

## Kadar Puncak ( $C_{max}$ ), Waktu Puncak ( $T_{max}$ ), Waktu Paruh ( $T_{1/2}$ ) dan Bersihan Teobromin pada Sukarelawan Sehat setelah Pemberian *Dark Chocolate Bar* Per Oral

### *(The Maximum Concentration ( $C_{max}$ ), Maximum Time ( $T_{max}$ ), Half-time ( $T_{1/2}$ ) and Clearance Teobromine on Healthy Volunteer after Dark Chocolate Bar Consumption)*

Nyoman Defriyana Suwandi, Cholis Abrori, Muhammad Hasan  
Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121  
e-mail: cholisabrori.fk@unej.ac.id

#### **Abstract**

*Dark chocolate contains two derivatives of methylxanthin, i.e. caffeine (1,3,7-trimethylxanthin) and theobromine (3,7 dimethylxanthin). Theobromine can be found in plasma. Theobromine concentration in plasma determined not only by drug dosage but also by pharmacokinetic parameters. This research aimed to determine pharmacokinetic parameters by using HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method. This study used Quasi Experimental Design by using 16 plasma samples collected at the 0, 1.5, 3, 6, 10, 24 hours. The pharmacokinetic parameter calculations were obtained from the polynomial curve and linear curve of drug concentration in plasma by time. The maximum concentration ( $C_{max}$ ) theobromine on plasma after consumption of dark chocolate bar per oral was 4.173 mg/L. The maximum time ( $T_{max}$ ) was at the 2.501 hours. The half time ( $t_{1/2}$ ) theobromine was 4.880 hours. Theobromine clearance in plasma was 14.2 ml/kg/hour. The study has reported pharmacokinetic parameters of theobromine in plasma after eating dark chocolate bars orally.*

**Keywords:** *Chocolate, half-time, maximum concentration, maximum time, theobromine*

#### **Abstrak**

*Dark chocolate* mengandung dua derivat metilsantin yaitu kafein (1,3,7-trimetilsantin) dan teobromin (3,7 dimetilsantin). Teobromin pada tubuh dapat ditemukan dalam plasma. Kadar teobromin dalam plasma ditentukan tidak hanya oleh dosis obat tetapi juga oleh parameter farmakokinetik. Penelitian ini mengukur kadar teobromin di dalam plasma untuk mengetahui parameter farmakokinetik dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Penelitian ini merupakan *Quasi Experimental Design* dengan menggunakan 16 sampel plasma yang diambil pada jam ke 0, 1,5, 3, 6, 10, 24. Perhitungan parameter farmakokinetik tersebut diperoleh dari kurva polinomial dan kurva linier kadar obat dalam plasma terhadap waktu. Kadar puncak ( $C_{max}$ ) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* per oral adalah 4,173 mg/L. Waktu puncak ( $T_{max}$ ) adalah pada jam ke 2,501. Waktu paruh ( $t_{1/2}$ ) teobromin adalah 4,880 jam. Bersihan teobromin dalam plasma adalah 14,2 ml/kg/jam. Berdasarkan hasil analisis data didapatkan parameter farmakokinetik teobromin dalam plasma setelah mengkonsumsi *dark chocolate bar* per oral.

Kata kunci: *Chocolate, kadar puncak, teobromin, waktu puncak, waktu paruh.*

## Pendahuluan

Tahun 2010 Indonesia menduduki posisi sebagai pengekspor biji kakao terbesar ketiga di dunia dengan produksi kering 550.000 ton [1]. Kreasi pengolahan biji kakao tersebut terus dikembangkan, begitu pula terhadap perkembangan pengolahan cokelat. Kini cokelat yang dipasarkan dapat ditemukan dengan berbagai bentuk, campuran dan tingkat kemanisan. Komposisi kakao yang digunakan dapat beragam sesuai dengan produk yang akan dipasarkan. Kategori cokelat berdasarkan komposisinya dapat dibagi menjadi empat produk olahan yaitu *dark chocolate*, *sweet chocolate*, *milk chocolate* dan *white chocolate*.

