

PENGARUH PENAMBAHAN POLIETILEN GLIKOL 400 TERHADAP ABSORPSI PIROKSİKAM SECARA *IN SITU*

THE INFLUENCE OF POLYETHYLENE GLYCOL 400 ON *IN SITU* PIROXICAM ABSORPTION

Triani Kurniawati¹, Abdul Karim Zulkarnain²

^{1,2}Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRAK

Absorpsi obat dapat terjadi dan dapat ditentukan dengan beberapa cara yaitu metode *in vitro*, metode *in situ*, dan metode *in vivo*. Absorpsi *in situ* melalui usus halus didasarkan atas penentuan jumlah hilangnya obat dari lumen usus halus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh PEG 400 sebagai surfaktan terhadap absorpsi piroksikam secara *in situ*. Uji kecepatan absorpsi piroksikam secara *in situ* oleh pengaruh penambahan PEG 400 dilakukan dengan menggunakan tiga macam larutan piroksikam dengan penambahan surfaktan PEG 400 1,0%, 1,5%, dan 2,0%. Larutan dimasukkan ke dalam lumen usus halus tikus jantan dengan berat 130-180 gram yang sudah dipuasakan (kira-kira 24 jam) dan dianestesi dengan uretan 40% b/v secara subkutan sebanyak $5 \cdot 10^{-3}$ mL/g berat badan tikus. Cairan yang melewati usus halus ditampung dengan volume tertentu dan interval waktu tertentu. Kadar obat dalam larutan ditentukan secara spektrofotometri dengan panjang gelombang maksimal 353 nm kemudian dihitung P_{app} (tetapan permeabilitas semu). Data yang didapat diuji dengan analisis variansi satu jalan dan diteruskan dengan uji t jika terdapat perbedaan yang bermakna (taraf kepercayaan 95%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa absorpsi piroksikam dengan penambahan PEG 400 secara *in situ* pada usus tikus putih jantan mengalami sedikit penurunan pada konsentrasi 1,5% kemudian meningkat pada konsentrasi 2,0%. Menurut hasil analisis variansi satu jalan, absorpsi tersebut menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara statistik.

Kata kunci : absorpsi *in situ*, PEG 400, piroksikam

ABSTRACT

Drug absorption can occur and be determined in several ways : *in vitro*, *in situ*, and *in vivo* methods. *In situ* absorption through the small intestine is based on the determination of the amount of the loss of the drug from the small intestine lumen. This study aimed to determine the effect of PEG 400 as a surfactant to the *in situ* absorption of piroxicam. Absorption rate test of piroxicam by the effect of the addition of PEG 400 was done by using three kinds of piroxicam solution with the addition of 1,0%, 1,5%, and 2,0% PEG 400. The solution was inserted into the small intestine lumen of 130-180 g male rats which were already fasted (approximately 24 hours) and anesthesia with urethane 40% w/v subcutaneously, $5 \cdot 10^{-3}$ mL/g body weight of rats. Fluid which passed through the small intestine was accommodated by a certain volume and time interval. The drug was determined by spektrofotometri with 353 nm as wavelength, then calculated P_{app} (apparent permeability constant). The data obtained were tested by one way analysis of variance. The results showed that the *in situ* absorption of piroxicam with the addition of PEG 400 in the male rats intestine slightly decreased in the concentration of 1,5% and then increased at a concentration of 2,0%. According to the results of the analysis of variance, the absorption did not different statistically.

Keywords: *in situ* absorption, PEG 400, piroxicam

PENDAHULUAN

Ketersediaan obat dalam sirkulasi sistemik ditentukan oleh proses disintegrasi produk obat, pelarut obat dalam media *aqueous*, dan absorpsi melewati membran sel menuju sirkulasi sistemik (Aiache dan Herman, 1993; Shargel & Yu, 1999).

Absorpsi suatu obat dapat didefinisikan sebagai proses perpindahan obat dari tempat pemberiannya, melewati sawar biologis ke dalam aliran darah maupun ke dalam sistem limfatik (Lacy et al., 2006). Absorpsi obat dapat terjadi dan dapat ditentukan dengan beberapa cara yaitu metode *in vitro*, metode *in situ*, dan metode *in vivo*. Absorpsi *in situ* melalui usus halus didasarkan atas penentuan kecepatan hilangnya obat dari lumen usus halus. Metode ini digunakan untuk mempelajari berbagai faktor yang berpengaruh terhadap permeabilitas dinding usus. Pengembangan lebih lanjut dapat digunakan untuk merancang obat dalam upaya mengoptimalkan kecepatan absorpsinya untuk obat-obat yang sangat sulit atau praktis tidak dapat terabsorpsi (Ganiswara, 1995).

