

Pengaruh Obat Terhadap Kapasitas Ikat Bilirubin-Albumin

Oleh: Achmad Surjono

Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/
Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta

ABSTRACT

Achmad Surjono — *Displacement of bilirubin from human albumin by drugs*

The displacing effect of 18 commonly used drugs on bilirubin-albumin binding were studied quantitatively. The competitive results of certain concentrations of drugs were measured by peroxidase oxidation method on standard bilirubin-albumin solution (bilirubin 0.255 mmol, albumin 0.45 mmol. bil/alb 0.56). Sulfisoxazole, the known clinically potent bilirubin-displacer was used as control.

The apparent binding constant to the high-affinity site of albumin (K_d) of mephenamate (1.4×10^5), indomethacin (1.23×10^5), diflunisal (8.4×10^4), diazepam (6.7×10^4) and furosemide (3×10^4) were stronger than sulfisoxazole (1.72×10^4). Latamoxef, aminophylline and cefalotin were slightly lower than sulfisoxazole.

The maximal displacing factors (MDF) were also determined, whereas sulfisoxazole was 2.29. Taking the MDF 1.2 as the upper limit for significant danger of displacement, mephenamate (4.02), latamoxef (1.63) and diflunisal (1.24) showed a higher risks Moderate to slight risks of displacement were recorded on indomethacin, cevalotone, cefotaxime, acetyl salicylic acid, aminophylline, phenobarbital, furosemide and ampicillin. No possible bilirubin-displacer were shown by sulindac, diazepam, doxapram, digoxin, amikacin, gentamicin and kanamycin.

Caution and substitution should be considered in giving non-steroid anti-inflammatory drugs for closure of patent ductus arteriosus and latamoxef for sepsis in premature infants because of their potential risk of bilirubin encephalopathy.

Key Words: albumin-bilirubin-binding drugs — displacing effect — kernicterus — anti-inflammatory drugs — bilirubin encephalopathy

PENGANTAR

Beberapa macam obat yang diberikan kepada bayi baru lahir dapat menggantikan ikatan bilirubin terhadap albumin, menyebabkan kenaikan kadar bilirubin bebas dan risiko terjadinya *kernicterus* menjadi lebih besar. Keadaan ini secara klinis dibuktikan pada penggunaan sulfisoksazol (*gantrisin*) dalam perawatan bayi kurang bulan (Harris *et al.*, 1958; Silverman *et al.*, 1956).

- 1) Diajukan pada Kongres Nasional Perkumpulan Perinatologi Indonesia (Perinasia) II, 27-29 Maret 1986, di Surabaya..

Stern (1972) melaporkan bahwa gentamisin mempengaruhi ikatan bilirubin-albumin dan penggantian bilirubin dari albumin terjadi secara bermakna pada konsentrasi gentamisin dalam darah antara 3—15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Cukier *et al.*, 1974). Akan tetapi penelitian lain menyatakan bahwa tidak terdapat pengaruh ganti ikatan bilirubin-albumin oleh gentamisin. Senyawa pelarut dan bahan stabilisasi kelarutan (paraben) dinyatakan mempunyai daya ganti tersebut (Brodersen, 1974; Loria *et al.*, 1976; Rasmussen *et al.*, 1976; Wennberg & Rasmussen, 1975).

Dengan ditemukannya cara pengukuran bilirubin bebas (yang tidak terikat molekul albumin), maka secara kuantitatif pengaruh bahan kimia yang diberikan pada bayi baru lahir terhadap ikatan bilirubin-albumin dapat diselidiki. Cara oksidasi-peroksidase merupakan salah satu cara penyaringan kemungkinan daya ganti obat dengan reliabilitas cukup tinggi (Brodersen & Robertson, 1983). Setiap obat yang diberikan pada bayi baru lahir harus diperiksa kemampuan daya gantinya terhadap ikatan bilirubin-albumin. Pemeriksaan dilakukan juga terhadap obat yang diberikan kepada ibu sewaktu hamil maupun menyusui (Stern, 1972).

