

## STUDI FENOTIP ASETILATOR SULFAMETOKSAZOL PADA ANJING

Ida Tjahajati<sup>1</sup>

### Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari fenotip asetilator sulfametoksazol pada anjing ras campuran. Penelitian menggunakan anjing sehat sebanyak 20 ekor, umur kurang lebih 1 tahun, jenis kelamin betina, ras campuran, dan berat badan 6-8 kg. Anjing diinjeksi intravena bolus sulfametoksazol melalui vena jugularis kiri, dengan dosis 200 mg. Satu mililiter sampel darah diambil melalui vena jugularis kanan pada menit ke-0, 5, 15, 30, dilanjutkan pada jam ke-2, 6, 12 dan 24. Kadar sulfametoksazol dan asetil sulfametoksazol diukur secara fotometrik dengan metode Bratton-Marshall. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 90% anjing yang diteliti dapat mengasetilasi sulfametoksazol dan 10% lainnya tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol. Sehingga dapat disimpulkan, pada anjing ras campuran, terdapat dua fenotip anjing yaitu yang dapat dan yang tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol.

Kata kunci : fenotip asetilator, sulfametokzasol, metode Bratton-Marshall

## ACETYLATOR PHENOTYPING STUDIES OF SULFAMETOKSAZOLE IN DOG

### Abstract

Acetylator phenotyping studies of sulfametoksazole have been studied in 20 clinically healthy female dogs, one year of age, female, mixed breed, and 6-8 kg in body weight. Two hundreds mg sulfametoksazole was injected intravenously through the left jugular vein, to each of the dog. Blood samples were collected contralaterally at 0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 6, 12, and 24 hours post injection, respectively. Plasma sulfametoksazole and acetyl sulfametoksazole levels were determined using the Bratton-Marshall method. The result of the study showed that 90% of the dogs used in the study can form acetyl sulfametoksazole and 10 % of the remaining dogs can not form acetyl sulfametoksazole. Based on the result can be concluded that there are two different acetylator phenotypes in mixed breed dogs, one that able to acetylate sulfametoksazole and the other that not able to acetylate the sulfametoksazole.

Key words : acetylator phenotyping, sulfametokzasol, Bratton-Marshall method

## Pendahuluan

Obat yang mengandung gugus amin aromatik termasuk golongan sulfonamid akan dimetabolisme dengan cara asetilasi (Gibaldi, 1984; Gibson & Skett, 1991; Timbrell, 1987). Asetilasi terjadi di dalam hepar, limpa, paru-paru dan traktus gastrointestinal. (Ritschel, 1986; Yoxall & Hirt, 1979). Menurut Ritschel (1986), tidak semua spesies hewan dapat melakukan metabolisme asetilasi, diantaranya adalah anjing (Yoxall, 1979). Selanjutnya dikatakan oleh Baggot (1977) asetilasi merupakan metabolisme utama pada sejumlah spesies hewan, termasuk manusia, tetapi tidak pada anjing.

Eliminasi sulfametoksazol dari dalam tubuh yaitu dalam bentuk utuh dan bentuk asetilasi yang akan keluar dari dalam tubuh bersama urin. Proses asetilasi dikatalisis oleh enzim mikrosomal hepar (N-asetil-transferase). Asetil sulfonamid mendapat perhatian khusus karena mempunyai sifat kurang polar dan kurang larut dalam air dibanding dengan obat induknya (Gibson & Skett, 1991, Shargel & Yu, 1993). Sebagai akibatnya akan memperpanjang waktu eliminasi obat dan akan memudahkan terbentuk presipitat dalam tubulus ginjal, menyebabkan kerusakan ginjal dan kristaluria (Gibaldi, 1984; Gibson & Skett, 1991). Dengan adanya sifat ini, pemberian obat golongan sulfonamid pada spesies hewan yang dapat melakukan metabolisme asetilasi harus diperhatikan.

Pada penelitian pendahuluan (Tjahajati, 1997) diperoleh hasil bahwa 4 dari 10 anjing ras campuran yang diteliti dapat melakukan asetilasi. Hal ini menggambarkan bahwa pada anjing ras campuran terdapat perbedaan fenotip, yaitu anjing yang dapat mengasetilasi dan anjing yang tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol. Hasil ini menarik untuk diteliti lebih lanjut, guna memberikan gambaran yang lebih valid mengenai adanya fenotip yang berbeda pada anjing ras campuran, dengan menggunakan jumlah hewan percobaan yang lebih banyak.

Adanya perbedaan fenotip dalam metabolisme obat, merupakan hal yang sangat mungkin terjadi, seperti dikatakan oleh Gibson & Skett (1991). Mereka menjelaskan bahwa banyak faktor yang mempengaruhi laju dan jalur metabolisme obat di dalam tubuh, tetapi secara garis besar dibedakan menjadi 2 faktor utama yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi spesies, genetik (galur), seks, umur, hormon, kehamilan, penyakit, sedangkan faktor eksternal meliputi diet dan lingkungan.