Piroksikam merupakan serbuk kristalin tidak berwarna, tidak berbau, berasa pahit, dan dalam bentuk monohidrat berwarna kuning. Piroksikam tidak larut dalam air, asam encer, dan sikloheksana, tetapi sedikit larut dalam metanol, etanol, isopropanol, dalam dimetil formamid (1 : 10), dimetilsulfoksida (1 : 50), aseton (1 : 50), etil asetat (1 : 80), kloroform (1 : 20), dan kelarutannya dalam larutan alkali (1 : 100) (Florey, 1986).

Piroksikam dalam bentuk sediaan larutan memiliki kelebihan antara lain absorpsinya lebih cepat dan pemakaiannya lebih mudah. Piroksikam yang bersifat sukar larut dapat ditingkatkan kelarutannya dengan penambahan surfaktan. Salah satu sifat penting dari surfaktan adalah kemampuan untuk meningkatkan kelarutan bahan yang tidak larut atau sedikit larut dalam medium dispersi. Surfaktan pada konsentrasi rendah dapat menurunkan tegangan permukaan dan menaikkan laju kelarutan obat (Martin dkk., 1993; Yalkowsky, 1981; Zografi et al., 1990), sedangkan pada kadar yang lebih tinggi surfaktan akan berkumpul membentuk agregat yang disebut misel (Shargel & Yu, 1999; Connors et al., 1986). Polietilen glikol (PEG) 400 adalah termasuk surfaktan non ionik yang banyak digunakan dalam formulasi sediaan obat karena sifatnya yang stabil, mudah campur dengan komponen-komponen lain, tidak beracun, tidak iritatif, dan efektif dalam rentang pH yang lebar (Rosen, 1978).

Penelitian ini penting dilakukan untuk dapat mengetahui informasi tentang pengaruh penambahan polietilen glikol 400 dalam berbagai konsentrasi untuk meningkatkan kelarutan piroksikam terhadap absorpsinya secara *in situ*.

CARA PENELITIAN

Bahan

Bahan utama : Piroksikam (kualitas farmasi) dan Polietilen glikol 400; bahan kimia, jika tidak dinyatakan lain merupakan kualitas farmasi, yaitu : aquadest, larutan uretan 40% b/v steril, NaH_2PO_4 (*Pro Analysis*), Na_2HPO_4 (*Pro Analysis*), larutan NaOH, larutan $\text{Ba}(\text{OH})_2$, larutan ZnSO_4 , larutan NaCl 0,9 % b/v, dan sebagai hewan uji adalah tikus putih jantan galur *Sprague – Dawley* (SD) dengan berat 130-180 gram.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik digital Sartorius BP 310 P, pH meter HI 8314 merk Hanna Instrument, pengaduk magnet Thermolyne Nouval 1, dan spektrofotometer UV-Vis Genesis 10 merk Milton Roy. Selain itu digunakan juga gunting bedah, meja bedah, pinset, benang, penggaris, spuit injeksi, *infusion set*, *timer* (jam), dan kassa steril.

Jalan penelitian

Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,5

Larutan dapar fosfat pH 7,5 dibuat dengan mencampur 7,037 gram NaH_2PO_4 dengan 17,621 gram Na_2HPO_4 dalam air bebas CO_2 secukupnya, lalu ukur pH-nya dengan pH meter bersamaan dengan ditambahkan natrium hidroksida sedikit demi sedikit hingga pH 7,5. Kemudian ditambahkan air bebas CO_2 hingga 1000,0 mL.

Pembuatan Polietilen glikol 400 dengan konsentrasi 1%, 1,5%, 2%

Polietilen glikol 400 sebanyak 1 mL untuk pembuatan PEG 400 1%, 1,5 mL untuk pembuatan PEG 400 1,5% dan 2 mL untuk pembuatan PEG 400 2% dimasukkan dalam labu takar 100,0 mL kemudian ditambah larutan dapar fosfat pH 7,5 sampai tanda.

Pembuatan uretan 40% b/v

Uretan sebanyak 40 gram, dimasukkan dalam labu takar 100,0 mL ditambah aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas, kemudian saring berulang kali menggunakan kertas saring hingga benar-benar bersih. Masukkan ke dalam vlakon, tutup rapat dan sterilkan pada suhu 90°C selama ½ jam.

