



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN SERENTAK FENOTIP KEMAMPUAN METABOLISME
OBAT PADA SUATU POPULASI ORANG INDONESIA -
N-ASETILASI, OKSIDASI JENIS DEBRISOKUIN, DAN OKSIDASI JENIS
S-MEFENITOIN YANG DITURUNKAN MELALUI GEN**

D

615.1
Set
P

DISERTASI

OLEH:

Rianto Setiabudy

PROGRAM PASCA SARJANA UNIVERSITAS INDONESIA

**JAKARTA
1993**

S-



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN SERENTAK FENOTIP KEMAMPUAN METABOLISME
OBAT PADA SUATU POPULASI ORANG INDONESIA –
N-ASETILASI, OKSIDASI JENIS DEBRISOKUIN, DAN OKSIDASI JENIS
S-MEFENITOIN YANG DITURUNKAN MELALUI GEN**

DISERTASI

**Untuk memperoleh gelar Doktor
dalam bidang Ilmu Biomedik pada Universitas Indonesia di Jakarta
di bawah pimpinan Rektor Universitas Indonesia Profesor Doktor Sujudi,
untuk dipertahankan di hadapan Senat Guru Besar Universitas Indonesia
pada hari Selasa tanggal 15 Juni 1993, pukul 10.00 pagi**

Rianto Setiabudy

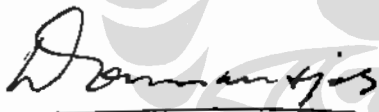
PROGRAM PASCA SARJANA UNIVERSITAS INDONESIA

**JAKARTA
1993**

**PENENTUAN SERENTAK FENOTIP KEMAMPUAN METABOLISME
OBAT PADA SUATU POPULASI ORANG INDONESIA —
N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis
S-mefenitoin yang diturunkan melalui gen**

Disertasi ini telah diperiksa dan disetujui tim pembimbing.

Jakarta, Juni 1993



Prof. dr. Iwan Darmansjah

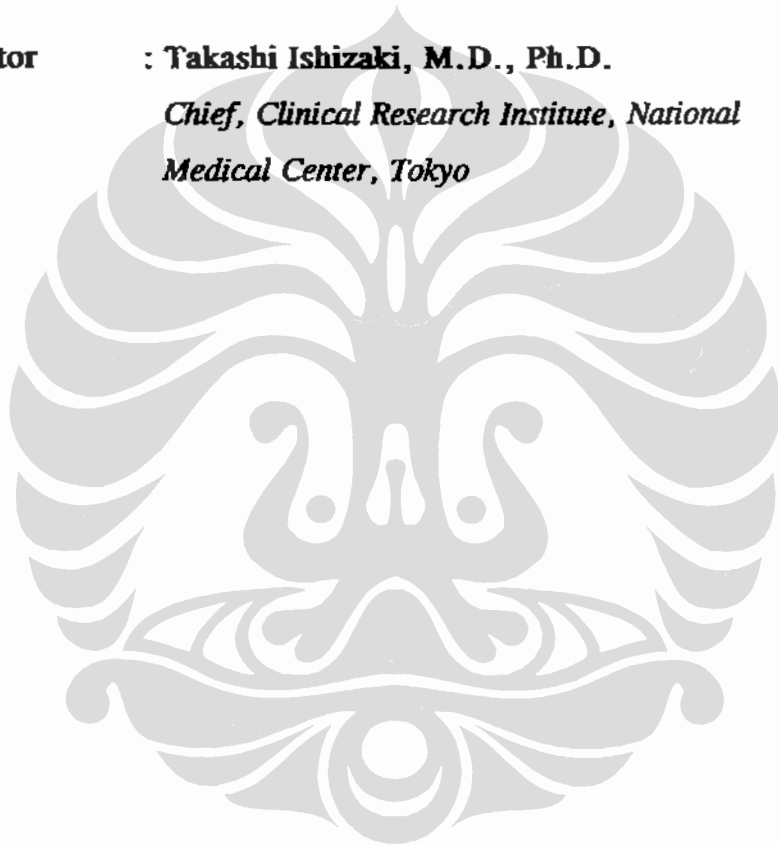
Promotor

Dr. Takashi Ishizaki, Ph.D.

Ko-promotor

Promotor : **Prof. dr. Iwan Darmansjah**
*Guru Besar Tetap Bagian Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia,
Jakarta*

Ko-promotor : **Takashi Ishizaki, M.D., Ph.D.**
*Chief, Clinical Research Institute, National
Medical Center, Tokyo*



PANITIA PENGUJI

- Ketua** : Prof. Dr. Sujudi
Rektor Universitas Indonesia
- Ketua Pelaksana** : Prof. Dr. Nana Suhana
*Guru Besar Tetap Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia, Jakarta*
- Anggauta** : Prof. dr. M. K. Tadjudin
*Guru Besar Tetap Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia, Jakarta*
- Prof. dr. Ma'rifin Husin
*Guru Besar Tetap Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga, Surabaya*
- Prof. dr. R. P. Sidabutar
*Guru Besar Tetap Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas
Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta*
- dr. H. Armen Muchtar
*Lektor Kepala Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia, Jakarta*
- Drs. Umar Mansur, M.Sc.
*Lektor Jurusan Farmasi, Fakultas Matematik dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Jakarta*

00207

PERPUSTAKAAN PUSAT
UNIVERSITAS INDONESIA

Pembelian/Modiah dari

Rektorat

Diterima 25 SEP 1998

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Pertama-tama saya ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada promotor saya Profesor Dokter Iwan Darmansjah. Bagi saya beliau bukan hanya promotor, tetapi juga seorang guru dalam arti kata sedalam-dalamnya.

Rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada Dokter Takashi Ishizaki, Ph.D., ko-promotor saya yang telah memberi saya kesempatan untuk bekerja di laboratoriumnya serta memberi nasihat dan bimbingan yang sangat membantu saya menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada Profesor Dokter Dokter Sujudi, Rektor Universitas Indonesia, yang telah memberi saya kesempatan mempertahankan disertasi di alma mater yang saya cintai ini.

Kepada Profesor Dokter Dokter Iskandar Wahidijat, Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menjadi peserta program S-3 serta membantu saya mendapatkan beasiswa dari Tim Manajemen Program Doktor, saya sampaikan ucapan terima kasih yang tulus. Saya sampaikan ucapan yang sama kepada Dokter Dokter Farid Anfasa Moeloek, Asisten Direktur I Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia, yang juga telah memberi bantuan sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Kepada Profesor Dokter Mardiono Marsetio, Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas Indonesia, saya sampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya atas segala bantuan yang beliau berikan hingga disertasi ini dapat diselesaikan. Demikian pula saya sampaikan rasa terima kasih kepada Profesor Dokter H. Udin Sjamsudin, Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang selalu menolong saya mengatasi berbagai kesulitan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Kepada Dokter Sunaryo, Kepala Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI), saya sampaikan ucapan terima kasih atas segala bantuannya untuk menyelesaikan pekerjaan ini. Ungkapan perasaan yang sama saya sampaikan juga kepada Profesor Dokter H. Sardjono Oerip Santoso, mantan Kepala Bagian Farmakologi FKUI, yang selalu bersedia membantu saya menghadapi berbagai masalah untuk menyelesaikan pendidikan S-3 ini.

Kepada tim penguji yang diketuai oleh Profesor Dokter Nana Suhana, Guru Besar Tetap Bagian Biologi FKUI, dengan anggotanya Profesor Dokter Muhammad Kamil Tadjudin, Guru Besar Tetap Bagian Biologi FKUI; Profesor Dokter Ma'rifin Husin, Guru Besar Tetap Bagian Farmakologi Universitas Airlangga; Profesor Dokter Radja Pingkir Sidabutar, Guru Besar Tetap Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI; Dokter H. Armen Muchtar, Lektor Kepala Bagian Farmakologi FKUI; dan Drs. Umar Mansur, M.Sc., Lektor Jurusan Farmasi, Fakultas Matematik dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, yang telah meluangkan waktu untuk membaca dan membahas disertasi ini secara menyeluruh, saya menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya. Saran dan petunjuk mereka sangat berharga untuk menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Kepada Dokter Boenjamin Setiawan, Ph.D., saya menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus karena beliaulah yang pertama kali menggugah saya melakukan

penelitian untuk disertasi.

Saya sangat berhutang budi kepada Dr. Kan Chiba, Ph.D., dan Mr. Meizo Kusaka, B.S., masing-masing adalah Kepala dan staf *Clinical Pharmacology Division, Clinical Research Institute, Tokyo*, yang dengan penuh kesabaran telah mengajarkan keterampilan laboratorium untuk mengukur kadar obat dalam cairan biologis.

Saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada semua sukarelawan yang telah bersedia menjadi subyek penelitian saya. Tanpa bantuan mereka penelitian ini tidak pernah akan terwujud.

Ucapan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada sahabat saya Dra. Arini Setiawati Ph.D., yang telah menelaah seluruh disertasi ini dengan teliti dan memberi banyak saran perbaikan dalam penggunaan uji statistik. Demikian pula saya berterima kasih kepada Dra. Metta Sinta Sari Wiria yang telah memeriksa metode analitik disertasi ini. Rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada Dra. Yanti Mariana, Dra. Veronica Yusuf, Dra. Azalia Arif serta seluruh Staf Pengajar dan Karyawan Bagian Farmakologi FKUI atas segala bantuan dan pengertian yang mereka berikan pada saat penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Saya juga mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Balai Penerbit FKUI, khususnya Profesor Doktor Dokter Sahala Maringan Lumbantobing dan Dokter Hendra Utama, yang telah membantu pembiayaan dan penerbitan buku ringkasan disertasi saya.

Segala bantuan, bimbingan dan kebaikan orang-orang di sekitar saya telah menyadarkan saya bahwa sebenarnya tidak ada seorang ilmuwan pun di muka bumi ini yang mampu melakukan penelitian mandiri.

Sembah sujud saya sampaikan kepada kedua orangtua saya, Siswadi Setiabudy dan Diana Fatima (almarhumah), yang telah mendidik dan membesarkan saya dengan penuh kasih sayang. Tidak mungkin saya dapat membalas budi mereka.

Untuk kedua anak saya Kartika dan Kartono yang saya cintai, saya berterimakasih atas pengertian dan kesabaran mereka pada saat saya mengerjakan penelitian ini.

Akhirnya untuk isteri saya, Rahajuningsih, saya tidak dapat mengungkapkan dengan kata-kata, betapa besarnya kekaguman dan penghargaan saya untuk segala yang telah ia lakukan untuk mendorong dan membantu saya menyelesaikan disertasi ini.

Semoga Tuhan berkenan membalas segala kebaikan mereka yang membantu saya dalam penelitian dan penyelesaian disertasi ini.

Jakarta, 15 Juni 1993

Rianto Setiabudy

DAFTAR ISI

	Halaman
Persetujuan tim pembimbing	ii
Promotor dan ko-promotor	iii
Panitia penguji	iv
Ucapan terima kasih	v
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang penelitian	1
B. Masalah	5
C. Tujuan penelitian	11
D. Hipotesis	12
E. Manfaat penelitian	13
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	15
A. Konsep umum	15
B. Polimorfisme N-asetilasi	19
C. Polimorfisme oksidasi	27
1. Polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin	27
2. Polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin	35
D. Penentuan fenotip secara serentak	37
E. Metabolisme proguanil	37
E. Pilihan metode pengukuran kadar obat	39

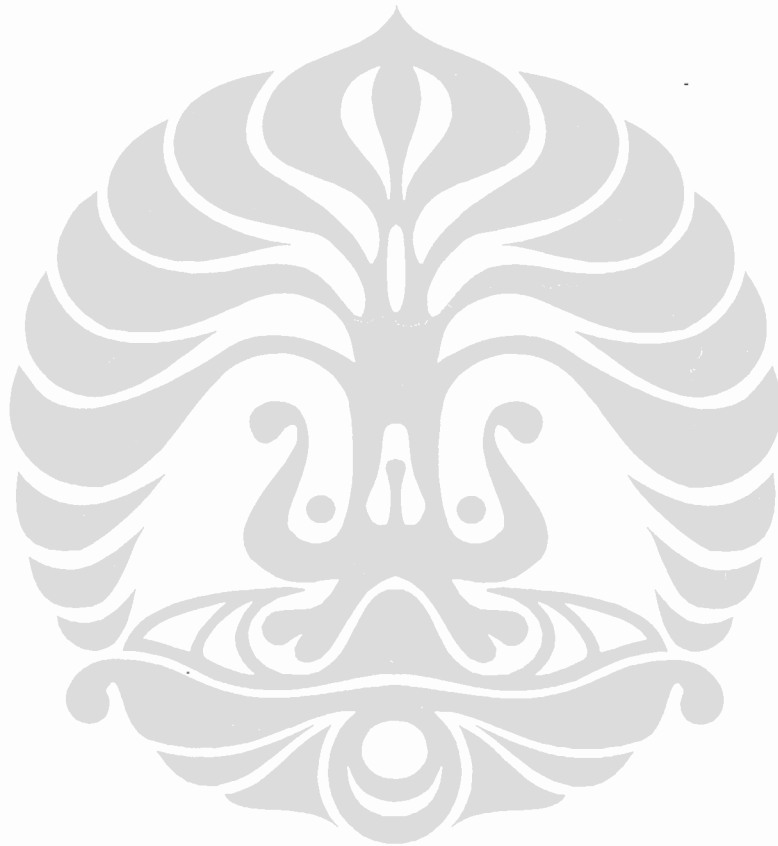
BAB III. METODE	42
A. Penahapan pelaksanaan penelitian	42
B. Subyek	43
1. Kriteria pengikutsertaan subyek.....	45
2. Kriteria penolakan	46
C. Pemberian obat dan pengambilan sampel darah/urin	47
1. Penelitian tahap I	47
2. Penelitian tahap II	49
3. Penelitian tahap III	49
D. Pengukuran kadar obat	50
1. Dapson dan monoasetildapson	50
2. Metoprolol dan α -hidroksimetoprolol	52
3. 4-hidroksimefenitoin	53
4. Proguanil dan sikloguanil	54
E. Uji validitas metode penentuan kadar	56
F. Perhitungan untuk menentukan kadar	58
G. Kriteria penentuan fenotip	62
H. Analisis statistik	63
 BAB IV. HASIL	 66
A. Uji metode penentuan kadar obat dan metabolit	66
1. Uji metode penentuan kadar dapson dan monoasetildapson ...	66
2. Uji metode penentuan kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol	68
3. Kromatogram penentuan kadar 4-hidroksimefenitoin	70
4. Uji metode penentuan kadar proguanil dan sikloguanil	70
B. Data umum sukarelawan	73
C. Hubungan antara penentuan fenotip secara sekuensial dan cara serentak	74
D. Frekuensi fenotip	78
1. N-asetilasi	78
2. Oksidasi jenis debrisokuin/spartein	82

3. Oksidasi jenis S-mefenitoin	82
E. Hubungan antara fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin dengan kemampuan memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil	86
BAB V. PEMBAHASAN	89
A. Uji penentuan kadar obat dan metabolit	89
1. Uji metode penentuan kadar dapson dan monoasetildapson ...	89
2. Uji metode penentuan kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol	90
3. Kromatogram penentuan kadar S-mefenitoin	91
4. Uji metode penentuan kadar proguanil dan sikloguanil	92
B. Hubungan antara penentuan fenotip cara terpisah dan cara serentak	94
1. N-asetilasi	94
2. Oksidasi jenis debrisokuin/spartein	98
3. Oksidasi jenis S-mefenitoin	103
C. Penentuan frekuensi fenotip N-asetilasi	107
D. Penentuan frekuensi fenotip oksidasi jenis debrisokuin	113
E. Penentuan frekuensi fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin	117
F. Hubungan antara fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin dengan kemampuan memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil	118
BAB VI. RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN.....	121
SUMMARY, CONCLUSIONS, AND SUGGESTIONS	131
DAFTAR RUJUKAN	140
LAMPIRAN	154
RIWAYAT HIDUP	233

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Obat dan senyawa di alam yang mengalami N-asetilasi polimorfik pada manusia	20
II.2 Frekuensi pemetabolisme lemah oksidasi jenis debrisoquin/spartein pada beberapa populasi	21
II.3 Frekuensi fenotip SA polimorfisme N-asetilasi pada populasi orang Indonesia	22
II.4 Frekuensi pemetabolisme lemah oksidasi jenis debrisoquin pada beberapa populasi	29
II.5 Obat yang metabolismenya mengalami kosegregasi dengan polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein	30
II.6 Frekuensi pemetabolisme lemah oksidasi jenis S-mefenitoin pada beberapa populasi	36
III.1 Contoh perhitungan kadar metoprolol dalam sampel urin dengan persamaan garis kurva standar	61
IV.1 Ketepatan rata-rata (\pm SD) pengukuran kadar DDS dan MADDs (%) dalam plasma	68
IV.2 Ketepatan rata-rata (\pm SD) pengukuran kadar ML dan HML (%) dalam urin	70
IV.3 Ketepatan rata-rata (\pm SD) pengukuran kadar PG dan CG (%) dalam urin	73
IV.4 Kemampuan metabolisme rata-rata (\pm SD) pada pemberian obat uji secara terpisah dan serentak	77
IV.5 Frekuensi fenotip polimorfisme metabolisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin	80

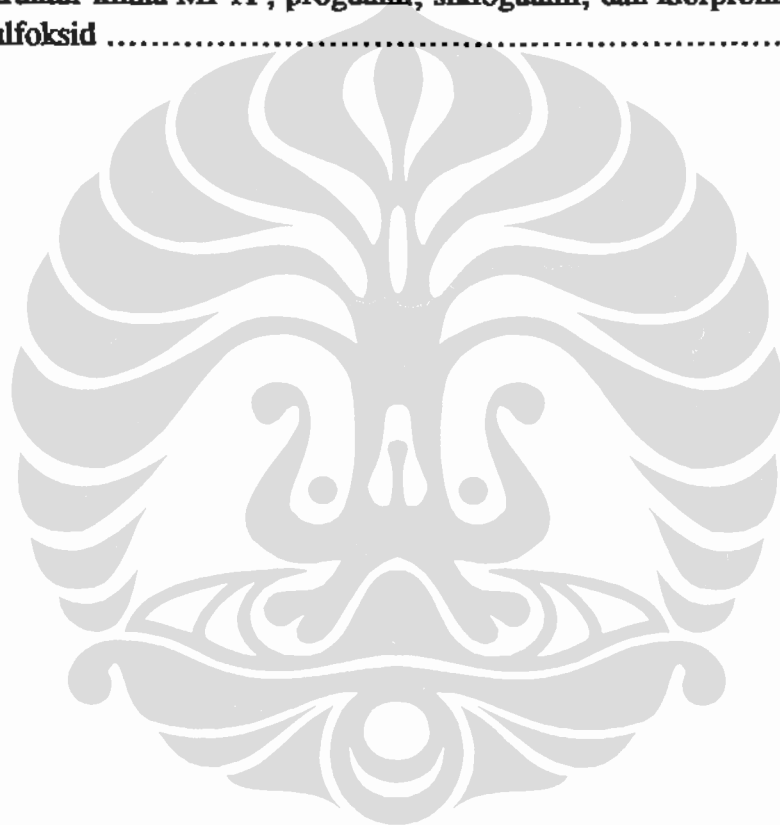
IV.6	Kemampuan metabolisme obat dari kedua fenotip pada polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin	81
V.1	Frekuensi fenotip asetilator lambat pada beberapa populasi Oriental	111
V.2	Hubungan antara tempat tinggal populasi dengan frekuensi alel q di pantai Asia yang menghadap samudera Pasifik	112



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
I.1. Frekuensi distribusi kemampuan metabolisme obat	2
II.1. Distribusi bimodal kadar isoniazid dalam darah	17
II.2. Kadar metoprolol pada EM dan PM oksidasi jenis debrisoquin	32
II.3. Struktur proguanil dan metabolitnya	38
III.1. Contoh kurva standar untuk penentuan kadar metoprolol dalam urin	62
IV.1. Kromatogram plasma kontrol dan plasma kontrol yang mengandung dapson, monoasetildapson, dan m-aminofenilsulfon	67
IV.2. Kromatogram urin kontrol dan urin kontrol yang mengandung metoprolol, hidroksimetoprolol, dan pindolol	69
IV.3. Kromatogram urin kontrol dan urin kontrol yang mengandung 4-hidroksimefenitoin dan 5-metil 5-fenil-hidantoin	71
IV.4. Kromatogram urin kontrol dan urin kontrol yang mengandung proguanil, sikloguanil, dan klorpromazin sulfoksid	72
IV.5. Korelasi antara rasio metabolik dapson dalam plasma setelah pemberian dapson saja dan dapson dalam kombinasi	75
IV.6. Korelasi antara log rasio metabolik metoprolol dalam urin setelah pemberian metoprolol saja dan metoprolol dalam kombinasi	76
IV.7. Korelasi antara log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin setelah pemberian metoprolol saja dan metoprolol dalam kombinasi ...	79
IV.8. Distribusi frekuensi rasio metabolik dapson dalam plasma	83
IV.9. Plot probit rasio metabolik dapson dalam plasma	83
IV.10. Distribusi frekuensi log rasio metabolik metoprolol dalam urin 8 jam	84

Gambar	Halaman
IV.11 Plot probit rasio metabolik metoprolol dalam urin 8 jam	84
IV.12 Distribusi frekuensi log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin 8 jam	85
IV.13 Plot probit log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin 8 jam	86
IV.14 Rasio proguanil/sikloguanil pada EM dan PM oksidasi jenis S-mefenitoin	87
V.1 Struktur kimia MPTP, proguanil, sikloguanil, dan klorpromazin sulfoksid	93



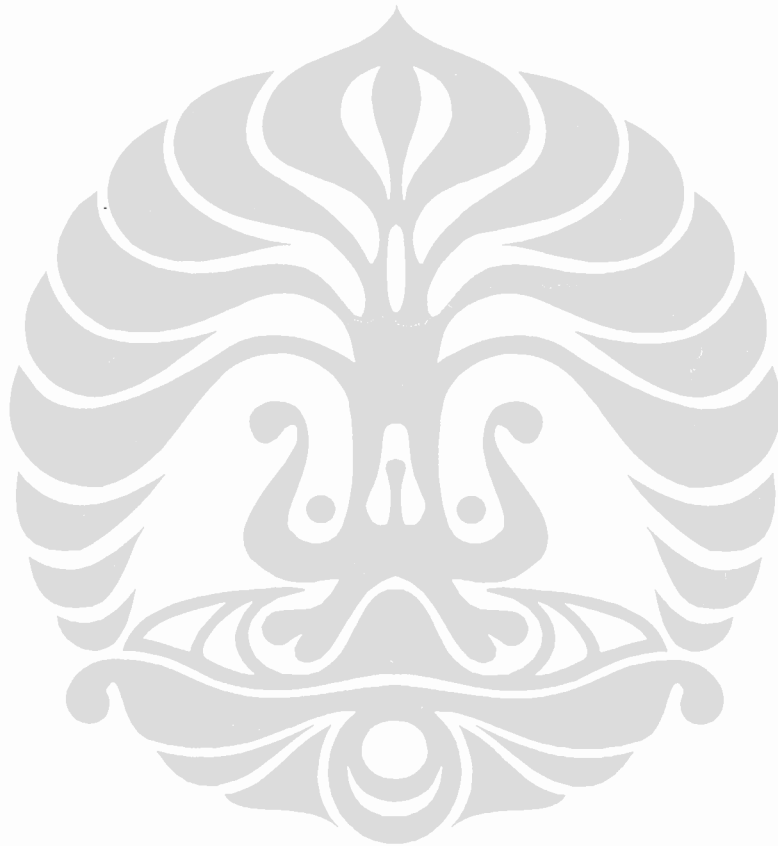
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Bagan metode penentuan kadar dapson dan monoasetildapson dalam plasma	154
B Bagan metode penentuan kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol dalam urin	156
C Bagan metode penentuan kadar hidroksimefenitoin dalam urin	158
D Bagan metode penentuan kadar proguanil dan sikloguanil dalam urin	161
E Uji temu kembali DDS, MADDS, dan mAPS dalam plasma	163
F Uji ketepatan pengukuran kadar dapson dalam plasma dalam sehari	164
G Uji ketepatan pengukuran kadar dapson dalam plasma dari hari ke hari	165
H Uji ketepatan pengukuran kadar MADDS dalam plasma dalam sehari	166
I Uji ketepatan pengukuran kadar MADDS dalam plasma dari hari ke hari	167
J Faktor persamaan garis kurva standar DDS dan MADDS	168
K Uji temu kembali ML, HML, dan PIN dalam urin	169
L Uji ketepatan pengukuran kadar metoprolol dalam urin dalam sehari	170
M Uji ketepatan pengukuran kadar metoprolol dalam urin dari hari ke hari	171
N Uji ketepatan pengukuran kadar hidroksimetoprolol dalam urin dalam sehari	172
O Uji ketepatan pengukuran kadar hidroksimetoprolol dalam urin dari hari ke hari	173
P Faktor persamaan garis kurva standar metoprolol dan hidroksimetoprolol	174
Q Uji temu kembali proguanil, sikloguanil, dan klorpromazin sulfoksid dalam urin	175
R Uji ketepatan pengukuran kadar proguanil dalam urin dalam sehari	176

S	Uji ketepatan pengukuran kadar proguanil dalam urin dari hari ke hari	176
T	Uji ketepatan pengukuran kadar sikloguanil dalam urin dalam sehari	177
U	Uji ketepatan pengukuran kadar sikloguanil dalam urin dari hari ke hari	177
V	Faktor persamaan garis kurva standar proguanil dan sikloguanil	178
W	Data umum 104 subyek penelitian	179
X	Data pemeriksaan faal hati dan ginjal pada 83 sukarelawan	182
Y	Kadar dapson dan monoasetildapson serta rasio metaboliknya setelah pemberian dapson saja	185
Z	Kadar dapson dan monoasetildapson serta rasio metaboliknya setelah pemberian dapson dalam kombinasi	186
AA	Rasio metabolik dapson dalam plasma dan kesesuaian fenotip setelah pemberian DDS saja dan DDS dalam kombinasi pada 30 subyek dengan kriteria Reidenberg	187
AB	Paired t-test untuk rasio metabolik dapson setelah pemberian dapson saja dan dapson dalam kombinasi	189
AC	Rasio metabolik dapson dalam plasma dan kesesuaian fenotip setelah pemberian DDS saja dan DDS dalam kombinasi dengan menggunakan antimode pada MR 0,38	190
AD	Kadar ML dan HML serta rasio metaboliknya setelah pemberian ML saja	191
AE	Kadar metoprolol dan hidrosimetoprolol serta rasio metaboliknya setelah pemberian metoprolol dalam kombinasi	192
AF	Log rasio metabolik metoprolol dalam urin dan kesesuaian fenotip setelah pemberian ML saja dan ML dalam kombinasi	193
AG	Paired t-test untuk log MR dalam urin setelah pemberian MLA dan MLC	194
AH	Persentasi ekskresi HMN dalam urin 8 jam dan kesesuaian fenotip setelah pemberian 50 mg MN rasemat saja dan 100 mg MN rasemat saja	195

AI Kolmogorov-Smirnov's goodness-of-fit test untuk distribusi % ekskresi hidroksimefenitoin setelah pemberian 50 mg dan 100 mg mefenitoin rasemat	196
AJ Paired t-test untuk % ekskresi HMN dalam urin 8 jam setelah pemberian MN rasemat 50 dan 100 mg	198
AK Kadar dan log % ekskresi HMN dalam urin 8 jam setelah pemberian mefenitoin rasemat saja	199
AL Kadar dan log % ekskresi HMN dalam urin 8 jam setelah pemberian mefenitoin rasemat dalam kombinasi	200
AM Log % ekskresi HMN dalam urin 8 jam dan kesesuaian fenotip setelah pemberian MN rasemat saja dan MN rasemat dalam kombinasi	201
AN Paired t-test untuk % ekskresi HMN dalam urin 8 jam setelah pemberian MN rasemat saja dan MN rasemat dalam kombinasi	202
AO Fenotip N-asetilasi pada 104 subyek	203
AP Analisis probit rasio metabolik dapson	206
AQ Fenotip oksidasi metoprolol pada 104 subyek	209
AR Analisis probit log rasio metabolik metoprolol dalam urin 8 jam	212
AS Log % HMN dalam urin 8 jam setelah pemberian mefenitoin rasemat dalam kombinasi	215
AT Analisis probit log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin 8 jam	218
AU Rasio PG/CG dalam urin 12 jam pada 14 EM dan 10 PM oksidasi jenis S-mefenitoin	221
AV Kolmogorov-Smirnov's goodness-of-fit test untuk rasio PG/CG pada kelompok EM dan PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin	222
AW Kolmogorov-Smirnov's goodness-of-fit test untuk rasio log PG/CG pada kelompok EM dan PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin	224
AX Unpaired t-test untuk rasio PG/CG dalam urin 8 jam pada kelompok EM dan PM oksidasi jenis S-mefenitoin	225

AY Uji perbedaan varians log rasio metabolik ML setelah pemberian ML saja pada 30 subyek dan ML dalam kombinasi pada 104 subyek	226
AZ Unpaired t-test log rasio metabolik ML setelah pemberian ML saja pada 30 subyek dan ML dalam kombinasi pada 104 subyek	229
BA Uji Chi-square klasifikasi tunggal frekuensi genotip N-asetilasi	232



DAFTAR SINGKATAN

CG	'cycloguanil', sikloguanil
CPS	'chlorpromazine sulfoxide', klorpromazin sulfoksid
DDS	4,4' diaminodifenilsulfon = dapson
DMSO	dimetilsulfoksid
EM	'extensive metaboliser', pemetabolisme ekstensif
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> , dan kawan-kawan
FID	'flame ionization detector'
g	gram gravitasi
HI	'hydroxylation index', indeks hidroksilasi
HML	α -hidroksimetoprolol
HMN	4-hidroksimefenitoin
IA	'indeterminate acetylator'
INH	isoniazid
IS	'internal standard', standar dalam
KCKT	kromatografi cair kinerja tinggi, 'high performance liquid chromatography, HPLC'
kb	kilobase
kg	kilogram
KV	koefisien variasi
l	liter
log	logaritma
M	mol
mAPS	'm-aminophenylsulfon', m-aminofenilsulfon
MADDS	monoasetil dapson
mg	miligram
min	menit
ml	mililiter

ML	metoprolol
mm	milimeter
mM	milimol
MN	mefenitoin
MPH	'5-methyl 5-phenylhydantoin', 5-metil 5-fenilhidantoin
N	'number', jumlah (subyek, eksperimen, dan lain-lain)
ng	nanogram
nm	nanometer
PG	proguanil
PH	'peak height', tinggi puncak
PHR	'peak height ratio', rasio tinggi puncak
PIN	pindolol
PM	'poor metaboliser', pemetabolisme lemah
PTFE	politetrafluoroetilen
RA	'rapid acetylator', asetilator cepat
rpm	'rotary per minute', putaran per menit
SA	'slow acetylator', asetilator lambat
SD	'standard deviation', deviasi standar
RT	'retention time', waktu retensi
S-MN	S-enantiomer dari mefenitoin
t.b.b.	tidak berbeda bermakna
v	volume
μg	mikrogram
μl	mikroliter
μm	mikrometer

BAB I

PENDAHULUAN

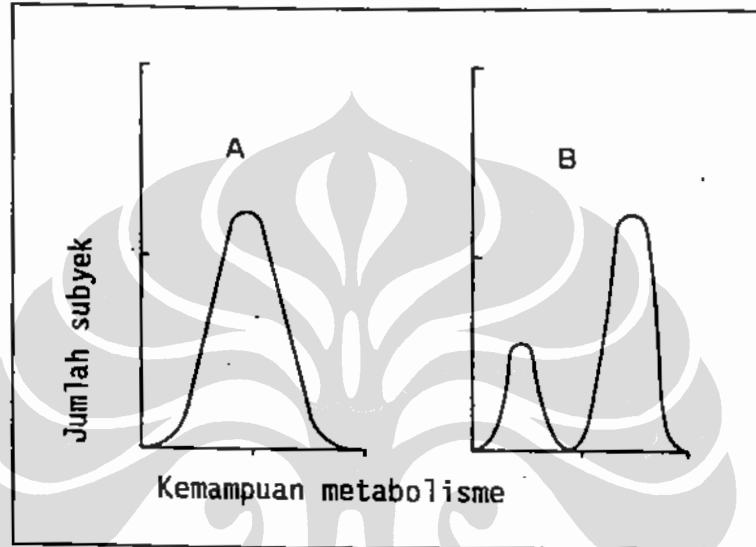
A. Latar belakang penelitian

Salah satu masalah penggunaan obat yang dihadapi dokter di klinik ialah ketidakseragaman respons yang diperlihatkan penderita terhadap pemberian obat. Obat dengan jenis dan dosis yang sama bila diberikan pada sekelompok penderita dengan jenis dan berat penyakit yang sama biasanya hanya memberikan efek terapi pada sebagian penderita saja. Penderita lainnya mungkin tidak memperlihatkan efek sama sekali atau mengalami efek toksik.

Variasi respons ini bukan hanya terjadi antar individu, tetapi juga terjadi antar populasi dan antar etnik (Wood & Zhou, 1991; Darmansjah & Muchtar, 1992). Dewasa ini diketahui bahwa salah satu faktor penting yang menyebabkan terjadinya fenomena tersebut di atas ialah adanya perbedaan kemampuan antar-individu dalam memetabolisme obat, yang mengakibatkan terjadinya perbedaan besar pada kadar obat 'steady state' dalam plasma antar individu (Vesell, 1977; Vesell, 1984a; Sjöqvist *et al.*, 1987).

Variasi respons obat yang besar antar-individu merupakan paduan pengaruh faktor genetik dan lingkungan (penyakit, polusi, nutrisi, dll). Menurut Vesell (1977), faktor genetik mempunyai pengaruh yang lebih besar dari faktor lingkungan. Faktor genetik ini dapat dikendalikan oleh gen tunggal (monogenik) atau banyak gen

(poligenik). Kemampuan individu untuk memetabolisme kebanyakan obat dikendalikan oleh banyak gen bersamaan yang menghasilkan berbagai sitokrom P450 serta enzim lainnya sehingga penyebaran kecepatan metabolisemenya dalam suatu populasi hanya membentuk satu modus (unimodal) (Gambar I.1)



Gambar I.1. Frekuensi distribusi kemampuan metabolisme obat dari berbagai individu dalam suatu populasi terhadap obat tertentu. A dan B masing-masing adalah distribusi unimodal dan bimodal.

Metabolisme obat-obat tertentu seperti isoniazid, debrisoquin, S-mefenitoin dan beberapa obat lainnya dikendalikan oleh gen tunggal. Bila dibuat sebaran frekuensi kecepatan metabolisme obat-obat ini dari suatu populasi, akan diperoleh ciri yang khas yaitu adanya distribusi dengan dua modus (bimodal). Modus yang satu menggambarkan sebaran 'rapid acetylator' (RA) atau 'extensive metabolizer' (EM), sedangkan modus lainnya menggambarkan sebaran 'slow acetylator' (SA) atau 'poor

metabolizer' (PM). Pada umumnya SA dan PM merupakan kelompok dalam populasi yang cenderung mengalami efek samping karena lambat mengasetilasi atau mengoksidasi obat-obat tertentu sehingga kadar obat asli ('parent drug') meningkat dan bertahan lama dalam tubuh. Dalam beberapa keadaan tertentu, dapat juga terjadi hal sebaliknya yaitu PM merupakan kelompok yang lebih 'beruntung' dibandingkan dengan kelompok EM. Ayesh *et al.* (1984) misalnya, melaporkan bahwa pada sekelompok penderita kanker paru di Inggris dijumpai frekuensi EM yang lebih tinggi dari kelompok kontrol.

Oleh karena distribusi kemampuan metabolisme obat yang dikendalikan oleh gen tunggal menghasilkan dua (terkadang tiga) modus maka fenomena ini disebut juga polimorfisme genetik. Kemampuan metabolisme ini merupakan sesuatu yang dapat diukur/diamati dari luar. Karena itu status EM, PM, RA dan SA disebut fenotip. Istilah RA dan SA digunakan untuk polimorfisme genetik jenis N-asetilasi, sedangkan EM dan PM digunakan untuk oksidasi jenis debrisoquin dan S-mefenitoin.

Penemuan polimorfisme genetik dalam N-asetilasi isoniazid (Evans *et al.*, 1960) dan oksidasi (hidroksilasi) debrisoquin (Mahgoub *et al.*, 1977) telah memungkinkan penelitian yang lebih mendalam untuk memahami pengaruh faktor genetik dalam metabolisme obat.

Polimorfisme N-asetilasi mempengaruhi metabolisme beberapa obat yang sering digunakan di klinik, antara lain isoniazid, prokainamid, hidralazin, dapson, fenelzin, serta beberapa arilamin yang bersifat karsinogenik (Horai & Ishizaki, 1987). Frekuensi sebaran SA dan RA sangat bervariasi antar etnis. Sebagian besar orang Timur (Oriental) tergolong RA, sebaliknya sebagian besar orang Barat (Kaukasia) adalah SA (Ishizaki, 1991).

Penemuan polimorfisme lain jenis oksidasi (hidroksilasi) debrisoquin (Mahgoub

et al., 1977) serta spartein (Eichelbaum *et al.*, 1979) merupakan langkah besar dalam penelitian metabolisme obat. Subyek PM mempunyai kapasitas yang sangat rendah untuk memetabolisme obat ini (Eichelbaum, 1984). Enzim yang mengoksidasi kedua obat ini ternyata juga mempengaruhi berbagai obat kardiovaskuler dan antidepresi yang sering digunakan di klinik, yaitu antara lain metoprolol, flekainid, nortriptilin, dan perfenazin (Brøsen & Gram, 1989). Variasi frekuensi PM antar populasi juga terlibat di sini. Frekuensi PM pada populasi Jepang adalah 0,5% (Horai *et al.*, 1989a), sedangkan pada orang Kaukasia bervariasi antara 3-10% (Wood & Zhou, 1991).

Mefenitoin mengalami polimorfisme oksidasi yang jenisnya lain dari oksidasi debrisoquin/spartein (Küpfér & Preizig, 1984). PM mefenitoin kurang atau tidak memiliki suatu isozim P-450 yang berafinitas tinggi dengan S-mefenitoin dan mengoksidasi obat tersebut menjadi 4-hidroksimefenitoin. Enantiomernya, R-mefenitoin, mengalami demetilasi menjadi feniletihidantoin (Küpfér *et al.*, 1981) dan tidak mengalami polimorfisme oksidasi. Dewasa ini ada beberapa obat yang diketahui mengalami kosegregasi metabolisme (metabolisme dengan jalur yang sama) dengan S-mefenitoin, yaitu antara lain imipramin (Skjelbo *et al.*, 1991), diazepam (Sohn *et al.*, 1992), dan omeprazol (Andersson *et al.*, 1990). Frekuensi PM pada orang Kaukasia ialah 3-5% (Wedlund *et al.*, 1984), namun pada populasi orang Jepang mencapai 22,5% (Horai *et al.*, 1989a). Frekuensi PM pada populasi orang Cina ialah 13% (Jurima *et al.*, 1985).

Masih ada beberapa obat yang diketahui metabolismenya dipengaruhi faktor genetik yaitu sulfoksidasi S-karboksimetilsistein (Mitchell *et al.*, 1984), hidroksilasi tolbutamid (Scott & Poffenberger, 1979) dan hidroksilasi fenitoin (Inaba, 1990), namun yang paling banyak diteliti ialah N-asetilasi, oksidasi jenis

debrisokuin/spartein, dan oksidasi jenis S-mefenitoin karena banyak terjadi kosegregasi metabolisme dengan obat-obat yang dipakai di klinik.

Dari pembahasan di atas terlihat ada dua aspek penting dalam penelitian farmakogenetik yaitu:

1. Penetapan frekuensi fenotip polimorfisme metabolisme obat pada berbagai populasi.
2. Mengetahui sampai di mana dampak kliniknya (misalnya kosegrasi metabolisme dengan berbagai obat lain).

B. Masalah

Penelitian ini akan difokuskan pada dua masalah penting dalam bidang polimorfisme metabolisme obat yang berkaitan dengan masalah kesehatan di Indonesia. Yang pertama ialah masalah penentuan frekuensi fenotip dan yang kedua ialah masalah aplikasi hasil penentuan fenotip itu. Namun untuk memecahkan masalah yang pertama, ada masalah lain yang tidak kalah pentingnya yaitu upaya penyederhanaan metode penentuan fenotip.

1. Masalah penentuan frekuensi fenotip

Penentuan frekuensi fenotip dalam polimorfisme metabolisme obat (terutama N-asetilasi, oksidasi jenis debrisokuin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin) mempunyai makna penting untuk meningkatkan penggunaan obat yang rasional karena dapat memberi gambaran berapa banyak individu dalam suatu populasi yang mungkin mengalami dampak negatif akibat kekurangmampuan mereka memetabolisme obat

tertentu. Bagi Indonesia yang mempunyai populasi sekitar 180 juta jiwa (urutan ke lima dalam kelompok negara yang penduduknya paling banyak di dunia), data ini menjadi lebih berarti lagi karena frekuensi SA atau PM yang hanya beberapa persen saja sudah berarti beberapa juta individu yang mungkin mengalami efek samping obat akibat polimorfisme metabolisme obat ini.

Oleh karena frekuensi fenotip ini seringkali berbeda antar berbagai populasi, maka data ini harus diperoleh dari penelitian pada orang Indonesia sendiri. Namun hingga kini data yang berdasarkan penelitian pada orang Indonesia masih belum konklusif dan belum lengkap.

Penentuan fenotip polimorfisme N-asetilasi telah dirintis oleh beberapa peneliti di Indonesia. Subarto *et al.* (1975), Suhardjono & Santoso (1981), dan Muchtar *et al.* (1981) yang menggunakan parameter % asetil-INH dalam urin (metode Eidus *et al.*, 1973) menemukan frekuensi SA masing-masing 47,5%, 69,6%, dan 39,0%. Namun Zaeni & Peetosutan (1975) yang menggunakan parameter kadar isoniazid dalam serum melaporkan bahwa frekuensi SA hanya 23%. Dengan adanya hasil yang belum seragam ini, tentu diperlukan lebih banyak lagi penelitian dalam bidang ini agar dapat ditarik kesimpulan yang lebih pasti.

Untuk frekuensi fenotip polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin, hingga kini di Indonesia hanya ada satu penelitian yaitu yang dikerjakan oleh Salim *et al.* (1988) di mana dilaporkan bahwa frekuensi PM untuk oksidasi jenis ini adalah 7,8%. Angka ini cukup menarik perhatian karena lebih sesuai dengan data yang didapatkan pada ras Kaukasia (5-10%) (Brøsen, 1990) dari pada populasi di Jepang (0,5%) dan Cina (0%) (Horai *et al.*, 1989a) atau Korea (0,5%) (Sohn *et al.*, 1991) yang merupakan sesama orang Asia. Karena polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin berkosegregasi dengan metabolisme beberapa obat kardiovaskuler (misalnya enkaainid, metoprolol,

alprenolol) dan psikotropik (misalnya amitriptilin, klomipramin, nortriptilin), maka data yang dikemukakan oleh Salim *et al.* tersebut perlu sekali mendapat sokongan/konfirmasi dari penelitian-penelitian lain.

Hingga tahun 1993 ini sama sekali belum ada laporan tentang penelitian polimorfisme oksidasi S-mefenitoin pada orang Indonesia, padahal beberapa obat yang penting di klinik (misalnya diazepam, omeprazol, imipramin) mengalami kosegregasi metabolisme dengan obat ini.

Dari uraian di atas jelas bahwa data fenotip polimorfisme metabolisme obat sangat diperlukan untuk populasi orang Indonesia, namun yang ada pada saat ini belum konklusif dan belum lengkap.

Permasalahan pertama ini dapat dirumuskan dalam bentuk pertanyaan sebagai berikut:

Berapa besar frekuensi SA dan RA untuk polimorfisme N-asetilasi serta frekuensi EM dan PM untuk polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein dan oksidasi jenis mefenitoin pada populasi orang Indonesia?

2. Masalah aplikasi hasil penentuan fenotip

Masalah penting yang berkaitan dengan polimorfisme metabolisme obat ialah mengungkapkan sampai di mana dampak kliniknya. Penelitian dalam bidang ini luas sekali karena mencakup segala upaya untuk membuktikan adanya hubungan antara fenotip jenis polimorfisme tertentu dengan:

- a. biotransformasi obat lain pada manusia yang dikendalikan oleh enzim yang sama (kosegregasi metabolisme *in vivo*).
- b. kegagalan terapi atau timbulnya efek toksik pada penggunaan obat-obat tertentu di klinik.

- c. insidens penyakit-penyakit tertentu (misalnya 'systemic lupus erythematosus', karsinoma kandung kemih, karsinoma paru-paru, dan penyakit Parkinson).

Untuk Indonesia, masalah aplikasi penentuan fenotip ini akan lebih relevan bila diarahkan ke salah satu masalah kesehatan di sini. Indonesia termasuk salah satu negara endemik malaria. Proguanil merupakan salah satu obat yang potensial digunakan untuk profilaksis terhadap malaria (biasanya dikombinasi dengan klorokuin) karena tergolong obat yang aman (Eriksson *et al.*, 1991) dan efektif (Fogh *et al.*, 1988).

Pada saat ini proguanil memang bukan merupakan obat yang lazim digunakan untuk pencegahan malaria di Indonesia. Namun dengan berkembangnya resistensi parasit malaria terhadap klorokuin di beberapa daerah sekarang diperlukan adanya obat-obat profilaksis alternatif.

Akhir-akhir ini ada petunjuk kuat untuk menduga bahwa polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin juga mempengaruhi metabolisme proguanil, suatu bakal obat ('prodrug') yang dalam tubuh manusia dimetabolisme menjadi sikloguanil yang efektif untuk mencegah malaria.

Helsby *et al.* (1990a) melaporkan bahwa 3% dari suatu populasi Kaukasia kurang mampu memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil. Penelitian lain dengan menggunakan mikrosom hati manusia memperlihatkan bahwa secara *in vitro* enzim yang mengoksidasi S-mefenitoin berperan untuk mengubah proguanil menjadi sikloguanil (Helsby *et al.*, 1990b).

Penemuan *in vitro* ini perlu dikonfirmasi dengan penelitian *in vivo* sebelum dapat disimpulkan mempunyai dampak klinik karena kadang-kadang penelitian *in vitro* dan *in vivo* memberikan hasil yang berbeda. Sebagai contoh, pada penelitian *in vitro* diamati bahwa kuinin merupakan penghambat bersaing yang kuat terhadap oksidasi

debrisokuin (Inaba *et al.*, 1985), namun penelitian pada manusia membuktikan bahwa farmakokinetik kuinin tidak berkaitan dengan fenotip oksidasi jenis debrisokuin (Wanwimolruk & Chalcraft, 1991). Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dicoba membuktikan bahwa kemampuan individu untuk memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil tergantung dari fenotipnya untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin.

Dengan demikian penelitian ini selain turut membantu mengungkapkan dampak klinik polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin juga membantu menilai (dari segi metabolisme obat) apakah proguanil mempunyai potensi yang baik sebagai obat profilaksis malaria untuk populasi orang Indonesia.

Permasalahan kedua ini dapat dirumuskan dalam pertanyaan sebagai berikut:

Apakah individu dengan fenotip EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin berbeda kemampuannya dari fenotip PM untuk memetabolisme proguanil ('prodrug' yang tidak aktif) menjadi sikloguanil (metabolit aktif) ?

3. Masalah penyederhanaan metode

Secara konvensional pemberian obat uji, pengambilan contoh darah, dan pengumpulan sampel urin untuk penentuan fenotip ketiga jenis polimorfisme ini harus dikerjakan secara terpisah (sekuensial) dengan setiap kali memberi interval satu minggu di antara 2 penentuan. Untuk meneliti 3 jenis polimorfisme metabolisme obat dengan jumlah subyek yang cukup besar, cara konvensional ini membutuhkan biaya yang lebih besar dan kurang praktis karena akan menghabiskan waktu sekitar 1 bulan hanya untuk pengambilan darah dan pengumpulan urin saja. Selain itu akan sulit mencari sukarelawan dalam jumlah yang cukup karena mereka enggan kehilangan terlalu banyak waktu kerja. Kepatuhan subyek untuk mematuhi protokol penelitian (yang mencakup jadwal waktu menelan obat, makan, minum, pengumpulan urin, dll.)

juga dikhawatirkan akan menurun bila cara konvensional diterapkan.

Untuk memecahkan masalah ini dipikirkan untuk memberi ketiga obat uji secara serentak (dalam kombinasi). Ada dasar yang cukup kuat untuk menduga bahwa pemberian obat uji secara serentak akan memberikan hasil yang sama dengan cara terpisah. N-asetilasi dikendalikan oleh N-asetiltransferase, suatu enzim yang berfungsi menambah satu gugus asetil pada substratnya (Evans & White, 1964). Enzim ini terdapat dalam sitosol dan tidak termasuk dalam kelompok sitokrom P450. Oksidasi jenis debrisoquin dan S-mefenitoin dikendalikan oleh 2 jenis enzim yang termasuk dalam kelompok sitokrom P450, namun kedua enzim ini saling tidak mempengaruhi secara *in vitro* (Jurima *et al.*, 1984) maupun *in vivo* (Sanz *et al.*, 1989). Sebelum ini Sanz *et al.* (1989) telah membuktikan bahwa penentuan fenotip secara serentak antara 2 obat uji (S-mefenitoin dan debrisoquin) memberikan hasil yang sama dengan penentuan terpisah. Siegmund *et al.* (1990) juga telah memberikan secara serentak 2 obat uji (debrisoquin dan sulfametazin), tetapi tidak membuktikan kesahihan metodenya.

Agar penentuan fenotip secara serentak dengan 3 obat uji ini sah dipakai untuk seluruh penelitian maka harus dibuktikan lebih dahulu bahwa hasilnya sama dengan cara penentuan fenotip secara terpisah.

Permasalahan ketiga ini dapat dirumuskan dalam pertanyaan sebagai berikut:

Apakah penentuan fenotip secara serentak untuk ketiga jenis polimorfisme metabolisme obat tersebut (N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin) memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan hasil penentuan fenotip secara terpisah?

Ketiga masalah ini harus dipecahkan dengan tahapan sebagai berikut:

Bagian I. Penyederhanaan metode

Bagian II. Penentuan frekuensi fenotip

Bagian III. Aplikasi hasil penentuan fenotip

C. Tujuan penelitian

Sesuai dengan masalah yang diuraikan di atas, tujuan penelitian ini dibagi menjadi tiga bagian, yaitu:

- I. Membuktikan bahwa penentuan fenotip secara serentak untuk polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin akan memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip secara terpisah.
- II.1. Mengetahui frekuensi fenotip RA dan SA N-asetilasi pada suatu populasi orang Indonesia.
 2. Mengetahui frekuensi fenotip EM dan PM oksidasi jenis debrisoquin/spartein pada suatu populasi orang Indonesia.
 3. Mengetahui frekuensi fenotip EM dan PM oksidasi jenis S-mefenitoin pada suatu populasi orang Indonesia.
- III. Membuktikan bahwa individu dengan fenotip EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dibandingkan dengan individu dengan fenotip PM untuk memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil.

Perlu dijelaskan di sini bahwa tujuan penelitian II.1 sampai dengan II.3 dikerjakan pada suatu populasi orang Indonesia yang tinggal di Jakarta (bagian terbesar adalah dari ras Melayu), jadi bukan sampel acak yang mewakili seluruh populasi orang Indonesia. Dengan demikian hasil penelitian ini tidak dapat diekstrapolasikan untuk

orang Indonesia dari ras Melanesia.

D. Hipotesis

I. Untuk penelitian bagian I dibuat hipotesis sebagai berikut:

- I.1. Penentuan fenotip polimorfisme N-asetilasi secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip N-asetilasi secara terpisah.*
- I.2. Penentuan fenotip polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin secara terpisah.*
- I.3. Penentuan fenotip polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin secara terpisah.*

Hipotesis I.1 s/d I.3 diterima bila kedua kriteria berikut dipenuhi:

1. Dengan penentuan fenotip cara serentak, tidak ada subyek yang mengalami perubahan fenotip dibandingkan dengan cara terpisah.
2. Parameter yang menggambarkan kemampuan metabolisme (yaitu rasio metabolik dapson untuk N-asetilasi, log rasio metabolik metoprolol untuk oksidasi jenis debrisoquin, dan log % ekskresi hidrosimefenitoin untuk oksidasi jenis S-mefenitoin) dari kedua cara penentuan itu tidak berbeda bermakna.

II. Untuk tujuan penelitian bagian II tidak dibuat hipotesis karena penelitian demikian ini selalu bersifat deskriptif. Walaupun hasil penelitian kemudian akan dibahas dan dibandingkan dengan data populasi lain yang telah dipublikasi, tidak akan dilakukan

uji statistik karena penggunaan 'historical controls' tidak dapat menjamin kesahihan pengujian tersebut. Selain itu dalam kepustakaan, pengujian statistik (yang bersifat analitik) untuk penelitian seperti ini tidak lazim dikerjakan.

III. Untuk penelitian bagian III dibuat hipotesis sebagai berikut:

Individu dengan fenotip EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dari individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil.

Hipotesis ini diterima bila subyek dengan fenotip EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dari subyek dengan fenotip PM dalam memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil.

E. Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan memberi manfaat sebagai berikut:

Penelitian bagian I:

Penelitian ini akan dapat memastikan apakah penentuan fenotip secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan cara konvensional. Bila ternyata penentuan fenotip secara serentak dapat memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna, maka hasil ini bukan saja akan memudahkan pelaksanaan penelitian ini, tetapi juga dapat bermanfaat bagi peneliti lain yang akan melakukan penentuan fenotip polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin pada populasi lain.

Penelitian bagian II.1 sampai dengan II.3:

Memberikan data yang dapat menunjukkan besarnya pengaruh faktor genetik dalam mempengaruhi respons pemberian berbagai obat yang mengalami polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin/spartein, serta oksidasi jenis S-mefenitoin pada suatu populasi orang Indonesia (yang diasumsikan mempunyai banyak persamaan dengan kebanyakan orang Indonesia lainnya dari ras Melayu). Hasil penelitian ini juga akan memberikan gambaran berapa besarnya anggota kelompok masyarakat yang cenderung mengalami dampak negatif (misalnya intoksikasi, kegagalan pengobatan, dll.) akibat polimorfisme genetik dalam metabolisme obat-obat tersebut di atas.

Penelitian bagian III:

Selain turut membantu mengungkapkan sampai di mana dampak klinik polimorfisme oksidasi S-mefenitoin, studi ini juga turut memberi dasar ilmiah penggunaan proguanil sebagai obat alternatif pencegahan malaria bagi populasi orang Indonesia dari ras Melayu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Konsep umum

Farmakogenetik adalah cabang ilmu farmakologi klinik yang mempelajari variasi respons obat yang ditimbulkan oleh faktor genetik. Peranan faktor genetik dalam efek samping obat pertama kali dikemukakan oleh Motulsky (1957) yang mempersoalkan hubungan antara efek samping, enzim dan faktor genetik. Selama tiga dekade terakhir ini ada lebih dari 100 artikel yang mempermasalahkan hubungan antara intensitas efek obat dengan faktor genetik (Nebert, 1981; Vesell, 1984b; Meyer, 1992).

Dalam garis besarnya penelitian farmakogenetik bertujuan untuk (1) mengenali masalah variasi respons obat yang disebabkan oleh faktor genetik, (2) mengetahui mekanisme pada tingkat molekuler yang menimbulkan variasi ini, (3) mengetahui seberapa besar dampak klinisnya, dan (4) mengembangkan metode sederhana untuk mengenali individu yang peka sebelum suatu obat tertentu diberikan kepadanya (Meyer, 1992).

Kebanyakan obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami reaksi enzimatik di berbagai organ tubuh. Ini merupakan mekanisme alamiah untuk mengubah obat tersebut (dengan reaksi oksidasi, reduksi, hidrolisis dan/atau konyugasi) menjadi

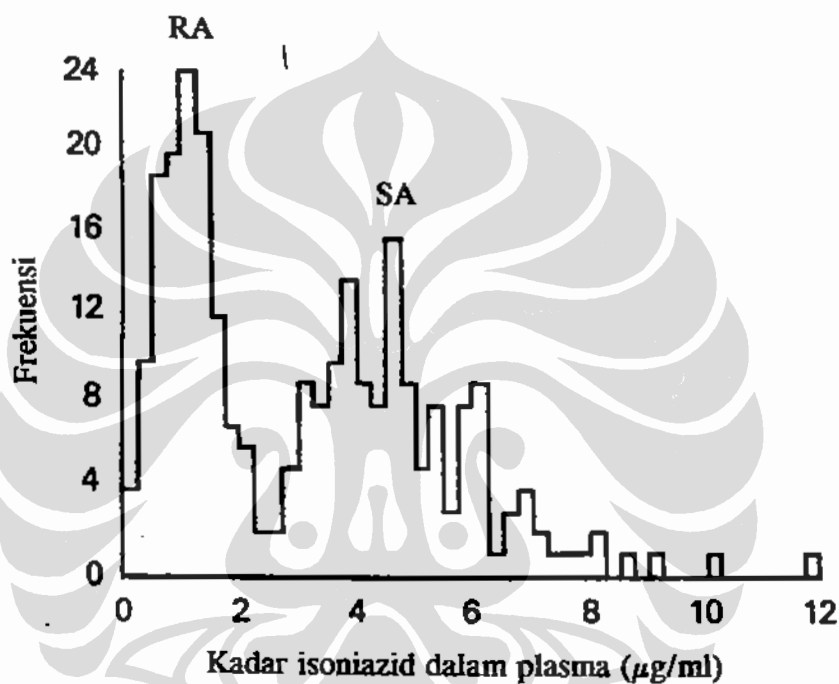
bentuk yang lebih polar sehingga dapat dikeluarkan dari tubuh. Kelompok enzim hati yang sangat berperan dalam reaksi oksidasi adalah sitokrom P450.

Obat juga berikatan dengan protein plasma dan protein jaringan, menembus membran sel dan kemudian menduduki reseptor dan menghasilkan efek farmakodinamik. Semua proses ini menggambarkan bahwa selama ada dalam tubuh, obat senantiasa berinteraksi dengan berbagai protein tubuh. Oleh karena itu dapatlah dikatakan bahwa setiap mutasi genetik yang mengubah kuantitas dan/atau kualitas berbagai protein yang dihasilkan tubuh dapat mengubah farmakokinetik atau farmakodinamik obat (Meyer, 1992).

Sebagai contoh, sejumlah kecil penderita yang mendapat pelemas otot suksinilkolin pada pembedahan akan mengalami henti nafas berkepanjangan karena mereka tidak mampu mengubah suksinilkolin menjadi suksinilmonokolin yang menghentikan efeknya. Enzim yang berperan di sini ialah pseudokolinesterase. Individu tertentu tidak mampu membentuk pseudokolinesterase normal, tetapi pseudokolinesterase atipik yang mempunyai afinitas rendah terhadap suksinilkolin (Nebert & Weber, 1990). Sifat ini diturunkan secara autosomal resesif. Di sini terlihat bahwa perubahan kualitas protein (dalam hal ini enzim pseudokolinesterase) mengakibatkan perubahan farmakokinetik dan farmakodinamik obat, yang pada akhirnya dapat menimbulkan respons klinik individu yang berbeda.

Ditinjau dari segi kepentingan klinik, perlu dibedakan variasi respons obat yang disebabkan karena metabolismenya dikendalikan oleh gen tunggal (monogenik) dengan yang dikendalikan oleh banyak gen beserta faktor lingkungan (poligenik, multifaktorial). Metabolisme obat yang dikendalikan oleh gen tunggal mengikuti hukum Mendel, sehingga suatu populasi akan terbagi menjadi 2 atau 3 subpopulasi menurut fenotipnya. Sebaran (distribusi) frekuensi respons obatnya bersifat

polimodal. Setiap modus menggambarkan satu fenotip. Pada Gambar II.1 dapat dilihat contoh distribusi kadar isoniazid yang mempunyai 2 modus. Modus yang di sebelah kiri menggambarkan sebaran frekuensi kadar plasma isoniazid dari individu dengan fenotip RA sedangkan yang di kanan adalah SA (Evans *et al.*, 1960).



Gambar II.1. Distribusi bimodal kadar isoniazid dalam plasma 6 jam setelah pemberian obat pada 267 subyek (dosis = $\pm 9,8$ mg/kg berat badan). Modus di sebelah kiri dan kanan masing-masing menggambarkan sebaran frekuensi asetilator cepat (RA) dan asetilator lambat (SA).

Sumber: Evans *et al.*, 1960.

Metabolisme kebanyakan obat dikendalikan oleh banyak gen yang berinteraksi

dengan faktor lingkungan (merokok, faal hati dan ginjal, usia, penggunaan insektisida tertentu, dll.) dan menghasilkan variasi respons (farmakokinetik serta farmakodinamik) yang sebaran frekuensinya unimodal dengan bentuk kurang lebih normal ('bell-shaped curve'). Selain mengamati bentuk kurva distribusi frekuensi, ada juga cara lain yang relatif sederhana untuk mengetahui apakah variasi respons obat bersifat monogenik atau poligenik yaitu dengan membandingkan parameter farmakokinetik tertentu (misalnya masa paruh eliminasi) pada kembar monozigotik dan dizigotik (Vessel, 1990). Untuk variasi respons yang disebabkan oleh faktor genetik (monogenik) maka pada kembar monozigotik akan terlihat perbedaan yang kecil sekali, sedangkan pada kembar dizigotik tampak perbedaan yang relatif besar.

Menurut Meyer (1992), polimorfisme metabolisme obat mempunyai arti klinis bila:

Pertama, polimorfisme tersebut menimbulkan perbedaan klirens obat yang cukup besar. Polimorfisme oksidasi propranolol tidak mempunyai kemaknaan klinis karena klirensnya pada PM dan EM oksidasi jenis debrisoquin hanya berbeda sedikit (Ward *et al.*, 1989a), tetapi pada perfenazin perbedaan ini mencapai 6-7 kali lipat (Dahl-Puustinen *et al.*, 1989) sehingga mempunyai makna klinik yang besar.