Maksud penelitian ini untuk menentukan daya ganti berbagai obat terhadap ikatan bilirubin-albumin secara *in vitro* dan perkiraannya dalam plasma darah.

BAHAN DAN CARA

Kompetisi daya ganti ikatan bilirubin-albumin oleh suatu obat dinyatakan dalam besarnya daya ikat obat terhadap albumin secara kuantitatif (Kd). Konstan daya ikat diteliti pada 18 macam obat:

- a. anti-inflamasi non-steroid: mefenamat, indometasin, diflunisal, sulindak;
- b. antibiotika: ampicilin, gentamisin, kanamisin, amikasin, latamoxef, sefalotin, sefotaxim;
- c. lain-lain: diazepam, furosemid, asam asetil salisilat, fenobarbital, digoxin, aminofilin, doxapram.

Obat yang diteliti dalam bentuk kemasan di pasaran; bila tidak ada, dalam bentuk bubuk murni. Untuk obat yang sukar larut dalam air dipakai larutan NaOH 0,1 N. Sulfisoksazol injeksi 10% dipergunakan sebagai kontrol dalam penelitian ini.

Larutan bilirubin-albumin standar diperoleh dengan melarutkan bilirubin (Sigma) dan albumin (human, Sigma), dengan kadar bilirubin 0,255 mmol, albumin 0,45 mmol, bilirubin/albumin 0,56. Ke dalam larutan standar ditambahkan obat dengan kadar tertentu dan diperiksa kadar total bilirubin & bilirubin bebas (UB). Kadar masing-masing diperiksa empat kali untuk diambil rata-ratanya. Bilirubin total ditentukan secara spektrofotometrik dan kadar UB berdasarkan kecepatan reaksi oksidasi-peroksidase, menggunakan alat *UB-analyzer* (Nakamura & Lee, 1979; Shimabuku & Nakamura, 1982).

Berbagai kadar obat yang diperiksa mencakup kadar terapi dalam darah, diulang dalam kadar yang tinggi apabila tidak menunjukkan kenaikan UB. Setiap pemeriksaan memerlukan 25 μl larutan standar, reaksi dijalankan pada

pH larutan 7,4 dan suhu 30° C. Semua pemeriksaan dilakukan dalam ruangan redup cahaya dan tabung reaksi dilindungi dengan kertas aluminium untuk menghindari pengaruh sinar.

Bila terjadi kompetisi daya ganti antara obat dengan bilirubin terhadap albumin, akan tercatat kenaikan kadar UB pada kadar obat yang lebih tinggi. Pada kadar obat yang cukup tinggi terjadi hubungan linier:

$$b/b_0 = Kd \cdot D + 1$$

$$Kd = \frac{b/b_0 - 1}{D}$$

b/b_0 : ratio kadar UB pada pemberian obat dengan tanpa obat
 Kd : konstan daya ikat obat dengan albumin (mol^{-1})
 D : kadar obat yang diberikan (mol).

Faktor daya ganti maksimal (MDF) suatu obat adalah perhitungan kuantitatif risiko ganti bilirubin pada kadar terapi suatu obat dalam darah. Nilai MDF tergantung pada kadar obat bebas yang diperlukan dalam terapi atau kepada kadar terapi dalam darah dan fraksi obat yang terikat albumin.

$$MDF = KD(1 - q) \cdot D' + 1$$

q : fraksi obat yang terikat albumin plasma (%)
 D' : kadar terapi dalam plasma (mol).

MDF sebesar 1,2 dinyatakan sebagai batas atas terjadinya daya ganti yang bermakna, sesuai dengan penurunan kapasitas ikat cadangan albumin 17% (Brodersen *et al.*, 1983).