Pembuatan larutan stok piroksikam dengan konsentrasi 20 mg/liter

Piroksikam sebanyak 20,0 mg dimasukkan dalam labu takar 1,0 L yang berisi campuran larutan dapar fosfat pH 7,5 dan polietilen glikol 400 dan diaduk sampai larut.

Pembuatan larutan $\text{Ba}(\text{OH})_2$

$\text{Ba}(\text{OH})_2$ sebanyak 94,644 gram dicampur dengan 500 mL aquadest dan diaduk sampai larut.

Pembuatan larutan ZnSO_4

25 gram ZnSO₄ dilarutkan pada 500 mL aquadest kemudian diaduk hingga larut.

Pembuatan kurva baku

Larutan piroksikam dengan kadar 20 mg/liter dibuat seri pengenceran dengan kadar 4.10⁻³µg/mL, 6.10⁻³µg/mL, 8.10⁻³µg/mL, 10.10⁻³µg/mL, 11,9.10⁻³µg/mL, 13,9.10⁻³µg/mL, 16.10⁻³µg/mL. Masing-masing larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Sebagai blanko digunakan campuran larutan dapar fosfat pH 7,5 dan polietilen glikol 400.

Pengujian absorpsi piroksikam secara *in situ*

Tikus jantan dengan berat 130 - 180 gram dipuasakan sehari (kira-kira 24 jam), lalu dianestesi dengan uretan 40% ^{b/v} secara injeksi subkutan dengan takaran 1 mL/ 200g berat badan tikus. Setelah teranestesi (perlu waktu 45 - 60 menit), tikus tersebut dibuka rongga perutnya menurut arah *linea mediana* dengan *cutter* listrik.

Setelah dibuka, usus diukur dari lambung ke arah anal kira-kira 15 cm dengan menggunakan pertolongan benang, kemudian dengan hati-hati dibuat lubang lalu kanul dimasukkan dan ditali dengan benang. Pemasangan kanul sedemikian rupa dengan ujung mengarah ke bagian anal, kemudian dari ujung kanul tersebut usus diukur lagi dengan pertolongan benang ke arah anal sepanjang 20 cm, untuk dibuat lubang kedua, selanjutnya dipasang juga kanul kedua dengan ujung kanul mengarah ke bagian oral dari tikus. Kanul pertama dihubungkan dengan *reservoir* campuran larutan dapar fosfat pH 7,5 dan polietilen glikol 400 melalui slang dan kanul kedua dihubungkan dengan penampung melalui slang juga. Antara *reservoir* dan kanul dipasang pompa peristaltik untuk mengalirkan larutan. Kemudian pompa peristaltik dijalankan hingga kotoran yang terdapat dalam usus bersih dengan cara menampung campuran larutan dapar dan polietilen glikol 400 yang keluar dari kanul kedua selama waktu tertentu, kemudian mengukur volumenya, maka kecepatan alir melalui usus halus dapat ditentukan. Selanjutnya larutan dapar diganti dengan larutan obat yaitu larutan piroksikam dengan berbagai variasi konsentrasi polietilen glikol 400 dan aliran diteruskan. Lama pengaliran larutan bahan obat ini 90 menit, dengan pengambilan sampel pada menit ke- 5, 10, 15, 30, 45, 60, dan 90 menit. Masing-masing sampel dan blanko dipipet 1 mL dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge, lalu ditambah 2,0 mL ZnSO₄ dan 2,0 mL Ba(OH)₂. Disentrifuge selama 15 menit kemudian ditentukan kadarnya secara spektrofotometri.

Panjang usus dan diameter usus perlu dicatat. Hal ini dapat dilakukan dengan memotong usus antara kedua ujung kanul, satu sisi usus ujungnya ditali dengan benang, setelah

diisi cairan baru kemudian panjang dan diameter usus dapat ditentukan.

