

Profil Farmakokinetik Amikasin Pemberian Intravena Melalui Vena Sublingualis dan Coccygea pada Ular Sanca Batik

(PHARMACOKINETIC PROFILE OF AMIKACIN ADMINISTERED INTRA VENOUSLY VIA SUBLINGUAL AND COCCYGEA VEINS IN BROGHAMMERUS RETICULATUS)

Agustina Dwi Wijayanti^{1*}, Slamet Rahardjo²,
Antasiswa Windraningtyas Rosetyadewi¹, Adi Tri Septyanto³

¹ Bagian Farmakologi, ² Bagian Ilmu Penyakit Dalam,

³Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan,

FKH, Universitas Gadjah Mada,

Jl Fauna No.2 Karangmalang Yogyakarta

Email : tinabudiyanto@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang profil farmakokinetik amikasin pada ular sanca batik (*Broghammerus reticulatus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui beberapa parameter farmakokinetik amikasin yang diharapkan bermanfaat dalam manajemen terapi pada kelas reptilia. Subyek yang digunakan adalah delapan ekor ular sanca batik dewasa dengan bobot badan berkisar 2-14 kg dan dibagi menjadi dua kelompok (n=4). Amikasin diberikan dengan dosis 5 mg/kg bb melalui vena sublingualis (anterior) dan vena *coccygea* (posterior). Selanjutnya darah diambil secara intrakardial pada setiap ular pada menit ke-1, 5,10 ,30, 60, 120, 240, 480, 960, 1440 (24 jam) dan 2880 (48 jam) setelah injeksi obat. Darah ditampung dalam tabung dengan heparin, selanjutnya disentrifus 2500 G untuk memperoleh plasma dan disimpan dengan suhu -20°C. Ekstraksi plasma dilakukan dengan asam trikloroasetat 10%, selanjutnya diinjeksikan ke sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Shimadzu versi 6.1. Hasil analisis menggunakan Uji T terdapat perbedaan yang nyata kadar amikasin pemberian intravena sublingualis lebih rendah daripada *coccygea* (P<0,05). Parameter farmakokinetik amikasin dihitung menggunakan cara non kompartemental dan didapatkan hasil untuk pemberian intravena sublingualis Vd 3,6 L, , klirens 0,066 mL/menit/kg, AUC 75,384 ug/mL.menit. Hasil untuk intravena *coccygea* adalah Vd 0,78 L, T1/2 213,09 jam, klirens 0,427 mL/menit/kg, AUC 117.143,7 ug/mL/menit.

Kata-kata kunci : profil farmakokinetik, amikasin, ular.

ABSTRACT

The research was conducted to find out the pharmacokinetic profile of amikacin in sanca batik snake (*Broghammerus reticulatus*) which is expected to be beneficial in the therapy management of reptiliaes. The eight of adult snakes with averages body weight of 2-14 kg were used and they were devided into two groups (n=4). Amikacin (5 mg/kg bw) was given by sublingualis (anterior) or coccygea (posterior) venous in groups, respectively. Blood samples were collected by intracardiac puncture to all snakes at minutes 1, 5,10, 30, 60, 120, 240, 480, 960, 1440 (24 hours) and 2880 (48 hours) post administrations. Bloods were collected using heparinized tubes and sentrifuged at 2500 G to obtain the plasma. The Plasma samples were stored at -20°C. Plasma were firstly extracted with trichloroacetid acid solution 10% and then injected into High Performace Liquid Chromatography Shimadzu 6.1. The results of amikacin levels were statistically lower on sublingualis vein administration as compared to that of coccygea vein administration using Student T-Test (P<0.05). The pharmacokinetic parameters were calculated with non compartmental method resulted for anterior application : Vd 3.6 L, clearance 0.066 mL/minute/kg, AUC 75.384 ug/ mL.minute and for posterior application : Vd 0.78 L, T1/2 213.09 hours, clearance 0.427 mL/minute/kg, AUC 117.143,7 ug/mL/minute.

Keywords: pharmacokinetic profile, amikacin, snake

PENDAHULUAN

Studi farmakokinetik pada reptilia masih perlu terus dikembangkan karena hingga saat ini kajiannya masih terbatas pada beberapa antibiotik. Dalam memilih antibiotik terdapat beberapa pertimbangan yang harus dilakukan yaitu jenis spesies yang diobati, tingkat resistensi, kondisi fisik pasien, frekuensi pemberian, nilai terapi dan pertimbangan pemilik (Mader, 2008). Selain itu profil farmakokinetik obat menjadi sangat penting untuk manajemen terapi karena tanpa mengetahuinya, hasil terapi pada reptilia menjadi sulit diduga, dan kemungkinan hanya didasarkan pada pengamatan klinis. Profil farmakokinetik membantu menentukan dosis dan dosis inisial, frekuensi pemberian, pilihan obat hingga menghindari toksisitas dan residu.