HASIL

GAMBAR 1 menunjukkan perubahan b/b_0 oleh kelompok obat anti-inflamasi non-steroid dibanding dengan sulfisoksazol. Konstan daya ikat (Kd) mefenamat ($1,4 \times 10^5$), indometasin ($1,23 \times 10^5$), diflunisal ($8,2 \times 10^4$) lebih tinggi dibanding dengan sulfisoksazol ($1,72 \times 10^4$), sedang sulindak lebih rendah dan menunjukkan sifat *non-displacer* ($1,05 \times 10^2$). Obat-obat ini dipergunakan pada ductus arteriosus patens, dan mefenamat, indometasin dan diflunisal dianggap mempunyai daya ganti lebih besar dibanding dengan sulfisoksazol.

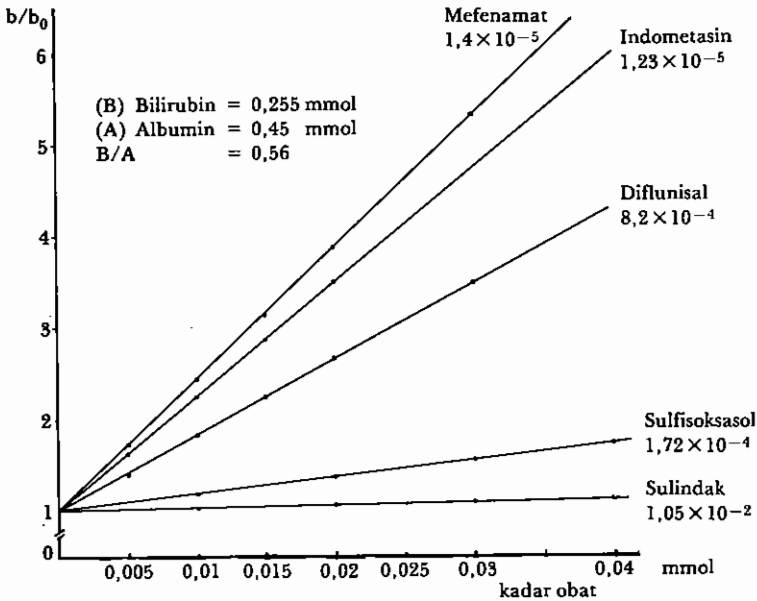
GAMBAR 2 memperlihatkan kemungkinan daya ganti beberapa obat dibanding dengan sulfisoksazol. Diazepam dan furosemid lebih kuat dibanding dengan sulfisoksazol, sedangkan latamoxef, aminofilin dan sefalotin dengan Kd lebih rendah.

Tabel menunjukkan nilai Kd 18 macam obat yang diteliti. Beberapa obat yang sering dipergunakan dalam perawatan bayi baru lahir ternyata tidak mempunyai pengaruh kompetisi (gentamisin, sefotaxim, fenobarbital, ampisilin).

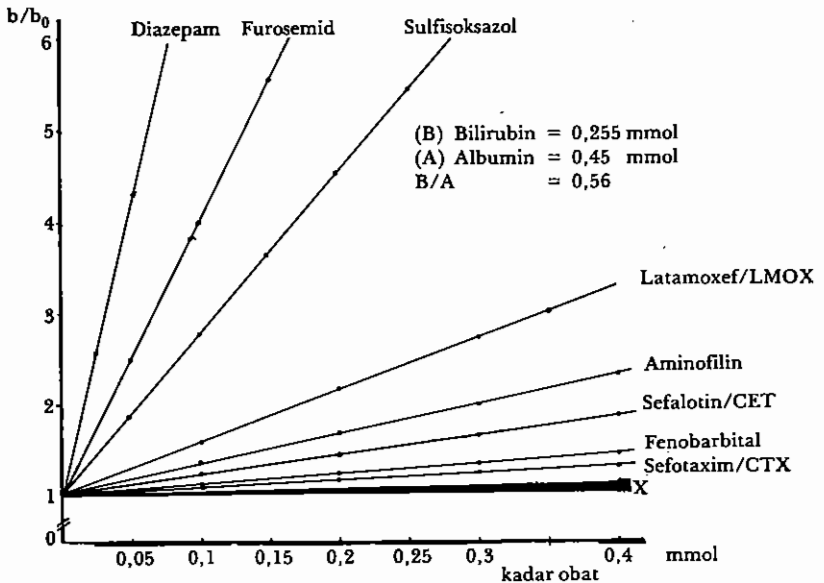
Risiko daya ganti maksimal sulfisoksazol 2,29. Pada kadar terapi di dalam darah mefenamat dan latamoxef mempunyai pengaruh kompetisi yang bermakna. Risiko daya ganti sedang dan ringan berturut-turut ditunjukkan oleh indometasin, sefalotin, sefotaxim, asam asetil salisilat, aminofilin, fenobarbital, furosemid dan ampisilin.