ANALISIS HASIL

Data yang diperoleh berupa kadar obat dalam larutan dengan berbagai konsentrasi surfaktan polietilen glikol 400 sebelum dan sesudah dialirkan, kemudian dihitung P_{app} (tetapan permeabilitas usus) dengan rumus :

$$P_{app} = \frac{-Q}{2\pi r l} \ln \frac{C_t}{C_o}$$

Keterangan :

Q = kecepatan alir larutan obat dalam mL menit⁻¹

r = jari-jari penampang lintang usus halus

l = panjang usus dalam cm

C_o = kadar larutan obat mula-mula

C_t = kadar larutan obat setelah dialirkan melalui lumen usus

Data dianalisis dengan analisis variansi satu jalan dan diteruskan dengan uji t jika terdapat perbedaan yang bermakna (taraf kepercayaan 95%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

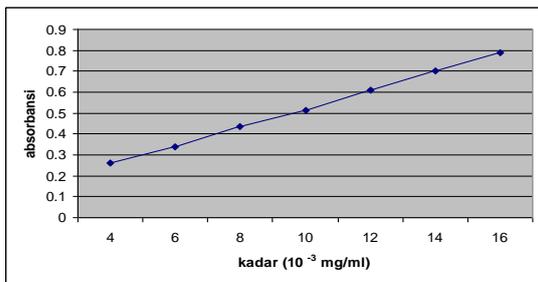
Penentuan Kurva Baku

Data serapan piroksikam untuk pembuatan kurva baku dengan penambahan PEG 400 dalam berbagai kadar pada dapar fosfat pH 7,5 dapat dilihat pada tabel I, dengan persamaan regresi linier diperoleh harga koefisien regresi (r hitung) lebih besar dari r tabel dengan derajat kepercayaan 95%, maka dapat dilihat kurva adalah linier dan persamaan garis tersebut dapat digunakan untuk penetapan kadar piroksikam selanjutnya.

Tabel I. Kadar (mg/mL) dan absorpsi piroksikam

Kadar (mg/mL)	Absorbansi	
4,0. 10 ⁻³	0,260	→ r = 0,9997 Λ = 0,0778 B = 44,3929 y = 44,3929 x + 0,0778
6,0. 10 ⁻³	0,340	
8,0. 10 ⁻³	0,435	
10,0. 10 ⁻³	0,515	
12,0. 10 ⁻³	0,611	
14,0. 10 ⁻³	0,703	
16,0. 10 ⁻³	0,788	

Hasil regresi linier dari hubungan antara kadar (mg/mL) dengan absorpsi didapat persamaan kurva baku $y = 44,3929 x + 0,0778$ yang dapat digunakan untuk penentuan kadar piroksikam. Gambar kurva baku piroksikam dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Baku Piroksikam

Pengujian Absorpsi Piroksikam dengan Penambahan PEG 400 Berbagai Konsentrasi Secara *In Situ* pada Usus

Penentuan kadar tersebut dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 353 nm.

Konsentrasi piroksikam yang tidak diabsorpsi usus dalam larutan PEG 400 dalam dapar fosfat pH 7,5 dengan konsentrasi 1,0%, 1,5%, dan 2,0% dihitung dengan menggunakan kurva baku piroksikam. Absorbansi larutan piroksikam dalam larutan dapar fosfat pH 7,5 dengan berbagai penambahan PEG 400 1,0%, 1,5%, dan 2,0% yang diambil pada waktu 5, 10, 15, 30, 45, 60, dan 90 menit dapat dilihat dalam tabel berikut ini.

Tabel II. Absorbansi Larutan Piroksikam Dengan Beberapa Konsentrasi PEG 400

Waktu (mnt)	PEG 400 1,0%			PEG 400 1,5%			PEG 400 2,0%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
5	0,192	0,225	0,225	0,294	0,280	0,210	0,466	0,204	0,188
10	0,200	0,432	0,290	0,357	0,350	0,207	0,452	0,226	0,203
15	0,184	0,237	0,263	0,273	0,243	0,227	0,421	0,190	0,213
30	0,191	0,265	0,224	0,453	0,520	0,238	0,429	0,221	0,200
45	0,190	0,236	0,223	0,472	0,302	0,252	0,485	0,223	0,188
60	0,191	0,267	0,273	0,306	0,346	0,224	0,458	0,212	0,195
90	0,563	0,255	0,281	0,393	0,450	0,256	0,440	0,222	0,219

Tabel III. Kadar Piroksikam Yang Tidak Diabsorpsi (Mg/MI) Dalam Larutan Dengan Beberapa Konsentrasi PEG 400