Kedua, perbedaan farmakokinetik antara EM dan PM terjadi pada obat dengan batas keamanan yang sempit. Oleh karena itu polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein yang terjadi pada beberapa beta bloker (golongan obat ini mempunyai batas keamanan yang sedang/lebar) sering tidak mempunyai arti klinis yang penting.

Ketiga, dalam praktek sehari-hari dokter yang menggunakan obat yang mengalami polimorfisme tersebut tidak melakukan penyesuaian dosis. Misalnya polimorfisme oksidasi pada obat anti hipertensi pada umumnya tidak terlalu

menimbulkan masalah klinik karena dokter biasanya mempertimbangkan perlu tidaknya penyesuaian dosis pada setiap kunjungan penderita. Ini berbeda dengan penggunaan sulfasalazin pada pengobatan kolitis ulseratif, di mana diberikan dosis yang tetap.

Keempat, obat yang metabolismanya memperlihatkan polimorfisme tersebut digunakan secara luas, misalnya beberapa antidepresi tertentu (amitriptilin, klomipramin, desipramin, imipramin, nortriptilin). Bertilsson *et al.* (1985) melaporkan seorang penderita depresi yang mampu mengoksidasi debrisoquin secara sangat ekstensif (rasio metaboliknya 0,07) ternyata membutuhkan dosis nortriptilin sebesar 300 mg/hari untuk mencapai kadar terapi (dosis lazim nortriptilin ialah 75-100 mg/hari). Balant-Gorgia *et al.* (1989) mengamati bahwa dari 8 penderita depresi dengan kadar nortriptilin, imipramin, atau klomipramin yang tinggi, 7 orang menderita efek samping. Dari jumlah ini 3 orang adalah PM oksidasi jenis debrisoquin.

B. Polimorfisme N-asetilasi

N-asetiltransferase adalah enzim yang berperan dalam N-asetilasi beberapa obat dan senyawa yang terdapat di alam (Tabel II.1). Enzim ini terdapat pada sitosol di hati dan juga di organ tubuh lainnya. Pada asetilator lambat, terjadi perubahan kualitas enzim ini sehingga proses N-asetilasi berlangsung lambat. Kemampuan N-asetilasi yang lambat ini diturunkan secara autosomal resesif (Evans *et al.*, 1960; Weber & Hein, 1985).

Pada ras Oriental, frekuensi asetilator lambat umumnya di bawah 35%,

sedangkan pada ras Kaukasia umumnya lebih dari 50% (Ishizaki, 1991). Pada Tabel II.2 dapat dilihat bahwa frekuensi SA sangat bervariasi antar populasi di berbagai bagian dunia. Pada Tabel II.3 tercantum 4 hasil penelitian yang berasal dari Indonesia. Di sini terlihat adanya variasi frekuensi SA yang cukup besar di antara para peneliti.

TABEL II.1
OBAT DAN SENYAWA DI ALAM YANG MENGALAMI
N-ASETILASI POLIMORFIK PADA MANUSIA

Hidrazin	Arilamin
isoniazid	prokainamid
hidralazin	dapson
fenelzin	sulfametazin
asetilhidrazin	sulfapiridin
hidrazin	aminoglutetimid
Arilamin karsinogen	Lain-lain
benzidin	sulfasalazin
2-aminofluoren	nitrazepam
β -naftilamin	klonazepam
4-aminobifenil	kafein
	asebutolol

Sumber: Horai & Ishizaki, 1987.

Ada beberapa obat yang sering digunakan untuk menentukan fenotip pada polimorfisme N-asetilasi. Isoniazid (INH) paling sering digunakan karena sehubungan

dengan penggunaannya sebagai tuberkulostatik dan juga karena toksisitasnya yang rendah. Yang agak menyulitkan dalam penentuan fenotip ialah metabolismenya yang kompleks. Sebagai obat uji, INH dapat diberikan per oral atau parenteral. Parameter yang diukur umumnya ialah masa eliminasi, rasio asetil INH/INH atau % ekskresi asetil INH dalam urin. Ada banyak modifikasi parameter yang diusulkan dalam penggunaan INH sebagai obat uji (Evans, 1989).

TABEL II.2
FREKUENSI ASETILATOR LAMBAT (SA) N-ASETILASI PADA
BEBERAPA POPULASI DI DUNIA

Etnik	Frekuensi SA (%)	N	Kepustakaan
Eskimo	5	216	Armstrong & Peart, 1960
Jepang	10,7	140	Hashiguchi & Ebihara, 1992
Cina	13	108	Horai <i>et al.</i> , 1988b
Turki	37,5	244	Bozkurt <i>et al.</i> , 1990
Inggris	60,3	337	Philip <i>et al.</i> , 1987
Yordania	67,5	167	Irshaid <i>et al.</i> , 1991

Obat lain yang sering digunakan ialah sulfametazin (Evans & White, 1964). Kekurangan sulfametazin sebagai obat uji ialah adanya sejumlah individu yang hipersensitif terhadap obat ini dan di banyak negara obat ini tidak dipasarkan.

Dapson (DDS) dewasa ini merupakan obat uji yang sering dipakai karena toksisitasnya rendah dan pengambilan darah untuk penentuan fenotip cukup dilakukan satu kali saja (Horai & Ishizaki, 1985). Menurut Hanson *et al.* (1981), penentuan fenotip dengan menggunakan dapson memberikan hasil yang sama dengan

menggunakan INH, namun metodenya lebih sederhana dan dapat dikerjakan dalam waktu yang lebih singkat. Pada manusia, dapson mengalami N-asetilasi menjadi monoasetildapson (MADDS). Kemampuan seseorang untuk mengasetilasi dapson dinyatakan dalam rasio metabolik (MR) dapson dalam plasma yaitu rasio antara kadar MADDS dengan kadar DDS dalam plasma. Kekurangan penggunaan dapson sebagai obat uji ialah perlunya dilakukan pengambilan darah vena sehingga kurang cocok untuk subyek anak-anak.

TABEL II.3

FREKUENSI FENOTIP SA POLIMORFISME N-ASETILASI
PADA POPULASI ORANG INDONESIA

Peneliti	N	Jenis subyek	Frekuensi SA (%)	Metode
Zaeni & Peetosutan (1975)	30	penderita tuberkulosis	23,3	penentuan kadar INH dalam serum
Suharto <i>et al.</i> (1980)	158	sukarelawan sehat	47,5	penentuan % asetil INH dalam urin
Suhardjono & Santoso (1981)	56	penderita tuberkulosis	69,6	penentuan % asetil INH dalam urin
Muchtar <i>et al.</i> (1981)	250	sukarelawan sehat	39,0	penentuan % asetil INH dalam urin

Cara noninvasif yang sesuai untuk subyek anak kecil ialah memberikan kafein per oral dan mengukur rasio molar dari 2 metabolitnya yaitu 5-asetilamino-6-

formilamino-3-metil-urasil (AFMU)/1-metilxantin (Hardy *et al.*, 1988; Hildebrand *et al.*, 1989). Kekurangan dari metode ini ialah pengumpulan urin harus dilakukan selama 24 jam dan bila pH urin tinggi, AFMU akan mengalami deformilasi spontan menjadi 5-asetil-amino-3-metilurasil (AAMU) (Tang *et al.*, 1986). Hashiguchi & Ebihara (1992) melaporkan bahwa penggunaan kafein untuk menetapkan frekuensi SA pada populasi orang Jepang memberikan hasil yang sama dengan penggunaan INH atau dapson.

Walaupun frekuensi SA sangat tinggi pada ras tertentu (khususnya Kaukasia), dampak kliniknya terhadap penggunaan obat-obat yang mengalami kosegregasi N-asetilasi tidak jelas. Ada beberapa peneliti (Weber & Hein, 1985; Clark, 1985; Evans, 1989) yang menganjurkan agar penderita tuberkulosis dengan fenotip SA diberi rejimen INH sekali seminggu sedangkan yang tergolong RA diberi rejimen dua kali seminggu. Pendapat ini tidak disokong oleh bukti uji klinik. Hingga kini juga tidak ada uji klinik yang dapat membuktikan bahwa efektivitas klinik obat-obat lain yang mengalami polimorfisme N-asetilasi tergantung dari fenotip seseorang, kecuali laporan Zacest & Koch-Weser (1972) yang menyatakan bahwa penderita dengan fenotip SA yang mendapat hidralazin akan memperlihatkan kadar obat yang lebih tinggi serta respons terapi yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok RA.

Dari segi toksisitas yang dihubungkan dengan fenotip N-asetilasi, dapat dikemukakan adanya laporan bahwa SA lebih sering mengalami neuropati perifer akibat pemberian INH dari pada RA (Devadatta *et al.*, 1960). Namun efek samping ini mudah dicegah dengan pemberian piridoksin karena defisiensi akibat peningkatan ekskresi piridoksin (yang sejalan dengan metabolisme isoniazid) dapat diatasi.

Efek samping lain yang dihubungkan dengan fenotip N-asetilasi ialah timbulnya hepatitis akibat pemberian INH. Mitchell *et al.* (1975) mengamati bahwa frekuensi

hepatotoksitas pada ras Oriental (1,8%) lebih tinggi dari Kaukasia (1,1%) atau kulit hitam (0,7%). Fenomena ini sesuai dengan pemikiran bahwa pada ras Oriental dijumpai lebih banyak individu dengan fenotip RA yang mampu mengasetilasi INH menjadi asetil-INH dengan cepat. Asetil-INH kemudian dihidrolisis menjadi monoasetilhidrazin yang bersifat hepatotoksik. Namun hipotesis Mitchell juga mengandung kelemahan karena monoasetilhidrazin yang toksik itu akan mengalami polimorfisme asetilasi lagi menjadi diasetilhidrazin yang tidak toksik. Pada kelompok RA, proses terakhir ini juga berlangsung lebih cepat sehingga detoksikasi monoasetilhidrazin berlangsung lebih efisien (Timbrell *et al.*, 1977).

Interaksi fenitoin dengan isoniazid menimbulkan dampak klinik yang perlu diperhatikan. Kutt *et al.* (1970) melaporkan bahwa penderita epilepsi dengan fenotip SA yang sedang mendapat terapi fenitoin cenderung mengalami intoksikasi susunan saraf pusat bila mendapat INH. Ini disebabkan karena kadar INH yang tinggi dalam plasma secara nonkompetitif menghambat metabolisme fenitoin dan mengakibatkan kadar fenitoin meningkat serta menimbulkan intoksikasi.

Hidralazin dan prokainamid dikenal sebagai obat-obat yang dapat menimbulkan 'drug-induced systemic lupus erythematosus'. Perry *et al.* (1970) melaporkan bahwa individu dengan fenotip SA yang mendapat hidralazin dengan dosis lazim (100-200 mg sehari) cenderung memperlihatkan gejala lupus setelah diobati selama 2,5 tahun. Kecenderungan ini tidak terlihat pada penderita yang tergolong RA. Woosley *et al.* (1978) melaporkan bahwa SA yang mendapat prokainamid jauh lebih cepat membentuk 'anti nuclear antibody' (rata-rata masa terapi 2,9 bulan) dibandingkan dengan RA (rata-rata 7,3 bulan). Untuk 'systemic lupus erythematosus (SLE)' yang timbul spontan (bukan karena induksi obat) tidak terlihat adanya kaitan yang jelas dengan fenotip N-asetilasi penderita. Menurut Reidenberg *et al.* (1980), penderita

dengan fenotip SA lebih cenderung menderita SLE, tetapi para peneliti lain tidak menemukan adanya hubungan tersebut (Ishizaki *et al.*, 1981; Baer *et al.*, 1986).

Sulfasalazin termasuk obat yang metabolismenya dipengaruhi fenotip asetilator seseorang. Pada manusia, sulfasalazin dimetabolisme menjadi sulfapiridin (metabolit toksik) dan asam 5-amino salisilat (metabolit yang mempunyai efek antiinflamasi). Sulfapiridin selanjutnya akan mengalami N-asetilasi (Sharp *et al.*, 1981) dan dikeluarkan dari tubuh. Das *et al.* (1973) menentukan fenotip N-asetilasi pada 133 penderita yang mendapat sulfasalazin dan mendapatkan bahwa 2/3 dari antara mereka adalah SA. Namun dari 28 penderita yang memperlihatkan efek samping ada 86% yang tergolong SA. Data ini menunjukkan bahwa fenotip N-asetilasi mempunyai hubungan dengan timbulnya efek samping sulfasalazin. Diduga ini disebabkan karena pada penderita dengan fenotip SA terjadi kumulasi sulfapiridin dalam darah. Das & Dubin (1976) juga melaporkan bahwa kadar sulfapiridin rata-rata pada SA adalah 42,2 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan pada RA hanya 8,5 $\mu\text{g/ml}$.

Menurut Cowan *et al.* (1977) dosis sulfasalazin yang sesuai untuk penderita yang tergolong SA ialah 2,5-3 g sehari (dosis lazim ialah 3-4 g sehari). Terdapat perbedaan pendapat apakah perlu atau tidak menentukan fenotip N-asetilasi penderita yang akan mendapat terapi dengan sulfasalazin. Sharp *et al.* (1981) berpendapat bahwa penentuan fenotip ini perlu dilakukan, tetapi Goldstein *et al.* (1979) yang meneliti penggunaan sulfasalazin pada anak-anak berpendapat bahwa penentuan fenotip ini tidak perlu dilakukan bila dosis yang diberikan berkisar antara 40-70 mg/kg berat badan sehari.

Status asetilator juga dihubungkan dengan keganasan pada kandung kemih. Cartwright *et al.* (1982) mengemukakan data bahwa 96% dari 23 pekerja pabrik zat warna yang menderita keganasan kandung kemih mempunyai fenotip SA. Angka ini

40% lebih tinggi dari kelompok kontrol. N-asetilasi merupakan metabolisme untuk detoksifikasi senyawa arilamin (bersifat karsinogenik) yang digunakan di pabrik zat warna. Pada keganasan kandung kemih yang tidak disebabkan oleh paparan terhadap zat karsinogenik, tidak dapat dibuktikan adanya kecenderungan timbulnya keganasan tersebut dengan fenotip SA (Horai *et al.*, 1989b).

Dalam penentuan frekuensi fenotip pada studi polimorfisme N-asetilasi, beberapa peneliti mengamati adanya frekuensi distribusi yang membentuk tiga modus (Chapron *et al.*, 1980; Grant *et al.*, 1984; Hutchings & Routledge, 1986; Horai & Ishizaki, 1988c; Irshaid *et al.*, 1991). Adanya trimodalitas ini selalu menimbulkan pertanyaan apakah masing-masing modus ini merupakan manifestasi 3 genotip yang ada yaitu homozigot dominan, heterozigot dominan, dan homozigot resesif.

Menurut hukum Hardy-Weinberg: bila ada perkawinan acak ('random mating'), tidak terjadi mutasi gen, dan populasi cukup besar, maka frekuensi gen dalam suatu populasi akan tetap dari generasi ke generasi (Weisz, 1963). Dalam keadaan yang dinamakan keseimbangan genetik ('genetic equilibrium') ini, laju evolusi ialah nol. Penyimpangan hukum Hardy-Weinberg terjadi bila satu atau lebih syarat di atas terganggu, misalnya terjadi seleksi alamiah yang mengakibatkan terganggunya perkawinan acak, terjadinya mutasi gen, dan/atau populasi yang terlalu kecil. Terganggunya keseimbangan genetik akan menimbulkan perubahan evolusi.

Bila terdapat sepasang alel yaitu T dan t yang mempunyai proporsi masing-masing p dan q, maka dengan perkawinan acak, frekuensi zigot dalam suatu populasi ialah akan selalu tetap yaitu $p^2(TT) : 2pq(Tt) : q^2(tt)$. Di sini dapat diamati bahwa frekuensi heterozigot adalah sama dengan dua kali akar frekuensi homozigot dominan kali homozigot resesif, yang bila dinyatakan dalam rumus ialah :

$$2 pq = 2\sqrt{(p^2 \times q^2)}$$

Hubungan ini dikenal sebagai keseimbangan Hardy-Weinberg (Snyder, 1951).

C. Polimorfisme oksidasi

Variasi oksidasi obat oleh sitokrom P450 hati merupakan penyebab utama timbulnya variasi farmakokinetik dan efek terapi (Eichelbaum, 1982; Clark, 1985; Brøsen, 1990). Penemuan polimorfisme oksidasi debrisoquin dilaporkan oleh Mahgoub *et al.* (1977), sedangkan oksidasi spartein oleh Eichelbaum *et al.* (1979). Kedua jenis polimorfisme oksidasi ini ternyata dikatalisis oleh isozim sitokrom P450 yang sama. Pada mulanya laporan ini kurang mendapat perhatian karena debrisoquin merupakan obat antihipertensi yang sudah jarang digunakan akibat sulitnya melakukan titrasi dosis, sedangkan spartein sendiri merupakan oksitosik yang sudah tidak dipakai. Namun segera terungkap bahwa ada banyak obat yang dioksidasi oleh enzim yang sama (kosegregasi).

Polimorfisme oksidasi lain yang banyak diteliti dewasa ini ialah oksidasi S-mefenitoin. Enzim sitokrom P450 yang mengoksidasi obat ini berbeda dengan enzim yang mengoksidasi debrisoquin/spartein. Ada beberapa polimorfisme oksidasi lain (yaitu S-karboksimetil-L-sistein, tolbutamid, nifedipin, dan fenitoin), namun hingga kini kelompok ini tidak mempunyai arti klinis yang penting karena tidak/belum diketahui metabolismenya berkosegregasi dengan banyak obat lain.

1. Polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein.

Polimorfisme oksidasi yang paling banyak diteliti hingga kini ialah jenis debrisoquin/spartein. Dulu enzim sitokrom P450 yang berperan dalam oksidasi ini

disebut P450IID6, sekarang disebut CYP2D6 (Nebert *et al.*, 1991). Isozim ini kurang diproduksi oleh individu yang tergolong PM. Debrisokuin (DB) dioksidasi menjadi 4-hidroksidebrisokuin (4-OH-DB). Untuk mendapat efek antihipertensi yang optimal, dosis debrisokuin yang digunakan di klinik bervariasi sekitar 20 kali lipat yaitu antara 20-400 mg. Variasi dosis yang besar ini dihubungkan dengan kemampuan seseorang untuk mengoksidasi obat tersebut (Mahgoub, 1977). Untuk menentukan fenotip seseorang digunakan parameter rasio metabolik (MR) dalam urin yaitu:

$$MR = \frac{\% \text{ DB yang diekskresi dalam bentuk asal}}{\% \text{ DB yang diekskresi dalam bentuk 4-OH-DB}}$$

Dalam penelitiannya, Mahgoub memberikan dosis 10 mg debrisokuin dan mengumpulkan urin selama 8 jam setelah pemberian obat. Dengan spartein, Eichelbaum & Woolhouse (1985) mendapatkan modus EM dan PM yang terpisah jelas dan berdasarkan ini ditetapkan bahwa PM adalah individu yang mempunyai rasio metabolik lebih dari 20 (log rasio metabolik $\geq 1,3$). Selain debrisokuin dan spartein, metoprolol yang juga dapat digunakan sebagai obat uji untuk menentukan fenotip seseorang (McGourty *et al.*, 1985). Individu dengan rasio metabolik $\geq 12,6$ (log rasio metabolik $\geq 1,1$) adalah PM. Sebagai obat uji, metoprolol agaknya lebih baik dari pada debrisokuin atau spartein karena obat ini relatif lebih aman dan mudah didapat. Seperti halnya pada polimorfisme N-asetilasi, terdapat variasi frekuensi EM dan PM antar etnik (Tabel II.4). Fenotip PM diturunkan secara autosomal resesif (Mahgoub *et al.*, 1977; Eichelbaum *et al.*, 1979).

TABEL II.4

FREKUENSI PEMETABOLISME LEMAH (PM) OKSIDASI JENIS DEBRISOKUIN/SPARTEIN PADA BEBERAPA POPULASI

Populasi	Frekuensi PM (%)	N	Kepustakaan
Jepang	0,5	200	Horai <i>et al.</i> , 1989a
	0	100	Nakamura <i>et al.</i> , 1985
Cina	0	98	Horai <i>et al.</i> , 1989a
Korea	0,5	218	Sohn <i>et al.</i> , 1991
Amerindian	0	89	Jorge <i>et al.</i> , 1990
Thailand	1,2	173	Wanwimolruk <i>et al.</i> , 1990
Eropah	7,7 ± 2.2 (SD)	5005	Alvan <i>et al.</i> , 1990

Dewasa ini tercatat ada lebih dari 20 obat yang metabolismenya mengalami kosegregasi dengan oksidasi debrisokuin/spartein. Sebagian besar obat-obat ini termasuk golongan obat kardiovaskuler dan psikotropik (Tabel II.5).

Salah satu contoh dampak negatif yang dapat terjadi pada PM oksidasi jenis debrisokuin/spartein dikemukakan oleh Lennard *et al.* (1982). Penulis ini memberikan 200 mg metoprolol (oksidasi obat ini menjadi α -hidroksimetoprolol mengalami kosegregasi dengan oksidasi jenis debrisokuin/spartein) pada kelompok EM dan PM yang masing-masing terdiri dari 6 subyek. Pada kelompok PM efek hambatan beta bertahan selama 24 jam sedangkan pada kelompok EM tidak. Ternyata pada kelompok PM didapatkan luas daerah di bawah kurva ('area under the curve',

AUC) yang 6 kali lebih besar dari AUC kelompok EM. Masa paruh eliminasi metoprolol kelompok PM 3 kali lebih lama dari kelompok EM (Gambar II.2).

TABEL II.5

OBAT YANG METABOLISMENYA MENGALAMI KOSEGREGASI DENGAN POLIMORFISME OKSIDASI JENIS DEBRISOKUIN/SPARTEIN

Obat	Dampak negatif potensial pada pemetabolisme lemah
A. Kardiovas-	
kuler:	
- debrisokuin	hipotensi ortostatik
- enkainid	tidak efektif pada dosis biasa
- guanoksan	hipotensi ortostatik
- indoramin	neurotoksisitas
- perheksilin	neuropati perifer, hepatotoksisitas
- N-propilajmalin	belum jelas
- spartein	spasme uterus dan neurotoksisitas
- alprenolol	penghambatan adreseptor berlebihan (bradikardia, asma bronkial)
- metoprolol	penghambatan adreseptor berlebihan
- propranolol	penghambatan adreseptor berlebihan
- timolol	penghambatan adreseptor berlebihan
B. Psikotropik:	
- amiflavin	potensial neurotoksik
- amitriptilin	potensial neurotoksik
- klomipramin	potensial neurotoksik
- desipramin	potensial neurotoksik
- imipramin	potensial neurotoksik
- nortriptilin	potensial neurotoksik
- fluoksetin	belum jelas

(bersambung ke halaman berikut)

TABEL II.5 (lanjutan)

Obat	Dampak negatif potensial pada pemetabolisme lemah
C. Lain-lain:	
- metoksifenamin	belum jelas
- fenasetin	methemoglobinemia
- fenformin	asidosis laktat
- dekstrometorfan	potensial neurotoksik
- kodein	efek analgesik berkurang

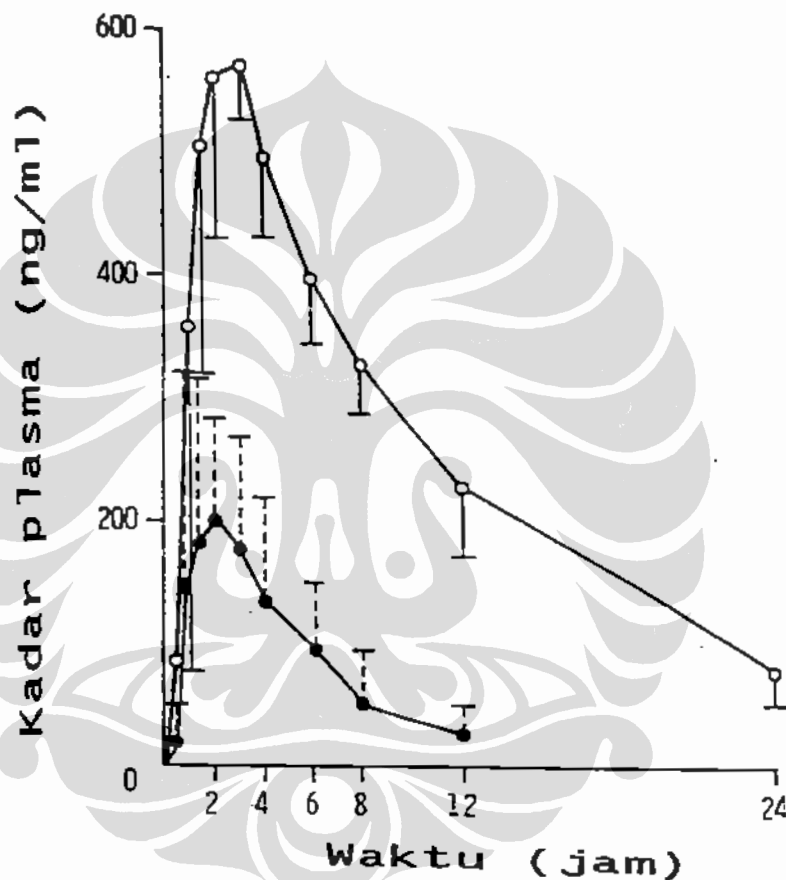
Sumber: Horai & Ishizaki, 1988a.

Metoprolol tergolong beta bloker yang bersifat kardioselektif. Pada kadar tinggi (yang cenderung terjadi pada PM), selektivitas ini dapat hilang sehingga mudah terjadi penyempitan bronkus pada penderita dengan asma bronkial. Selain itu hambatan berlebihan pada adrenoseptor β_1 di jantung dapat menimbulkan bradikardia yang mungkin berbahaya.

Propranolol juga mengalami kosegregasi dengan oksidasi jenis debrisoquin/spartein, namun tidak memperlihatkan perbedaan hambatan beta pada kedua fenotip karena 2 alasan: Pertama, ada enzim lain yang tidak memperlihatkan polimorfisme yang juga mengoksidasi propranolol menjadi 4-hidroksi propranolol. Kedua, 4-hidroksi propranolol sendiri juga mempunyai efek penghambat beta yang cukup kuat (Lennard *et al.*, 1986).

Polimorfisme oksidasi debrisoquin/spartein juga menimbulkan masalah pada enkainid, suatu antiaritmia golongan IC (golongan antiaritmia yang sangat

memperlambat konduksi, tetapi tidak mempengaruhi masa refrakter). Dalam tubuh manusia, enkainid terutama dimetabolisme menjadi O-desmetilenkainid yang lebih aktif dari obat asalnya. Dengan demikian efektivitas pemberian enkainid cenderung menurun pada PM (Woosley *et al.*, 1988).



Gambar II.2. Kadar metoprolol pada masing-masing 6 subyek EM (lingkaran hitam) dan PM (lingkaran kosong) oksidasi jenis debrisoquin setelah dosis tunggal 200 mg. Garis tegak menunjukkan deviasi standar.

Sumber: Lennard *et al.*, 1982.

Obat antiaritmia lainnya, propafenon, dioksidasi secara polimorfik menjadi 5-hidroksipropafenon yang juga mempunyai efek antiaritmia yang kuat. Dosis yang diperlukan untuk mengatasi aritmia tidak berbeda pada kedua fenotip (karena pada kelompok PM berkurangnya pembentukan 5-hidroksipropafenon dikompensasi dengan meningkatnya kadar propafenon). Namun pada penderita dengan fenotip PM dijumpai efek samping susunan saraf pusat yang lebih tinggi (67%) dari pada kelompok EM (14%) (Siddoway *et al.*, 1987). Propafenon tersedia dalam bentuk rasemat. Kedua enantiomernya mempunyai efek antiaritmia dengan menghambat 'slow inward sodium current', namun hanya enantiomer S yang mempunyai efek penghambat adreseptor beta yang lemah. Pada kelompok PM, kadar kedua enantiomer meningkat dalam darah. Bila enantiomer S telah mencapai kadar yang cukup tinggi, efek hambatan adreseptor beta dapat menimbulkan efek samping pada susunan saraf pusat.

Penderita depresi yang mendapat nortriptilin dan desipramin memperlihatkan adanya korelasi yang baik antara tingginya kadar obat dalam plasma dengan log rasio metabolik debrisoquin (Woolhouse *et al.*, 1984; Nordin *et al.*, 1985; Brøsen *et al.*, 1986). Bertilsson *et al.* (1985) mengemukakan suatu laporan kasus PM yang memerlukan dosis awal nortriptilin sebesar 300 mg sehari (dosis lazim 75-100 mg/sehari). Penderita ini ternyata mempunyai kapasitas oksidasi yang sangat tinggi (rasio metaboliknya 0,07). Peneliti lain (Dawling, 1988) menganjurkan agar penentuan dosis awal obat antidepresi trisiklik didasarkan atas rasio metabolik seseorang karena cara ini jauh lebih cepat dari metode pemantauan kadar obat ('therapeutic drug monitoring').

Dekstrometorfan dan kodein adalah obat golongan opiat yang secara polimorfik dimetabolisme oleh P450IID6 (Schmid *et al.*, 1985). Pada deksrometorfan dampak klinik kosegregasi ini belum diketahui dengan jelas. Namun karena mudah didapat

dan relatif aman, obat ini dapat digunakan sebagai obat uji untuk penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin/spartein. Kodein merupakan salah satu obat terbaik untuk meredakan nyeri hebat yang kronis. Efek analgetiknya terjadi karena kodein mengalami O-demetilasi menjadi morfin. Proses ini terhambat atau tidak berlangsung pada PM, sehingga pada fenotip ini efek analgesik dari kodein tidak terjadi (Sindrup *et al.*, 1990).

Selain dampak terhadap metabolisme obat lain, polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein juga dihubungkan dengan timbulnya penyakit tertentu. Ada dugaan bahwa di alam terdapat sejumlah prokarsinogen yang bila masuk ke dalam tubuh manusia dioksidasi menjadi karsinogen (Ishizaki, 1991). Karena itu fenotip EM oksidasi jenis debrisoquin/spartein dapat merupakan salah satu faktor predisposisi timbulnya keganasan. Ayesh *et al.* (1984) melaporkan bahwa pada penderita kanker paru di Inggris lebih banyak dijumpai fenotip EM dari pada kelompok kontrol. Fenomena yang sama juga dilaporkan terjadi pada penderita dengan karsinoma kandung kemih (Kaisary *et al.*, 1987).

Pada penyakit Parkinson, Barbeau *et al.* (1985) mengemukakan hal sebaliknya yaitu fenotip PM debrisoquin lebih banyak dijumpai pada penderita Parkinson. Smith *et al.* (1992) menyokong hasil penelitian ini dengan melakukan analisis gen pada penderita penyakit Parkinson. Ia melaporkan bahwa individu dengan fenotip PM untuk oksidasi jenis debrisoquin/spartein mempunyai resiko 2,5 x lebih besar untuk menderita penyakit Parkinson dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hipotesis yang dikemukakan untuk menjelaskan hubungan antara penyakit Parkinson dengan fenotip PM adalah berkaitan dengan adanya suatu neurotoksin di alam yang disebut 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) yang dapat menimbulkan kelainan tersebut (Calne & Lanston, 1983). Di otak MPTP dioksidasi menjadi ion 1-metil-4-

fenilpiridinium (MPP⁺) yang toksik terhadap substansia nigra. MPTP dan MPP⁺ diikat dan dimetabolisme oleh CYP2D6. Hingga kini belum ada kesepakatan mengenai adanya hubungan antara penyakit Parkinson dengan fenotip PM oksidasi debrisoquin/spartein karena ada juga peneliti yang mengemukakan hasil sebaliknya (Comella *et al.*, 1987; Steventon, 1989)

2. Polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin

Mefenitoin adalah obat antiepilepsi yang jarang dipakai dan tidak beredar di banyak negara. Obat ini tersedia dalam bentuk tablet yang terdiri dari campuran S- dan R-mefenitoin (masing-masing 50%). Metabolisme rasemat ini bersifat stereospesifik. Enantioner R mengalami demetilasi menjadi feniletihidantoin (PEH atau nirvanol). Proses ini berlangsung lambat dan tidak memperlihatkan adanya polimorfisme. Enantioner S mengalami oksidasi menjadi 4'-hidroksimefenitoin (Küpfner & Preisig, 1984). Proses ini berlangsung cepat dan bersifat polimorfik.

Seperti halnya pada polimorfisme N-asetilasi dan oksidasi jenis debrisoquin, fenotip PM oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai genotip autosomal resesif homozigot, sedangkan fenotip EM mempunyai genotip autosomal dominan atau heterozigot (Ward *et al.*, 1987). Isozim P450 yang berperan dalam hidroksilasi S-mefenitoin ialah P450IIc9. Polimorfisme oksidasi S-mefenitoin ini tidak ada hubungannya dengan polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein.

Frekuensi PM pada oksidasi S-mefenitoin juga bervariasi antar etnik. Pada Tabel II.6 dapat dilihat bahwa frekuensi PM pada ras Kaukasia umumnya adalah di bawah 5%, tetapi angka yang jauh lebih tinggi didapati pada ras Oriental.

Dewasa ini tercatat ada beberapa obat yang metabolismenya mengalami kosegregasi dengan oksidasi S-mefenitoin yaitu propranolol (Ward *et al.*, 1989a),

imipramin (Skjelbo *et al.*, 1991), heksobarbital (Yasumori *et al.*, 1990), mefobarbital (Jacqs *et al.*, 1986), omeprazol (Andersson *et al.*, 1990; Andersson *et al.*, 1992), proguanil (Helsby *et al.*, 1990b) dan diazepam (Bertilsson *et al.*, 1989, Sohn *et al.*, 1992). Hubungan antara fenotip oksidasi S-mefenitoin dengan penyakit yang timbul spontan belum jelas hingga kini.

Oleh karena hanya sedikit sekali mefenitoin yang diekskresi di urin dalam bentuk asalnya (Küpfer *et al.*, 1984), kemampuan seseorang untuk mengoksidasi mefenitoin tidak dinyatakan dalam rasio metabolik (seperti halnya pada oksidasi jenis debrisoquin), tetapi dalam % ekskresi hidroksimefenitoin (Jurima *et al.*, 1985; Inaba *et al.*, 1984) atau indeks hidroksilasi (Küpfer *et al.*, 1984) yaitu 50% dari dosis mefenitoin rasemat yang dimakan oleh sukarelawan dibagi dengan jumlah 4-hidroksimefenitoin yang diekskresikan dalam urin 8 jam setelah obat dimakan.

TABEL II.6

FREKUENSI PEMETABOLISME LEMAH (PM) OKSIDASI JENIS S-MEFENITOID PADA BEBERAPA POPULASI

Populasi	Frekuensi PM (%)	N	Kepustakaan
Amerindian	0	96	Inaba <i>et al.</i> , 1988
Kanada	2	83	Inaba <i>et al.</i> , 1984
Amerika	2,6	156	Wedlund <i>et al.</i> , 1984
Swedia	2,8	253	Sanz <i>et al.</i> , 1989
Swis	5	221	Küpfer & Preisig, 1984
Korea	12,6	206	Sohn <i>et al.</i> , 1992
Cina	17,4	98	Horai <i>et al.</i> , 1989a
Jepang	22,5	200	Horai <i>et al.</i> , 1989a

D. Penentuan fenotip secara serentak

Walaupun penentuan fenotip N-asetilasi, oksidasi jenis debrisokuin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin secara serentak dapat mempermudah prosedur dan menyingkat waktu untuk pengumpulan spesimen, hingga kini belum banyak penelitian yang dilakukan mengenai hal ini.

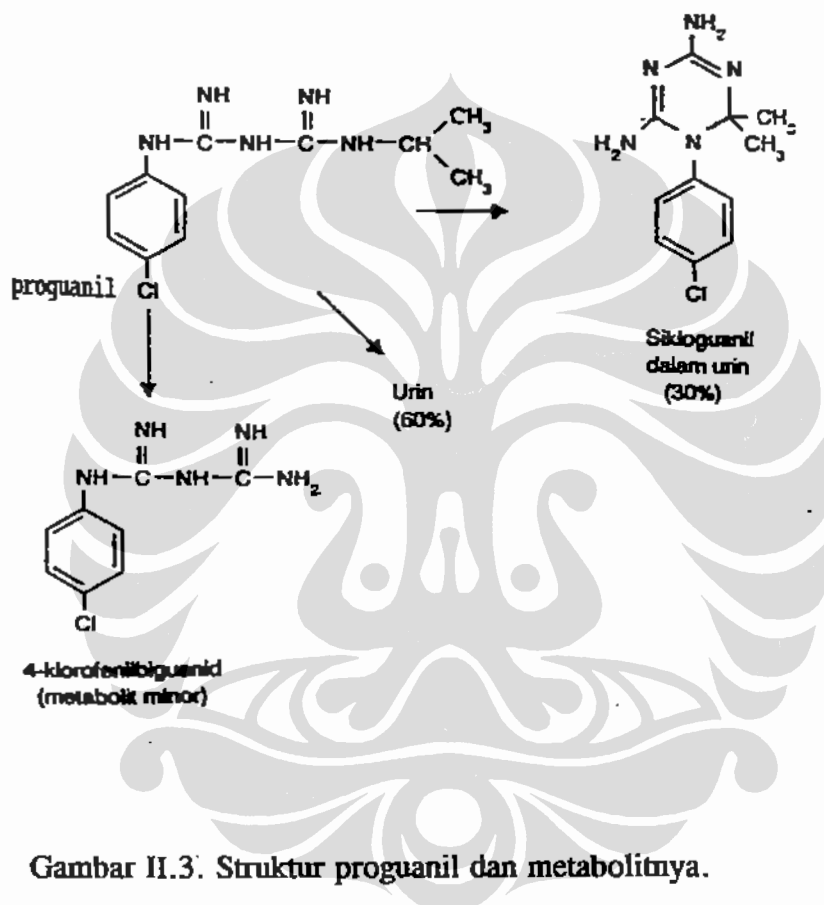
Siegmund *et al.* (1990) melakukan penentuan fenotip secara serentak untuk N-asetilasi dan oksidasi jenis debrisokuin (dengan menggunakan obat uji sulfametazin dan debrisokuin untuk masing-masing penentuan fenotip) pada 145 sukarelawan sehat di Jerman. Peneliti ini melaporkan bahwa frekuensi PM untuk oksidasi jenis debrisokuin adalah 11,7% dan frekuensi SA untuk N-asetilasi ialah 55,9%, namun dalam studi ini tidak dilakukan upaya pembuktian bahwa penentuan fenotip serentak tersebut memberikan hasil yang sama dengan penentuan fenotip secara terpisah.

Sanz *et al.* (1989) membandingkan hasil penentuan fenotip oksidasi jenis debrisokuin dan S-mefenitoin yang dilakukan secara serentak dan terpisah pada 41 sukarelawan sehat. Para peneliti ini mendapatkan koefisien korelasi (r_s) antara kedua cara ini sebesar 0,83 untuk rasio S/R mefenitoin, dan 0,85 untuk log MR debrisokuin.

E. Metabolisme proguanil

Proguanil merupakan suatu bakal obat ('prodrug') untuk profilaksis malaria. Dalam tubuh manusia proguanil dimetabolisme menjadi sikloguanil (metabolit utama)

dan 4-klorofenilbiguanid (metabolit minor) (Gambar II.3). Yang mempunyai daya profilaksis terhadap malaria ialah sikloguanil (Carrington *et al.*, 1951), sedang 4-klorofenilbiguanid tidak mempunyai arti klinik.



Gambar II.3. Struktur proguanil dan metabolitnya.

Sikloguanil bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase plasmodia. Enzim ini berperan untuk mereduksi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Sikloguanil mempunyai afinitas yang lebih besar terhadap enzim dihidrofolat reduktase plasmodia dari pada dihidrofolat reduktase manusia. Proguanil merupakan salah satu obat pencegah malaria yang paling aman (Dollery, 1991).

Setelah pemberian oral dengan dosis 100-200 mg, kadar puncaknya tercapai dalam 2-4 jam. Kadar puncak sikloguanil tercapai lebih lambat yaitu 4-9 jam setelah obat dimakan. Masa paruh eliminasinya bervariasi antara 12-24 jam. Dalam beberapa tahun terakhir ini para peneliti melaporkan bahwa dengan dosis oral 200 mg, kadar sikloguanil sangat bervariasi dalam darah (Helsby *et al.*, 1990a; Ward *et al.*, 1989b; Watkins *et al.*, 1987). Sebagai parameter untuk mengukur variabilitas ini Helsby *et al.* (1990b) dan Ward *et al.* (1989b) menggunakan rasio kadar proguanil/sikloguanil (PG/CG) dalam urin. Pada studi populasi yang mereka lakukan ternyata didapat distribusi frekuensi yang tidak simetris karena 3-10% dari subjek mereka menghasilkan sedikit sekali sikloguanil dalam urin sehingga rasio PG/CG menjadi besar sekali dibandingkan dengan kebanyakan subyek lainnya.

Helsby *et al.* (1990b) mengelompokkan subyek dengan rasio PG/CG > 10 sebagai PM dan rasio PG/CG < 10 sebagai EM. Studi *in vitro* dengan menggunakan mikrosom hati manusia menunjukkan bahwa mefenitoin merupakan penghambat bersaing metabolisme proguanil menjadi sikloguanil. Spartein tidak memperlihatkan efek penghambatan ini (Helsby *et al.*, 1990a). Data ini memberikan petunjuk bahwa pada manusia (*in vivo*), kemampuan bioaktivasi proguanil menjadi sikloguanil tergantung dari fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin.

F. Pilihan metode pengukuran kadar obat

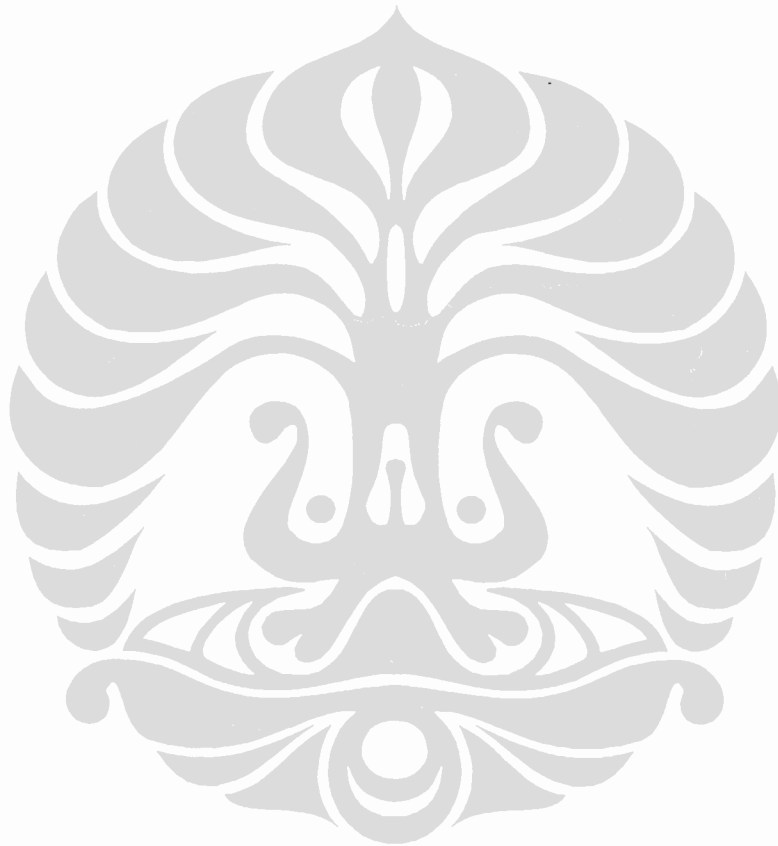
Untuk menentukan kadar DDS dan MADDS telah dipublikasi beberapa metode pengukuran dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Carr *et al.*, 1978; Zuidema *et al.*, 1980; Edstein, 1984; Philip *et al.*, 1984), namun sebagian dari

metode ini tidak mengukur kadar kedua zat tersebut dalam darah dan urin sekaligus dengan metode ekstraksi yang sederhana. Kekurangan ini dicoba diatasi dengan metode yang dikemukakan oleh Horai & Ishizaki *et al.* (1985). Dalam metode ini digunakan m-APS sebagai standar dalam karena zat ini mempunyai waktu retensi yang sesuai serta memberikan resolusi yang baik.

Untuk mengukur kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol tersedia beberapa metode KCKT dengan detektor fluoresens (Pautler & Jusko, 1982; Lennard & Silas, 1983; Gengo *et al.*, 1984; Lecaillon *et al.*, 1984; Lennard, 1985; Horai *et al.*, 1988d). Metode penggunaan KCKT dengan detektor fluoresens ini merupakan cara yang paling sering digunakan karena peralatan yang dibutuhkan tersedia di kebanyakan laboratorium dan tidak memerlukan derivatisasi seperti pada kromatografi gas. Beberapa metode yang disebutkan di atas dirasakan masih kurang memuaskan misalnya karena waktu retensinya yang panjang (Pautler & Jusko, 1982) atau preparasi sampel yang relatif rumit (Gengo *et al.*, 1984; Lecaillon *et al.*, 1984). Horai *et al.* (1988d) mengemukakan metode yang menggunakan pindolol sebagai standar dalam. Metode ini memberikan resolusi yang baik, waktu retensinya tidak terlalu lama, serta dapat digunakan untuk mengukur kadar metoprolol dan metabolitnya dalam darah maupun urin.

Hingga saat ini cara yang paling sering digunakan untuk mengukur kadar hidroksimefenitoin dan mefenitoin ialah kromatografi gas dengan kolom kapiler (Wedlund *et al.*, 1984) walaupun ada juga metode yang menggunakan KCKT (Küpfer *et al.*, 1981). Dengan kromatografi gas diperoleh hasil yang lebih memuaskan karena resolusi yang lebih baik dan kepekaan yang lebih tinggi, namun preparasi sampel untuk pengukuran dengan kromatografi gas ini agak rumit dan memakan waktu.

Kadar proguanil, sikloguanil dan 4-klorofenilbiguanid dewasa ini lazim diukur dengan KCKT (Bygbjerg & Flachs, 1986; Edstein *et al.*, 1986; Taylor *et al.*, 1990). Bygbjerg & Flachs menggunakan ekstraksi cair namun tidak melaporkan metodenya secara lengkap. Taylor *et al.* menggunakan ekstraksi fase padat dengan Bond-Elut 'cartridges' yang lebih sederhana dari pada ekstraksi cair, namun harganya mahal.



BAB III

METODE

A. Penahapan pelaksanaan penelitian

Sesuai dengan tujuan penelitian yang telah diuraikan pada Bab I.C, penelitian ini dikerjakan menurut tahapan sebagai berikut:

Tahap I.

- I.1. Membuktikan bahwa penentuan fenotip polimorfisme N-asetilasi secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip N-asetilasi secara terpisah.
- I.2. Membuktikan bahwa penentuan fenotip polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein.
- I.3. Membuktikan bahwa penentuan fenotip polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin secara serentak memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin

Tahap I ini mengikutsertakan 30 subyek dan dikerjakan dengan desain 'cross-over', di mana semua subyek secara berturutan mendapat obat uji dapson, metoprolol, mefenitoin rasemat, dan dapson + metoprolol + mefenitoin rasemat secara serentak.

Tahap II.

- II.1 Menentukan frekuensi fenotip polimorfisme N-asetilasi.
- II.2. Menentukan frekuensi fenotip polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin/spartein.
- II.3. Menentukan frekuensi fenotip polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin.

Penelitian tahap II ini akan mengikutsertakan 104 subyek (termasuk 30 subyek yang diikutsertakan dalam tahap I). Semua subyek mendapat dapson + metoprolol + mefenitoin rasemat secara serentak.

Tahap III.

Membuktikan bahwa individu dengan fenotip EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dari pada individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil.

Untuk tahap ini direncanakan mengikutsertakan 12 sukarelawan dengan fenotip EM untuk oksidasi S-mefenitoin dan 12 sukarelawan dengan fenotip PM menurut hasil yang didapat dari penelitian tahap II.3 di atas. Semua subyek diberi 200 mg proguanil, kemudian diukur kemampuannya mengubah proguanil menjadi sikloguanil dengan melihat rasio ekskresi proguanil/sikloguanil dalam urin 8 jam.

B. Subyek

Untuk penelitian tahap I, jumlah subyek (= N) ditentukan berdasarkan menurut cara yang dikemukakan oleh Lachin (1981) yaitu:

$$N = \{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times \sigma^2\} / \mu^2 \dots\dots\dots (1)$$

di mana: $Z_{\alpha} = 1,64$ untuk nilai α (kesalahan tipe I) yang ditetapkan = 0,05 (*1-tail*)

$Z_{\beta} = 0,84$ untuk nilai β (kesalahan tipe II) yang ditetapkan = 0,2 (*1-tail*)

σ^2 = varians selisih antara hasil pengukuran cara serentak dan terpisah pada tiap individu

μ = selisih maksimal (yang dapat ditoleransi) antara rata-rata kemampuan metabolisme yang diukur dengan cara terpisah dan cara serentak

Namun rumus ini tidak dapat langsung digunakan, karena nilai σ^2 belum diketahui. Oleh karena itu dilakukan pendekatan yang lain, yaitu menentukan lebih dulu jumlah subyeknya (sesuai dengan kemampuan yang ada dan jumlah subyek yang bersedia ikut dalam hal ini ditetapkan $N = 30$). Dari data yang diperoleh akan dapat ditentukan nilai σ^2 dan μ . Dengan demikian akan dihitung kembali apakah jumlah subyek sebanyak 30 orang ini memenuhi syarat. Masalah ini akan dibahas kembali pada Bab V.B.

Seratus empat sukarelawan sehat akan diikutsertakan dalam penelitian tahap II. Sebagian besar dari mereka adalah karyawan dan staf pengajar yang bekerja di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo. Beberapa orang bekerja di luar lingkungan ini.

Jumlah subyek ditentukan berdasarkan perkiraan bahwa dari ketiga jenis penentuan fenotip, yang akan membutuhkan sampel terbesar ialah penentuan fenotip oksidasi jenis metoprolol karena frekuensi PMnya hanya sekitar 10% (proporsinya = $p =$

0,1). Dengan mengambil 'confidence interval' 95% ($z=1,96$) dan ketelitian $d = 0,06$ maka jumlah subyek yang dibutuhkan (N) adalah:

$$N = z^2 \times p(1-p) / d^2 \quad (\text{Daniel, 1978})$$

$$N = 96,04$$

Proporsi 'drop out' (f) diperkirakan $\pm 7,5\%$. Maka jumlah subyek yang diikuti sertakan (N') ialah:

$$N' = \frac{1}{1-f} \times N = \frac{1}{1-0,075} \times 96,04 = 103,8 \quad (\text{dibulatkan jadi } 104).$$

1. Kriteria pengikutsertaan subyek

1. Pria atau wanita yang sehat dan bersedia mematuhi prosedur penelitian.
2. Bersedia memberikan 'informed consent'.
3. Berumur antara 18-60 tahun.
4. Tidak mempunyai pertalian darah dengan sukarelawan lain.
5. Tidak makan obat apa pun minimal 3 hari sebelum penelitian dimulai dan tidak makan obat lain selama penelitian berlangsung.

Penjelasan:

Ad 1. Sukarelawan dinyatakan sehat berdasarkan:

1. Anamnesis: Tidak dalam keadaan sakit dan sebelumnya tidak mempunyai riwayat penyakit berat yang dapat mempengaruhi fungsi hati dan ginjal, menderita alkoholisme, atau makan obat kronis.
2. Pemeriksaan fisik: Tidak menunjukkan kelainan pada pemeriksaan fisik yang meliputi pengamatan keadaan umum, pemeriksaan dada dan abdomen dengan palpasi dan auskultasi, adanya ikterus, spider nevi, edema, dan hipertensi sedang

atau berat (tekanan darah diastolik \geq 105 mmHg).

3. **Pemeriksaan laboratorium:** Oleh karena terbatasnya dana penelitian, pemeriksaan laboratorium (penentuan kadar transaminase serum, fosfatase alkali, bilirubin, protein total, albumin, dan kreatinin serum) tidak dapat dilakukan pada seluruh subyek. Untuk ini diutamakan subyek dengan berat badan yang menyimpang $>$ 10 % dari berat ideal atau bila keterangan yang diberikan pada anamnesis ada yang dianggap meragukan. Kriteria ini dianggap cukup memadai karena:

- a. Hampir seluruh sukarelawan adalah karyawan atau staf pengajar yang setiap hari bekerja di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI). Selama ini mereka diketahui sebagai individu yang sehat. Sebagian di antara mereka telah berulang kali menjalani pemeriksaan laboratorium seperti ini pada keikutsertaan dalam penelitian lain sebelumnya di Bagian Farmakologi FKUI.
- b. Metabolisme obat hanya akan terganggu pada penyakit hati yang berat, misalnya sirosis (Creasey, 1979; Boyer, 1978; Rowland & Tozer, 1980).

Ad 2. Sesuai dengan prinsip-prinsip Deklarasi Helsinki, dimintakan 'informed consent' secara lisan dari seluruh sukarelawan. Dalam penelitian ini sukarelawan diberi penggantian biaya transpor dan sekedar uang lelah. Protokol penelitian ini telah mendapat persetujuan Panitia Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Ad 4. Dalam studi ini, pengertian pertalian darah adalah hubungan orangtua - anak kandung, saudara sekandung dan saudara sepupu.

2. Kriteria penolakan

Subyek wanita yang sedang hamil atau menyusui.

Khusus untuk penelitian yang melibatkan penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin (penelitian tahap I dan penelitian tahap II.3) yang mengukur log % ekskresi hidroksimefenitoin (HMN) dalam urin 8 jam, subyek yang ekskresi kreatininnya dalam urin 8 jam kurang dari 50 mg tidak diikutsertakan dalam analisis hasil, karena menurut Inaba *et al.* (1988) ini menunjukkan adanya ketidakpatuhan ('non-compliance') subyek yaitu pengumpulan urin yang kurang. Dengan demikian tidak sah untuk mengukur log % ekskresi HMN tersebut (untuk penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin, syarat ekskresi kreatinin ini tidak diperlukan karena yang diukur adalah rasio kadar obat dengan metabolitnya).

C. Pemberian obat dan pengambilan sampel darah/urin

1. Penelitian tahap I

Pada tahap ini diikutsertakan 30 sukarelawan.

Untuk menentukan fenotip N-asetilasi secara sekuensial, kepada tiap sukarelawan diberikan 100 mg (1 tablet) dapson (Kimia Farma) yang diminum pada jam 6 pagi setelah berpuasa semalam sebelumnya. Tiga jam setelah pemberian obat diambil darah vena sebanyak 6 ml. Setelah itu sukarelawan dibolehkan sarapan. Sampel darah dicampur hati-hati dengan setetes larutan natrium heparin (Leo) berkadar 1000 unit/ml, kemudian disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm (950 g). Plasma yang diperoleh segera disimpan pada suhu -25°C sampai saat pengukuran kadar dapson (DDS) dan monoasetildapson (MADDS).

Untuk menentukan fenotip oksidasi jenis debrisoquin/spartein secara sekuensial, seminggu kemudian kepada sukarelawan diberikan 100 mg (satu tablet) metoprolol

tartrat (Seloken^R, Fujisawa) pada jam 6.00 setelah berpuasa semalam sebelumnya. Sesaat sebelum minum obat, subyek diminta mengosongkan kandung kemihnya. Setelah itu semua air seni yang diproduksi dalam waktu 8 jam berikutnya (sampai jam 14.00) ditampung dalam botol plastik. Sukarelawan diminta minum 500 ml air antara jam 6.00-10.00 agar dapat berkemih cukup banyak. Volume urin 8 jam dicatat dan 3 ml contoh urin segera disimpan pada suhu -25°C sampai saat pengukuran kadar metoprolol (ML) dan α -hidroksimetoprolol (HML).

Untuk menentukan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin, seminggu kemudian dengan cara yang sama seperti untuk ML, diberikan 100 mg (1 tablet) mefenitoin rasemat (Mesantoin^R, Sandoz) kepada sukarelawan. Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan pada 10 sukarelawan pertama, ternyata dijumpai efek samping sedasi yang agak berat pada 2 sukarelawan. Untuk mencegah terulangnya efek samping ini, pada penelitian selanjutnya dosis mefenitoin (MN) rasemat dikurangi menjadi 50 mg dan diberikan pada jam 22.00 setelah berpuasa 3 jam sebelumnya. Urin ditampung dari jam 22.00 sampai jam 6.00 keesokan harinya. Setelah dicatat volumenya diambil masing-masing 3 ml dan 5 ml untuk penentuan kadar hidroksimefenitoin dan penentuan jumlah ekskresi kreatinin. Sampel urin disimpan pada suhu -25°C sampai saat penentuan kadar obat. Oleh karena dosis yang biasa digunakan oleh peneliti lain untuk penentuan fenotip oksidasi jenis S-MN adalah 100 mg, maka dilakukan penelitian tambahan untuk membuktikan bahwa dengan dosis 50 mg diperoleh hasil yang sama. Penelitian tambahan ini dikerjakan pada 15 sukarelawan yang bersedia memberikan 'informed consent'.

Untuk menentukan fenotip ketiga jenis polimorfisme metabolisme di atas secara serentak, seminggu kemudian kepada sukarelawan diberikan 100 mg DDS + 100 mg ML + 50 mg MN rasemat yang dimakan sekaligus pada jam 6.00 setelah berpuasa

semalam sebelumnya. Tiga jam setelah pemberian obat diambil 6 ml darah vena untuk penentuan kadar DDS dan MADDS. Urin ditampung hingga jam 14.00 untuk penentuan kadar ML, HML, dan S-MN. Pencatatan volume urin dan penyimpanan spesimen dilakukan seperti yang telah diuraikan sebelumnya. Selain itu 5 ml urin juga dikirim ke laboratorium patologi klinik untuk menentukan jumlah ekskresi kreatinin.

2. Penelitian tahap II

Pada tahap ini diikuti 104 sukarelawan (termasuk 30 subyek yang mengikuti penelitian pendahuluan).

Kepada sukarelawan diberikan 100 mg DDS yang diminum pada jam 6.00 setelah berpuasa semalam sebelumnya. Tiga jam setelah itu diambil darah vena sebanyak 6 ml. Setelah itu sukarelawan dibolehkan sarapan. Pembuatan dan penyimpanan plasma untuk penentuan kadar DDS dan MADDS dilakukan seperti yang telah diuraikan pada tahap I.1. Pada jam 22.00 hari yang sama sukarelawan diminta minum 100 mg ML + 50 mg MN rasemat setelah berpuasa 3 jam sebelumnya. Sesaat sebelum minum obat, sukarelawan diminta mengosongkan kandung kemihnya, selanjutnya urin ditampung selama 8 jam berikutnya. Sukarelawan diminta minum air 300 ml agar diperoleh diuresis yang cukup. Pencatatan volume dan penyimpanan urin dilakukan seperti yang telah diuraikan pada tahap I.1.

3. Penelitian tahap III

Dari hasil penelitian tahap II direncanakan memilih 12 sukarelawan yang mempunyai fenotip EM dan 12 sukarelawan yang mempunyai fenotip PM untuk hidrosilasi S-MN (jumlah subyek dibatasi oleh frekuensi PM yang relatif kecil).

Kepada setiap sukarelawan diberikan 200 mg (2 tablet) proguanil hidroklorid (Paludrine^R, ICI, UK) pada jam 8.00 yang diminum dengan 200 ml air setelah berpuasa semalam sebelumnya. Sesaat sebelum makan obat, sukarelawan diminta mengosongkan kandung kemihnya. Dua jam kemudian sukarelawan dibolehkan sarapan. Urin ditampung selama 12 jam. Setelah dicatat volumenya, 3 ml contoh urin disimpan pada suhu -25°C sampai dilakukan penentuan kadar PG dan sikloguanil (CG).

Pemberian obat serta pengambilan sampel darah dan urin dikerjakan di Jakarta. Pengukuran kadar seluruhnya dikerjakan di Clinical Research Institute, Tokyo, Japan. Dalam perjalanan, sampel disimpan dalam kotak 'styrofoam' yang berisi es kering. Ketika tiba di tempat tujuan, seluruh bahan pemeriksaan masih dalam keadaan beku.

D. Pengukuran kadar obat

1. Dapson dan monoasetildapson

Kadar DDS dan MADDS dalam plasma ditentukan dengan KCKT menurut cara yang dikemukakan oleh Horai *et al.* (1985), yaitu sebagai berikut:

Bahan: DDS disumbangkan oleh Yoshitomi (Osaka, Japan), MADDS disumbangkan oleh Warner-Lambert (Ann Arbor, MI, USA), m-aminofenilsulfon (mAPS) sebagai IS ('internal standard') dibeli dari Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Asetonitril (kualitas KCKT), metanol (kualitas KCKT), diklormetan, asam asetat dan natrium hidroksid dibeli dari Wako (Osaka, Japan).

Alat: Pengukuran kadar dilakukan dengan perangkat KCKT buatan Hitachi (Tokyo, Japan) yang terdiri dari pompa model L-6000, detektor ultraviolet model L-

4000, 'autosampler' model AS-2000 dan integrator D-2000. Pengering hampa ('vacuum evaporator') model VC-360 dan kondensator model VA-300 adalah buatan Taitec (Tokyo, Japan). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 250 nm. Pemisahan dilakukan dengan kolom Hibar Lichrosorb RP-18 (diameter dalam 250 mm X 4 mm) dengan ukuran partikel 5 μm (Merck, Darmstad, FRG). Fase gerak ('mobile phase') terdiri dari campuran air:asetonitril:asam asetat = 73:25:2 (v/v/v). 'Degassing' dilakukan dengan memberi tekanan negatif selama 8 min untuk setiap liter fase gerak. Laju aliran ('flow rate') ialah 1,3 ml/min pada suhu kamar.