*Dark chocolate* mengandung antioksidan (flavonoid dan polifenol) dan vitamin (terutama vitamin E). *Dark chocolate* juga kaya akan mineral seperti kalsium, kalium, zat besi dan terutama magnesium alami [2]. Pada *dark chocolate* mengandung dua derivat metilxantin yaitu *caffeine* (1,3,7-trimetilxantin) dan *teobromin* (3,7 dimetilxantin), akan tetapi pada *dark chocolate* kandungan *teobromin* lebih banyak jika dibandingkan dengan kandungan *kafein* [3].

Dosis *teobromin* yang terdapat pada *dark chocolate* berbeda-beda tergantung dari kandungan pasta kakao yang terdapat dalam *dark chocolate* tersebut. *Teobromin* dalam tubuh dapat memberikan efek positif maupun negatif. Efek tersebut tergantung dari dosis *teobromin* yang ada di dalam tubuh. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa *teobromin* dengan dosis yang rendah akan memberikan efek positif sedangkan pada dosis yang tinggi akan memberikan efek yang negatif. Pemberian *teobromin* yang dapat memberikan efek negatif yaitu pada dosis 1000 mg [3].

*Teobromin* pada tubuh dapat ditemukan dalam plasma. Kadar *teobromin* dalam plasma ditentukan tidak hanya oleh dosis obat tetapi juga oleh parameter farmakokinetik. Parameter farmakokinetik meliputi waktu paruh, kadar puncak, waktu puncak, bersihan, bioavailabilitas dan volume distribusi dalam keadaan fisiologi maupun patologi [4].

Pengukuran kadar *teobromin* didalam plasma untuk mengetahui parameter farmakokinetik dapat menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Prinsip dari HPLC ini adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya [6].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tentang efek pemberian *dark*

*chocolate bar* terhadap farmakokinetik *teobromin* pada sukarelawan sehat.

## Metode Penelitian

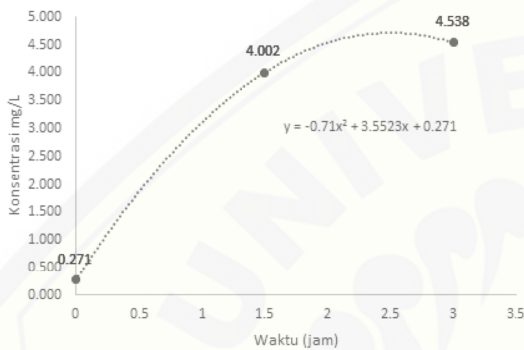
Pada penelitian ini, subjek yang digunakan adalah manusia yang dalam pelaksanaannya telah mendapatkan sertifikat kelayakan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Quasi Experimental Design* dengan bentuk *Time-Series Design*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis *dark chocolate bar* kepada sukarelawan. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar puncak ( $C_{max}$ ), waktu puncak ( $T_{max}$ ), waktu paruh ( $t_{1/2}$ ) dan bersihan pada plasma sukarelawan. Sedangkan variabel kontrol dari penelitian ini adalah usia sukarelawan, IMT, dan *High Performance Liquid Chromatography*. Sampel yang digunakan adalah 16 plasma dari 3 sukarelawan sehat. Plasma yang terkumpul lalu dilakukan analisis sampel menggunakan *High Performance Liquid a* (HPLC). Prinsip dari HPLC ini adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Dengan menggunakan fase gerak yang terdiri dari *methanol*, *aquabidest* dan *asam asetat glasial* dialirkan melalui kolom ke detektor. Sampel dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan senyawa-senyawa kimia (analit) sesuai dengan perbedaan afinitasnya karena adanya perbedaan interaksi antara senyawa-senyawa terhadap fase diam. Penelitian ini menggunakan C18. C18 merupakan fase diam yang mampu memisahkan kepolaran yang rendah, sedang maupun tinggi. Senyawa yang kuat berinteraksi dengan fase diam maka akan keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah peak menyatakan konsentrasi *teobromin* dalam *dark chocolate*. Peak *teobromin* terbaca pada menit ke 6. Komputer digunakan untuk mengontrol kerja sistem HPLC dan mengumpulkan serta mengolah hasil pengukuran HPLC.