Diharapkan penelitian ini akan dapat memberikan gambaran mengenai fenotip asetilator sulfametoksazol pada anjing ras campuran. Hasil ini akan sangat berguna, sebagai dasar pertimbangan penggunaan obat tersebut khususnya pada spesies anjing ras campuran. Di samping itu, hasil penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan sumbangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmakokinetik veteriner dan dapat bermanfaat untuk pengembangan obat hewan pada umumnya.

## Materi dan Metode

Penelitian menggunakan dua puluh ekor anjing sehat, dewasa, dengan umur kurang lebih 1 tahun, ras campuran, berat badan 6-8 kg. Keadaan sehat anjing didasarkan atas hasil pemeriksaan klinis dan laboratorik meliputi pemeriksaan fisik, frekuensi nafas, pulsus, suhu tubuh, pemeriksaan rutin darah dan urin, fungsi hati dan fungsi ginjal. Anjing yang tidak memenuhi kriteria sehat tidak diikutkan dalam penelitian.

Dalam penelitian ini digunakan berbagai pereaksi untuk penetapan kadar sulfametoksazol dan asetil sulfametoksazol, yaitu menggunakan metode Bratton dan Marshall (Bratton dkk., 1939). Pereaksi tersebut meliputi: larutan asam trikloroasetat 15%, larutan natrium nitrit 0,1%, larutan amonium sulfamat 0,5%, larutan N-(1-naftil) etilendiamin 0,1%, dan asam klorida 4N. Bahan lain yang dipakai adalah serbuk sulfametoksazol. Semua bahan pereaksi diperoleh dari produk Merck & Co kecuali serbuk sulfametoksazol diperoleh dari PT Kimia Farma Bandung.

Alat yang digunakan meliputi pemusing jenis H-100 BC, almari es pendingin, tabung reaksi 5 ml, tabung penyimpan cuplikan, kanul kupu-kupu (Nipro 19R), alat suntik disposabel, berbagai alat gelas, pipet mikro, penggojok verteks, neraca analitik (Chyo), spektrofotometer Spectronic R 21 digital (Bausch & Lomb, USA), program Stripe dan komputer PC-AT.

Prosedur pelaksanaan penelitian adalah sebagai berikut. Minimal 2 minggu sebelum penelitian, anjing tidak boleh mendapatkan pengobatan apapun. Semalam sebelum penelitian anjing dipuaskan kurang lebih 8 jam. Kemudian anjing diinjeksi intravena bolus sulfametoksazol dengan dosis 200 mg. Selama penelitian anjing diberi minum secara *ad libitum* dan diberi pakan seperti biasanya. Sampel darah diambil sebanyak 1 ml pada menit ke-0, 5, 15, 30, kemudian dilanjutkan pada jam ke-2, 6, 12,



dan 24 terhitung dari waktu setelah pemberian intravena bolus sediaan sulfametoksazol. Setiap sampel darah ditampung pada tabung reaksi yang telah dibubuhi *ethylen diamine tetra acetic acid* (EDTA) dan dipusingkan dengan alat pemusing dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil plasmanya, dan disimpan dalam almari pendingin sampai dianalisis. Kadar sulfametoksazol dan asetil sulfametoksazol diukur secara fotometrik dengan metode Bratton-Marshall.

189,87 µg/ml, 162,83 µg/ml, 113,10 µg/ml, 58,18 µg/ml, dan 37,18 µg/ml.

Dikatakan oleh Gibson & Skett (1991) asetilasi terjadi terutama di dalam hepar, yaitu dalam sel-sel Kupffer dan bukan dalam tempat yang lebih umum dari hepatosit. Pada spesies anjing, metabolit yang terbentuk dari golongan sulfonamid adalah bentuk N-4 asetil sulfonamid. Berarti metabolit sulfametoksazol yang terbentuk dalam penelitian ini adalah N-4 asetil sulfametoksazol.

Tabel kadar asetil sulfametoksazol rata-rata dalam plasma (µg/ml) dari 20 ekor anjing sehat

Waktu sampling (Setelah injeksi intravena sulfametoksazol)	Rata-rata kadar asetil sulfametoksazol plasma
Sebelum injeksi (0 menit)	0
5 menit	192,89 (µg/ml)
15 menit	193,44 (µg/ml)
30 menit	189,87 (µg/ml)
2 jam	162,83 (µg/ml)
6 jam	113,90 (µg/ml)
12 jam	58,183 (µg/ml)
24 jam	37,18 (µg/ml)

Kadar asetil sulfametoksazol plasma diperoleh dari pengurangan kadar sulfametoksazol total dan sulfametoksazol bebas.

