Jurnal Farmasi dan Herbal	Vol.9.1	Edition: Oktober 2026
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
Received: 15 Oktober 2026	Revised: 17 Oktober 2026	Accepted: 23 Oktober 2026

PENGARUH VARIASI pH DAPAR FOSFAT TERHADAP PROFIL ABSORPSI PARASETAMOL MENGGUNAKAN MODEL EVERTED SAC DUODENUM KELINCI SECARA EKS VIVO

Gratia Apulina Cindylawsa Purba[1*], Putri Anggita[2], Delisma Marsauli Simorangkir[3], Ageng Azhar Amar[4]

Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Deli Husada Deli Tua, Indonesia

*Email: gratiapurba02@gmail.com

Abstract

Paracetamol is the most widely used non-opioid analgesic-antipyretic, yet its oral bioavailability (70–90%) is influenced by the physiological conditions of the gastrointestinal tract, including intraluminal pH. This study aimed to analyze the effect of phosphate buffer pH variation (pH 5.8 and 7.4) on the absorption profile of paracetamol using an ex vivo rabbit everted duodenal sac model. Paracetamol concentrations in the serosal fluid were measured serially at 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 minutes using UV-Vis spectrophotometry at an analytical wavelength of 243 nm. The calibration curve at pH 5.8 yielded the linear regression equation y = 0.108x – 0.009 (r = 0.998), while at pH 7.4 the equation y = 0.045x + 0.019 (r = 0.999) was obtained, indicating high linearity under both conditions. Paracetamol concentration in the serosal compartment increased progressively up to around minutes 20–40 under both pH conditions, with a higher concentration profile observed at pH 7.4 compared to pH 5.8, consistent with the increased non-ionized fraction of paracetamol approaching the physiological duodenal condition. Concentration fluctuations during the final minutes of incubation are presumed to relate to the serial dilution effect from sampling replacement and declining tissue viability over time. This study demonstrates that intraluminal pH plays an important role in determining the rate and extent of paracetamol absorption in the rabbit everted duodenal sac model, providing a basis for the formulation of pH-sensitive oral dosage forms.

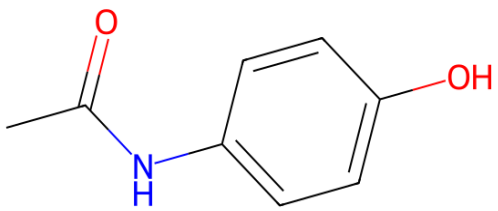
Keywords: ***pH, paracetamol, everted sac, duodenum, rabbit***

1. PENDAHULUAN

Absorpsi obat merupakan tahap penentu utama yang menentukan bioavailabilitas sistemik serta respons farmakodinamik suatu senyawa dalam sistem farmakokinetik. Parasetamol, sebagai analgesik-antipiretik non-opioid yang paling luas digunakan di dunia, sebagian besar diabsorpsi melalui mekanisme difusi pasif di sepanjang saluran gastrointestinal, dengan duodenum sebagai lokasi utama

karena luas permukaan mukosa yang tinggi dan waktu transit yang singkat. Kondisi intraluminal seperti pH dapat memengaruhi kelarutan obat dan fraksi non-ionik menurut persamaan Henderson–Hasselbalch (pKa parasetamol ≈ 9,38), serta memengaruhi permeabilitas membran mukosa melalui perubahan lapisan unstirred dan aktivitas transporter seperti P-glikoprotein (Supiyani dkk., 2023).

Parasetamol (memiliki gugus fungsi amida yang terikat pada cincin fenol tersubstitusi hidroksil, dengan rumus molekul $C_8H_9NO_2$ dan bobot molekul 151,16 g/mol. Struktur kimia parasetamol ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia parasetamol

Gugus hidroksil fenolik pada struktur tersebut bersifat asam lemah (pKa ≈ 9,38), sedangkan gugus amida relatif netral pada rentang pH fisiologis saluran cerna, sehingga pada pH lambung hingga duodenum (pH 1–7,4) parasetamol berada hampir seluruhnya dalam bentuk non-ionik. Kondisi non-ionik inilah yang mendukung difusi pasif parasetamol menembus membran lipid bilayer mukosa usus, namun derajat ionisasi tersebut tetap dapat bergeser mengikuti perubahan pH lingkungan intraluminal sehingga memengaruhi laju dan luas absorpsinya (Supiyani dkk., 2023).