PEMBICARAAN DAN KESIMPULAN

Untuk mengukur perubahan ikatan bilirubin-albumin oleh pengaruh suatu obat diperlukan beberapa syarat, antara lain:



GAMBAR 1. — Efek daya ganti bilirubin oleh obat anti-inflamasi non-steroid dan sulfisoksazol. Ordinat, b/b₀ merupakan kenaikan relatif kadar bilirubin bebas pada kadar obat yang lebih tinggi, terlihat pada absis.



X: Asetil salisilat, Ampisilin, Amikasin, Doxapram, Digoxin, Kanamisin, Gentamisin

GAMBAR 2. — Efek daya ganti bilirubin oleh antibiotika dan obat lain dibanding dengan sulfisoksazol.

TABEL 1. — Konstan ikatan (Kd) dan faktor daya ganti maksimal (MDF) 18 macam obat yang sering dipergunakan pada neonatus (pH 7,4; suhu 30° C; 0,1 mol fosfat bufer)

Obat	Kd (mol ⁻¹)	Ikatan Protein (%)	Kadar dalam Plasma (mol)	M D F
Mefenamat	1,4 × 10 ⁵ a)	48	4,15 × 10 ⁻⁵	4,02 a)
Indometasin	1,23 × 10 ⁵ a)	90	0,84 × 10 ⁻⁵	1,103
Diflunisal	8,2 × 10 ⁴ a)	98,5	2 × 10 ⁻⁴	1,246 a)
Sulindak	1,05 × 10 ²	95	1,68 × 10 ⁻⁵	1,0001
Diazepam	6,7 × 10 ⁴ a)	98,7	0,1 × 10 ⁻⁵	1,00087
Furosemid	3 × 10 ⁴ a)	98,8	1,82 × 10 ⁻⁵	1,0065
Sulfisoksazol	1,72 × 10 ⁴	85	0,5 × 10 ⁻³	2,29 a)
Latamoxef	5,3 × 10 ³	50	2,37 × 10 ⁻⁴	1,628 a)
Sefalotin	2,1 × 10 ³	70	1,79 × 10 ⁻⁴	1,113
Sefotaxim	7,14 × 10 ²	36	1,5 × 10 ⁻⁴	1,068
Aminofilin	3,1 × 10 ³	56	4,38 × 10 ⁻⁵	1,059
Fenobarbital	7,18 × 10 ²	50	1 × 10 ⁻⁴	1,036
Asetilsalisilat	3,2 × 10 ²	84	5 × 10 ⁻⁴	1,08
Digoxin	1,1 × 10 ²	25	1,5 × 10 ⁻⁹	1
Doxapram	—	50	2,31 × 10 ⁻⁵	1
Ampisilin	1,4 × 10 ²	18	1,34 × 10 ⁻⁴	1,015
Amikasin	1,3 × 10 ²	4	0,1 × 10 ⁻⁴	1
Gentamisin	—	0	0,6 × 10 ⁻⁴	1
Kanamisin	—	0	0,5 × 10 ⁻⁴	1

a) mempunyai daya ganti bermakna

- pengenceran pada waktu titrasi dihindari
- pemeriksaan larutan/plasma pada suhu 30° C dan pH 7,4
- penambahan reagen pengukur seminimal mungkin untuk menghindari perubahan keseimbangan bilirubin bebas dengan bilirubin-albumin kompleks
- secara ideal pemeriksaan keseimbangan ikatan bilirubin diperiksa langsung, tanpa menggunakan bahan dengan sifat serupa bilirubin atau penambahan bilirubin sendiri
- teknik pemeriksaan mudah, tanpa memerlukan ketrampilan khusus.

