serapan selanjutnya.

d. Prosedur pembuatan kurva kalibrasi

Masing-masing larutan kerja dengan konsentrasi 10, 12, 18, 20, 24, dan 30 ppm dipipet 1,0 ml secara kuantitatif, lalu diberi perlakuan seperti pada prosedur uji metode analisis secara *in vitro*. Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan.

3.4.5.3 Validasi metode analisis

Data kurva kalibrasi digunakan juga untuk validasi metode analisis. Parameter validasi yang digunakan dari data tersebut adalah nilai LOD dan LOQ, linearitas, dan akurasi. Linearitas yang diperoleh dapat diketahui dengan menghitung koefisien korelasi dan koefisien variasi dari persamaan regresi linear. Sedangkan parameter akurasi dapat diperiksa dengan menghitung perbedaan nilai yang terukur dengan nilai yang sebenarnya.

3.4.5.4 Analisis sulfadiazin dalam urin secara *in vivo*

Rancangan prosedur yang dibuat disesuaikan dengan hasil orientasi pada uji pendahuluan. Uji sebenarnya dilakukan pada satu kelompok kontrol normal, satu kelompok kontrol sulfadiazin, dan tiga kelompok variasi dosis natrium bikarbonat. Penentuan jumlah tikus pada setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus *Federer*:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Keterangan:

n: jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan

t: menunjukkan jumlah perlakuan.

Penentuan jumlah hewan uji dan pembagian kelompok adalah sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(5 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(4) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Sehingga, jumlah minimal tikus tiap kelompok adalah 5 ekor tikus.

Tabel 3.4.5 Pembagian kelompok hewan uji

No.	Kelompok	Jumlah hewan uji	Perlakuan
1	Kontrol normal	5	Diberi air hangat & larutan CMC 0,5%
2	Kontrol sulfadiazin	5	Diberi air hangat & suspensi sulfadiazin
3	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	5	Diberi air hangat, suspensi sulfadiazin, & larutan NaHCO ₃ 10 % dosis 1
4	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	5	Diberi air hangat, suspensi sulfadiazin, & larutan NaHCO ₃ 10 % dosis 2
5	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	5	Diberi air hangat, suspensi sulfadiazin, & larutan NaHCO ₃ 10 % dosis 3

Keterangan: Dosis sulfadiazin = 285,7 mg/kg BB, dosis 1 NaHCO₃ = 0,9 mg/g BB, dosis 2 NaHCO₃ = 1,8 mg/g BB, dan dosis 3 NaHCO₃ = 2,7 mg/g BB.

Perlakuan terhadap tikus uji adalah sebagai berikut:

1. Tikus dipuasakan selama 10 jam dengan hanya diberi air sebelum perlakuan dimulai. Air hangat (30-40⁰C) diberikan sebanyak 5ml/100 g BB saat t = 0, diberikan rutin sebanyak 3 ml tiap jam untuk 6 jam pertama, selanjutnya 3 ml tiap 2 jam hingga jam ke-18.
2. Sejam sebelum perlakuan, tikus kelompok 3, 4, dan 5 diberi NaHCO₃ terlebih dahulu untuk mencapai pH urin yang lebih basa yang diperlukan selama percobaan. Setelah itu, pemberiannya dilakukan tiap 6 jam.
3. Setiap interval waktu pengambilan cuplikan, volume urin yang diekskresikan dicatat. Waktu pengambilan cuplikan adalah pada jam ke-1,5; 3,5; 6,5; 10,5; 13,5; dan 18.
4. Urin ditampung dalam wadah yang telah diisi dengan pengawet urin sampai analisis dikerjakan. Untuk keperluan ini urin diberi toluen secukupnya (1-2 tetes) pada tiap wadah cuplikan.

5. Pengumpulan urin dikerjakan sampai hampir seluruh obat dalam bentuk utuh telah diekskresikan selama 18 jam.

Prosedur perlakuan cuplikan urin yang dilakukan adalah sebanyak 1,0 ml dipipet dari tiap cuplikan secara kuantitatif, lalu dimasukkan ke tabung sentrifuse dan ditambahkan TCA 10% sebanyak 1,0 ml, divortex hingga homogen. Setelah homogen, larutan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, bagian jernih (supernatan) yang diperoleh dipindahkan ke tabung reaksi. Bagian jernih tersebut kemudian direaksikan dengan NaNO_2 0,1% sebanyak 1,0 ml, didiamkan selama 3 menit. Larutan ditambah dengan ammonium sulfamat 0,5% sebanyak 2,0 ml, divortex hingga homogen dan didiamkan selama 2 menit. Warna ungu kemudian akan terlihat dengan penambahan reaktan N-(1-naftil)etilendiamin 0,1% sebanyak 2,0 ml, divortex hingga homogen dan didiamkan dalam tempat gelap selama 5 menit. Setelah itu, pada suhu ruang serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur *baseline*-nya menggunakan larutan blanko pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan.

3.4.6 Pengolahan Data

Data diolah secara statistik menggunakan SPSS 17.0. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *Shapiro-Wilk*), uji homogenitas (uji *Levene*), lalu dilanjutkan dengan analisis varian (ANAVA) satu arah jika data dinyatakan terdistribusi normal dan homogen. Bila terdapat perbedaan signifikan, maka untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Namun, bila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka pengolahan data dilanjutkan dengan analisis nonparametrik untuk melihat signifikansi perbedaan antar kelompok. Setelah itu, bila terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, maka untuk melihat perbedaan antar kelompok digunakan uji *Mann-Whitney*.

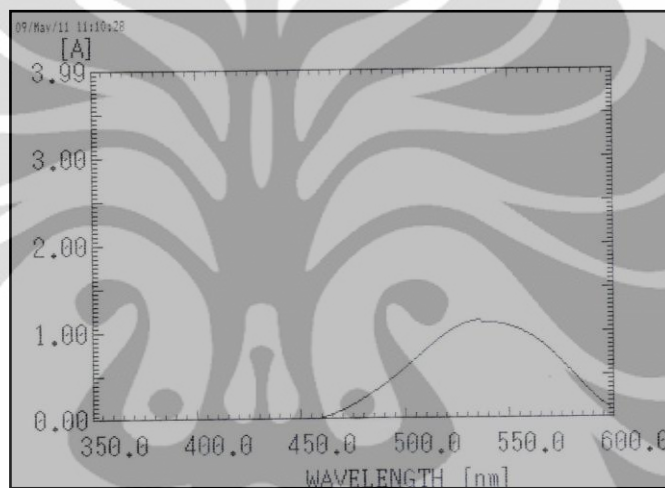
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

4.1.1 Uji metode analisis sulfadiazin dalam urin secara in vitro

Metode analisis sulfadiazin dalam urin diuji secara in vitro dengan melihat bentuk spektrum serapan yang dihasilkan. Gambar spektrum serapan yang diperoleh adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1. Spektrum serapan sulfadiazin dalam urin dengan konsentrasi 50 ppm Metode analisis ini dapat digunakan karena bentuk spektrum serapan yang dihasilkan pada panjang gelombang maksimumnya landai, sehingga kesalahan penempatan/pembacaan panjang gelombang dapat diabaikan (Harmita, 2006).

4.1.2 Uji stabilitas sulfadiazin dalam urin

Hasil uji stabilitas sulfadiazin dalam urin adalah data serapan yang menurun secara signifikan berdasarkan waktu analisisnya. Pada jam ke-0, serapan yang diberikan oleh sulfadiazin dengan variasi konsentrasi yang dicoba (10, 20, dan 30 ppm) adalah 0,3806; 0,6254; dan 0,6580., sedangkan pada jam ke-2, serapan yang dihasilkan adalah 0,1865; 0,4553; dan 0,4685. Suhu penyimpanan urin yang mengandung sulfadiazin dengan pendinginan dalam refrigerator memberikan pengaruh berupa pergeseran panjang gelombang analisis. Pada jam ke-0 dan jam ke-2 dengan percobaan penyimpanan urin di suhu ruang, panjang

gelombang maksimum yang diperoleh berkisar 545 nm dan 545,5 nm. Pada percobaan dengan suhu pendinginan dalam refrigerator, panjang gelombang yang diperoleh adalah berkisar antara 547,5 nm dan 543,5 nm. Hal itu menunjukkan bahwa stabilitas sulfadiazin dalam urin berkurang dengan adanya waktu penyimpanan cuplikan dan suhu pendinginan dalam refrigerator. Oleh karena itu, waktu analisis serapan sulfadiazin dalam urin dipilih pada jam ke-0 setelah cuplikan diperoleh dan tanpa penyimpanan dalam refrigerator.

4.1.3 Uji urinasi

Waktu urinasi dan volume yang dihasilkan menentukan waktu pengambilan cuplikan dengan jumlah yang cukup untuk dianalisis. Jumlah yang akan diambil dari setiap cuplikan urin adalah 1,0 ml. Dari catatan hasil percobaan, rata-rata waktu urinasi dengan volume cuplikan yang cukup untuk dianalisis adalah pada jam ke-1,5; 3,5; 6,5; 10,5; 13,5; dan 18 (volume urin rata-rata $\geq 1,0$ ml). Estimasi untuk cuplikan pertama adalah pemberian air hangat sebanyak 5 ml/100 gram BB tikus di awal percobaan ($t = 0$ jam). Keenam titik waktu cuplikan tersebut kemudian dipilih menjadi waktu pengambilan cuplikan pada pelaksanaan uji yang sebenarnya.

4.1.4 Uji alkalinisasi dan asidisasi urin

Pada uji ini, sebelum agen alkalinisasi dan asidisasi urin diberikan, pH urin diukur sebagai pH urin normal. Rentang pH urin normal hewan uji adalah 6,5-7,2. Pada uji alkalinisasi urin, natrium bikarbonat diberikan setiap 4 jam berdasarkan aturan pemberiannya. Namun, LD₅₀ natrium bikarbonat (4 gram/kg BB tikus) harus dipertimbangkan karena hasilnya menunjukkan adanya peningkatan salivasi yang dapat mengganggu analisis (Natrium Bicarbonate, 2002). Oleh karena itu, uji ini selanjutnya dilakukan dengan pemberian natrium bikarbonat setiap 6 jam. Hal itu berdasarkan pengamatan kestabilan pH urin yang dicapai. Berdasarkan rata-rata data yang diperoleh, variasi dosis natrium bikarbonat memberikan pencapaian pH urin yang berbeda, yaitu berbeda sekitar 0,1-0,9 antar dosis. Stabilitas pH yang dicapai setiap 6 jam adalah 7,9-10,7. Oleh karena itu, pemberian natrium bikarbonat setiap 6 jam dengan variasi dosis yang telah dicoba digunakan dalam

percobaan uji sebenarnya. Natrium bikarbonat lebih dipilih dibanding kombinasi kalium sitrat dan asam sitrat karena dapat diberikan tanpa harus mempertimbangkan diet makanan. Pada penggunaan kalium sitrat dan asam sitrat, pemberian dilakukan setelah makan dan waktu tidur sehingga tidak dapat digunakan untuk penelitian ini. Pertimbangan tersebut bertujuan untuk menghindari pengaruh makanan terhadap absorpsi obat selama analisis dilakukan.

