

Kecepatan Asetilasi Isoniazid Pada Masyarakat Kediri

Mulyadi

Abstrak. Metabolisme utama INH melalui jalur asetilasi dengan perantara N-asetil transferase, kecepatan asetilasi dipengaruhi oleh ras dan genetik, dan dapat dibagi dalam asetilasi cepat atau asetilasi lambat. Selain itu asetilasi merupakan salah satu jalan biotransformasi metabolit yang dihasilkan oleh berbagai arilamin karsinogen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui fenotip asetilasi pada masyarakat Kediri Jawa Timur, dengan mengukur kadar INH dalam serum sesudah konsumsi secara oral. Penelitian ini merupakan suatu classical epidemiologi dilakukan pada 30 orang. Variabel penelitian adalah asetilasi cepat dan asetilasi lambat. Didapatkan mayoritas masyarakat Kediri memiliki asetilasi cepat yaitu sebesar 53,33 %, dan asetilasi lambat sebesar 47,63 %.(*JKS 2007; 1: 9-14*)

Kata kunci : fenotip asetilasi, INH

Abstract. Acetylation phenotype can be determined by measuring isoniazid acetylation rate which can be categorized into fast and slow acetylators. The objective of this study is to identify the acetylation phenotype in Kediri population Jawa Timur with measured INH level in serum after oral consumption. Study methodology was classical epidemiology, undertaken in 30 subject. The variables of this study were fast and slow acetylator. In all in subject majority of Kediri community : fast acetylation phenotype was found 53,33 % and slow acetylation phenotype was 47,63 %. (*JKS 2007; 1:9-14*)

Keywords : *acetylation phenotype, isoniazid*

Pendahuluan

Metabolisme utama Isoniazid (INH) melalui asetilasi dengan perantara N-asetil transferase. N-asetiltransferase merupakan suatu enzim sitosolik dan berada dalam jaringan mamalia, tidak didapatkan dalam plasma, lemak, maupun otot rangka, secara heriditer N-asetiltransferase didapatkan dalam hati dan mukosa usus halus.¹¹

Menurut Radke dan Weber (1985) terdapat perbedaan kecepatan asetilasi, dimana cepat atau lambat tergantung pada aktivitas N-asetiltransferase. INH diabsorpsi secara baik melalui oral maupun parenteral, absorpsi oral terutama melalui usus halus,

kadar puncak dalam plasma dicapai setelah 1-2 jam. Eliminasi utama INH terutama melalui metabolisme di hati, dalam jumlah kecil diekskresi dalam bentuk tidak berubah melalui urine.^{1,2}

Bentuk acetyl isoniazid selanjutnya menjadi isonicotinic acid dan monoacetyl hydrazine. Acetyl isoniazid terutama akan berubah menjadi isonicotinic acid, walaupun sebetulnya isonicotinic acid ini juga dapat merupakan hasil proses hidrolisa langsung dari Isoniazid.¹

Armstrong & Pent mendapati mayoritas orang Eskimo dengan asetilasi cepat dibandingkan dengan orang Eropa. Pada ras Mongoloid sebagian besar termasuk fenotip asetilasi cepat, (fenotip asetilasi lambat pada etnis Korea dan Jepang 10%, pada etnis Cina 20%, Thai 30-40%), pada ras Kaukasia fenotip asetilasi

lambat berkisar 50-80%. Secara umum fenotip asetilasi dapat dibagi dalam dua kelompok besar yaitu: fenotip asetilasi lambat dan fenotip asetilasi cepat.¹

High performance liquid chromatography. merupakan cara yang sensitif dan spesifik untuk menentukan kadar INH dalam serum.^{2,3}

Bahan Dan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan analitik observasional, dengan tujuan umum penelitian ini mengetahui kecepatan asetilasi pada masyarakat Jawa Timur dan tujuan khusus adalah untuk mendapatkan data kecepatan asetilasi masyarakat Kediri di Jawa Timur.

Objek penelitian sebanyak 30 orang yang memenuhi kriteria, dipilih pada masyarakat Kediri di Jawa Timur sejak 1 Agustus 2002 hingga 31 April 2003.