Waktu (menit)	PEG 400 1,0% (-10 ⁻³)			PEG 400 1,5% (-10 ⁻³)			PEG 400 2,0% (-10 ⁻³)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
5	2,570	3,316	3,316	4,870	4,555	2,978	8,745	2,843	2,482
10	2,753	7,979	4,780	6,289	6,132	2,910	8,429	3,338	2,820
15	2,392	3,586	4,172	4,397	3,721	3,361	7,731	2,527	3,046
30	2,550	4,217	3,293	8,452	9,961	3,609	7,911	3,226	2,753
45	2,527	3,564	3,271	8,880	5,050	3,924	9,173	3,293	2,482
60	2,550	4,262	4,397	5,140	6,042	3,293	8,564	3,023	2,640
90	10,930	3,992	4,577	7,100	8,384	4,014	8,159	3,203	3,181

Harga absorbansi tersebut selanjutnya dimasukkan dalam kurva baku sebagai ordinat sehingga didapatkan konsentrasi piroksikam sebagai absisnya. Hasilnya dapat dilihat dalam tabel III. Kadar piroksikam dihitung sebagai x :

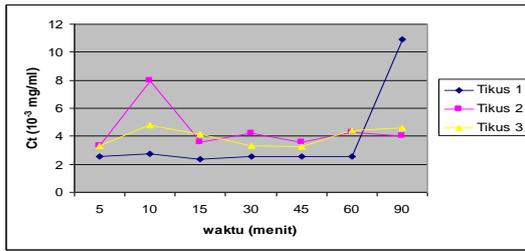
$$x = \frac{y - 0,0778}{44,3929} \rightarrow \text{steady state}$$

Tabel III terlihat bahwa makin tinggi konsentrasi PEG 400 yang ditambahkan maka rata-rata konsentrasi piroksikam yang tidak terabsorpsi semakin kecil. Ini berarti bahwa piroksikam yang diabsorpsi semakin banyak atau semakin banyak piroksikam yang larut. Hal ini karena sifat PEG 400 yang hidrofil, yaitu mudah larut dalam air, sehingga semakin banyak PEG 400 yang ditambahkan maka akan semakin banyak membawa piroksikam untuk terlarut kemudian terabsorpsi.

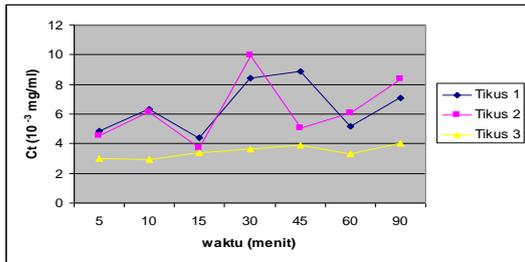
Hubungan antara waktu sampling *versus* konsentrasi larutan piroksikam dengan penambahan PEG 400 sebanyak 1,0%, 1,5%, dan 2,0% di bawah ini.

Permeabilitas (P_{ap}), dihitung yaitu tetapan permeabilitas semu sebagai parameter absorpsi obat secara *in situ*.

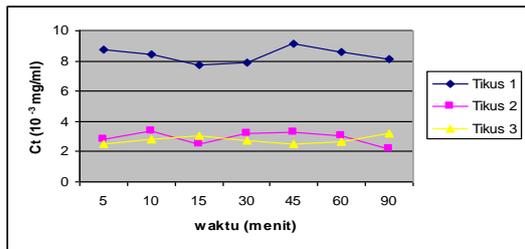
Tabel IV dapat dilihat bahwa P_{app} mengalami penurunan pada penambahan PEG 400 1,5% kemudian naik pada penambahan PEG 400 2,0%. Hasil uji Kolmogorov – Smirnov



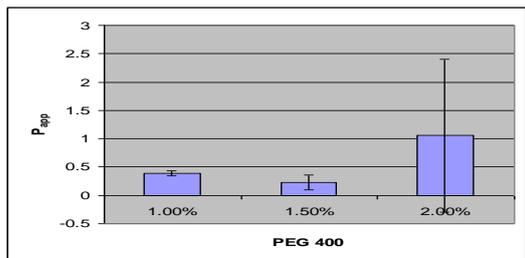
Gambar 4 Grafik Hubungan Waktu Sampling Dengan Konsentrasi Piroksikam Dalam Campuran Larutan Dapar Fosfat Ph 7,5 Dengan PEG 400 1,0%



Gambar 5 Grafik Hubungan Waktu Sampling Dengan Konsentrasi Piroksikam Dalam Campuran Larutan Dapar Fosfat Ph 7,5 Dengan PEG 400 1,5%



Gambar 6 Grafik Hubungan Waktu Sampling Dengan Konsentrasi Piroksikam Dalam Campuran Larutan Dapar Fosfat Ph 7,5 Dengan PEG 400 2,0%