Sampai saat ini belum ada suatu cara pemeriksaan yang memenuhi semua kriteria di atas. Cara oksidasi-peroksidase (dengan pengenceran $1/40$ atau tidak) dipandang paling memenuhi syarat untuk penyaringan pengaruh obat *in vitro* (Brodersen & Robertson, 1983). Hasil pemeriksaan cara ini tidak menunjukkan perbedaan dengan cara lain yang lebih rumit dan memerlukan volume sampel yang lebih besar. Demikian pula tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan dengan menggunakan model larutan bilirubin-albumin dibanding dengan pada sera.

Honore *et al.* (1983) mendapat konstan daya ikat indometasin $2,5 \times 10^5$. Meskipun indometasin mempunyai potensi kompetisi ikatan bilirubin-albumin, secara klinis perlu penelitian lebih lanjut. Pemberian secara intravena 0,3 mg/kg berat badan memberikan kadar dalam darah $3,77 \pm 0,64 \mu\text{m}$. Sejumlah 2% albumin dipergunakan mengikatnya dan tidak menunjukkan daya ganti yang bermakna. Hal serupa ditunjukkan oleh obat anti-inflamasi yang lain, diflunisal (Honore & Brodersen, 1984). Hasil ini tidak berbeda dengan penelitian ini dan mefenamat mempunyai daya kompetisi kuat, sedangkan sulindak bersifat *non-displacer*.

Untuk golongan antibiotika, latamoxef mempunyai daya ganti yang bermakna. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Stutman *et al.* (1985), sedang derivat sefalosporin yang lain (sefotaxim, sefalotin) menunjukkan daya ganti sedang, demikian pula ampisilin. Gentamisin, dengan berbagai pendapat yang saling berbeda sebelumnya, ditemukan bersifat *non-displacer*.

Shankara & Poland (1977) menyimpulkan bahwa furosemid mempunyai daya ganti kuat dan harus dipertimbangkan dalam pemberian pada bayi baru lahir dengan ikterus. Akan tetapi Cashore *et al.* (1983) menyatakan bahwa dosis furosemid tidak cukup tinggi untuk menurunkan kapasitas ikat cadangan albumin secara bermakna. Penelitian ini menunjukkan bahwa furosemid termasuk golongan potensi daya ganti sedang. Aminofilin dan doxapram yang dipergunakan pada pengobatan apnea pada bayi kurang bulan tidak mempunyai pengaruh terhadap ikatan bilirubin-albumin.

Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa mefenamat, indometasin dan diflunisal mempunyai potensi kompetisi, dan perlu penelitian secara klinis, terutama dalam penggunaan mefenamat, sedang anti-prostaglandin lain, sulindak, dinyatakan aman.

Latamoxef mempunyai daya ganti kuat, sehingga diperlukan pertimbangan dalam penggunaannya pada bayi sepsis dengan ikterus, atau dipikir-mengantinya dengan obat lain.

Obat dengan potensi daya ganti kuat hasil penyaringan *in vitro* perlu diteliti secara *in vitro*, sebab dalam plasma terdapat bahan-bahan kompetisi lain (misalnya asam lemak bebas) dan terjadi keseimbangan dinamis ikatan bilirubin-albumin antara darah dan jaringan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. S. Iwai, Director of ICMR; Prof. T. Matsuo dan Dr. H. Nakamura, Department of Pediatrics, Kobe University School of Medicine, Kobe, atas bantuan mereka dalam penelitian ini