Fluktuasi pH duodenum, yang secara fisiologis berada pada kisaran 5,5–7,4, dilaporkan memberikan dampak signifikan terhadap farmakokinetik obat yang mudah terionisasi. Kajian pada model everted sac untuk beberapa obat lain menunjukkan bahwa peningkatan pH mendekati netral cenderung meningkatkan permeabilitas obat akibat optimalisasi fraksi non-ionik yang memfasilitasi difusi transseluler, sementara kondisi pH lebih asam cenderung menurunkan konstanta absorpsi pada obat dengan karakter ionisasi serupa (Xie, 2025). Namun demikian, sebagian besar penelitian pada periode 2020–2025 lebih berfokus pada model in vivo atau kultur sel Caco-2, sehingga penerapan model everted sac untuk parasetamol masih terbatas.

Celah penelitian yang masih menonjol adalah belum banyaknya evaluasi sistematis terhadap pengaruh pH fisiologis pada dinamika absorpsi

parasetamol menggunakan model duodenum everted sac kelinci, padahal model ini memiliki keunggulan dalam mempertahankan barier mukosa usus tanpa pengaruh sirkulasi sistemik maupun metabolisme hepatik primer (Azman dkk., 2022).

Parasetamol sebagai analgesik dengan bioavailabilitas oral 70–90% dan kelarutan terbatas (±14 mg/mL pada pH 7,4) berpotensi mengalami penurunan kelarutan pada pH rendah, sehingga kajian mengenai pengaruh pH terhadap profil absorpsinya penting untuk mendukung optimasi formulasi sediaan oral (Onoue, 2025).

Model everted sac duodenum kelinci pertama kali dikembangkan dan divalidasi oleh Wilson dan Wiseman pada dekade 1950-an, dan hingga kini masih digunakan secara luas karena mampu mempertahankan viabilitas mukosa selama kurang lebih 60–90 menit dalam kondisi oksigenasi larutan Krebs–Ringer, sehingga memungkinkan pengukuran fluks obat secara unidireksional dari sisi mukosa ke serosa (Noorman dkk., 2024).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji secara kuantitatif pengaruh variasi pH dapar fosfat (pH 5,8 dan 7,4) terhadap laju dan luas absorpsi parasetamol pada model everted sac duodenum kelinci, dengan hipotesis bahwa kondisi pH yang mendekati fisiologis duodenum (7,4) akan memberikan profil absorpsi yang lebih tinggi dibandingkan kondisi pH yang lebih asam (5,8).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Biofarmasetika dan Farmakokinetika, Institut Kesehatan Deli Husada Deli Tua, meliputi tahap penyiapan dapar fosfat, pembuatan kurva kalibrasi parasetamol, persiapan model duodenum everted sac kelinci, dan pengukuran absorpsi parasetamol pada dua kondisi pH.

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi kanula, benang wol, kapas steril, pinset bedah, spuit, mikropipet, pisau bedah, penggaris plastik, batang pengaduk, termostat air, spektrofotometer UV-Vis, labu timbang, labu ukur, dan pipet takar. Bahan yang digunakan meliputi natrium klorida (NaCl), natrium hidroksida (NaOH) 0,2 N, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0,2 M, parasetamol baku (konsentrasi 2 mmol/L), larutan Tyrode, dan air bebas CO_2. Seluruh bahan kimia yang digunakan berderajat analitik,

dengan dapar fosfat disiapkan isotonik terhadap kondisi fisiologis (osmolalitas ±300 mOsm/L).

2.2 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci New Zealand White (Oryctolagus cuniculus) jantan dengan bobot 1,5–2 kg, yang dipuasakan selama 20–24 jam dengan akses air minum ad libitum sebelum perlakuan, sesuai protokol etik penelitian hewan yang berlaku di institusi.

2.3 Pembuatan Dapar Fosfat pH 5,8 dan 7,4

Dapar fosfat disiapkan pada dua kondisi pH yang mewakili kondisi pasca-gastrik (pH 5,8) dan kondisi fisiologis duodenum (pH 7,4), dengan modifikasi metode USP untuk simulasi cairan intraluminal. Pada setiap pH, sejumlah 50 mL KH_2PO_4 0,2 M dicampur dengan volume NaOH 0,2 N yang disesuaikan menggunakan pH-meter terkalibrasi. Larutan kemudian diencerkan dengan air bebas CO_2 hingga volume akhir 200 mL, diukur osmolalitasnya, dan disimpan pada suhu 4°C maksimal 24 jam untuk menjaga stabilitas ionik.