Pada uji asidisasi dengan ammonium klorida 0,1 mg/g BB, hewan uji mengalami keadaan toksik, yaitu badan lemas, salivasi meningkat, bradikardi, dan hiperventilasi yang berlangsung sejak beberapa saat setelah diberikan. Beberapa tikus uji mati setelah beberapa jam pemberian ammonium klorida. Kondisi pH urin yang lebih asam dari pH urin normal tidak bisa dicapai dengan dosis ini. Oleh karena itu, dilakukan uji asidisasi dengan asam askorbat 1080 mg/hari dalam 3-4 kali pemberian. Dosis awal asam askorbat yang dicoba adalah 250 mg dan 500 mg. Pada pemberian dosis awal 250 mg, pH urin yang lebih asam dari pH urin normal tidak tercapai, sedangkan pada dosis awal 500 mg, pH urin yang dicapai berkisar 5,6-5,9 (lebih asam dari pH urin normal). Pada pemberian selanjutnya untuk memperoleh stabilitas pH asam yang dibutuhkan, pertimbangan LD₅₀ asam askorbat (11.900 mg/kg BB tikus) terhadap dosis yang diperlukan setiap kali pemberian sangat penting. Durasi pH urin asam yang dihasilkan hanya berlangsung satu jam, sedangkan waktu analisis yang dilakukan adalah selama 18 jam. Oleh karena itu, asam askorbat tidak dapat dipakai dalam penelitian ini. Alternatif agen lainnya, kalium fosfat, tidak dapat digunakan karena efek samping yang tidak diinginkan, terutama diare, dapat mengganggu cuplikan urin yang diperlukan. Oleh karena itu, kondisi pH urin yang lebih asam belum bisa dilakukan pada penelitian ini.

4.2 Pelaksanaan Percobaan

4.2.1 Penetapan panjang gelombang analisis dan pembuatan kurva kalibrasi

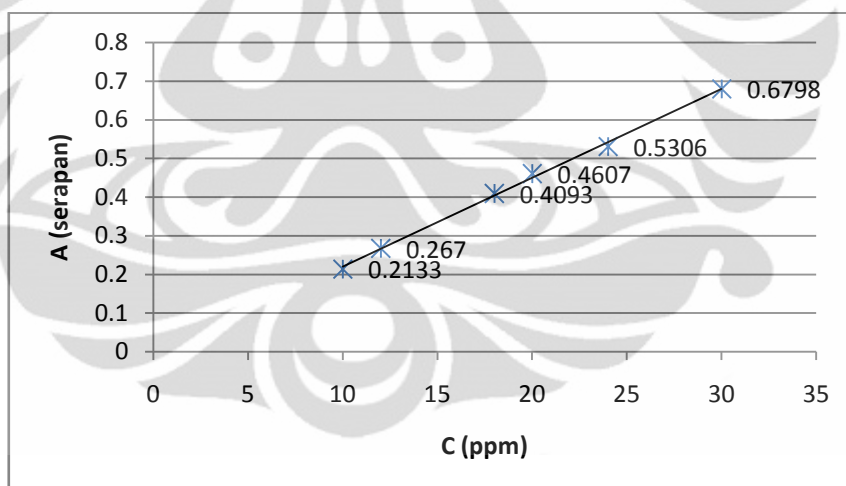
Pada penetapan panjang gelombang analisis digunakan larutan sulfadiazin dengan konsentrasi 10 ppm dalam urin tikus yang tidak diberi perlakuan apapun. Panjang gelombang pada serapan maksimum sulfadiazin yang diperoleh dari

spektrum serapannya digunakan sebagai panjang gelombang analisis dalam penelitian ini, yaitu 545,5 nm.

Kurva kalibrasi terdiri dari enam sampel larutan sulfadiazin dalam urin dengan variasi konsentrasi bertingkat. Berdasarkan perhitungan statistik regresi linear diperoleh persamaan garis regresi kurva kalibrasinya, yaitu $y = 0,023x - 0,010$; dimana x adalah konsentrasi sulfadiazin dalam urin dan y adalah serapan sulfadiazin terhadap sinar UV-Vis. Data dan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Table 4.2.1 Data kurva kalibrasi sulfadiazin dalam urin

C (ppm)	A (serapan)
10	0,2133
12	0,2670
18	0,4093
20	0,4607
24	0,5306
30	0,6798



Gambar 4.2.1 Kurva kalibrasi sulfadiazin dalam urin

4.2.2 Validasi metode analisis

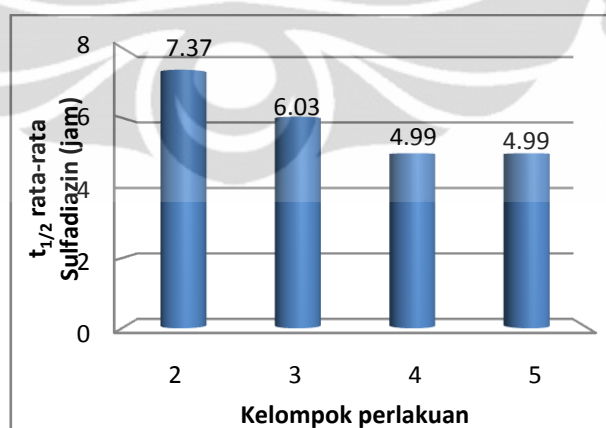
Hasil uji linearitas dengan rentang konsentrasi 9,70–29,99 ppm menunjukkan bahwa larutan sulfadiazin dalam urin menghasilkan koefisien korelasi (r) sebesar 0,997. Hasil tersebut menunjukkan hubungan yang linear antara konsentrasi obat dengan serapannya dan dapat disimpulkan bahwa sulfadiazin dalam urin dengan rentang konsentrasi 10-30 ppm memenuhi kriteria

uji linearitas. Limit deteksi (LOD) sulfadiazin dalam urin yang diperoleh dari perhitungan data kurva kalibrasinya sebesar 1,16 ppm, sedangkan limit kuantitasnya (LOQ) sebesar 3,88 ppm. Standar deviasi persamaan regresinya (S_{∞}) sebesar 0,388 dan koefisien variasinya (V_{∞}) sebesar 2,04%.

Akurasi dilihat berdasarkan hasil perolehan kembali dari analit yang ditambahkan dengan enam konsentrasi berbeda (10, 12, 18, 20, 24, dan 30 ppm). Persentase perolehan kembali yang dihasilkan berturut-turut adalah sebesar 97,08%; 100,36%; 101,28%; 102,32%; 97,93%; dan 99,97%. Persentase tersebut menunjukkan bahwa metode analisis ini memenuhi syarat akurasi yang baik, yaitu 98-102% dengan $\pm 10\%$.

4.3 Analisis sulfadiazin dalam urin secara in vivo

Parameter farmakokinetika yang diperhitungkan adalah waktu paruh rata-rata sulfadiazin pada tiap kelompok sebagai perbandingan antar kelompok perlakuan. Waktu paruh rata-rata sulfadiazin pada kelompok kontrolnya adalah 7,37 jam, sedangkan pada kelompok uji yang juga diberikan dosis 1 (0,9 mg/BB), dosis 2 (1,8 mg/BB), dan dosis 3 (2,7 mg/BB) natrium bikarbonat secara berturut-turut waktu paruh rata-ratanya adalah 6,03; 4,99; 4,99 jam. Hubungan kelompok perlakuan terhadap waktu paruh rata-rata sulfadiazin tiap kelompok dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.3.1 Grafik hubungan antara kelompok perlakuan terhadap $t_{1/2}$ rata-rata sulfadiazin tiap kelompok

Keterangan: 2: Kelompok kontrol sulfadiazin (pH urin normal); 3: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB); 4: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 2 NaHCO_3 (1,8 mg/g BB); 5: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 3 NaHCO_3 (2,7 mg/g BB).

Pada reabsorpsi obat dalam tubulus ginjal, bentuk ion dan nonion suatu obat mempengaruhi prosentase obat yang diekskresi dan direabsorpsi. Oleh karena sulfadiazin yang bersifat asam lemah mengalami peningkatan ionisasi pada pH urin yang lebih basa dari pH urin normal, ekskresinya pun meningkat. Hal itu terlihat dari data urin yang diperoleh, yaitu penurunan waktu paruh rata-rata sulfadiazin pada kelompok 3, 4, dan 5 (pH urin lebih basa dari pH urin normal) dibandingkan dengan kelompok 2 (pH urin normal). Waktu paruh rata-rata tersebut diperoleh dari perhitungan data urin rata-rata tiap kelompok.

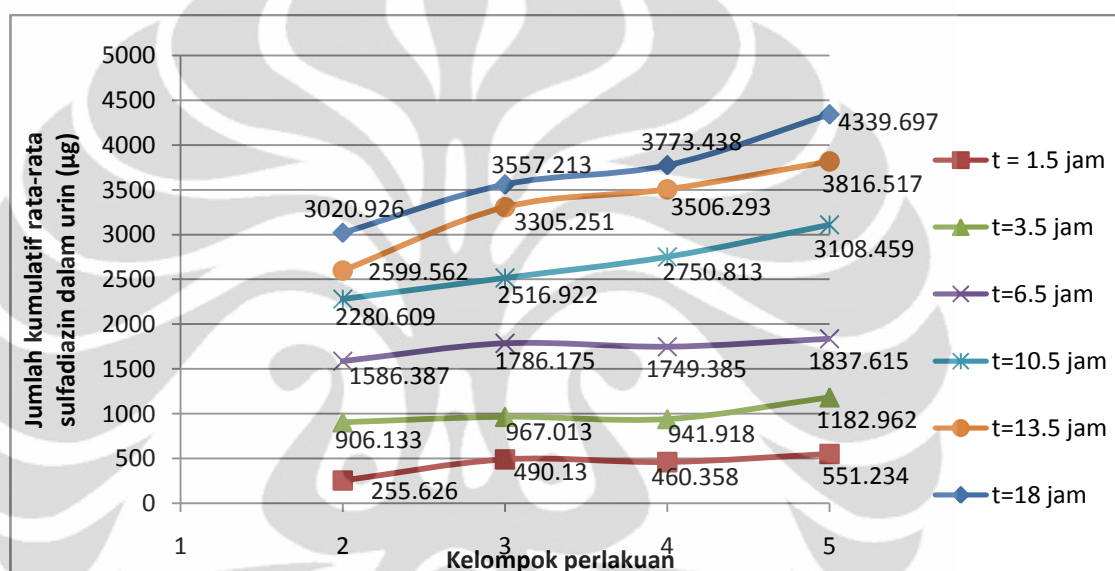
Pengaruh tersebut diuji dengan variasi pH urin yang dicapai dengan tiga dosis natrium bikarbonat untuk 3 kelompok uji. Berdasarkan orientasi, semakin besar dosis yang diberikan, semakin basa pH urin yang dicapai. Data urin sulfadiazin dari tiap tikus dapat dilihat pada Tabel 4.3.1 sampai Tabel 4.3.20, sedangkan data urin rata-rata tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.3.21 sampai Tabel 4.3.24. Hubungan antara kelompok perlakuan terhadap jumlah kumulatif rata-rata sulfadiazin dalam urin pada tiap waktu cuplikan yang dianalisis adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3 Jumlah kumulatif rata-rata sulfadiazin dalam urin dari setiap kelompok perlakuan pada tiap waktu cuplikan

Waktu cuplikan (jam)	Kelompok perlakuan	Jumlah sulfadiazin dalam urin rata-rata \pm SD (mg)
1,5	Kontrol sulfadiazin	247,00 \pm 129,85
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	494,25 \pm 362,24
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	459,50 \pm 207,28
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	536,19 \pm 170,47
3,5	Kontrol sulfadiazin	888,09 \pm 255,77
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	1044,19 \pm 417,81
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	920,64 \pm 236,17
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	1166,86 \pm 86,21
6,5	Kontrol sulfadiazin	1576,41 \pm 431,70
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	1868,51 \pm 594,76
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	1726,62 \pm 590,14
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	1821,81 \pm 237,32
10,5	Kontrol sulfadiazin	2263,27 \pm 334,25
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	2404,10 \pm 826,26
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	2721,64 \pm 791,05
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	3091,72 \pm 310,53

13,5	Kontrol sulfadiazin	2577,55 ± 404,69
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	3189,26 ± 946,88
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	3475,18 ± 863,83
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	3792,87 ± 467,34
18	Kontrol sulfadiazin	2998,89 ± 435,97
	Sulfadiazin dan dosis 1 NaHCO ₃	3436,84 ± 943,97
	Sulfadiazin dan dosis 2 NaHCO ₃	3744,01 ± 976,33
	Sulfadiazin dan dosis 3 NaHCO ₃	4319,92 ± 469,89

Keterangan: Dosis sulfadiazin = 285,7 mg/kg BB, dosis 1 NaHCO₃ = 0,9 mg/g BB, dosis 2 NaHCO₃ = 1,8 mg/g BB, dan dosis 3 NaHCO₃ = 2,7 mg/g BB, SD = standar deviasi.