Preparasi sampel: Setengah ml plasma dipipetkan ke dalam tabung reaksi gelas dengan tutup berlapis politetrafluoroetilen (PTFE) dan kemudian dicampur dengan 200 μl larutan IS (berkadar 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 100 μl larutan natrium hidroksid 1 M, dan 3 ml diklormetan. Setelah ditutup rapat, tabung divorteks selama satu menit, lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian lapisan atas dibuang dengan jalan aspirasi. Diklormetan yang ada di lapisan bawah dituang ke tabung gelas lain yang lebih kecil lalu dikeringkan dengan pengering hampa pada suhu 35°C. Residu kemudian dilarutkan kembali (rekonstitusi) dengan fase gerak sebanyak 100 μl . Volume yang disuntikkan ke dalam kolom KCKT ialah 20 μl . Larutan baku ('stock solution') DDS, MADDS dan mAPS semuanya berkadar 1 mg/ml dalam metanol. Semua tabung yang berisi larutan baku dan larutan kerja ('working solution') dibungkus dengan kertas aluminium dan disimpan pada suhu -25°C. Kurva standar untuk DDS dan MADDS dibuat dengan kadar 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 dan 4,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ plasma. Bagan penentuan kadar DDS dan MADDS dalam plasma ini dapat dilihat pada Lampiran A.

2. Metoprolol dan α -hidroksimetoprolol

Kadar ML dan HML dalam urin ditentukan dengan KCKT menurut cara yang dikemukakan oleh Horai *et al.* (1988d), yaitu sebagai berikut:

Bahan: Metoprolol tartrat dan α -hidroksimetoprolol diperoleh dari Ciba-Geigy (Basle, Switzerland). Pindolol yang digunakan sebagai IS diberikan oleh Sandoz Pharma (Basle, Switzerland). Asetonitril (kualitas KTKC), diklormetan, natrium hidroksida, trietilamin, asam fosfat semuanya dibeli dari Wako (Osaka, Japan).

Alat: Pengukuran kadar dilakukan dengan perangkat KCKT yang sama dengan yang digunakan untuk pengukuran kadar DDS dan MADDs, kecuali detektor yang digunakan ialah detektor fluoresens buatan Shimadzu model RF-535 (Kyoto, Japan). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang eksitasi 230 nm dan emisi 300 nm. Pemisahan dilakukan dengan kolom 'reversed-phase' Zorbax, Du Pont Instrument (diameter dalam 250 mm X 4 mm) dengan ukuran partikel 5 μ m. Fase gerak ('mobile phase') terdiri dari campuran air : asetonitril : asam asetat = 73 : 25 : 2 (v/v/v). 'Degassing' dilakukan dengan memberi tekanan negatif selama 8 min untuk setiap liter fase gerak. Laju aliran ('flow rate') ialah 1,3 ml/min pada suhu 40°C.

Preparasi sampel: Dua ratus μ l urin dipipetkan ke dalam tabung gelas dengan tutup berlapis PTFE dan kemudian dicampur dengan 150 μ l IS (kadar 600 μ g/ml), 0,5 ml natrium hidroksid 1 M, dan 3 ml diklormetan. Setelah ditutup rapat, tabung divortex selama satu menit, lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian lapisan atas dibuang dengan jalan aspirasi. Diklormetan yang ada di lapisan bawah kemudian dituang ke tabung gelas lain yang lebih kecil lalu dikeringkan dengan penguap hampa pada suhu 35°C. Residu kemudian dilarutkan kembali dengan fase gerak sebanyak 150 μ l. Volume yang disuntikkan ke dalam kromatograf ialah 30 μ l. Larutan baku ML dan HML berkadar 1 mg/ml dalam air, sedangkan pindolol

berkadar 600 $\mu\text{g/ml}$ dalam metanol. Semua tabung yang berisi larutan baku dan larutan kerja dibungkus dengan kertas aluminium dan disimpan pada suhu -25°C . Kurva standar untuk ML dan HML dibuat dengan kadar 0,5; 1; 2; 5; dan 10 $\mu\text{g/ml}$ dalam urin. Bagan pengukuran kadar ML dan HML dalam urin dapat dilihat pada Lampiran B.

3. 4-hidroksimefenitoin

Kadar HMN ditentukan dengan kromatografi gas menurut cara yang dikemukakan oleh Küpfer *et al.*(1981), yaitu sebagai berikut:

Bahan: HMN diperoleh dari Clinical Research Institute (Tokyo, Japan), 1-iodopropan dibeli dari Janssen Chimica (Belgium), 5-metil-5-fenilhidantoin sebagai IS dibeli dari Aldrich Milwaukee, WI, USA). Dimetilsulfoksid (DMSO), metanol, heptan, etilasetat, dietileter, kalsium hidrazid, natrium hidrazid, asam klorid dibeli dari Wako (Osaka, Japan).

Alat: Kromatograf gas yang digunakan adalah buatan Shimadzu (Osaka, Japan) model GC-9A yang dilengkapi dengan kolom kapiler gelas DB-1 (15 m X 0,32 mm, ketebalan film 1,5 μm , J&W Scientific, Rancho, Cordova, Calif.) dan 'Flame Ionization Detector' (FID). Integrator yang dipakai adalah buatan Shimadzu (Osaka, Japan) model Chromatopac C-R6A. Helium digunakan sebagai gas pembawa ('carrier gas') dengan laju aliran 15 ml/min. Laju aliran 'makeup gas' ialah 50 ml/min. Suhu pada tempat suntik ('injection port') dan detektor ialah 280°C . Suhu awal kolom ialah 170°C dan diprogram naik $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sehingga mencapai suhu akhir 250°C .

Preparasi sampel: Setengah ml urin, 25 μl IS berkadar 2 mg/ml, dan 0,5 ml asam klorid 20% dipipetkan ke dalam tabung reaksi pireks dengan tutup berlapis

PTFE. Campuran ini diinkubasi pada suhu 100°C selama 2 jam (proses hidrolisis asam) kemudian didinginkan dengan merendam bagian bawah tabung dalam air pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah itu dipipetkan 2 ml etilasetat ke dalamnya. Tabung lalu divorteks selama 1 menit dan disentrifus selama 5 menit pada kecepatan 3000 rpm. Fase organik yang ada di lapisan atas lalu dipindahkan ke tabung reaksi bertutup yang lain dan dikeringkan dengan hembusan udara pada pemanasan 40°C (kurang lebih satu jam). Bahan yang masih melekat di dinding dalam tabung diendapkan ke dasar tabung dengan mengalirkan $250\ \mu\text{l}$ etilasetat dan kemudian dikeringkan lagi dengan hembusan udara. Pada residu lalu dipipetkan $50\ \mu\text{l}$ DMSO dalam kalsium hidrazid dan $250\ \mu\text{l}$ heptan. Campuran ini lalu divorteks selama 30 detik, lalu dipipetkan ke dalamnya $20\ \mu\text{l}$ 1-iodopropan dan $200\ \mu\text{l}$ suspensi segar natrium hidrazid dalam heptan ($50\ \text{mg/ml}$). Campuran ini didiamkan dalam suhu kamar selama 30 menit, kemudian dipipetkan 1 ml air serta 3 ml dietileter ke dalamnya, lalu divorteks selama 1 menit. Setelah disentrifus (5 menit, 3000 rpm), fase organik yang ada di lapisan atas dipindahkan dengan pipet Pasteur ke tabung gelas lain yang berukuran lebih kecil dan selanjutnya dikeringkan dengan hembusan udara pada suhu 40°C (kurang lebih 15 menit). Residu dilarutkan kembali dengan $100\ \mu\text{l}$ metanol. Volume yang disuntikkan ke kromatograf ialah $0,4\ \mu\text{l}$. Larutan baku HMN berkadar $1\ \text{mg/ml}$ dalam metanol dan disimpan dalam tabung yang dibungkus dengan kertas aluminium pada suhu -25°C . Kurva standar HMN dibuat dengan kadar 10, 25, 50 dan $100\ \mu\text{g/ml}$ dalam urin. Kurva standar ini hanya dapat dibuat satu kali karena larutan baku yang ada tidak mencukupi. Bagan pengukuran kadar HMN dalam urin dapat dilihat pada Lampiran C.

4. Proguanil dan sikloguanil

Penentuan kadar PG dan CG ditentukan dengan KCKT yang metodenya dikembangkan sendiri oleh penulis, yaitu sebagai berikut:

Bahan: Proguanil hidroklorid dan sikloguanil diberikan oleh ICI (UK). Klorpromazin sulfoksid sebagai 'internal standard' diberikan oleh Clinical Research Institute (Tokyo, Japan). Asetonitril (kualitas KTKC), asam asetat, trietilamin, asam format, dan natrium hidroksid dibeli dari Wako (Osaka, Japan).

Alat: Pengukuran kadar PG dan SG dilakukan dengan perangkat KCKT yang sama dengan yang digunakan untuk mengukur DDS dan MADDS (lihat butir D.1.). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 254 nm. Separasi dilakukan dengan kolom Partisil SCX (Gasukuro Kogyo, Tokyo, Japan) dengan diameter dalam 250 X 4,6 mm dan ukuran partikel 5 μ m. Fase gerak terdiri dari campuran (asam asetat:trietilamin:air = 0,57:0,75:98,68 v/v/v; pH diturunkan sampai 3,0 dengan meneteskan asam format) : asetonitril = 7:1. 'Degassing' dilakukan dengan memberi ultrasonikasi dan tekanan negatif selama 8 menit untuk setiap liter fase gerak. Laju aliran ialah 1,5 ml/min. Semua alat gelas yang dipakai telah disilanisasi lebih dahulu.

Preparasi sampel: Dua puluh μ l urin, 980 μ l air, 25 μ l IS berkadar 8 μ g/ml, 0,1 ml natrium hidroksid, dan 3 ml diklormetan dipipetkan ke dalam tabung reaksi gelas dengan tutup berlapis PTFE. Setelah ditutup rapat, tabung divorteks selama 1 menit lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Cairan yang ada di lapisan atas dibuang dengan jalan aspirasi. Diklormetan yang ada di lapisan bawah dituang ke tabung lain yang lebih kecil, lalu dikeringkan dengan pengering hampa pada suhu 40°C (selama kurang lebih 25 menit). Residu kemudian dilarutkan kembali dengan 130 μ l fase gerak. Volume yang disuntikkan ke KCKT ialah 100 μ l. Larutan baku PG, SG, dan klorpromazin sulfoksid semuanya berkadar 1 mg/ml dalam metanol. Semua tabung yang berisi larutan baku dan larutan kerja dibungkus dengan kertas aluminium dan disimpan pada suhu -25°C. Kurva standar untuk PG dan CG dibuat dengan kadar 50, 100 dan 200 ng/ml urin. Bagan penentuan kadar PG dan SG

dapat dilihat pada Lampiran D.

E. Uji validitas metode penentuan kadar

1. Uji temu kembali ('recovery test')

Penentuan kadar obat dalam cairan biologis (plasma, urin, dll) biasanya tidak dapat dilakukan dengan menyuntikkan langsung bahan pemeriksaan ke KCKT karena ada banyak zat lain yang mengganggu pengukuran. Karena itu diperlukan proses ekstraksi (lihat metode preparasi sampel di atas). Karena proses ekstraksi ini tidak selalu dapat menarik seluruh obat yang akan diukur dari bahan pemeriksaan, maka diperlukan parameter untuk menunjukkan derajat keberhasilannya, yaitu nilai temu kembali ('recovery') yang ditentukan sebagai berikut:

$$\text{Temuan kembali} = \frac{\text{tinggi puncak dengan proses ekstraksi}}{\text{tinggi puncak tanpa proses ekstraksi}} \times 100\%$$

Contoh:

Uji temu kembali untuk DDS dikerjakan sebagai berikut:

Disediakan 2 tabung (A dan B), dan ke dalamnya dipipetkan masing-masing 0,1 ml larutan kerja yang mengandung DDS 10 $\mu\text{g/ml}$ metanol. Metanol dalam kedua tabung dikeringkan dengan hembusan udara sehingga yang tertinggal adalah residu dengan jumlah yang sama di dasar masing-masing tabung. Ke dalam tabung A dipipetkan 0,5 ml plasma kontrol ('blank plasma') lalu divorteks selama 30 detik. Dengan demikian tabung A sekarang berisi DDS 1 μg dalam bentuk larutan dalam 0,5

ml plasma, sedang tabung B juga berisi DDS 1 μg tetapi sebagai kristal. Proses ekstraksi dilakukan pada isi tabung A seperti yang diuraikan butir D.1, hanya di sini tidak dibubuhi standar dalam karena tidak dimaksudkan untuk pengukuran kadar. Dari 3 ml diklormetan yang dipipetkan ke dalam tabung pada tahap awal ekstraksi, diambil 2 ml untuk dikeringkan. Selanjutnya dipipetkan masing-masing 0,1 ml fase gerak ke tabung A dan B. Setelah divorteks (30 detik), disuntikkan masing-masing 20 μl isi tabung A dan B ke KCKT. Tinggi puncak yang diperoleh setelah proses ekstraksi (tabung A) ialah 10913. Angka ini harus dikalikan faktor koreksi 1,5 karena dari 3 ml diklormetan yang dipipetkan, hanya 2 ml yang dapat diambil kembali untuk dikeringkan. Dengan demikian tinggi puncak yang diperoleh dengan proses ekstraksi ialah $10913 \times 1,5 = 16370,5$. Tinggi puncak yang diperoleh tanpa proses ekstraksi (tabung B) ialah 16571. Temuan kembali setelah proses ekstraksi DDS ini ialah :

$$\frac{16370,5}{16571} \times 100\% = 98,8\%$$

Penentuan ini diulang 6-7 kali untuk mendapatkan nilai rata-rata dan deviasi standarnya.

2. Uji ketepatan pengukuran kadar

Uji ketepatan pengukuran kadar ini selain memperlihatkan ketepatan ('accuracy') juga memperlihatkan ketelitian hasil pengukuran ('precision'). Uji ketepatan dan ketelitian pengukuran kadar dalam penelitian ini menggunakan kriteria yang ditetapkan dalam konferensi "Analytical Methods Validation, Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies" di Washington tahun 1990 (Shah *et al.*,

1992) yaitu nilai rata-rata uji ketepatan tidak boleh menyimpang lebih dari 15% dari nilai sebenarnya, kecuali untuk kadar minimal yang terukur (*lowest limit of quantitation*) ditetapkan batas penyimpangan tidak lebih dari 20%. Dengan demikian uji ketepatan dianggap memenuhi syarat bila berkisar antara 85 - 115% (untuk kadar minimal yang terukur berkisar antara 80 - 120 %). Koefisien variasi (KV) dianggap memenuhi syarat bila tidak melebihi 15% (KV untuk kadar minimal yang terukur tidak lebih dari 20%).

Uji ketepatan hasil pengukuran ini dilakukan dalam satu hari dan juga dari hari ke hari.

3. Faktor persamaan garis kurva standar

Variasi nilai 'slope' (tangens) dari persamaan garis kurva standar dari hari ke hari merupakan parameter penting untuk menentukan validitas metode bila digunakan kurva standar gabungan. Dalam penelitian ini tidak digunakan kurva standar gabungan, tetapi dibuat kurva standar baru untuk setiap kali pengukuran kadar (kurva standar harian) sehingga sebenarnya tidak diperlukan nilai 'slope' gabungan. Namun untuk mendapat informasi apakah kurva gabungan atau harian yang lebih tepat digunakan, data kurva gabungan juga akan dipaparkan.

F. Perhitungan untuk menentukan kadar

Untuk menentukan kadar obat perlu ditetapkan dulu persamaan garis kurva standar. Kurva ini menggambarkan hubungan antara kadar obat pada absis dan rasio tinggi puncak ('peak height ratio', PHR) pada ordinat. Yang dimaksud dengan PHR

ialah rasio antara tinggi puncak ('peak height', PH) dari zat yang akan ditentukan kadarnya dengan PH dari IS. Data PH ini dapat dibaca langsung dalam bentuk angka pada hasil cetak integrator. Dengan perhitungan regresi kemudian dapat ditentukan persamaan garis untuk kurva standar yaitu:

$$y = A + Bx$$

di mana:

x = kadar zat yang akan diukur

y = rasio antara tinggi puncak zat yang akan diukur kadarnya dengan tinggi puncak standar dalam

A = titik potong kurva standar dengan ordinat

B = 'slope' persamaan garis kurva standar

Bila persamaan garis kurva standar telah ditentukan, dengan memasukkan nilai y (yaitu PHR zat yang akan diukur kadarnya) ke persamaan garis tersebut akan dapat dihitung nilai x , yaitu kadar zat yang ingin diukur.

Bila kadar yang diperoleh lebih rendah dari kadar terendah pada kurva standar, pengukuran kadar diulang dengan melipatgandakan volume sampel urin. Sebaliknya bila didapat kadar yang lebih tinggi kadar tertinggi pada kurva standar, pengukuran diulang dengan mengencerkan sampel urin.

Contoh perhitungan:

Untuk menghitung kadar metoprolol dalam suatu sampel urin, mula-mula disiapkan 5 larutan standar metoprolol dalam urin (S1, S2, S3, S4, dan S5) yang masing-masing berkadar 2,5; 5; 10; 25; dan 50 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian dilakukan proses ekstraksi

(*in duplo*) terhadap kelima standar ini beserta sampel urin yang akan ditentukan kadar metoprololnya (U) sesuai dengan metode yang tercantum pada Lampiran B. Setelah disuntikkan ke KCKT, dari hasil cetak integrator diperoleh data PH untuk ML dan untuk IS (Tabel III.1, kolom 2 dan kolom 3). Dengan membagi angka pada kolom 2 dengan angka pada kolom 3 diperoleh PHR (kolom 4). Makin tinggi kadar ML, makin besar nilai PHR yang didapat. Persamaan garis regresi (= kurva standar) yang menggambarkan hubungan antara kadar S1 s/d S5 (kolom 1) dengan PHR-nya masing-masing (kolom 4) dapat dihitung. Dalam contoh ini didapat nilai A = 0,043072; B = 0,071292; dan r (koefisien korelasi) = 0,998564. Dengan demikian didapat persamaan garis untuk kurva standar sebagai berikut:

$$y = 0,0431 + 0,0713x$$

$$\text{Maka kadar obat} = x = \frac{y - 0,0431}{0,0713}$$

Sampel urin U yang akan ditentukan kadar ML-nya memberikan PHR 0,7718 dan 0,7542 (ada 2 nilai karena diukur *in duplo*). Kadar ML dalam sampel urin U (= x) dapat dihitung karena nilai PHR-nya (= y) telah diketahui dari kromatogram (dalam contoh ini ialah 10,10 $\mu\text{g/ml}$).

Kurva standar ini dapat dilihat pada Gambar III.1.

Tabel III.1. Contoh perhitungan kadar metoprolol dalam sampel urin dengan persamaan garis kurva standar.

Standar	Kadar (ug/ml)	PH		PHR
		ML (2)	IS (3)	
	(1)			(4)
S1	2,5	1161	6551	0,1772
S1	2,5	1224	6486	0,1887
S2	5	2406	6296	0,3821
S2	5	2322	6046	0,3841
S3	10	4770	6173	0,7727
S3	10	4630	6018	0,7694
S4	25	11106	5902	1,8817
S4	25	11622	6035	1,9258
S5	50	19898	5629	3,5349
S5	50	20326	5641	3,6033
U		4462	5781	0,7718
U		4312	5717	0,7542

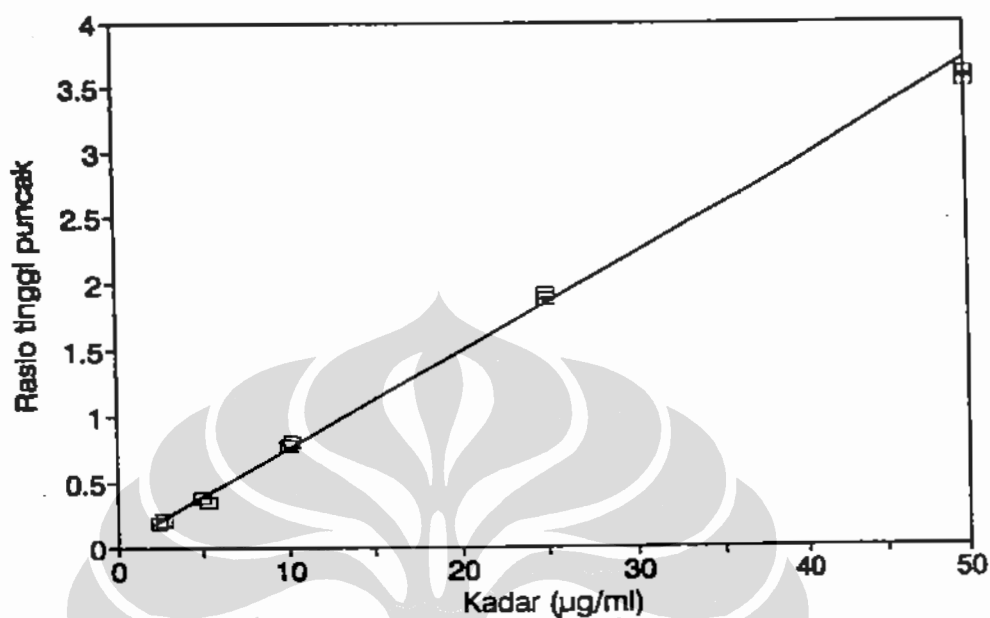
Persamaan garis kurva standar:

$$y = 0,0431 + 0,0713x \quad r = 0,99856$$

Kadar ML dalam sampel urin U
(in duplo) ialah: 10,2202 dan 9,9734 ug/ml
Kadar rata-rata = 10,0968 ug/ml

KETERANGAN:

- PH = Tinggi puncak, 'peak height'
 PHR = Rasio tinggi puncak, 'peak height ratio'
 ML = Metoprolol
 IS = Standar dalam, 'internal standard'
 S1 s/d S5 = Larutan standar ML dalam urin
 U = Sampel urin yang akan diukur kadar ML-nya



Gambar III.1. Contoh kurva standar untuk penentuan kadar metoprolol dalam urin.

G. Kriteria penentuan fenotip

1. N-asetilasi dapson

Individu tergolong SA bila rasio kadar MADDs/DDS dalam plasma $\leq 3,0$ dan tergolong RA bila rasio ini $\geq 3,5$. Individu yang mempunyai rasio di antara kedua nilai ini disebut 'indeterminate acetylator' (Reidenberg *et al.*, 1975; Carr *et al.*, 1978).

2. Oksidasi metoprolol

Kemampuan seseorang untuk mengoksidasi metoprolol dinyatakan dalam \log_{10} rasio ML/HML dalam urin (\log_{10} MR). Pada subyek Kaukasia, seseorang ditetapkan mempunyai fenotip PM bila mempunyai $MR \geq 12,6$ atau $\log_{10} MR \geq 1,1$ (Mc-Gourty *et al.*, 1985).

3. Oksidasi S-mefenitoin

Oleh karena hanya sedikit sekali MN yang diekskresi di urin dalam bentuk asalnya (Küpfér & Preisig, 1984), maka kemampuan oksidasi S-MN seseorang tidak dinyatakan dalam MR, tetapi dalam persentasi ekskresi HMN (Inaba *et al.*, 1984; Jurima *et al.*, 1985) atau indeks hidrosilasi ('Hydroxylation Index', HI) yaitu jumlah S-MN yang dimakan (= 50% dari dosis rasemat) dibagi dengan jumlah HMN yang diekskresikan dalam urin 8 jam (Küpfér & Preisig, 1984). Perhitungan ini dilakukan dalam satuan mol.

Individu dengan ekskresi HMN < 5 % (atau log % ekskresi < 0,7) tergolong PM (Jurima *et al.*, 1985).

H. Analisis statistik

Penelitian tahap I

Perbandingan rasio metabolik MADDs/DDS dan ML/HML serta indeks hidrosilasi S-MN pada pemberian obat secara terpisah dan secara serentak diuji dengan 'paired t-test' (Meddis, 1975, hal. 116). Karena besar sampel di sini mencapai 30 subyek, maka tidak perlu dilakukan uji normalitas distribusi (Rimm *et al.*, 1980).

Penelitian tahap II.1 s/d II.3

Statistik deskriptif (nilai rata-rata, deviasi standar, maksimum, minimum, dan sebaran frekuensi) digunakan untuk menggambarkan hasil pengamatan fenotip pada populasi. Pengamatan adanya bimodalitas dan antimode dilakukan secara visual pada grafik frekuensi distribusi dan 'probit plot'. Transformasi ke nilai probit dilakukan menurut cara yang diuraikan oleh Lentner (1982). 'Confidence interval' 95% (=P) dari frekuensi SA dan PM ditentukan menurut cara yang diuraikan oleh Glantz (1981), yaitu:

$$p - Z_{\alpha} \cdot S_p < P < p + Z_{\alpha} \cdot S_p$$

di mana: p = proporsi SA atau PM

Z_{α} = 1,96 (untuk 'confidence interval' 95%)

S_p = 'standard error' dari nilai p
 $= \sqrt{\{p(1-p)/N\}}$

N = jumlah subyek = 104

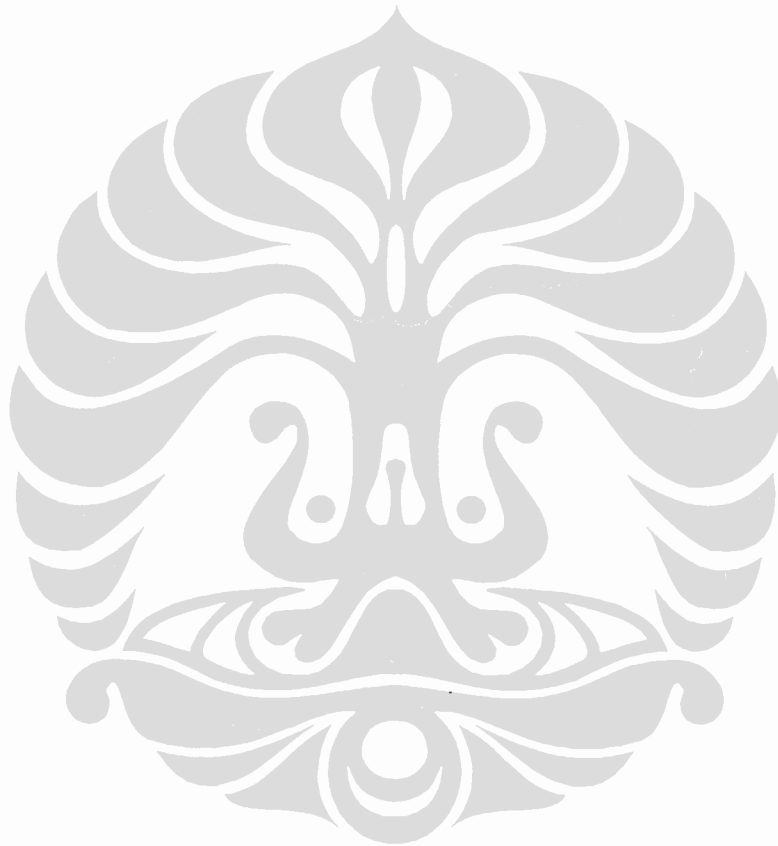
Penelitian tahap III:

Perbedaan kemampuan kelompok EM dengan kelompok PM oksidasi jenis S-mefenitoin untuk memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil diuji dengan 'unpaired t-test' (Meddis, 1975, hal. 92). Parameter yang mencerminkan individu untuk memetabolisme PG menjadi CG ini ialah rasio metabolik PG/CG dalam urin.

Bila distribusi data tidak normal maka terlebih dulu dilakukan transformasi ke bentuk logaritmik sebelum dilakukan 'paired t-test'. Bila setelah transformasi ini masih juga diperoleh distribusi data yang tidak normal, maka akan digunakan cara

nonparametrik yaitu uji Mann-Whitney (Meddis, 1975, hal. 88). Uji normalitas distribusi dilakukan dengan 'Kolmogorov-Smirnov goodness-of-fit test' (Daniel, 1978).

Bila kedua kelompok mempunyai varians yang berbeda bermakna, dilakukan modifikasi perhitungan derajat kebebasan (df) menurut cara yang diuraikan oleh Dixon & Massey (1983, hal. 126).



BAB IV

HASIL

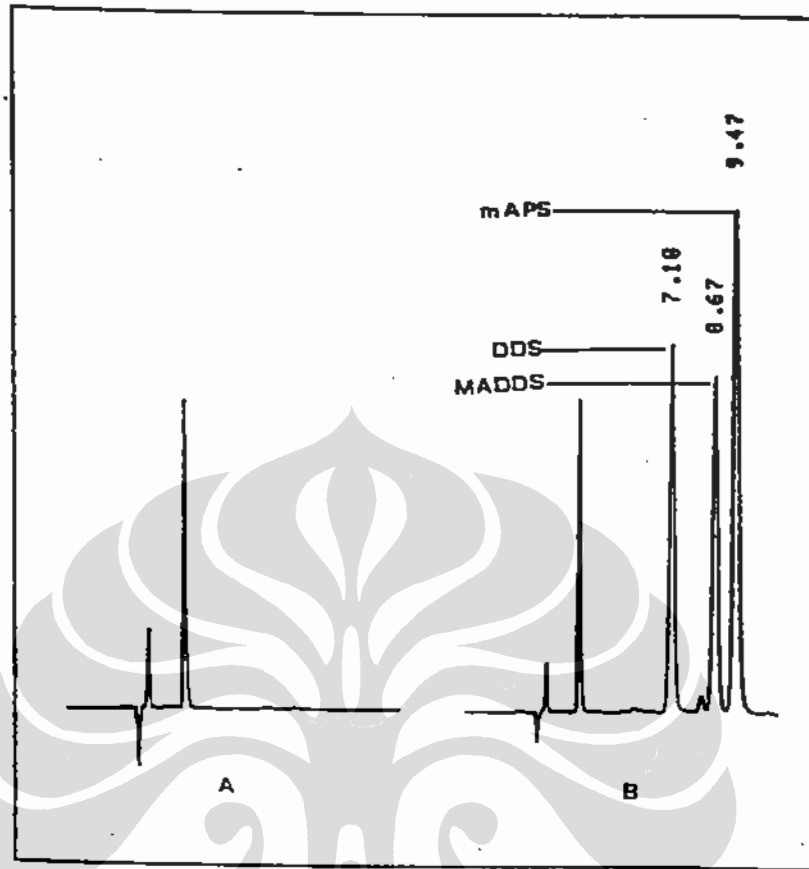
A. Uji metode penentuan kadar obat dan metabolit

1. Uji metode penentuan kadar dapson dan monoasetildapson

Pada Gambar IV.1 dapat dilihat bentuk kromatogram dari plasma kontrol (plasma orang sehat yang tidak mengandung obat apapun) dan plasma kontrol yang mengandung masing-masing 1 μg DDS, 1 μg MADDS, dan 2 μg mAPS (selaku IS) setelah proses ekstraksi. Waktu retensi ('retention time', RT) untuk DDS, MADDS, dan mAPS masing masing adalah 7,1; 8,7; dan 9,5 menit.

Hasil uji temu kembali ('recovery test') rata-rata (\pm SD) untuk DDS, MADDS, dan mAPS masing-masing adalah $104,1 \pm 2,8$; $103,1 \pm 2,4$; dan $97,7 \pm 2,8\%$ (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran E).

Ketepatan rata-rata pengukuran kadar DDS dan MADDS dalam plasma dalam sehari ('within-day variation test') serta dari hari ke hari ('day-to-day variation test') dapat dilihat pada Tabel IV.1. (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran F, G, H, dan I).



Gambar IV.1. Kromatogram plasma kontrol (A) dan plasma kontrol yang mengandung 1 μg dapson (DDS), 1 μg monoasetildapson (MADDs), dan 2 μg m-aminofenilsulfon (mAPS) (B).

TABEL IV.1

KETEPATAN RATA-RATA (\pm SD) PENGUKURAN KADAR DDS DAN MADDS (%) DALAM PLASMA

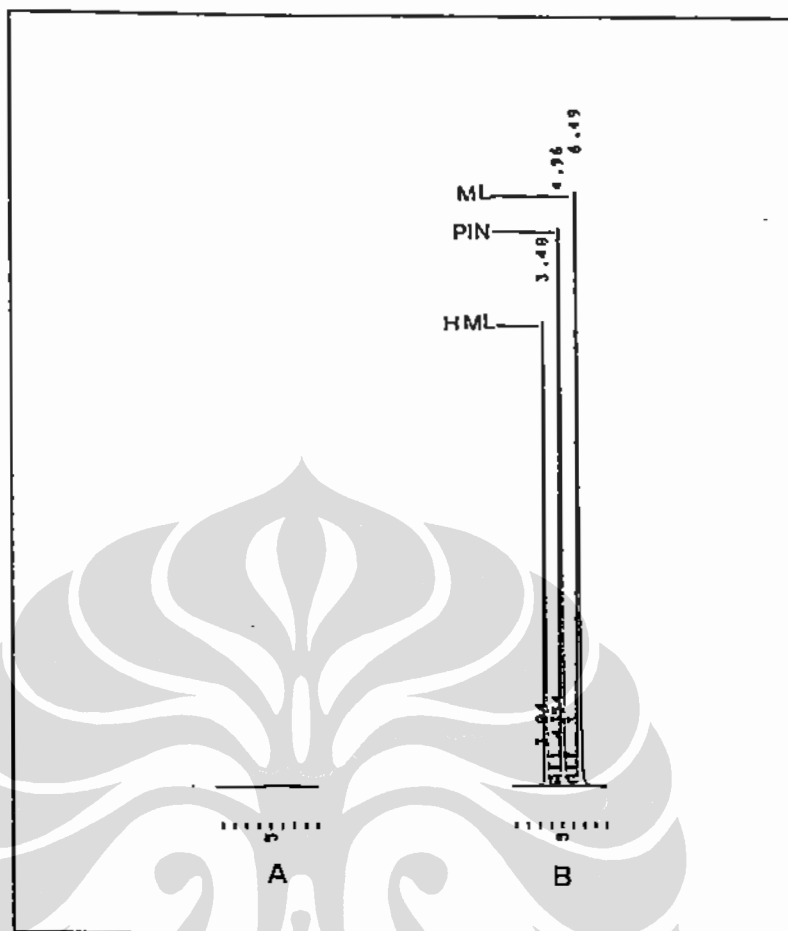
Zat	Dalam sehari pada kadar		Dari hari ke hari pada kadar	
	0,4 μ g/ml	8 μ g/ml	0,4 μ g/ml	8 μ g/ml
DDS	93,9 \pm 4,9	101,7 \pm 1,2	105,2 \pm 7,5	101,4 \pm 3,7
MADDS	101,1 \pm 4,2	102,1 \pm 1,3	106,9 \pm 8,7	102,4 \pm 3,9

'Slope' rata-rata (\pm SD) persamaan garis kurva standar dari hari ke hari untuk DDS dan MADDS masing-masing ialah $0,5278 \pm 0,1631$ dan $0,5309 \pm 0,2208$ (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran J).

2. Uji metode penentuan kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol

Pada Gambar IV.2 dapat dilihat bentuk kromatogram dari urin kontrol (urin orang sehat yang tidak mengandung obat apa pun) dan urin kontrol yang mengandung masing-masing 2 μ g ML, 2 μ g HML, dan 90 μ g PIN (selaku IS) setelah proses ekstraksi. Waktu retensi ML, HML dan PIN masing masing adalah 6,5; 3,5; dan 5,0 menit.

Hasil uji temu kembali rata-rata (\pm SD) untuk ML, HML, dan PIN masing-masing adalah $100,8 \pm 1,3$; $114,9 \pm 1,7$; dan $115,5 \pm 1,7\%$ (data lengkap dapat dilihat dilihat pada Lampiran K).



Gambar IV.2. Kromatogram urin kontrol (A) dan urin kontrol yang mengandung 2 µg metoprolol (ML), 2 µg α-hidroksimetoprolol (HML), dan 90 µg pindolol (PIN) (B).

Ketepatan rata-rata (\pm SD) pengukuran kadar ML dan HML dalam urin dalam sehari serta dari hari ke hari dapat dilihat pada Tabel IV.2 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran L, M, N, dan O).

'Slope' rata-rata (\pm SD) persamaan garis kurva standar dari hari ke hari untuk ML dan HML masing-masing ialah $0,0776 \pm 0,0066$ dan $0,0807 \pm 0,0060$ (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran P).

TABEL IV.2

**KETEPATAN RATA-RATA (\pm SD) PENGUKURAN KADAR ML
DAN HML (%) DALAM URIN**

Zat	Dalam sehari pada kadar		Dari hari ke hari pada kadar	
	2,5 μ g/ml	50 μ g/ml	2,5 μ g/ml	50 μ g/ml
ML	90,3 \pm 2,9	101,7 \pm 2,4	91,6 \pm 11,6	102,2 \pm 0,6
HML	101,6 \pm 3,4	103,7 \pm 2,3	87,8 \pm 8,7	101,6 \pm 0,9

3. Kromatogram penentuan kadar 4-hidroksimefenitoin

Pada Gambar IV.3 dapat dilihat bentuk kromatogram dari urin kontrol dan urin kontrol yang mengandung 25 μ g HMN dan 50 μ g MPH (selaku IS) setelah proses ekstraksi.

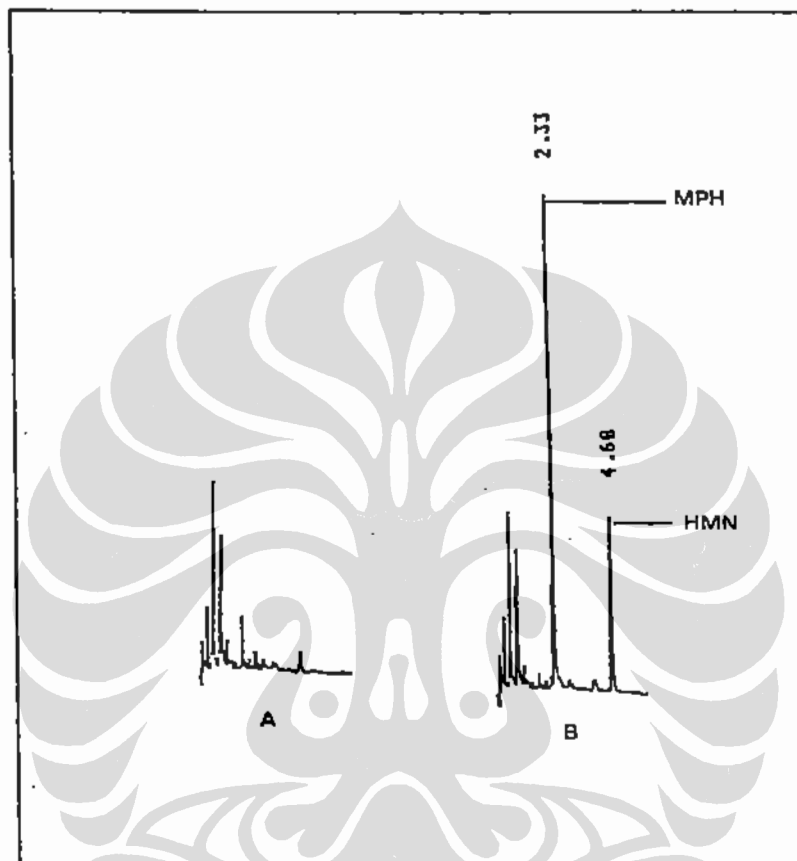
RT untuk HMN dan MPH masing masing adalah 4,7 dan 2,3 menit. Uji temu kembali dan uji ketepatan pengukuran dalam sehari serta dari hari ke hari tidak dapat dikerjakan karena persediaan larutan stok HMN tidak mencukupi.

4. Uji metode penentuan kadar proguanil dan sikloguanil

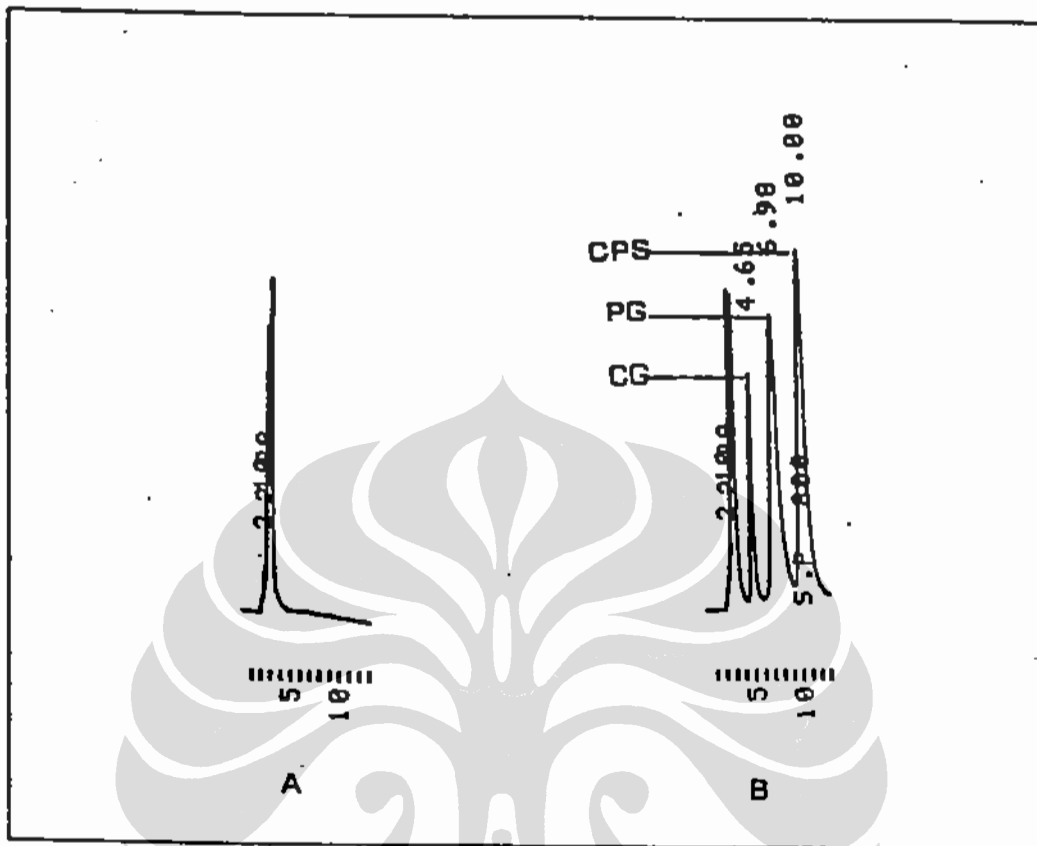
Pada Gambar IV.4 dapat dilihat bentuk kromatogram dari urin kontrol dan urin kontrol yang mengandung masing-masing 1,6 μ g PG; 1,6 μ g CG; dan 1,2 μ g CPS (selaku IS) setelah proses ekstraksi. RT untuk PG, CG dan CPS masing masing adalah 7,0; 4,6; dan 10,0 menit.

Hasil uji temu kembali rata-rata (\pm SD) untuk PG, CG, dan CPS

masing-masing adalah $51,2 \pm 6,6$; $91,0 \pm 7,0$ dan $94,6 \pm 4,4\%$ (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran Q).



Gambar IV.3. Kromatogram urin kontrol (A) dan urin kontrol yang mengandung 25 μg 4-hidroksimefenitoin (HMN) dan 50 μg 5-metil 5-fenilhidantoin (MPH) (B).



Gambar IV.4. Kromatogram urin kontrol (A) dan urin kontrol yang mengandung 1,6 μg proguanil (PG); 1,6 μg sikloguanil (CG); dan 1,2 μg klorpromazin sulfoksid (CPS) (B).

Ketepatan rata-rata pengukuran kadar PG dan CG dalam urin dalam sehari serta dari hari ke hari dapat dilihat pada Tabel IV.3 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran R, S, T, dan U).

'Slope' rata-rata (\pm SD) persamaan garis kurva standar dari hari ke hari untuk PG dan CG masing-masing ialah $0,0046 \pm 0,0005$ dan $0,0037 \pm 0,0009$ (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran V).

TABEL IV.3

**KETEPATAN RATA-RATA (\pm SD) PENGUKURAN KADAR
PG DAN CG (%) DALAM URIN**

Zat	Dalam sehari pada kadar		Dari hari ke hari pada kadar	
	50 μ g/ml	200 μ g/ml	50 μ g/ml	200 μ g/ml
PG	102,1 \pm 3,1	99,0 \pm 3,0	107,0 \pm 6,1	105,1 \pm 4,3
CG	103,9 \pm 9,3	95,9 \pm 4,2	104,1 \pm 5,4	103,3 \pm 4,9

B. Data umum sukarelawan

Dari jumlah 104 sukarelawan (79 pria dan 25 wanita) yang diikutsertakan dalam studi ini, semuanya dapat mengikuti penelitian hingga selesai. Umur, tinggi, dan berat badan rata-rata (\pm SD) subyek masing-masing adalah 36,8 \pm 10,3 tahun, 159,5 \pm 7,4 cm, dan 53,5 \pm 7,4 kg. Sebagian besar (92,4%) sukarelawan tergolong suku Jawa, Sunda, dan Betawi, sisanya adalah suku Minang, Batak, Gorontalo, Flores, dan keturunan Cina. Banyak sukarelawan yang tidak mengetahui dengan pasti mereka tergolong suku yang mana karena merupakan keturunan perkawinan campuran. Rincian data umum sukarelawan ini dapat dilihat pada Lampiran W.

Pemeriksaan faal hati dan ginjal dilakukan pada 83 subyek dan ternyata semuanya memenuhi syarat untuk diikutsertakan dalam penelitian (Lampiran X).

C. Hubungan antara penentuan fenotip secara terpisah dan cara serentak

1. N-asetilasi

Dalam penentuan fenotip cara terpisah, masing-masing obat uji diberikan sebagai obat tunggal, sedangkan pada cara serentak ketiga obat uji diberikan sebagai kombinasi pada saat yang sama.

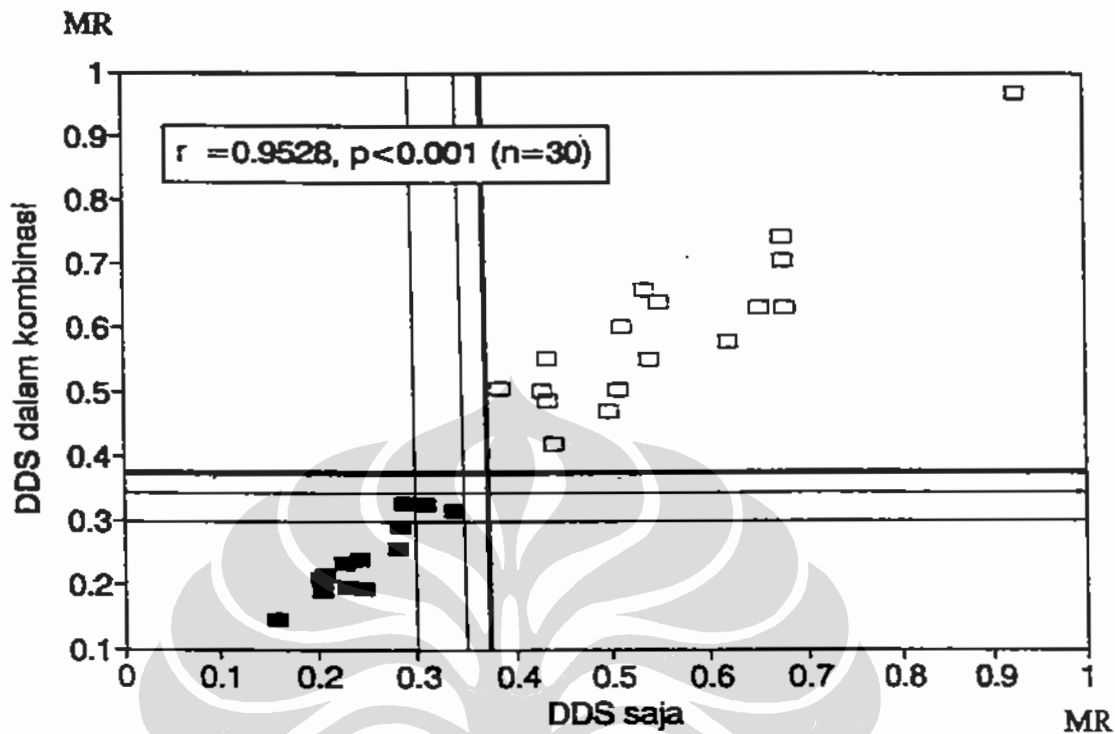
Rasio metabolik rata-rata (\pm SD) untuk pemberian DDS secara terpisah dan serentak dapat dilihat pada Tabel IV.4 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran Y, Z, AA, dan AB). Dengan menggunakan kriteria dari Reidenberg *et al.* (1975) (lihat butir III.G.1), dari 30 subyek, tidak ada satu pun yang fenotipnya berubah dari RA ke SA atau sebaliknya, namun ada satu subyek yang pada pemberian DDS saja mempunyai fenotip SA kemudian berubah menjadi 'indeterminate acetylator' (IA) setelah mendapat DDS dalam kombinasi (subyek No. 10 pada Lampiran AA).

Dengan 'paired t-test' ternyata tidak ditemukan perbedaan rasio metabolik yang bermakna antara kedua kelompok ($p > 0,10$) (Lampiran AB).

Diagram baur yang menggambarkan hubungan antara rasio metabolik dari kedua perlakuan dapat dilihat pada Gambar IV.5.

2. Oksidasi jenis debrisokuin/spartein

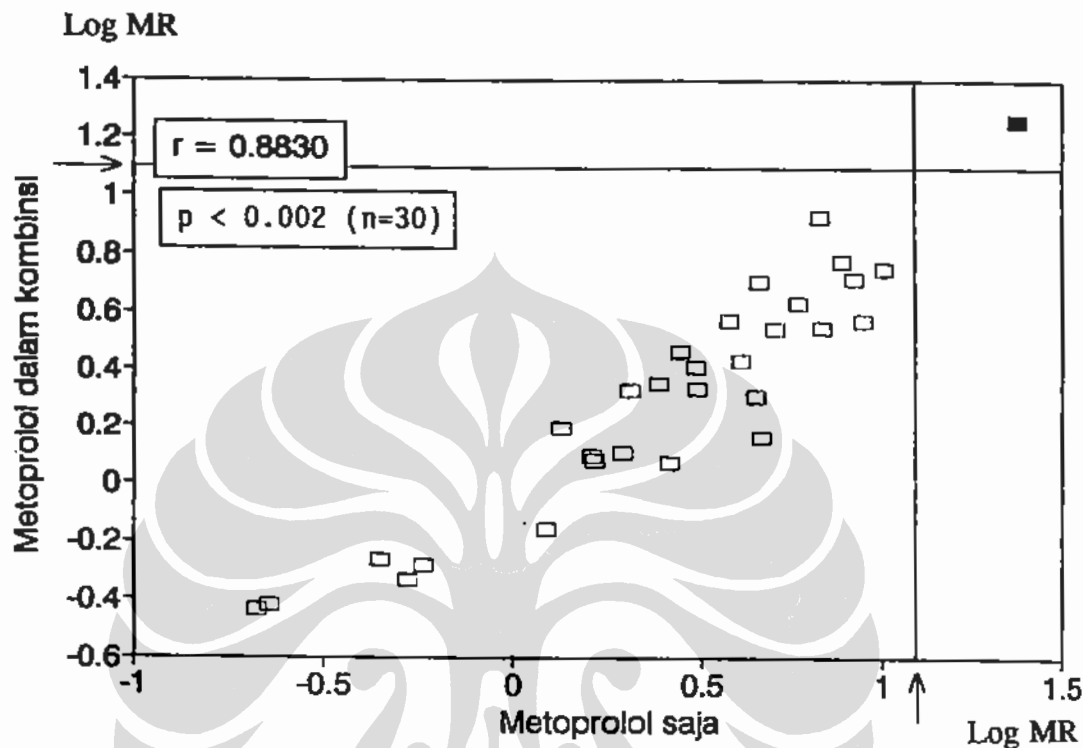
Log MR rata-rata (\pm SD) untuk pemberian ML secara terpisah dan serentak dapat dilihat pada Tabel IV.4 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AD, AE, AF, dan AG). Dari 30 subyek, semuanya memperlihatkan kesesuaian fenotip pada kedua perlakuan (Lampiran AF).



Gambar IV.5. Korelasi antara rasio metabolik dapson dalam plasma setelah pemberian dapson (DDS) saja dan DDS dalam kombinasi. Kotak kosong = RA, kotak hitam = SA. Garis-garis tipis (pada MR 0,30 dan 0,35) dan tebal (pada MR 0,38) masing-masing menunjukkan antimode menurut Reidenberg *et al.* (1975) dan yang ditemukan dalam penelitian ini.

Dengan 'paired t-test' ditemukan perbedaan yang sangat bermakna antara log MR kedua kelompok ($p < 0,01$) (Lampiran AG).

Diagram baur yang menggambarkan hubungan antara log rasio metabolik dari kedua perlakuan dapat dilihat pada Gambar IV.6.



Gambar IV.6. Korelasi log rasio metabolik metoprolol dalam urin setelah pemberian metoprolol saja dan metoprolol dalam kombinasi. Kotak kosong = EM, kotak hitam = PM. Tanda panah menunjukkan letak antimode.

3. Oksidasi jenis S-mefenitoin

Untuk menentukan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin, pada penelitian pendahuluan diberikan dosis uji 100 mg mefenitoin rasemat kepada 10 subyek pertama (No. 1-10). Obat ditelan jam 6.00 pagi. Dengan dosis ini, ternyata ada dua subyek mengalami efek samping cukup berat. Yang pertama, subyek No. 6 (pria, 28 tahun, berat 45 kg), satu jam setelah makan obat mengalami vertigo hebat sehingga tidak

sanggup berdiri. Efek samping ini mulai mereda 7 jam kemudian dan baru hilang setelah 12 jam. Yang kedua, subyek No. 3 (wanita, 31 tahun, berat 31 kg) mengalami sinkop 1 jam setelah menelan obat. Dalam keadaan lemah ia tiba di laboratorium dipapah suaminya. Subyek tampak pucat dan berkeringat banyak. Ia harus berbaring seharian dan baru sanggup bekerja keesokan harinya walaupun masih mengeluh pusing. Tujuh orang subyek lain mengeluh pusing sedikit, seorang di antaranya muntah. Hanya satu subyek yang tidak mempunyai keluhan apa pun.

TABEL IV.4

KEMAMPUAN METABOLISME RATA-RATA (\pm SD) PADA PEMBERIAN OBAT UJI SECARA TERPISAH DAN SERENTAK (N=30)

Cara pemberian obat uji	Dapson (MR)	Metoprolol (log MR)	S-mefenitoin (log % ekskresi HMN)
Terpisah	0,42 \pm 0,18	0,42 \pm 0,48	1,10 \pm 0,60
Serentak	0,44 \pm 0,20	0,31 \pm 0,41	1,09 \pm 0,58
P	>0,10	<0,01	>0,10
Kesesuaian fenotip	29/30 ^a	30/30	30/30

^amenggunakan kriteria Reidenberg *et al.*, 1975.

Oleh karena frekuensi dan intensitas efek samping dengan dosis 100 mg ini terlalu tinggi, maka diperlukan penelitian tambahan (dengan 'cross-over design') untuk mengetahui apakah dosis obat uji dapat diturunkan menjadi 50 mg. Ada 15 subyek

yang bersedia memberikan 'informed consent' untuk turut dalam penelitian ini. Dengan dosis 50 dan 100 mg mefenitoin rasemat, didapat % ekskresi hidroksimefenitoin rata-rata (\pm SD) masing-masing sebesar $23,30 \pm 10,31$ dan $22,12 \pm 10,31\%$ (Lampiran AH). Distribusi % ekskresi hidroksimefenitoin setelah pemberian mefenitoin rasemat dosis 50 mg maupun 100 mg adalah normal (Lampiran AJ). Dengan 'paired t-test' ternyata % ekskresi hidroksimefenitoin pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ($p > 0,10$) (Lampiran AJ). Pada bagian penelitian ini tidak dijumpai efek samping. Dengan hasil ini, ditetapkan bahwa dalam penelitian selanjutnya digunakan dosis 50 mg mefenitoin rasemat untuk penentuan fenotip. Masalah efek samping ini telah dikemukakan dalam laporan terpisah (Setiabudy *et al.*, 1992).

Log % ekskresi hidroksimefenitoin rata-rata (\pm SD) untuk pemberian MN secara terpisah dan serentak dapat dilihat pada Tabel IV.4 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AK, AL, AM, dan AN). Dari 30 subyek, semuanya memperlihatkan kesesuaian fenotip pada kedua perlakuan (Lampiran AM).

Dengan 'paired t-test' tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara log MR kedua kelompok ($p > 0,10$) (Lampiran AN).

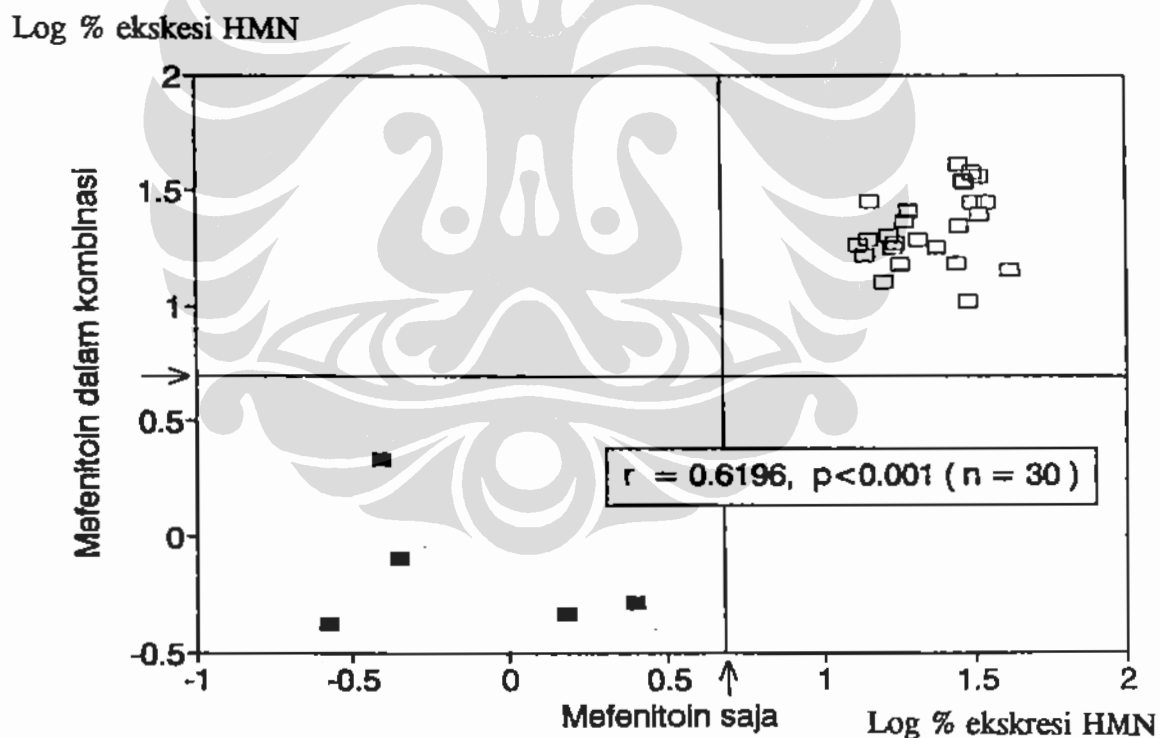
Diagram baur yang menggambarkan hubungan antara log % ekskresi HMN dari kedua perlakuan dapat dilihat pada Gambar IV.7.

D. Frekuensi fenotip

1. N-asetilasi

Pada waktu penelitian ini sedang dirancang, direncanakan untuk menentukan fenotip SA bila $MR < 0,30$ dan RA bila $MR > 0,35$ (lihat Bab III.G.1). Namun

ketika data MR dari 104 subyek ditabulasi (Lampiran AO) dan dibuat grafik frekuensi distribusinya (Gambar IV.8), ternyata secara visual terlihat antimodenya tidak terletak pada MR antara 0,30-0,35, melainkan pada MR antara 0,35-0,40. Selanjutnya dengan mengamati urutan MR (Lampiran AP) diketahui bahwa antimode tersebut adalah pada MR 0,38. Berdasarkan data ini dianggap lebih tepat menggunakan batasan MR < 0,38 untuk SA dan > 0,38 untuk RA. Dengan batasan ini didapatkan masing-masing 45 dan 59 subyek yang tergolong SA dan RA. Frekuensi SA dan RA dapat dilihat pada Tabel IV.5 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AO).



Gambar IV.7. Korelasi antara log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin setelah pemberian mefenitoin saja dan mefenitoin dalam kombinasi. Kotak kosong = EM, kotak hitam = PM. Tanda panah menunjukkan letak antimode.

TABEL IV.5

FREKUENSI FENOTIP POLIMORFISME METABOLISME N-ASETILASI,
OKSIDASI JENIS DEBRISOKUIN, DAN OKSIDASI JENIS
S-MEFENITOIN (N = 104)

Jenis polimorfisme metabolisme	Frekuensi fenotip (%)			
	RA	SA	EM	PM
N-asetilasi	56,73	43,27 ^a	-	-
Oksidasi jenis debrisoquin	-	-	91,35	8,65 ^b
Oksidasi jenis S-mefenitoin	-	-	84,61	15,39 ^c

^a 'confidence interval' 95%: 33,75-52,79%

^b 'confidence interval' 95%: 3,25-14,05%

^c 'confidence interval' 95%: 8,46-22,32%

Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa individu dengan fenotip SA mempunyai rasio metabolik DDS rata-rata \pm SD yang jauh lebih kecil dari individu dengan fenotip RA ($0,23 \pm 0,06$ versus $0,63 \pm 0,18$).

Pada Gambar IV.8 terlihat gambaran distribusi trimodal. Selain antimode yang disebutkan di atas, ada antimode lain pada MR 0,68. Kedua antimode ini membagi populasi yang diteliti menjadi 3 subkelompok yaitu subkelompok dengan MR < 0,38 sebanyak 45 subyek (= 43,27 %), subkelompok dengan MR antara 0,38-0,68 sebanyak 44 subyek (= 42,31 %), dan subkelompok dengan MR > 0,68 sebanyak 15 subyek (= 14,42 %).