Data yang telah didapatkan lalu dimasukkan dalam tabel dan membuat grafik konsentrasi obat dalam plasma per satuan waktu. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah kadar puncak, waktu puncak, waktu paruh dan bersihan (*clearance*). Parameter farmakokinetik dihitung dengan menggunakan persamaan garis kurva konsentrasi obat dalam plasma persatuan waktu.

**Hasil Penelitian**

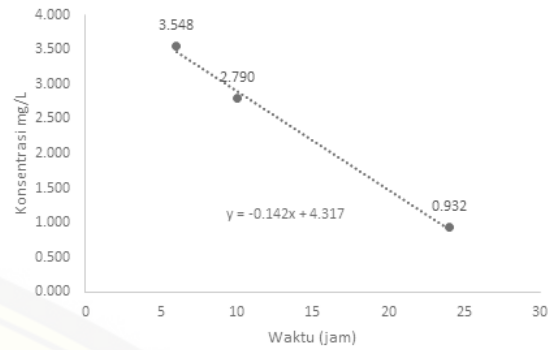
Penelitian telah dilakukan di Universitas Jember pada bulan November 2015. Sukarelawan pada penelitian ini sebanyak 3 orang yang terdiri dari laki-laki, usia 19 sampai 21 tahun, IMT 18 sampai 26, tekanan darah sistolik 110 sampai 122 mmHg dan tekanan darah diastolik 72 sampai 84 mmHg. Setiap sukarelawan diambil 6 sampel plasma dengan waktu yang berbeda sehingga total sampel pada penelitian ini berjumlah 18 sampel plasma.



Gambar 1. Kurva kadar teobromin dalam plasma terhadap waktu

Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai konsentrasi maksimum dihitung menggunakan turunan dari persamaan kurva dimana  $y'=0$ . Dari turunan persamaan kurva tersebut maka didapatkan  $x = 2,501$ . Nilai  $x$  pada persamaan tersebut menunjukkan waktu kadar teobromin di dalam plasma mencapai puncak. Maka waktu konsentrasi mencapai puncak atau  $T_{max}$  adalah pada jam ke 2,501.

Konsentrasi obat dalam plasma merupakan fungsi dari kecepatan masuknya obat (melalui absorpsi) ke dalam plasma. Kadar puncak suatu obat dapat dihitung dari persamaan kurva kadar obat terhadap waktu. Kadar puncak teobromin didalam plasma berhubungan dengan waktu kadar teobromin pada plasma mencapai puncak [7]. Nilai  $y$  merupakan konsentrasi maksimum pada persamaan kurva tersebut. Maka konsentrasi maksimum yang didapat adalah 4,714 mg/L

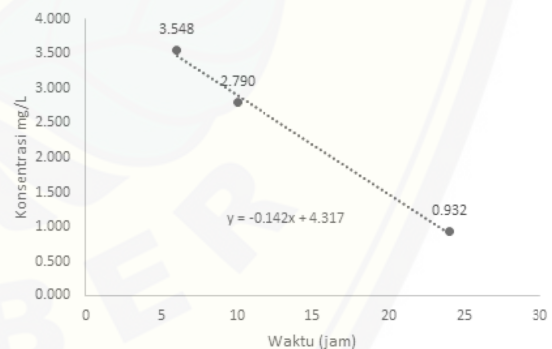


Gambar 2. Kurva kadar teobromin dalam plasma terhadap waktu

Dari kurva tersebut didapatkan nilai  $K_e = 0,142$ . Nilai  $K_e$  didapatkan berdasarkan kemiringan dari kurva diatas, dimana nilai  $K_e = -Slope$ . Nilai tersebut kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan waktu paruh sebagai berikut.