Gambar 4.3.2 Kurva hubungan antara kelompok perlakuan terhadap jumlah kumulatif rata-rata sulfadiazin dalam urin

Keterangan: 2: Kelompok kontrol sulfadiazin (pH urin normal); 3: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB); 4: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB); 5: Kelompok uji sulfadiazin dengan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB).

Metode analisis sulfadiazin dalam urin dilakukan dengan memuaskan terlebih dahulu tikus yang akan diberi perlakuan selama 10 jam agar absorpsi dari sulfadiazin tidak dipengaruhi oleh makanan selama analisis dilakukan. Tikus uji pada kelompok 3, 4, dan 5 diberi natrium bikarbonat satu jam sebelum pemberian sulfadiazin. Hal itu dilakukan berdasarkan hasil orientasi terhadap natrium bikarbonat untuk mencapai pH urin yang lebih basa secara signifikan dari pH urin normalnya. Setelah satu jam pemberian natrium bikarbonat yang pertama, pH urin pada kelompok 3, 4, dan 5 diukur dengan indikator pH universal untuk memastikan kondisi pH yang dibutuhkan selama analisis. Selanjutnya, tikus uji

kelompok 2 hingga kelompok 5 segera diberi suspensi sulfadiazin 285,7 mg/kg BB, sedangkan kelompok 1 (kontrol normal) diberi larutan CMC 0,5 %. Berdasarkan orientasi yang telah dilakukan, urinasi pada tikus uji dikontrol dengan pemberian air hangat 5 ml/ 100 gram BB pada awal perlakuan ($t = 0$ jam), 3 ml tiap jam selama 6 jam pertama, dan 3 ml tiap 2 jam hingga jam ke-18.

Titik cuplikan urin yang dianalisis adalah pada jam ke-1,5; 3,5; 6,5; 10,5; 13,5; dan 18. Setiap cuplikan diambil 1,0 ml urin secara kuantitatif untuk reaksi diazotasi dan pewarnaan agar dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601). Berdasarkan uji stabilitas sulfadiazin dalam urin, perlakuan cuplikan urin segera dilakukan setelah diambil guna memperoleh kadar sulfadiazin dalam urin yang sesuai. Data urin yang diperoleh digunakan dalam perhitungan parameter farmakokinetika sulfadiazin, terutama jumlah kumulatifnya dalam urin dan waktu paruhnya.

Waktu paruh tidak dapat diperoleh dari tiap ekor tikus uji karena kurva semilogaritma yang menghubungkan rentang waktu pengambilan cuplikan (t_{mid}) terhadap laju ekskresi obat (dDu/dt) menunjukkan ketidakstabilan ataupun belum terjadi penurunan kurva. Kurva yang diperoleh dari data tiap tikus dapat dilihat pada Gambar 4.4.1. sampai Gambar 4.4.4. Ketidakstabilan kurva yang diperoleh dapat disebabkan oleh kestabilan pH dan kontrol urinasi yang masih kurang. Pada pengaturan pH urin dan kontrol stabilitasnya, pemberian $NaHCO_3$ seharusnya dilakukan setiap 4 jam (Lacy, Armstrong, Goldman, & Lance, 2005). Kurva yang belum mengalami penurunan diperkirakan karena waktu paruh sulfadiazin pada tikus lebih panjang dari waktu paruhnya pada manusia. Oleh karena itu, titik-titik cuplikan yang mewakili garis lurus yang diperoleh dari kurva tersebut belum dapat digunakan untuk perhitungan waktu paruh sulfadiazin tiap ekor tikus uji.

Urinasi secara total tiap cuplikan diharapkan terjadi guna memperoleh data yang sesuai. Namun, kontrol terhadap hewan uji untuk melakukan urinasi secara total belum dapat dilakukan pada penelitian ini. Garis lurus yang dapat diperoleh dari kurva semilogaritma yang menghubungkan antara rentang waktu pengambilan cuplikan (t_{mid}) terhadap laju ekskresi obat (dDu/dt) sebenarnya ada dua, yaitu konstanta eliminasi (K) dan konstanta ekskresi (K_e). Konstanta ekskresi tidak dapat ditentukan karena titik-titik cuplikan yang diperoleh masih kurang

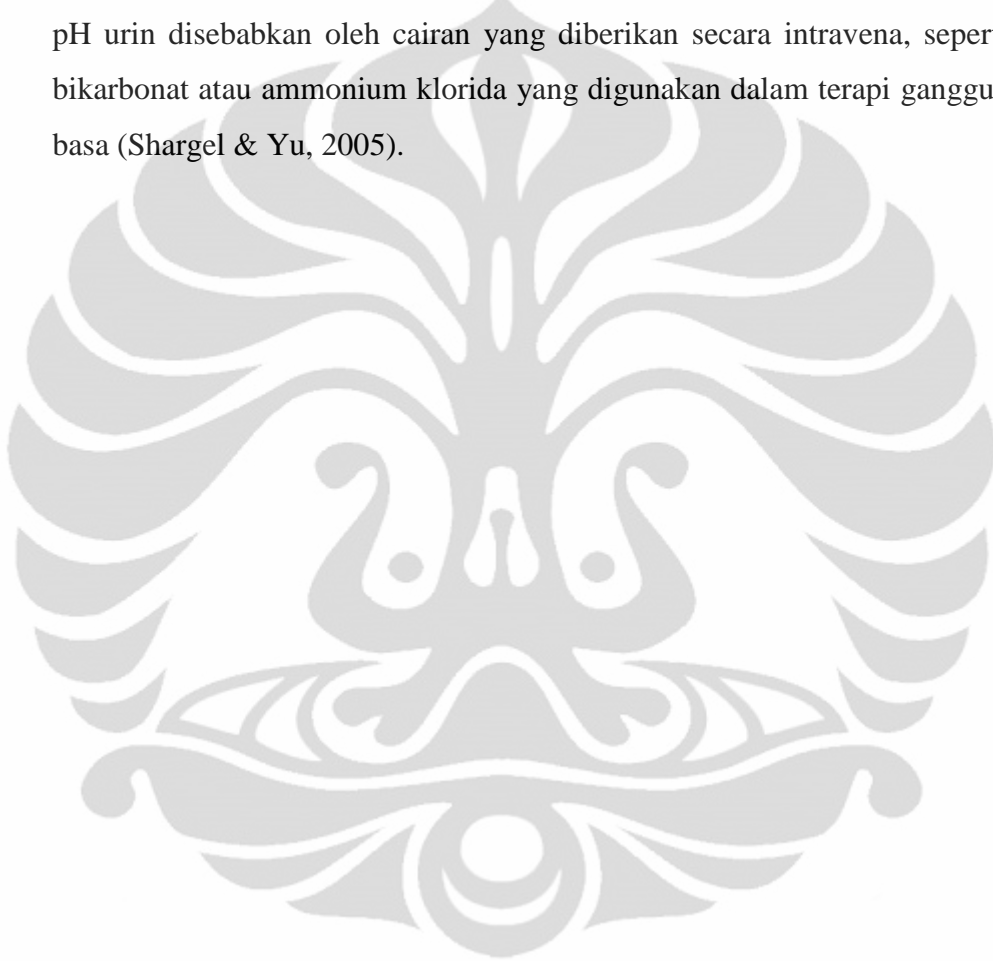
untuk mewakili garis tersebut. Sedangkan konstanta eliminasi (K) yang diperoleh masih belum sesuai karena adanya beberapa kurva yang tidak stabil dan beberapa lainnya belum mengalami penurunan. Cuplikan urin yang dianalisis seharusnya lebih banyak lagi agar titik-titik pada kurva yang terbentuk dapat diperoleh dengan baik.

Berdasarkan analisis statistik, jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok pada tiap cuplikan tidak terdistribusi normal, yaitu pada waktu cuplikan jam ke-3,5; 13,5; dan 18, terutama pada kelompok dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB) yang memiliki $\alpha < 0,05$ (lihat Lampiran IV). Oleh karena itu, pengolahan data dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok 2 (kontrol sulfadiazin) dan kelompok 5 (sulfadiazin disertai dosis 3 NaHCO₃). Perbedaan bermakna dari jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin antara dua kelompok tersebut terlihat pada waktu cuplikan jam ke-1,5; 10,5; 13,5; dan 18 (lihat Lampiran V). Perbedaan bermakna tidak diperoleh antar kelompok perlakuan dari data lainnya. Hal itu dapat disebabkan oleh keterbatasan dan kelemahan metode analisis yang telah dibahas sehingga data yang diperoleh tidak sesuai dengan eliminasi sulfadiazin yang sebenarnya terjadi pada hewan uji.

Hasil penelitian yang diperoleh telah menunjukkan bahwa pada pemberian natrium bikarbonat sebagai agen alkalinisasi urin (1-2 g untuk orang dewasa) dengan dosis 1,8 mg/g BB tikus (dosis 2 g untuk orang dewasa) lebih memberikan pengaruh terhadap waktu paruh sulfadiazin dibandingkan dengan dosis 0,9 mg/g BB tikus (dosis 1 g untuk orang dewasa). Pada pemberian natrium bikarbonat dosis 2,7 mg/g BB tikus (dosis 3 g untuk orang dewasa, sebagai antasida), pengaruh terhadap waktu paruh sulfadiazin tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok dosis 1,8 mg/g BB tikus. Hal itu menunjukkan bahwa dosis natrium bikarbonat sebagai agen alkalinisasi urin sebesar 2 g untuk orang dewasa sudah cukup efektif untuk mempengaruhi waktu paruh sulfadiazin dalam pencegahan resiko kristaluria dan komplikasi ginjal lainnya.