2.4 Pembuatan Kurva Absorpsi Parasetamol

Kurva absorpsi parasetamol dibuat pada rentang konsentrasi 5–50 µg/mL untuk masing-masing dapar fosfat pH 5,8 dan pH 7,4. Larutan baku parasetamol 2 mmol/L diencerkan secara bertingkat ke dalam labu ukur 50 mL menggunakan dapar fosfat sesuai pH pengujian. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang analitik 243 nm terhadap blangko dapar fosfat. Persamaan regresi linier $y = ax + b$ digunakan untuk kuantifikasi konsentrasi parasetamol pada cairan serosa.

2.5 Persiapan Duodenum Everted Sac Kelinci

Kelinci dianestesi, kemudian dilakukan insisi midline abdomen hingga sternum. Segmen duodenum proksimal (panjang 8–10 cm) dikeluarkan, dibersihkan dari sisa isi lumen, dan dibilas berulang dengan larutan Tyrode pada suhu 37°C. Segmen dinyatakan viabel apabila menunjukkan kontraktilitas spontan. Segmen duodenum selanjutnya dibalik (everted) menggunakan batang pengaduk berdiameter 2 mm, diikat pada ujung distal, dan diisi dengan 3 mL larutan serosa (dapar fosfat pH 7,4 dan pH 5,8 bebas obat). Ujung proksimal diikat pada kanula kaca untuk keperluan pengambilan sampel serial, dengan volume kompartemen mukosa 75 mL tanpa kebocoran.

2.6 Pengukuran Absorpsi Parasetamol

Pengukuran dilakukan dalam kondisi transpor serosa-mukosa unidireksional pada termostat 37 ± 0,1°C dengan aerasi larutan Krebs–Ringer. Setiap segmen duodenum diinkubasi dalam kompartemen mukosa berisi 75 mL dapar fosfat pH 5,8 dan 7,4 yang mengandung parasetamol 2 mmol/L. Sampel cairan serosa (1 mL) diambil secara serial pada menit ke-0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60, dan setiap pengambilan digantikan dengan volume setara dapar serosa pra-termal. Sampel diencerkan 1:25 dengan dapar fosfat pH 7,4 sebelum diukur absorbansinya pada 243 nm, dan konsentrasi parasetamol dihitung menggunakan persamaan kurva kalibrasi yang bersesuaian.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Spektrum UV larutan parasetamol dalam dapar fosfat pH 5,8 maupun pH 7,4 menunjukkan dua puncak serapan, yaitu puncak tajam di sekitar 206 nm dan puncak yang lebih landai pada rentang 243–245 nm. Puncak kedua dipilih sebagai panjang gelombang analitik karena memberikan respons yang lebih stabil dan linear terhadap perubahan konsentrasi, dan hasil ini sejalan dengan laporan metode spektrofotometri terstandar untuk penetapan kadar parasetamol (Diningsih & Hasibuan, 2023).

3.2 Kurva Kalibrasi dan Persamaan Regresi

Pada dapar fosfat pH 5,8 diperoleh persamaan garis regresi linier y=0,108x – 0,009 dengan koefisien korelasi r=0,998, yang menunjukkan hubungan sangat kuat antara konsentrasi parasetamol dan absorbansi pada panjang gelombang analitik. Nilai slope yang relatif besar (0,108) mengindikasikan bahwa sistem pada pH 5,8 memiliki sensitivitas yang baik untuk deteksi kadar rendah dalam medium yang mensimulasikan kondisi pasca-lambung.

Pada dapar fosfat pH 7,4 diperoleh persamaan garis regresi y = 0,045x + 0,019 dengan koefisien korelasi mendekati 1, yang menunjukkan linearitas yang sangat baik pada rentang konsentrasi yang digunakan. Slope yang lebih kecil dibandingkan pH 5,8 menunjukkan sensitivitas metode yang sedikit lebih rendah pada kondisi pH lebih netral, namun linearitas yang tinggi menjadikan kurva ini tetap andal untuk kuantifikasi parasetamol dalam medium yang merepresentasikan kondisi fisiologis duodenum. Perbedaan nilai slope antara kedua pH diduga berkaitan dengan perubahan derajat

ionisasi parasetamol dan interaksi dengan komponen dapar yang memengaruhi koefisien ekstingsi molar tanpa menggeser panjang gelombang maksimum.