KEPUSTAKAAN

- Brodersen, R. 1974 Competitive binding of bilirubin and drugs to human serum albumin studied by enzymatic oxidation. *J. Clin. Invest.* 54:1353-64.
- _____, Fris-Hansen, B., & Stern, L. 1983 Drug-induced displacement of bilirubin from albumin in the newborn. *Dev. Pharmacol. Ther.* 6:217-29.
- _____, & Robertson, A. 1983 Chemistry of bilirubin and its interaction with albumin, dalam M. J. Maisels (ed.): *Hyperbilirubinemia in the Newborn*, pp. 91-100. Report of 85th Ross Conference. Ross Lab., Columbus, Ohio.
- Cashore, W. J., Oh, W., & Brodersen, R. 1983 Bilirubin displacing effect of furosemide and sulfisoxazole. *Dev. Pharmacol. Ther.* 6:230-8.
- Cukier, J. O., Seungdamrong, S., Odell, J. L., & Odell, G. B. 1974 The displacement of albumin-bound bilirubin by gentamicin. *Pediat. Res.* 8:339.
- Harris, R. C., Lucey, J. F., & Mclean, J. R. 1958 Kernicterus in premature infants associated with low concentrations of bilirubin in the plasma. *Pediatrics* 21:875-84.
- Honore, B., & Brodersen, R. 1984 Albumin-binding of anti-inflammatory drugs. *Mol. Pharmacol.* 25:137-50.

- Honore, B., Brodersen, R., & Robertson, A. 1983 Interaction of indomethacin with adult human albumin and neonatal serum. *Dev. Pharmacol. Ther.* 6:347-55.
- Loria, C. J., Eccheveria, P., & Smith, L. A. 1976 Effect of antibiotic formulations in serum protein bilirubin interaction of newborn infants. *J. Pediat.* 89:479-82.
- Nakamura, H., & Lee, Y. 1977 Microdetermination of unbound bilirubin in icteric sera. *Clin. Chim. Acta* 79:411-7.
- Rasmussen, L. F., Ahlfors, C. E., & Wennberg, R. P. 1976 The effect of paraben preservatives on albumin binding of bilirubin. *J. Pediat.* 89:475-8.
- Shankara, S., & Poland, R. L. 1977 The displacement of bilirubin from albumin by furosemide. *J. Pediat.* 90:642-6.
- _____, Brodersen, R., & Robertson, A. 1983 Interaction of indomethacin with adult human albumin and neonatal serum. *Dev. Pharmacol. Ther.* 6:347-55.
- Loria, C. J., Eccheveria, P., & Smith, L. A. 1976 Effect of antibiotic formulations in serum protein bilirubin interaction of newborn infants. *J. Pediat.* 89:479-82.
- Nakamura, H., & Lee, Y. 1977 Microdetermination of unbound bilirubin in icteric sera. *Clin. Chim. Acta* 79:411-7.
- Rasmussen, L. F., Ahlfors, C. E., & Wennberg, R. P. 1976 The effect of paraben preservatives on albumin binding of bilirubin. *J. Pediat.* 89:475-8.
- Shankara, S., & Poland, R. L. 1977 The displacement of bilirubin from albumin by furosemide. *J. Pediat.* 90:642-6.
- Shimabuku, R., & Nakamura, H. 1982 Total and unbound bilirubin determination using an automated peroxidase micromethod. *Kobe J. Med. Sci.* 28:91-104.
- Silverman, W. A., Andersen, D. H., Blanc, W. A., & Crozier, D. N. 1956 A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimens. *Pediatrics* 18:614-25.
- Stern, L. 1972 Drugs interactions. *Pediatrics* 49:916-8.
- Stutman, H. R., Parker, K. M., & Marks, M. I. 1985 Potential of moxalactam for bilirubin-albumin displacement in neonates. *Pediatrics* 75:294-8.
- Wennberg, R. P., & Rasmussen, L. F. 1975 Effects of gentamicin on albumin binding of bilirubin. *J. Pediat.* 86:611-3.
-