Perubahan pH urin dapat mempengaruhi efek terapi yang diinginkan ataupun efek toksik yang hendak diatasi dari obat yang bersifat asam lemah (pKa 3,0-8,0) atau basa lemah (pKa 7,5-10,5). Pengaruhnya terhadap bioavailabilitas

obat terutama pada durasi kerja dan waktu paruh eliminasi obat. Kontrol perubahan pH urin dapat dilakukan dengan pengaturan diet makanan dan minuman atau pemberian agen alkalinisasi/asidisasi urin. Diet sayur-sayuran atau diet kaya karbohidrat akan mengakibatkan pH urin yang rendah. Obat-obatan seperti asam askorbat, asetazolamid, atau antasid dapat mengubah pH urin bila diberikan dalam jumlah besar. Selain itu, perubahan yang paling penting dalam pH urin disebabkan oleh cairan yang diberikan secara intravena, seperti larutan bikarbonat atau ammonium klorida yang digunakan dalam terapi gangguan asam-basa (Shargel & Yu, 2005).



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kondisi pH urin yang lebih asam dari pH urin normal tidak dapat dicapai dengan pemberian ammonium klorida dan asam askorbat, keduanya toksik pada tikus putih jantan. Pemberian natrium bikarbonat dengan dosis sebesar 0,9; 1,8; dan 2,7 mg/g BB yang membuat pH urin lebih basa dari pH urin normal menyebabkan penurunan waktu paruh sulfadiazin pada tikus putih jantan.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pH urin terhadap waktu paruh sulfadiazin dengan kondisi pH urin yang lebih asam dari pH urin normal. Pengaruh dari pH urin yang lebih basa juga sebaiknya dilanjutkan dengan waktu analisis yang lebih lama dari penelitian ini guna mengetahui waktu paruh sulfadiazin pada tikus uji. Penelitian selanjutnya hendaknya lebih mempertimbangkan jumlah sampel dan titik cuplikan yang akan dianalisis, serta optimasi kondisi analisis mulai dari kontrol *sampling* dan kontrol pH urin yang diperlukan selama analisis.

DAFTAR ACUAN

- Annino, J. S. (1964, October 19). An Observation Concerning the Bratton-Marshall Diazo Reaction in Sulfonamide-Free Urine. *Massa Chusetts Memorial Hospital*: 370-371.
- Katzung, B.G.. (1986). *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi ke-3*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 30.
- Chem One Corporation. (1999, April 28). *Material Safety Data Sheet: Ammonium Chloride*. 2 Juni 2011.
<http://www.aspinc.com/products/documents/prodinfo/a/amchlormsd.pdf>
- Dewoto, H. R. (2007). Vitamin dan Mineral. In *Farmakologi dan Terapi (Edisi 5)* (hal. 778). Jakarta: Gaya Baru.
- Farmakope Indonesia Edisi IV*. (1995). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia: 94, 601, 1183.
- Galichet, L. Y. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons [Third Edition]* [Computer Software]. Pharmaceutical Press.
- Harmita. (2006). Nitrimetri. In *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi* (hal. 98-99). Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Harmita. (2006). Validasi Metode Analisis. In *Buku Ajar Analisis Fisikokimia* (hal. 144-159). Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Jarret, L., & Wirth, A. C. (1980). *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis Volume 1*. St.Louis: C.V. Mosby: 478-479.
- Jin Suk Han, Gheun-ho Kim, Earm, J., & Joo , K. W. (1998). Metabolic Acidosis and Urinary Acidification Defect during the Course of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *Journal Korean Medical Science*, 389-390.
- Kamberi, M., Kimiko Tsutsumi, Tsutomu Kotegawa, Koichi Kawano, Koichi Nakamura, & Yoshihito Niki. (Maret, 1999). Influence of Urinary pH on Ciprofloxacin Pharmacokinetics in Humans and Antimicrobial Activity In Vitro versus Those of Sparfloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, hal. 525-529.

- Lacy, C. F., Armstrong, L. L., Goldman, M. P., & Lance, L. L. (2005). *Drug Information Handbook Edisi ke-13*. USA: Lexi-Comp Inc: 102, 164, 1375-1376, 1404-1405, 1447-1448, 1489, 1492.
- Material Safety Data Sheet: Ascorbic Acid*. (2005). Texas: Chem One Ltd.
- Merck Index (13th Ed.) [Computer Software]. (2001). USA: Merck & Co. Inc. Whitehouse Station, New Jersey.
- Price, S., & Wilson, L. (1994). *Patofisiologi*. Terjemahan dari Pathophysiology. Clinical Concepts of Disease Processes, 1994 oleh Peter Anugerah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 337, 340.
- Proudfoot, A. T., Krenzelok, E. P., & Vale, J. A. (2004). Position Paper on Urine Alkalinization. *Journal of Toxicology* , 1-26.
- Sadusk, J. F., & Tredway, J. B. (n.d.). Observations on The Absorption, Excretion, Diffusion, and Acetylation of Sulfadiazin in Man. *Yale Journal of Biology and Medicine* , 541.
- Setiabudy, R., & Mariana, Y. (2007). Sulfonamid, Kotrimoksazol, dan Antiseptik Saluran Kemih. In D. F. UI, *Farmakologi dan Terapi (Edisi 5)* (hal. 602). Jakarta: Gaya Baru.
- Shargel, L., & Yu, A. B. (2005). *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan (Edisi ke-2)*. Terjemahan dari Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 1985 oleh Fasich, Siti Sjamsiah. Surabaya: Airlangga University Press: 201-207.
- Sodium Bicarbonate*. Boston. (2002). USA: OECD SIDS.
- Sulfadiazin*. (2010). California: TOKU-E The Evolution of BioPurity.
- Trevor, A., Rowland, M., & Way, E. L. (1972). Techniques for Studying Drug Disposition In Vivo. In B. N. La Du, H. G. Mandel, & E. L. Way, *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition* (hal. 370). Baltimore, USA: The Williams and Wilkins Company.
- U.S. Department of Health and Human. (Mei, 2001). *Food and Drug Administration U.S.* 2 Juni 2011. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf>

Whitehouse, L. W., & Paul, C. J. (1979). A Semi-automated Bratton-Marshall Micromethod for Determining Acetylase Phenotype of Rabbit Using The Abbott Biochromatic Analyzer-100. *Journal Clin.Chem, Clin.Biochem*, 533-536.

World Health Organization. (2008). *Monographs Pharmaceutical Substances*. 2 Juni 2011.

WHO Pharmacopoeia Library: <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>







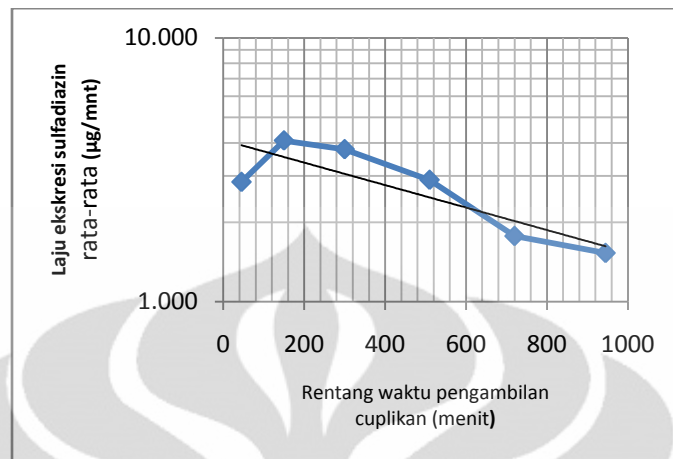
Gambar 3.2.1 Kandang metabolisme tikus



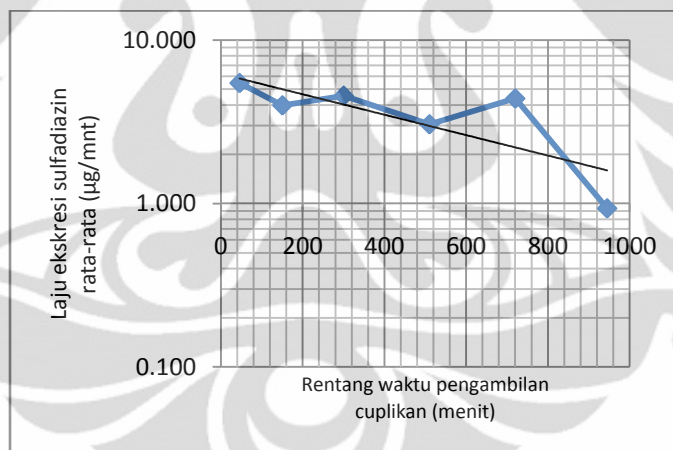
Gambar 3.2.2 Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601)



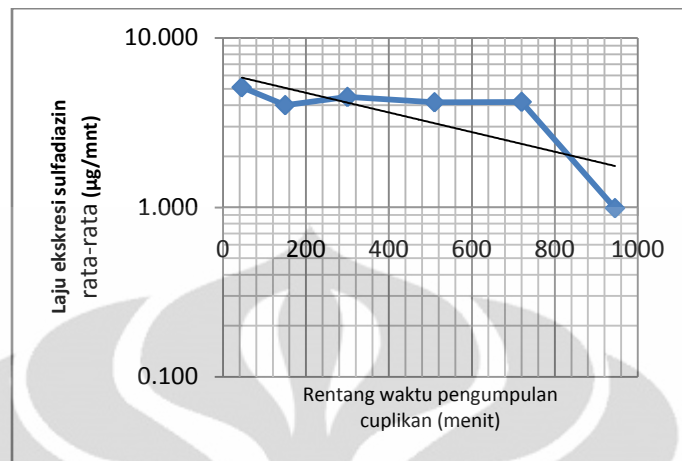
Gambar 3.2.3 pH-meter (Eutech)



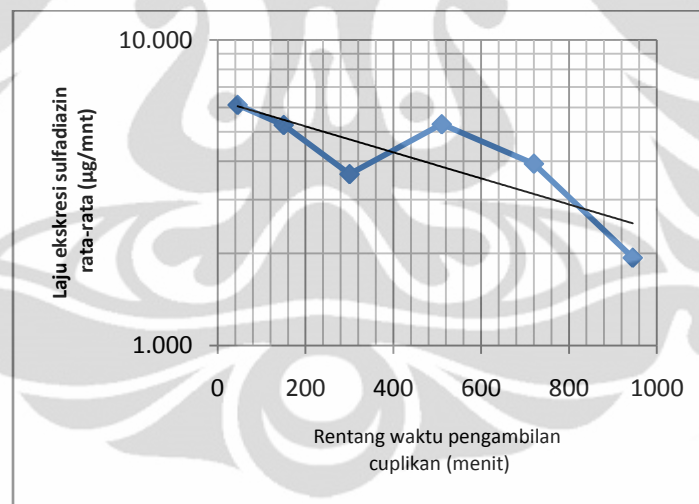
Gambar 4.3.1.1 Kurva semilogaritma hubungan antara rentang waktu pengambilan cuplikan (menit) terhadap laju ekskresi sulfadiazin rata-rata ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada kelompok 2