3.3 Profil Absorpsi Parasetamol pada pH 5,8

Data konsentrasi parasetamol pada kompartemen serosa untuk kondisi pH 5,8 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil absorbansi dan konsentrasi parasetamol pada dapar fosfat pH 5,8

Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)
0	0,042	0,472
5	0,443	4,185
10	0,470	4,935
20	0,174	10,953
30	1,017	15,055
40	2,562	23,005
50	2,359	21,925
60	2,089	19,425

Konsentrasi parasetamol pada kompartemen serosa meningkat dari nilai awal yang rendah (0,472 µg/mL) menjadi 4,185–4,935 µg/mL pada menit ke-5 hingga ke-10, menandakan fase awal penetrasi obat ketika gradien konsentrasi antara mukosa dan serosa masih tinggi. Peningkatan berlanjut hingga 10,953 µg/mL pada menit ke-20 dan 15,055 µg/mL pada menit ke-30, sejalan dengan prinsip bahwa fluks obat berbanding lurus dengan gradien konsentrasi dan luas permukaan absorpsi selama barier mukosa masih utuh. Konsentrasi tertinggi pada kondisi ini tercatat sebesar 23,005 µg/mL pada menit ke-40, yang mengindikasikan pendekatan menuju keadaan tunak lokal. Penurunan konsentrasi pada menit ke-50 (21,925 µg/mL) dan ke-60 (19,425 µg/mL) diduga terkait efek pengenceran akibat penggantian volume sampling, penurunan bertahap viabilitas jaringan pada masa inkubasi yang lebih panjang, serta kemungkinan adsorpsi parasetamol pada matriks jaringan.

3.4 Profil Absorpsi Parasetamol pada pH 7,4

Data konsentrasi parasetamol pada kompartemen serosa untuk kondisi pH 7,4 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Profil absorbansi dan konsentrasi parasetamol pada dapar fosfat pH 7,4

Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)
0	0,413	8,800
5	0,391	8,266
10	0,668	14,422
20	2,805	61,911
30	1,897	41,733
40	1,354	29,666
50	1,264	27,666

Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)
60	2,527	55,733

Pada kondisi pH 7,4, konsentrasi parasetamol relatif tinggi sejak menit awal (8,800 µg/mL) dan cenderung stabil pada menit ke-5 (8,266 µg/mL), kemudian meningkat pada menit ke-10 (14,422 µg/mL) hingga mencapai puncak pada menit ke-20 (61,911 µg/mL). Nilai ini menunjukkan bahwa gradien konsentrasi antara sisi mukosa dan kompartemen serosa dimanfaatkan secara optimal oleh membran usus pada kondisi pH yang mendekati fisiologis. Setelah menit ke-20, konsentrasi menurun menjadi 41,733 µg/mL pada menit ke-30 dan 29,666–27,666 µg/mL pada menit ke-40 hingga ke-50, sebelum meningkat kembali menjadi 55,733 µg/mL pada menit ke-60. Pola naik-turun tersebut menggambarkan kondisi mendekati semiequilibrium, di mana difusi balik, efek pengenceran serial, dan kemungkinan redistribusi obat dalam jaringan dapat menghasilkan variasi konsentrasi terukur dari satu titik waktu ke titik berikutnya.

3.5 Pengaruh pH terhadap Absorpsi Parasetamol

Perbandingan antara Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan bahwa pada sebagian besar titik waktu setelah menit ke-10, konsentrasi parasetamol pada kondisi pH 7,4 cenderung lebih tinggi dibandingkan pada pH 5,8. Temuan ini sejalan dengan prinsip bahwa parasetamol, sebagai basa lemah dengan pKa ≈ 9,38, berada dalam fraksi non-ionik yang lebih besar pada pH mendekati netral, sehingga difusi pasif transelular melalui membran mukosa berlangsung lebih optimal (Supiyani dkk., 2023; Azman dkk., 2022). Fase peningkatan tajam pada 10–20 menit pertama pada kedua kondisi pH mencerminkan bagian kurva yang paling representatif untuk menghitung konstanta laju absorpsi dan permeabilitas aparen, karena pada rentang waktu tersebut hubungan antara waktu dan konsentrasi masih relatif linear sebelum pengaruh faktor sekunder seperti difusi balik dan penurunan viabilitas jaringan menjadi lebih dominan.

Secara metodologis, kemampuan mukosa duodenum mempertahankan proses transpor hingga durasi inkubasi 60 menit menegaskan bahwa kondisi termostat 37°C dengan aerasi Krebs–Ringer memadai untuk menjaga viabilitas jaringan dalam rentang waktu tersebut, walaupun mulai tampak tanda fluktuasi pada menit-menit akhir inkubasi.