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{K_e}$$

Waktu paruh yang didapatkan yaitu 4,880 jam. Dari persamaan yang digunakan dalam menghitung waktu paruh pada reaksi orde pertama, waktu paruh adalah konstan. Tidak dipengaruhi oleh jumlah awal atau konsentrasi obat, waktu yang dibutuhkan untuk jumlah yang berkurang setengahnya adalah konstan.



Gambar 3. Kurva kadar teobromin dalam plasma terhadap waktu

Bersihan atau *clearance* merupakan total eliminasi suatu kadar obat, dimana pada bersihan ini konsentrasi suatu obat menjadi habis atau tidak ada di dalam tubuh [8]. Untuk mendapatkan nilai bersihan (*clearance*), hal pertama yang dilakukan adalah menentukan konstanta laju eliminasi, kemudian mengganti

nilai konstanta pada persamaan yang telah ditentukan. Perhitungan bersihan didapatkan dari perhitungan persamaan berdasarkan konstanta laju eliminasi. Hasil dari perhitungan bersihan sesuai dengan data analisis adalah 14,2 ml/kg/jam. Laju eliminasi konstan merupakan jumlah total dari semua konstanta laju eliminasi obat, termasuk ekskresi dan biotransformasi.

## Pembahasan

Penelitian ini menggunakan *dark chocolate bar* dengan netto 60 gram dan memiliki kadar teobromin sebanyak 26,232 mg/L. Parameter farmakokinetik dapat dijelaskan dengan kurva konsentrasi obat dalam plasma per satuan waktu, dimana pada kurva tersebut dapat ditemukan kadar puncak, waktu puncak, waktu paruh dan juga bersihan teobromin di dalam plasma [8]. Untuk mendapatkan parameter tersebut digunakan persamaan garis yang terdapat pada kurva konsentrasi obat dalam plasma persatuan waktu. Dari persamaan garis kurva 1. didapatkan konsentrasi maksimum dan juga waktu kadar puncak teobromin yang berada di plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* dengan netto 60 gram. Waktu puncak merupakan waktu dari konsentrasi maksimum teobromin di dalam plasma, dan waktu puncak ini menandakan suatu proses dari absorpsi obat. Pada hasil yang telah diuraikan, waktu konsentrasi maksimum teobromin pada plasma adalah pada jam ke 2,5. Pada waktu puncak tersebut maka didapatkan pula konsentrasi maksimum teobromin dalam plasma. Konsentrasi maksimum yang terdapat dalam plasma berhubungan dengan dosis, absorpsi dan juga eliminasi suatu obat. Hasil pada penelitian ini menunjukkan konsentrasi maksimum teobromin dalam plasma adalah 4,714 mg/L.

Waktu paruh merupakan waktu yang diperlukan untuk turunnya kadar obat dalam plasma pada fase eliminasi menjadi separuhnya. Waktu paruh merupakan bilangan konstan, tidak tergantung dari besarnya dosis, interval pemberian, kadar plasma maupun cara pemberian [4]. Waktu paruh ini didapatkan dari suatu persamaan. Dari persamaan tersebut didapatkan waktu paruh dari teobromin dalam plasma adalah 4,880 jam. Penelitian sebelumnya dengan pemberian teobromin secara oral dengan dosis 250 mg, didapatkan  $t_{1/2}$  atau waktu paruh dari teobromin adalah 7,2

jam [9]. Sedangkan pada penelitian dengan pemberian teobromin sebanyak 6 mg/kg/hari didapatkan nilai  $t_{1/2}$  dari teobromin adalah 10 jam [10]. Perbedaan dari hasil nilai waktu paruh ini bergantung dari beberapa faktor. Faktor yang mempengaruhi waktu paruh adalah absorpsi, metabolisme dan ekskresi. Waktu paruh ini merupakan parameter farmakokinetik yang penting karena dari waktu paruh dapat memberikan dasar untuk perhitungan dosis pada pemakaian ulang bahan obat, pada setiap terapi jangka panjang.