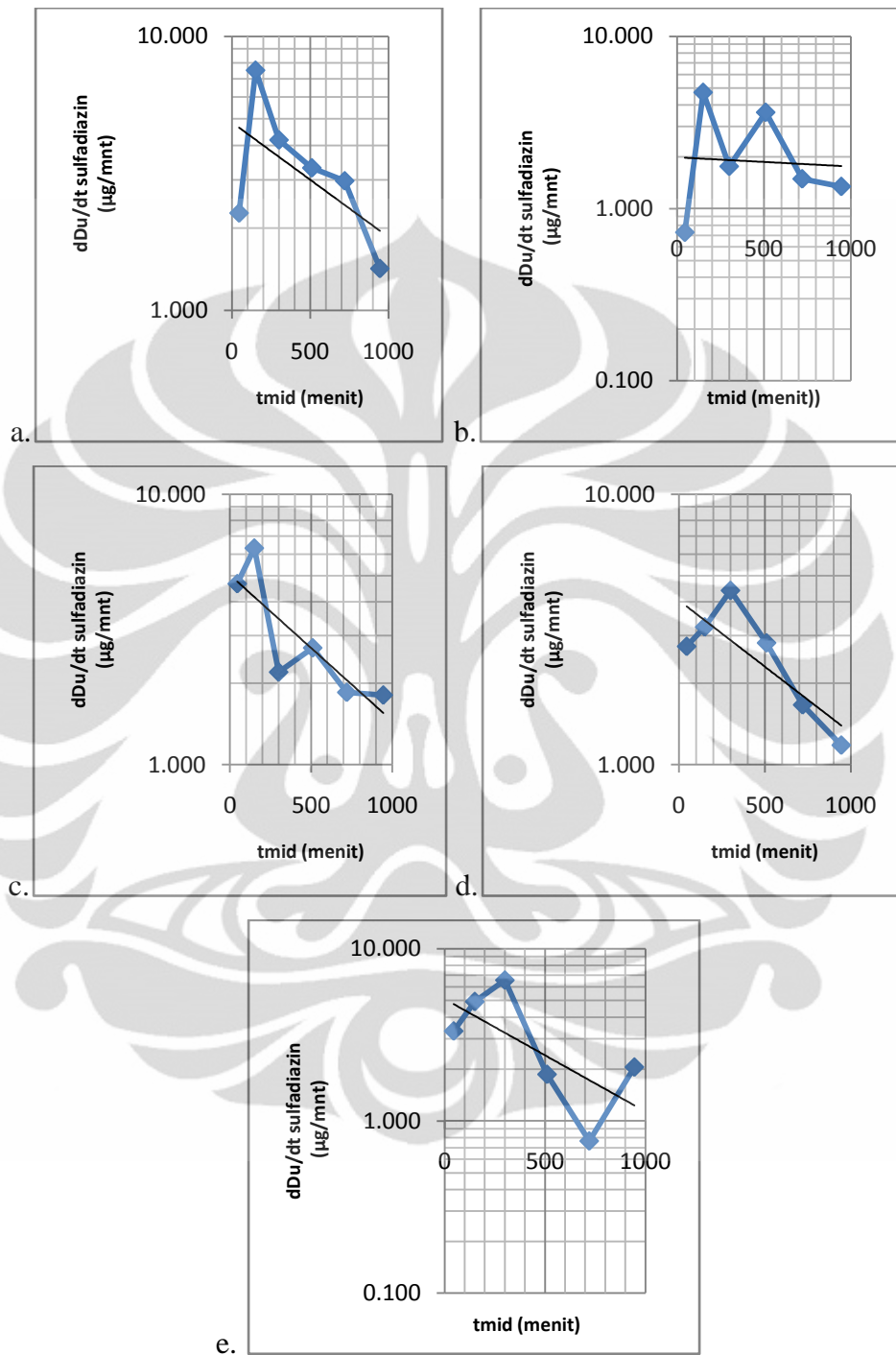
Gambar 4.3.1.2 Kurva semilogaritma hubungan antara rentang waktu pengambilan cuplikan (menit) terhadap laju ekskresi sulfadiazin rata-rata ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada kelompok 3



Gambar 4.3.1.3 Kurva semilogaritma hubungan antara rentang waktu pengambilan cuplikan (menit) terhadap laju ekskresi sulfadiazin rata-rata ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada kelompok 4

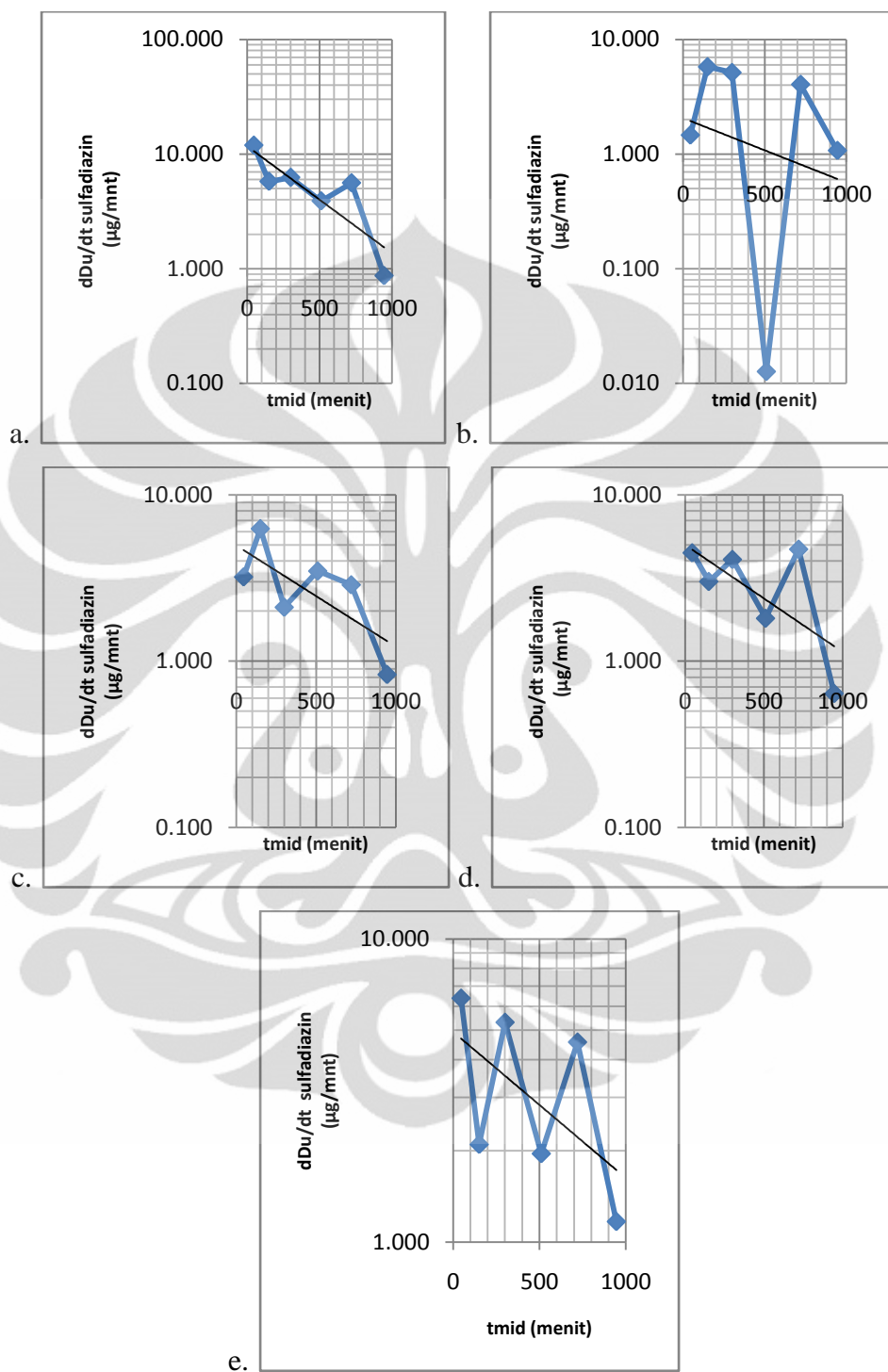


Gambar 4.3.1.4 Kurva semilogaritma hubungan antara rentang waktu pengambilan cuplikan (menit) terhadap laju ekskresi sulfadiazin rata-rata ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada kelompok 5



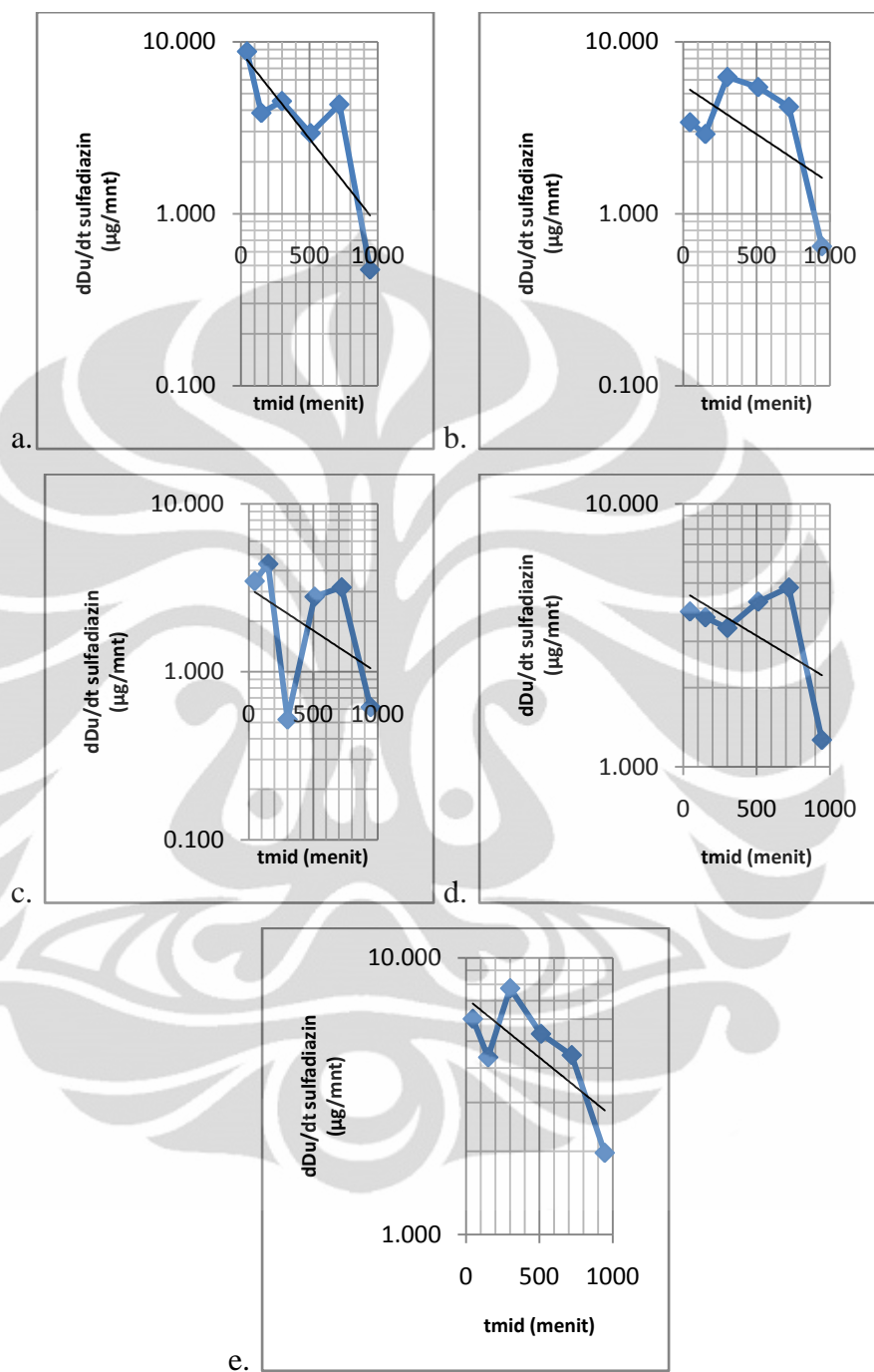
Gambar 4.4.1 Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt sulfadiazin ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 2