Pada penelitian ini, pengukuran kadar asetil sulfametoksazol dilakukan dengan jarak waktu seperti yang dilakukan untuk uji farmakokinetik. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui profil kadar asetil sulfametoksazol di dalam darah, yang diharapkan akan dapat memberikan gambaran proses asetilasi yang terjadi di dalam tubuh anjing.

#### Hasil dan Pembahasan

Dari tabel hasil penghitungan rata-rata kadar asetil sulfametoksazol plasma dari 20 ekor anjing, menunjukkan bahwa pada pengambilan 5 menit setelah injeksi sulfametoksazol diperoleh kadar rata-rata sebesar 192,89 µg/ml. Kemudian meningkat kadarnya pada pengambilan 15 menit setelah injeksi, yaitu 193,44 µg/ml. Untuk pengambilan berikutnya yaitu setengah jam kemudian, jam ke-2, 6, 12 dan 24 setelah injeksi sulfametoksazol, kadarnya terus menurun dari

Selanjutnya Gibson & Skett (1991) dan Shargel & Yu (1993), menyatakan bahwa metabolit asetil dari golongan sulfonamid mempunyai sifat kurang polar dan kurang larut dalam air dibanding dengan obat utuhnya, sehingga memudahkan terbentuknya presipitat di dalam tubuli ginjal, menyebabkan kerusakan ginjal dan terjadinya kristaluria (Gibaldi, 1984; Gibson & Skett 1991; Mariana, 1987).



Berdasar hasil penghitungan pada tabel rata-rata kadar asetil sulfametoksazol dalam plasma, terlihat bahwa kadar asetil sulfametoksazol dapat terdeteksi 5 menit setelah injeksi sulfametoksazol yaitu 192,89 µg/ml. Kadar puncak asetil sulfametoksazol dicapai pada 15 menit setelah injeksi sulfametoksazol yaitu 193,44 µg/ml.

Setelah mencapai kadar puncak, kadar asetil sulfametoksazol terus menurun. Hasil tersebut memberikan gambaran bahwa proses asetilasi langsung terjadi di dalam hepar begitu sulfametoksazol masuk dalam sirkulasi dan sampai di dalam hepar. Kadar asetilasi sulfametoksazol mencapai puncak pada 15 menit setelah injeksi sulfametoksazol, kemudian kadarnya terus menurun sejalan dengan proses eliminasi yang terjadi di dalam tubuh yaitu keluar bersama urin.

Berdasarkan kriteria dapat dan tidaknya anjing mengasetilasi sulfametoksazol, dari 20 ekor anjing yang diteliti terdapat 2 anjing tidak dapat membentuk asetil sulfametoksazol. Anjing yang dapat membentuk asetil sulfametoksazol dikategorikan dalam kriteria "fenotip dapat mengasetilasi sulfametoksazol", sedangkan anjing yang tidak dapat membentuk asetil sulfametoksazol dikategorikan dalam kriteria "fenotip tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol".

Dari hasil tersebut di atas, terlihat bahwa dari 20 anjing yang diteliti, 2 ekor ternyata tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol dan 18 ekor dapat mengasetilasi sulfametoksazol. Dengan kata lain 10% dari anjing yang diteliti tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol dan

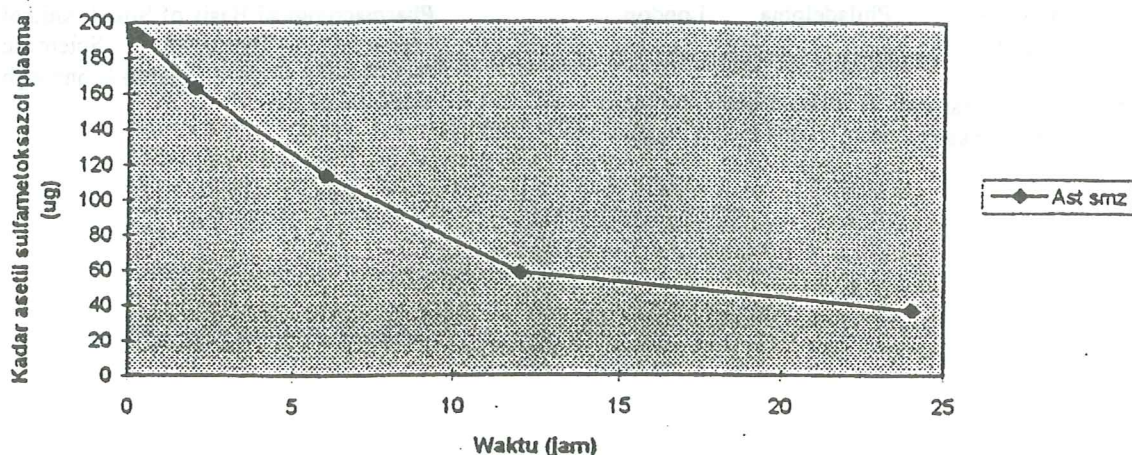
90% lainnya dapat mengasetilasi sulfametoksazol.