TABEL IV.6

KEMAMPUAN METABOLISME OBAT DARI KEDUA FENOTIP
PADA POLIMORFISME N-ASETILASI, OKSIDASI JENIS
DEBRISOKUIN, DAN OKSIDASI JENIS S-MEFENTOIN

	Rasio meta- bolik DDS ^a		Log MR me- toprolol ^b		Log % eks- kresi HMN ^c	
	SA	RA	PM	EM	PM	EM
N	45	59	9	95	16	88
Rata-rata	0,23	0,63	1,31	0,36	-0,17	1,30
SD	0,06	0,18	0,11	0,40	0,31	0,21
Minimum	0,15	0,40	1,13	-0,8	-0,71	0,43
Maksimum	0,36	1,17	1,48	1,09	0,40	1,72

Keterangan:

^a parameter yang menggambarkan kemampuan N-asetilasi

^b parameter yang menggambarkan kemampuan oksidasi jenis
debrisokuin/spartein

^c parameter yang menggambarkan kemampuan oksidasi jenis S-mefenitoin

Pada Gambar IV.8 juga dapat diamati bahwa distribusi frekuensi subkelompok dengan $MR < 0,38$ memperlihatkan 'skew' positif. Dengan perhitungan probit (Lampiran AP) dapat dibuat plot probit (Gambar IV.9), di mana terlihat adanya sedikit gangguan linearitas pada MR 0,68, namun tidak pada MR 0,38. Pada MR 0,3, yang menurut peneliti lain (Reidenberg *et al.*, 1975) merupakan antimode yang memisahkan kelompok SA dan RA, juga tidak terlihat gangguan linearitas plot probit.

2. Oksidasi jenis debrisoquin/spartein

Dalam penelitian ini didapatkan 9 subyek dengan fenotip PM dan 95 subyek dengan fenotip EM. Frekuensi PM dan EM dapat dilihat pada Tabel IV.5 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AQ).

Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa individu dengan fenotip PM mempunyai log MR metoprolol yang jauh lebih kecil dari individu dengan fenotip EM ($1,31 \pm 0,11$ versus $0,36 \pm 0,40$).

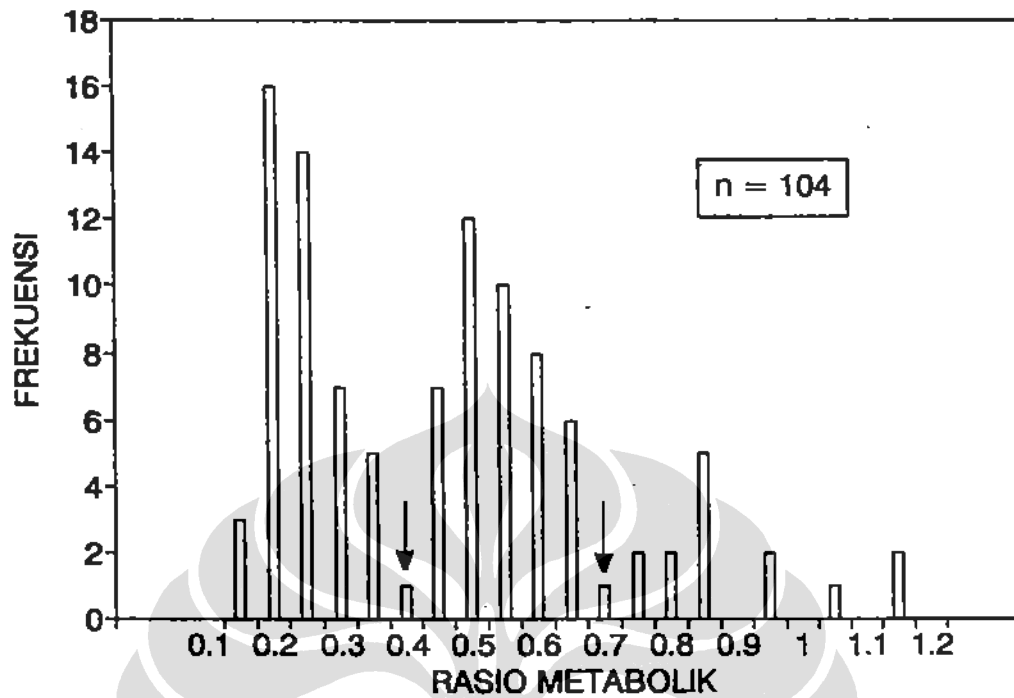
Bila data dari Lampiran AQ digunakan untuk membuat grafik distribusi frekuensi maka tampak hanya ada 1 puncak dengan distribusi yang kurang lebih simetris dengan modus pada log MR sekitar 0,3-0,6 (Gambar IV.10). Secara visual tidak terlihat adanya antimode pada log MR 1,1. Dengan perhitungan probit (Lampiran AR) dapat dibuat plot probit (Gambar IV.11) yang terlihat sebagai garis relatif lurus.

Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa individu dengan fenotip PM mempunyai log MR metoprolol rata-rata \pm SD yang jauh lebih kecil dari individu dengan fenotip EM ($1,31 \pm 0,11$ versus $0,36 \pm 0,40$).

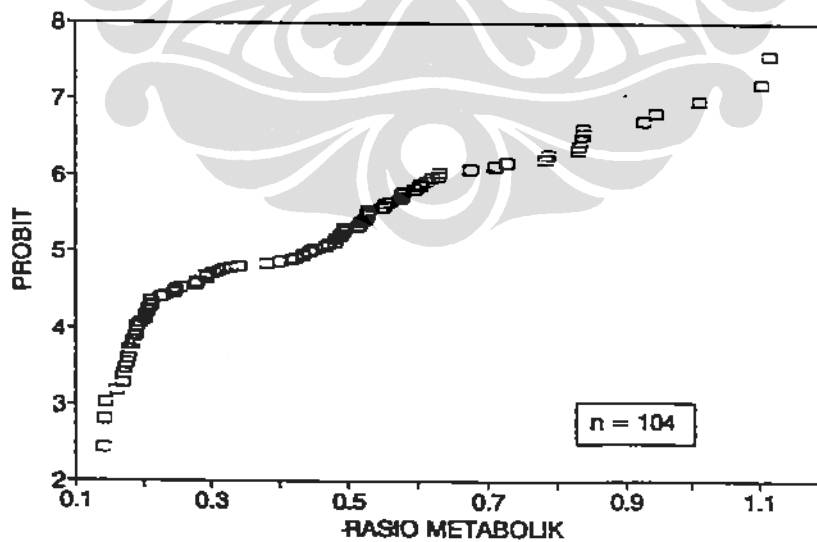
3. Oksidasi jenis S-mefenitoin

Dalam penelitian ini didapatkan 16 subyek dengan fenotip PM dan 88 subyek dengan fenotip EM. Frekuensi PM dan EM dapat dilihat pada Tabel IV.5 (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AS).

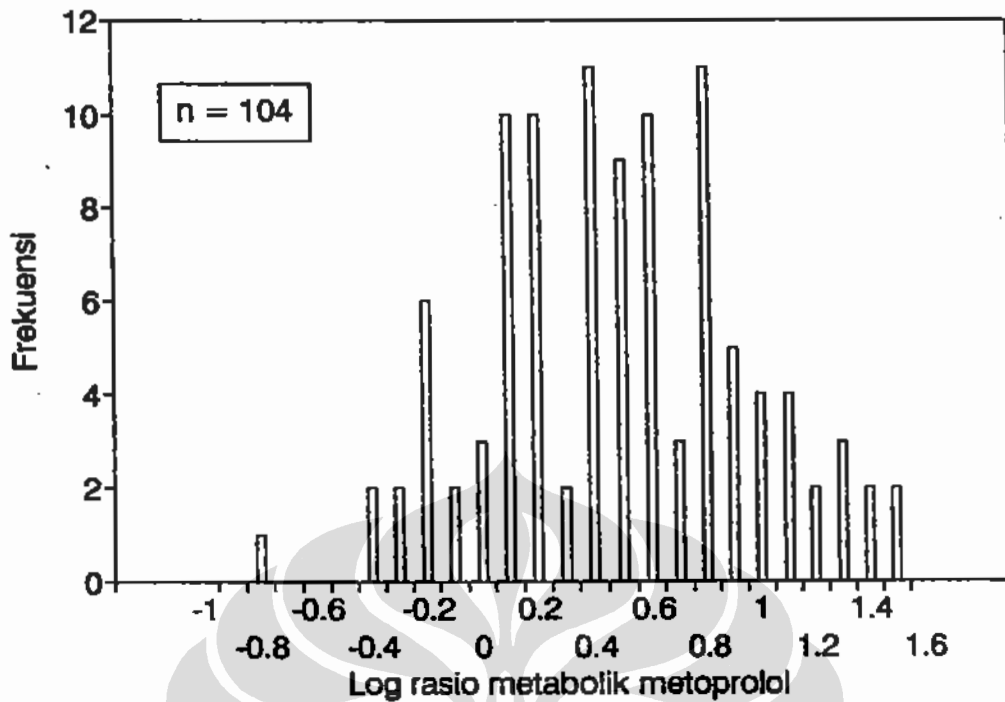
Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa individu dengan fenotip PM mempunyai log % ekskresi HMN rata-rata \pm SD yang jauh lebih kecil dari individu dengan fenotip EM ($-0,17 \pm 0,31$ versus $1,30 \pm 0,21$).



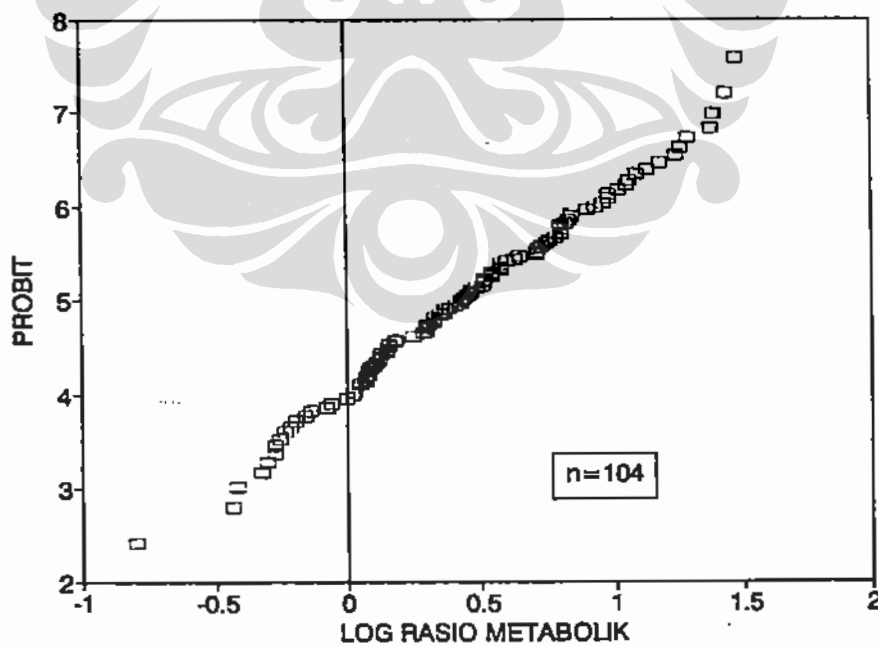
Gambar IV.8. Distribusi frekuensi rasio metabolik dapson dalam plasma. Tanda-tanda panah menunjukkan letak antimode visual.



Gambar IV.9. Plot probit rasio metabolik dapson dalam plasma.

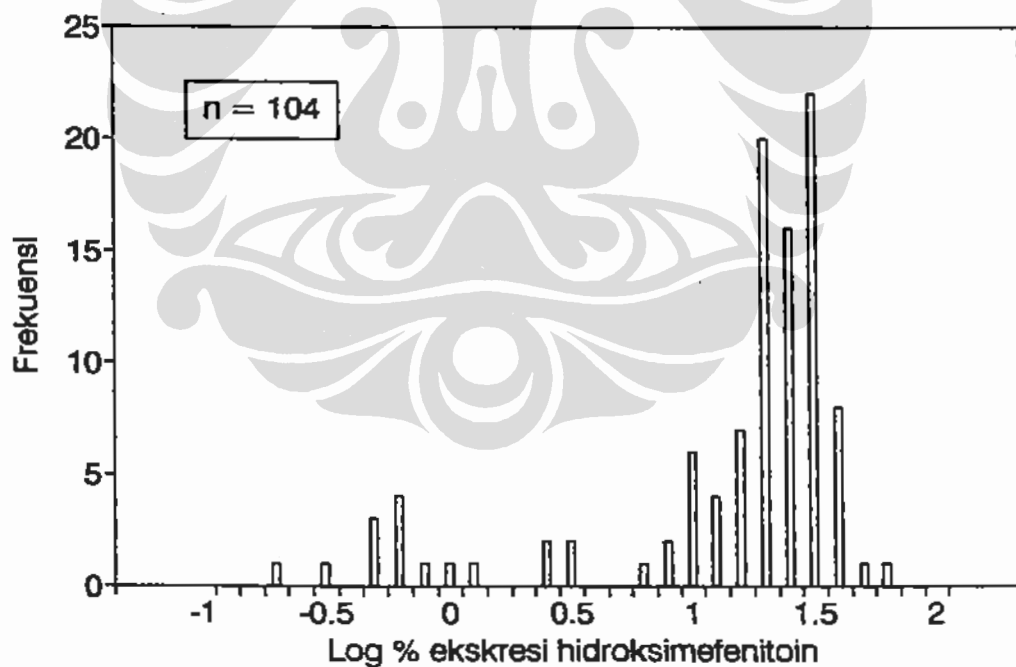


Gambar IV.10. Distribusi frekuensi log rasio metabolik metoprolol dalam urin 8 jam

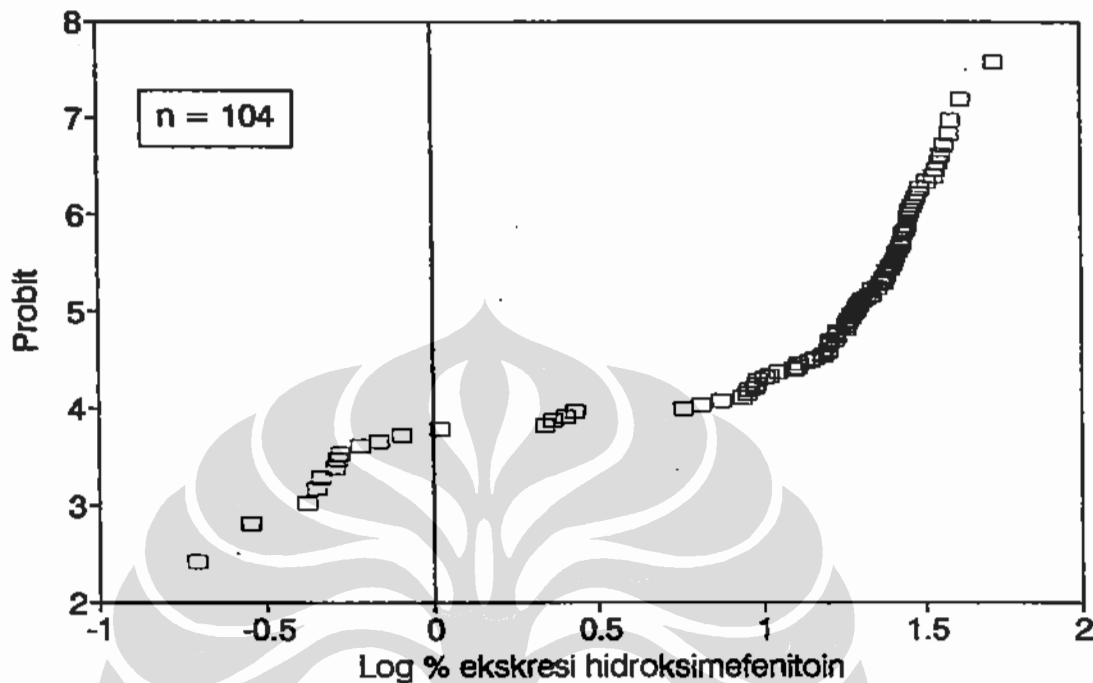


Gambar IV.11. Plot probit log rasio metabolik metoprolol dalam urin 8 jam.

Bila data dari Lampiran AS tersebut digunakan untuk membuat grafik frekuensi distribusi maka di bagian kanan gambar tampak jelas ada 1 puncak dengan 'skew' negatif dengan modus pada log % ekskresi sekitar 1,5 (Gambar IV.12). Di bagian kiri gambar ada puncak kecil yang bentuknya tidak begitu jelas dengan modus pada log % ekskresi sekitar -0,2. Secara visual antimode terletak pada log % ekskresi hidrokسيمefenitoin 0,2 dan 0,6. Dengan perhitungan probit (Lampiran AT) dapat dibuat plot probit (Gambar IV.13) di mana tidak terlihat gangguan linearitas pada log % ekskresi 0,3 (letak antimode yang dilaporkan oleh Horai *et al.*, 1989) maupun pada log % ekskresi 0,7 (Jurima *et al.*, 1985).



Gambar IV.12. Distribusi frekuensi log % ekskresi hidrokسيمefenitoin dalam urin 8 jam.



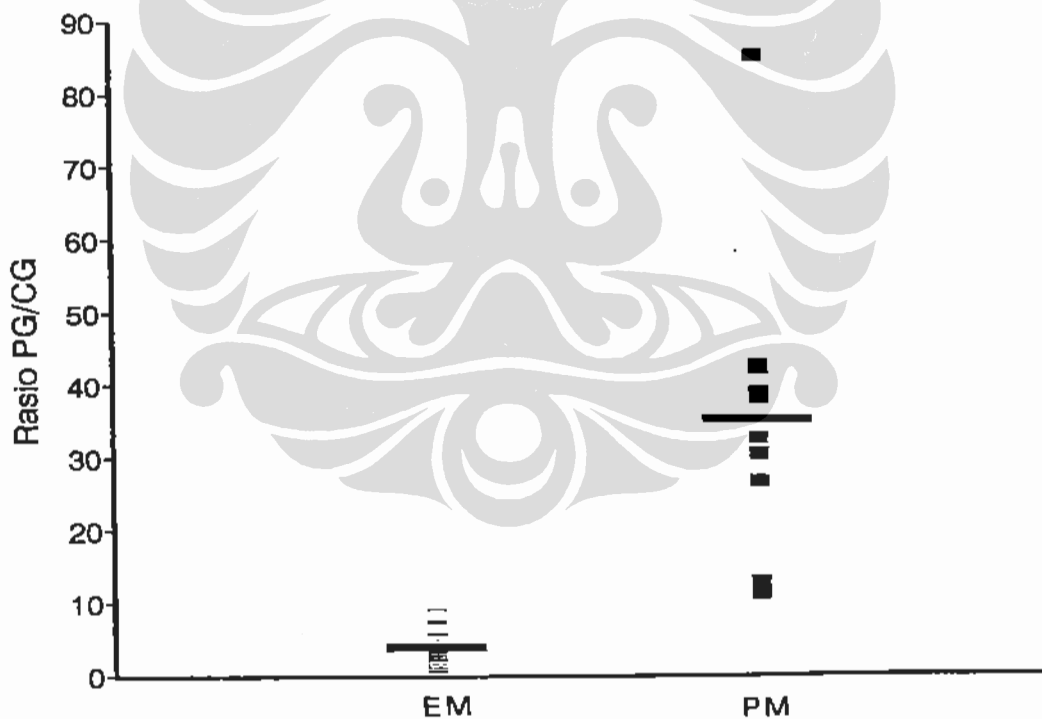
Gambar IV.13. Plot probit log % ekskresi hidroksimefenitoin dalam urin 8 jam.

E. Hubungan antara fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin dengan kemampuan memetabolisme proguanil menjadi sikloguanil

Jumlah subyek yang pada mulanya direncanakan masing 12 orang EM dan 12 PM oksidasi jenis S-mefenitoin ternyata mengalami perubahan dalam pelaksanaan penelitian. Kelompok EM ditambah 2 orang lagi sebagai upaya untuk mencegah kekurangan subyek bila terjadi 'drop out'. Pada kelompok PM hanya ada 10 subyek yang bersedia ikut serta. Dengan demikian ada 14 subyek EM dan 10 PM.

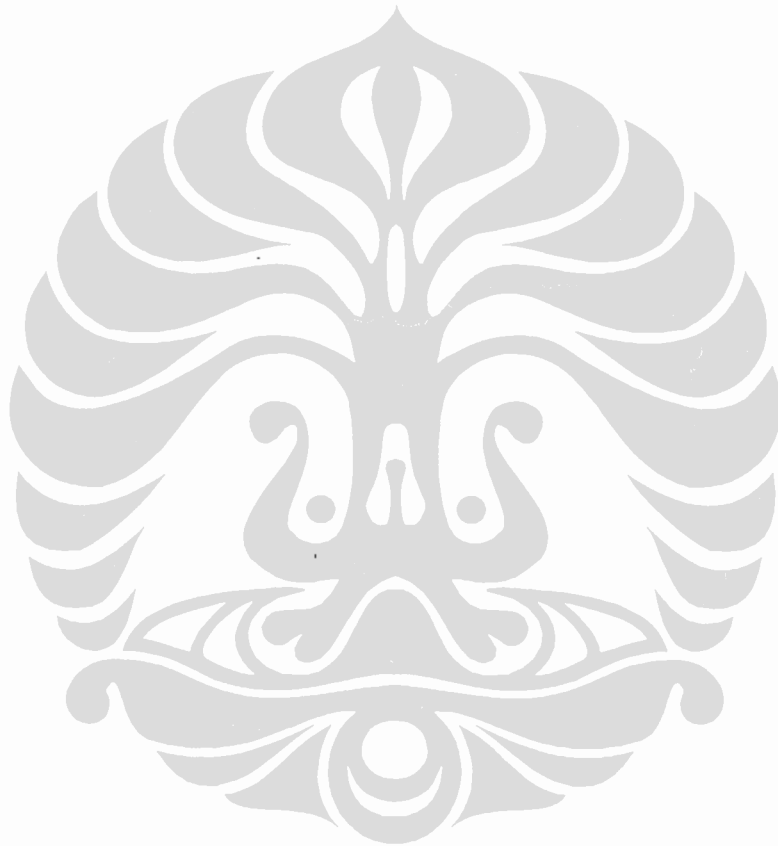
Rasio ekskresi proguanil/sikloguanil (PG/CG) rata-rata (\pm SD) pada kelompok EM dan PM masing-masing adalah 3,72 (\pm 2,10) dan 36,00 (\pm 19,46) (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran AU). Perbedaan rasio ekskresi PG/CG antara kedua kelompok ini juga terlihat jelas pada Gambar IV.14.

Uji normalitas menunjukkan adanya distribusi rasio PG/CG yang tidak normal pada kelompok PM (Lampiran AV). Oleh karena itu dilakukan transformasi ke nilai log dan kemudian diperoleh distribusi nilai yang normal pada kedua kelompok (Lampiran AW). Selanjutnya dengan 'unpaired t-test' didapatkan perbedaan yang sangat bermakna kedua kelompok ($p < 0,0005$) (Lampiran AX).



Gambar IV.14. Rasio PG/CG pada kelompok EM dan PM oksidasi jenis S-mefenitoin. PG = proguanil, CG = sikloguanil. Garis datar = rata-rata. Kotak kosong = EM, kotak hitam = PM.

Sekitar 1-2 jam setelah makan obat, ada 10 (= 41,67 %) sukarelawan yang mengeluh mual, dan 2 orang di antaranya (subyek No. 57 dan 70) muntah. Kepada subyek dengan keluhan mual ini diberikan dua potong kecil biskuit.



BAB V

PEMBAHASAN

A. Uji metode penentuan kadar obat dan metabolit

1. Uji metode penentuan kadar dapson dan monoasetildapson

Pada kromatogram yang tercantum pada Gambar IV.1 terlihat bahwa walaupun ada beberapa puncak yang tidak dikenal, tidak terjadi gangguan pada puncak DDS, MADDS dan mAPS. Dengan metode yang sama, Horai & Ishizaki (1985) mendapatkan waktu retensi yang lebih pendek karena mereka memanaskan kolom pada suhu 40 °C dengan penangas air.

'Slope' rata-rata persamaan garis kurva standar untuk DDS dan MADDS terlihat bervariasi besar dari hari ke hari (Lampiran J) karena seringnya terjadi kerusakan kolom. Setiap kali dilakukan penggantian kolom, terjadi perubahan nilai 'slope' persamaan garis kurva standar. Dalam pengukuran kadar DDS dan MADDS ini dilakukan 9 kali pergantian kolom. Diduga kerusakan kolom yang cepat ini dapat dihindarkan dengan memakai 'guard column'. Sekalipun dijumpai variasi nilai 'slope' yang besar, ketepatan pengukuran tetap baik (Tabel IV.1) karena untuk setiap kali pengukuran dibuat kurva standar yang baru. Data yang didapat ini menunjukkan bahwa bila kerusakan kolom cepat terjadi penggunaan kurva standar harian lebih baik daripada kurva standar gabungan.

Kesulitan yang sering timbul dalam proses ekstraksi DDS dan MADDS dalam

penelitian ini ialah terbentuknya emulsi pada waktu tabung divorteks selama 1 menit (Lampiran A). Setiap tabung yang berisi emulsi dibuang karena bila diproses lebih lanjut ternyata memberikan hasil pengukuran yang menyimpang. Setelah diteliti lebih lanjut ternyata emulsi mudah terbentuk bila: (1) Kecepatan vorteks terlalu tinggi. Karena banyak alat vorteks tidak mempunyai tombol untuk mengatur kecepatan, maka kecepatan vorteks yang optimal harus ditentukan secara empiris. (2) Bila digunakan larutan NaOH yang terlalu pekat atau volumenya terlalu besar. NaOH 1 M dengan volume tidak lebih dari 0,1 ml merupakan larutan yang memberikan hasil baik. (3) Volume metanol melebihi 0,5 ml. Untuk mengatasi masalah ini, zat-zat yang dilarutkan dalam metanol dipipetkan dulu ke dalam tabung reaksi, lalu dikeringkan dengan hembusan udara pada suhu 30 °C. Setelah itu baru ditambahkan zat-zat lainnya.

Dari segi keselamatan kerja, peneliti berpendapat sebaiknya setelah dilakukan aspirasi fase anorganik, tabung yang berisi diklormetan didinginkan dengan es karena pada suhu kamar cairan ini sangat mudah menguap dan uap ini toksik terhadap sistem saraf, paru, darah, dan hati (Reynolds *et al.*, 1989).

2. Uji metode penentuan kadar metoprolol dan α -hidroksimetoprolol

Pada Gambar IV.2 dapat dilihat bentuk kromatogram ML, HML dan pindolol yang diperoleh setelah melakukan ekstraksi pada urin. Di sini terlihat puncak ketiga zat tersebut tidak terganggu oleh zat-zat lain yang ada dalam urin. Pada Lampiran K terlihat bahwa uji temu kembali HML dan pindolol memberikan hasil yang agak tinggi (masing-masing 114,9 dan 115,5%). Hasil yang serupa didapat ketika penelitian diulang. Diduga hal ini disebabkan karena sebagian dari fase gerak sempat menguap dalam 'auto sampler' sehingga kadar zat terlarut menjadi lebih tinggi.

Dalam pengukuran kadar yang sebenarnya kenaikan kadar akibat penguapan ini dikoreksi secara otomatis karena digunakan standar dalam. Hal ini terlihat pada uji ketepatan pengukuran kadar dalam sehari maupun dari hari ke hari (Tabel IV.2).

Pada Tabel IV.2 juga terlihat bahwa pada kadar yang rendah ($2,5 \mu\text{g/ml}$) ketepatan pengukuran HML dari hari ke hari menurun (ketepatan rata-rata 87,8%) dan koefisien variasi membesar (9,9%) (Lampiran O). Karena itu pengukuran yang memberikan kadar rendah diulang kembali dengan melipatgandakan volume urin yang akan diekstraksi (2-3 kali volume semula yaitu 0,2 ml) kemudian hasil yang diperoleh dikoreksi kembali.

Semua uji ketepatan dan ketelitian memenuhi syarat yang ditetapkan pada Bab III.E.2.

3. Kromatogram penentuan kadar S-mefenitoin

Pada Gambar IV.3 terlihat puncak HMN dan MPH yang runcing dan resolusinya baik. Sayang dalam penelitian ini tidak dapat dilakukan uji validitas metode pengukuran karena persediaan 4-hidroksimefenitoin yang tidak mencukupi. Kadar terendah yang dapat diukur pada penelitian ini ('limit of detection') ialah $0,4 \mu\text{g/ml}$. Untuk mengurangi kemungkinan kesalahan, semua subyek PM yang ditemukan oleh penulis dalam penelitian ini telah dikonfirmasi oleh peneliti lain di laboratorium tempat penulis bekerja. Pengukuran kadar HMN dengan metode yang digunakan dalam penelitian ini ternyata membutuhkan waktu yang relatif lama karena prosedur ekstraksinya agak rumit dan dibutuhkan waktu kurang-lebih setengah jam untuk setiap penyuntikan ke kromatograf gas.

Menurut hemat penulis, penggunaan mefenitoin rasemat sebagai obat uji standar untuk penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin dewasa ini adalah kurang ideal

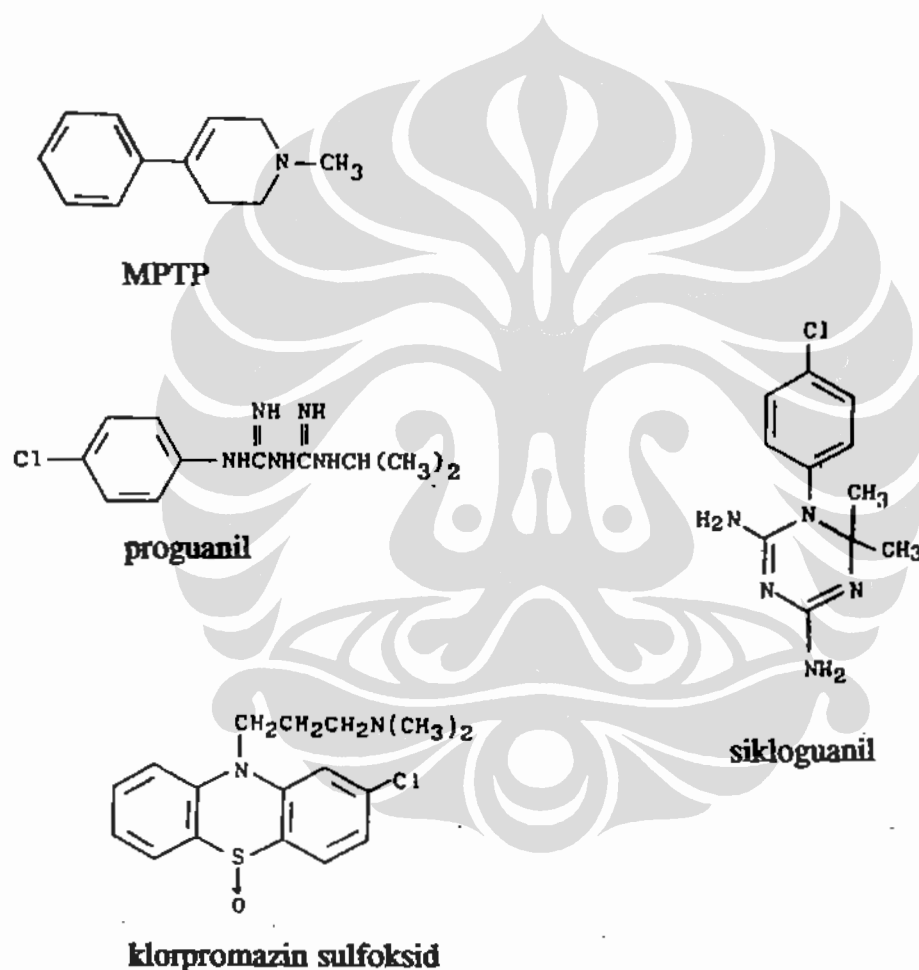
karena metode penentuan kadarnya agak rumit, sulit mendapatkan HMN dan beberapa reagens lainnya, sulit mendapatkan mefenitoin rasemat, serta adanya efek samping potensial. Omeprazol mungkin merupakan obat uji yang lebih baik karena memperlihatkan kosegregasi dengan oksidasi polimorfik S-mefenitoin (Andersson *et al.*, 1992), mudah didapat, toksisitasnya lebih ringan, dan dapat diukur kadarnya dalam urin atau plasma dengan KCKT (Langerström & Persson, 1984). Namun untuk ini perlu dibuktikan lebih dulu bahwa tidak terjadi kesalahan klasifikasi dengan obat uji yang berbeda ini.

Dalam penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin dengan dosis mefenitoin rasemat 50 mg, sukarelawan dianjurkan untuk tidak minum banyak karena bila diure-sis banyak maka kadar HMN akan turun. Pada PM, kadar HMN ini mungkin akan turun sedemikian rendahnya sehingga tidak terukur.

4. Uji metode penentuan kadar proguanil dan sikloguanil

Pada mulanya metode yang akan digunakan untuk menentukan kadar PG dan CG dalam studi ini ialah cara yang dikemukakan oleh Taylor *et al.* (1987). Peneliti tersebut menggunakan kolom ODS Hypersil (HETP, Macclesfield, UK), standar dalam 3,4-klorofenilbiguanid (DCPB) (ICI, UK), dan ekstraksi fase padat yang dilakukan dengan Bond Elut (Analytichem, USA). Namun dalam penelitian pendahuluan dijumpai beberapa kesulitan yaitu: (1) Tidak diperoleh puncak PG dan CG walaupun jenis kolom yang dipakai sama (tetapi dibuat oleh pabrik yang berbeda). (2) DCPB tidak dapat diperoleh dari pabrik pembuatnya. (3) Pada waktu dilakukan ekstraksi fase padat dengan Bond Elut, ekstrak ternyata tidak dapat dikeringkan dengan hembusan udara. Oleh karena itu metode Taylor ini terpaksa ditinggalkan dan digunakan modifikasi metode yang dikemukakan oleh Shinka *et al.* (1987) untuk

mengukur kadar 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP), yaitu suatu zat yang bersifat neurotoksik. Dasar pemikiran untuk mencoba memakai metode ini ialah adanya kesamaan struktur antara MPTP dengan PG dan CG (Gambar V.1). MPTP mempunyai struktur fenil yang bergandengan dengan piridin, sikloguanil mempunyai struktur fenil yang bergandengan dengan triazin, sedangkan proguanil hanya mempunyai struktur fenil saja.



Gambar V.1. Struktur kimia MPTP, proguanil, sikloguanil dan klorpromazin sulfoksid.

Dengan memodifikasi komposisi dan pH fase gerak, akhirnya didapat puncak CG dan PG dengan resolusi yang cukup baik (Gambar IV.4). Standar dalam (klorpromazin sulfoksid) ditemukan secara empiris dengan mencari zat yang memberikan resolusi dan waktu retensi terbaik. Metode ekstraksi dalam penelitian ini dikembangkan sendiri karena metode yang dipakai oleh Shinka (yaitu presipitasi protein) tidak menghasilkan puncak yang diinginkan pada kromatogram. Puncak metabolit minor (klorofenilbiguanid, CPB) terletak di antara puncak CG dan PG. Dalam pengamatan selanjutnya ternyata metode ini tidak cukup peka untuk mengukur kadar PG dan CG dalam plasma, namun dapat dipakai untuk mengukur kadar dalam urin.

B. Hubungan antara penentuan fenotip secara terpisah dan cara serentak

1. N-asetilasi:

Pada Bab III.B telah diutarakan bahwa setelah data diperoleh akan dihitung apakah jumlah subyek yang ditetapkan semula (30 orang) memenuhi syarat. Bila rasio metabolik DDS dari 30 subyek setelah pemberian DDS saja (Lampiran AA) dipilah menurut fenotip, maka diperoleh rasio metabolik DDS rata-rata (\pm SD) dari subkelompok RA dan SA masing-masing adalah 0,5597 (\pm 0,1311) dan 0,2336 (\pm 0,0381). Oleh karena perbedaan rasio metabolik rata-rata kedua subkelompok ini tidak begitu besar, maka ditetapkan perbedaan maksimal yang dapat ditoleransi dengan penentuan fenotip cara serentak (μ) ialah 5% dari rasio metabolik rata-rata kelompok RA (= 0,0280). SD dari selisih penetapan cara terpisah dan serentak (σ)

ialah 0,0504 (Lampiran AB) sehingga variansnya (σ^2) ialah 0,0025. Untuk $\alpha = 0,05$ (*1-tail*) dan $\beta = 0,2$ (*1-tail*), nilai Z_α dan Z_β masing-masing ialah 1,64 dan 0,84. Selanjutnya dapat dihitung jumlah subyek (N) dengan menggunakan persamaan (1) yang telah diuraikan pada Bab III.B:

$$N = \{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \times \sigma^2\} / \mu^2$$

$$= \{(1,64 + 0,84)^2 \times 0,0025\} / 0,0280^2 = 19,2 \text{ subyek}$$

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa jumlah subyek 30 orang dalam bagian penelitian ini telah mencukupi.

Seperti telah dijelaskan dalam butir IV.C, dari 30 subyek ada 29 yang memperlihatkan fenotip yang sama setelah pemberian DDS saja maupun DDS dalam kombinasi, namun ada satu subyek (No. 10) yang pada pemberian DDS saja mempunyai fenotip SA lalu pada pemberian DDS dalam kombinasi berubah menjadi IA (Lampiran AA). Menurut pendapat penulis, ini tidak mempengaruhi keyakinan bahwa pemberian DDS dalam kombinasi memberikan hasil yang sama dengan pemberian DDS saja karena pada waktu tahap penelitian ini dikerjakan (tahap I.1), sebagai titik tolak untuk menentukan fenotip dipakai kriteria Reidenberg *et al.* (1975) yang menyatakan bahwa individu dengan $MR \leq 0,30$ mempunyai fenotip SA dan individu dengan rasio $\geq 0,35$ mempunyai fenotip RA. Kemudian pada waktu penelitian tahap I.2. dikerjakan, baru diketahui bahwa antimode yang didapatkan pada penelitian ini bukan pada MR 0,30 - 0,35, melainkan 0,38 (lihat butir IV.D.1).

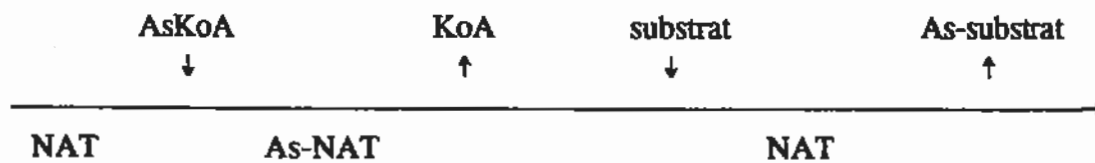
Menurut Iyun *et al.* (1986), dalam meneliti polimorfisme metabolisme obat pada suatu populasi, antimode yang harus digunakan adalah yang berasal dari populasi itu sendiri. Maka dengan menggunakan antimode pada MR 0,38 (sebagai batas pemisah

antara SA dan RA) untuk menghitung kembali data Lampiran AA, didapati bahwa sama sekali tidak ada perubahan fenotip dengan memberikan DDS dalam kombinasi pada seluruh subyek (Lampiran AC). Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa penentuan fenotip N-asetilasi dengan memberikan DDS bersama metoprolol dan mefenitoin rasemat memberikan hasil yang sama dengan pemberian DDS saja pada 30 subyek yang diikutsertakan dalam penelitian ini.

Dalam menafsirkan hasil penelitian ini, perlu dijelaskan bahwa walau tidak ada seorang pun yang memperlihatkan perubahan fenotip setelah pemberian DDS saja dan DDS dalam kombinasi, ini tidak membuktikan adanya suatu kepastian yang mutlak. Secara statistik, proporsi (p) perubahan fenotip sebesar $0/30 = 0$ dalam penelitian ini mungkin didapat secara kebetulan saja. Namun berdasarkan pengamatan pada 30 subyek ini dapat dihitung 'confidence interval' 95% kemungkinan perubahan fenotip dengan dua metode yang berbeda ini berkisar antara 0 - 10% (Glantz, 1981).

Selain pengamatan fenotip yang diuraikan di atas, uji statistik juga menunjukkan bahwa rasio MADDS/DDS dalam plasma antara pemberian DDS dengan cara sekuensial dengan cara serentak tidak berbeda bermakna. Dengan demikian kedua syarat untuk menerima hipotesis yang menyatakan bahwa penentuan fenotip N-asetilasi yang dikerjakan secara serentak memberikan hasil yang sama dengan penentuan terpisah (Bab I.D) dapat dipenuhi.

Hasil yang diperoleh ini sesuai dengan hipotesis yang dibuat (yaitu bahwa penentuan fenotip polimorfisme jenis N-asetilasi secara serentak memberi hasil yang tidak berbeda bermakna dengan penentuan secara terpisah). Hal ini kemungkinan besar disebabkan karena di antara ketiga obat uji (DDS, metoprolol, dan S-mefenitoin), hanya DDS yang merupakan substrat yang sesuai untuk enzim N-asetil transferase. Reaksi N-asetilasi yang terjadi dapat digambarkan sebagai berikut:



Koenzim A yang berikatan dengan dengan gugus asetil (AsKoA) akan memberikan gugus asetilnya kepada enzim N-asetiltransferase (NAT) sehingga terbentuk asetil-enzim (As-NAT) dan dilepaskan koenzim A (KoA). As-enzim akan memindahkan gugus asetilnya kepada substrat yang sesuai (misalnya obat yang mengandung gugus amin aromatik) sehingga terbentuk substrat yang terasetilasi (As-substrat). Obat-obat tertentu seperti INH, sulfametazin, hidralazin mengalami asetilasi polimorfik pada manusia. Walaupun dalam studi ini tidak dilakukan pembuktian adanya hambatan bersaing antara dapson dengan metoprolol atau S-mefenitoin terhadap N-asetiltransferase, diduga kesamaan hasil penentuan fenotip setelah pemberian DDS saja dan DDS + metoprolol + S-mefenitoin disebabkan karena metoprolol dan S-mefenitoin tidak merupakan substrat yang cocok untuk menduduki 'active site' molekul N-asetiltransferase. Dengan demikian kedua obat uji terakhir ini tidak menimbulkan hambatan bersaing terhadap dapson untuk diasetilasi oleh N-asetiltransferase menjadi monoasetildapson.

Sepanjang pengetahuan penulis, selama ini hanya ada satu laporan di kepustakaan yang membandingkan penentuan fenotip N-asetilasi dengan menggunakan obat tunggal dan kombinasi, yaitu yang dikemukakan oleh Evans *et al.* (1989). Peneliti ini berhasil membuktikan bahwa penentuan fenotip N-asetilasi dan oksidasi jenis debriso-

kuin secara serentak memberikan hasil yang sama dengan penentuan tersendiri. Karena subyek yang ditelitinya adalah anak-anak, peneliti tersebut menggunakan kafein (dalam bentuk minuman Coca-Cola) untuk menentukan fenotip N-asetilasi, dan dekstrometorfan (dalam bentuk sirup obat batuk) untuk penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin.

2. Oksidasi jenis debrisoquin/spartein

Bila log MR metoprolol dari 30 subyek setelah pemberian metoprolol saja (Lampiran AF) dipilah menurut fenotip, maka diperoleh log MR metoprolol rata-rata (\pm SD) dari subkelompok EM adalah 0,3895 (\pm 0,4543). Hanya ada 1 subyek PM yaitu dengan log MR 1,38. Oleh karena log MR rata-rata subkelompok EM berbeda jauh dengan log MR dari PM, maka ditetapkan perbedaan maksimal yang dapat ditoleransi dengan penentuan fenotip cara serentak (μ) ialah 20% dari nilai rata-rata kelompok EM (= 0,0779). SD dari selisih penetapan cara terpisah dan serentak (σ) ialah 0,1692 (Lampiran AG) sehingga variansnya (σ^2) ialah 0,0286. Untuk $\alpha = 0,05$ (*1-tail*) dan $\beta = 0,2$ (*1-tail*), Z_α dan Z_β masing-masing ialah 1,64 dan 0,84. Selanjutnya dapat dihitung jumlah subyek (N) dengan menggunakan persamaan (1) yang telah diuraikan pada Bab III.B:

$$\begin{aligned} N &= \{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \times \sigma^2\} / \mu^2 \\ &= \{(1,64 + 0,84)^2 \times 0,0286\} / 0,0779^2 = 28,8 \text{ subyek} \end{aligned}$$

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa jumlah subyek 30 orang dalam bagian penelitian ini telah mencukupi.

Pada Lampiran AF terlihat bahwa dari 30 subyek (29 EM dan 1 PM) yang ikut

serta dalam penelitian ini, seluruhnya memperlihatkan fenotip yang sama setelah pemberian metoprolol saja (MLA-30) maupun metoprolol dalam kombinasi (MLC-30). Namun terlihat ada perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$ dengan 'paired t-test') antara nilai log MR rata-rata \pm SD kelompok MLA-30 ($0,42 \pm 0,48$) dengan kelompok MLC-30 ($0,31 \pm 0,41$).

Menurut hemat penulis adanya perbedaan ini tidak mempengaruhi keyakinan bahwa penentuan fenotip dengan ML saja dan ML dalam kombinasi memberikan hasil yang sama karena:

1. Perbedaan log MR MLA-30 dan log MR MLC-30 tersebut di atas hanya bermakna secara statistik, tetapi tidak bermakna secara klinik karena nilai kritis yang memisahkan kelompok PM dan EM berbeda relatif jauh, yaitu pada log MR 1,1 (McGourty *et al.*, 1985).
2. Log MR rata-rata \pm SD kelompok MLA-30 ($0,42 \pm 0,48$) dan log MR dari 104 subyek yang mendapat ML dalam kombinasi (MLC-104) ternyata hampir sama ($0,44 \pm 0,47$). Varians log MR kelompok MLA-30 dan MLC-104 masing-masing adalah 0,2389 dan 0,2202. Perbandingan varians kedua kelompok itu ialah $F_{29,103} = 0,2389/0,2202 = 1,4337$. Dari Tabel distribusi F (Lentner, 1982, hal. 44) diketahui bahwa nilai kritis untuk 'confidence interval' 95% ialah 1,7351 ('2-tail'). Dengan demikian kedua kelompok ini mempunyai varians yang tidak berbeda bermakna (Lampiran AY). Kemudian dengan 'unpaired t-test' terbukti bahwa nilai log MR kelompok MLA-30 memang tidak berbeda bermakna dengan kelompok MLC-104 ($p > 0,05$) (Lampiran AZ).
3. Bila terjadi hambatan metabolisme metoprolol karena diberikan bersama dapson dan mefenitoin rasemat maka seharusnya log MR kelompok MLC-30

lebih tinggi dari pada log MR kelompok MLA-30 (karena kadar ML akan meninggi, sedangkan kadar HML menurun). Data yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan hal yang sebaliknya.

Tidak diketahui apa yang menjadi penyebab turunnya hasil pengukuran rasio metabolik metoprolol dalam urin pada kelompok MLC-30 ini. Salah satu kemungkinan penyebabnya ialah faktor pemipetan. Pada waktu membuat larutan kerja yang mengandung metoprolol dan hidroksimetoprolol (masing-masing 20 $\mu\text{g/ml}$ dalam air) (Lampiran B), dipipetkan masing-masing 0,2 ml larutan stok metoprolol dan hidroksimetoprolol (yang mengandung masing-masing 1000 mcg/ml) ke dalam tabung reaksi yang berisi 9,6 ml air.

Setiap penyimpangan pemipetan yang menyebabkan peningkatan kadar ML atau pengurangan kadar HML dari yang seharusnya akan mengakibatkan terjadinya suatu kesalahan sistematis di mana kadar metoprolol dalam urin akan terukur lebih rendah atau kadar hidroksimetoprolol terukur lebih tinggi dari seharusnya. Akibatnya didapatkan hasil pengukuran rasio metabolik (rasio kadar ML/HML) dalam urin yang lebih rendah dari seharusnya. Penyimpangan hasil pemipetan ini biasanya disebabkan karena terjadi kerusakan pipet yang tidak segera diketahui (walaupun telah dilakukan pemeriksaan berkala untuk memastikan ketepatannya).

Dari uraian di atas disimpulkan bahwa hipotesis yang menyatakan bahwa penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin yang dikerjakan secara serentak memberikan hasil yang sama dengan penentuan secara terpisah (Bab I.D) dapat diterima.

Bila diamati hasil pengukuran log MR metoprolol untuk tiap individu (intra-individu) setelah pemberian metoprolol saja dibandingkan dengan hasil pengukuran setelah pemberian metoprolol dalam kombinasi (Lampiran AF) terlihat adanya

perbedaan yang lebih besar dibandingkan dengan data sejenis dari pemberian dapson (Lampiran AC). Oleh karena hasil uji ketepatan dan ketelitian untuk metoprolol dan hidrosimetoprolol telah memenuhi syarat (Bab IV.A), maka diduga variasi intra-individu yang agak besar ini disebabkan karena pada umumnya rasio kadar obat asal dan metabolitnya dalam urin lebih bervariasi dari hari ke hari dibandingkan rasio obat asal dan metabolitnya dalam plasma. Sebagai pembanding, Sanz *et al.* (1989) yang memberikan obat uji debrisoquin dan debrisoquin + mefenitoin rasemat dalam suatu desain 'cross over' mendapatkan nilai koefisien korelasi Spearman (r_s) antara log MR debrisoquin dalam urin setelah pemberian debrisoquin saja dan setelah pemberian debrisoquin + mefenitoin rasemat sebesar 0,85 ($p < 0,001$). Pada penelitian ini didapatkan nilai r_s yang hampir sama yaitu 0,88 ($p < 0,002$).

Secara teoretis dapat diperkirakan bahwa rasio antara jumlah obat asal dengan metabolitnya yang dieksresi dalam urin akan lebih bervariasi dari waktu ke waktu dibandingkan dengan kadar obat dalam darah (pada individu yang sama) karena variasi rasio ini dalam darah terutama ditentukan oleh variasi aktivitas enzim yang berperan dalam metabolisme obat tersebut. Dalam urin variasi ini diperbesar lagi oleh faktor-faktor renal yaitu: (1) Kecepatan filtrasi obat melalui glomerulus, (2) sekresi aktif melalui tubuli (hanya untuk obat-obat tertentu misalnya penisilin, morfin, efedrin, dll.), dan (3) Reabsorpsi melalui tubuli (terutama obat asal karena lebih nonpolar dibandingkan dengan metabolitnya). Faktor ini dipengaruhi oleh pH urin yang pada orang normal dapat bervariasi antara 4,6 - 8,5. Kebanyakan obat bersifat asam lemah atau basa lemah. Dalam cairan tubuli, untuk asam lemah berlaku rumus (Brater, 1992):

$$\text{pH} - \text{pKa} = \log \frac{\text{kadar obat yang terionisasi}}{\text{kadar obat yang tidak terionisasi}}$$

Oleh karena nilai pKa konstan, maka bila pH meningkat kadar obat yang terionisasi akan meningkat dan yang tidak terionisasi akan menurun. Obat yang diserap kembali oleh tubuli hanya yang tidak terionisasi. Dengan demikian kadarnya dalam cairan tubuli akan menurun sehingga rasio obat asal/metabolitnya dalam urin akan meningkat. Bila pH menurun terjadi efek sebaliknya.

Untuk basa lemah berlaku rumus:

$$\text{pH} - \text{pKa} = \log \frac{\text{kadar obat yang tidak terionisasi}}{\text{kadar obat yang terionisasi}}$$

Oleh karena nilai pKa konstan, maka bila pH meningkat kadar obat yang tidak terionisasi akan meningkat dan yang terionisasi akan menurun. Obat yang diserap kembali oleh tubuli hanya yang tidak terionisasi. Dengan demikian kadar obat yang tidak terionisasi (yaitu obat asal) dalam cairan tubuli akan menurun sehingga rasio obat asal/metabolitnya dalam urin akan menurun. Bila pH menurun terjadi efek sebaliknya.

Perubahan kadar obat yang tidak terionisasi akibat perubahan pH dapat dapat memperbesar variasi rasio kadar obat asal/metabolit dalam urin.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Jurima *et al.* (1984) yang menggunakan homogenat hati manusia di mana diamati bahwa penambahan S-mefenitoin tidak menghambat oksidasi spartein (spartein dan metoprolol dioksidasi secara polimorfik oleh sitokrom P450 yang sama). Enzim yang mengoksidasi

metoprolol dihasilkan oleh gen *CYP2D6* pada kromosom 22 (Gonzalez *et al.*, 1988). S-mefenitoin dioksidasi oleh suatu isozim P450 lain yang tergolong subfamili P450IIIC (Ged *et al.*, 1988). Dapson juga tidak menghambat oksidasi metoprolol karena tidak merupakan substrat yang cocok untuk molekul enzim yang dihasilkan oleh gen *CYP2D6*.

3. Oksidasi jenis S-mefenitoin

Bila % ekskresi hidrosimefenitoin dari 30 subyek setelah pemberian mefenitoin rasemat saja (Lampiran AM) dipilah menurut fenotip, maka diperoleh % ekskresi hidrosimefenitoin rata-rata (\pm SD) dari subkelompok EM adalah 23,8725 (\pm 7,9098), sedangkan dari subkelompok PM hanya 1,0233 (\pm 0,8608). Oleh karena % ekskresi hidrosimefenitoin rata-rata subkelompok EM dan subkelompok PM berbeda jauh, maka ditetapkan perbedaan maksimal yang dapat ditoleransi dengan penentuan fenotip cara serentak (μ) ialah 20% dari nilai rata-rata kelompok EM (= 4,7750). SD dari selisih penetapan cara terpisah dan serentak (σ) ialah 8,4100 (Lampiran AN) sehingga variansnya (σ^2) ialah 70,7281. Untuk $\alpha = 0,05$ (*1-tail*) dan $\beta = 0,2$ (*1-tail*), nilai Z_α dan Z_β masing-masing ialah 1,64 dan 0,84. Selanjutnya dapat dihitung jumlah subyek (N) dengan menggunakan persamaan (1) yang telah diuraikan pada Bab III.B:

$$N = \{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \times \sigma^2\} / \mu^2$$

$$= \{(1,64 + 0,84)^2 \times 70,7281 / 4,7750^2 = 19,08 \text{ subyek}$$

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa jumlah subyek 30 orang dalam bagian penelitian ini telah mencukupi.

Pada Bab IV.C telah diuraikan bahwa pada penelitian pendahuluan yang melibatkan 10 subyek, ada 2 orang (subyek No. 3 dan No. 6) yang memperlihatkan efek samping susunan saraf pusat yang agak berat setelah mendapat 100 mg mefenitoin rasemat. Kedua subyek ini ternyata hanya mampu mengekskresikan masing-masing 0,45% dan 0,27% dari dosis yang diberikan tersebut dalam bentuk hidroksimefenitoin. Dengan kriteria yang dipakai oleh Jurima *et al.* (1985) maupun Horai *et al.* (1989a) yang masing-masing menggunakan batasan ekskresi hidroksimefenitoin < 5% dan < 3% untuk PM, ternyata kedua subyek ini adalah PM.

Ada tiga kemungkinan mengapa kedua subyek ini mengalami efek samping yang relatif berat, yaitu: Pertama, kedua subyek ini adalah PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin. Wedlund *et al.* (1984) melaporkan bahwa dengan pemberian dosis tunggal 100 mg, kadar S-mefenitoin pada subyek PM jauh lebih tinggi dari pada EM. Kedua, obat diberikan pada pagi hari sehingga efek sedasi menjadi lebih terasa khususnya untuk PM. Pada penelitian tambahan di mana 15 subyek (seorang di antaranya adalah PM) mendapat 100 mg mefenitoin rasemat sebelum tidur, tidak seorang pun yang mengalami efek samping. Ketiga, berat badan kedua subyek ini (masing-masing 38 dan 45 kg) jauh di bawah subyek Kaukasia. Berat badan subyek pada penelitian Wedlund *et al.* (1984) bervariasi antara 54-108 kg. Pada berat badan yang ringan maka volume distribusi menjadi kecil sehingga bila mendapat dosis yang sama maka kadar obat dalam darah akan meninggi dibandingkan dengan subyek dengan berat badan yang lebih tinggi.

Perlu dijelaskan di sini bahwa dari 10 sukarelawan pertama yang diikutsertakan dalam penelitian pendahuluan, selain kedua subyek PM yang menderita efek samping yang relatif berat ini, masih ada 1 subyek PM lagi (Subyek No. 8, ekskresi hidroksimefenitoin 0.39%), namun ia hanya mengeluh sedikit mengantuk. Diduga

berat badannya yang lebih tinggi (60 kg) dari kedua subyek PM lainnya turut menjadi sebab mengapa ia tidak sampai menderita efek samping yang lebih berat.

Masalah dosis mefenitoin rasemat sebagai obat uji ini telah dipersoalkan sebelumnya oleh Jurima *et al.* (1985) yang juga terpaksa menurunkan dosis menjadi 50 mg untuk 23 subyeknya yang mempunyai berat badan rendah karena efek samping sedasi. Sukarelawan yang turut dalam penelitian Jurima terdiri dari 70 subyek Kaukasia dan 70 orang Timur (Oriental) yang menelan obat pada malam hari sebelum tidur. Sayangnya peneliti tersebut tidak menjelaskan apakah efek samping pada ke 23 subyeknya itu juga berkaitan dengan fenotip mereka. Ia juga belum membuktikan kesahihan dosis uji 50 mg. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa untuk subyek dengan berat badan relatif rendah (misalnya yang tergolong orang Timur) sebaiknya dosis mefenitoin rasemat yang digunakan ialah 50 mg dan obat diberikan sebelum tidur.

Pada Lampiran AM terlihat bahwa dari 30 subyek (5 PM dan 25 EM) tidak seorangpun yang memperlihatkan perubahan fenotip dengan cara pemberian serentak. Selain itu dengan 'paired t-test' ternyata tidak ada perbedaan yang bermakna antara log % ekskresi hidrosimefenitoin setelah pemberian mefenitoin rasemat secara terpisah dengan pemberian serentak. Dengan demikian hipotesis yang menyatakan bahwa penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin yang dikerjakan secara serentak memberikan hasil yang sama dengan cara terpisah (Bab I.D) dapat diterima. Hasil yang didapat ini sesuai dengan laporan Küpfer & Preisig (1984) yang menyatakan bahwa polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin tidak berhubungan dengan polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin walaupun kedua enzim tersebut tergolong sitokrom P450. Dapson juga tidak mempengaruhi hasil pengukuran kemampuan oksidasi S-mefenitoin karena diduga bukan merupakan substrat yang sesuai untuk sitokrom P450IIC9.

Bila diamati hasil pengukuran log % ekskresi HMN untuk tiap individu (intra-

individu) setelah pemberian mefenitoin rasemat saja dibandingkan dengan hasil pengukuran setelah pemberian mefenitoin rasemat dalam kombinasi (Lampiran AN) terlihat adanya variasi intra-individu yang lebih besar dibandingkan dengan data sejenis dari pemberian dapson (Lampiran AB). Variasi yang lebih besar ini dapat disebabkan karena: (1) Ketelitian ('precision') dan ketepatan ('accuracy') pengukuran kadar HMN mungkin kurang memadai. Seperti telah dijelaskan pada Bab IV.A uji ketepatan dan ketelitian kadar HMN dalam urin tidak dapat dilakukan karena persediaan larutan stok HMN tidak mencukupi. (2) Kriteria fenotip PM untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin yang digunakan dalam penelitian ini bukan rasio kadar obat asal/metabolit (seperti pada kriteria yang berlaku untuk polimorfisme jenis debrisoquin), tetapi jumlah absolut ekskresi HMN dalam urin 8 jam (PM bila ekskresi kurang dari 5%). Ini berarti bahwa data dari sampel urin dengan kadar HMN sangat rendah (di bawah 'limit of quantitation') tidak boleh dibuang. Bila data kadar sampel urin dengan kadar di bawah 'limit of quantitation' ini di buang maka akan timbul bias dalam hasil penelitian karena sebagian kasus PM dengan kemampuan hidroksilasi S-mefenitoin yang sangat rendah tidak ikut diperhitungkan sehingga akan didapatkan frekuensi PM yang lebih rendah dari kenyataan sebenarnya. Mengikutsertakan perhitungan kadar yang rendah memang membawa konsekuensi bahwa ketepatan dan ketelitian akan berkurang. (3) Ekskresi HMN dalam urin intra-individu memang bervariasi cukup besar dari hari ke hari.

Hasil penelitian pada butir B.1 s/d B.3 di atas menunjukkan kebenaran dasar teoritis yang menunjang hipotesis yaitu bahwa secara *in vivo* ketiga enzim yang berperan pada polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis mefenitoin tetap berfungsi secara independen bila semua substrat spesifik mereka (yaitu ketiga jenis obat uji) diberikan secara serentak.

C. Penentuan frekuensi fenotip N-asetilasi

Dengan menggunakan MR 0,38 sebagai nilai batas yang memisahkan SA dan RA, dalam penelitian ini didapatkan bahwa frekuensi fenotip SA ialah 43,27% dan RA adalah 56,73%. Secara visual pada Gambar IV.8 juga dapat diamati adanya antimode lain pada MR 0,68 yang membagi kelompok RA menjadi 2 modus lagi sehingga seluruhnya terlihat ada 3 modus: Subkelompok I (MR < 0,38) dengan frekuensi 43,27% (proporsi = 0,43) adalah kumpulan individu dengan fenotip SA, subkelompok II (MR antara 0,38 - 0,68) dengan frekuensi 42,31% (proporsi = 0,42), dan subkelompok III (MR > 0,68) dengan frekuensi 14,42 (proporsi = 0,14).

Penerapan hukum Hardy-Weinberg pada data 104 subyek ini menunjukkan frekuensi alel resesif yang menimbulkan fenotip SA adalah $q = \sqrt{0,43} = 0,65$. Selanjutnya dapat dihitung frekuensi alel dominan yang menimbulkan fenotip RA yaitu $p = 1 - q = 0,35$. Dengan demikian dapat dihitung proporsi genotip SA yang homozigot ($= q^2$), RA yang heterozigot ($= 2pq$), dan RA yang homozigot ($= p^2$) yaitu masing-masing 0,42; 0,45; dan 0,12. Bila masing-masing proporsi ini dikalikan dengan jumlah seluruh subyek ($=104$) maka didapat angka yang diharapkan ('expected') untuk SA homozigot, RA heterozigot, dan RA heterozigot yaitu masing-masing 45,03; 46,81; dan 12,17 orang. Angka yang didapatkan ('observed') ternyata hampir sama dengan angka yang diharapkan yaitu masing-masing ialah 45, 44, dan 15 orang. Dengan uji 'Chi-square' klasifikasi tunggal (Dixon and Massey, 1983) (Lampiran BD) ternyata tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai yang didapatkan dengan nilai yang diharapkan ($p > 0,05$).