Keterangan: t_{mid} : rentang waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt : laju ekskresi



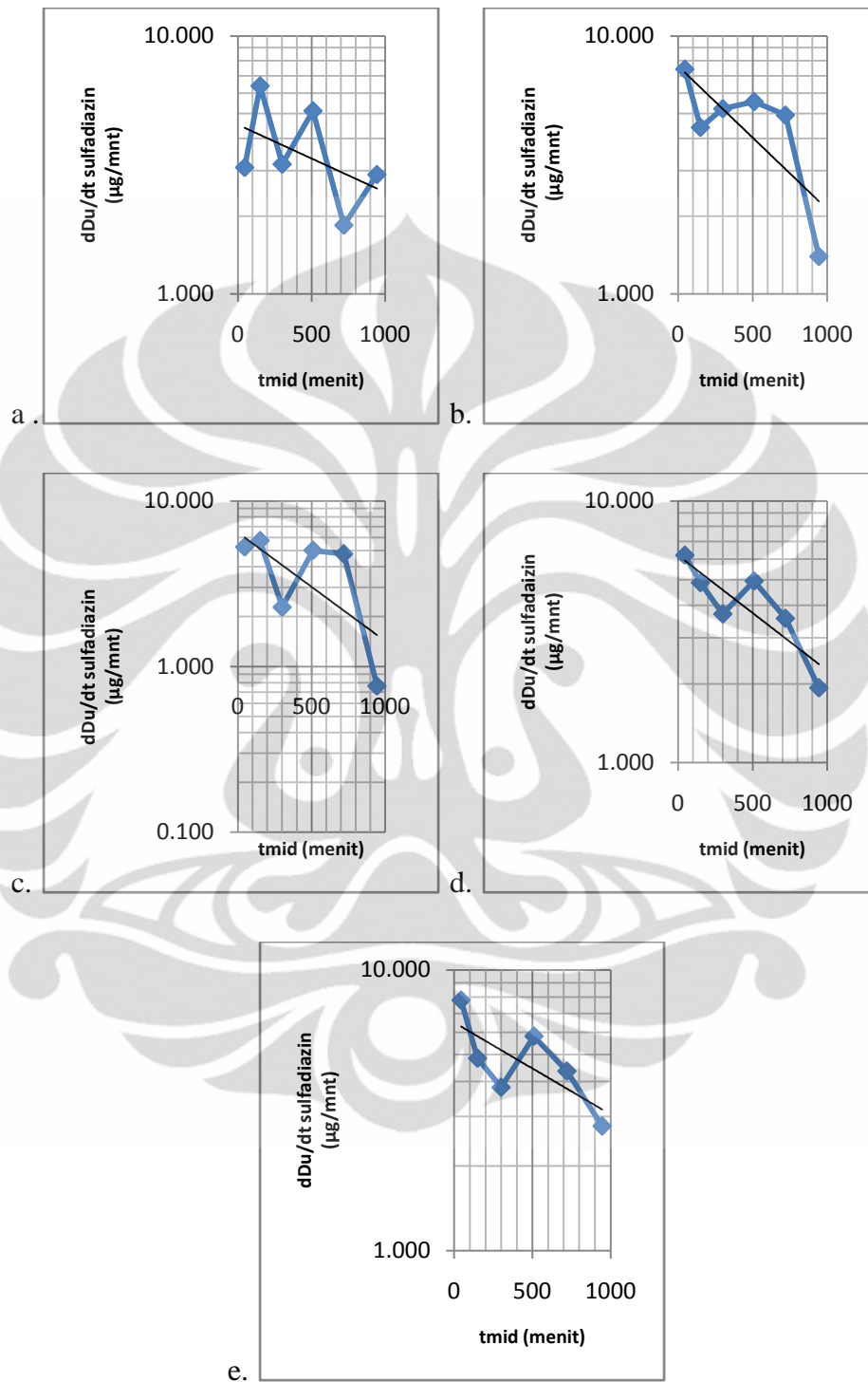
Gambar 4.4.2 Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt sulfadiazin ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 3

Keterangan: t_{mid} : rentang waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt : laju ekskresi



Gambar 4.4.3 Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt sulfadiazin ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 4

Keterangan: t_{mid} : rentang waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt : laju ekskresi



Gambar 4.4.4 Kurva semilogaritma hubungan antara t_{mid} terhadap dDu/dt sulfadiazin ($\mu\text{g}/\text{mnt}$) pada tikus 1-5 (a-e) kelompok 5

Keterangan: t_{mid} : rentang waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt : laju ekskresi



Tabel 4.2.2 Data uji perolehan kembali (% UPK) sulfadiazin dalam urin

C (ppm)	A (serapan)	x_i (ppm)	y_i	$(y-y_i)^2$	% UPK
10	0,2133	9,71	0,22	$4,489 \times 10^{-5}$	97,09
12	0,2670	12,04	0,266	10^{-6}	100,36
18	0,4093	18,23	0,404	$2,809 \times 10^{-5}$	101,28
20	0,4607	20,46	0,45	$114,5 \times 10^{-6}$	102,33
24	0,5306	23,50	0,542	13×10^{-5}	97,93
30	0,6798	29,99	0,68	4×10^{-8}	99,97
			$\sum (y-y_i)^2$	0,0003185	

Tabel 4.3.1 Data urin tikus 1 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	12	0,3812	17,009	204,104	90	90	2,268	45	204,104
3,5	8,5	2,4291	106,048	901,407	210	120	7,512	150	1105,511
6,5	7	2,4658	107,643	753,504	390	180	4,186	300	1859,015
10,5	7	2,6021	113,570	794,987	630	240	3,312	510	2654,002
13,5	4,8	2,5518	111,383	534,637	810	180	2,970	720	3188,638
18	3,2	2,7520	120,087	384,278	1080	270	1,423	945	3572,917

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.2 Data urin tikus 2 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	3	0,4921	21,830	65,491	90	90	0,728	45	65,491
3,5	8,5	1,5231	66,657	566,580	210	120	4,722	150	632,071
6,5	3	2,4150	105,435	316,304	390	180	1,757	300	948,376
10,5	8,6	2,3118	100,948	868,151	630	240	3,617	510	1816,527
13,5	2	3,0679	133,822	267,643	810	180	1,487	720	2084,171
18	3,8	2,1847	95,422	362,603	1080	270	1,343	945	2446,773

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.3 Data urin tikus 3 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	8,2	1,1672	51,183	419,697	90	90	4,663	45	419,967
3,5	7,4	2,3457	102,422	757,921	210	120	6,316	150	1177,888
6,5	3,8	2,3823	104,013	395,250	390	180	2,196	300	1573,137
10,5	6	2,4738	107,991	647,948	630	240	2,700	510	2221,085
13,5	3,1	2,4583	107,317	332,684	810	180	1,848	720	2553,769
18	4,5	2,4817	108,335	487,507	1080	270	1,806	945	3041,276

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.4 Data urin tikus 4 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	5,4	1,0383	45,578	246,123	90	90	2,735	45	246,123
3,5	3,8	2,3341	101,917	387,286	210	120	3,227	150	633,409
6,5	7,8	2,3284	101,670	793,023	390	180	4,406	300	1426,432
10,5	6,2	2,4982	109,052	676,123	630	240	2,817	510	2102,555
13,5	2,6	2,6351	115,004	299,011	810	180	1,661	720	2401,566
18	3	2,4291	106,048	318,143	1080	270	1,178	945	2719,710

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.5 Data urin tikus 5 kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	6,3	1,0828	47,513	299,332	90	90	3,326	45	299,332
3,5	6,1	2,223	97,087	592,230	210	120	4,935	150	891,562
6,5	10,2	2,6587	116,030	1183,510	390	180	6,575	300	2075,073
10,5	3,8	2,6963	117,665	447,128	630	240	1,863	510	2522,201
13,5	1,2	2,6236	114,504	137,405	810	180	0,763	720	2659,606
18	4,9	2,5914	113,104	554,211	1080	270	2,053	945	3213,817

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.6 Data urin tikus 1 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	11,5	2,1387	93,422	1074,350	90	90	11,937	45	1074,350
3,5	6,5	2,4434	106,670	693,352	210	120	5,778	150	1767,702
6,5	10	2,5821	112,700	1127,000	390	180	6,261	300	2894,702
10,5	7,8	2,7520	120,087	936,678	630	240	3,903	510	3831,380
13,5	9,2	2,5151	109,787	1010,040	810	180	5,611	720	4841,420
18	2,2	2,4507	106,987	235,371	1080	270	0,872	945	5076,792

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.7 Data urin tikus 2 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	1,6	1,8856	82,417	131,868	90	90	1,465	45	131,868
3,5	3	2,2750	99,348	693,352	210	120	5,778	150	825,220
6,5	8,8	2,4086	105,157	925,377	390	180	5,141	300	1750,598
10,5	7	3,1351	0,435	3,043	630	240	0,013	510	1753,641
13,5	6,8	2,4583	107,317	729,758	810	180	4,054	720	2483,399
18	3,4	1,9545	85,413	290,404	1080	270	1,076	945	2773,804

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.8 Data urin tikus 3 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	3,2	2,0657	90,248	288,793	90	90	3,209	45	288,793
3,5	7,4	2,3228	101,426	750,553	210	120	6,255	150	1039,346
6,5	3,6	2,4150	105,435	379,565	390	180	2,109	300	1418,911
10,5	7,2	2,6587	116,030	835,419	630	240	3,481	510	2254,330
13,5	4,5	2,6351	115,004	517,520	810	180	2,875	720	2771,850
18	2	2,5710	112,217	224,435	1080	270	0,831	945	2996,285

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.9 Data urin tikus 4 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	6,8	1,3506	59,157	402,264	90	90	4,470	45	402,264
3,5	3,2	2,5812	112,661	360,515	210	120	3,004	150	762,779
6,5	7,2	2,3341	101,917	733,805	390	180	4,077	300	1496,584
10,5	4	2,4817	108,335	433,339	630	240	1,806	510	1929,923
13,5	8	2,4220	105,739	845,913	810	180	4,700	720	2775,836
18	1,6	2,4658	107,643	172,230	1080	270	0,638	945	2948,066

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.10 Data urin tikus 5 kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	5,9	2,2275	97,283	573,967	90	90	6,377	45	573,976
3,5	2,2	2,6239	114,517	251,938	210	120	2,099	150	825,914
6,5	8,2	2,6710	116,565	955,835	390	180	5,310	300	1781,749
10,5	3,3	3,2631	142,309	469,619	630	240	1,957	510	2251,368
13,5	7,3	2,5812	112,661	822,424	810	180	4,569	720	3073,792
18	2,8	2,5812	112,661	315,450	1080	270	1,168	945	3389,243

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.11 Data urin tikus 1 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	8	2,2554	98,496	787,965	90	90	8,755	45	787,965
3,5	4	2,6469	115,517	462,070	210	120	3,851	150	1250,035
6,5	7	2,6587	116,030	812,213	390	180	4,512	300	2062,248
10,5	5,9	2,7372	119,443	704,717	630	240	2,936	510	2766,964
13,5	7,1	2,5066	109,417	776,863	810	180	4,316	720	3543,828
18	1,2	2,4434	106,670	128,003	1080	270	0,474	945	3671,831