Kriteria eklusi: gangguan faal hati, gangguan faal ginjal, kadar albumin, globulin dan bilirubin diluar batas normal, Indeks Karnofsky kurang dari 50, menderita diabetes mellitus, serta tidak bersedia menjadi subyek penelitian. INH yang dipakai pada penelitian ini merupakan INH murni yang memiliki *certificate of analysis*, dosis INH yang diberikan sebesar 4 mg/kg BB. Penelitian ini sudah mendapat surat kelaikan etik di FK UNAIR/ RSUD dr. Soetomo Surabaya.

Batasan operasional.

Asetilasi cepat : bila kadar INH bebas 6 jam setelah ingesti INH 4 mg/kg BB lebih kecil atau sama dengan 0,4 µg/ml.

Asetilasi lambat : bila kadar INH bebas 6 jam setelah ingesti INH 4 mg/kg BB lebih besar dari 0,4 µg/ml.

Cara Kerja

Subyek penelitian tidak minum INH dalam 72 jam terakhir. Pada hari diberikan INH mendapat menu dan porsi sebanyak 600 kalori untuk makan pagi pada pukul 7.00 WIB bersamaan dengan menelan INH 4 mg/kg BB diambil darah vena sebanyak 10 cc. Selanjutnya tidak makan

hingga pengambilan darah vena berikutnya 10 cc tepat 6 jam kemudian. Setiap darah yang diambil diberi antikoagulan EDTA kemudian dilakukan pemusingan dengan sentrifus elektronik pada 3000 rpm selama 5 menit. Setelah terpisah, plasma diambil, dimasukkan ke dalam tabung, ditutup dan disimpan dalam *deep freezer* - 80° C.

Cara analisis kadar INH bebas dalam plasma memakai *high performance liquid chromatography* (HPLC) di Laboratorium Dasar Bersama* (LDB) Universitas Airlangga Surabaya. Penentuan kadar INH bebas dalam plasma dengan HPLC memakai metode yang dikembangkan oleh Ait Moussa.³ Untuk menentukan linearitas dilihat dari kadar INH bebas 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 3µg/ml, 5µg/ml, 7µg/ml dan 10 µg/ml dengan larutan standar.

Larutan INH standar :

0,050 gram INH dilarutkan dalam 5 ml aquabides, kemudian diaduk dengan vortex mixer selama 0.5 menit, didapat kadar INH dalam aquabides 10.000 µg/ml.

0,5 ml INH 10.000 µg/ml dicampurkan dengan 4,5 ml aquabides diaduk dengan vortex mixer selama 0,5 menit, didapatkan kadar INH dalam aquabides 1000 µg/ml.

0,5 ml INH 10.00 µg/ml dicampurkan dengan 4,5 ml aquabides diaduk dengan vortex mixer selama 0,5 menit, didapatkan kadar INH dalam aquabides 100 µg/ml.

0,5 ml INH 100 µg/ml dicampurkan dengan 4,5 ml aquabides diaduk dengan vortex mixer selama 0,5 menit, didapatkan kadar INH dalam aquabides 10 µg/ml.

0,5 ml INH 10 µg/ml dicampurkan dengan 4,5 ml aquabides diaduk dengan vortex mixer selama 0,5 menit, didapatkan kadar INH dalam aquabides 1 µg/ml.

Ekstraksi sediaan plasma :

1 ml plasma ditambahkan 0,45 ml aquas trichloro acetic acid (30 %) ditambah 0,15 ml larutan adisi INH (5 µg/ml INH dalam aquabides). 1,60 ml sampel ini diaduk dengan vortex mixer selama 0,5 menit, kemudian disentrifus pada 300 rpm memakai mikrosentrifus Hitachi Type MC : 300 selama 5 menit sehingga diperoleh supernatan.