Gambar 8 Histogram P_{app} Dengan Penambahan PEG 400 (%)

menunjukkan bahwa data terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji Analisa Variansi Satu Jalan (*one way* ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95 % dan hasilnya adalah terdapat

Tabel IV. P_{app} (Tetapan permeabilitas semu) (cm/menit)

Tikus	PEG 400 1,0 %	PEG 400 1,5%	PEG 400 2,0%
1	0,4413	0,1697	2,6093
2	0,3657	0,1341	0,2660
3	0,3527	0,3802	0,2885
\bar{X}	0,3866	0,2280	1,0546
SD	0,0478	0,1330	1,3465

Keterangan :

$$P_{app} = -\frac{Q}{2\pi r \cdot \ell} \ln \frac{C_\ell}{C_0}$$

ℓ = panjang usus (cm)

C_ℓ = kadar larutan obat setelah dalirkan melalui lumen

intestin sepanjang ℓ cm.

C_0 = kadar larutan obat mula-mula.

Q = kecepatan alir larutan obat (ml/menit) = 5 ml/menit.

R = jari-jari (cm)

P_{app} = tetapan permeabilitas semu

perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai signifikansi 0,442 dimana ini lebih besar dari 0,05. Karena melalui Analisa Variansi Satu Jalan sudah tidak menunjukkan hasil yang signifikan, tidak perlu dilakukan analisa dengan uji t.

Hal ini berarti penambahan PEG 400 sebanyak 1,0%, 1,5%, dan 2,0% pada larutan piroksikam tidak mempengaruhi kecepatan absorpsi piroksikam secara *in situ*. Walaupun demikian terlihat terjadi penurunan setelah penambahan PEG 400 1,5% dan kemudian meningkat pada penambahan PEG 400 2,0%. Pada penelitian lain, yaitu Pengaruh PEG 400 Sebagai Kosolven Terhadap Kelarutan Phenytoin, peningkatan secara signifikan dicapai pada konsentrasi PEG 400 30% dan 40% (% v/v) (Wasongko, 2007). Untuk memperjelas dibuat histogram hubungan antara penambahan PEG 400 dalam persen dengan P_{app} seperti terlihat dalam gambar 8.

KESIMPULAN

Penambahan PEG 400 sebanyak 1,0%, 1,5%, dan 2,0% pada larutan piroksikam dalam dapar fosfat pH 7,5 tidak memberikan pengaruh terhadap absorpsi piroksikam, yang dilihat dari uji statistik analisis variansi satu jalan. Absorpsi tertinggi yaitu pada larutan piroksikam dengan penambahan PEG 400 2,0%, kemudian diikuti dengan penambahan PEG 1,0%, dan terendah adalah dengan penambahan 1,5% yaitu berturut-turut adalah 1,0547; 0,3860, dan 0,2281.

DAFTAR PUSTAKA

Aiache, J.M. & Herman, G., 1993, *Farmasetika 2-Biofarmasi*, edisi 2, diterjemahkan oleh

- Widji Soeratri, 34,443-471, Airlangga University Press, Surabaya.
- Connors, K.A., Amidon, G.L., Stella, V.J., 1986, *Chemical Stability of Pharmaceutical*, 9-41, 61-75, 581, John Wiley and Sons Inc., New York.
- Florey, K., 1986, *Analytical Profiles of Drugs Substance*, volume 15, 511-530, Academic Press Inc, New York.
- Ganiswara, S.G., 1999, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, 381,388, UI Press, Jakarta.
- Lacy, C.F, Armstrong, L.L, Goldman, M.P., Lance, L.L., 2006, *Drug Information Handbook International*, 14th Edition, Lexi comp, Ohio.
- Martin, A., Swarbick, J., & Cammarata, A., 1993, *Physical Pharmacy*, 3rd Edition, 289-324, 339-340, 724-747, Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- Rosen, M.J., 1978, *Surfaktan and Interfacial Phenomena*, 83 – 85, 100 – 119, 125 – 130, John Willey and Sons, Inc., New York.
- Shargel, L. & Yu, A.B.C., 1999, *Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics*, 4th Edition, 99-125, Mc. Graw and Hill Companies Inc., New York.
- Yalkowsky, S.H., 1981, *Techniques of Salubilization of Drugs*, Marcel Dekker Inc., New York and Bassel.
- Zografi, G., Schott, H., & Swarbrick, J., 1990, *Diperse System*, in : Genarro (ed), Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., 257-309 Mack Publishing, Easton, Pennsylvania.