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.12 Data urin tikus 2 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	3,2	2,1887	95,596	305,906	90	90	3,399	45	305,906
3,5	2,8	2,8530	124,478	348,539	210	120	2,904	150	654,445
6,5	10,6	2,4220	105,739	1120,835	390	180	6,227	300	1775,280
10,5	11,4	2,6239	114,517	1305,498	630	240	5,440	510	3080,778
13,5	6,9	2,4982	109,052	752,460	810	180	4,180	720	3833,238
18	2,1	1,9044	83,235	174,793	1080	270	0,647	945	4008,031

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.13 Data urin tikus 3 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	3,2	2,2321	97,483	311,944	90	90	3,466	45	311,944
3,5	6,3	1,9131	83,613	526,762	210	120	4,390	150	838,706
6,5	0,8	2,6833	117,100	93,680	390	180	0,520	300	932,386
10,5	5,5	2,7992	122,139	671,765	630	240	2,799	510	1604,151
13,5	5,2	2,5240	110,174	572,904	810	180	3,183	720	2177,056
18	1,5	2,5424	110,974	166,461	1080	270	0,617	945	2343,517

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.14 Data urin tikus 4 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	5,4	1,4823	64,883	350,366	90	90	3,893	45	350,366
3,5	4	2,5424	110,974	443,896	210	120	3,699	150	794,262
6,5	5,6	2,4817	108,335	606,675	390	180	3,370	300	1400,936
10,5	9,6	2,4291	106,048	1018,059	630	240	4,242	510	2418,996
13,5	8,2	2,4150	105,435	864,565	810	180	4,803	720	3283,561
18	3,1	2,5240	110,174	341,539	1080	270	1,265	945	3625,100

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.15 Data urin tikus 5 kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	5,4	2,2957	100,248	541,338	90	90	6,015	45	541,338
3,5	3,5	3,4362	149,835	524,422	210	120	4,370	150	1065,760
6,5	11,5	2,7830	121,435	1396,500	390	180	7,758	300	2462,260
10,5	10,5	2,7830	121,435	1275,065	630	240	5,313	510	3737,325
13,5	7,7	2,3823	104,013	800,900	810	180	4,449	720	4538,225
18	5	2,4434	106,670	533,348	1080	270	1,975	945	5071,573

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.16 Data urin tikus 1 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	3	2,1210	92,652	277,957	90	90	3,088	45	277,957
3,5	5	3,5242	153,661	768,304	210	120	6,403	150	1046,261
6,5	5	2,6239	114,517	572,587	390	180	3,181	300	1618,848
10,5	10	2,8167	122,900	1229,000	630	240	5,121	510	2847,848
13,5	3	2,5331	110,570	331,709	810	180	1,843	720	3179,557
18	7,4	2,4220	105,739	782,470	1080	270	2,898	945	3962,027

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.17 Data urin tikus 2 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	6,4	2,3951	104,570	669,245	90	90	7,436	45	669,245
3,5	4	3,0391	132,570	530,278	210	120	4,419	150	1199,523
6,5	7,6	2,8341	123,657	939,790	390	180	5,221	300	2139,313
10,5	11	2,7830	121,435	1335,783	630	240	5,566	510	3475,095
13,5	8,6	2,3638	103,209	887,595	810	180	4,931	720	4362,690
18	4,6	1,8717	81,813	376,340	1080	270	1,394	945	4739,030

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.18 Data urin tikus 3 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	5,4	2,0079	87,735	473,768	90	90	5,264	45	473,768
3,5	4	3,9565	172,457	689,826	210	120	5,749	150	1163,594
6,5	3,4	2,7682	120,791	410,690	390	180	2,282	300	1574,285
10,5	10,4	2,6587	116,030	1206,717	630	240	5,028	510	2781,001
13,5	8,6	2,2957	100,248	862,131	810	180	4,790	720	3643,132
18	2	2,3638	103,209	206,417	1080	270	0,765	945	3849,550

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.19 Data urin tikus 4 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	9	1,4161	62,004	558,039	90	90	6,200	45	558,039
3,5	3,8	3,5242	153,661	583,911	210	120	4,866	150	1141,950
6,5	6,1	2,4982	109,052	665,218	390	180	3,696	300	1807,169
10,5	10,8	2,5151	109,787	1185,699	630	240	4,940	510	2992,868
13,5	6	2,4434	106,670	640,017	810	180	3,556	720	3632,885
18	4,9	2,4362	106,357	521,147	1080	270	1,930	945	4154,032

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.20 Data urin tikus 5 kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	6,6	2,4362	106,357	701,953	90	90	7,799	45	701,953
3,5	4,5	2,9597	129,117	581,028	210	120	4,842	150	1282,981
6,5	5,4	2,9138	127,122	686,457	390	180	3,814	300	1969,439
10,5	12	2,6587	116,030	1392,365	630	240	5,802	510	3361,804
13,5	7,5	2,3951	104,570	784,272	810	180	4,357	720	4146,076
18	7,2	2,3823	104,013	748,894	1080	270	2,774	945	4894,970

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.21 Data urin rata rata kelompok 2 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB)

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	6,98	0,8323	36,623	255,626	90	90	2,840	45	255,626
3,5	6,86	2,1710	94,826	650,507	210	120	5,421	150	906,133
6,5	6,36	2,4500	106,958	680,255	390	180	3,779	300	1586,387
10,5	6,32	2,5164	109,845	694,222	630	240	2,893	510	2280,609
13,5	2,74	2,6673	116,406	318,953	810	180	1,772	720	2599,562
18	3,88	2,4878	108,599	421,365	1080	270	1,561	945	3020,926

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.22 Data urin rata-rata kelompok 3 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Du (μg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt ($\mu\text{g/mnt}$)	t mid (mnt)	Du kumulatif (μg)
1,5	5,8	1,9336	84,505	490,130	90	90	5,446	45	490,130
3,5	4,46	2,4493	106,924	476,883	210	120	3,974	150	967,013
6,5	7,56	2,4822	108,355	819,162	390	180	4,551	300	1786,175
10,5	5,86	2,8581	124,701	730,747	630	240	3,045	510	2516,922
13,5	7,16	2,5223	110,102	788,328	810	180	4,380	720	3305,251
18	2,4	2,4046	104,984	251,962	1080	270	0,933	945	3557,213

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: nilai tengah dari waktu pengambilan cuplikan waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.23 Data urin rata-rata kelompok 4 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	5,04	2,0908	91,341	460,358	90	90	5,115	45	460,358
3,5	4,12	2,6783	116,883	481,560	210	120	4,013	150	941,918
6,5	7,1	2,6057	113,728	807,468	390	180	4,486	300	1749,385
10,5	8,58	2,6745	116,717	1001,428	630	240	4,173	510	2750,813
13,5	7,02	2,4652	107,618	755,480	810	180	4,197	720	3506,293
18	2,58	2,3715	103,544	267,144	1080	270	0,989	945	3773,438

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: rentang waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.

Tabel 4.3.24 Data urin rata-rata kelompok 5 (sulfadiazin 285,7 g/kg BB dan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB))

Waktu Pengambilan Sampel (jam)	Vol (ml)	Serapan (A)	Cu (µg/ml)	Du (µg)	t (mnt)	dt (mnt)	dDu/dt (µg/mnt)	t mid (mnt)	Du kumulatif (µg)
1,5	6,08	2,0753	90,663	551,234	90	90	6,125	45	551,234
3,5	4,26	3,4007	148,293	631,728	210	120	5,264	150	1182,962
6,5	5,5	2,7276	119,028	654,653	390	180	3,637	300	1837,615
10,5	10,8 4	2,6864	117,237	1270,844	630	240	5,295	510	3108,459
13,5	6,74	2,4062	105,053	708,058	810	180	3,934	720	3816,517
18	5,22	2,2952	100,226	523,180	1080	270	1,938	945	4339,697

Keterangan: Vol: volume cuplikan, Cu: Kadar sulfadiazin dalam urin, Du: Jumlah sulfadiazin dalam urin, t: waktu pengambilan cuplikan, dDu/dt: laju ekskresi sulfadiazin, t mid: rentang waktu pengambilan cuplikan, Du kumulatif: Jumlah sulfadiazin dalam urin kumulatif.



Lampiran I

Perhitungan bahan dan pembuatan suspensi sulfadiazin

Larutan CMC 0,5% dibuat terlebih dahulu. CMC ditimbang seksama sebanyak:

$$\frac{0,5g}{100ml} \times 10ml = 0,05g$$

Kemudian dikembangkan selama 30 menit di atas air panas suhu 80°C sebanyak 20 kali bobot CMC = $20 \times 0,05g = 1,0ml$. Setelah mengembang, CMC digerus hingga terbentuk massa suspensi. Sulfadiazin ditimbang seksama sebanyak 0,5 g dan dimasukkan sedikit demi sedikit ke lumpang yang sama. Kemudian digerus sampai massa suspensi sulfadiazin terbentuk, volumenya dicukupkan dengan aquadest hingga 10 ml.

Lampiran II
Sertifikat analisis sulfadiazin

PT. BRATACO

HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Sulfadiazinum
Batch : J 0261/10 (611002007)
Ex : Nahhai Beisha
E.D : 02-2014

Jenis pemeriksaan	Persyaratan	Hasil
Pemerian	Serbuk, putih atau putih kekuningan Atau putih agak merah jambu, hampir tidak berbau, tidak berasa	serbuk putih
Kelarutan	Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol 95%, dan dalam aseton	sesuai
Identifikasi	Larutan 1:1 dalam air dan tambahkan 1 ml NaOH 0,1N, tambahkan 0,5 ml larutan CuSO ₄ P, panaskan sampai mendidih; hijau zaitun, diamkan, endapan perlahan menjadi ungu kelabu	sesuai
Kejernihan	Larutan 1,0 g dalam campuran larutan NaOH 1 N dan 15 ml air, jernih	sesuai
Suhu lebur	±255° C	254,1 °C
Keasam basaan	Tidak lebih dari 0,1 ml NaOH 0,1 N untuk larutan 0,2 % b/v	0,18 ml
Susut pengeringan	Tidak lebih dari 0,5%	0,4%
Kadar	Tidak Kurang dari 99,0%	99,88%

Kesimpulan : **Memenuhi syarat**

Pemeriksa
Rian Pratama Akpa
Analisis

Cikarang, 21 Mei 2010
Penanggung Jawab
Dra. Ni Hartati
Apoteker
SIK 3836/B

HEAD OFFICE
BRANCH OFFICE

Jl. Cidong Rebut No. 20, Jakarta Pusat 10120, Telp: (021) 3822773 (marketing), Fax: (021) 3822734 E-mail: atbrataco@brataco.com
JAKARTA

Lampiran III

Cara perhitungan validasi metode analisis

- a. Cara perhitungan uji akurasi dengan % perolehan kembali

Persamaan kurva kalibrasi: $y = a + bx$

y = serapan yang dihasilkan oleh sulfadiazine dalam urin

x = konsentrasi sulfadiazine dalam urin

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{\text{konsentrasi sulfadiazin hasil pengukuran}}{\text{konsentrasi sesungguhnya}} \times 100 \%$$

- b. Cara perhitungan LOD dan LOQ serta koefisien variasi dari fungsi

$$\text{Simpangan baku residual: } S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2}}$$

$$\text{Batas deteksi (LOD)} = \frac{3 S(y/x)}{b}$$

$$\text{Batas kuantitasi (LOQ)} = \frac{10 S(y/x)}{b}$$

$$\text{Standar deviasi dari fungsi (S}\infty) = \frac{S(y/x)}{b}$$

$$\text{Koefisien variasi dari fungsi (V}\infty) = \frac{S\infty}{x \text{ rata-rata}}$$