Hasil analisis ini menunjukkan bahwa dalam penelitian ini, rasio kadar

MADDS/DDS dalam plasma dapat digunakan untuk membedakan RA yang homozigot dan RA yang heterozigot. Kelompok peneliti lain (Horai *et al.*, 1988c; Irshaid *et al.*, 1991) juga menggunakan parameter rasio kadar MADDS/DDS dan menjumpai adanya distribusi trimodal dalam data mereka, tetapi tidak ada kesesuaian antara nilai yang didapatkan dengan nilai yang diharapkan. Grant *et al.* (1984) yang menggunakan kafein sebagai obat uji dan menjumpai adanya distribusi trimodal, juga tidak berhasil mendapatkan kesesuaian dengan teori Hardy-Weinberg. Sebaliknya Chapron *et al.* (1980) yang menggunakan sulfametazin dan menjumpai adanya distribusi trimodal, berhasil mendapatkan adanya kesesuaian ini. Sayangnya jumlah subyek yang diteliti oleh penulis tersebut hanya 19 orang. Hingga kini memang belum ada kesepakatan apakah trimodalitas N-asetilasi memang benar-benar mencerminkan genotip yang berbeda untuk N-asetiltransferase.

Menurut hemat penulis ketidakcocokan hasil yang didapat dan hasil yang diamati ini dapat disebabkan beberapa faktor:

1. Daya pisah yang tumpul antara kelompok RA dan SA sehingga banyak individu yang masuk ke dalam subkelompok IA, dan ini kemudian dapat mengacaukan perhitungan frekuensi genotip. Nilai kritis yang memisahkan RA dan SA sedapat mungkin dipastikan pada satu titik saja dan bukan suatu nilai rentang. Misalnya menetapkan $MR < 3,8$ sebagai titik yang memisahkan SA dan RA adalah lebih baik dari pada membuat batasan individu dengan $MR < 0,35$ sebagai SA dan individu dengan $MR > 0,40$ sebagai RA karena sebagian individu yang masuk ke nilai rentang antara 0,35 - 0,40 akan tidak jelas fenotipnya. Bila data yang diperoleh tidak memungkinkan penetapan satu titik MR sebagai pemisah antara RA dan SA maka ketepatan pengukuran kadar perlu diperbaiki atau dicari metode yang memberi daya pisah lebih baik.

2. Ekstrapolasi antimode dari penelitian lain akan menimbulkan kesalahan dalam perhitungan karena frekuensi genotip pada tiap populasi tidak sama.
3. Populasi yang diteliti merupakan campuran berbagai etnis yang heterogen.
4. Subyek yang terpilih tidak mewakili proporsi gen yang ada dalam populasi atau ukuran sampel yang terlalu kecil.
5. Adanya faktor yang menghambat terjadinya 'random mating' dalam masyarakat, misalnya adat, budaya, agama, dll.

Frekuensi SA yang ditemukan dalam penelitian ini ialah 43,27%. Angka ini tidak berbeda banyak dengan angka yang dilaporkan oleh Muchtar *et al.* (1981) (39,0%) dan Suharto *et al.* (1980) (47,5%). Namun angka SA yang dilaporkan oleh Suhardjono & Santoso (1981) berbeda agak jauh yaitu 69,6%. Muchtar *et al.*, Suharto *et al.*, dan Suhardjono & Budiono menggunakan metode Eids & Hodgkin (1973) di mana subyek diminta menelan INH dengan dosis 10 mg/kg BB, kemudian ditentukan rasio asetil-INH/INH dalam urin 6-8 jam.

Frekuensi fenotip SA yang dilaporkan Suhardjono & Budiono ini agak berlainan dengan data dari orang Timur (Oriental) lainnya yang biasanya didominasi oleh RA (Ishizaki, 1991). Menurut kedua penulis tersebut, tingginya frekuensi SA yang mereka dapatkan itu mungkin disebabkan karena subyek mereka adalah penderita tuberkulosis yang juga kekurangan gizi. Dalam keadaan demikian dapat terjadi depresi fungsi hati sehingga terjadi hambatan fungsi asetilasi. Ini mengakibatkan bahwa pada waktu pengumpulan urin berakhir (6-8 jam setelah pemberian obat uji INH) jumlah asetil-INH yang terbentuk masih sedikit. Dengan demikian beberapa subyek yang sebenarnya mempunyai fenotip RA akan terukur sebagai SA.

Namun Evans (1989) yang mengamati banyak laporan menyimpulkan bahwa

penentuan fenotip polimorfisme N-asetilasi baru akan terganggu bila ada gangguan faal hati dan ginjal yang berat.

Evans juga mengemukakan bahwa asam *p*-aminosalisilat (yang mungkin juga dimakan oleh subyek yang diteliti oleh Suhardjono & Budiono) memperlambat N-asetilasi. Fenomena ini mungkin disebabkan karena berkurangnya persediaan asetil koenzim A dan/atau terjadi kompetisi antara kedua obat itu untuk menduduki 'active site' pada molekul N-asetiltransferase.

Zaeni & Peetosutan (1975) mengukur kadar isoniazid dalam darah 30 penderita tuberkulosis yang mendapat dosis uji isoniazid 100 mg. Kedua peneliti ini menemukan frekuensi SA yang jauh lebih rendah (23,3%) dari yang ditemukan peneliti lain di Indonesia. Kriteria SA yang digunakan dalam penelitian tersebut ialah bila kadar isoniazid dalam darah pada jam ke empat dan jam ke enam setelah pemberian obat uji bertahan masing-masing di atas 0,6 dan 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Kadar isoniazid ditentukan dengan pengukuran hayati (*bioassay*). Frekuensi SA yang agak rendah ini dapat disebabkan karena: (1) dosis isoniazid yang diberikan agak kecil (yang lebih lazim diberikan ialah dosis 4 mg/kg), (2) jumlah subyek relatif kecil, (3) tidak dijumpai bimodalitas yang jelas dalam distribusi frekuensi kadar isoniazid, (4) terjadi kontaminasi yang mengganggu pembacaan hasil pengukuran. Karena kurang praktis, pengukuran hayati ini telah lama ditinggalkan orang.

Apabila frekuensi SA yang didapat dalam penelitian ini (43,27%) dibandingkan dengan data dari populasi lain di Asia Timur dan Asia Tenggara yang dikumpulkan oleh Ishizaki (1991) (Tabel V.1), maka didapat kesan bahwa hasil yang didapat dalam penelitian ini sesuai dengan penemuan lain, yaitu bahwa berbagai populasi di daerah ini didominasi oleh individu dengan fenotip RA. Ada kemungkinan kesesuaian ini disebabkan antara lain karena hampir semua populasi yang tinggal di daerah ini

berasal dari ras Mongoloid (yang tinggal di Jepang dan Cina ialah Mongoloid Asiatik dan yang tinggal di Asia Tenggara ialah Mongoloid Melayu). Variasi hasil pengukuran dapat disebabkan antara lain karena adanya perbedaan: (1) metode pengukuran, (2) kejelasan pemisahan modus SA dan RA pada frekuensi distribusi, (3) pengaruh lingkungan, (4) seleksi subyek yang diikutsertakan dalam penelitian.

TABEL V.1
FREKUENSI FENOTIP ASETILATOR LAMBAT PADA
BEBERAPA POPULASI ORIENTAL

Populasi	Frekuensi asetilator lambat (%)
Ainu	13
Cina	13
Filipina	28
Jepang	7-12
Korea	11
Ryukyu	15
Singapore (etnik Cina)	22
Taiwan	22
Thailand	18
Thailand (etnik Cina)	34

Sumber : Ishizaki, 1991.

Sunahara *et al.* (1961) mengamati bahwa di sepanjang pantai Pasifik benua Asia ada kecenderungan berubahnya frekuensi alel q (yang membawa sifat SA) menurut derajat lintang. Populasi yang tinggal jauh di sebelah utara katulistiwa mempunyai frekuensi alel q yang rendah. Makin dekat ke katulistiwa makin tinggi frekuensinya.

Hubungan itu dapat dilihat dalam Tabel V.2.

TABEL V.2

HUBUNGAN ANTARA TEMPAT TINGGAL POPULASI DENGAN FREKUENSI ALEL q DI PANTAI ASIA YANG MENGHADAP SAMUDERA PASIFIK.

Kelompok etnis:	Lokasi:	Derajat lintang:	Frekuensi alel q:
Jepang	Hokkaido	+ 43°	0,31
Jepang	Tokyo	+ 35°	0,32
Cina	Changsa	+ 28°	0,36
Thailand	Thailand	+ 14°	0,54
Melayu	Singapore	+ 3°	0,65

Sumber: Evans, 1989.

Jakarta, tempat tinggal subyek yang diteliti dalam studi ini, letaknya tidak jauh dari katulistiwa (derajat lintang - 6°). Frekuensi alel q sebesar 0,65 yang ditemukan dalam penelitian ini ternyata konsisten dengan kecenderungan yang diuraikan di atas. Hingga kini tidak diketahui faktor apa yang menimbulkan kecenderungan itu. Menurut penulis tersebut di atas, ada kemungkinan fenomena ini berkaitan dengan adanya paparan terhadap suatu substrat alam untuk enzim N-asetiltransferase. Paparan terhadap substrat ini terdapat dengan intensitas paling tinggi di sekitar katulistiwa. Substrat alam ini mungkin berupa makanan, mungkin pula zat lain yang terbentuk secara efektif pada suhu atau radiasi tinggi. Di bagian dunia lainnya kecenderungan ini tidak terlihat.

Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa pada penelitian ini ditemukan rasio

metabolik DDS rata-rata (\pm SD) kelompok SA dan RA masing-masing ialah 0,23 (\pm 0,06) dan 0,63 (\pm 0,18). Dengan demikian rasio metabolik DDS kelompok RA adalah 2,7 kali lebih tinggi dari rasio metabolik rata-rata kelompok SA. Horai *et al.* (1988b) yang melakukan penelitian pada 108 subyek dari etnik Cina melaporkan angka yang tidak berbeda jauh yaitu rasio metabolik DDS rata-rata (\pm SD) untuk SA dan RA masing-masing ialah 0,23 (\pm 0,06) dan 0,69 (\pm 0,19). Rasio metabolik rata-rata kelompok RA mereka adalah 3 kali lebih tinggi dari rasio metabolik rata-rata kelompok PM. Perbedaan yang mencolok ialah frekuensi SA yang ditemukan pada penelitian ini adalah 43,3%, sedangkan pada penelitian Horai *et al* hanya 13%. Salah satu sebab terlihatnya perbedaan yang besar ini ialah bahwa peneliti tersebut menggunakan antimode yang digunakan untuk subyek Kaukasia (Reidenberg *et al.*, 1975; Carr *et al.*, 1978) yaitu pada rasio metabolik DDS antara 0,30-0,35, sementara itu secara visual gambaran frekuensi distribusi rasio metabolik DDS mereka memperlihatkan antimode yang sama seperti yang didapatkan pada penelitian ini yaitu antara 0,35-0,40. Seperti telah diuraikan di atas, salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan angka frekuensi SA pada berbagai populasi ialah menggunakan antimode/kriteria penentuan fenotip yang berasal dari populasi lain.

D. Penentuan frekuensi fenotip oksidasi jenis debrisokuin/spartein

Pada Gambar IV.10 terlihat bahwa secara visual tidak tampak adanya antimode pada log MR 1,1 seperti yang dilaporkan di kepustakaan (McGourty *et al.*, 1985). Peneliti lain (Iyun *et al.*, 1986) yang menggunakan metoprolol dan debrisokuin sebagai obat uji pada 138 subyek orang Nigeria juga tidak menemukan adanya

bimodalitas pada frekuensi distribusi kemampuan oksidasi kedua obat uji tersebut walaupun beberapa subyek yang mereka teliti mempunyai rasio metabolik $> 12,6$ (tergolong PM).

Bila dalam suatu penelitian polimorfisme metabolisme obat tidak terlihat adanya antimode, ini dapat disebabkan oleh: Pertama, tidak ada polimorfisme metabolisme obat pada populasi yang diteliti sehingga frekuensi distribusi berbentuk unimodal. Kedua, polimorfisme metabolisme ada tetapi frekuensi PM pada populasi yang diteliti terlalu kecil sehingga tidak dijumpai pada populasi tersebut. Sebagai contoh, ketika Horai *et al.* (1988d) melakukan suatu penelitian pendahuluan untuk mengetahui frekuensi PM pada populasi orang Jepang dengan mengambil 183 subyek, ia sama sekali tidak menemukan adanya PM. Namun ketika ia menambah jumlah subyeknya hingga 262 orang, ia menjumpai satu PM (Horai *et al.*, 1988e). Ketiga, jenis sampel biologis yang diperiksa kurang tepat. Sebagai contoh, Horai *et al.* (1988b) meneliti polimorfisme N-asetilasi pada 108 subyek etnik Cina dengan mengukur rasio metabolik dapson di plasma dan di urin. Distribusi bimodal terlihat pada sampel plasma tetapi pada urin didapatkan distribusi unimodal.

Pada Tabel IV.5 dapat dilihat bahwa frekuensi PM untuk oksidasi jenis debrisoquin ialah 8,6 %. Angka ini ternyata hampir sama dengan angka yang dilaporkan oleh Salim *et al.* (1988) yaitu 7,8%, dan juga angka yang didapatkan pada populasi ras Kaukasia yaitu 7,65 % (Alvan *et al.*, 1990). Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini selain menyokong frekuensi PM yang dilaporkan oleh Salim *et al.* juga menunjukkan bahwa obat uji metoprolol dan debrisoquin (masing-masing adalah obat uji yang dipakai dalam penelitian ini dan yang dipakai dalam penelitian Salim *et al.*) memberikan hasil yang sepadan.

Perbedaan yang mencolok terlihat dengan laporan dari Jepang (Horai *et al.*,

1988e), Cina (Horai *et al.*, 1989a), Korea (Sohn *et al.*, 1991), dan Thailand (Wanwimolruk *et al.*, 1990) yang menemukan bahwa frekuensi PM berkisar antara 0 - 1,2%. Secara teoretis perbedaan faktor lingkungan (alkohol, umur, merokok, dll.) dapat dianggap menjadi penyebab perbedaan ini. Namun menurut Steiner *et al* (1985), sitokrom CYP2D6 (yang dihasilkan oleh gen *CYP2D6*) tidak banyak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Untuk menerangkan sebab terjadinya perbedaan ini diperlukan penentuan genotip ('genotyping'), yaitu menentukan jenis-jenis alel yang menimbulkan fenotip EM atau PM.

Dengan analisis 'restriction fragment length polymorphism' (RLFP) pada leukosit DNA yang berasal dari subyek Kaukasia, Skoda *et al.* (1988) telah menemukan beberapa jenis alel mutan pada fenotip oksidasi jenis debrisoquin. Dengan menggunakan enzim restriksi XbaI dapat diperoleh fragmen 44 kb dan 11,5 kb. Kedua alel mutan ini adalah abnormal. Semua genotip 44/44 kb; 44/11,5 kb; dan 11,5/11,5 kb menunjukkan fenotip PM, tetapi hanya 25% PM yang mempunyai genotip seperti ini. Semua EM dan 75% PM mempunyai fragmen 29 kb. Fragmen 29 kb ini dapat berupa alel aktif/normal ('wild type'), tapi dapat juga berupa alel abnormal yang disebut alel 29A dan 29B. Dengan menggunakan teknik 'polymerase chain reaction' (PCR), Heim *et al.* (1990) dapat membedakan apakah fragmen 29 kb ini adalah alel 'wild type', alel 29A, atau alel 29B.

Fenomena yang menarik kemudian dilaporkan oleh Yue *et al.* (1989) yang melakukan penentuan genotip pada 21 subyek Cina. Dalam penelitian itu terungkap bahwa alel mutan 44 kb dan 11,5 kb (yang pada subyek Kaukasia hanya dijumpai pada subyek dengan fenotip PM) banyak dijumpai pada subyek Cina yang berfenotip EM. Johansson *et al.* (1991) yang menganalisis gen *CYP2D6* pada 115 subyek Cina juga menemukan bahwa pada etnik ini sering (37%) dijumpai fragmen 44 kb dan ini

tidak berkaitan dengan fenotip PM seperti halnya pada subyek Kaukasia. Diduga pada subyek Cina fragmen 44 kb ini mengandung gen *CYP2D6* yang fungsional.

Sohn *et al.* (1991) mengamati bahwa walaupun populasi Jepang, Korea, dan Cina mempunyai frekuensi PM yang hampir sama (masing-masing 0,7; 0,5; dan 0%), rata-rata (\pm SD) masing-masing 0,87 (\pm 0,90) dan 0,84 (\pm 1,14) yang berbeda sangat bermakna dengan Cina yaitu 2,81 (\pm 2,35). Pada penelitian ini ditemukan bahwa MR metoprolol ialah 4,84 (\pm 5,86). Ini berarti bahwa kemampuan oksidasi jenis debrisoquin pada orang Indonesia di bawah kemampuan populasi Jepang, Korea, dan Cina. Variasi angka-angka ini juga menunjukkan perlunya penelitian genotip untuk menerangkan mengapa terjadi perbedaan yang besar antara berbagai populasi yang tinggal di bagian bumi yang relatif berdekatan.

Gonzalez *et al.* (1991) membuat hipotesis bahwa gen *CYP2D6* merupakan sisa evolusi. Dahulu kala manusia memerlukan gen ini untuk memetabolisme toksin dari tanaman yang mereka makan sehari-hari. Karena itu tidak mengherankan bila substrat dari sitokrom P450IID6 banyak yang berupa obat yang berasal dari tanaman, yaitu spartein, propilajmalin, kodein, dan kuinidin. Tanaman menghasilkan toksin untuk melindungi diri dan mempertahankan spesiesnya. Sebagian mamusia dan hewan tertentu mampu hidup terus walaupun memakan tanaman yang mengandung toksin karena mereka mampu membuat enzim yang dapat menetralisasi toksin tanaman tersebut ('selective pressure'). Bila tanaman yang toksik tersebut dalam proses evolusi tidak lagi digunakan sebagai makanan, maka gen yang memproduksi enzim yang bersangkutan tidak lagi diperlukan dan lambat laun akan punah.

Rendahnya frekuensi PM untuk oksidasi jenis debrisoquin pada populasi Jepang, Korea, dan Cina menunjukkan bahwa ditinjau dari sudut populasi, polimorfisme jenis ini tidak mempunyai dampak klinik yang berarti bagi mereka. Bagi orang Indonesia,

dengan frekuensi PM sebesar 8,65%, polimorfisme oksidasi jenis debrisokuin ini menjadi jauh lebih penting artinya.

E. Penentuan frekuensi fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin

Dalam penelitian ini ditemukan frekuensi PM adalah sebesar 15,39% (Tabel IV.5). Angka ini tidak banyak berbeda dengan yang ditemukan pada populasi Cina yaitu 17,4 % (Horai *et al.*, 1989a) dan Korea yaitu 12,6 % (Sohn *et al.*, 1992). Frekuensi fenotip PM pada populasi Jepang agak tinggi yaitu 22.5% (Horai *et al.*, 1989a), tetapi pada Cuna Amerindian adalah 0% (Inaba *et al.*, 1988). Angka-angka ini menunjukkan bahwa frekuensi fenotip suatu populasi tidak dapat diekstrapolasi ke populasi lainnya. Dibandingkan dengan ras Kaukasia yang mempunyai frekuensi PM 2,6 % (Wedlund *et al.*, 1984), polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai arti klinik yang lebih penting pada populasi orang Timur (termasuk Indonesia) karena frekuensi PM-nya yang jauh lebih tinggi. Seperti halnya pada polimorfisme oksidasi jenis debrisokuin, penentuan genotip kemungkinan besar dapat mengungkapkan apa yang menyebabkan frekuensi PM pada orang Kaukasia lebih rendah dari data yang didapatkan pada penelitian ini dan penelitian pada populasi Jepang dan Korea. Namun pada saat ini hasil studi genotip ini belum banyak dilaporkan (mungkin karena polimorfisme jenis S-mefenitoin ini relatif belum lama ditemukan).

Pada Tabel IV.6 dapat dilihat bahwa pada penelitian ini ditemukan log % ekskresi HMN rata-rata (\pm SD) kelompok PM dan EM masing-masing ialah -0,17 (\pm 0,31) dan 1,30 (\pm 0,21). Dengan demikian kemampuan kelompok PM untuk mengekskresi HMN dalam urin 8 jam hanya 5,0% dari kemampuan kelompok EM.

Rendahnya kemampuan kelompok PM untuk mengekskresi HMN yang dijumpai dalam penelitian ini juga turut menjelaskan mengapa 2 subyek PM (subyek No.3 dan 6 dengan log % ekskresi HMN masing-masing -0,09 dan -0,38) yang mendapat dosis obat uji mefenitoin rasemat 100 mg memperlihatkan efek samping relatif berat dan bertahan selama 12-24 jam (Bab IV.C.3). Horai *et al.* (1989a) yang melakukan penelitian pada 98 subyek Cina melaporkan angka yang tidak berbeda jauh yaitu log % ekskresi HMN rata-rata (\pm SD) untuk PM dan EM masing-masing ialah -0.68 (\pm 0,46) dan 1,32 (\pm 0,24). Kemampuan kelompok PM untuk mengekskresi HMN hanya 1,4% dari kemampuan kelompok PM yang mereka teliti.

Plot probit digunakan untuk melihat apakah suatu distribusi data normal atau tidak (Lentner, 1982). Distribusi yang normal akan membentuk plot probit yang kurang lebih lurus. Suatu populasi yang terbagi atas kelompok EM dan PM akan membentuk defleksi pada titik di mana terdapat antimode bila kedua kelompok itu distribusinya normal. Bila distribusi EM dan PM tidak normal maka defleksi itu menjadi tidak jelas. Pada Gambar IV.13 tidak terlihat defleksi plot probit pada log % MR 0,7 maupun 0,5. Agaknya ini disebabkan karena distribusi frekuensi EM maupun PM tidak normal sebagaimana yang terlihat pada distribusi frekuensinya (Gambar IV.12).

**F. Hubungan antara fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin
dengan kemampuan memetabolisme proguanil
menjadi sikloguanil**

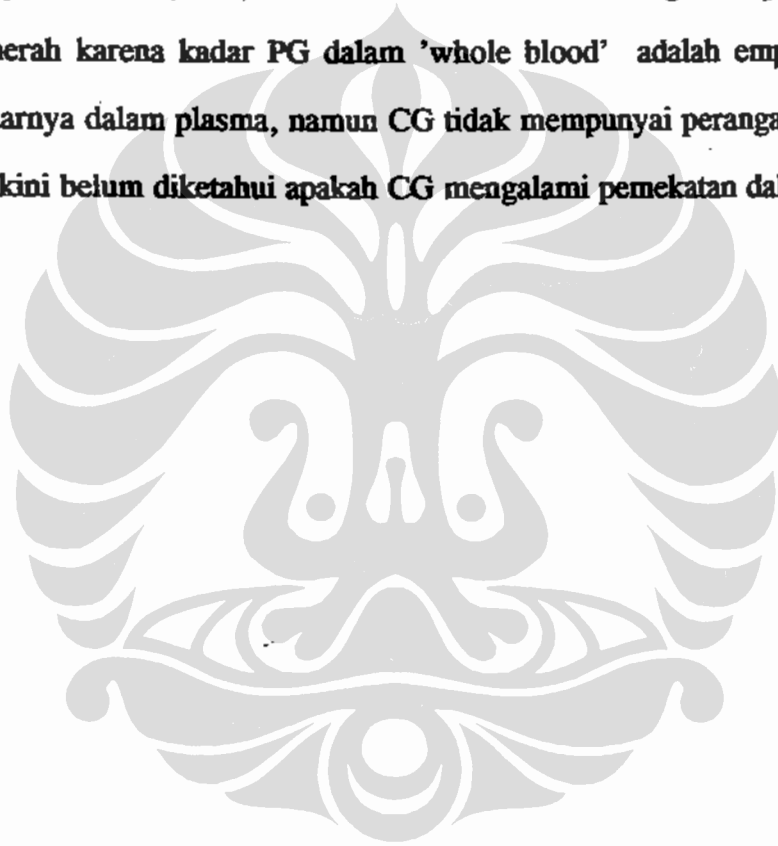
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fenotip seseorang untuk polimorfisme

oksidasi jenis S-mefenitoin sangat menentukan kemampuannya untuk mengubah PG menjadi CG dalam tubuhnya. Rasio PG/CG rata-rata (\pm SD) pada kelompok EM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin adalah 3,72 (\pm 2,10) dengan kisaran antara 1,25 - 8,45; sedangkan pada kelompok PM ialah 36,00 (\pm 19,46) dengan kisaran antara 11,13 - 85,06. Data ini sesuai dengan hasil penelitian *in vitro* oleh Helsby *et al.* (1990b) yang menggunakan mikrosom hati manusia. Penelitian Funck-Brentano *et al.* (1992) baru-baru ini juga memberi hasil yang hampir sama. Peneliti ini mengikutsertakan 21 subyek EM dan 2 subyek PM serta mendapatkan hasil rasio molar PG/CG untuk kelompok EM berkisar antara 0,79 - 9,89 (median 2,09), sedangkan rasio untuk kedua PM masing-masing adalah 58,04 dan 90,30.

Dengan mempertimbangkan tingginya angka frekuensi PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin yang ditemukan dalam penelitian ini (15,39%) ada alasan untuk memperkirakan bahwa cukup banyak subyek orang Indonesia (dari etnik Melayu) yang tidak mampu memetabolisme PG menjadi CG sehingga kemungkinan tidak akan mendapat manfaat profilaksis yang memadai. Secara teoretis dapat saja dilakukan peningkatan dosis sehingga kelompok PM masih dapat membentuk CG yang cukup, tetapi dari segi praktis hal ini sulit dikerjakan karena dalam penelitian ini ternyata 41,67% subyek mual atau muntah setelah menelan dua tablet proguanil (= 2 X 100 mg). Walaupun efek samping ini tidak berbahaya, untuk suatu obat yang digunakan dalam jangka panjang diperkirakan akan sangat mengurangi kepatuhan untuk makan obat. PG harus dimakan sekali sehari karena masa paruh eliminasinya hanya sekitar 11 jam (Watkins *et al.*, 1987). Selain itu dengan melihat rasio PG/CG pada EM dan PM yang berbeda hampir sepuluh kali lipat, diperkirakan sulit meningkatkan dosis PG pada PM untuk mencapai dosis terapi.

Masalah potensial lainnya ialah ketidakmampuan membentuk CG dalam jumlah

yang cukup pada individu tertentu secara teoretis dapat merangsang timbulnya resistensi parasit terhadap obat. Sekalipun demikian penelitian yang lebih mendalam terhadap kinetik PG dan CG masih diperlukan karena walaupun CG hanya mencapai kadar yang rendah pada individu PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin, bila metabolit tersebut mengalami pemekatan dalam eritrosit atau di jaringan hati, maka prediksi yang dibuat atas dasar kadarnya dalam darah menjadi tidak relevan. Penelitian Wattanagoon *et al.* (1987) membuktikan bahwa PG mengalami pemekatan dalam sel darah merah karena kadar PG dalam 'whole blood' adalah empat kali lebih tinggi dari kadarnya dalam plasma, namun CG tidak mempunyai perangai kinetik seperti ini. Hingga kini belum diketahui apakah CG mengalami pemekatan dalam jaringan hati.



BAB VI

RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN

A. Ringkasan

Latar belakang

Salah satu masalah penggunaan obat yang dihadapi dokter di klinik ialah ketidakseragaman respons yang diperlihatkan penderita terhadap obat. Penggunaan jenis dan dosis obat yang sama untuk mengobati penyakit yang sama hanya menghasilkan efek terapi pada sebagian penderita saja. Penderita lainnya mungkin tidak memperlihatkan efek sama sekali, atau mengalami efek toksik.

Pada manusia telah diketahui bahwa pengaruh faktor genetik terhadap kemampuan metabolisme obat merupakan penyebab penting timbulnya variasi respons antar-individu terhadap obat. Pengaruh faktor genetik ini dapat dikendalikan oleh banyak gen (poligenik) atau satu gen (monogenik). Di bawah kendali poligenik (disertai pengaruh faktor lingkungan), kumpulan individu dalam suatu populasi akan mempunyai sebaran kemampuan metabolisme obat yang berbentuk unimodal. Di bawah kendali monogenik, akan terbentuk sebaran dengan dua atau tiga modus.

Hingga kini ada 3 jenis polimorfisme metabolisme obat di bawah kendali monogenik yang paling banyak diteliti yaitu N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin. Kendali monogenik ini menyebabkan individu dalam suatu populasi terbagi dua fenotip yaitu: 'slow' dan

'rapid acetylator' (SA dan RA) untuk N-asetilasi, serta 'poor' dan 'extensive metabolizer' (PM dan EM) untuk oksidasi jenis debrisoquin dan S-mefenitoin. Karena itu digunakan istilah 'polimorfisme genetik' untuk fenomena ini.

Kelambatan metabolisme pada fenotip SA dan PM disebabkan karena tubuh kurang/tidak mampu membentuk enzim tertentu yang diperlukan jalur metabolisme tersebut. Untuk polimorfisme N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin dan oksidasi jenis S-mefenitoin, enzim yang berperanan berturut-turut ialah N-asetiltransferase, sitokrom CYP2D6 (= P450IID6), dan sitokrom CYP2C9 (= P450IIC9).

Obat-obat yang juga dimetabolisme (kosegregasi metabolisme) oleh enzim N-asetilase antara lain ialah dapson, isoniazid, prokainamid, hidralazin, fenelzin, dan kafein. Obat-obat yang dioksidasi oleh sitokrom CYP2D6 antara lain ialah metoprolol, spartein, flekainid, nortriptilin, dekstrometorfan, dan perfenazin. Obat-obat yang dimetabolisme oleh sitokrom CYP2C9 antara lain ialah imipramin, omeprazol, dan diazepam.

Kurangnya kemampuan tubuh untuk membentuk enzim-enzim diturunkan secara genetik ini dapat menimbulkan dampak klinik dalam bentuk: (1) terganggunya metabolisme beberapa obat lain yang berkosegregasi dengan jenis polimorfisme metabolisme tertentu, (2) timbulnya efek toksik dan terkadang kegagalan terapi, (3) meningkatnya insidens berbagai penyakit tertentu (karsinoma kandung kemih, Parkinsonisme, 'systemic lupus erythematosus', dll.)

Dengan demikian penentuan frekuensi EM atau RA dan PM atau SA dalam suatu populasi akan memberi informasi yang berguna untuk memperkirakan besarnya resiko potensial akibat pengaruh faktor genetik. Frekuensi fenotip ini tidak sama antara berbagai populasi, sehingga angka ini harus ditentukan untuk masing-masing populasi.

Secara ringkas dapat dikatakan bahwa dalam bidang polimorfisme metabolisme obat yang diturunkan secara genetik, ada 2 masalah yang penting untuk diteliti yaitu: (1) mengetahui frekuensi fenotip kemampuan metabolisme obat untuk berbagai populasi, dan (2) mengungkapkan dampak klinik apa saja yang dapat timbul akibat berbagai jenis polimorfisme metabolisme obat.

Penelitian ini berusaha memberi sumbangan pada pemecahan kedua masalah tersebut. Selain itu juga ada masalah penting lainnya yang ingin dipecahkan yaitu penyederhanaan metode.

Masalah

1. Data frekuensi fenotip polimorfisme metabolisme obat pada populasi orang Indonesia:

Hingga kini data mengenai frekuensi fenotip di Indonesia belum seragam dan belum lengkap. Untuk polimorfisme N-asetilasi hingga kini telah ada 4 penelitian, namun frekuensi SA yang dilaporkan masih berbeda agak jauh satu sama lain (bervariasi antara 23,3 - 69,6%). Untuk mendapatkan kesimpulan yang lebih mantap diperlukan lebih banyak lagi penelitian dalam bidang ini. Untuk polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin, hingga kini baru ada satu laporan, di mana dikemukakan bahwa frekuensi PM pada suatu populasi orang Indonesia adalah 7,8%. Hasil ini juga perlu disokong oleh penelitian-penelitian lain karena angka yang dilaporkan ini lebih sesuai dengan angka ras Kaukasia yaitu 5 - 10% dari pada angka populasi orang Jepang, Cina, dan Korea yang berkisar antara 0 - 0,5%. Untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin hingga kini belum ada data dari populasi orang Indonesia.

2. Implikasi klinik polimorfisme metabolisme obat:

P. falciparum yang resisten terhadap klorokuin kini menimbulkan masalah di berbagai bagian dunia yang endemik malaria, termasuk Indonesia. Proguanil (PG) adalah suatu obat pencegah malaria yang aman dan efektif. Dalam tubuh, PG yang merupakan 'prodrug' (tidak aktif) ini, dioksidasi menjadi sikloguanil (CG) yang aktif. Dewasa ini diketahui bahwa metabolisme PG menjadi CG memperlihatkan kosegregasi dengan metabolisme S-mefenitoin pada suatu studi *in vitro* yang menggunakan mikrosom hati manusia. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah fenomena ini juga terjadi *in vivo*.

3. Penyederhanaan metode:

Penentuan fenotip secara konvensional untuk ketiga jenis polimorfisme metabolisme tersebut di atas pada suatu populasi akan makan waktu banyak dan rumit karena harus dikerjakan secara sekuensial. Ini dapat dipermudah bila dapat dibuktikan bahwa pemberian ketiga obat uji secara serentak memberikan hasil yang sama. Sebelum ini telah ada peneliti yang memberikan 2 obat uji secara serentak, namun belum ada yang membuktikan bahwa pemberian 3 obat uji secara serentak memberi hasil yang sama dengan pemberian obat uji secara terpisah. Walaupun penelitian untuk membuktikan hal ini cukup sulit dan makan waktu, hasilnya akan merupakan penemuan baru yang bukan saja akan diterapkan dalam studi ini, tetapi juga dapat dimanfaatkan oleh peneliti lain.

Masalah terakhir ini harus dipecahkan lebih dahulu untuk mempermudah pemecahan 2 masalah di atas.

Tujuan

Tujuan penelitian ini dibagi dalam 3 tahap yaitu:

1. Membuktikan bahwa penentuan fenotip (untuk N-asetilasi, oksidasi jenis

debrisokuin dan S-mefenitoin) secara serentak memberikan hasil yang sama dengan cara terpisah.

2. Mengetahui frekuensi fenotip ketiga jenis polimorfisme metabolisme obat tersebut di atas pada suatu populasi orang Indonesia.
3. Membuktikan bahwa individu dengan fenotip EM untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dari individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil.

Hipotesis

Untuk penelitian tahap 1: Penentuan fenotip secara serentak (untuk N-asetilasi, oksidasi jenis debrisokuin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin) memberikan hasil yang sama dengan cara terpisah.

Untuk penelitian tahap 2: Tidak dibuat hipotesis karena penelitian seperti ini selalu bersifat deskriptif.

Untuk penelitian tahap 3: Individu dengan fenotip EM untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang lebih baik dari individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil.

Metode

Seratus empat sukarelawan sehat yang tidak mempunyai pertalian darah (hubungan orangtua - anak kandung, saudara kandung, dan saudara sepupu) ikut serta dalam penelitian ini. Berat badan dan umur rata-rata (\pm SD) mereka masing-masing adalah 53,5 (\pm 7,4) kg dan 36,7 (\pm 10,3) tahun.

Untuk menjawab tujuan penelitian tahap pertama di atas, diikutsertakan 30 subyek yang secara berturut-turut mendapat obat-obat uji 100 mg dapson (DDS), 100 mg metoprolol (ML), 50 mg mefenitoin (MN) rasemat, dan akhirnya semua obat tersebut secara serentak. DDS, ML dan MN rasemat masing-masing adalah obat uji untuk penentuan fenotip N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin. 'Washout period' antara tiap obat uji ialah 1 minggu.

Untuk menentukan fenotip N-asetilasi diukur rasio metabolik (MR) DDS yaitu kadar monoasetildapson (MADDS)/DDS dalam plasma 3 jam setelah pemberian obat. SA adalah individu dengan $MR < 0,38$ (antimode yang ditemukan dalam penelitian ini).

Untuk penentuan fenotip oksidasi jenis debrisoquin ditentukan MR metoprolol, yaitu kadar ML/hidroksimefenitoin (HML) dalam urin 8 jam setelah makan obat. PM adalah individu dengan $MR \geq 12,6$.

Untuk menentukan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin, ditentukan % ekskresi hidroksimefenitoin (HMN) dalam urin selama 8 jam setelah makan obat. PM adalah individu dengan ekskresi HMN $< 5\%$ dalam urin 8 jam.

Untuk mencapai tujuan penelitian tahap kedua diikutsertakan 104 subyek (termasuk 30 subyek pada tujuan penelitian pertama). DDS diberikan pada pagi hari, ML dan MN rasemat diberikan sebelum tidur pada hari yang sama.

Untuk mencapai tujuan penelitian tahap ketiga diikutsertakan 14 EM dan 10 PM untuk oksidasi jenis S-mefenitoin. Kepada tiap subyek diberikan 200 mg proguanil, kemudian ditentukan rasio kadar proguanil/sikloguanil (yaitu parameter yang mencerminkan kemampuan untuk mengubah proguanil menjadi sikloguanil) dalam urin 8 jam.

Kadar dapson dan monoasetildapson dalam plasma ditentukan dengan perangkat HPLC yang dilengkapi dengan detektor ultraviolet. Kadar metoprolol dan α -

hidroksimetoprolol dalam urin ditentukan dengan perangkat HPLC yang dilengkapi dengan detektor fluoresens. Kadar hidroksimefenitoin dalam urin ditentukan dengan perangkat kromatograf gas yang dilengkapi dengan kolom kapiler dan 'flame ionization detector'. Kadar proguanil dan sikloguanil dalam urin ditentukan dengan perangkat HPLC yang dilengkapi dengan detektor ultraviolet.

Protokol penelitian ini telah disetujui oleh Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Hasil

1. Penentuan fenotip secara serentak dan terpisah pada ketiga jenis polimorfisme metabolisme ini (N-asetilasi, oksidasi jenis debrisokuin, dan oksidasi jenis S-mefenitoin) terbukti memberikan hasil yang sama pada semua subyek. Dengan demikian hipotesis untuk penelitian tahap 1 diterima.
2. Pada populasi ini didapatkan bahwa frekuensi SA untuk N-asetilasi ialah 43,3% (dengan 'confidence interval' 95% = 33,7 - 52,8%). Frekuensi PM untuk oksidasi jenis debrisokuin dan S-mefenitoin masing-masing adalah 8,7% dan 15,4% (dengan 'confidence interval' 95% masing-masing adalah 3,2 - 14,0% dan 8,5 - 22,3%).
3. Individu dengan fenotip EM untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin mempunyai kemampuan yang jauh lebih baik dari individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil. Rasio ekskresi proguanil/sikloguanil dalam urin rata-rata (\pm SD) dari kelompok EM dan PM masing-masing adalah 3,72 (\pm 2,10) dan 36,00 (\pm 19,46) ('unpaired t-test', '1-tail', $p < 0,0005$). Dengan demikian hipotesis untuk penelitian tahap 3 diterima.

Selain hasil yang menjawab tujuan penelitian, dapat dicatat beberapa data tambahan dari penelitian ini yaitu:

1. Pada populasi yang diteliti, subyek hampir seluruhnya termasuk etnik Melayu (yang terbanyak adalah suku Jawa dan Sunda).
2. Antimode yang memisahkan kelompok SA dan RA (untuk polimorfisme jenis N-asetilasi) pada populasi yang diteliti adalah pada rasio metabolik MADDs/DDS 0,38 (antimode pada beberapa populasi bangsa lain adalah pada rasio metabolik 0,30-0,35).
3. Terlihat ada perbedaan besar antara kedua fenotip dalam kemampuan metabolisme pada masing-masing polimorfisme:
 - a. Untuk polimorfisme N-asetilasi, rasio metabolik MADDs/DDS rata-rata (\pm SD) dari kelompok SA dan RA masing-masing adalah 0,23 (\pm 0,06) dan 0,63 (\pm 0,18).
 - b. Untuk polimorfisme oksidasi jenis debrisoquin, log rasio metabolik ML/HML dalam urin rata-rata (\pm SD) dari kelompok PM dan EM masing-masing ialah 1,31 (\pm 0,11) dan 1,36 (\pm 0,40).
 - c. Untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin, log % ekskresi HMN dalam urin rata-rata (\pm SD) dari kelompok PM dan EM masing-masing adalah -0,17 (\pm 0,31) dan 1,3 (\pm 0,21).

B. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Penentuan fenotip (untuk N-asetilasi, oksidasi jenis debrisoquin dan S-mefenitoin) secara serentak terbukti memberikan hasil yang sama dengan cara terpisah.
2. Frekuensi fenotip SA untuk N-asetilasi ialah 43,3%, frekuensi PM untuk oksidasi jenis debrisoquin dan oksidasi jenis S-mefenitoin masing-masing adalah

8,7% dan 15,4% pada populasi yang diteliti.

3. Individu dengan fenotip EM untuk polimorfisme oksidasi jenis S-mefenitoin terbukti mempunyai kemampuan yang lebih baik dari individu dengan fenotip PM untuk mengoksidasi proguanil menjadi sikloguanil.

Selain kesimpulan pokok di atas dapat juga ditarik kesimpulan tambahan yaitu:

1. Dalam penelitian polimorfisme N-asetilasi ditemukan distribusi MR trimodal yang sesuai dengan hukum Hardy-Weinberg, dengan antimode pada MR 0,38 dan 0,68.
2. Frekuensi alel resesif q untuk N-asetilasi yang ditemukan dalam populasi ini ialah 0,65.
3. Dosis uji mefenitoin rasemat sebesar 50 mg untuk penentuan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin memberikan hasil yang sama dengan dosis uji 100 mg yang lazim dipakai.
4. Dosis uji mefenitoin rasemat 50 mg yang diberikan sebelum tidur dapat ditoleransi lebih baik dari dosis 100 mg yang diberikan pada pagi hari.
5. Proguanil 200 mg yang diberikan pada pagi hari sebelum makan menimbulkan mual dan muntah pada 47% dari 24 subyek yang diteliti.

C. Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan hal-hal sebagai berikut:

1. Diperlukan penentuan genotip (alel mutan) untuk mengetahui dasar timbulnya polimorfisme metabolisme obat pada suatu populasi.
2. Karena mefenitoin rasemat cenderung menimbulkan efek samping, tidak beredar di banyak negara, dan metode penentuan kadarnya rumit, perlu

dicari obat uji yang lebih baik untuk menentukan fenotip oksidasi jenis S-mefenitoin (omeprazol mungkin dapat diteliti untuk ini).

3. Perlu diteliti lebih lanjut apakah ada perbedaan frekuensi fenotip metabolisme obat antara orang Indonesia dari etnik Melayu dengan orang Indonesia dari etnik Melanesia.
4. Pada populasi orang Indonesia, pemberian obat di klinik yang diketahui mempunyai kosegregasi dengan oksidasi jenis debrisoquin dan S-mefenitoin (misalnya amitriptilin, klomipramin, imipramin, nortriptilin, diazepam, dll.) perlu dilakukan dengan hati-hati (terutama dalam hal penentuan dosis) karena frekuensi PM kedua jenis oksidasi ini cukup tinggi di sini.
5. Penelitian *in vitro* dengan mikrosom hati manusia perlu lebih digiatkan karena dapat memberi petunjuk berharga mengenai kemungkinan terjadinya kosegregasi oksidasi polimorfik secara *in vivo* pada manusia.

SUMMARY, CONCLUSIONS AND SUGGESTIONS

A. Summary

Background

Genetic influence on drug metabolism capacity has been recognized as a major determinant to cause a marked interindividual response to drugs in man. This genetic influence may be under a monogenic or polygenic control. Under a polygenic control, coupled with various environmental factors, individuals in a population would form a unimodal distribution based on their capacity to metabolize drugs. The monogenic control of the metabolism of certain drugs, on the other hand, is characterized by a bimodal or trimodal distribution.

Until now, the most extensively studied types of monogenically-controlled drug metabolism in man are N-acetylation, debrisoquine-type oxidation, and S-mephenytoin-type oxidation. Under this monogenic control, individuals in a population are classified into the two distinct phenotypes: slow and rapid acetylators (SAs and RAs) for N-acetylation, and poor and extensive metabolizers (PMs and EMs) for debrisoquine- and S-mephenytoin-type oxidations. Therefore, the term 'genetic polymorphism' applies to this phenomenon.

The impaired metabolic capacity in SAs and PMs is caused by a genetically determined insufficient production of enzyme required for a particular pathway of drug metabolism. For the polymorphic N-acetylation, debrisoquine-type oxidation, and S-

mephenytoin type oxidation, the responsible enzymes are N-acetyltransferase, cytochrome CYP2D6 (= P450IID6), and CYP2C9 (= P450IIC9), respectively.

N-acetylation polymorphism concerns the metabolism of a variety of clinically useful drugs such as dapsone, isoniazid, hydralazine, procainamide, phenelzine, and caffeine. Drugs known to undergo the debrisoquine-type oxidations are metoprolol, sparteine, flecainide, dextromethorphan, nortryptiline, perphenazine, etc. Drugs whose metabolism is known to cosegregate with the S-mephenytoin-type oxidation are diazepam, omeprazole, imipramine, etc.

The clinical impacts caused by these polymorphisms are: (1) impaired metabolism of a variety of drugs known to cosegregate with a particular type of polymorphic drug metabolism, (2) manifestation of drug toxicity or failure of treatment, (3) increase of the incidence of certain spontaneous disorders such as bladder cancer, Parkinsonism, and systemic lupus erythematosus.

Therefore it is obvious that determination of the phenotype frequencies in a population would provide a useful information to assess the magnitude of potential drug adverse reactions caused by genetic factors. The frequencies derived from one population does not necessarily apply to other populations/racial groups.

It is apparent from the previous discussion that there are 2 important issues to be explored in pharmacogenetics, i.e.: (1) determination of phenotypes of polymorphisms in various populations and (2) disclosure of the still-unknown clinical impacts of polymorphic drug metabolisms.

The present study will contribute to find answers for these questions. In addition, it will also try to simplify the conventional phenotyping methods.

Research questions

1. Data on phenotype frequencies derived from Indonesian population(s):

Until presently, the phenotype frequencies of various types of polymorphic drug metabolism obtained from Indonesian populations are still somewhat controversial and incomplete. There are 4 publications on N-acetylation polymorphism, but the frequencies of SA reported varies from 23.3 - 69.6%. It is obvious that more studies are needed to get a more conclusive figure. For debrisoquine-type oxidation, there is only 1 paper, which reported that the frequency of PM in an Indonesian population is 7,8%. This would also need confirmatory studies since this figure appears to agree well with data obtained from Caucasian (i.e., 5 - 10 %) rather than with those derived from Japanese, Chinese, and Korean populations (i.e., 0 - 0.5%). So far, no study on S-mephenytoin type oxidation has ever been done in Indonesian population.

2. The clinical impacts of polymorphic drug metabolism:

Today, chloroquine-resistant *P. falciparum* has caused a significant health problem in many malaria-endemic countries, including Indonesia. Proguanil (PG) is a safe and useful prodrug (inactive) for malaria prophylaxis. In man, PG is biotransformed to cycloguanil (CG), its pharmacologically active metabolite. A recent *in vitro* study using human liver microsomes has shown that the conversion of PG to CG cosegregated with S-mephenytoin-type oxidation. Further studies are required to explore whether this phenomenon also occurs *in vivo*.

3. Simplification of the phenotyping method:

Conventional phenotypings of all of the three different types of pharmacogenetic polymorphism in a population are laborious and time-consuming because they have to be carried out sequentially on three different occasions. This drawback should be obviated if the three phenotypings could be carried out simultaneously without causing

any misclassification. Although some authors have carried out simultaneous phenotypings, their methods have been either not yet validated or been conducted by combining only two probe drugs. A simultaneous phenotyping of test drugs for 3 distinct types of polymorphism has never been published. This issue should be answered first to facilitate solving the other problems mentioned above.

Objectives

The objectives of the present study will be divided into 3 parts (based on an appropriate sequence to ease the work), i.e.:

1. To prove that simultaneous phenotyping (for N-acetylation, debrisoquine-, and S-mephenytoin-type oxidations) gives the results similar to those as derived from separate phenotypings.
2. To find out the frequency of phenotypes of the three different polymorphic drug metabolisms (i.e., N-acetylation, debrisoquine-, and S-mephenytoin-type oxidations) in an Indonesian population by using a simultaneous phenotyping technique as described.
3. To prove that EMs of the S-mephenytoin type oxidation have higher capacity to convert proguanil to cycloguanil as compared to that of the PMs.

Hypotheses

1. A simultaneous phenotyping (for N-acetylation, debrisoquine, and S-mephenytoin-type oxidations) gives the results similar to those as derived from separate phenotypings.
2. No hypothesis is made for this part of study because this is a descriptive study
3. The EMs of the S-mephenytoin type oxidation have higher capacity to convert

proguanil to cycloguanil as compared to that of the PMs.

Method

One hundred and four unrelated healthy Indonesian volunteers were included in this study. Their mean body weight (\pm SD) and age were 53.5 kg (\pm 7.4) and 36.7 (\pm 10.3) years old, respectively.

Thirty subjects participated in the study for the first research protocol. They were orally given 100 mg of dapsone (DDS), 100 mg of metoprolol (ML), 50 mg of mephenytoin (MN) racemate, and finally a combination of the three test drugs on four separate occasions with an interval of one week between each administration. DDS, ML, and MN are probe drugs for N-acetylation, debrisoquine-, and S-mephenytoin-type oxidations, respectively.

DDS plasma metabolic ratio (i.e., monoacetyldapsone/DDS concentration ratio in 3-hour postdose plasma) was used for N-acetylation phenotyping. Subjects with MR < 0.38 (i.e., the antimode found in this study) were classified as SAs.

ML/hydroxymetoprolol concentration ratio in urine collected 0-8 hours postdose (ML metabolic ratio) was used for debrisoquine type oxidation phenotyping. Subjects with MR \geq 12.6 were classified as PMs.

Eight-hour urinary excretion of hydroxymephenytoin (HMN) was used for S-mephenytoin-type phenotyping. Subjects with the postdose 8-hour HMN urinary excretion of < 5 % were classified as the PMs.

Urinary HMN level was analyzed by a capillary gas chromatography with nitrogen phosphorous detector, while other drugs and their metabolites in urine or plasma were assayed by the respective high performance liquid chromatographic methods.

One hundred and four subjects were included for the second research protocol. DDS was taken orally in the morning, while ML and MN before bedtime on the same day.

Fourteen EMs and 10 PMs of S-mephenytoin type oxidation took part in the third research protocol. After an oral 200 mg PG dose in the morning, 8-hour postdose urine was collected and the PG/CG concentration ratio (i.e., the parameter that reflects an individual's capacity to convert proguanil to cycloguanil) was determined.

Results

1. For all types of genetic polymorphism studied, simultaneous and separate phenotypings gave a similar result in all subjects. Hypothesis 1 is therefore accepted.
2. In the present study, it was found that the frequency of SA for N-acetylation was 43.3 % (95 % confidence interval = 33.7 - 52.8 %). The frequencies of PM of debrisoquine- and S-mephenytoin-type oxidations were 8.7 % and 15.4 %, with the 95 % confidence interval of 3.2 - 14.0 % and 8.5 - 22.3 %, respectively.
3. EMs of the S-mephenytoin type oxidation had much higher capacity to convert proguanil to cycloguanil as compared to that of PMs. The means (\pm SD) of urinary proguanil/cycloguanil ratio of the EMs and PMs were 3.72 (\pm 2.10) and 36.00 (\pm 19.46), respectively (unpaired t-test, 1-tail, $p < 0.0005$). Hypothesis 3 is therefore accepted.

In addition to the the above-mentioned main results, the following informations were also obtained:

1. Almost all of the participating subjects in this study were of Malay extraction

(predominantly Javanese and Sundanese).

2. The antimode which separated the SAs and RAs in the present study was at the MADDs/DDS metabolic ratio of 3.8 (data reported from some populations residing in different parts of the world indicated the antimodes were at metabolic ratio of 3.0-3.5).
3. Distinct differences were noted between the 2 phenotypes in terms of drug metabolic capacity for each type of polymorphism:
 - a. For N-acetylation, the means (\pm SD) of DDS plasma metabolic ratio in SAs and RAs were 0.23 (\pm 0.06) and 0.63 (\pm 0.18), respectively.
 - b. For debrisoquine-type oxidation, the means (\pm SD) of ML urinary metabolic ratio in PMs and EMs were 1.31 (\pm 0.11) and 0.36 (\pm 0.40), respectively.
 - c. For S-mephenytoin-type oxidation, the means (\pm SD) of log % urinary HMN excretion in PMs and EMs were -0.17 (\pm 0.31) and 1.30 (\pm 0.21), respectively.

B. Conclusions

The data obtained in this study leads to the following conclusions:

1. Simultaneous phenotyping (for N-acetylation, debrisoquine- and S-mephenytoin-type oxidations) was proven to give results comparable to the separate phenotypings.
2. The frequency of SA phenotype for N-acetylation was 43.3 %; the frequencies of PM phenotypes for debrisoquine- and S-mephenytoin-type oxidations were 8.7 % and 15.4 %, respectively.
3. The EMs of the S-mephenytoin-type oxidation had much higher capacity to convert proguanil to cycloguanil as compared to that of the PMs.

Some additional conclusions drawn in this study are :

1. In N-acetylation polymorphism, an apparent trimodal distribution with the antimodes at MR 0.38 and 0.68 was evident. This distribution fitted the Hardy-Weinberg law;
2. The frequency of recessive allele, q, found in this study was 0.65;
3. An oral 50 mg test dose of MN racemate gives a result similar to that of the conventional 100 mg dose;
4. An oral 50 mg test dose of MN racemate given at bedtime is better tolerated than the 100 mg dose given in the morning;
5. An oral 200 mg dose of proguanil given at 2 hours before breakfast was associated with nausea and vomiting in 47 % of the 24 subjects.

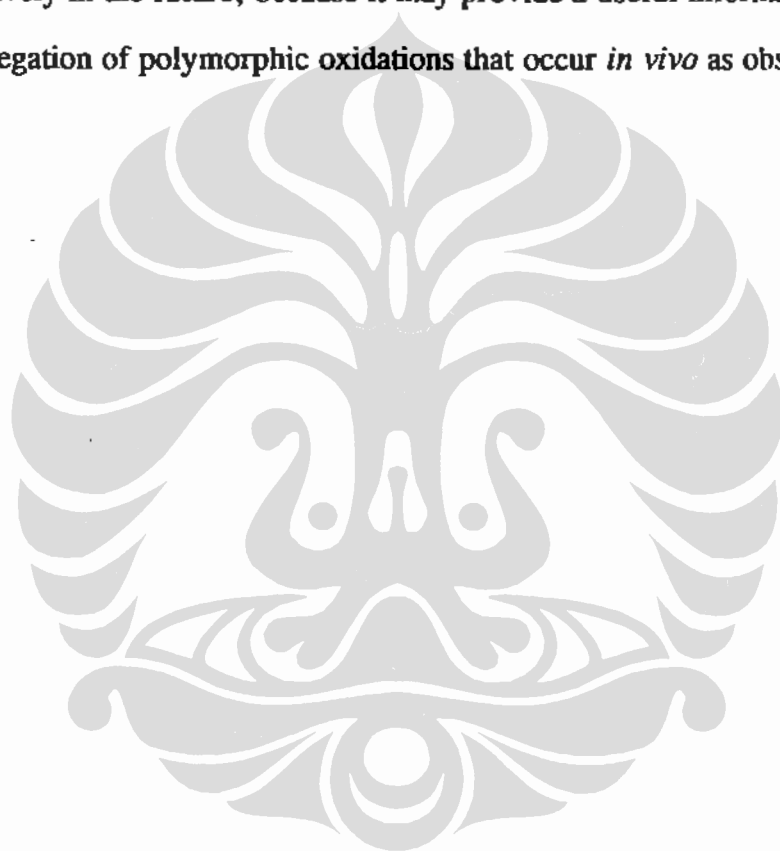
C. Suggestions

Based on the findings obtained in the present study, the following suggestions are put forward:

1. Genotyping (determining mutant alleles) is important to elucidate the basis of polymorphic drug metabolism in a particular population;
2. Since mephenytoin racemate is not available in many countries, poorly tolerated, and laborious to assay, a more suitable test drug for phenotyping of S-mephenytoin type oxidation is desirable (a possible candidate for this test probe is omeprazole);
3. Further studies are required to explore whether the frequency of phenotypes would differ between the Malay and the Melanesian races among Indonesians;
4. In our Indonesian population, drugs known to cosegregate with debrisoquine- or S-

mephenytoin-type oxidations e.g., amitriptyline, clomipramine, imipramine, nortriptyline, and diazepam should be used more cautiously (especially in terms of dose) because the frequencies of PMs of both types of oxidations are relatively greater in this country as compared with those derived from European and North American Caucasian populations;

5. *In vitro* study using human liver microsomal preparations should be carried out more extensively in the future, because it may provide a useful information on the possible cosegregation of polymorphic oxidations that occur *in vivo* as observed in the present study.



DAFTAR RUJUKAN

- Alvan G., Bechtel P., and Iselius L. (1990) The hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 39, 533-537.
- Andersson T., Regårdh C. G., Dahl-Puustinen M. L., and Bertilsson L. (1990) Slow omeprazole metabolizers are also poor S-mephenytoin hydroxylators. *Ther. Drug. Monit.* 12, 415-416.
- Andersson T., Regårdh C. G., Lou Y. C., Zhang Y., Dahl M. J., and Bertilsson L. (1992) Polymorphic hydroxylation of S-mephenytoin and omeprazole metabolism in Caucasian and Chinese subjects. *Pharmacogenetics* 2, 25-31.
- Armstrong A. R., and Peart H. E. (1960) A comparison between the behaviour of Eskimos and non-Eskimos to the administration of isoniazid. *Am. Rev. Resp. Dis.* 81, 588-594.
- Ayesh R., Idle, Ritchie J. C., Crothers M. J., and Hetzel M. R. (1984) Metabolic oxidation phenotype as a marker of susceptibility to lung cancer. *Nature* 312, 169-170.
- Baer A. N., Woosley R. L., and Pincus T. (1986) Further evidence for the lack of association between acetylator phenotype and systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheum.* 29, 508-514.
- Balant-Gorgia A. E., Balant L. P., and Garrone G. (1989) High blood concentrations of imipramine or clomipramine and therapeutic failure: A case report study using drug monitoring data. *Ther. Drug. Monit.* 11, 415-420.
- Barbeau A., Cloutier T., Roy M., Plasse L., Paris S., and Poirier J. (1985) Ecogenetics of Parkinson's: 4-hydroxylation of debrisoquine. *Lancet* 2, 1213-1216.
- Bertilsson L., Aberg-Wistedt A., Gustafsson L. L., and Nordin C. (1985) Extremely rapid hydroxylation of debrisoquine: A case report with implication for treatment with nortryptiline and other tricyclic antidepressants. *Ther. Drug. Monit.* 7, 475-480.
- Bertilsson L., Henthorn T. K., Sanz E., Tybring G., Säwe J., and Villén T. (1989) Important genetic factors in the regulation of diazepam metabolism: Relationship to S-mephenytoin, but not debrisoquin, hydroxylation phenotype.

- Clin. Pharmacol. Ther.* 45, 348-355.
- Bozkurt A., Basci N. E., Kalan S., Tuncer M., and Kayaalp S. O. (1990) N-acetylation phenotyping with sulphadimidine in a Turkish population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 38, 53-56.
- Boyer J. L. (1978) Hepatic disorders, dalam *Clinical Pharmacology* (Melmon K. L. and Morelli H. F., eds), 2nd ed. hal. 388-431. Macmillan Publishing Co., New York.
- Brater D. C. (1992) Treatment of renal disorders and the influence of renal function on drug disposition, dalam *Clinical Pharmacology* (Melmon K. L., Morelli H. F., Hoffman B. B., and Nierenberg D. W., eds), 3rd ed. hal. 270-308. McGraw-Hill, Inc., New York.
- Brøsen K., Klysner R., Gram L. F., Otton S. V., and Bertilsson L. (1986) Steady-state concentration of imipramine and its metabolites in relation to the sparteine/debrisoquine metabolism. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 30, 679-684.
- Brøsen K., and Gram L. F. (1989) Clinical significance of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 36, 537-547.
- Brøsen K. (1990) Recent development in drug hepatic oxidations. Implications for clinical pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokin.* 18, 220-239.
- Bygbjerg I. C., and Flachs H. (1986) Effect of oral proguanil on human lymphocyte proliferation. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 30, 249-251.
- Calne D. B., and Lanston J. W. (1983) Etiology of Parkinson's disease. *Lancet ii*, 1457-1459.
- Carr K., Oates J. A., Nies A. S., and Woosley R. L. (1978) Simultaneous analysis of dapsone and monoacetyldapsone employing high performance liquid chromatography: a rapid method for determination of acetylator phenotype. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 6, 421-427.
- Carrington H. C., Crowther A. F., Davey D. G., Levi A., and Rose F. I. (1951) A metabolite of paludrine with high antimalarial activity. *Nature* 168, 1080.
- Cartwright R. A., Glashan R. W., Rogers H. J., Ahmad R. A., Hall D. B., Higgins E., and Kahn M. A. (1982) The role of acetyltransferase phenotype in bladder carcinogenesis: a pharmacogenetic epidemiological approach to bladder cancer. *Lancet ii*, 842-846.
- Chapron D. J., Kramer P. A., and Mercik S. A. (1980) Kinetic discrimination of three sulfamethazine acetylation phenotypes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 27, 104-113.
- Clark D. W. J. (1985) Genetically determined variability in acetylation and oxidation.