Hal ini konsisten dengan rekomendasi penggunaan model everted sac yang umumnya

dibatasi hingga 60–90 menit untuk menjaga keandalan data (Noorman dkk., 2024). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa pH intraluminal memodulasi absorpsi parasetamol terutama melalui perubahan fraksi non-ionik pada lumen usus, dan memberikan dasar data eks vivo yang dapat digunakan untuk optimasi formulasi sediaan oral yang mempertimbangkan variasi pH saluran cerna.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, model duodenum everted sac kelinci berhasil dikembangkan dan menghasilkan segmen usus yang viabel, tidak bocor, serta mempertahankan struktur mukosa sehingga layak digunakan untuk studi absorpsi parasetamol. Variasi pH dapar fosfat terbukti memengaruhi profil absorpsi parasetamol pada kompartemen serosa, dengan kondisi pH yang lebih mendekati fisiologis duodenum (pH 7,4) menunjukkan konsentrasi absorpsi yang secara umum lebih tinggi dibandingkan kondisi pH pasca-gastrik (pH 5,8). Kurva kalibrasi pada kedua pH menghasilkan hubungan linear yang kuat antara konsentrasi dan absorbansi, sehingga metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 243 nm dapat diandalkan untuk kuantifikasi kadar parasetamol pada cairan serosa.

DAFTAR PUSTAKA

Azman, M., Sabri, A. H., Anjani, Q. K., Mustaffa, M. F., & Hamid, K. A. (2022). Intestinal absorption study: Challenges and absorption enhancement strategies in improving oral drug delivery. Pharmaceuticals, 15(8), 975. https://doi.org/10.3390/ph15080975

Bagnall, W. E. (1979). The gastrointestinal absorption of paracetamol in the rat: In vitro and in vivo studies including everted gut sacs. Diakses dari https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34689/

Diningsih, Y., & Hasibuan, E. S. (2023). Analisis kadar parasetamol dalam sediaan tablet dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible. https://ojs.unhaj.ac.id/index.php/fj/article/view/914

Lee, K.J., dkk. (2005). Effect of experimental pH on the in

vitro permeability in intact rabbit intestines and Caco-2 monolayer. *Eur J Pharm Sci*. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.02.012

Mészáros, P., Kovács, S., Kulcsár, G., Páskuj, M., & Almási, A. (2022). Investigation of intestinal absorption and excretion of paracetamol in streptozotocin-induced hyperglycemia. International Journal of Molecular Sciences, 23(19), 11913. https://doi.org/10.3390/ijms231911913

Morita, T., Yoshida, H., Tomita, N., & Sato, Y. (2025). Pharmaceutical excipients that alter intestinal drug Absorption: A systematic review of Excipient–Drug interactions. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 107850. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107850

Noorman, L., van der Hee, B., & Gilbert, M. S. (2024). Assessing seromuscular layer and serosa removal on intestinal permeability measurements in weaned piglet everted sac segments. Diakses dari https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11222984/

Onoue, S., Yamada, K., & Sato, H. (2025). Advanced oral drug delivery systems: Current challenges and emerging technologies. Acta Pharmaceutica Sinica B. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2025.11.036

Patil, A., Raheja, V., & Damre, A. (2010). Simultaneous analysis of intestinal permeability markers, caffeine, paracetamol and sulfasalazine by RP-HPLC: Tool for the standardization of rat everted gut sac model. Diakses dari https://www.researchgate.net/publication/215926953

Shi, Q., Carrillo, J.-C., & Michael, G. (2022). Assessment of the intestinal absorption of higher olefins by the everted gut sac model in combination with in silico new approach methodologies. Chemical Research in Toxicology. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00089

Supiyani, A., Agussetiandari, I., Handayani, T., & Sukmawati, D. (2023). Effects of synbiotic milk on the duodenal mucosa structure of mice induced by high doses of trans oil: Animal research. Health

Information: Jurnal Penelitian, 15(1), 23–31.

Wang, R., Kang, Z., Li, M., Zhang, Z., Guo, Y., Niu, S.,& Liu, M. (2025). Effect of luteolin on ceftiofur intestinal absorption: the rational use of Caco-2 monolayer cell model and everted gut sac model. Poultry Science, 104(9), 105409. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105409

Xie, L., Hong, Y., Hu, Y., Li, H., Lou, J., & Zhou, X. (2025). Prioritizing oral bioavailability in drug development strategies. Future Medicinal Chemistry, 17(2), 149-151. https://doi.org/10.1080/17568919.2024.2444871

Zanuba, A., Permatasari, L., Febrianingsih, K. D., Anindiya, N. W., Razkianita, H., & Mustika, M. J. (2025). Review artikel: validasi metode analisis kadar parasetamol dalam sediaan obat menggunakan berbagai instrumen. Sasambo Journal of Pharmacy, 6(1), 56-61. DOI: 10.29303/sjp.v6i1.502