Lampiran IV

Uji normalitas (Shapiro-Wilk) terhadap jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji (SPSS 17.0)

Tujuan :

Untuk melihat data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji tiap waktu cuplikan terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis :

Ho = Data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin tikus terdistribusi normal

Ha = Data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin tikus tidak terdistribusi normal

$\alpha = 0,05$

Pengambilan kesimpulan : Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil Uji Normalitas				
Shapiro-Wilk				
Waktu cuplikan (jam)	Kelompok perlakuan	Statistik	df	Signifikansi
1,5	Kontrol sulfadiazin	0,991	5	0,984
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,921	5	0,536
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,822	5	0,120
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,931	5	0,604
3,5	Kontrol sulfadiazin	0,868	5	0,260
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,742	5	0,025
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,954	5	0,767
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,986	5	0,965
6,5	Kontrol sulfadiazin	0,977	5	0,916
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,779	5	0,054
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,993	5	0,990
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,940	5	0,665
10,5	Kontrol sulfadiazin	0,969	5	0,866
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,780	5	0,055
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,994	5	0,992
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,888	5	0,349

Hasil Uji Normalitas				
(lanjutan)				
13,5	Kontrol sulfadiazin	0,968	5	0,862
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,750	5	0,030
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,971	5	0,878
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,948	5	0,725
18	Kontrol sulfadiazin	0,990	5	0,981
	Dosis 1 NaHCO ₃	0,752	5	0,031
	Dosis 2 NaHCO ₃	0,952	5	0,754
	Dosis 3 NaHCO ₃	0,882	5	0,316

Hasil:

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 1,5 jam:

- Kontrol normal = 0,984; signifikansi > 0,05; maka Ho diterima
- Dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB) = 0,536; signifikansi >0,05; maka Ho diterima
- Dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB) = 0,120; signifikansi >0,05; maka Ho diterima
- Dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB) = 0,604; signifikansi >0,05; maka Ho diterima

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 1,5 jam terdistribusi normal.

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 3,5 jam:

- Kontrol normal (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) = 0,260; signifikansi > 0,05; maka Ho diterima
- Dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB) = 0,025; signifikansi < 0,05; maka Ho ditolak
- Dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB) = 0,767; signifikansi > 0,05; maka Ho diterima
- Dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB) = 0,965; signifikansi > 0,05; maka Ho diterima

Kesimpulan: Ho tidak semua diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 3,5 jam tidak terdistribusi normal.

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 6,5 jam:

- Kontrol normal (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) = 0,916; signifikansi > 0,05; maka Ho diterima

- b. Dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB) = 0,054; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- c. Dosis 2 NaHCO_3 (1,8 mg/g BB) = 0,990; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- d. Dosis 3 NaHCO_3 (2,7 mg/g BB) = 0,665; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 6,5 jam terdistribusi normal.

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 10,5 jam:

- a. Kontrol normal (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) = 0,866; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- b. Dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB) = 0,055; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- c. Dosis 2 NaHCO_3 (1,8 mg/g BB) = 0,992; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- d. Dosis 3 NaHCO_3 (2,7 mg/g BB) = 0,349; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 10,5 jam terdistribusi normal.

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 13,5 jam:

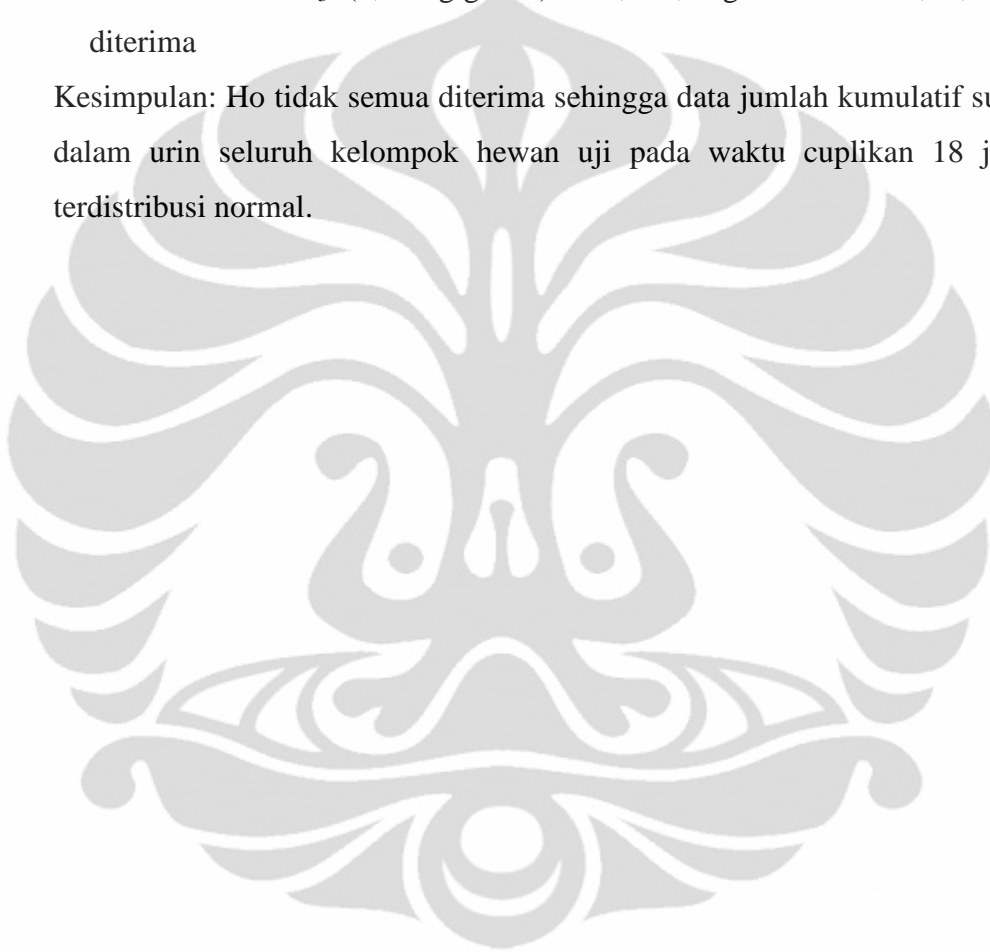
- a. Kontrol normal (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) = 0,862; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- b. Dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB) = 0,030; signifikansi < 0,05; maka H_0 ditolak
- c. Dosis 2 NaHCO_3 (1,8 mg/g BB) = 0,878; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- d. Dosis 3 NaHCO_3 (2,7 mg/g BB) = 0,725; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 tidak semua diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 13,5 jam tidak terdistribusi normal.

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 18 jam:

- a. Kontrol normal (sulfadiazin 285,7 g/kg BB) = 0,981; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- b. Dosis 1 NaHCO_3 (0,9 mg/g BB) = 0,031; signifikansi < 0,05; maka H_0 ditolak
- c. Dosis 2 NaHCO_3 (1,8 mg/g BB) = 0,754; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima
- d. Dosis 3 NaHCO_3 (2,7 mg/g BB) = 0,316; signifikansi > 0,05; maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 tidak semua diterima sehingga data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin seluruh kelompok hewan uji pada waktu cuplikan 18 jam tidak terdistribusi normal.



Lampiran V

Uji Mann-Whitney terhadap jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin
seluruh kelompok hewan uji
(SPSS 17.0)

Hipotesis :

Ho = Data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin tidak memiliki perbedaan

Ha = Data jumlah kumulatif sulfadiazin dalam urin memiliki perbedaan

$\alpha = 0,05$

Pengambilan kesimpulan : Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Uji Mann-Whitney antar kelompok

Perbandingan antar kelompok	Signifikansi pada tiap waktu cuplikan urin					
	t = 1,5 jam	t = 3,5 jam	t = 6,5 jam	t = 10,5 jam	t = 13,5 jam	t = 18 jam
Antara kelompok 2 dan 3	0,251	0,754	0,754	0,917	0,175	0,602
Antara kelompok 2 dan 4	0,047	0,754	0,917	0,251	0,076	0,117
Antara kelompok 2 dan 5	0,028	0,076	0,251	0,009	0,016	0,009
Antara kelompok 3 dan 4	0,917	0,917	0,754	0,465	0,465	0,465
Antara kelompok 3 dan 5	0,602	0,117	0,465	0,117	0,117	0,117
Antara kelompok 4 dan 5	0,602	0,117	0,754	0,347	0,602	0,251

Keterangan: Kelompok 2: kontrol sulfadiazin (pH urin normal); Kelompok 3: sulfadiazin dengan dosis 1 NaHCO₃ (0,9 mg/g BB); Kelompok 4: sulfadiazin dengan dosis 2 NaHCO₃ (1,8 mg/g BB); Kelompok 5: sulfadiazin dengan dosis 3 NaHCO₃ (2,7 mg/g BB).

Hasil:

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 1,5 jam:

- Antara kelompok 2 dan 3 = 0,251; signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima
- Antara kelompok 2 dan 4 = 0,047; signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak
- Antara kelompok 2 dan 5 = 0,028; signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak
- Antara kelompok 3 dan 4 = 0,917; signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima
- Antara kelompok 3 dan 5 = 0,602; signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima
- Antara kelompok 4 dan 5 = 0,602; signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 3,5 jam:

- a. Antara kelompok 2 dan 3 = 0,754; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Antara kelompok 2 dan 4 = 0,754; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- c. Antara kelompok 2 dan 5 = 0,028; signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak
- d. Antara kelompok 3 dan 4 = 0,076; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- e. Antara kelompok 3 dan 5 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- f. Antara kelompok 4 dan 5 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 6,5 jam:

- a. Antara kelompok 2 dan 3 = 0,754; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Antara kelompok 2 dan 4 = 0,917; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- c. Antara kelompok 2 dan 5 = 0,251; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- d. Antara kelompok 3 dan 4 = 0,754; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- e. Antara kelompok 3 dan 5 = 0,465; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- f. Antara kelompok 4 dan 5 = 0,754; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 10,5 jam:

- a. Antara kelompok 2 dan 3 = 0,917; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Antara kelompok 2 dan 4 = 0,251; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- c. Antara kelompok 2 dan 5 = 0,009; signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak
- d. Antara kelompok 3 dan 4 = 0,465; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- e. Antara kelompok 3 dan 5 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- f. Antara kelompok 4 dan 5 = 0,347; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 13,5 jam:

- a. Antara kelompok 2 dan 3 = 0,175; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Antara kelompok 2 dan 4 = 0,076; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- c. Antara kelompok 2 dan 5 = 0,016; signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak
- d. Antara kelompok 3 dan 4 = 0,465; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- e. Antara kelompok 3 dan 5 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- f. Antara kelompok 4 dan 5 = 0,602; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Nilai signifikansi pada waktu cuplikan 18 jam:

- a. Antara kelompok 2 dan 3 = 0,602; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Antara kelompok 2 dan 4 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- c. Antara kelompok 2 dan 5 = 0,009; signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak
- d. Antara kelompok 3 dan 4 = 0,465; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- e. Antara kelompok 3 dan 5 = 0,117; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima
- f. Antara kelompok 4 dan 5 = 0,251; signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