- Therapeutic implications. *Drugs* 29, 342-375.
- Comella C. T., Tanner C. M., Goetz C. G., Gans S., Rapp D., and Fischer J. (1987) Debrisoquine metabolism in Parkinson's disease. *Neurology* 37 (Suppl.1), 261-262.
- Cowan G. O., Das K. M., and Eastwood M. A. (1977) Further study of sulphasalazine metabolism in the treatment of ulcerative colitis. *Br. Med. J.* 2, 1057-1059.
- Creasey W. A. (1979) Pharmacokinetics, dalam *Drug Disposition in Humans*, hal 88-120. Oxford University Press, New York.
- Dahl-Puustinen M. J., Liden A., Alm C., Nordin C., and Bertilsson L. (1989) Disposition of perphenazine is related to polymorphic debrisoquine hydroxylation in human beings. *Clin. Pharmacol. Ther.* 46, 78-81.
- Daniel W. W. (1978) *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences*, 2nd ed., hal. 145-147. John Wiley & Sons, New York.
- Darmansjah I., and Muchtar A. (1992) Dose-drug response among different populations. *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 449-452.
- Das K. M., Eastwood M. A., McManus J. P. A., and Sircus W. (1973) Adverse reactions during salicylazosulfapyridine therapy and the relation with drug metabolism and acetylator phenotype. *N. Engl. J. Med.* 289, 491-495.
- Das K. M., and Dubin R. (1976) Clinical pharmacokinetics of sulphasalazine. *Clin. Pharmacokinet.* 1, 406-425.
- Dawling S. (1988) Is there a practical alternative to therapeutic drug monitoring in therapy of tricyclic antidepressants? *Clin. Chem.* 34, 841-847.
- Devadatta S., Gangadharam P. R. J., Andrews R. H., Fox W., Ramakrishnan C. V., Selkon J. B., and Vela S. (1960) Peripheral neuritis due to isoniazid. *Bull. W. H. O.* 23, 587-598.
- Dixon W. J., and Massey F. J. (1983) *Introduction to statistical analysis*, 4th ed., hal. 273-274. McGraw-Hill Publishing Co., New York.
- Dollery S. C., ed (1991) *Therapeutic Drugs, Vol 2*, hal. P247-P251. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Edstein M. D. (1984) Quantification of antimalarial drugs. Simultaneous measurement of dapsone, monoacetyldapsone and pyrimethamine in human plasma. *J. Chromatogr.* 307, 426-431.
- Edstein M. D. (1986) Simultaneous measurement of proguanil and cycloguanil in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 380, 184-189.

- Eichelbaum M., Spannbrucker N., Steincke B., and Dengler H. J. (1979) Defective oxidation of spartein in man. A new pharmacogenetic defect. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 16, 183-187.
- Eichelbaum M. (1982) Defective oxidation of drugs: Pharmacokinetic and therapeutic implications. *Clin. Pharmacokinet.* 7, 1-22.
- Eichelbaum M. (1984) Polymorphic drug oxidation in humans. *Fed. Proc.* 43, 2298-2302.
- Eidus L., Varuhess P., Hodgkin M. M., Hsu H. A. E., and McRae K. B. (1973) Simplification of isoniazid phenotyping procedure to promote its application in chemotherapy of tuberculosis. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 49, 507-516.
- Eriksson B., Bjorkman A., and Keisu M. (1991) How safe is proguanil? A post-marketing investigation of side effects. *Scand. J. Infect. Dis.* 23, 489-493.
- Evans D. A. P., Manley K. A., and McKusick V. A. (1960) Genetic control of isoniazid metabolism in man. *Br. Med. J.* 2, 485-491.
- Evans D. A. P., and White T. A. (1964) Human acetylation polymorphism. *J. Lab. Clin. Med.* 63, 393-403.
- Evans W. E., Relling M. V., Petros W. P., Meyer W. H., Mirro J., and Crom W. R. (1989) Dextromethorphan and caffeine as probes for simultaneous determination of debrisoquin-oxidation and N-acetylation phenotypes in children. *Clin. Pharmacol. Ther.* 45, 568-573.
- Evans D. A. P. (1989) N-acetyltransferase. *Pharmac. Ther.* 42, 157-234.
- Fogh S., Schapira A., Bygbjerg I. C., Jepsen S., Mordhorst C. H., and Kuijlen K. (1988) Malaria chemoprophylaxis in travellers to east Africa. Comparative study of chloroquine plus proguanil with chloroquine plus sulfadoxine-pyrimethamine. *Br. Med. J.* 296, 820-822.
- Funck-Brentano C., Bosco O., Jacqz-Aigrain E., Keundjian A., and Jaillon P. (1992) Relation between chloroguanide bioactivation to cycloguanil and the genetically determined metabolism of mephenytoin in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 51, 507-512.
- Ged C., Umbenhauer D. R., Bellew T. M., Bork R. W., Shrivastava P. K., Shinriki N., Lloyd R. S., and Guengerich F. P. (1988) Characterization of cDNAs, mRNAs, and proteins related to human liver microsomal cytochrome P450 S-mephenytoin 4'-hydroxylase. *Biochemistry* 27, 6929-6940.
- Gengo F. M., Ziemniak M. A., Kinkel W. R., and McHugh W. B. (1984) High-performance liquid chromatographic determination of metoprolol and α -hydroxymetoprolol in human serum, urine and cerebrospinal fluid. *J. Pharm.*

- Sci.* 73, 961-963.
- Glantz S. A. (1981) *Primer of biostatistics*, hal. 172-174. McGraw-Hill, New York.
- Goldstein P. D., Alpers D. H., and Keating J. T. (1979) Sulphapyridine metabolites in children with inflammatory disease receiving sulphasalazine. *J. Paediatr.* 95, 638-640.
- Gonzalez F. J., Skoda R. C., Kimura S., Umeno M., Zanger U. M., and Nebert D. W. (1988) Characterization of the common genetic effect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature* 331, 442-426.
- Gonzalez F. J., and Meyer U. A. (1991) Molecular genetics of the debrisoquin-sparteine polymorphism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 50, 233-238.
- Grant D. M., Tang B. K., and Kalow W. (1984) A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 17, 459-464.
- Hanson A., Melander A., Wählén-Boll E. (1981) Acetylator phenotyping; A comparison of the isoniazid and dapsone test. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 20, 233-234.
- Hardy B. G., Lemieux C., Walker S. E., and Bartle W. R. (1988) Interindividual and intraindividual variability in acetylation: characterization with caffeine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 44, 152-157.
- Hashiguchi M., and Ebihara A. (1992) Acetylation polymorphism of caffeine in a Japanese population. *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 274-276.
- Heim M., and Meyer U. A. (1990) Genotyping of poor metabolisers of debrisoquine by allele-specific PCR amplification. *Lancet* 336, 529-532.
- Helsby N. A., Ward S. A., Edwards G., Howells R. E., and Breckenridge A. M. (1990a) The pharmacokinetics and activation of proguanil in man: consequences of variability in drug metabolism. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 30: 593-599.
- Helsby N. A., Ward S. A., Howells R. E., and Breckenridge A. M. (1990b) In vitro metabolism of the biguanide antimalarials in human liver microsomes: evidence for a role of the mephenytoin hydroxylase (P450 MP) enzyme. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 30, 287-291.
- Hildebrand M., and Seifert W. (1989) Determination of acetylator phenotype in Caucasian with caffeine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 37, 525-526.
- Horai Y., and Ishizaki T. (1985) Rapid and sensitive high performance liquid chromatographic method for the determination of dapsone and monoacetyldapsone in plasma and urine. *J. Chromatogr.* 1985, 345: 447-452.
- Horai Y., and Ishizaki T. (1987) Pharmacogenetics and its clinical implications: N-

- acetylation polymorphism. *Ration. Drug Ther.* 21, 1-7.
- Horai Y., and Ishizaki T. (1988a) Pharmacogenetics and its clinical implications: Oxidation polymorphism. *Ration. Drug Ther.* 22, 1-8.
- Horai Y., Zhou H., Zhang L., and Ishizaki T. (1988b) N-acetylation phenotyping with dapsone in a mainland Chinese population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 25, 81-87.
- Horai Y., and Ishizaki T. (1988c) N-acetylation polymorphism in a Japanese population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 25, 487-494.
- Horai Y., Ishizaki T., Kusaka M., Tsujimoto G., and Hashimoto K (1988d) Simultaneous determination of metoprolol and α -hydroxymetoprolol in human plasma and urine by liquid chromatography with a preliminary observation on metoprolol oxidation in Japanese subjects. *Ther. Drug Monit.* 10, 428-433.
- Horai Y., Ishizaki T., and Ishikawa K. (1988e) Metoprolol oxidation in a Japanese population: evidence for only one poor metaboliser among 262 subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 26, 807-808.
- Horai Y., Nakano M., Ishizaki T., Ishikawa K., Zhou H. H., Zhou B. J., Liao C. L., and Zhang L. M. (1989a) Metoprolol and mephenytoin oxidation polymorphism in Far Eastern Oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese. *Clin. Pharmacol. Ther.* 46, 198-207.
- Horai Y., Fujita K., and Ishizaki T. (1989b) Genetically determined N-acetylation and oxidation capacities in Japanese patients with non-occupational urinary bladder cancer. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 37, 581-587.
- Hutchings A., and Routledge P. A. (1986) A simple method for determining acetylator phenotype using isoniazid. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 22, 343-345.
- Inaba T., Jurima M., Nakano M., and Kalow W. (1984) Mephenytoin and sparteine pharmacogenetics in Canadian Caucasians. *Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 670-676.
- Inaba T., Nakano M., Otton S. V., Mahon W. A., and Kalow W. (1985) A human cytochrome P-450 characterized by inhibition studies of the sparteine-debrisoquine mono-oxygenase. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62, 860-862.
- Inaba T., Jorge L. F., and Arias T. D. (1988) Mephenytoin hydroxylation in the Cuna Amerindians of Panama. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 25, 75-79.
- Inaba T. (1990) Phenytoin: Pharmacogenetics polymorphism of 4'-hydroxylation. *Pharmacol. Ther.* 46, 341-347.
- Irshaid Y. M., Al-hadidi H. F., Abuirjeie M. A., and Rawashdeh N. M. (1991) N-acetylation phenotyping using dapsone in a Jordanian population. *Br. J. Clin.*

- Pharmacol.* 32, 289-293.
- Ishizaki T., Horai Y., Koya G., Matsunaga K., and Iguchi S. (1981) Acetylator phenotype and metabolic disposition of isoniazid in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 24, 1245-1254.
- Ishizaki T. (1991) Genetically determined N-acetylation and oxidation polymorphisms: Their clinical implications in far eastern oriental population. *Asia Pacific J. Pharmacol.* 6, 187-199.
- Iyun A. O., Lennard M. S., Tucker G. T., and Woods H. F. (1960) Metoprolol and debrisoquin metabolism in Nigerians: Lack of evidence for polymorphic oxidation. *Clin. Pharmacol. Ther.* 40, 387-394.
- Jacqz E., Hall S. D., Branch R. A., and Wilkinson G. R. (1986) Polymorphic metabolism of mephenytoin in man: pharmacokinetic interaction with co-regulated substrate, mephobarbital. *Clin. Pharmacol. Ther.* 39, 646-653.
- Johansson I., Yue Q. Y., Dahl M. L., Heim M., Säwe J., Bertilsson L., Meyer U. A., Sjöqist E., Ingelman-Sundberg M. (1991) Genetic analysis of the interethnic difference between Chinese and Caucasians in the polymorphic metabolism of debrisoquine and codeine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 40, 553-556.
- Jorge L. F., Arias T. D., Inaba T., and Jackson P. R. (1990) Unimodal distribution of the metabolic ratio for debrisoquine in Cuna Amerindians of Panama. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 30, 281-285.
- Jurima M., Inaba T., and Kalow W. (1984) Spartein oxidation by human liver: absence of inhibition by mephenytoin. *Clin. Pharmacol. Ther.* 35, 426-428.
- Jurima M., Inaba T., Kadar T., and Kalow W. (1985) Genetic polymorphism of mephenytoin p(4')-hydroxylation: difference between Orientals dan Caucasians. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 19, 483-487.
- Kaisary A., Smith P., and Jacqs E. (1987) Genetic predisposition to bladder cancer: Ability to hydroxylate debrisoquine and mephenytoin as risk factor. *Cancer Res.* 47, 5488-5493.
- Küpfer A., Roberts R. K., Schenker S., and Branch R. A. (1981) Stereoselective metabolism of mephenytoin in man. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 218, 193-199.
- Küpfer A., and Preisig R. (1984) Pharmacogenetic of mephenytoin: a new drug hydroxylation polymorphism in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 26, 753-759.
- Kutt H., Brennan R., Dehejia H., and Verebely K. (1970) Diphenylhydantoin intoxication: a complication of isoniazid therapy. *Am. Rev. Resp. Dis.* 101, 377-384.

- Lachin J. M. (1981) Introduction to sample size determination and power analysis for clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 2, 93-113.
- Langerström P. O., and Persson B. A. (1984) Determination of omeprazole and its metabolites in plasma and urine by liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 309, 347-356.
- Lecaillon J. B., Godbillon J., Abadie F., and Gosset G. (1984) Determination of metoprolol and its α -hydroxylated metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 305, 411-417.
- Lennard M. S., Silas J. H., Freestone S., Ramsay L. E., Tucker G. T., and Woods H. F. (1982) Oxidation phenotype - a major determinant of metoprolol metabolism and response. *N. Engl. J. Med.* 307, 1558-1560.
- Lennard M. S., and Silas J. H. (1983) Rapid determination of metoprolol and α -hydroxymetoprolol in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 272, 205-209.
- Lennard M. S. (1985) Quantitative analysis of metoprolol and three of its metabolites in urine and liver microsomes by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 342, 199-205.
- Lennard M. S., Tucker G. T., and Woods H. F. (1986) The polymorphic oxidation of beta-adrenoceptor antagonists. Clinical pharmacokinetic consideration. *Clin. Pharmacokinet.* 11, 1-7.
- Lentner C., ed (1982) *Geigy Scientific Tables, Vol. 1*, hal. 68-69. Ciba Geigy Ltd., Basle.
- Mahgoub A., Idle J. R., Dring L. G., Lancaster R., and Smith R. L. (1977) Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet* 2, 584-586.
- McGourty J. C., Silas J. H., Lennard M. S., Tucker G. T., and Woods H. F. (1985) Metoprolol metabolism and debrisoquine oxidation polymorphism population and family study - population and family studies. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 20, 555-566.
- Meddis R. (1975) *Statistical handbook for non-statisticians*. McGraw-Hill, London.
- Meyer U.A. (1992) Drugs in special patient group: Clinical importance of genetics in drug effects, dalam *Clinical Pharmacology* (Melmon K. L., Morelli H. F., Hoffman B. B., Nierenberg DW, eds), 3rd ed., hal. 875-894. McGraw-Hill, New York.
- Mitchell J. R., Thorgeirsson U. P., Black M., Black M., Timbrell J. A., Snodgrass W. R., Potter W. Z., Jollow D. J., and Keiser H. R. (1975) Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible reactions to

- hydrazine metabolites. *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 70-99.
- Mitchell S. C., Waring R. H., Haley C. S., Idle J. R., and Smith R. L. (1984) Genetic aspect of polymorphically distributed sulphoxidation of S-carboxymethylcysteine in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 18, 507-521.
- Motulsky A. (1957) Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *J. Am. Med. Assoc.* 165, 835-837.
- Muchtar A., Sintasari M., and Kimin A. (1981) Pemeriksaan frekuensi asetilator cepat dan lambat pada keluarga dari beberapa suku bangsa Indonesia. *Medika* 11, 753-759.
- Nakamura K., Goto F., Ray W. A., McAllister C. B., Jacqz E., Wilkinson G. R., and Branch R. A. (1985) Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquin and mephenytoin hydroxylation between Japanese and Caucasian populations. *Clin. Pharmacol. Ther.* 38, 402-408.
- Nebert D. W. (1981) Clinical pharmacology. Possible clinical importance of genetic difference in drug metabolism. *Br. Med. J.* 283, 537-542.
- Nebert D. W., and Weber W. W. (1990) Pharmacogenetics, dalam *Principles of Drug Action* (Pratt W. B., Taylor P., eds), 3rd ed., hal. 469-531. Churchill Livingstone, New York.
- Nebert D. W., Nelson D. R., Coon M. J., Estabrook R. W., Feyereisen R., Fujii-Kuriyama Y., Gonzalez F. J., Guengerich F. P., Gunsalus I. C., Johnson E. F., Loper J. C., Sato R., Waterman M. R., and Waxman D. J. (1991) The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol.* 10, 1-14.
- Nordin C., Siwers B., Benites J., and Bertilsson L. (1985) Plasma concentration of nortryptiline and its 10-hydroxy metabolite in depressed patients - relationship to the debrisoquine hydroxylation ratio. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 19, 832-835.
- Pautler D. B., and Jusko W. J. (1982) Determination of metoprolol and α -hydroxymetoprolol in plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 228, 215-222.
- Perry H. M., Tan E. M., Carmody S., and Sakamoto A. (1970) Relationship of acetyltransferase activity to antinuclear antibodies and toxic symptoms in hypertensive patients treated with hydralazine. *J. Lab. Clin. Med.* 76, 114-125.
- Philip P. A., Roberts M. S., and Rogers H. J. (1984) A rapid method for determination of acetylation phenotype using dapsone. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 17, 465-469.
- Philip P. A., Gayed S. L., Rogers H. J., and Crome P. (1987) Influence of age, sex

- and body weight on the dapsone acetylation phenotype. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 23, 709-713.
- Reidenberg M. M., Drayer D. E., Levy M., and Warner H. (1975) Polymorphic acetylation of procainamide in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 17, 722-730.
- Reidenberg M. M., Levy M., Drayer D. E., Zylber-Katz E., and Robins W. C. (1980) Acetylator phenotype in idiopathic systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 23, 569-573.
- Reynolds J. E. F., Parfitt K., Parsons A. V., and Sweetman S. C., eds (1989) *Martindale: The extra pharmacopoeia*, 29th ed., hal 1429-1430. The Pharmaceutical Press, London.
- Rimm A. A., Hartz A. J., Kalbfleisch J. H., Anderson A. J., and Hoffmann R. G. (1980) *Basic Biostatistics in Medicine and Biology*, hal. 268. Appleton-Century-Croft, New York.
- Rowland M., and Tozer T. N. (1980) Variability in drug response, dalam *Clinical Pharmacokinetics, Section IV: Individualization*, hal. 197-217. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Salim M., Wiria M. S. S., Sjamsudin U., dan Asikin N. (1988) Frekuensi fenotip kemampuan hidroksilasi debrisoquin pada sukarelawan Indonesia. *Maj. Farmakol. Indon. dan Ter.* 5, 113-118.
- Sanz E. J., Villen T., Alm C., and Bertilsson L. (1989). S-mephenytoin hydroxylation phenotypes in a Swedish population determined after coadministration with debrisoquin. *Clin. Pharmacol. Ther.* 45, 495-499.
- Schmid B., Bircher J., Preisig R., and Küpfer A. (1985) Polymorphic dextrometorphan metabolism: cosegregation of oxidative O-demethylation with debrisoquine hydroxylation. *Clin. Pharmacol. Ther.* 38, 618-624.
- Scott J., and Poffenberger P. L. (1979) Pharmacogenetics of tolbutamide metabolism in human. *Diabetes* 28, 42-51.
- Setiabudy R., Chiba K., Kusaka M., and Ishizaki T. (1992) Caution in the use of a 100 mg dose of racemic mephenytoin for phenotyping Southeastern Oriental subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 33, 665-666.
- Shah V. P., Midha K. K., Dighe S., McGilveray I. J., Skelly J. P., Yacobi A., Layloff T., Viswanthsn C. T., Cook C. E., McDowall R. D., Pittman K. A., and Spector S. (1992) Analytical methods validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Sci.* 81, 309-312.
- Sharp M. E., Wallace S., Hindmarsh K. W., and Brown M. A. (1981) Acetylator phenotype and serum levels of sulphapyridine in patients with inflammatory

- bowel disease. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 21, 243-250.
- Shinka T., Castagnoli N., Wu E. Y., Hoag K. P., and Trevor A. J. (1987) Cation-exchange high-performance liquid chromatography assay for the nigrostriatal toxicant 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and its monoamine oxidase B generated metabolites in brain tissues. *J. Chromatogr.* 398, 279-287.
- Siddoway L. A., Thompson K. A., McAllister B., Wang T., Wilkinson G. R., Roden D. M., and Woosley R. L. (1987) Polymorphism of propafenone metabolism and disposition in man: Clinical and pharmacokinetics consequences. *Circulation* 4, 785-791.
- Siegmund W., Hanke W., Zschieske M., Franke G., Biebler K. E., and Wilke A. (1990) N-acetylation and debrisoquine type oxidation polymorphism in Caucasians - with reference to age and sex. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 28, 504-509.
- Sindrup S. H., Brøsen K., Bjerring P., Arendt-Nielsen L., Larsen U., Angels H. R., and Gram L. F. (1990) Codeine increases pain thresholds to copper vapor laser stimuli in extensive but not poor metabolisers of sparteine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 48, 686-693.
- Sjöqvist F., Borgå O., and Orme L'E. (1987) Fundamentals of clinical pharmacology, dalam *Avery's Drug Treatment* (Speight T. M., ed), 3rd ed. hal. 1-64. Adis Press, Auckland.
- Skjelbo E., Brøsen K., Hallas J., and Gram L. F. (1991) The mephenytoin oxidation polymorphism is partially responsible for the N-demethylation of imipramine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 49, 18-23.
- Skoda R. C., Gonzalez F. J., Demiere A., and Meyer U. A. (1988) Two mutant alleles of the human cytochrome P-450db1 gene (P450C2D1) associated with genetically deficient metabolism of debrisoquine and other drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5240-5243.
- Smith C. A. D., Gough A. C., Leigh P. N., Leigh P. N., Summers B. A., Harding A. E., Maranganore D. M., Sturman S. G., Schapira A. H. V., William A. C., Spurr N. K., and Wolf C. R. (1992) Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease. *Lancet* 339, 1375-1377.
- Snyder L. H. (1951) The mutant gene in man, dalam *The principles of heredity*, hal. 389-432. D. C. Heath and Company, Boston.
- Sohn D. R., Shin S. G., Park C. W., Kusaka M., Chiba K., and Ishizaki T. (1991) Metoprolol oxidation polymorphism in a Korean population: comparison with

- native Japanese and Chinese populations. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 32, 504-507.
- Sohn D. R., Kusaka M., Ishizaki T., Shin S. G., Jang I. J., Shin J. G., and Chiba K. (1992) Incidence of S-mephenytoin hydroxylation deficiency in Korean population and the interphenotypic differences in diazepam pharmacokinetics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 160-169.
- Steiner E., Iselius L., Alvàn G., Lindsten J., and Sjöqvist F. (1985) A family study of genetic and environmental polymorphic hydroxylation of debrisoquine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 38, 394-401.
- Steventon B. G., Heafield M. B., Waring R. H., and Williams A. C. (1989) Xenobiotic metabolism in Parkinson's disease. *Neurology* 39, 883-887.
- Suhardjono D., and Santoso B. (1981) Kecepatan asetilasi INH pada penderita TBC yang dirawat di R. S. Muja-Muju dan BP-4 Yogyakarta. *Medika* 1, 23-25.
- Suharto B., Sutianto A., Darmadi, Mariana Y, and Toha B. N. (1980) Asetilator cepat & asetilator lambat Isoniazid (INH) dalam masyarakat Jakarta. *Cermin Dunia Kedokteran* 19, 39-40.
- Sunahara S., Urano M., and Ogawa M. (1961) Genetical and geographic studies on isoniazid inactivation. *Science* 134, 1530-1531.
- Tang B. K., Zubovits T., and Kalow W. (1986) Determination of acetylated caffeine by high-performance exclusion chromatography. *J. Chromatogr.* 375, 170-173.
- Tang B. K., Kadar D., and Kalow W. (1987) An alternative test for acetylator phenotyping with caffeine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 42, 509-513.
- Taylor R. B., Moody R. R., and Ochekepe N. A. (1987) Determination of proguanil and its metabolites cycloguanil and 4-chlorophenylbiguanide in plasma, whole blood and urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 416, 394-399.
- Taylor R. B., Behrens R., Moody R. R., and Wangboonskul J. (1990) Assay method for the simultaneous determination of proguanil, chloroquine and their major metabolites in biological fluids. *J. Chromatogr.* 527, 490-497.
- Timbrel J. A., Wright J. M., and Bailie T. A. (1977) Monoacetylhydrazine as a metabolite of isoniazid in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 22, 602-608.
- Vesell E. S. (1977) Genetic and environmental factors affecting drug disposition in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 22, 659-679.
- Vesell E. S. (1984a) Commentary. Selection of subjects for investigation of host factors affecting drug response: a method to identify a new pharmacogenetic conditions. *Clin. Pharmacol. Ther.* 35, 1-11.
- Vesell E. S. (1984b) Pharmacogenetic perspectives: Genes, drugs and disease.

- Hepatology* 4, 959-965.
- Vesell E. S. (1985) Genetic host factors: Determinants of drug response. *N. Engl. J. Med.* 313, 261-262.
- Vessel E. S. (1990) Pharmacogenetic perspectives gained from twin and family studies. *Pharmacol. Ther.* 41, 535-552.
- Wanwimolruk S., Patamasucon P., and Lee J. D. (1990) Evidence for the polymorphic oxidation of debrisoquine in the Thai population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 29, 244-247.
- Wanwimolruk S., and Chalcraft S. (1991) Lack of relationship between debrisoquine oxidation phenotype and the pharmacokinetics of quinine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 32, 617-620.
- Ward S. A., Goto F., Nakamura K., Jacqz E., Wilkinson G. R., and Branch R. A. (1987) S-mephenytoin 4-hydroxylase is inherited as an autosomal recessive trait in Japanese families. *Clin. Pharmacol. Ther.* 42, 96-99.
- Ward S. A., Walle T., Walle U. K., Wilkinson G. R., and Branch R. A. (1989a) Propranolol metabolism is determined by both mephenytoin and debrisoquin hydroxylase activities. *Clin. Pharmacol. Ther.* 45, 72-79.
- Ward S. A., Watkins W. M., Mberu E., Saunders J. E., Koech D. K., Gilles H. M., Howells R. E., and Breckenridge A. M. (1989b) Inter-subject variability in the metabolism of proguanil to the active metabolite cycloguanil in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 27, 781-787.
- Watkins W. M., Chulai J. D., Sixsmith D. J., Spencer M. C., and Howells R. E. (1987) A preliminary pharmacokinetic study of the antimalarial drugs, proguanil and chloproguanil. *J. Pharm. Pharmacol.* 39, 261-265.
- Wattanagoon Y., Taylor R. B., Moody R. R., Ochekepe N. A., Looareesuwan S., and White N. J. (1987) Single dose pharmacokinetics proguanil and its metabolites in healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 24, 775-780.
- Weber W. W., and Hein D. W. (1985) N-acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol. Rev.* 37, 24-79.
- Wedlund P. J., Aslanian W. S., McAllister C. B., Wilkinson G. R., and Branch R. A. (1984) Mephenytoin hydroxylation deficiency in Caucasians: Frequency of a new oxidative drug metabolism polymorphism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 733-736.
- Weisz P. B. (1963) Evolution: The Mechanism, dalam *The Science of Biology*, 2nd ed., hal. 699-717. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- Wood A. J. J., and Zhou H. H. (1991) Ethnic difference in drug disposition and

- responsiveness. *Clin. Pharmacokinet.* 20, 350-373.
- Woolhouse N.M., Adjepon-Yamoah K.K., Mellström B., Hedman A., Bertilsson L., and Sjöqvist F. (1984) Nortryptiline and debrisoquine hydroxylations in Ghanaian and Swedish subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 374-378.
- Wosley R.L., Dryer D.E., Reidenberg M.M., Nies A.S., Carr K., and Oates J.A. (1978) Effect of acetylator phenotype on the rate at which procainamide induces antinuclear antibodies and the lupus syndrome. *N. Engl. J. Med.* 298, 1157-1159.
- Wosley R. L., Wood A. J. J., Roden D.M. (1988) Encainide. *N. Engl. J. Med.* 318, 1107-1115.
- Yasumori T., Murayama N., Yamazoe Y., and Kato R. (1990) Polymorphism in hydroxylation of mephenytoin and hexobarbital stereoisomers in relation to hepatic P-450 human-2. *Clin. Pharmacol. Ther.* 47, 313-322.
- Yue Q. Y., Bertilsson L., Dahl-Puustinen M. L., Sjöqvist F., Johansson I., and Ingelman-Sundberg M. (1989) Disassociation between debrisoquine hydroxylation phenotype and genotype among Chinese. *Lancet* 334, 870.
- Zacest R., and Koch-Weser J. (1972) Relation hydralazine plasma concentration to dosage and hypotensive action. *Clin. Pharmacol. Ther.* 13, 420-425.
- Zaeni A., and Peetosutan E. (1975) Penilaian kadar INH aktif dalam serum, dengan cara bioassay difusi vertikal. *Medika* 4, 37-40.
- Zuidema J., Modderman E. S. M., Hilber H. W., Merkus F. W. H. M., and Huikeshoven H. (1980) Rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of dapsone and monoacetyldapsone in biological fluid. *J. Chromatogr.* 182, 130-135.

Lampiran A

BAGAN PENENTUAN KADAR DAPSON DAN MONOASETIL-DAPSON DALAM PLASMA

1. Preparasi sampel

Plasma kontrol					0,5 ml
IS (10 $\mu\text{g/ml}$)					0,2 ml
DDS + MADDS	0,2	0,5	1,0	2,0	4,0 $\mu\text{g/ml}$
(masing2 10 $\mu\text{g/ml}$)	(20	50	100	200	400 μl)
NaOH 1 M					0,1 ml
Diklormetan					3 ml

vorteks 1 min
sentrifus 10 min,
3000 rpm

Lapisan diklormetan

dikeringkan 30 min,
35°C

Fase gerak 0,1 ml

Disuntikkan ke KCKT 20 μl

2. Obat

DDS = dapson

MADDS = monoasetildapson

IS = 'internal standard : m-aminophenylsulfon'
(mAPS)

3. Kondisi KCKT

Laju aliran = 1,3 ml/min

Atenuasi = 5

Panjang gelombang = 250 nm

4. Fase gerak

Air : asetonitril : asam asetat = 73 : 25 : 2 (v/v/v)

5. Perangkat KTKC

Pompa Hitachi model L-6000

Detektor ultraviolet Hitachi model L-4000
Integrator Hitachi model AS-2000
Kolom Hibar Lichrosorb RP-18, Merck (diameter dalam 250
mm x 4 mm, ukuran partikel 5 μm)

6. Kadar larutan baku dan larutan kerja

Obat	Larutan stok	Larutan kerja	Pelarut
DDS	1 mg/ml		metanol
MADDS	1 mg/ml		metanol
DDS+MADDS		10 $\mu\text{g/ml}$	metanol
IS	1 mg/ml	10 $\mu\text{g/ml}$	metanol

Lampiran B

BAGAN PENENTUAN KADAR METOPROLOL DAN
 α -HIDROKSIMETOPROLOL DALAM URIN

1. Preparasi sampel

Urin kontrol					0,2 ml
IS (600 $\mu\text{g/ml}$)					0,15 ml
ML + HML	2,5	5	10	25	50 $\mu\text{g/ml}$
(masing2 20 $\mu\text{g/ml}$)	(25	50	100	250	500 μl)
NaOH 1 M					0,5 ml
Diklormetan					3 ml
					vorteks 1 min
					sentrifus 10 min,
					3000 rpm
					Lapisan diklormetan
					dikeringkan 30 min,
					35°C
					Fase gerak 0,15 ml
					Disuntikkan ke KCKT 30 μl

2. Obat

ML	= metoprolol
HML	= α -hidroksimetoprolol
IS	= 'internal standard': pindolol

3. Kondisi KCKT

Laju aliran	: 0,8 ml/min
Atenuasi	: 3
Panjang gelombang	: eksitasi 230 nm, emisi 300 nm

4. Fase gerak

Air : asetonitril : trietilamin = 74 : 25 : 1 (v/v/v).
pH diturunkan sampai 4 dengan asam fosfat.

5. Perangkat KTKC

Pompa Hitachi model L-6000

Detektor fluoresens Shimadzu model RF-535
Integrator Hitachi model AS-2000
Kolom Reversed-phase Zorbax ODS, Du Pont Instrument (250
x 4,6 mm, ukuran partikel 5 μm)

6. Kadar larutan baku dan larutan kerja

Obat	Larutan stok	Larutan kerja	Pelarut
ML	1 mg/ml		air
HML	1 mg/ml		air
ML+HML		masing2 20 $\mu\text{g/ml}$	air
IS	0,6 mg/ml	10 $\mu\text{g/ml}$	metanol

Lampiran C

BAGAN PENENTUAN KADAR HIDROKSIMEFENITOIN
DALAM URIN

1. Preparasi sampel

Urin kontrol		0,5 ml			
IS (2 mg/ml)		25 μ l			
HMN (100 μ g/ml)	10	25	50	100 μ g/ml	
	(50	125	250	500 μ l)	
Asam klorid 20%		0,5 ml			
				inkubasi pada 100°C,	
				2 jam	
Etilasetat		2 ml			
				vorteks 1 min	
				sentrifus 5 min, 3000	
				rpm	
				Fase organik	
				(lapisan atas)	
				dikeringkan 60 min,	
				40° C	
				Residu	
DMSO dalam CaH		50 μ l			
Heptan		0,25 ml			
				vorteks 30 detik	
1-iodopropan		20 μ l			
NaH dalam heptan (50 mg/ml)		0,2 ml			
				suhu kamar 30 min	
H ₂ O		1 ml			
Dietileter		3 ml			
				vorteks 1 min	
				sentrifus 5 min, 3000	
				rpm	

Fase organik
(lapisan atas)

dikeringkan 15 min,
40°C

Residu dilarutkan
dalam 0,1 ml metanol

vorteks 30 detik

0,4 µl disuntikkan ke kromatograf

2. Obat

HMN = p-hidroksimefenitoin
IS = 'internal standard': 5-metil-5-fenil-
hidantoin
DMSO = dimetilsulfoksid

3. Kondisi kromatograf gas

Suhu pada tempat suntik	280 °C
Suhu pada detektor	280 °C
Suhu awal kolom	170 °C
Program kenaikan suhu kolom	10 °C/min
Suhu akhir kolom	250 °C
Atenuasi	5
Range	10 ¹

4. Gas

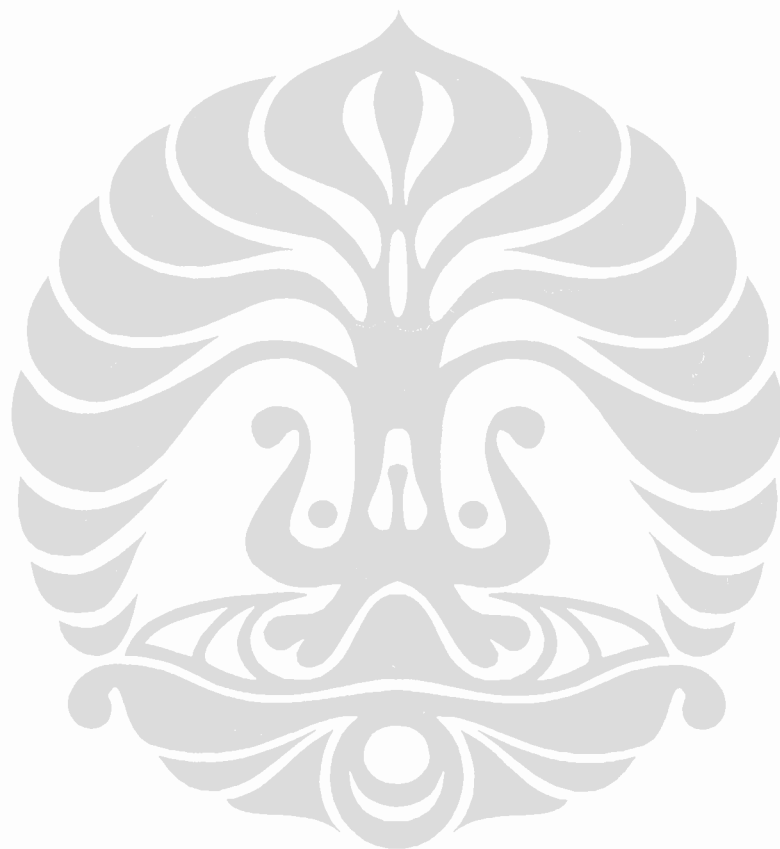
Laju aliran:	
He (gas pembawa)	15 ml/min
'Make up gas'	50 ml/min

5. Perangkat kromatograf gas

Kromatograf gas Shimadzu model GC-14A, detektor FID
Kolom kapiler gelas DB-1, J&W Scientific (15 m x 0,53
mm, ketebalan film 1,5 µm)
Integrator Shimadzu model C-R6A

6. Kadar larutan baku dan larutan kerja

Obat	Larutan stok	Larutan kerja	Pelarut
HMN	1 mg/ml	100 µg/ml	metanol
IS	2 mg/ml		metanol



Lampiran D

BAGAN PENENTUAN KADAR PROGUANIL DAN SIKLOGUANIL
DALAM URIN

1. Preparasi sampel

Urin kontrol		20 μ l		
Air		980 μ l		
IS (8 μ g/ml)		0,15 ml		
PG + CG masing2:	Standar 1	Standar 2	Standar 3	
kadar lar. kerja	2	4	8 μ g/ml	
volume	25	25	25 μ l	
kadar dalam urin	50	100	200 ng/ml	
NaOH 1 M		0,1 ml		
Diklormetan		3 ml		

vorteks 1 min
sentrifus 10 min,
3000 rpm

Lapisan diklormetan

dikeringkan 25
min, 40° C

Fase gerak 0,13 ml

Disuntikkan ke KCKT 0,1 ml

2. Obat

PG = proguanil
CG = sikloguanil
IS = 'internal standard': klorpromazin sulfoksid

3. Kondisi KCKT

Laju aliran : 1,5 ml/min
Atenuasi : 3
Panjang gelombang : 254 nm

4. Fase gerak

(asam asetat:triethylamin:air = 0,57 : 0,75 : 98,68;
v/v/v.

pH diturunkan sampai 3 dengan asam format) : asetonitril = 7:1

5. Perangkat KTKC

Pompa Hitachi model L-6000

Detektor ultraviolet Hitachi model L-4000

Integrator Hitachi model AS-2000

Kolom Partisil SCX, Gasukuro Kogyo, Tokyo, (250 x 4,6 mm, ukuran partikel 5 μ m)

6. Kadar larutan baku

Obat	Larutan stok	Larutan kerja	Pelarut
PG	1 mg/ml		metanol
CG	1 mg/ml		metanol
PG+CG		2, 4, 8 μ g/ml	
IS	1 mg/ml	8 μ g/ml	metanol

Lampiran E

UJI TEMU KEMBALI DDS, MADDS, DAN
mAPS DALAM PLASMA

Uji ke	Temuan kembali (%)		
	DDS	MADDS	mAPS
1	105,70	103,83	99,44
2	103,16	102,08	98,34
3	106,67	105,98	99,79
4	107,26	105,62	100,73
5	102,19	101,32	96,70
6	105,24	104,30	97,42
7	98,79	98,60	91,50
Rata-rata	104,14	103,10	97,70
SD	2,76	2,42	2,84
KV (%)	2,65	2,35	2,91

KETERANGAN : Kadar DDS, MADDS dan mAPS masing-masing adalah 10 $\mu\text{g/ml}$, dipipetkan 10 μl .

DDS = dapson
MADDS = monoasetildapson
mAPS = m-aminofenilsulfon

Lampiran F

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR DAPSON DALAM PLASMA
DALAM SEHARI

Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$) (%)				
0,4	0,41	102,33	93,86	4,88	5,20
0,4	0,39	97,40			
0,4	0,38	94,03			
0,4	0,38	88,51			
0,4	0,37	92,30			
0,4	0,35	88,63			
2,0	1,99	99,40	104,51	2,51	2,40
2,0	2,14	106,78			
2,0	2,09	104,59			
2,0	2,08	103,84			
2,0	2,12	105,90			
2,0	2,13	106,56			
8,0	8,03	100,41	101,70	1,20	1,18
8,0	8,09	101,14			
8,0	8,08	100,98			
8,0	8,31	103,92			
8,0	8,21	102,67			
8,0	8,09	101,10			

Lampiran G

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR DAPSON DALAM PLASMA
DARI HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$) (%)				
1	0,4	0,41	102,33			
2	0,4	0,44	109,60			
3	0,4	0,44	109,04	105,22	7,46	7,09
4	0,4	0,44	109,30			
5	0,4	0,45	111,29			
6	0,4	0,36	89,78			
1	2,0	1,99	99,40			
2	2,0	2,02	101,02			
3	2,0	2,12	106,11			
4	2,0	1,97	98,68	102,37	2,86	2,79
5	2,0	2,11	105,39			
6	2,0	2,07	103,61			
1	8,0	8,03	100,41			
2	8,0	7,75	96,82			
3	8,0	8,20	102,56	101,44	3,69	3,63
4	8,0	7,78	97,30			
5	8,0	8,56	107,03			
6	8,0	8,36	104,52			

Lampiran H

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR MADDS DALAM
PLASMA DALAM SEHARI

Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$)	(%)			
0,4	0,43	107,91	101,13	4,25	4,20
0,4	0,41	102,20			
0,4	0,41	102,15			
0,4	0,40	100,55			
0,4	0,40	100,53			
0,4	0,37	93,43			
2,0	2,05	102,52			
2,0	2,15	107,33			
2,0	2,11	105,39			
2,0	2,08	104,12			
2,0	2,11	105,66			
2,0	2,14	106,96			
8,0	8,18	102,22	102,14	1,28	1,25
8,0	8,09	101,17			
8,0	8,08	101,02			
8,0	8,35	104,42			
8,0	8,25	103,10			
8,0	8,07	100,91			

Keterangan: MADDS = monoasetildapson

Lampiran I

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR MADDS DALAM PLASMA
DARI HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Bata-rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$)	(%)			
1	0,4	0,43	107,91	106,89	8,67	8,11
2	0,4	0,43	108,48			
3	0,4	0,44	109,35			
4	0,4	0,45	111,68			
5	0,4	0,46	115,54			
6	0,4	0,35	88,36			
1	2,0	2,05	102,50	103,49	4,34	4,19
2	2,0	2,07	103,42			
3	2,0	2,15	107,65			
4	2,0	1,90	94,98			
5	2,0	2,16	108,14			
6	2,0	2,09	104,26			
1	8,0	8,18	102,22	102,43	3,94	3,84
2	8,0	7,85	98,07			
3	8,0	8,25	103,14			
4	8,0	7,79	97,41			
5	8,0	8,71	108,93			
6	8,0	8,39	104,86			

Keterangan: MADDS = monoasetildapson

Lampiran J

FAKTOR PERSAMAAN GARIS KURVA STANDAR DDS DAN MADDS

No	DDS			MADDS		
	A	B	r	A	B	r
1	-0,0508	0,4751	0,9999	-0,0491	0,4770	0,9998
2	-0,0349	0,3638	0,9999	-0,0439	0,2958	0,9999
3	-0,0198	0,3341	0,9997	-0,0181	0,2751	0,9993
4	-0,0745	0,5210	0,9998	-0,0750	0,5205	0,9998
5	-0,0503	0,6849	0,9997	-0,0615	0,7228	0,9997
6	-0,0734	0,7879	0,9994	-0,0932	0,8940	0,9994
Bata-rata	-0,0506	0,5278	0,9997	-0,0568	0,5309	0,9997
SD	0,0195	0,1631	0,0002	0,0238	0,2208	0,0002

Keterangan:

- DDS = dapson
- MADDS = monoasetildapson
- A = titik potong dengan sumbu y
- B = 'slope'
- r = koefisien korelasi

Lampiran K

UJI TEMU KEMBALI ML, HML DAN PIN DALAM URIN

Uji ke	Temuan kembali (%)		
	ML	HML	PIN
1	99.29	113.46	117.30
2	99.01	112.41	116.79
3	101.87	115.33	116.63
4	101.43	116.77	115.85
5	100.57	114.19	113.49
6	102.61	117.22	112.91
Rata-rata	100.80	114.90	115.50
SD	1.31	1.72	1.69
KV (%)	1.30	1.50	1.46

Keterangan:

- kadar ML dan HML ialah 20 $\mu\text{g/ml}$, PIN 300 $\mu\text{g/ml}$. Dipipetkan masing-masing 0,1 ml.
- ML = metoprolol
- HML = hidroksimetoprolol
- PIN = pindolol

Lampiran I

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR METOPROLOL DALAM URIN
DALAM SEHARI

Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
tersedia (µg/ml)	terukur (µg/ml)	(%)			
2,5	2,16	86,50	90,28	2,94	3,26
2,5	2,30	92,05			
2,5	2,17	86,77			
2,5	2,26	90,31			
2,5	2,28	91,18			
2,5	2,37	94,90			
10,0	10,86	108,64			
10,0	10,50	104,99			
10,0	10,26	102,59			
10,0	10,68	106,77			
10,0	10,78	107,76			
10,0	10,98	109,83			
50,0	50,89	101,79	101,72	2,39	2,35
50,0	49,49	98,97			
50,0	51,14	102,29			
50,0	49,18	98,37			
50,0	52,38	104,75			
50,0	52,08	104,16			

Lampiran M

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR METOPROLOL DALAM URIN DARI
HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$)	(%)			
1	2,5	2,16	86,50	91,58	11,57	12,64
2	2,5	2,53	101,24			
3	2,5	2,06	82,48			
4	2,5	2,72	108,96			
5	2,5	1,97	78,71			
1	10,0	10,86	108,64	101,64	6,12	6,02
2	10,0	10,07	100,72			
3	10,0	10,10	100,99			
4	10,0	10,68	106,77			
5	10,0	9,11	91,11			
1	50,0	50,89	101,79	102,24	0,61	0,60
2	50,0	51,33	102,65			
3	50,0	51,13	102,27			
4	50,0	51,56	103,11			
5	50,0	50,69	101,38			

Lampiran N

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR HIDROKSIMETOPROLOL DALAM
URIN DALAM SEHARI

Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$)	(%)			
2,5	2,53	101,14	101,59	3,44	3,38
2,5	2,63	105,09			
2,5	2,41	96,37			
2,5	2,47	98,62			
2,5	2,55	102,02			
2,5	2,66	106,30			
10,0	10,78	107,77			
10,0	10,52	105,18			
10,0	10,22	102,20			
10,0	10,65	106,50			
10,0	10,70	106,98			
10,0	10,97	109,72			
50,0	50,44	102,89	103,67	2,27	2,19
50,0	51,21	102,43			
50,0	51,32	102,65			
50,0	50,39	100,79			
50,0	52,86	105,72			
50,0	53,78	107,55			

Lampiran O

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR HIDROKSINETOPILOL DALAM URIN
DARI HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia ($\mu\text{g/ml}$)	terukur ($\mu\text{g/ml}$)	(%)			
1	2,5	2,53	101,14			
2	2,5	2,22	88,86			
3	2,5	1,95	77,98	87,78	8,69	9,90
4	2,5	2,31	92,24			
5	2,5	1,97	78,71			
1	10,0	10,78	107,80			
2	10,0	9,90	99,02			
3	10,0	10,31	103,05			
4	10,0	10,82	108,15	101,83	6,32	6,21
5	10,0	9,11	91,11			
1	50,0	51,44	102,89			
2	50,0	50,80	101,59			
3	50,0	50,91	101,82	101,63	0,91	0,90
4	50,0	50,91	101,82			
5	50,0	50,02	100,05			

Lampiran P

FAKTOR PERSAMAAN GARIS KURVA STANDAR METOPROLOL
DAN HIDROKSIMETOPROLOL

No	Metoprolol			Hidroksimetoprolol		
	A	B	r	A	B	r
1	0,0174	0,0740	0,9999	0,0109	0,0773	0,9992
2	0,0404	0,0871	0,9993	0,0051	0,0729	0,9996
3	0,0051	0,0695	0,9986	0,0409	0,0789	0,9978
4	0,0431	0,0713	0,9993	0,0597	0,0782	0,9993
5	-0,0076	0,0793	0,9998	0,0269	0,0854	0,9994
6	-0,0018	0,0845	0,9992	0,0407	0,0914	0,9984
Rata-rata	0,0161	0,0776	0,9994	0,0307	0,0807	0,9990
SD	0,0197	0,0066	0,0004	0,0187	0,0060	0,0006

Keterangan :

- A = titik potong dengan sumbu y
 B = tangens
 r = koefisien korelasi

Lampiran Q

**UJI TEMU KEMBALI PROGUANIL, SIKLOGUANIL,
DAN KLORPROMAZIN SULFOKSID DALAM URIN**

Uji ke	Temuan kembali (%)		
	PG	CG	CPS
1	58.38	98.99	99.10
2	49.08	82.18	87.25
3	51.06	90.53	96.00
4	58.18	96.88	98.62
5	38.59	81.51	90.03
6	51.65	95.88	96.79
Rata-rata	51.16	91.00	94.63
SD	6.63	6.96	4.44
KV (%)	12.97	7.64	4.69

Keterangan:

- Kadar PG dan CG masing-masing adalah 4 µg/ml, kadar CPS ialah 8 µg/ml. Dipipetkan 0,1 ml.
- PG = proguanil
- CG = sikloguanil
- CPS = klorpromazin sulfoksid

Lampiran R

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR PROGUANIL DALAM URIN DALAM SEHARI

Kadar			Rata-rata terukur (%)	SD	KV (%)
tersedia (ng/ml)	(ng/ml)	(%)			
50,0	52,84	105,68			
50,0	50,21	100,42			
50,0	50,26	100,52	102,13	3,09	3,02
50,0	52,11	104,22			
50,0	48,49	96,98			
50,0	52,50	104,99			
200,0	198,38	99,19			
200,0	210,55	105,28			
200,0	193,48	96,74			
200,0	196,94	98,47	98,97	3,00	3,03
200,0	195,99	97,99			
200,0	192,25	96,12			

Lampiran S

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR PROGUANIL DALAM URIN DARI HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Rata-rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia (ng/ml)	(ng/ml)	terukur (%)			
1	50,0	52,84	105,68			
2	50,0	53,59	107,18			
3	50,0	52,09	104,18	106,97	6,15	5,75
4	50,0	59,09	118,18			
5	50,0	49,82	99,64			
1	200,0	198,38	99,19			
2	200,0	215,01	107,51			
3	200,0	201,74	100,87	105,08	4,27	4,06
4	200,0	215,18	107,59			
5	200,0	220,46	110,23			

Lampiran T

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR SIKLOGUANIL DALAM URIN DALAM SEHARI

KADAR					
TERSEDIA (ng/ml)	TERUKUR (ng/ml)	(%)	RATA-RATA (%)	SD	KV (%)
50,0	56,22	112,44			
50,0	53,95	107,91			
50,0	51,34	102,68	103,95	9,32	8,97
50,0	56,29	112,58			
50,0	42,54	85,08			
50,0	51,49	102,98			
200,0	193,74	96,87			
200,0	207,61	103,80			
200,0	184,82	92,41			
200,0	192,26	96,13	95,94	4,22	4,40
200,0	192,27	96,14			
200,0	180,65	90,32			

Lampiran U

UJI KETEPATAN PENGUKURAN KADAR SIKLOGUANIL DALAM URIN DARI HARI KE HARI

Hari ke	Kadar			Rata- rata (%)	SD	KV (%)
	tersedia (ng/ml)	terukur (ng/ml)	(%)			
1	50,0	56,22	112,44			
2	50,0	53,59	107,18			
3	50,0	51,99	103,98	104,10	5,37	5,16
4	50,0	48,83	97,66			
5	50,0	49,61	99,22			
1	200,0	193,74	96,87			
2	200,0	215,01	107,51			
3	200,0	203,48	101,74	103,31	4,94	4,79
4	200,0	220,76	110,38			
5	200,0	200,08	100,04			

Lampiran V

FAKTOR PERSAMAAN GARIS KURVA STANDAR PROGUANIL DAN SIKLOGUANIL

No	Proguanil			Sikloguanil		
	A	B	r	A	B	r
1	-0,0298	0,0051	0,9969	-0,0283	0,0047	0,9898
2	0,0059	0,0044	0,9848	0,0186	0,0032	0,9497
3	-0,0262	0,0047	0,9921	0,0109	0,0034	0,9952
4	-0,0420	0,0048	0,9911	-0,0118	0,0035	0,9544
5	-0,0054	0,0037	0,9973	0,0037	0,0026	0,9821
6	-0,0198	0,0051	0,9929	-0,0198	0,0051	0,9929
Rata-rata	-0,0195	0,0046	0,9925	-0,0044	0,0037	0,9774
SD	0,0158	0,0005	0,0042	0,0168	0,0009	0,0184

Keterangan:

- A = titik potong dengan sumbu y
 B = 'slope'
 r = koefisien korelasi

Lampiran W

DATA UMUM 104 SUBYEK PENELITIAN

Subyek No.	Kelamin	Umur (thn)	Tinggi (cm)	Berat (kg)	T.D. (mmHg)	Suku
1	W	32	160	52	115 / 75	Jawa
2	W	32	146	47	120 / 80	Jawa
3	W	32	145	38	115 / 75	Jawa
4	W	31	163	51	120 / 80	Cina
5	W	31	150	50	115 / 80	Jawa
6	P	28	150	45	110 / 70	Jawa
7	P	49	156	56	130 / 80	Sunda
8	P	39	163	60	120 / 80	Jawa
9	P	18	158	44	110 / 80	Sunda
10	P	21	160	45	115 / 80	Sunda
11	P	42	160	45	130 / 80	Betawi
12	P	42	155	53	120 / 75	Betawi
13	P	52	166	55	135 / 90	Sunda
14	P	48	160	55	135 / 85	Sunda
15	P	19	160	49	120 / 75	Betawi
16	P	52	156	60	140 / 90	Jawa
17	P	23	155	50	115 / 75	Sunda
18	P	30	150	41	120 / 80	Jawa
19	P	32	156	56	120 / 80	Jawa
20	P	34	172	60	130 / 80	Sunda
21	P	49	173	52	125 / 80	Sunda
22	P	48	150	46	130 / 80	Sunda
23	W	47	150	53	130 / 85	Sunda
24	W	41	142	57	120 / 75	Jawa
25	W	48	152	52	130 / 85	Minang
26	W	25	160	56	120 / 75	Jawa
27	W	49	152	59	130 / 80	Sunda
28	W	37	156	45	120 / 80	Jawa
29	W	40	159	65	130 / 80	Cina
30	W	35	150	62	130 / 80	Jawa
31	P	28	164	64	130 / 85	Jawa
32	P	32	169	61	125 / 80	Betawi
33	P	53	169	58	130 / 85	Sunda
34	P	51	159	40	110 / 60	Sunda
35	P	51	154	39	95 / 60	Jawa
36	P	32	158	47	125 / 75	Betawi
37	P	32	160	50	110 / 70	Sunda
38	P	37	160	58	130 / 80	Sunda
39	P	44	173	56	140 / 100	Jawa
40	P	47	163	56	130 / 85	Sunda
41	P	30	162	50	130 / 80	Betawi
42	P	32	167	51	110 / 70	Sunda
43	W	50	151	56	170 / 90	Betawi
44	W	50	153	56	140 / 90	Betawi

Lampiran W (lanjutan)

Subyek No.	Kelamin	Umur (thn)	Tinggi (cm)	Berat (kg)	T.D. (mmHg)	Suku
45	W	30	147	37	110 / 75	Sunda
46	P	50	159	60	140 / 100	Jawa
47	W	45	141	40	120 / 85	Betawi
48	P	59	159	49	140 / 90	Jawa
49	P	43	152	40	105 / 85	Jawa
50	P	42	155	45	130 / 85	Jawa
51	W	29	155	48	90 / 70	Jawa
52	P	49	155	40	110 / 70	Jawa
53	P	27	158	50	110 / 70	Betawi
54	P	28	159	49	110 / 70	Sunda
55	P	54	161	59	135 / 90	Timor
56	W	27	153	45	115 / 65	Jawa
57	P	27	167	62	125 / 75	Sunda
58	P	53	156	48	130 / 80	Sunda
59	P	32	166	50	120 / 75	Betawi
60	P	48	164	60	130 / 85	Sunda
61	P	32	155	49	120 / 80	Sunda
62	P	48	158	56	125 / 75	Jawa
63	W	30	161	59	115 / 70	Jawa
64	W	50	160	69	100 / 70	Sunda
65	W	33	150	54	120 / 85	Jawa
66	P	39	167	56	130 / 80	Sunda
67	P	25	160	50	110 / 70	Sunda
68	P	27	164	68	125 / 90	Sunda
69	P	40	166	56	125 / 85	Sunda
70	W	30	158	53	110 / 80	Jawa
71	P	25	170	61	110 / 70	Jawa
72	P	33	158	48	125 / 85	Jawa
73	P	54	165	63	140 / 90	Jawa
74	W	36	163	65	110 / 80	Batak
75	P	28	162	52	120 / 80	Jawa
76	P	52	150	50	135 / 90	Minang
77	P	31	173	64	130 / 85	Sunda
78	W	41	150	55	130 / 80	Sunda
79	P	30	176	65	120 / 80	Sunda
80	P	50	174	62	140 / 90	Jawa
81	P	35	162	55	130 / 80	Jawa
82	P	40	170	74	110 / 75	Jawa
83	P	28	168	55	115 / 70	Sunda
84	P	31	169	59	115 / 70	Sunda
85	P	24	167	59	110 / 70	Jawa
86	P	32	172	61	120 / 85	Gorontalo
87	P	24	164	52	115 / 75	Jawa
88	P	49	165	52	130 / 80	Jawa

Lampiran W (lanjutan)

Subyek No.	Kelamin	Umur (thn)	Tinggi (cm)	Berat (kg)	T.D. (mmHg)	Suku
89	P	52	161	57	120 / 80	Jawa
90	P	25	161	46	120 / 75	Jawa
91	P	36	155	60	100 / 70	Jawa
92	P	26	162	54	115 / 70	Betawi
93	P	37	154	46	120 / 85	Jawa
94	P	28	150	45	115 / 80	Jawa
95	P	22	157	49	120 / 80	Betawi
96	P	21	160	52	120 / 85	Jawa
97	P	23	167	57	120 / 85	Jawa
98	P	25	157	52	115 / 70	Sunda
99	P	46	162	60	130 / 90	Betawi
100	P	27	162	62	130 / 80	Sunda
101	P	47	148	47	140 / 90	Jawa
102	P	22	158	55	130 / 80	Jawa
103	P	21	160	48	110 / 70	Jawa
104	P	42	175	67	110 / 80	Cina
Rata2		36,68	159,42	53,48	122 / 79	
SD		10,29	7,37	7,38	11 / 7,4	
Maksimum		59	176	74	170 / 100	
Minimum		18	141	37	90 / 60	
Kelamin: Wanita (W)			25	(=24,04%)		
Pria (P)			79	(=75,96%)		
Suku/keturunan:						
Jawa			47	(=45,19%)		
Sunda			35	(=33,65%)		
Betawi			14	(=13,46%)		
Cina			3	(= 2,88%)		
Minang			2	(= 1,92%)		
Batak			1	(= 0,96%)		
Flores			1	(= 0,96%)		
Gorontalo			1	(= 0,96%)		

Keterangan:

- T.D. = Tekanan darah

Lampiran X

DATA PEMERIKSAAN FAAL HATI DAN GINJAL PADA 83 SUKARLAWAN

No.	Subyek no	Kreatinin serum (mg/dl)	Fosfatase alkali (s KA)	Bilirubin total (mg/dl)	Protein (g/dl)			SGPT (U/l)
					Total	Albumin	Globulin	
1	1	0,60	65	1,20	7,90	4,20	3,70	37
2	2	0,80	92	0,90	8,10	4,40	3,70	23
3	3	0,90	68	0,60	7,20	4,20	3,00	13
4	6	1,00	77	0,80	7,70	4,40	3,30	24
5	7	1,10	105	0,70	7,30	4,20	3,10	20
6	8	1,20	75	0,80	7,30	4,10	3,20	23
7	9	0,90	78	0,20	7,20	4,30	2,90	10
8	10	1,00	91	0,30	8,10	4,40	3,70	6
9	11	0,90	91	0,40	7,40	4,10	3,30	14
10	12	1,10	106	0,70	8,00	4,20	3,80	22
11	13	1,20	89	0,80	7,80	4,30	3,50	21
12	14	1,10	89	0,80	7,90	4,10	3,80	20
13	15	1,00	84	1,20	7,50	4,60	2,90	22
14	16	0,90	87	0,40	5,90	4,70	1,20	11
15	17	1,00	72	1,00	7,80	4,40	3,40	21
16	19	1,30	88	1,30	7,70	4,20	3,50	24
17	20	1,20	73	0,70	7,40	4,10	3,30	23
18	21	1,20	54	0,90	7,40	4,20	3,20	8
19	22	1,10	97	1,10	7,70	4,30	3,40	19
20	23	0,60	49	0,20	7,40	4,10	3,30	11
21	24	0,60	46	0,40	6,70	3,80	2,90	19
22	25	1,00	134	0,80	7,40	4,10	3,30	21
23	26	0,80	106	0,70	6,80	3,40	3,40	15
24	27	0,70	45	0,70	7,40	4,40	3,00	11
25	28	0,90	96	1,10	7,20	4,30	2,90	18
26	29	0,60	37	0,90	6,80	4,30	2,50	13
27	30	0,60	49	0,40	6,70	3,80	2,90	12
28	31	1,10	82	1,00	8,00	4,40	3,60	40
29	33	0,90	93	0,90	7,40	4,00	3,40	23
30	34	1,20	70	0,70	6,80	3,80	3,00	32
31	35	0,70	68	0,50	7,00	3,80	3,20	27
32	36	0,90	121	0,50	7,80	4,40	3,40	18
33	37	1,00	89	0,50	7,50	4,40	3,10	30
34	38	1,00	132	0,60	7,70	4,30	3,40	18
35	39	1,00	63	1,10	7,70	4,20	3,50	23
36	40	1,00	103	0,40	7,90	4,30	3,60	46
37	43	0,90	75	0,30	8,00	4,10	3,90	29
38	44	0,60	90	0,70	7,90	3,90	4,00	20
39	45	0,70	78	0,40	7,00	4,30	2,70	15
40	46	0,90	86	0,50	7,40	4,20	3,20	50
41	47	0,80	86	0,60	8,50	4,00	4,50	19

Lampiran X (lanjutan)

No.	Subyek no	Kreatinin serum (mg/dl)	Fosfatase alkali (s KA)	Bilirubin total (mg/dl)	Protein (g/dl)			SGPT (U/l)
					Total	Albumin	Globulin	
42	48	1,00	127	0,50	7,40	4,10	3,30	17
43	50	1,20	124	0,40	7,70	4,20	3,50	19
44	51	0,70	86	1,00	8,30	4,70	3,60	16
45	53	1,10	89	0,80	8,60	4,50	4,10	23
46	54	1,00	90	1,00	8,10	4,50	3,60	50
47	55	1,40	79	0,50	8,00	4,50	3,50	21
48	56	0,80	140	0,40	8,40	4,20	4,20	17
49	57	1,10	106	1,00	8,30	4,70	3,60	19
50	58	0,90	72	1,10	8,60	4,50	4,10	18
51	59	1,00	67	0,60	7,10	3,90	3,20	14
52	60	1,10	79	0,40	7,90	3,90	4,00	22
53	61	1,10	115	1,20	8,00	4,80	3,20	26
54	62	0,90	93	1,00	7,80	4,10	3,70	23
55	63	1,20	85	0,80	8,30	4,70	3,60	28
56	64	1,00	94	0,70	8,00	4,20	3,80	18
57	65	0,80	60	0,50	8,00	4,50	3,50	18
58	66	1,10	76	0,70	8,20	4,40	3,80	20
59	67	1,10	87	1,00	8,40	4,60	3,80	19
60	68	0,80	106	0,60	8,20	4,50	3,70	32
61	69	1,30	98	0,80	7,40	4,20	3,20	23
62	70	0,70	65	1,40	8,10	4,30	3,80	18
63	71	1,20	70	0,80	8,30	4,60	3,70	25
64	72	1,10	144	1,10	7,80	3,60	4,20	24
65	74	0,70	55	0,40	7,30	4,00	3,30	29
66	76	1,00	86	1,30	8,50	4,20	4,30	43
67	77	1,10	97	0,70	8,30	4,40	3,90	28
68	78	0,70	101	0,60	7,80	4,20	3,60	32
69	79	1,30	105	0,70	7,50	4,70	2,80	35
70	80	0,90	98	1,00	7,30	4,90	2,40	18
71	81	1,10	93	1,20	8,10	4,50	3,60	22
72	82	0,90	110	0,80	7,90	4,20	3,70	35
73	89	1,40	137	0,80	7,90	4,30	3,60	18
74	91	1,10	85	0,90	7,10	4,20	2,90	25
75	92	1,40	77	1,00	8,30	4,70	3,60	19
76	93	1,10	71	1,40	6,60	4,20	2,40	36
77	94	1,00	119	0,80	7,90	4,10	3,80	27
78	95	1,00	155	1,30	7,90	4,40	3,50	14
79	98	1,10	92	1,00	7,20	4,20	3,00	13
80	99	1,10	73	1,20	7,30	4,30	3,00	17
81	100	1,20	104	0,80	8,90	4,50	4,40	33
82	101	1,00	90	1,00	7,30	3,90	3,40	25

Lampiran X (lanjutan)

No.	Subyek no	Kreatinin serum (mg/dl)	Fosfatase alkali (s KA)	Bilirubin total (mg/dl)	Protein (g/dl)			SGPT (U/l)
					Total	Albumin	Globulin	
83	104	1,20	84	0,80	7,40	4,60	2,80	29
Rata-rata		0,99	88,71	0,78	7,68	4,27	3,41	22,64
SD		0,20	23,09	0,29	0,53	0,27	0,50	8,77
Maksimum		1,40	155	1,40	8,90	4,90	4,50	50
Minimum		0,60	37	0,20	5,90	3,40	1,20	6

Keterangan: Nilai normal kadar kreatinin serum = 0,5 - 1,5 mg/dl,
 fosfatase alkali = 73 - 207 s KA, bilirubin total = 0,3 - 1,2 mg/dl,
 protein total = 6 - 7,8 g/dl, albumin = 4 - 5,2 g/dl, globulin =
 1,3 - 2,7 g/dl, dan SGPT = 8 - 45 U/l.