Eluen :

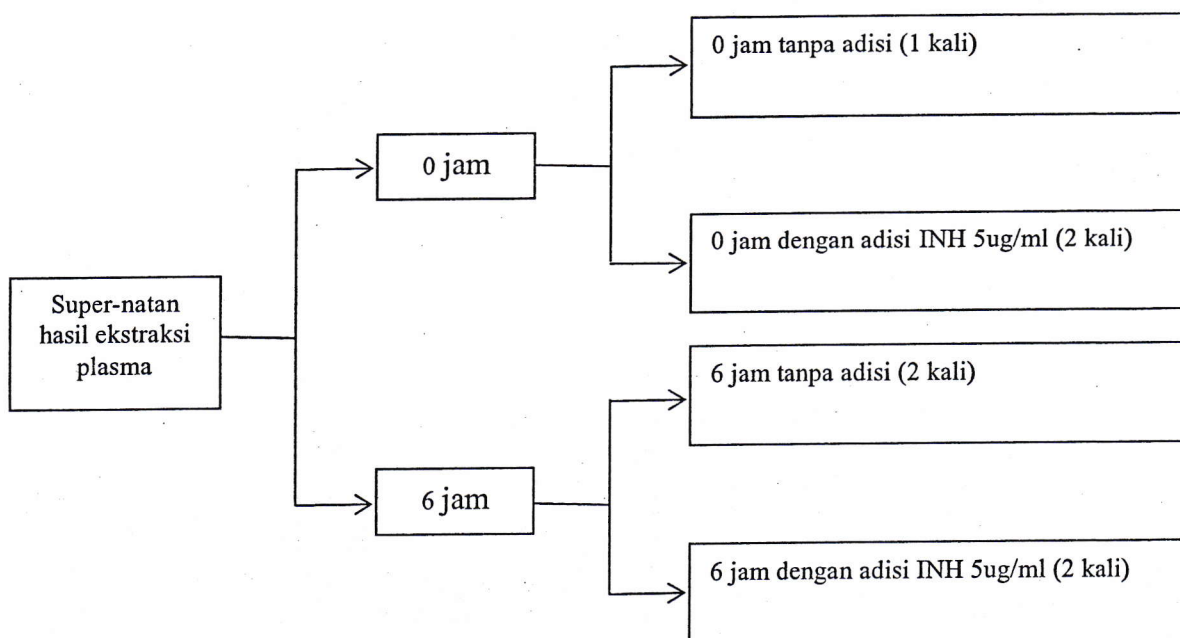
1,9 gram Amonium acetate dicampurkan dalam 500 ml aquabides, kemudian ditambahkan 5 ml Acetonitril pro HPLC.

Eluen dipompa dengan kecepatan 1ml / menit.

Supernatan diambil sebanyak 1 ml diinjeksikan kedalam HPLC melewati kolom Hypersil BDS C18 5µm 250x4,6 mm Batch No: 5/120/4693.

Kadar INH bebas dibaca dengan lamp detector Shimadzu SPD – 6 AV pada panjang gelombang 275 nm, hasilnya ditampilkan dalam *print out* Chromatopac Shimadzu C-R3A dalam bentuk luas area.

Setiap sediaan supernatan hasil ekstraksi plasma akan diinjeksikan pada HPLC minimal sebanyak 7 kali.



Gambar 1. Alur injeksi sediaan pada HPLC

Hasil Penelitian Dan Pembahasan

Dari seluruh sampel yang berjumlah 30 orang, kadar INH rata-rata 1,26517 µg/ml, kadar terendah 0, kadar tertinggi 4,8301 µg/ml.

Tabel 1. Hasil kecepatan asetilasi berdasarkan kriteria cepat-lambat.

	JUMLAH	%
Asetilasi cepat	16	53,33
Asetilasi lambat	14	46,67
Jumlah	30	100

Bila mengacu kriteria asetilasi cepat (= 0,4 µg/ml) dan asetilasi lambat (> 0,4 µg/ml) sebanyak 53,33 % merupakan asetilasi cepat dan 46,67 % adalah asetilasi lambat.

Penelitian ini adalah analitik observasional, merupakan suatu kejadian atau fenomena yang telah ada tanpa dapat dipengaruhi.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kecepatan asetilasi INH pada masyarakat Kediri di Jawa Timur. Metabolisme utama INH melalui asetilasi dengan perantara N-asetil transferase (NAT). Fenotip asetilasi antar individu dipengaruhi oleh faktor genetik, fenotip asetilasi cepat dipengaruhi oleh homozigot dan heterozigot dominan, fenotip asetilasi lambat dipengaruhi oleh homozigot resesif. Menurut Radke dan Weber (1985) perbedaan antara fenotip asetilasi cepat dan lambat tergantung pada aktivitas N-asetiltransferase (NAT) yang merupakan suatu enzim sitosolik dan berada dalam jaringan mamalia, tidak didapatkan dalam plasma, lemak, maupun otot rangka, - secara heriditer NAT didapatkan dalam hati dan mukosa usus halus.⁴