Hasil tersebut mendukung hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan bahwa pada anjing ras campuran terdapat dua fenotip asetilator. Terdapatnya fenotip asetilator yang berbeda pada anjing yang diteliti, diduga karena adanya faktor internal dari anjing tersebut yang tidak tampak dari luar, yaitu faktor genetik. Pada manusia, terdapat dua fenotip asetilator yang berbeda yaitu asetilator cepat dan asetilator lambat, yang dipengaruhi oleh faktor genetik (Ritschel, 1986).

Dikatakan oleh Gibson & Skett (1991) bahwa banyak faktor yang mempengaruhi laju dan jalur metabolisme obat di dalam tubuh, dibedakan menjadi dua faktor utama yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi spesies, genetik (galur), seks, umur, hormon, kehamilan dan penyakit, sedangkan faktor eksternal meliputi diet dan lingkungan. Dari sini dapat dijelaskan bahwa walaupun satu spesies ada kemungkinan terdapat cara metabolisme obat yang berbeda. Hal ini terbukti pada penelitian yang dilakukan, walaupun satu spesies anjing, tetapi terdapat dua fenotip yang berbeda.

Berdasar pada hasil penelitian di atas, maka arti praktis yang dapat diterapkan dalam pengobatan adalah bahwa kita harus waspada dalam pemberian obat-obat golongan sulfa khususnya sulfametoksazol pada anjing ras campuran. Mengingat mayoritas anjing tersebut dapat mengasetilasi sulfametoksazol, yang berarti penggunaan obat tersebut akan mempunyai risiko tinggi terjadinya kerusakan ginjal dan kristaluria.

Gamba 1. Kadar asetil sulfametoksazol plasma vs waktu





## Kimpulan dan Saran

### a. Kesimpulan

Berdasar hasil penelitian dan pembahasan tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa 90% anjing yang diteliti dapat mengasetilasi sulfametoksazol dan 10% lainnya tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol. Dengan kata lain, pada anjing ras campuran terdapat dua fenotip yang berbeda yaitu anjing yang dapat mengasetilasi dan anjing yang tidak dapat mengasetilasi sulfametoksazol.

### b. Saran

Untuk memperkuat dugaan bahwa faktor genetik mempunyai peranan dalam manifestasi fenotip asetilator pada spesies anjing, perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan telaah secara genetik.

### Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan dana penelitian melalui Anggaran Rutin M.A. 5250, sehingga penelitian dapat terlaksana dan selesai tepat pada waktunya. Terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga penulis sampaikan kepada yang terhormat Prof. Subronto Prodjoharjono, Msc., PhD., selaku pembimbing, drh. Hastari Wuryastuti, Msc., PhD., yang telah banyak memberikan masukan dalam penulisan makalah ini, serta semua pihak yang telah membantu lancarnya penelitian ini.

### Daftar Pustaka

Baggot, J. D. (1977). Principles of Drug Disposition in Domestic Animals: The Basis of Veterinary Clinical Pharmacology. W.B. Saunders Company, Philadelphia London Toronto.

Bratton, A.C., Marshall Jr, E.K., Babbit, D., & Hendrickson, A.R., (1939). A new

coupling component for sulfanilamide determination. J. Biol. Chem. 128:537-50.

Gibaldi, M. (1984). Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. Ed. 2. Lea and Febiger, Philadelphia.

Gibson, G.G. dan Skett P. (1991). Pengantar Metabolisme Obat. Universitas Indonesia, Indonesia : 120.

Mariana, Y., (1987). Sulfonamid dan Trimetoprim-sulfametoksazol. Dalam : Farmakologi dan Terapi. Editor Sulistia G, Setiabudy, R., Sjamsudin, U., Bustami, Z.S. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta : 527-38.

Ritschel, W.A. (1986). Handbook of Basic Pharmacokinetics. Ed. 3. Drug Intelligence Publication Inc., Hamilton : 142-62.

Shargel, L. dan Yu, A. B. C., (1993). Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Ed. 3. Appleton and Lange, United States of America : 307-11.

Timbrell, J. A. (1987). Principles of Biochemical Toxicology. Taylor & Francis LTD, London : 78-9.

Tjahajati S, I. (1997). Farmakokinetik dan Asetilasi Sulfametoksazol pada Anjing. Dana Penunjang Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Tahun Anggaran 1996/1997.

Yoxall, A. T. dan Hirt, J. F. R., (1979). Pharmacological Basis of Small Animal Medicine. Blackwell Scientific Publications, Oxford London Edinburgh Melbourne.