Lampiran Y

KADAR DAPSON DAN MONOASETILDAPSON SERTA RASIO METABOLIKNYA SETELAH
PEMBERIAN DAPSON SAJA

Subyek No	Kadar DDS ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Kadar MADDS ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Rasio metabolik
	1	2	Rata2	1	2	Rata2	
1	2,0787	-	2,0787	1,4088	-	1,4088	0,6777
2	2,8692	2,5429	2,7061	0,5971	0,6311	0,6141	0,2269
3	2,7233	2,6435	2,6834	1,8155	1,8306	1,8231	0,6794
4	2,7358	-	2,7358	1,7015	-	1,7015	0,6219
5	3,0163	-	3,0163	0,9363	-	0,9363	0,3104
6	2,4978	-	2,4978	0,5724	-	0,5724	0,2291
7	1,8340	-	1,8340	0,8109	-	0,8109	0,4421
8	1,8515	-	1,8515	0,6289	-	0,6289	0,3396
9	2,5480	-	2,5480	1,1073	-	1,1073	0,4346
10	2,2008	-	2,2008	0,6329	-	0,6329	0,2876
11	2,5451	2,5777	2,5614	1,0317	0,9436	0,9877	0,3856
12	2,0062	1,8782	1,9422	0,4140	0,3817	0,3978	0,2048
13	2,2122	2,3731	2,2927	0,9942	1,0002	0,9972	0,4349
14	1,8544	1,8384	1,8464	1,6748	1,7538	1,7143	0,9285
15	2,2808	2,1936	2,2372	1,2893	1,1744	1,2318	0,5506
16	2,0817	2,1298	2,1058	1,0771	1,0665	1,0718	0,5090
17	1,7426	2,1339	1,9383	1,0945	1,4428	1,2687	0,6545
18	2,6345	2,8742	2,7544	1,0861	1,2841	1,1851	0,4303
19	2,2774	2,3974	2,3374	0,4439	0,5035	0,4737	0,2027
20	1,8512	1,7628	1,8070	1,2508	1,1933	1,2221	0,6763
21	2,2341	2,3268	2,2804	0,6823	0,5970	0,6397	0,2805
22	2,1371	2,2855	2,2113	0,3562	0,3458	0,3510	0,1587
23	2,5601	2,3179	2,4390	1,3835	1,2535	1,3185	0,5406
24	2,2976	2,4126	2,3551	0,5280	0,6139	0,5709	0,2424
25	3,1715	3,2434	3,2075	0,8175	0,7612	0,7893	0,2461
26	2,1063	2,2709	2,1886	1,1262	1,1208	1,1235	0,5133
27	2,4382	2,4478	2,4430	1,1708	1,2663	1,2186	0,4988
28	2,3637	2,3105	2,3371	1,2950	1,2112	1,2531	0,5362
29	2,4692	2,5451	2,5071	0,4709	0,5694	0,5201	0,2075
30	2,4718	2,4669	2,4694	0,6873	0,7115	0,6994	0,2832
						Rata2	0,4245
						SD	0,1862
						Maksimum	0,9285
						Minimum	0,1587

Keterangan:

- DDS = dapson, MADDS = monoasetildapson
- Rasio metabolik = rasio kadar MADDS/kadar DDS dalam plasma

Lampiran Z

KADAR DAPSON DAN MONOASETILDAPSON SERTA RASIO METABOLIKNYA SETELAH
PEMBERIAN DAPSON DALAM KOMBINASI

Subyek No	Kadar DOS ($\mu\text{g/ml}$)			Kadar MADDS ($\mu\text{g/ml}$)			Rasio metabolik
	Pengukuran			Pengukuran			
	1	2	Rata2	1	2	Rata2	
1	2,2301	1,9960	2,1130	1,5344	1,4524	1,4934	0,7068
2	2,5734	-	2,5734	0,6085	-	0,6085	0,2365
3	3,7170	3,5947	3,6558	2,2968	2,3353	2,3160	0,6335
4	2,9731	-	2,9731	1,7260	-	1,7260	0,5805
5	2,5722	2,2805	2,4263	0,8151	0,7645	0,7898	0,3255
6	2,6567	2,4990	2,5778	0,5063	0,5155	0,5109	0,1982
7	2,1948	-	2,1948	0,9245	-	0,9245	0,4212
8	2,3769	2,2826	2,3298	0,6779	0,8009	0,7394	0,3174
9	2,3767	-	2,3767	1,1576	-	1,1576	0,4871
10	2,1663	-	2,1663	0,7172	-	0,7172	0,3311
11	2,8048	2,5914	2,6981	1,4709	1,2600	1,3654	0,5061
12	2,3681	2,3904	2,3792	0,5163	0,4041	0,4602	0,1934
13	2,1098	2,0116	2,0607	1,2455	1,0354	1,1405	0,5534
14	1,7184	1,7275	1,7230	1,6266	1,7143	1,6705	0,9695
15	2,2359	2,3154	2,2756	1,4051	1,5200	1,4626	0,6427
16	1,9626	1,9969	1,9798	0,9363	1,0611	0,9987	0,5044
17	2,1118	2,0755	2,0937	1,2728	1,3769	1,3248	0,6328
18	2,2783	2,1800	2,2292	1,0792	1,1674	1,1233	0,5039
19	2,4792	2,2647	2,3720	0,5218	0,4856	0,5037	0,2124
20	1,8722	1,7564	1,8143	1,3275	1,3720	1,3498	0,7440
21	2,3268	2,2814	2,3041	0,5670	0,6283	0,5977	0,2594
22	2,5431	2,4009	2,4720	0,3903	0,3422	0,3662	0,1482
23	2,3505	2,3407	2,3456	1,2805	1,3065	1,2935	0,5515
24	2,1755	2,2548	2,2152	0,5135	0,5593	0,5364	0,2422
25	2,5480	-	2,5480	0,5004	-	0,5004	0,1964
26	1,8659	1,7815	1,8237	1,2070	0,9929	1,0999	0,6031
27	2,4731	2,4184	2,4458	1,1236	1,1854	1,1545	0,4720
28	2,0688	2,0708	2,0698	1,3814	1,3570	1,3692	0,6615
29	2,5451	2,4251	2,4851	0,5407	0,5421	0,5414	0,2179
30	2,3266	2,3503	2,3384	0,6977	0,6698	0,6837	0,2924
						Rata2	0,4448
						SD	0,2030
						Maksimum	0,9695
						Minimum	0,1482

Keterangan:

- DOS = dapsone, MADDS = monoasetildapsone
- Rasio metabolik = rasio kadar MADDS/kadar DOS dalam plasma
- DOS dalam kombinasi = 100 mg DOS + 100 mg metoprolol
+ 50 mg nifedipin rasemat

Lampiran AA

RASIO METABOLIK DAPSON DALAM PLASMA DAN KESESUAIAN
FENOTIP SETELAH PEMBERIAN DDS SAJA (DDSA) DAN DDS
DALAM KOMBINASI (DDSC) PADA 30 SUBYEK DENGAN
KRITERIA REIDENBERG et al., 1975.

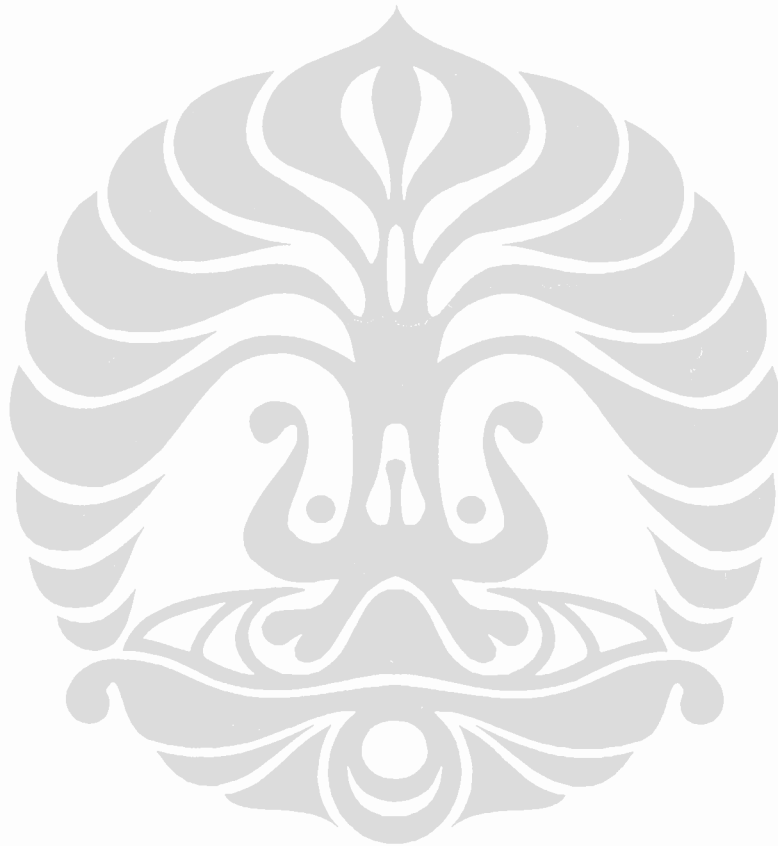
Subyek No.	DDSA		DDSC		Kesesuaian fenotip
	MR	Fenotip	MR	Fenotip	
1	0,6777	RA	0,7068	RA	+
2	0,2269	SA	0,2365	SA	+
3	0,6794	RA	0,6335	RA	+
4	0,6219	RA	0,5805	RA	+
5	0,3104	IA	0,3255	IA	+
6	0,2291	SA	0,1982	SA	+
7	0,4421	RA	0,4212	RA	+
8	0,3396	IA	0,3174	IA	+
9	0,4346	RA	0,4871	RA	+
10	0,2876	SA	0,3311	IA	+
11	0,3856	RA	0,5061	RA	+
12	0,2048	SA	0,1934	SA	+
13	0,4349	RA	0,5534	RA	+
14	0,9285	RA	0,9695	RA	+
15	0,5506	RA	0,6427	RA	+
16	0,5090	RA	0,5044	RA	+
17	0,6545	RA	0,6328	RA	+
18	0,4303	RA	0,5039	RA	+
19	0,2027	SA	0,2124	SA	+
20	0,6763	RA	0,7440	RA	+
21	0,2805	SA	0,2594	SA	+
22	0,1587	SA	0,1482	SA	+
23	0,5406	RA	0,5515	RA	+
24	0,2424	SA	0,2422	SA	+
25	0,2461	SA	0,1964	SA	+
26	0,5133	RA	0,6031	RA	+
27	0,4988	RA	0,4720	RA	+
28	0,5362	RA	0,6615	RA	+
29	0,2075	SA	0,2179	SA	+
30	0,2832	SA	0,2924	SA	+
Rata2	0,4245		0,4448		
SD	0,1862		0,2030		
Maksimum	0,9285		0,9695		
Minimum	0,1587		0,1482		

Keterangan:

- DDS = dapson, RA = asetilator cepat, SA = asetilator lambat
IA = asetilator indeterminate, MR = rasio metabolik

Lampiran AA (lanjutan)

- rejimen DDSA = 100 mg DDS, DDSC = 100 mg DDS + 100 mg metoprolol + 50 mg mefenitoin rasemat
- kriteria Reidenberg: SA bila MR $< 0,3$; RA bila MR $> 0,35$
- Untuk DDSA: MR DDS rata-rata (\pm SD) subkelompok RA = 0,5597 (\pm 0,1311); subkelompok SA = 0,2336 (\pm 0,0381)



Lampiran AB

PAIRED t-TEST UNTUK RASIO METABOLIK DAPSON SETELAH
PEMBERIAN DAPSON SAJA (DDSA) DAN DAPSON
DALAM KOMBINASI (DDSC)

Subyek No.	Rasio metabolik		D	D ²
	DDSA	DDSC		
1	0,6777	0,7068	-0,0291	0,0008
2	0,2269	0,2365	-0,0096	0,0001
3	0,6794	0,6335	0,0459	0,0021
4	0,6219	0,5805	0,0414	0,0017
5	0,3104	0,3255	-0,0151	0,0002
6	0,2291	0,1982	0,0309	0,0010
7	0,4421	0,4212	0,0209	0,0004
8	0,3396	0,3174	0,0222	0,0005
9	0,4346	0,4871	-0,0525	0,0028
10	0,2876	0,3311	-0,0435	0,0019
11	0,3856	0,5061	-0,1205	0,0145
12	0,2048	0,1934	0,0114	0,0001
13	0,4349	0,5534	-0,1185	0,0140
14	0,9285	0,9695	-0,0410	0,0017
15	0,5506	0,6427	-0,0921	0,0085
16	0,5090	0,5044	0,0046	0,0000
17	0,6545	0,6328	0,0217	0,0005
18	0,4303	0,5039	-0,0736	0,0054
19	0,2027	0,2124	-0,0097	0,0001
20	0,6763	0,7440	-0,0677	0,0046
21	0,2805	0,2594	0,0211	0,0004
22	0,1587	0,1482	0,0105	0,0001
23	0,5406	0,5515	-0,0109	0,0001
24	0,2424	0,2422	0,0002	0,0000
25	0,2461	0,1964	0,0497	0,0025
26	0,5133	0,6031	-0,0898	0,0081
27	0,4988	0,4720	0,0268	0,0007
28	0,5362	0,6615	-0,1253	0,0157
29	0,2075	0,2179	-0,0104	0,0001
30	0,2832	0,2924	-0,0092	0,0001
		Jumlah	-0,3492	0,0504
		SD	0,0504	

t = 1,60

Nilai kritis t (df = 29, p = 0,05, 2-tail) = 2,0400

Kesimpulan : rasio metabolik kedua kelompok t.b.b.

Keterangan:

- Rejimen DDSA = 100 mg dapson, DDSC = 100 mg dapson + 100 mg metoprolol + 50 mefenitoin rasemat

Lampiran AC

RASIO METABOLIK DAPSON DALAM PLASMA DAN KESESUAIAN FENOTIP
 SETELAH PEMBERIAN DDS SAJA (DDSA) DAN DDS DALAM KOMBINASI
 (DDSC) DENGAN MENGGUNAKAN ANTIMODE PADA MR 0,38

Subyek No.	DDSA		DDSC		Kesesuaian fenotip
	MR	Fenotip	MR	Fenotip	
1	0,6777	RA	0,7068	RA	+
2	0,2269	SA	0,2365	SA	+
3	0,6794	RA	0,6335	RA	+
4	0,6219	RA	0,5805	RA	+
5	0,3104	SA	0,3255	SA	+
6	0,2291	SA	0,1982	SA	+
7	0,4421	RA	0,4212	RA	+
8	0,3396	SA	0,3174	SA	+
9	0,4346	RA	0,4871	RA	+
10	0,2876	SA	0,3311	SA	+
11	0,3856	RA	0,5061	RA	+
12	0,2048	SA	0,1934	SA	+
13	0,4349	RA	0,5534	RA	+
14	0,9285	RA	0,9695	RA	+
15	0,5506	RA	0,6427	RA	+
16	0,5090	RA	0,5044	RA	+
17	0,6545	RA	0,6328	RA	+
18	0,4303	RA	0,5039	RA	+
19	0,2027	SA	0,2124	SA	+
20	0,6763	RA	0,7440	RA	+
21	0,2805	SA	0,2594	SA	+
22	0,1587	SA	0,1482	SA	+
23	0,5406	RA	0,5515	RA	+
24	0,2424	SA	0,2422	SA	+
25	0,2461	SA	0,1964	SA	+
26	0,5133	RA	0,6031	RA	+
27	0,4988	RA	0,4720	RA	+
28	0,5362	RA	0,6615	RA	+
29	0,2075	SA	0,2179	SA	+
30	0,2832	SA	0,2924	SA	+
Rata2	0,4245		0,4448		
SD	0,1862		0,2030		
Maksimum	0,9285		0,9695		
Minimum	0,1587		0,1482		

Keterangan:

- DDS = dapson, RA = asetilator cepat, SA = asetilator lambat
MR = rasio metabolik
- Rejimen DDSA = 100 mg DDS, DDSC = 100 mg DDS + 100 mg metoprolol + 50 mg mefenitoin rasemat
- Kriteria (yang ditemukan dalam penelitian ini): SA bila MR < 0,38; RA bila MR > 0,38

Lampiran AK

KADAR METOPROLOL DAN HIDROKSIMETOPROLOL SERTA RASIO METABOLIKNYA SEBELAH
PEMBERIAN METOPROLOL DALAM KOMBINASI

Subyek No.	Kadar ML (µg/ml)			Kadar HML (µg/ml)				Volume urin 8 jam (ml)	Ekskresi dlm. urin 8 jam (mg)		NR	Log NR
	Pengukuran			Pengukuran			Setara dgn. ML		ML	HML		
	1	2	Rata2	1	2	Rata2						
1	11,7753	11,6855	11,7304	33,9964	34,4312	34,2138	32,2807	200	2,3461	6,4561	0,3634	-0,44
2	17,5899	18,2673	17,9286	41,6616	40,4306	41,0461	38,7270	150	2,6893	5,8090	0,4629	-0,33
3	5,2686	5,3745	5,3216	14,8295	15,0211	14,9253	14,0820	377	2,0062	5,3089	0,3779	-0,42
4	21,7211	21,7219	21,7215	14,6580	15,0292	14,8436	14,0049	275	5,9734	3,8514	1,5510	0,19
5	32,0514	33,8162	32,9338	62,6155	65,8215	64,2185	60,5902	98	3,2275	5,9378	0,5436	-0,26
6	25,7884	25,5632	25,6758	21,5961	21,4390	21,5176	20,3018	158	4,0568	3,2077	1,2647	0,10
7	71,7344	73,5219	72,6282	20,1817	21,0024	20,5921	19,4286	75	5,4471	1,4571	3,7382	0,57
8	16,2088	17,3248	16,7668	7,6385	8,2989	7,9687	7,5185	315	5,2815	2,3683	2,2301	0,35
9	44,2575	41,9082	43,0829	21,7830	21,4933	21,6382	20,4156	115	4,9545	2,3478	2,1103	0,32
10	29,2817	29,4782	29,3800	45,2264	44,9859	45,1062	42,5577	126	3,7019	5,3623	0,6904	-0,16
11	27,7025	29,3085	28,5055	1,6054	1,7125	1,6590	1,5652	372	10,6040	0,5823	18,2118	1,26
12	5,7645	5,6376	5,7011	4,2606	4,1355	4,1981	3,9609	810	4,6179	3,2083	1,4393	0,16
13	14,2614	14,2294	14,2454	4,0145	4,0570	4,0358	3,8077	270	3,8463	1,0281	3,7412	0,57
14	14,9511	15,3800	15,1656	3,1402	3,1772	3,1587	2,9802	593	8,9932	1,7673	5,0887	0,71
15	48,2673	48,2957	48,2815	6,0545	5,9627	6,0086	5,6691	375	18,1056	2,1259	8,5166	0,93
16	39,7971	40,6631	40,2301	19,7534	20,2004	19,9769	18,8482	145	5,8334	2,7330	2,1344	0,33
17	28,2949	28,3619	28,3284	11,9210	11,6306	11,7758	11,1105	245	6,9405	2,7221	2,5497	0,41
18	24,3347	24,5243	24,4295	9,6542	9,6546	9,6544	9,1089	310	7,5731	2,8238	2,6819	0,43
19	32,9126	30,9308	31,9217	27,4750	26,7528	28,1139	26,5255	130	4,1498	3,4483	1,2034	0,08
20	14,5599	14,0429	14,3014	12,7695	13,0466	12,9081	12,1787	310	4,4334	3,7754	1,1743	0,07
21	33,3297	33,8788	33,6043	5,8984	6,0655	5,9820	5,6440	220	7,3929	1,2417	5,9540	0,77
22	16,5358	16,2108	16,3733	3,0203	3,1128	3,0666	2,8933	624	10,2169	1,8054	5,6591	0,75
23	8,3063	8,2257	8,2660	6,9955	7,2706	7,1331	6,7300	560	4,6290	3,7688	1,2282	0,09
24	36,7505	38,7222	37,7364	19,3579	20,5174	19,9347	18,8083	145	5,4718	2,7272	2,0064	0,30
25	7,1517	7,2090	7,1804	14,5534	14,8916	14,7225	13,8907	338	2,4270	4,6950	0,5169	-0,29
26	36,9392	38,9898	37,9645	13,5261	14,1504	13,8383	13,0564	229	8,6939	2,9899	2,9077	0,46
27	28,5516	27,0547	27,8032	6,9657	6,8140	6,8899	6,5006	345	9,5921	2,2427	4,2770	0,63
28	43,6769	40,4982	42,0876	13,3532	12,0147	12,6840	11,9673	200	8,4175	2,3935	3,5169	0,55
29	42,1710	40,5109	41,3410	8,6604	8,2208	8,4406	7,9637	183	7,5654	1,4574	5,1912	0,72
30	27,7232	29,3522	28,5377	8,5603	8,7748	8,6676	8,1778	255	7,2771	2,0853	3,4896	0,54
										Rata-rata	3,1607	0,31
										SD	3,4045	0,41
										Maksimum	18,2118	1,26
										Minimum	0,3634	-0,44

Keterangan:

- ML = metoprolol, HML = hidroksimetoprolol, MR = rasio metabolik (rasio kadar ML/HML dalam urin)
- 1 mg HML setara dengan 0,9435 mg ML
- ML dalam kombinasi = 100 mg dapson + 100 mg ML + 50 mg mefenitoin rasemat

Lampiran AF

LOG MR ML DALAM URIN DAN KESESUAIAN FENOTIP SETELAH PEMBERIAN ML SAJA (MLA) DAN ML DALAM KOMBINASI (MLC)

Subyek No.	MLA		MLC		Kesesuaian fenotip
	Log MR	Fenotip	Log MR	Fenotip	
1	-0,68	EM	-0,44	EM	+
2	-0,28	EM	-0,33	EM	+
3	-0,64	EM	-0,42	EM	+
4	0,13	EM	0,19	EM	+
5	-0,35	EM	-0,26	EM	+
6	0,29	EM	0,10	EM	+
7	0,58	EM	0,57	EM	+
8	0,38	EM	0,35	EM	+
9	0,31	EM	0,32	EM	+
10	0,09	EM	-0,16	EM	+
11	1,38	PM	1,26	PM	+
12	0,67	EM	0,16	EM	+
13	0,94	EM	0,57	EM	+
14	0,66	EM	0,71	EM	+
15	0,82	EM	0,93	EM	+
16	0,49	EM	0,33	EM	+
17	0,49	EM	0,41	EM	+
18	0,61	EM	0,43	EM	+
19	0,22	EM	0,08	EM	+
20	0,41	EM	0,07	EM	+
21	0,89	EM	0,77	EM	+
22	1,00	EM	0,75	EM	+
23	0,21	EM	0,09	EM	+
24	0,65	EM	0,30	EM	+
25	-0,24	EM	-0,29	EM	+
26	0,44	EM	0,46	EM	+
27	0,76	EM	0,63	EM	+
28	0,83	EM	0,55	EM	+
29	0,92	EM	0,72	EM	+
30	0,70	EM	0,54	EM	+
Rata2	0,4224		0,3130		
SD	0,4806		0,4116		
Maksimum	1,3779		1,2604		
Minimum	-0,6768		-0,4396		

Keterangan:

- ML = metoprolol, EM = pemetabolisme ekstensif, PM = pemetabolisme lemah, MR = rasio metabolik
- Rejimen MLA = 100 mg ML, MLC = 100 mg dapson + 100 mg ML + 50 mg mefenitoin rasemat.
- Kriteria PM: $\text{Log MP} > 1,1$
- Untuk MLA: log RM ML rata-rata (\pm SD) subkelompok EM = 0,3895 (\pm 0,4543); subkelompok PM = 1,38 (hanya 1 subyek)

Lampiran AG

PAIRED t-TEST UNTUK LOG MR DALAM URIN
 SETELAH PEMBERIAN MLA DAN MLC

Subyek No.	Log MR		D	D ²
	MLA	MLC		
1	-0,68	-0,44	-0,2371	0,0562
2	-0,28	-0,33	0,0531	0,0028
3	-0,64	-0,42	-0,2192	0,0481
4	0,13	0,19	-0,0625	0,0039
5	-0,35	-0,26	-0,0881	0,0078
6	0,29	0,10	0,1871	0,0350
7	0,58	0,57	0,0044	0,0000
8	0,38	0,35	0,0356	0,0013
9	0,31	0,32	-0,0138	0,0002
10	0,09	-0,16	0,2497	0,0623
11	1,38	1,26	0,1176	0,0138
12	0,67	0,16	0,5080	0,2581
13	0,94	0,57	0,3713	0,1379
14	0,66	0,71	-0,0492	0,0024
15	0,82	0,93	-0,1060	0,0112
16	0,49	0,33	0,1588	0,0252
17	0,49	0,41	0,0788	0,0062
18	0,61	0,43	0,1818	0,0330
19	0,22	0,08	0,1381	0,0191
20	0,41	0,07	0,3405	0,1159
21	0,89	0,77	0,1108	0,0123
22	1,00	0,75	0,2511	0,0630
23	0,21	0,09	0,1219	0,0149
24	0,65	0,30	0,3478	0,1209
25	-0,24	-0,29	0,0482	0,0023
26	0,44	0,46	-0,0222	0,0005
27	0,76	0,63	0,1320	0,0174
28	0,83	0,55	0,2820	0,0795
29	0,92	0,72	0,2039	0,0416
30	0,70	0,54	0,1594	0,0254
Jumlah			3,2836	1,2184
SD			0,1692	

$$t = 3,4833$$

Nilai kritis t (df = 29, p = 0,01, 2-tail) = 2,7560

Kesimpulan: Kedua kelompok berbeda sangat bermakna

Keterangan:

- MR = rasio metabolik, ML = metoprolol
- Rejimen MLA = 100 mg ML, MLC = 100 mg dapson + 100 mg ML + 50 mg mefenitoin rasemat

Lampiran AH

PERSENTASI EKSKRESI HMM DALAM URIN 6 JAM DAN KESESUAIAN FENOTIP
 SETELAH PEMBERIAN 50 mg MN RASEMAT SAJA (MNA-50) DAN
 100 mg MN RASEMAT SAJA (MNA-100)

No. urut	Subyek No.	MNA-50		MNA-100		Kesesuaian Fenotip
		% ekskresi	Fenotip	% ekskresi	Fenotip	
1	11	14,2428	EM	20,9219	EM	+
2	12	17,1955	EM	16,3434	EM	+
3	13	28,1886	EM	21,4812	EM	+
4	14	31,3456	EM	33,7724	EM	+
5	15	29,0346	EM	32,6076	EM	+
6	16	30,0159	EM	28,5091	EM	+
7	17	32,8411	EM	28,1836	EM	+
8	18	29,5050	EM	33,0704	EM	+
9	19	31,0482	EM	25,3369	EM	+
10	20	28,0053	EM	33,7749	EM	+
11	21	1,5157	PM	0,3480	PM	+
12	22	34,7106	EM	19,7115	EM	+
13	23	23,7370	EM	20,5984	EM	+
14	24	15,6634	EM	16,3080	EM	+
15	27	2,4934	PM	0,8344	PM	+
Rata-rata		23,3028		22,1201		
SD		10,3080		10,3075		
Maksimum		34,7106		33,7749		
Minimum		1,5157		0,3480		

Keterangan:

- HMM = hidroksimefenitoin, MN = mefenitcin, EM = penmetabolisme ekstensif, PM = penmetabolisme lemah
- Kriteria PM: % ekskresi HMM < 5%

Lampiran AI

KOLMOGOROV-SMIRNOV'S GOODNESS-OF-FIT TEST UNTUK DISTRIBUSI % EKSKRESI HIDROKSIMEFENITOIN SETELAH PEMBERIAN

A. 50 mg MEFENITOIN BASEMAT

Subyek No.	% ekskresi	Frek. kum.	$F_s(x)$	z	Area	$F_t(x)$	d
21	1,5157	1	0,0667	-2,11	0,4826	0,0174	0,0493
27	2,4934	2	0,1333	-2,02	0,4783	0,0217	0,1116
11	14,2428	3	0,2000	-0,88	0,3106	0,1894	0,0106
24	15,6634	4	0,2667	-0,74	0,2704	0,2296	0,0371
12	17,1955	5	0,3333	-0,59	0,2224	0,2776	0,0557
23	23,7370	6	0,4000	0,04	0,0160	0,5160	0,1160
20	28,0053	7	0,4667	0,46	0,1772	0,6772	0,2105
13	28,1886	8	0,5333	0,47	0,1808	0,6808	0,1475
15	29,0346	9	0,6000	0,56	0,2123	0,7123	0,1123
18	29,5050	10	0,6667	0,60	0,2257	0,7257	0,0590
16	30,0159	11	0,7333	0,65	0,2422	0,7422	0,0089
19	31,0482	12	0,8000	0,75	0,2734	0,7734	0,0266
14	31,3456	13	0,8667	0,78	0,3106	0,8106	0,0561
17	32,8411	14	0,9333	0,93	0,3238	0,8238	0,1035
22	34,7106	15	1,0000	1,11	0,3665	0,8665	0,1335
d maksimum =							0,2105

Nilai kritis d maksimum (Confidence interval 95%, 2-tail) = 0,3380 (Daniel, 1978). Nilai ini > 0,2105.

Kesimpulan: Distribusi normal

Keterangan:

- Prek. kum. = frekuensi kumulatif
- $F_s(x)$ = fungsi distribusi kumulatif dari sampel
- $F_t(x)$ = fungsi distribusi kumulatif teoretis
- d = selisih $F_s(x)$ dengan $F_t(x)$

(bersambung ke halaman berikut)

Lampiran AI (lanjutan)

B. 100 mg NEFENITIN RASEMAT

Subyek No.	% ekskresi	Frek. kum.	Fs(x)	z	Area	Ft(x)	d
21	0,3480	1	0,0667	-2,11	0,4826	0,0174	0,0493
27	0,8344	2	0,1333	-2,07	0,4808	0,0192	0,1141
24	16,3080	3	0,2000	-0,56	0,2123	0,2877	0,0877
12	16,3434	4	0,2667	-0,56	0,2123	0,2877	0,0210
22	19,7115	5	0,3333	-0,23	0,091	0,4090	0,0757
23	20,5984	6	0,4000	-0,15	0,0596	0,4404	0,0404
11	20,9219	7	0,4667	-0,12	0,0478	0,4522	0,0145
13	21,4812	8	0,5333	-0,06	0,0239	0,4761	0,0572
19	25,3369	9	0,6000	0,31	0,1217	0,6217	0,0217
17	28,1836	10	0,6667	0,59	0,2224	0,7224	0,0557
16	28,5091	11	0,7333	0,62	0,2324	0,7324	0,0009
15	32,6076	12	0,8000	1,02	0,3461	0,8461	0,0461
18	33,0704	13	0,8667	1,06	0,3554	0,8554	0,0113
14	33,7724	14	0,9333	1,13	0,3708	0,8708	0,0625
20	33,7749	15	1,0000	1,13	0,3708	0,8708	0,1292

d maksimum = 0,1292

Nilai kritis d maksimum (Confidence interval 95%, 2-tail) = 0,3380 (Daniel, 1978). Nilai ini > 0,1292.

Kesimpulan: Distribusi normal

Keterangan:

- Frek. kum. = frekuensi kumulatif
- Fs(x) = fungsi distribusi kumulatif dari sampel
- Ft(x) = fungsi distribusi kumulatif teoretis
- d = selisih Fs(x) dengan Ft(x)

Lampiran AJ

PAIRED t-TEST UNTUK % EKSRESI HMN DALAM
URIN 8 JAM SETELAH PEMBERIAN MN RASEMAT
50 DAN 100 mg

Subyek	% Ekskresi			
	No.	MN-50	MN-100	D
11	14,2428	20,9219	-6,6791	44,6101
12	17,1955	16,3434	0,8520	0,7259
13	28,1886	21,4812	6,7073	44,9883
14	31,3456	33,7724	-2,4268	5,8895
15	29,0346	32,6076	-3,5730	12,7665
16	30,0159	28,5091	1,5068	2,2703
17	32,8411	28,1836	4,6576	21,6928
18	29,5050	33,0704	-3,5653	12,7116
19	31,0482	25,3369	5,7113	32,6193
20	28,0053	33,7749	-5,7696	33,2878
21	1,5157	0,3480	1,1677	1,3635
22	34,7106	19,7115	14,9991	224,9732
23	23,7370	20,5984	3,1386	9,8511
24	15,6634	16,3080	-0,6445	0,4154
27	2,4934	0,8344	1,6590	2,7522
Jumlah			17,7411	450,9176

t = 0,83

Nilai kritis untuk t (df = 14, p = 0,05,
2-tail) = 2,14

Kesimpulan: kedua kelompok t.b.b.

Keterangan:

- HMN = hidrosimefenitoin, MN = mefenitoin
- MN-50 dan MN-100 masing-masing ialah MN 50 dan 100 mg.

Lampiran AK

KADAR DAN LOG % EKSRESI HMN DALAM URIN 8 JAM SETELAH PEKBERIAN
MEFENITOIN RASEMAT SAJA

Subyek No.	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)		Volume urin (ml)	Eksresi HMN		Log % ekskresi HMN	Indeks hidrok- silasi
	HMN	Setara dgn. MN		(mg)	(%)		
1	100,9746	94,0780	150	14,1117	14,1117	1,1496	3,5432
2	140,6066	131,0032	125	16,3754	16,3754	1,2142	3,0534
3	0,8450	0,7873	570	0,4488	0,4488	-0,3480	111,4198
4	45,1851	42,0990	450	18,9445	18,9445	1,2775	2,6393
5	113,2118	105,4794	130	13,7123	13,7123	1,1371	3,6464
6	2,3720	2,2100	120	0,2652	0,2652	-0,5764	188,5376
7	127,1351	118,4518	150	17,7678	17,7678	1,2496	2,8141
8	1,9195	1,7884	220	0,3934	0,3934	-0,4051	127,0817
9	110,1692	102,6446	165	16,9364	16,9364	1,2288	2,9522
10	123,8553	115,3960	160	16,4634	16,4634	1,2663	2,7081
11	12,6757	11,8099	603	7,1214	14,2428	1,1536	3,5105
12	13,1453	12,2475	702	6,5977	17,1955	1,2354	2,9077
13	26,2175	24,4268	577	14,0943	28,1886	1,4501	1,7738
14	29,4601	27,4480	571	15,6726	31,3456	1,4962	1,5951
15	128,7728	119,9776	121	14,5173	29,0346	1,4629	1,7221
16	36,0361	33,5748	447	15,0050	30,0159	1,4774	1,6658
17	105,5348	98,3268	167	16,4206	32,8411	1,5164	1,5225
18	41,2343	38,4180	384	14,7525	29,5050	1,4699	1,6946
19	135,4646	126,2124	123	15,5241	31,0482	1,4920	1,6104
20	20,1463	18,7703	746	14,0026	28,0053	1,4472	1,7854
21	2,0750	1,9333	392	0,7578	1,5157	0,1806	32,9883
22	96,5159	89,9239	193	17,3553	34,7106	1,5405	1,4405
23	20,4471	19,0506	623	11,8685	23,7370	1,3754	2,1064
24	46,4411	43,2692	181	7,8317	15,6634	1,1949	3,1921
25	29,9562	27,9102	740	20,6535	41,3071	1,6160	1,2104
26	16,5931	15,4596	418	6,4622	12,9244	1,1114	3,8687
27	1,7560	1,6361	762	1,2467	2,4934	0,3968	20,0532
28	26,2953	24,4993	561	13,7441	27,4882	1,4391	1,8190
29	19,2145	17,9021	572	10,2400	20,4801	1,3113	2,4414
30	134,5101	125,3231	131	16,4173	32,8346	1,5163	1,5228
				Rata-rata	20,0665	1,1026	
				SD	11,1710	0,5962	
				Maksimum	41,3071	1,6160	
				Minimum	0,2652	-0,5764	

Keterangan:

- HMN = hidrokسيمefenitoin, MN = mefenitoin
- 1 mg HMN setara dengan 0,9317 mg MN
- Indeks hidrosilasi = 50% dosis MN rasemat : jumlah ekskresi MN 8 jam
- Dosis MN rasemat: Subyek 1-10 = 100 mg, subyek 11-30 = 50 mg
- Kriteria PK : Ekskresi HMN < 5% (log % ekskresi < 0,7)

Lampiran AL

KADAR DAN % LOG EKSKRESI HMN DALAM URIN 8 JAM SETELAH PEMBERIAN
MEFENITOIN RASEMAT DALAM KOMBINASI (MNC)

Subyek	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)		Volume urin (ml)	Ekskresi HMN		Log % ekskresi HMN	Indeks hidrok- silasi
	HMN	Setara dgn. MN		(mg)	(%)		
1	52,5900	48,9981	200	9,7996	19,5992	1,2922	2,5511
2	72,8718	67,8947	150	10,1842	20,3684	1,3090	2,4548
3	1,1430	1,0649	377	0,4015	0,8030	-0,0953	62,2696
4	50,5619	47,1085	275	12,9546	25,9097	1,4135	1,9298
5	91,3796	85,1384	98	8,3436	16,6871	1,2224	2,9963
6	1,4240	1,3267	158	0,2096	0,4193	-0,3775	119,2606
7	108,8627	101,4274	75	7,6071	15,2141	1,1822	3,2864
8	3,6930	3,4408	315	1,0836	2,1677	0,3360	23,0661
9	83,8724	78,1439	115	8,9866	17,9731	1,2546	2,7819
10	109,3759	93,5202	126	11,7635	23,5671	1,3723	2,1216
11	41,1519	38,3412	372	14,2629	28,5259	1,4552	1,7528
12	12,4926	11,6394	810	5,4279	18,8558	1,2754	2,6517
13	44,6478	41,5984	270	11,2316	22,4631	1,3515	2,2259
14	25,4832	23,7427	593	14,0794	28,1588	1,4496	1,7756
15	50,2472	46,8153	375	17,5557	35,1115	1,5454	1,4240
16	38,9060	36,2487	145	5,2561	10,5121	1,0217	4,7564
17	80,1968	74,7194	245	18,3062	36,6125	1,5636	1,3657
18	59,8003	55,7159	310	17,2719	34,5439	1,5384	1,4474
19	156,4372	145,7525	130	18,9478	37,8957	1,5786	1,3194
20	71,6479	66,7543	310	20,6938	41,3877	1,6169	1,2081
21	1,1240	1,0472	220	0,2304	0,4608	-0,3365	108,5113
22	24,2131	22,5593	624	14,0770	28,1541	1,4495	1,7759
23	17,3623	16,1765	560	9,0588	18,1176	1,2581	2,7597
24	47,1733	43,9514	145	6,3729	12,7459	1,1054	3,9228
25	22,8256	21,2666	338	7,1881	14,3762	1,1576	3,4780
26	43,3992	40,4350	229	5,2596	18,5192	1,2676	2,6999
27	0,8050	0,7500	345	0,2588	0,5175	-0,2861	96,6160
28	41,4189	38,5900	200	7,7180	15,4360	1,1885	3,2392
29	57,8667	53,9144	183	9,8663	19,7327	1,2952	2,5339
30	52,3430	48,7680	255	12,4358	24,8717	1,3957	2,8103
				Rata-rata	19,6569	1,0934	
				SD	11,3210	0,5842	
				Maksimum	41,3877	1,6169	
				Minimum	0,4193	-0,3775	

Keterangan:

- HMN = hidrokسيمefenitoin, MN = mefenitoin, ML = metoprolol, DDS = dapson
- Rejimen MNC = 50 mg MN rasemat + 100 mg DDS + 100 mg ML
- 1 mg HMN setara dengan 0,9317 mg MN
- Indeks hidrosilasi = 50% dosis MN rasemat : jumlah ekskresi HMN 8 jam
- Kriteria PK: ekskresi HMN < 5% (log % ekskresi HMN < 0,7)

Lampiran AM

LOG % EKSKRESI HEM DALAM URIN 8 JAM DAN KESESUAIAN FENOTIP SETELAH PEMBERIAN MN RASEMAT SAJA (HMA) DAN MN RASEMAT DALAM KOMBINASI (HMC)

Subyek No.	HMA			HMC			Kesesuaian fenotip
	% ekskresi	Log % ekskresi	Fenotip	% ekskresi	Log % ekskresi	Fenotip	
1	14,1117	1,1496	EM	19,5992	1,2922	EM	+
2	16,3754	1,2142	EM	20,3684	1,3090	EM	+
3	0,4488	-0,3480	PM	0,8030	-0,0953	PM	+
4	18,9445	1,2775	EM	25,9097	1,4135	EM	+
5	13,7123	1,1371	EM	16,6871	1,2224	EM	+
6	0,2652	-0,5764	PM	0,4193	-0,3775	PM	+
7	17,7678	1,2496	EM	15,2141	1,1822	EM	+
8	0,3934	-0,4051	PM	2,1677	0,3360	PM	+
9	16,9364	1,2288	EM	17,9731	1,2546	EM	+
10	18,4634	1,2663	EM	23,5671	1,3723	EM	+
11	14,2428	1,1536	EM	26,5259	1,4552	EM	+
12	17,1955	1,2354	EM	18,8558	1,2754	EM	+
13	28,1886	1,4501	EM	22,4631	1,3515	EM	+
14	31,3456	1,4962	EM	28,1588	1,4496	EM	+
15	29,0346	1,4629	EM	35,1115	1,5454	EM	+
16	30,0159	1,4774	EM	10,5121	1,0217	EM	+
17	32,8411	1,5164	EM	36,6125	1,5636	EM	+
18	29,5050	1,4699	EM	34,5439	1,5384	EM	+
19	31,0482	1,4920	EM	37,8957	1,5786	EM	+
20	28,0053	1,4472	EM	41,3877	1,6169	EM	+
21	1,5157	0,1806	PM	0,4608	-0,3365	PM	+
22	34,7106	1,5405	EM	28,1541	1,4495	EM	+
23	23,7370	1,3754	EM	18,1176	1,2581	EM	+
24	15,6634	1,1949	EM	12,7459	1,1054	EM	+
25	41,3071	1,6160	EM	14,3762	1,1576	EM	+
26	12,9244	1,1114	EM	18,5192	1,2676	EM	+
27	2,4934	0,3968	PM	0,5175	-0,2861	PM	+
28	27,4882	1,4391	EM	15,4360	1,1885	EM	+
29	20,4801	1,3113	EM	19,7327	1,2952	EM	+
30	32,8346	1,5163	EM	24,8717	1,3957	EM	+
Rata-rata	20,0665	1,1026		19,6569	1,0934		
SD	11,1710	0,5962		11,3210	0,5842		
Maksimum	41,3071	1,6160		41,3877	1,6169		
Minimum	0,2652	-0,5764		0,4193	-0,3775		

Keterangan:

- EMN = hidroksimefenitoin, MN = mefenitoin, DOS = dapson, ML = metoprolol
- Rejimen HMA = 50 mg MN rasemat, HMC = 50 mg MN rasemat + 100 mg DOS + 100 mg ML
- Kriteria PM: Ekskresi HEM < 5% (log % ekskresi < 0,7)
- Untuk NLA: % ekskresi HEM rata-rata (\pm SD) subkelompok EM = 23,8752 (\pm 7,9098); subkelompok PM = 1,0233 (\pm 0,8608)

Lampiran AN

PAIRED t-TEST UNTUK % EKSRESI HMN DALAM URIN 8
JAM SETELAH PEMBERIAN MN SAJA DAN MN DALAM
KOMBINASI

Subyek No.	% Ekskresi		D	D ²
	MNA	MNC		
1	14,1117	19,5992	-5,4875	30,1131
2	16,3754	20,3684	-3,9930	15,9441
3	0,4488	0,8030	-0,3542	0,1255
4	18,9445	25,9097	-6,9652	48,5134
5	13,7123	16,6871	-2,9748	8,8494
6	0,2652	0,4193	-0,1541	0,0237
7	17,7678	15,2141	2,5537	6,5212
8	0,3934	2,1677	-1,7742	3,1479
9	16,9364	17,9731	-1,0367	1,0748
10	18,4634	23,5671	-5,1037	26,0482
11	14,2428	28,5259	-14,2831	204,0062
12	17,1955	18,8558	-1,6603	2,7566
13	28,1886	22,4631	5,7255	32,7810
14	31,3456	28,1588	3,1867	10,1554
15	29,0346	35,1115	-6,0769	36,9288
16	30,0159	10,5121	19,5038	380,3972
17	32,8411	36,6125	-3,7713	14,2230
18	29,5050	34,5439	-5,0389	25,3901
19	31,0482	37,8957	-6,8474	46,8871
20	28,0053	41,3877	-13,3824	179,0885
21	1,5157	0,4608	1,0549	1,1128
22	34,7106	28,1541	6,5565	42,9883
23	23,7370	18,1176	5,6194	31,5773
24	15,6634	12,7459	2,9175	8,5121
25	41,3071	14,3762	26,9309	725,2709
26	12,9244	18,5192	-5,5949	31,3025
27	2,4934	0,5175	1,9759	3,9040
28	27,4882	15,4360	12,0523	145,2568
29	20,4801	19,7327	0,7474	0,5586
30	32,8346	24,8717	7,9630	63,4090
	Jumlah		-38,3979	426,9890
	SD		8,4100	

t = 1,94 df = 29
 Nilai kritis t (p = 0,05, 2-tail) = 2,04
 Kesimpulan: % ekskresi HMN kedua kelompok t.b.b.

Keterangan:

- HMN = hidrosimefenitoin, MN = mefenitoin rasemat
- rejimen MNA = 50 atau 100 mg MN rasemat, MNC = 50 mg MN rasemat + 100 mg dapson + 100 mg metoprolol

Lampiran AO

FENOTIP N-ASETILASI PADA 104 SUBYEK

Subyek No.	Kadar DDS ($\mu\text{g/ml}$)			Kadar MADDS ($\mu\text{g/ml}$)			Rasio metabolik	Fenotip
	Pengukuran			Pengukuran				
	1	2	Rata2	1	2	Rata2		
1	2,2301	1,9960	2,1130	1,5344	1,4524	1,4934	0,7068	RA
2	2,5734	-	2,5734	0,6085	-	0,6085	0,2365	SA
3	3,7170	3,5947	3,6558	2,2968	2,3353	2,3160	0,6335	RA
4	2,9731	-	2,9731	1,7260	-	1,7260	0,5805	RA
5	2,5722	2,2805	2,4263	0,8151	0,7645	0,7898	0,3255	SA
6	2,6567	2,4990	2,5778	0,5063	0,5155	0,5109	0,1982	SA
7	2,1948	-	2,1948	0,9245	-	0,9245	0,4212	RA
8	2,3769	2,2826	2,3298	0,6779	0,8009	0,7394	0,3174	SA
9	2,3767	-	2,3767	1,1576	-	1,1576	0,4889	RA
10	2,1663	-	2,1663	0,7172	-	0,7172	0,3311	SA
11	2,8048	2,5914	2,6981	1,4709	1,2600	1,3654	0,5061	RA
12	2,3681	2,3904	2,3792	0,5163	0,4041	0,4602	0,1934	SA
13	2,1098	2,0116	2,0607	1,2455	1,0354	1,1405	0,5534	RA
14	1,7184	1,7275	1,7230	1,6266	1,7143	1,6705	0,9695	RA
15	2,2359	2,3154	2,2756	1,4051	1,5200	1,4626	0,6427	RA
16	1,9626	1,9969	1,9798	0,9363	1,0611	0,9987	0,5044	RA
17	2,1118	2,0755	2,0937	1,2728	1,3769	1,3248	0,6328	RA
18	2,2783	2,1800	2,2292	1,0792	1,1674	1,1233	0,5039	RA
19	2,4792	2,2647	2,3720	0,5218	0,4856	0,5037	0,2124	SA
20	1,8722	1,7564	1,8143	1,3275	1,3720	1,3498	0,7440	RA
21	2,3268	2,2814	2,3041	0,5670	0,6283	0,5977	0,2594	SA
22	2,5431	2,4009	2,4720	0,3903	0,3422	0,3662	0,1482	SA
23	2,3505	2,3407	2,3456	1,2805	1,3065	1,2935	0,5515	RA
24	2,1755	2,2548	2,2152	0,5135	0,5593	0,5364	0,2422	SA
25	2,5480	-	2,5480	0,5004	-	0,5004	0,1964	SA
26	1,8659	1,7815	1,8237	1,2070	0,9929	1,0999	0,6031	RA
27	2,4731	2,4184	2,4458	1,1236	1,1854	1,1545	0,4720	RA
28	2,0688	2,0708	2,0698	1,3814	1,3570	1,3692	0,6615	RA
29	2,5451	2,4251	2,4851	0,5407	0,5421	0,5414	0,2179	SA
30	2,3266	2,3503	2,3384	0,6977	0,6698	0,6837	0,2924	SA
31	2,1200	2,2458	2,1829	0,4285	0,4363	0,4324	0,1981	SA
32	1,0444	1,0282	1,0363	0,6177	0,6419	0,6298	0,6077	RA
33	1,9747	-	0,9747	0,3911	-	0,3911	0,4013	RA
34	2,5871	1,9549	2,2710	0,5535	0,4519	0,5027	0,2214	SA
35	2,3154	-	2,3154	1,7659	-	1,7659	0,7627	RA
36	1,6077	-	1,6077	0,7954	-	0,7954	0,4947	RA
37	2,3413	2,0646	2,2029	0,6464	0,6362	0,6413	0,2911	SA
38	1,7413	1,6527	1,6970	0,8611	0,8797	0,8704	0,5129	RA
39	1,9608	1,7369	1,8488	0,3917	0,3449	0,3683	0,1992	SA
40	1,8869	1,9216	1,9043	1,1885	1,2846	1,2365	0,6494	RA
41	1,8261	2,0094	1,9178	1,7516	2,0450	1,8983	0,9898	RA
42	1,8261	1,7498	1,7880	0,5541	0,5523	0,5532	0,3094	SA

Lampiran AO (lanjutan)

Subyek No.	Kadar DDS ($\mu\text{g/ml}$)			Kadar MADDs ($\mu\text{g/ml}$)			Rasio metabolik	Fenotip
	Pengukuran			Pengukuran				
	1	2	Rata2	1	2	Rata2		
43	2,1306	1,8986	2,0146	0,3625	0,2309	0,2967	0,1473	SA
44	2,4608	2,7051	2,5829	0,8375	1,0061	0,9218	0,3569	SA
45	2,6724	2,5928	2,6326	2,1470	2,1755	2,1612	0,8209	RA
46	1,9376	2,0637	2,0006	0,4022	0,4191	0,4106	0,2052	SA
47	2,8637	2,4575	2,6606	1,5528	1,3923	1,4725	0,5535	RA
48	2,2396	2,1996	2,2196	0,4014	0,4319	0,4166	0,1877	SA
49	3,0015	-	3,0015	0,4548	-	0,4548	0,1515	SA
50	2,1084	2,0221	2,0652	0,9590	0,9572	0,9581	0,4639	RA
51	1,6979	-	1,6979	0,3137	-	0,3137	0,1848	SA
52	2,3880	2,0442	2,2161	1,1157	1,0523	1,0840	0,4892	RA
53	2,2745	2,3174	2,2960	1,0031	1,0348	1,0190	0,4438	RA
54	2,2542	2,0128	2,1335	0,3579	0,3980	0,3779	0,1771	SA
55	1,5874	1,6361	1,6118	1,3027	1,3575	1,3301	0,8252	RA
56	2,4237	2,4415	2,4326	0,6504	0,6504	0,6504	0,2674	SA
57	1,5092	1,5898	1,5495	0,7758	0,8300	0,8029	0,5182	RA
58	1,7196	1,8470	1,7833	1,5189	1,6048	1,5619	0,8758	RA
59	1,8165	1,9916	1,9041	0,3145	0,3288	0,3217	0,1689	SA
60	1,7852	1,7741	1,7796	1,1710	1,1781	1,1746	0,6600	RA
61	2,0234	2,0245	2,0230	1,1040	1,0989	1,1015	0,5445	RA
62	1,7299	1,7568	1,7434	1,5161	1,5378	1,5270	0,8759	RA
63	1,8511	1,9134	1,8823	1,6138	1,6643	1,6390	0,8708	RA
64	1,7459	1,7918	1,7684	1,5283	1,5661	1,5472	0,8749	RA
65	2,5722	2,6965	2,6343	1,4955	1,5523	1,5239	0,5785	RA
66	1,7661	1,8352	1,8007	0,3677	0,3925	0,3801	0,2111	SA
67	2,0056	2,0559	2,0308	1,0415	1,0525	1,0470	0,5156	RA
68	1,7765	1,8285	1,8025	2,0478	2,1152	2,0815	1,1548	RA
69	1,7947	1,8566	1,8256	1,0877	1,1254	1,1066	0,6061	RA
70	2,2500	2,2548	2,2524	1,3821	1,3465	1,3643	0,6057	RA
71	1,4795	1,4461	1,4628	0,7807	0,8378	0,7993	0,5464	RA
72	1,9120	1,9614	1,9367	1,6569	1,7082	1,6826	0,8688	RA
73	1,2290	1,2458	1,2374	0,3151	0,3186	0,3169	0,2561	SA
74	1,8885	1,8422	1,8653	0,4096	0,4157	0,4127	0,2212	SA
75	2,0303	1,9293	1,9798	0,4574	0,4173	0,4374	0,2209	SA
76	2,1661	2,2133	2,1897	0,6429	0,6449	0,6439	0,2941	SA
77	1,2588	1,2636	1,2612	0,6429	0,6635	0,6532	0,5179	RA
78	2,1632	2,2164	2,1898	0,3907	0,3897	0,3902	0,1782	SA
79	1,7851	1,8079	1,7965	0,3483	0,3434	0,3459	0,1925	SA
80	1,1302	1,1405	1,1353	0,6339	0,6677	0,6508	0,5733	RA
81	1,6349	1,6731	1,6540	0,8438	0,8524	0,8481	0,5128	RA
82	1,6337	1,7911	1,7124	0,9047	0,9397	0,9222	0,5386	RA
83	2,2534	2,3028	2,2781	0,4949	0,5090	0,5019	0,2203	SA
84	2,1226	2,2476	2,1851	0,9646	1,0240	0,9943	0,4550	RA

Lampiran AP

ANALISIS PROBIT RASIO METABOLIK DAPSON

Subyek No.	Rasio metabolik	Rank	F(Xi)	Probit
43	0,1473	1	0,5	2,4242
22	0,1482	2	1,4	2,8027
49	0,1515	3	2,4	3,0226
59	0,1689	4	3,4	3,1750
54	0,1771	5	4,3	3,2851
78	0,1782	6	5,3	3,3856
85	0,1813	7	6,3	3,4699
51	0,1848	8	7,2	3,5389
98	0,1855	9	8,2	3,6083
48	0,1877	10	9,1	3,6654
93	0,1877	11	10,1	3,7241
79	0,1925	12	11,1	3,7788
12	0,1934	13	12,0	3,8250
25	0,1964	14	13,0	3,8756
31	0,1981	15	13,9	3,9152
6	0,1982	16	14,9	3,9593
39	0,1992	17	15,9	4,0014
89	0,1995	18	16,8	4,0379
46	0,2052	19	17,8	4,0770
66	0,2111	20	18,8	4,1147
96	0,2118	21	19,7	4,1476
19	0,2124	22	20,7	4,1813
86	0,2167	23	21,6	4,2142
29	0,2179	24	22,6	4,2476
83	0,2203	25	23,6	4,2808
75	0,2209	26	24,5	4,3097
74	0,2212	27	25,5	4,3412
34	0,2214	28	26,4	4,3689
2	0,2365	29	27,4	4,3992
24	0,2422	30	28,4	4,4290
73	0,2561	31	29,3	4,4554
21	0,2594	32	30,3	4,4842
88	0,2604	33	31,3	4,5126
56	0,2674	34	32,2	4,5379
37	0,2911	35	33,2	4,5656
30	0,2924	36	34,1	4,5903
76	0,2941	37	35,1	4,6174
99	0,3093	38	36,1	4,6442
92	0,3093	39	37,0	4,6681
42	0,3094	40	38,0	4,6945
8	0,3174	41	38,9	4,7181
5	0,3255	42	39,9	4,7441
10	0,3311	43	40,9	4,7699
95	0,3439	44	41,8	4,7930

Lampiran AP (lanjutan)

Subyek No.	Rasio metabolik	Rank	F(Xi)	Probit
44	0,3569	45	42,8	4,8185
33	0,4013	46	43,8	4,8440
7	0,4212	47	44,7	4,8668
91	0,4383	48	45,7	4,8920
53	0,4438	49	46,6	4,9147
87	0,4546	50	47,6	4,9398
84	0,4550	51	48,6	4,9649
50	0,4639	52	49,5	4,9875
101	0,4670	53	50,5	5,0125
27	0,4720	54	51,4	5,0351
9	0,4889	55	52,4	5,0602
52	0,4892	56	53,4	5,0853
36	0,4947	57	54,3	5,1080
18	0,5039	58	55,3	5,1332
16	0,5044	59	56,3	5,1586
11	0,5061	60	57,2	5,1815
81	0,5128	61	58,2	5,2070
38	0,5129	62	59,1	5,2301
67	0,5156	63	60,1	5,2559
77	0,5179	64	61,1	5,2819
57	0,5182	65	62,0	5,3055
82	0,5386	66	63,0	5,3319
97	0,5415	67	63,9	5,3558
61	0,5445	68	64,9	5,3826
71	0,5464	69	65,9	5,4097
23	0,5515	70	66,8	5,4344
103	0,5528	71	67,8	5,4621
13	0,5534	72	68,8	5,4902
47	0,5535	73	69,7	5,5158
90	0,5559	74	70,7	5,5446
80	0,5733	75	71,6	5,5710
65	0,5785	76	72,6	5,6008
4	0,5805	77	73,6	5,6311
102	0,5883	78	74,5	5,6588
26	0,6031	79	75,5	5,6903
70	0,6057	80	76,4	5,7192
69	0,6061	81	77,4	5,7521
32	0,6077	82	78,4	5,7858
94	0,6237	83	79,3	5,8169
17	0,6328	84	80,3	5,8524
3	0,6335	85	81,3	5,8890
15	0,6427	86	82,2	5,9230
40	0,6494	87	83,2	5,9661
60	0,6600	88	84,1	5,9986