Kriteria penelitian ini mengacu pada asetilasi cepat: bila kadar INH bebas 6 jam setelah ingesti INH 4 mg/kg BB lebih kecil atau sama dengan 0,4 µg/ml, asetilasi lambat : bila kadar INH bebas 6 jam setelah ingesti INH 4 mg/kg BB lebih besar dari 0,4 µg/ml. Kelainan faal hati, kelainan faal ginjal dan gangguan metabolisme glukosa tidak dimasukkan dalam penelitian ini karena menurut Weber tahun 1985 dapat mempengaruhi metabolisme dan ekskresi INH.⁴

Kadar INH bebas dalam penelitian ini ditentukan dengan menggunakan HPLC metode Ait Moussa.⁵ Untuk validitas prosedur analitik dan *quality control* dilakukan uji selektivitas, *detection limit & quantitation limit*, *precision*, linearitas, dan akurasi.

Objek penelitian sebanyak 30 orang yang memenuhi kriteria dipilih secara acak pada masyarakat Kediri di Jawa Timur sejak 1 Agustus 2002 hingga 31 April 2003. Dari objek penelitian berjumlah 30 orang, didapati kadar rerata INH = 1,26517 µg/ml, dengan kadar INH terendah = 0, dan kadar INH tertinggi = 4,8301 µg/ml. Bila mengacu pada kriteria asetilasi cepat (= 0,4 µg/ml) dan asetilasi lambat (> 0,4 µg/ml) maka 53,33 % merupakan asetilasi cepat dan 46,67% adalah asetilasi lambat.

Zaid mendapati mayoritas masyarakat Bangladesh selatan hingga 83 % dengan fenotip asetilasi cepat.⁶ Harris, Knight & Selin tahun 1958 mendapati orang Jepang sebagian besar fenotip asetilasi cepat sedang orang Eropa pada umumnya sebagian besar asetilasi lambat, Armstrong & Pent mendapati orang Eskimo lebih banyak asetilasi cepat dibandingkan dengan orang Eropa.¹ Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan beberapa penelitian lainnya pada ras Mongoloid dimana mayoritas merupakan fenotip asetilasi cepat, (fenotip asetilasi lambat pada etnis Korea dan Jepang 10%, pada etnis Cina 20%, Thai 30-40%).^{1,6}

Mengingat fenotip Asetilasi juga merupakan salah satu jalan biotransformasi metabolit yang dihasilkan oleh berbagai arilamin karsinogen, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui risiko seseorang dikaitkan kecepatan asetilasi.

Kesimpulan

Mayoritas masyarakat Kediri Jawa Timur memiliki fenotip asetilasi cepat, disarankan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui risiko kemungkinan terjadinya gangguan kesehatan yang berhubungan dengan kecepatan asetilasi.

Daftar Pustaka

1. Evans DAP. N-acetyltransferase. In (Kalaow W ed) Pharmacogenetics of drug metabolism. Pergamon Press Inc. New York: 1992: 95-178
2. O'Brien JK, Doerfler ME, Harkin TJ, Rom WN. Isoniazid levels in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with pulmonary tuberculosis. Lung 1998; 176:205-11
3. Ait Moussa L, Khassouani CE, Soulaymani R, Jana M, Cassanas G, Alric R, Hue B. Therapeutic isoniazid monitoring using a simple high-performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2002;766:181-7
4. Gross M, Kruisselbrink T, Anderson K, Lang N, McGovern P, Delongchamp R, Kadlubar F. Distribution and Concordance of N-Acetyltransferase Genotype and Phenotype in an American Population. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 1998; 8:682 – 692
5. Ait Moussa L, Khassouani CE, Hue B, Jana M, Begaud B, Soulaymani R. Determination of the acetylator phenotype in Moroccan tuberculosis patients using isoniazid as metabolic probe. Int J Clin Pharmacol Ther 2002; 40:548 - 553
6. Zaid RB, Nargis M, Neelotpol S, Sayeed MA, Banu A, Shurovi S, Hassan KN, Salimullah M, Ali L, Azad Khan AK. Human Biology 2007; 79(3) 363 – 368