Waktu bersihan obat atau bersihan merupakan eliminasi suatu obat pada tubuh tanpa melihat dari proses mekanismenya. Bersihan merupakan bilangan konstan. Laju eliminasi meningkat dengan meningkatnya kadar. Bersihan total adalah volume plasma yang dibersihkan dari obat persatuan waktu oleh seluruh tubuh (misalnya ml/menit). Pada hasil perhitungan dari nilai bersihan didapatkan bersihan total adalah 14,2 ml/kg/jam. Ketentuan *bersihan* ini tergantung dari laju eliminasi suatu obat. Eliminasi obat dalam tubuh terjadi pada dua komponen utama yaitu ekskresi dan biotransformasi. Proses eliminasi (metabolisme dan ekskresi bentuk utuh) yang dialami oleh hampir semua obat pada dosis terapi mengikuti kinetika *first order*, yang artinya kecepatan proses-proses tersebut sebanding dengan jumlah obat yang ada. Pada obat-obat dengan kinetika *first order* atau kinetika linear memiliki hubungan antara kadar obat dalam plasma dengan eliminasinya. Pada perhitungan tersebut dapat dijadikan suatu dasar dalam menyesuaikan dosis pada kegiatan *therapeutic drug monitoring* [8].

## Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil analisis data didapatkan parameter farmakokinetik teobromin dalam plasma setelah mengkonsumsi *dark chocolate bar* per oral. Kadar puncak ( $C_{max}$ ) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* per oral adalah 4,714 mg/L. Waktu puncak ( $T_{max}$ ) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* per oral adalah pada jam ke 2,501 jam. Waktu paruh ( $T_{1/2}$ ) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* per oral adalah 4,880 jam. Bersihan teobromine dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* per oral adalah 14,2 ml/kg/jam.

Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan penggunaan jenis cokelat yang berbeda.

**Daftar Pustaka**

- [1] Rubiyo R, Siswanto S. Peningkatan Produksi dan Pengembangan Kakao (*Theobroma cacao* L.) di Indonesia. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*; 2012. 3(1): 33-48.
- [2] Nurazizah E, Fen T, Winny S. Konsumsi Cokelat Hitam Mengurangi Gejala Subyektif Perempuan Penderita Sindroma Premenstrual Usia 18-22 Tahun. Bandung: Universitas Kristen Maranatha; 2015.
- [3] Baggott MJ, Emma C, Amy B, Hart, Eveline DB, Abraham AP, Joy EW, Harriet DW. *Psychopharmacology of Teobromin in Healthy Volunteers*. Verlag Berlin Heidelberg; 2013.
- [4] Setiawati A. *Farmakokinetik Klinik*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2012.
- [5] Meng CC, Abbe MMJ, Amin I. Phenolic and Teobromin Contents of Commercial Dark, Milk and White Chocolate on the Malaysian Market. Malaysia: Universiti Putra Malaysia. *Molecules*; 2009.14(1): 200-209.
- [6] Kupiec T. *Quality-Control Analytical Methods: High-Performance Liquid Chromatography*. Analytical Research Laboratories Oklahoma. Oklahoma City; 2004.
- [7] Rowland M, Thomas NT. *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. Wolters Kluwer. Philadelphia; 2009.
- [8] Shargel L, Susanna WP, Andrew BC. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. Eon Labs, Inc. Wilson, South California; 2005.
- [9] Lelo A, Birkett DJ, Robson RA, Miners JO. Pharmacokinetics of caffeine and its primary demethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline in man. *British journal of clinical pharmacology*; 1986. 22(2): 177-182.
- [10] Shively CA, Tarka SM, Arnaud MJ, Dvorchik BH, Thomas PG, Vesell ES. High levels of methylxanthines in chocolate do not alter teobromin disposition. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*; 1985.37(4): 415-424.