Lampiran AP (lanjutan)

Subyek No.	Rasio metabolik	Rank	F(Xi)	Probit
28	0,6615	89	85,1	6,0407
1	0,7068	90	86,1	6,0848
20	0,7440	91	87,0	6,1264
35	0,7627	92	88,0	6,1750
45	0,8209	93	88,9	6,2212
55	0,8252	94	89,9	6,2759
72	0,8688	95	90,9	6,3346
63	0,8708	96	91,8	6,3917
64	0,8749	97	92,8	6,4611
58	0,8758	98	93,8	6,5382
62	0,8759	99	94,7	6,6146
14	0,9695	100	95,7	6,7169
41	0,9898	101	96,6	6,8250
100	1,0584	102	97,6	6,9774
68	1,1548	103	98,6	7,1973
104	1,1675	104	99,5	7,5758

Keterangan:

- $F(X_i) = (\text{Nomor urut rank} - 0,5) / 104 \times 100\%$
- Nilai PROBIT dilihat pada Tabel Probit (Lentner, 1982)

Lampiran AQ

FENOTIP OKSIDASI METOPROLOL PADA 104 SUBYEK

Subyek No.	Kadar ML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Kadar HML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Setara dgn. ML	Volume urin 8 jam (ml)	Ekskresi dlm. urin 8 jam (mg)		MR	Log Fenotip	
	1	2	RATA2	1	2	RATA2			ML	HML			
1	11,7753	11,6855	11,7304	33,9964	34,4312	34,2136	32,2807	200	2,3461	6,4561	0,3634	-0,44	EM
2	17,5899	18,2673	17,9286	41,6616	40,4306	41,0461	38,7270	150	2,6893	5,8090	0,4629	-0,33	EM
3	5,2686	5,3745	5,3216	14,8295	15,0211	14,9253	14,0820	377	2,0062	5,3089	0,3779	-0,42	EM
4	21,7211	21,7219	21,7215	14,6580	15,0292	14,8436	14,0049	275	5,9734	3,8514	1,5510	0,19	EM
5	32,0514	33,8162	32,9338	62,6155	65,8215	64,2185	60,5902	98	3,2275	5,9378	0,5436	-0,26	EM
6	25,7884	25,5632	25,6758	21,5961	21,4390	21,5176	20,3018	158	4,0568	3,2077	1,2647	0,11	EM
7	71,7344	73,5219	72,6282	20,1817	21,0024	20,5921	19,4286	75	5,4471	1,4571	3,7382	0,58	EM
8	16,2088	17,3248	16,7668	7,6385	8,2989	7,9687	7,5185	315	5,2815	2,3683	2,2301	0,35	EM
9	44,2575	41,9082	43,0829	21,7830	21,4933	21,6382	20,4156	115	4,9545	2,3478	2,1103	0,33	EM
10	29,2817	29,4782	29,3800	45,2264	44,9859	45,1062	42,5577	126	3,7019	5,3623	0,6904	-0,16	EM
11	27,7025	29,3085	28,5055	1,6054	1,7125	1,6590	1,5652	372	10,6040	0,5823	18,2118	1,26	PM
12	5,7645	5,6376	5,7011	4,2606	4,1355	4,1981	3,9609	810	4,6179	3,2083	1,4393	0,16	EM
13	14,2614	14,2294	14,2454	4,0145	4,0570	4,0358	3,8077	270	3,8463	1,0281	3,7412	0,58	EM
14	14,9511	15,3800	15,1656	3,1402	3,1772	3,1587	2,9802	593	8,9932	1,7673	5,0887	0,71	EM
15	48,2673	48,2957	48,2815	6,0545	5,9627	6,0086	5,6691	375	18,1056	2,1259	8,5166	0,93	EM
16	39,7971	40,6631	40,2301	19,7534	20,2004	19,9769	18,8482	145	5,8334	2,7330	2,1344	0,33	EM
17	28,2949	28,3619	28,3284	11,9210	11,6306	11,7758	11,1105	245	6,9405	2,7221	2,5497	0,41	EM
18	24,3347	24,5243	24,4295	9,6542	9,6546	9,6544	9,1089	310	7,5731	2,8238	2,6819	0,43	EM
19	32,9126	30,9308	31,9217	27,4750	28,7528	28,1139	26,5255	130	4,1498	3,4483	1,2034	0,08	EM
20	14,5599	14,0429	14,3014	12,7695	13,0466	12,9081	12,1787	310	4,4334	3,7754	1,1743	0,07	EM
21	33,3297	33,8788	33,6043	5,8984	6,0655	5,9820	5,6440	220	7,3929	1,2417	5,9540	0,78	EM
22	16,5358	16,2108	16,3733	3,0203	3,1128	3,0666	2,8933	624	10,2169	1,8054	5,6591	0,76	EM
23	8,3063	8,2257	8,2660	6,9955	7,2706	7,1331	6,7300	560	4,6290	3,7688	1,2282	0,09	EM
24	36,7505	38,7222	37,7364	19,3519	20,5174	19,9347	18,8083	145	5,4718	2,7272	2,0064	0,31	EM
25	7,1517	7,2090	7,1804	14,5534	14,8916	14,7225	13,8907	338	2,4270	4,6950	0,5169	-0,28	EM
26	36,9392	38,9898	37,9645	13,5261	14,1504	13,8383	13,0564	229	8,6939	2,9899	2,9077	0,47	EM
27	28,5516	27,0547	27,8032	6,9657	6,8140	6,8899	6,5006	345	9,5921	2,2427	4,2770	0,63	EM
28	43,6769	40,4982	42,0876	13,3532	12,0147	12,6840	11,9673	200	8,4175	2,3935	3,5169	0,55	EM
29	42,1710	40,5109	41,3410	8,6604	8,2208	8,4406	7,9637	183	7,5654	1,4574	5,1912	0,72	EM
30	27,7232	29,3522	28,5377	8,5603	8,7748	8,6676	8,1778	255	7,2771	2,0853	3,4896	0,55	EM
31	49,6287	52,2153	50,9220	14,8293	15,7426	15,2860	14,4223	218	11,1010	3,1441	3,5308	0,51	EM
32	3,0859	-	3,0859	2,9413	-	2,9413	2,7751	675	2,0830	1,8732	1,1120	0,05	EM
33	31,2828	29,9226	30,6027	29,4257	25,6984	27,5621	26,0048	167	5,1107	4,3428	1,1768	0,07	EM
34	5,2398	5,2517	5,2458	3,7811	4,0913	3,9362	3,7138	407	2,1350	1,5115	1,4125	0,15	EM
35	32,0941	31,6822	31,8882	48,9693	45,8400	47,4047	44,7263	128	4,0817	5,7250	0,7130	-0,14	EM
36	3,8417	3,9936	3,9177	2,1120	1,4637	1,7879	1,6868	452	1,7708	0,7625	2,3225	0,37	EM
37	26,4782	26,4302	26,4542	4,0315	4,2852	4,1584	3,9234	507	13,4123	1,9892	6,7427	0,83	EM
38	26,9942	27,1534	27,0738	27,2057	27,6236	27,4147	25,8657	213	5,7667	5,5094	1,0467	0,02	EM
39	43,1328	40,5043	41,8186	18,9650	17,7983	18,3817	17,3431	164	6,8582	2,8443	2,4113	0,39	EM
40	20,8230	20,3715	20,5973	6,0605	6,2194	6,1400	5,7930	458	9,4335	2,6532	3,5555	0,55	EM
41	33,7189	35,5548	34,6369	5,6396	3,6766	4,6581	4,3949	275	9,5251	1,2086	7,8811	0,90	EM

Lampiran AQ (lanjutan)

Sub- yek No.	Kadar ML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Kadar EML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Setara dgn. ML	Volume urin 8 jam (ml)	Ekskresi dlm. urin 8 jam (ng)		MR	Log Fenotip	
	1	2	RATA2	1	2	RATA2			ML	EML			
													Ekskresi dlm. urin 8 jam (ng)
42	8,9899	8,8236	8,9068	3,5344	3,3617	3,4481	3,2532	930	8,2833	3,0255	2,7378	0,44	EM
43	29,6209	28,9028	29,2619	10,7840	9,5587	10,1714	9,5967	209	6,1157	2,0057	3,0492	0,49	EM
44	25,3712	26,1326	25,7519	8,5131	7,9046	8,2089	7,7450	336	8,6526	2,6023	3,3249	0,52	EM
45	7,1263	7,1968	7,1616	5,5792	5,1599	5,3696	5,0662	718	5,1420	3,6375	1,4136	0,15	EM
46	79,5524	80,0810	79,8167	6,7928	9,3137	8,0533	7,5982	126	10,0569	0,9574	10,5046	1,02	EM
47	5,9228	5,8448	5,8838	10,6792	10,0055	10,3424	9,7580	546	3,2126	5,3279	0,6030	-0,22	EM
48	10,2080	10,9097	10,5589	21,9634	23,8289	22,8962	21,6025	200	2,1118	4,3205	0,4888	-0,31	EM
49	61,4658	71,5723	66,5191	17,0951	18,6402	17,8677	16,8581	62	4,1242	1,0452	3,9458	0,60	EM
50	11,3830	11,6800	11,5315	0,5017	0,5179	0,5098	0,4810	960	11,0702	0,4618	23,9742	1,38	PM
51	2,8906	2,8657	2,8782	0,1442	0,2125	0,1784	0,1683	1166	3,3559	0,1962	17,1040	1,24	PM
52	27,6852	29,9833	28,8343	4,4854	4,7310	4,6082	4,3478	253	7,2951	1,1000	6,6319	0,82	EM
53	15,7073	16,0981	15,9027	2,5606	2,8387	2,6997	2,5471	822	13,0720	2,0937	6,2434	0,80	EM
54	27,7264	29,1831	28,4548	3,0748	3,2388	3,1568	2,9784	406	11,5526	1,2092	9,5536	0,98	EM
55	1,0698	-	1,0698	0,2555	-	0,2555	0,2411	386	0,4129	0,0931	4,4378	0,65	EM
56	1,4779	1,4687	1,4733	2,5047	2,4648	2,4848	2,3444	224	0,3300	0,5251	0,6284	-0,20	EM
57	61,7371	58,8226	60,2799	11,4238	11,5769	11,5004	10,8506	238	14,3466	2,5824	5,5554	0,75	EM
58	56,4409	53,9480	55,1945	5,1871	5,0277	5,1074	4,8188	200	11,0389	0,9638	11,4539	1,06	EM
59	7,0476	6,9983	7,0230	14,1694	14,3577	14,2636	13,4577	463	3,2516	6,2309	0,5219	-0,28	EM
60	4,3018	4,5565	4,4292	28,7245	31,0318	29,8782	28,1900	197	0,8725	5,5534	0,1571	-0,80	EM
61	6,2324	6,5303	6,3814	8,2881	7,9774	8,1328	7,6732	646	4,1224	4,9569	0,8316	-0,08	EM
62	20,6735	22,4240	21,5488	4,6796	7,5446	6,1121	5,7668	314	6,7663	1,8108	3,7367	0,58	EM
63	97,5840	104,2119	100,8980	11,3457	12,0021	11,6739	11,0143	138	13,9239	1,5200	9,1606	0,96	EM
64	4,6814	4,7963	4,7389	4,6943	4,8492	4,7718	4,5021	732	3,4688	3,2956	1,0526	0,03	EM
65	16,8652	15,8737	16,3695	3,5759	3,2481	3,4120	3,2192	364	5,9585	1,1718	5,0849	0,71	EM
66	7,9762	7,7843	7,8803	1,2089	1,1954	1,2022	1,1342	1232	9,7085	1,3974	6,9477	0,84	EM
67	29,9058	29,6694	29,7876	24,0998	23,9747	24,0373	22,6791	195	5,8086	4,4224	1,3134	0,12	EM
68	11,4213	11,6024	11,5119	13,9033	14,4837	14,1935	13,3916	318	3,6608	4,2585	0,8596	-0,06	EM
69	55,0985	54,1912	54,6449	9,1744	9,1435	9,1590	8,6415	249	13,6066	2,1517	6,3236	0,80	EM
70	50,5875	51,2908	50,9392	3,9297	3,2559	3,5928	3,3898	357	18,1853	1,2102	15,0272	1,18	PM
71	19,6802	20,3713	20,0258	1,6735	1,8007	1,7371	1,6390	820	16,4211	1,3439	12,2186	1,09	EM
72	40,3222	39,5058	39,9140	35,7454	35,3410	35,5432	33,5350	155	6,1867	5,1979	1,1902	0,08	EM
73	10,4944	9,7885	10,1415	0,4020	0,3186	0,3603	0,3399	1185	12,0176	0,4028	29,8328	1,48	PM
74	11,5340	11,5013	11,5177	4,2354	4,1730	4,2042	3,9667	690	7,9472	2,7370	2,9036	0,47	EM
75	11,0030	11,2154	11,1092	1,2429	1,2148	1,2289	1,1594	940	10,4426	1,0899	9,5817	0,98	EM
76	7,5719	7,5442	7,5581	2,8467	2,8435	2,8451	2,6844	811	6,1296	2,1770	2,8156	0,45	EM
77	14,7169	14,5799	14,6484	2,4939	2,4316	2,4628	2,3236	980	14,3554	2,2771	6,3042	0,80	EM
78	8,2353	7,9322	8,0838	6,6250	6,6163	6,6207	6,2466	530	4,2844	3,3107	1,2941	0,12	EM
79	4,8745	4,7923	4,8334	2,6524	2,5361	2,5943	2,4477	1457	7,0423	3,5663	1,9747	0,30	EM
80	12,9614	12,3510	12,6562	5,7855	5,7182	5,7519	5,4269	375	4,7461	2,0351	2,3321	0,37	EM
81	11,3319	11,3489	11,3404	5,9715	6,1469	6,0592	5,7169	525	5,9537	3,0013	1,9837	0,30	EM
82	16,5369	16,9349	16,7359	3,2444	3,3396	3,2920	3,1060	600	10,0415	1,8636	5,3882	0,73	EM

Lampiran AQ (lanjutan)

Subyek No.	Kadar ML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Kadar HML ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Setara dgn.ML	Volume Ekskresi dlm. urin urin 8 jam (mg)			MR	Log Fenotip	
	1	2	RATA2	1	2	RATA2		8 jam (ml)	Ekskresi dlm.				
									ML	HML			
83	57,9791	55,9019	56,9405	2,5243	2,4593	2,4918	2,3510	502	28,5841	1,1802	24,2196	1,39	EM
84	17,0652	18,1020	17,5836	14,6114	15,1479	14,8797	14,0389	370	6,5059	5,1944	1,2525	0,10	EM
85	12,9887	12,7045	12,8466	7,2007	6,7708	6,9858	6,5911	560	7,1941	3,6910	1,9491	0,29	EM
86	13,8288	14,1503	13,9896	2,1566	2,1637	2,1602	2,0381	750	10,4922	1,5286	6,8640	0,84	EM
87	15,3191	15,8723	15,5957	2,5573	2,6800	2,6187	2,4707	611	9,5290	1,5096	6,3123	0,80	EM
88	20,6901	21,7448	21,2175	14,6319	15,0574	14,8447	14,0059	227	4,8164	3,1793	1,5149	0,18	EM
89	7,2903	7,5439	7,4171	5,4241	5,6258	5,5250	5,2128	625	4,6357	3,2580	1,4229	0,16	EM
90	23,9315	24,1190	24,0253	11,9053	11,9110	11,9082	11,2353	329	7,9043	3,6964	2,1384	0,33	EM
91	8,3177	8,4445	8,3811	2,6836	2,7547	2,7192	2,5655	711	5,9590	1,8241	3,2668	0,52	EM
92	14,5768	15,2220	14,8994	0,5484	0,6064	0,5774	0,5448	1170	17,4323	0,6374	27,3495	1,44	EM
93	8,1133	7,9582	8,0358	3,0599	2,8779	2,9689	2,8012	1085	8,7188	3,0393	2,8687	0,46	EM
94	19,0290	19,0704	19,0497	35,1229	34,8670	34,9950	33,0177	156	2,9718	5,1508	0,5770	-0,24	EM
95	9,4087	8,9030	9,1559	10,0935	9,4095	9,7515	9,2005	720	6,5922	6,6244	0,9951	0,00	EM
96	62,4008	62,0383	62,2196	19,8978	20,1847	20,0413	18,9089	193	12,0084	3,6494	3,2905	0,52	EM
97	14,8051	13,9618	14,3835	14,3675	14,5000	14,4338	13,6183	405	5,8253	5,5154	1,0562	0,03	EM
98	59,2296	57,0899	58,1598	4,7021	4,6048	4,6534	4,3905	277	16,1103	1,2162	13,2466	1,13	EM
99	76,1668	74,0630	75,1149	7,0948	7,0901	7,0925	6,6917	228	17,1262	1,5257	11,2250	1,05	EM
100	9,0137	8,4648	8,7393	0,5116	0,4497	0,4806	0,4535	1500	13,1089	0,6802	19,2723	1,29	EM
101	17,9239	16,9203	17,4221	10,6795	10,3251	10,5023	9,9089	320	5,5751	3,1709	1,7582	0,25	EM
102	24,5167	24,3481	24,4424	9,8612	9,7238	9,7925	9,2392	331	8,0904	3,0582	2,6455	0,43	EM
103	12,8276	13,0090	12,9183	9,8915	10,7559	10,3237	9,7404	566	7,3118	5,5131	1,3263	0,13	EM
104	5,2033	4,9325	5,0679	2,7258	2,6419	2,6838	2,5322	1403	7,1103	3,5527	2,0014	0,30	EM

Deskripsi untuk nilai log MR ML:

	Total	EM	EM
N	104	95	9
		(=91,35%)	(=8,65%)
Rata-rata	0,4416	0,3594	1,3100
SD	0,4670	0,3991	0,1126
Maksimum	1,4800	1,0900	1,4800
Minimum	-0,8000	-0,8000	1,1300

Keterangan:

- ML = metoprolol, HML = hidroksimetoprolol, MR = rasio metabolik, EM = penmetabolisme ekstensif,
- EM = penmetabolisme lemah
- 1 mg HML setara dengan 0,9435 mg ML
- Kriteria EM: MR > 12,6 (log MR > 1,1)

Lampiran AR

ANALISIS PROBIT LOG RASIO METABOLIK
METOPROLOL DALAM URIN 8 JAM

Subyek No.	Log MR	Rank	F(Xi)	Probit
60	-0,80	1	0,5	2,4242
1	-0,44	2	1,4	2,8027
3	-0,42	3	2,4	3,0226
2	-0,33	4	3,4	3,1750
48	-0,31	5	4,3	3,2851
59	-0,28	6	5,3	3,3856
25	-0,28	7	6,3	3,4699
5	-0,26	8	7,2	3,5389
94	-0,24	9	8,2	3,6083
47	-0,22	10	9,1	3,6654
56	-0,20	11	10,1	3,7241
10	-0,16	12	11,1	3,7788
35	-0,14	13	12,0	3,8250
61	-0,08	14	13,0	3,8756
68	-0,06	15	13,9	3,9152
95	0,00	16	14,9	3,9593
38	0,02	17	15,9	4,0014
97	0,03	18	16,8	4,0379
64	0,03	19	17,8	4,0770
32	0,05	20	18,8	4,1147
33	0,07	21	19,7	4,1476
20	0,07	22	20,7	4,1813
19	0,08	23	21,6	4,2142
72	0,08	24	22,6	4,2476
23	0,09	25	23,6	4,2808
84	0,10	26	24,5	4,3097
6	0,11	27	25,5	4,3412
78	0,12	28	26,4	4,3689
67	0,12	29	27,4	4,3992
103	0,13	30	28,4	4,4290
34	0,15	31	29,3	4,4554
45	0,15	32	30,3	4,4842
89	0,16	33	31,3	4,5126
12	0,16	34	32,2	4,5379
88	0,18	35	33,2	4,5656
4	0,19	36	34,1	4,5903
101	0,25	37	35,1	4,6174
85	0,29	38	36,1	4,6442
81	0,30	39	37,0	4,6681
79	0,30	40	38,0	4,6945
104	0,30	41	38,9	4,7181
24	0,31	42	39,9	4,7441
90	0,33	43	40,9	4,7699

Lampiran AR (lanjutan)

Subyek No.	Log MR	Rank	F(Xi)	Probit
9	0,33	44	41,8	4,7930
16	0,33	45	42,8	4,8185
8	0,35	46	43,8	4,8440
80	0,37	47	44,7	4,8668
36	0,37	48	45,7	4,8920
39	0,39	49	46,6	4,9147
17	0,41	50	47,6	4,9398
102	0,43	51	48,6	4,9649
18	0,43	52	49,5	4,9875
42	0,44	53	50,5	5,0125
76	0,45	54	51,4	5,0351
93	0,46	55	52,4	5,0602
26	0,47	56	53,4	5,0853
74	0,47	57	54,3	5,1080
43	0,49	58	55,3	5,1332
31	0,51	59	56,3	5,1586
96	0,52	60	57,2	5,1815
44	0,52	61	58,2	5,2070
91	0,52	62	59,1	5,2301
40	0,55	63	60,1	5,2559
28	0,55	64	61,1	5,2819
30	0,55	65	62,0	5,3055
62	0,58	66	63,0	5,3319
13	0,58	67	63,9	5,3558
7	0,58	68	64,9	5,3826
49	0,60	69	65,9	5,4097
27	0,63	70	66,8	5,4344
55	0,65	71	67,8	5,4621
14	0,71	72	68,8	5,4902
65	0,71	73	69,7	5,5158
29	0,72	74	70,7	5,5446
82	0,73	75	71,6	5,5710
57	0,75	76	72,6	5,6008
22	0,76	77	73,6	5,6311
21	0,78	78	74,5	5,6588
53	0,80	79	75,5	5,6903
87	0,80	80	76,4	5,7192
69	0,80	81	77,4	5,7521
77	0,80	82	78,4	5,7858
52	0,82	83	79,3	5,8169
37	0,83	84	80,3	5,8524
86	0,84	85	81,3	5,8890
66	0,84	86	82,2	5,9230

Lampiran AR (lanjutan)

Subyek No.	Log MR	Rank	F(Xi)	Probit
41	0,90	87	83,2	5,9661
15	0,93	88	84,1	5,9986
63	0,96	89	85,1	6,0407
54	0,98	90	86,1	6,0848
75	0,98	91	87,0	6,1264
46	1,02	92	88,0	6,1750
99	1,05	93	88,9	6,2212
58	1,06	94	89,9	6,2759
71	1,09	95	90,9	6,3346
98	1,13	96	91,8	6,3917
70	1,18	97	92,8	6,4611
51	1,24	98	93,8	6,5382
11	1,26	99	94,7	6,6146
100	1,29	100	95,7	6,7169
50	1,38	101	96,6	6,8250
83	1,39	102	97,6	6,9774
92	1,44	103	98,6	7,1973
73	1,48	104	99,5	7,5758

Keterangan:

- $F(X_i) = (\text{Nomor urut rank} - 0,5) / 104 \times 100\%$
- Nilai PROBIT dilihat pada Tabel Probit (Lentner, 1982)

Lampiran AS

LOG ξ HMN DALAM URIN 8 JAM SETELAH PEMBERIAN NEFENITOLIN RASEMAT
DALAM KOMBINASI

Subyek No.	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)		Volume urin (ml)	Ekskresi HMN dalam 8 JAM			Indeks hidrok- silasi	Fenotip
	HMN	Setara dgn. MN		(mg)	(ξ)	(log ξ)		
1	52,5900	48,9981	200	9,7996	19,5992	1,2922	2,5511	EM
2	72,6718	67,8947	150	10,1842	20,3684	1,3090	2,4548	EM
3	1,1430	1,0649	377	0,4015	0,8030	-0,0953	62,2696	PM
4	50,5619	47,1085	275	12,9548	25,9097	1,4135	1,9298	EM
5	91,3796	85,1384	98	8,3436	16,6871	1,2224	2,9963	EM
6	1,4240	1,3267	158	0,2096	0,4193	-0,3775	119,2606	PM
7	108,8627	101,4274	75	7,6071	15,2141	1,1822	3,2864	EM
8	3,6930	3,4408	315	1,0638	2,1277	0,3360	23,0661	PM
9	83,8724	78,1439	115	8,9866	17,9731	1,2546	2,7819	EM
10	100,3759	93,5202	126	11,7835	23,5671	1,3723	2,1216	EM
11	41,1519	38,3412	372	14,2629	28,5259	1,4552	1,7528	EM
12	12,4926	11,6394	810	9,4279	18,8558	1,2754	2,6517	EM
13	44,6478	41,5984	270	11,2316	22,4631	1,3515	2,2259	EM
14	25,4832	23,7427	593	14,0794	28,1588	1,4496	1,7756	EM
15	50,2472	46,8153	375	17,5557	35,1115	1,5454	1,4240	EM
16	36,9060	36,2467	145	5,2561	10,5121	1,0217	4,7564	EM
17	80,1968	74,7194	245	18,3062	36,6125	1,5636	1,3657	EM
18	59,8003	55,7159	310	17,2719	34,5439	1,5384	1,4474	EM
19	156,4372	145,7525	130	18,9478	37,8957	1,5786	1,3194	EM
20	71,6479	66,7543	310	20,6938	41,3877	1,6169	1,2081	EM
21	1,1240	1,0472	220	0,2304	0,4608	-0,3365	108,5113	PM
22	24,2131	22,5593	624	14,0770	28,1541	1,4495	1,7759	EM
23	17,3623	16,1765	560	9,0588	18,1176	1,2581	2,7597	EM
24	47,1733	43,9514	145	6,3729	12,7459	1,1054	3,9228	EM
25	22,8256	21,2666	338	7,1881	14,3762	1,1576	3,4780	EM
26	43,3992	40,4350	229	9,2596	18,5192	1,2676	2,6999	EM
27	0,8050	0,7500	345	0,2588	0,5175	-0,2861	96,6160	PM
28	41,4189	38,5900	200	7,7180	15,4360	1,1885	3,2392	EM
29	57,8667	53,9144	183	9,8663	19,7327	1,2952	2,5339	EM
30	52,3430	48,7680	255	12,4358	24,8717	1,3957	2,0103	EM
31	60,4330	56,3054	215	12,1057	24,2113	1,3840	2,0651	EM
32	12,6551	11,8001	675	7,9650	15,9301	1,2022	3,1387	EM
33	1,4340	1,3361	167	0,2231	0,4462	-0,3504	112,0465	PM
34	16,9375	15,7807	407	6,4227	12,8455	1,1087	3,8924	EM
35	1,1900	1,1087	128	0,1419	0,2838	-0,5469	176,1599	PM
36	16,5074	15,3799	452	6,9517	13,9035	1,1431	3,5962	EM
37	38,0436	35,4452	507	17,9707	35,9415	1,5556	1,3912	EM
38	0,4960	0,4621	213	0,0984	0,1969	-0,7058	253,9818	PM
39	1,6740	1,5597	164	0,2558	0,5116	-0,2911	97,7383	PM
40	32,6824	30,6365	458	14,0315	28,0631	1,4481	1,7817	EM
41	38,8148	36,1637	275	9,9450	19,8901	1,2986	2,5138	EM

Lampiran AS (lanjutan)

Subyek No.	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)		Volume urin (ml)	Ekskresi HMN dalam 8 JAM			Indeks hidrok- silasi	Fenotip
	HMN	Setara dgn. MN		(mg)	($\%$)	(log $\%$)		
42	5,5303	5,1526	930	4,7919	9,5838	0,9815	5,2171	EM
43	46,4616	43,2883	209	9,0472	18,0945	1,2575	2,7633	EM
44	4,0381	3,7623	336	1,2641	2,5283	0,4028	19,7764	PM
45	8,2868	7,7208	718	5,5435	11,0871	1,0448	4,5098	EM
46	81,6383	76,0624	126	9,5839	19,1677	1,2826	2,6086	EM
47	16,6011	15,4672	546	8,4451	16,8902	1,2276	2,9603	EM
48	58,1943	54,2396	200	10,8439	21,6879	1,3362	2,3054	EM
49	146,9396	136,9036	62	8,4880	16,9760	1,2298	2,9453	EM
50	4,8443	4,5134	960	4,3329	8,6658	0,9378	5,7698	EM
51	3,4407	3,2057	1166	3,7378	7,4757	0,8737	6,6883	EM
52	61,8870	57,6601	253	14,5880	29,1760	1,4650	1,7137	EM
53	15,1419	14,1077	822	11,5965	23,1931	1,3654	2,1558	EM
54	50,9263	47,4480	406	19,2639	38,5278	1,5858	1,2978	EM
55	3,2260	3,0057	386	1,1602	2,3204	0,3656	21,5483	PM
56	6,4841	6,0412	224	1,3532	2,7065	0,4324	18,4742	PM
57	1,5480	1,4423	238	0,3433	0,6865	-0,1633	72,8310	PM
58	70,6459	65,8208	200	13,1642	26,3283	1,4204	1,8991	EM
59	39,5865	36,8827	463	17,0767	34,1534	1,5334	1,4640	EM
60	73,2029	68,2031	197	13,4360	26,8720	1,4293	1,8607	EM
61	20,4922	19,0926	646	12,3338	24,6676	1,3921	2,0269	EM
62	51,8018	48,2637	314	15,1548	30,3096	1,4816	1,6496	EM
63	125,2744	116,7182	138	16,1071	32,2142	1,5080	1,5521	EM
64	15,7315	14,6570	732	10,7290	21,4579	1,3316	2,3301	EM
65	1,5420	1,4367	364	0,5230	1,0459	0,0195	47,8055	PM
66	9,0636	8,4446	1232	10,4037	20,8074	1,3182	2,4030	EM
67	84,3833	78,6199	195	15,3309	30,6618	1,4866	1,6307	EM
68	45,8782	42,7447	318	13,5928	27,1856	1,4343	1,8392	EM
69	46,7923	43,5964	249	10,8555	21,7110	1,3367	2,3030	EM
70	0,9090	0,8469	357	0,3023	0,6047	-0,2185	82,6860	PM
71	3,7699	3,5124	820	2,8802	5,7604	0,7604	8,6800	EM
72	33,0631	30,8049	155	4,7748	9,5495	0,9800	5,2359	EM
73	9,8762	9,2035	1185	10,9062	21,8123	1,3387	2,2923	EM
74	7,3780	6,8741	690	4,7431	9,4862	0,9771	5,2708	EM
75	9,0880	8,4673	940	7,9593	15,9185	1,2019	3,1410	EM
76	4,3205	4,0254	811	3,2646	6,5292	0,8149	7,6579	EM
77	8,8246	8,2219	980	8,0574	16,1149	1,2072	3,1027	EM
78	12,6029	11,7421	530	6,2233	12,4466	1,0951	4,0171	EM
79	10,0160	9,3319	1457	13,5966	27,1932	1,4345	1,8387	EM
80	13,0814	12,1879	375	4,5705	9,1410	0,9610	5,4699	EM
81	9,1593	8,5337	525	4,4802	8,9604	0,9523	5,5801	EM
82	47,2997	44,0691	600	26,4415	52,8830	1,7233	0,9455	EM

Lampiran AS (lanjutan)

Subyek No.	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)		Volume urin (ml)	Ekskresi HNN dalam 8 JAM			Indeks hidrok- silasi	Fenotip
	HNN	Setara dgn. MN		(mg)	(%)	(log %)		
83	31,8303	29,6563	502	14,8875	29,7749	1,4739	1,6793	EM
84	37,3967	34,8425	370	12,8917	25,7835	1,4113	1,9392	EM
85	18,0409	16,8087	560	9,4129	18,8258	1,2748	2,6559	EM
86	7,2738	6,7770	750	5,0827	10,1655	1,0071	4,9186	EM
87	23,6490	22,0338	611	13,4626	26,9253	1,4302	1,8570	EM
88	60,6333	56,4920	227	12,8237	25,6474	1,4090	1,9495	EM
89	25,5797	23,8326	625	14,8954	29,7908	1,4741	1,6784	EM
90	45,5228	42,4136	329	13,9541	27,9081	1,4457	1,7916	EM
91	0,3970	0,3699	711	0,2630	0,5260	-0,2790	95,0613	PM
92	7,8084	7,2751	1170	8,5119	17,0237	1,2311	2,9371	EM
93	11,8867	11,0748	1085	12,0162	24,0324	1,3808	2,0805	EM
94	97,8850	91,1995	156	14,2271	28,4542	1,4541	1,7572	EM
95	20,4107	19,0166	720	13,6920	27,3840	1,4375	1,8259	EM
96	50,7504	47,2841	193	9,1258	18,2517	1,2613	2,7395	EM
97	35,4315	33,0115	405	13,3697	26,7393	1,4272	1,8699	EM
98	49,3473	45,9769	277	12,7356	25,4712	1,4060	1,9630	EM
99	56,2544	52,4122	228	11,9500	23,9000	1,3784	2,0921	EM
100	5,6470	5,2613	1500	7,8920	15,7839	1,1982	3,1678	EM
101	32,6268	30,3984	320	9,7275	19,4550	1,2890	2,5700	EM
102	40,6723	37,8944	331	12,5430	25,0861	1,3994	1,9931	EM
103	22,3840	20,8552	566	11,8040	23,6081	1,3731	2,1179	EM
104	6,0973	5,6809	1403	7,9702	15,9405	1,2025	3,1367	EM

Deskripsi untuk nilai log % ekskresi HNN:

	Total	EM	PM
n	104	88 (=84,61%)	16 (=15,31%)
Rata-rata	1,0834	-0,1684	1,2944
SD	0,5625	0,3149	0,2106
Maksimum	1,7233	0,4028	1,7233
Minimum	-0,7058	-0,7058	0,4324

Keterangan:

- HNN = hidroksimefenitoin, MN = mefenitoin, EM = pemetabolisme ekstensif, PM = pemetabolisme lemah, DOS = dapson, ML = metoprolol
- Pemberian MN rasemat dalam kombinasi = 50 mg MN rasemat + 100 mg DOS + 100 mg ML
- 1 mg HNN setara dengan 0,9317 mg MN
- Kriteria PM: Ekskresi HNN < 5% (log % ekskresi < 0,7)

Lampiran AT

ANALISIS PROBIT LOG % EKSKRESI HIDROKSIMENFENITOLIN
DALAM URIN 8 JAM

Subyek No.	Log % Ekskresi	Rank	F(Xi)	Probit
38	-0,7058	1	0,5	2,4242
35	-0,5469	2	1,4	2,8027
6	-0,3775	3	2,4	3,0226
33	-0,3504	4	3,4	3,1750
21	-0,3365	5	4,3	3,2851
39	-0,2911	6	5,3	3,3856
27	-0,2861	7	6,3	3,4699
91	-0,2790	8	7,2	3,5389
70	-0,2185	9	8,2	3,6083
57	-0,1633	10	9,1	3,6654
3	-0,0953	11	10,1	3,7241
65	0,0195	12	11,1	3,7788
8	0,3360	13	12,0	3,8250
55	0,3656	14	13,0	3,8756
44	0,4028	15	13,9	3,9152
56	0,4324	16	14,9	3,9593
71	0,7604	17	15,9	4,0014
76	0,8149	18	16,8	4,0379
51	0,8737	19	17,8	4,0770
50	0,9378	20	18,8	4,1147
81	0,9523	21	19,7	4,1476
80	0,9610	22	20,7	4,1813
74	0,9771	23	21,6	4,2142
72	0,9800	24	22,6	4,2476
42	0,9815	25	23,6	4,2808
86	1,0071	26	24,5	4,3097
16	1,0217	27	25,5	4,3412
45	1,0448	28	26,4	4,3689
78	1,0951	29	27,4	4,3992
24	1,1054	30	28,4	4,4290
34	1,1087	31	29,3	4,4554
36	1,1431	32	30,3	4,4842
25	1,1576	33	31,3	4,5126
7	1,1822	34	32,2	4,5379
28	1,1885	35	33,2	4,5656
100	1,1982	36	34,1	4,5903
75	1,2019	37	35,1	4,6174
32	1,2022	38	36,1	4,6442
104	1,2025	39	37,0	4,6681
77	1,2072	40	38,0	4,6945
5	1,2224	41	38,9	4,7181
47	1,2276	42	39,9	4,7441
49	1,2298	43	40,9	4,7699

Lampiran AT (lanjutan)

Subyek No.	Log % Ekskresi	Rank	F(Xi)	Probit
92	1,2311	44	41,8	4,7930
9	1,2546	45	42,8	4,8185
43	1,2575	46	43,8	4,8440
23	1,2581	47	44,7	4,8668
96	1,2613	48	45,7	4,8920
26	1,2676	49	46,6	4,9147
85	1,2748	50	47,6	4,9398
12	1,2754	51	48,6	4,9649
46	1,2826	52	49,5	4,9875
101	1,2890	53	50,5	5,0125
1	1,2922	54	51,4	5,0351
29	1,2952	55	52,4	5,0602
41	1,2986	56	53,4	5,0853
2	1,3090	57	54,3	5,1080
66	1,3182	58	55,3	5,1332
64	1,3316	59	56,3	5,1586
48	1,3362	60	57,2	5,1815
69	1,3367	61	58,2	5,2070
73	1,3387	62	59,1	5,2301
13	1,3515	63	60,1	5,2559
53	1,3654	64	61,1	5,2819
10	1,3723	65	62,0	5,3055
103	1,3731	66	63,0	5,3319
99	1,3784	67	63,9	5,3558
93	1,3808	68	64,9	5,3826
31	1,3840	69	65,9	5,4097
61	1,3921	70	66,8	5,4344
30	1,3957	71	67,8	5,4621
102	1,3994	72	68,8	5,4902
98	1,4060	73	69,7	5,5158
88	1,4090	74	70,7	5,5446
84	1,4113	75	71,6	5,5710
4	1,4135	76	72,6	5,6008
58	1,4204	77	73,6	5,6311
97	1,4272	78	74,5	5,6588
60	1,4293	79	75,5	5,6903
87	1,4302	80	76,4	5,7192
68	1,4343	81	77,4	5,7521
79	1,4345	82	78,4	5,7858
95	1,4375	83	79,3	5,8169
90	1,4457	84	80,3	5,8524
40	1,4481	85	81,3	5,8890
22	1,4495	86	82,2	5,9230

Lampiran AT (lanjutan)

Subyek No.	Log % Ekskresi	Rank	F(Xi)	Probit
14	1,4496	87	83,2	5,9661
94	1,4541	88	84,1	5,9986
11	1,4552	89	85,1	6,0407
52	1,4650	90	86,1	6,0848
83	1,4739	91	87,0	6,1264
89	1,4741	92	88,0	6,1750
62	1,4816	93	88,9	6,2212
67	1,4866	94	89,9	6,2759
63	1,5080	95	90,9	6,3346
59	1,5334	96	91,8	6,3917
18	1,5384	97	92,8	6,4611
15	1,5454	98	93,8	6,5382
37	1,5556	99	94,7	6,6146
17	1,5636	100	95,7	6,7169
19	1,5786	101	96,6	6,8250
54	1,5858	102	97,6	6,9774
20	1,6169	103	98,6	7,1973
82	1,7233	104	99,5	7,5758

Keterangan:

- $F(X_i) = (\text{Nomor urutan rank} - 0,5) / 104 \times 100\%$
- Nilai PROBIT dilihat pada Tabel Probit (Lentner, 1982)

Lampiran AU

RASIO PG/CG DALAM URIN 12 JAM PADA 14 EM DAN 10 PM OKSIDASI JENIS S-MEFENITOIN

Sub- yek No.	Fenotip hidrok- silasi MN	Kadar PG ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran			Kadar CG ($\mu\text{g/ml}$) Pengukuran				Volume urin 12 jam (ml)	Ekskresi 12 jam (mg)		Rasio PG/CG
		1	2	Rata2	1	2	Rata2	Setara dgn. PG		PG	CG	
14	EM	51,1075	54,5700	52,8388	8,0410	8,2280	8,1345	8,1998	815	43,0636	6,6828	6,44
15	EM	49,3800	48,3750	48,8775	17,4900	14,3800	15,9350	16,0629	770	37,6357	12,3684	3,04
17	EM	49,6600	44,9750	47,3175	36,3425	38,6375	37,4900	37,7908	575	27,2076	21,7297	1,25
18	EM	34,4850	31,0025	32,7438	17,7125	17,5725	17,6425	17,7841	985	32,2526	17,5173	1,84
19	EM	187,9250	189,7250	188,8250	57,8500	62,5300	60,1900	60,6730	185	34,9326	11,2245	3,11
22	EM	33,8350	38,6400	36,2375	10,0735	9,3340	9,7038	9,7816	1005	36,4187	9,8305	3,70
98	EM	62,5800	58,9100	60,7450	11,4170	12,8830	12,1500	12,2475	485	29,4613	5,9400	4,96
40	EM	164,6800	175,4900	170,0850	28,7475	22,3800	25,5638	25,7689	345	58,6793	8,8903	6,60
94	EM	166,3750	166,1500	166,2625	74,8950	70,5000	72,6975	73,2809	230	38,2404	16,8546	2,27
54	EM	44,0800	38,5250	41,3025	13,1650	12,8120	12,9885	13,0927	995	41,0960	13,0273	3,15
63	EM	54,2075	61,3825	57,7950	42,5425	38,7975	40,6700	40,9964	640	36,9888	26,2377	1,41
95	EM	53,5050	52,2250	52,8650	13,2010	12,6600	12,9305	13,0343	935	49,4288	12,1870	4,06
62	EM	67,3300	62,6000	64,9650	32,0325	38,2375	35,1350	35,4169	470	30,5336	16,6460	1,83
58	EM	91,0800	96,6000	93,8400	11,3690	10,6590	11,0140	11,1024	395	37,0668	4,3854	8,45
3	PM	49,6900	49,7100	49,7000	3,6475	4,0530	3,8503	3,8811	700	34,7900	2,7168	12,81
6	PM	51,7400	54,1800	52,9600	1,6677	1,5528	1,6103	1,6232	345	18,2712	0,5600	32,63
8	PM	139,1000	133,1700	136,1350	3,2990	3,7915	3,5453	3,5737	325	44,2439	1,1615	38,09
21	PM	144,6900	125,1800	134,9350	2,9670	3,3270	3,1470	3,1723	310	41,8299	0,9834	42,54
27	PM	45,9150	46,4150	47,1650	0,5402	0,5599	0,5501	0,5545	970	45,7501	0,5378	85,06
35	PM	165,3900	171,2100	168,3000	5,8270	5,1790	5,5030	5,5472	445	74,8935	2,4685	30,34
39	PM	76,9100	70,6600	73,7850	2,9135	2,5895	2,7515	2,7736	505	37,2614	1,4007	26,60
55	PM	32,2000	36,9750	34,5875	3,0750	3,0910	3,0830	3,1077	965	33,3769	2,9990	11,13
57	PM	21,4750	20,1625	20,8288	0,4638	0,5192	0,4915	0,4954	1105	23,0158	0,5474	42,04
70	PM	119,0200	120,1600	119,5900	3,1255	2,9890	3,0573	3,0818	285	34,0832	0,8783	38,81
Kelompok EM :											Rata2	3,72
											SD	2,10
											Maksimum	8,45
											Minimum	1,25
Kelompok PM :											Rata2	36,00
											SD	19,46
											Maksimum	85,06
											Minimum	11,13

Keterangan:

- PG = proguanil, CG = sikloguanil, EM = penmetabolisme ekstensif, PM = penmetabolisme lemah
- Rasio PG/CG = rasio ekskresi PG/CG dalam urin 12 jam
- 1 mg CG setara dengan 1,0080 mg PG

Lampiran AV

KOLMOGOROV-SMIRNOV'S GOODNESS-OF-FIT TEST UNTUK RASIO PG/CG DALAM URIN PADA:

A. KELOMPOK EM UNTUK OKSIDASI JENIS REFERITTOIN

Subyek No.	Rasio PG/CG	Frek. kum.	$F_s(x)$	z	Area	$F_t(x)$	d
17	1,25	1	0,0714	-1,18	0,3810	0,1190	0,0476
63	1,41	2	0,1429	-1,10	0,3643	0,1357	0,0072
62	1,83	3	0,2143	-0,90	0,3159	0,1841	0,0302
18	1,84	4	0,2857	-0,89	0,3133	0,1867	0,0990
94	2,27	5	0,3571	-0,69	0,2549	0,2451	0,1120
15	3,04	6	0,4286	-0,32	0,1255	0,3745	0,0541
19	3,11	7	0,5000	-0,29	0,1141	0,3859	0,1141
54	3,15	8	0,5714	-0,27	0,1064	0,3936	0,1778
22	3,70	9	0,6429	-0,01	0,0040	0,4960	0,1469
95	4,06	10	0,7143	0,16	0,0636	0,5636	0,1507
98	4,96	11	0,7857	0,59	0,2224	0,7224	0,0633
14	6,44	12	0,8571	1,30	0,3485	0,8485	0,0086
40	6,60	13	0,9286	1,37	0,4147	0,9147	0,0139
58	8,45	14	1,0000	2,25	0,4878	0,9878	0,0122
Maksimum =							0,1778

Nilai kritis d maksimum (Confidence interval 95%, 2-tail) = 0,3490 (Daniel, 1978). Nilai ini > 0,1778.

Kesimpulan: Distribusi normal

Keterangan:

- PG = proguanil, CG = sikloguanil, EM = penetabolisae ekstensif, PM = penetabolisae lemah
- Frek. kum. = frekuensi kumulatif
- $F_s(x)$ = fungsi distribusi kumulatif dari sampel
- $F_t(x)$ = fungsi distribusi kumulatif teoretis
- d = selisih $F_s(x)$ dengan $F_t(x)$

(bersambung ke halaman berikut)

Lampiran AV (lanjutan)

B. KELOMPOK PM UNTUK OKSIDASI JENIS NEFENITOIN

Subyek No.	Rasio PG/CG	Frek. kum.	Fs(x)	z	Area	Ft(x)	d
55	11,13	1	0,1000	-1,28	0,3997	0,1003	0,0003
3	12,81	2	0,2000	-1,19	0,383	0,1170	0,0830
39	26,60	3	0,3000	-0,48	0,1844	0,3156	0,0156
35	30,34	4	0,4000	-0,29	0,1141	0,3859	0,0141
6	32,63	5	0,5000	-0,17	0,0675	0,4325	0,0675
8	38,09	6	0,6000	0,11	0,0438	0,4562	0,1438
70	38,81	7	0,7000	0,14	0,0557	0,4443	0,2557
57	42,04	8	0,8000	0,31	0,1217	0,3783	0,4217
21	42,54	9	0,9000	0,34	0,1131	0,6131	0,2869
27	85,06	10	1,0000	2,52	0,4941	0,9941	0,0059

d maksimum = 0,9941

Nilai kritis d maksimum (Confidence interval 95%, 2-tail) = 0,4090 (Daniel, 1978). Nilai ini < 0,9941.

Kesimpulan: Distribusi tidak normal

Keterangan:

- PG = proguanil, CG = sikloquanil, EM = penetabolisme ekstensif, PM = penetabolisme lemah
- Frek. kum. = frekuensi kumulatif
- Fs(x) = fungsi distribusi kumulatif dari sampel
- Ft(x) = fungsi distribusi kumulatif teoretis
- d = selisih Fs(x) dengan Ft(x)

Lampiran AW

KOLMOGOROV-SMIRNOV'S GOODNESS-OF-FIT TEST UNTUK
LOG RASIO PG/CG DALAM URIN PADA KELOMPOK PM
UNTUK OKSIDASI JENIS NEFENITOLIN

Sub- yek No.	Log Rasio PG/CG	Frek. kum.	$F_s(x)$	z	Area	$F_t(x)$	d
55	1,05	1	0,1000	-1,82	0,4656	0,0344	0,0656
3	1,11	2	0,2000	-1,57	0,4418	0,0582	0,1418
39	1,42	3	0,3000	-0,27	0,1064	0,3936	0,0936
35	1,48	4	0,4000	-0,03	0,0120	0,4880	0,0880
6	1,51	5	0,5000	0,10	0,0398	0,5398	0,0398
8	1,58	6	0,6000	0,37	0,1443	0,6443	0,0443
70	1,59	7	0,7000	0,41	0,1591	0,6591	0,0409
57	1,62	8	0,8000	0,55	0,2088	0,7088	0,0912
21	1,63	9	0,9000	0,57	0,2157	0,7157	0,1843
27	1,93	10	1,0000	1,80	0,4641	0,9641	0,0359

$$d \text{ maksimum} = 0,1843$$

Nilai kritis d maksimum (Confidence interval 95%, 2-tail) = 0,4090 (Daniel, 1978). Nilai ini > 0,1843.

Kesimpulan: Distribusi normal.

Keterangan:

- PG = proguanil, CG = sikloguanil, PM = pemetabolisme lemah
- Frek. kum. = frekuensi kumulatif
- $F_s(x)$ = fungsi distribusi kumulatif dari sampel
- $F_t(x)$ = fungsi distribusi kumulatif teoretis
- d = selisih $F_s(x)$ dengan $F_t(x)$

Lampiran AX

UNPAIRED t-TEST UNTUK RASIO PG/CG DALAM URIN PADA
EM DAN PM OKSIDASI JENIS S-MEFENITOIN

EM				PM			
Sub- yek No.	Rasio PG/CG	Log rasio PG/CG	Log rasio PG/CG ²	Sub- yek No.	Rasio PG/CG	Log rasio PG/CG	Log rasio PG/CG ²
14	6,44	0,81	0,65	3	12,81	1,11	1,23
15	3,04	0,48	0,23	6	32,63	1,51	2,29
17	1,25	0,10	0,01	8	38,09	1,58	2,50
18	1,84	0,27	0,07	21	42,54	1,63	2,65
19	3,11	0,49	0,24	27	85,06	1,93	3,72
22	3,70	0,57	0,32	35	30,34	1,48	2,20
98	4,96	0,70	0,48	39	26,60	1,42	2,03
40	6,60	0,82	0,67	55	11,13	1,05	1,10
94	2,27	0,36	0,13	57	42,04	1,62	2,64
54	3,15	0,50	0,25	70	38,81	1,59	2,52
63	1,41	0,15	0,02				
95	4,06	0,61	0,37				
62	1,83	0,26	0,07				
58	8,45	0,93	0,86				
Jumlah		7,03	4,39			14,93	22,88
			n1 = 14				n2 = 10

$$t = 9,32$$

$$df = 22$$

Nilai kritis untuk t (df = 22, p = 0,0005, 1-tail) = 3,7921

Kesimpulan: kedua kelompok berbeda sangat bermakna

Keterangan:

- PG = proguanil, CG = sikloguanil, EM = pemetabolisme ekstensif, PM = pemetabolisme lemah

Lampiran AY

UJI PERBEDAAN VARIANS LOG RASIO METABOLIK ML SETELAH
PEMBERIAN ML SAJA PADA 30 SUBYEK (MLA-30) DAN
ML DALAM KOMBINASI PADA 104 SUBYEK (MLC-104)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	X ²	MLC-104	X ²
1	-0,68	0,4580	-0,44	0,1936
2	-0,28	0,0792	-0,33	0,1089
3	-0,64	0,4119	-0,42	0,1764
4	0,13	0,0164	0,19	0,0361
5	-0,35	0,1245	-0,26	0,0676
6	0,29	0,0836	0,11	0,0121
7	0,58	0,3330	0,58	0,3364
8	0,38	0,1474	0,35	0,1225
9	0,31	0,0964	0,33	0,1089
10	0,09	0,0079	-0,16	0,0256
11	1,38	1,8987	1,26	1,5876
12	0,67	0,4438	0,16	0,0256
13	0,94	0,8918	0,58	0,3364
14	0,66	0,4322	0,71	0,5041
15	0,82	0,6794	0,93	0,8649
16	0,49	0,2382	0,33	0,1089
17	0,49	0,2355	0,41	0,1681
18	0,61	0,3724	0,43	0,1849
19	0,22	0,0477	0,08	0,0064
20	0,41	0,1683	0,07	0,0049
21	0,89	0,7843	0,78	0,6084
22	1,00	1,0076	0,76	0,5776
23	0,21	0,0446	0,09	0,0081
24	0,65	0,4227	0,31	0,0961
25	-0,24	0,0568	-0,28	0,0784
26	0,44	0,1948	0,47	0,2209
27	0,76	0,5823	0,63	0,3969
28	0,83	0,6859	0,55	0,3025
29	0,92	0,8449	0,72	0,5184
30	0,70	0,4931	0,55	0,3025
31			0,51	0,2601
32			0,05	0,0025
33			0,07	0,0049
34			0,15	0,0225
35			-0,14	0,0196
36			0,37	0,1369
37			0,83	0,6889
38			0,02	0,0004
39			0,39	0,1521
40			0,55	0,3025
41			0,90	0,8100

Lampiran AY (lanjutan)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	χ^2	MIC-104	χ^2
42			0,44	0,1936
43			0,49	0,2401
44			0,52	0,2704
45			0,15	0,0225
46			1,02	1,0404
47			-0,22	0,0484
48			-0,31	0,0961
49			0,60	0,3600
50			1,38	1,9044
51			1,24	1,5376
52			0,82	0,6724
53			0,80	0,6400
54			0,98	0,9604
55			0,65	0,4225
56			-0,20	0,0400
57			0,75	0,5625
58			1,06	1,1236
59			-0,28	0,0784
60			-0,80	0,6400
61			-0,08	0,0064
62			0,58	0,3364
63			0,96	0,9216
64			0,03	0,0009
65			0,71	0,5041
66			0,84	0,7056
67			0,12	0,0144
68			-0,06	0,0036
69			0,80	0,6400
70			1,18	1,3924
71			1,09	1,1881
72			0,06	0,0064
73			1,48	2,1904
74			0,47	0,2209
75			0,98	0,9604
76			0,45	0,2025
77			0,80	0,6400
78			0,12	0,0144
79			0,30	0,0900
80			0,37	0,1369
81			0,30	0,0900
82			0,73	0,5329

Lampiran AY (lanjutan)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	X ²	MLC-104	X ²
83			1,39	1,9321
84			0,10	0,0100
85			0,29	0,0841
86			0,84	0,7056
87			0,80	0,6400
88			0,18	0,0324
89			0,16	0,0256
90			0,33	0,1089
91			0,52	0,2704
92			1,44	2,0736
93			0,45	0,2116
94			-0,24	0,0576
95			0,00	0,0000
96			0,52	0,2704
97			0,63	0,0009
98			1,13	1,2769
99			1,05	1,1025
100			1,29	1,6641
101			0,25	0,0625
102			0,43	0,1849
103			0,13	0,0169
104			0,30	0,0900
Jumlah	12,6735	12,2834	45,9300	42,9627

Varians MLA-30 = 0,2389

Varians MLC-104 = 0,2202

F = 1,0852

Nilai kritis (P = 0,05, 2-tail) = 1,7351

Kesimpulan: Varians kedua kelompok t.b.b.

Keterangan:

- ML = metoprolol, MR = rasio metabolik
- Rejimen MLA = 100 mg metoprolol saja
- Rejimen MLC = 50 mg mefenitoin rasemat + 100 mg dapson + 100 mg metoprolol

Lampiran AZ

UNPAIRED t-TEST LOG RASIO METABOLIK ML SETELAH PEMBERIAN
ML SAJA PADA 30 SUBYEK (MLA-30) DAN ML DALAM
KOMBINASI PADA 104 SUBYEK (MLC-104)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	X ²	MLC-104	X ²
1	-0,68	0,4580	-0,44	0,1936
2	-0,28	0,0792	-0,33	0,1089
3	-0,64	0,4119	-0,42	0,1764
4	0,13	0,0164	0,19	0,0361
5	-0,35	0,1245	-0,26	0,0676
6	0,29	0,0836	0,11	0,0121
7	0,58	0,3330	0,58	0,3364
8	0,38	0,1474	0,35	0,1225
9	0,31	0,0964	0,33	0,1089
10	0,09	0,0079	-0,16	0,0256
11	1,38	1,8987	1,26	1,5876
12	0,67	0,4438	0,16	0,0256
13	0,94	0,8918	0,58	0,3364
14	0,66	0,4322	0,71	0,5041
15	0,82	0,6794	0,93	0,8649
16	0,49	0,2382	0,33	0,1089
17	0,49	0,2355	0,41	0,1681
18	0,61	0,3724	0,43	0,1849
19	0,22	0,0477	0,08	0,0064
20	0,41	0,1683	0,07	0,0049
21	0,89	0,7843	0,78	0,6084
22	1,00	1,0076	0,76	0,5776
23	0,21	0,0446	0,09	0,0081
24	0,65	0,4227	0,31	0,0961
25	-0,24	0,0568	-0,28	0,0784
26	0,44	0,1948	0,47	0,2209
27	0,76	0,5823	0,63	0,3969
28	0,83	0,6859	0,55	0,3025
29	0,92	0,8449	0,72	0,5184
30	0,70	0,4931	0,55	0,3025
31			0,51	0,2601
32			0,05	0,0025
33			0,07	0,0049
34			0,15	0,0225
35			-0,14	0,0196
36			0,37	0,1369
37			0,83	0,6889
38			0,02	0,0004
39			0,39	0,1521
40			0,55	0,3025
41			0,90	0,81

Lampiran AZ (lanjutan)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	X ²	MLC-104	X ²
42			0,44	0,1936
43			0,49	0,2401
44			0,52	0,2704
45			0,15	0,0225
46			1,02	1,0404
47			-0,22	0,0484
48			-0,31	0,0961
49			0,60	0,36
50			1,38	1,9044
51			1,24	1,5376
52			0,82	0,6724
53			0,80	0,64
54			0,98	0,9604
55			0,65	0,4225
56			-0,20	0,04
57			0,75	0,5625
58			1,06	1,1236
59			-0,28	0,0784
60			-0,80	0,64
61			-0,08	0,0064
62			0,58	0,3364
63			0,96	0,9216
64			0,03	0,0009
65			0,71	0,5041
66			0,84	0,7056
67			0,12	0,0144
68			-0,06	0,0036
69			0,80	0,64
70			1,18	1,3924
71			1,09	1,1881
72			0,08	0,0064
73			1,48	2,1904
74			0,47	0,2209
75			0,98	0,9604
76			0,45	0,2025
77			0,80	0,64
78			0,12	0,0144
79			0,30	0,09
80			0,37	0,1369
81			0,30	0,09
82			0,73	0,5329

Lampiran AZ (lanjutan)

Subyek No.	LOG RASIO METABOLIK			
	MLA-30	χ^2	MIC-104	χ^2
83			1,39	1,9321
84			0,10	0,01
85			0,29	0,0841
86			0,84	0,7056
87			0,80	0,64
88			0,18	0,0324
89			0,16	0,0256
90			0,33	0,1089
91			0,52	0,2704
92			1,44	2,0736
93			0,46	0,2116
94			-0,24	0,0576
95			0,00	0
96			0,52	0,2704
97			0,03	0,0009
98			1,13	1,2769
99			1,05	1,1025
100			1,29	1,6641
101			0,25	0,0625
102			0,43	0,1849
103			0,13	0,0169
104			0,30	0,09
Jumlah	12,67	12,2834	45,93	42,9627

$$t = 0,195466$$

$$df = 132$$

Nilai kritis ($P = 0,05$, 2-tail) = 1,9781

Kesimpulan: Log MR kedua kelompok t.b.b.

Keterangan:

- Rejimen MLA = 100 mg metoprolol saja
- Rejimen MIC = 50 mg mefenitoin rasemat + 100 mg dapson + 100 mg metoprolol

Lampiran BA

UJI CHI-SQUARE KLASIFIKASI TUNGGAL FREKUENSI GENOTIP
N-ASETILASI

Genotip	Observed (fi)	Expected (Fi)	fi-Fi	(fi-Fi) ² /Fi
q ²	45	45,03	-0,03	0,00002
2pq	44	46,81	-2,81	0,16868
p ²	15	12,17	2,83	0,65809
Chi-square =				0,82679

df = 2

Nilai kritis P.95 = 5,99

Kesimpulan: Tidak ada perbedaan bermakna antara nilai yang didapat dengan nilai yang diharapkan.

RIWAYAT HIDUP

- Nama** : Rianto Setiabudy
- Lahir** : Mentok, 25 September 1948
- Pekerjaan** : Lektor (IVa) Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI), Jl. Salemba 6, Jakarta 10430.
- Isteri** : Rahajuningsih Setiabudy
- Anak-anak** : 1. Kartika Setiabudy
2. Kartono Setiabudy
- Pendidikan :**
- 1972 : Lulus dokter dari FKUI
- 1977 : Brevet Ahli Farmakologi dari FKUI
- 1981 : Latihan Farmakologi Klinik di Frankfurt
- 1982 : Latihan Farmakologi Klinik ICMR, Clinical Research Institute, Tokyo
- 1987 : Latihan Hemostasis ICMR, Kobe University, Japan
- 1990 - 1993 : Pendidikan S3 (Doktor), Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia
- Pengalaman kerja :**
- 1974 - 1977 : Asisten Bagian Farmakologi FKUI
- 1975 - sekarang : Dosen farmakologi FKUI
- 1979 - sekarang : Dosen farmakologi Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia
- 1982 - 1985 : Anggota Panitia Penilai Obat Jadi, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan R.I.

- 1984 - sekarang : Anggota Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran FKUI
- 1986 - sekarang : Anggota Panitia Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan / CME
FKUI
- 1990 : Penelitian Farmakologi Klinik, Clinical Research Institute,
Tokyo
- 1991 : Penelitian Farmakologi Klinik, Clinical Research Institute,
Tokyo
- 1992 : Penelitian Farmakologi Klinik, Clinical Research Institute,
Tokyo

Organisasi profesi

1. Ikatan Dokter Indonesia
2. Ikatan Farmakologi Indonesia
3. The Indonesian Society of Antimicrobial Therapy

Karya ilmiah

Penulis utama 59 makalah dan ikut menulis 14 makalah lain yang dikemukakan dalam berbagai majalah dan forum ilmiah.