Kelas reptilia memiliki perbedaan dengan mamalia, karena reptilia bersifat eksoterm (suhu tubuh tergantung lingkungan), metabolisme variatif dan cenderung lebih lambat, cara hidup yang unik serta habitat hidup yang spesifik. Perbedaan anatomi dan fisiologi sangat memengaruhi nilai-nilai farmakokinetik suatu obat sehingga nilai farmakokinetik suatu obat pada kelas mamalia tidak bisa diaplikasikan untuk pertimbangan terapi pada kelas reptilia. Pengobatan pada hewan bersuhu eksotermis memerlukan suatu manajemen terapi yang berbeda dari kelas mamalia. Reptilia beradaptasi dengan menyesuaikan suhu lingkungan dengan aktivitas dan mekanisme fisiologinya untuk mencapai dan memelihara suhu tubuh yang paling sesuai untuk metabolisme (*Preffered Body Temperature/PBT*) (Raiti,2002). Dalam suhu ini reptilia mampu melakukan proses fisiologi dan biokimia tubuh secara optimal, terutama untuk memberikan respons imun terbaik terhadap agen infeksi.

Hingga saat ini sedikit sekali studi tentang aminoglikosida pada reptilia. Amikasin sebagaimana golongan aminoglikosida lain bersifat nefrotoksik karena eliminasi terjadi pada glomerulus dan obat dikonsentrasikan pada tubulus renalis proksimal (Brown dan Riviere, 1991). Memantau kadar obat dalam darah sangat membantu membatasi sifat toksik obat dalam manajemen terapi. Amikasin memiliki daya absorpsi yang buruk di saluran pencernaan sehingga sering diberikan secara parenteral. Obat ini bersifat sangat polar karenanya sukar menembus sel tanpa bantuan sistem transpor. Selain memiliki sifat nefrotoksitas, amikasin

juga bersifat neurotoksik, dan memiliki ototoksitas (Booth,1995). Dalam beberapa spesies, efek nefrotoksik dapat dikurangi dengan menurunkan frekuensi pemberian obat (Rowland dan Tozer, 1989). Perbedaan antar spesies dan ekstrapolasi data dapat dilakukan untuk menentukan dosis namun seringkali efektivitas terapi tidak tercapai.

Antibiotik amikasin penggunaannya pernah dilaporkan oleh Mader *et al.*, (1985) pada ular *gopher*. Dosis terapi yang dianjurkan adalah 5 mg/kg bb (*loading dose*) dan diikuti 2,5 mg/kg bb setiap 72 jam. Farmakokinetik amikasin pernah dilaporkan oleh Johnson *et al.*, (1997) pada *ball python*. Pemberian amikasin dilakukan secara intrakardia dan intramuskuler dan hewan dipelihara dalam suhu yang berbeda (25 dan 37°C). Penelitian tersebut mencoba membuat acuan dosis amikasin pada *ball python* dalam kisaran suhu tertentu. Studi lain tentang efektivitas amikasin dan gentamisin pernah juga diteliti oleh Mader *et al.* (1985) dan Hilf *et al.*, (1991) pada hewan reptilia lain. Profil farmakokinetik obat ini pada ular sanca batik belum pernah dilaporkan. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui beberapa parameter farmakokinetik amikasin untuk melakukan terapi pada reptilia (ular).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan delapan ekor ular sanca batik dengan bobot badan 2-14 kg yang dibagi menjadi dua kelompok (n=4). Ular diperoleh dari daerah Jawa Tengah dan diadaptasikan dalam kandang individu selama tiga minggu. Selama masa adaptasi dilakukan pemeriksaan kesehatan umum dan semua ular dinyatakan sehat secara klinis. Sebelum perlakuan pada masing-masing ular diambil darahnya sebagai pembanding (kontrol) sebanyak 1 mL. Perlakuan yang diberikan adalah pada kelompok I ular disuntik amikasin (Alostil®) intravena melalui vena sublingualis dan pada kelompok II diberikan melalui vena *coccygea*. Dosis yang digunakan adalah 5 mg/kg bb. Sebelum perlakuan, ular direstrain menggunakan kombinasi ketamin-xilasin, masing-masing dengan dosis 30 mg/kg bb dan 2 mg/kg bb.

Setelah diinjeksi dengan obat tersebut, pada masing-masing ular dilakukan pengambilan darah secara intrakardial. Darah diambil

sebanyak 1 mL pada menit ke-1, 5,10 ,30, 60, 120, 240, 480, 960, 1440 (24 jam) dan 2880 (48 jam). Darah diambil menggunakan spoit ukuran 3 mL dan jarum 24 G. Sampel darah ditampung dalam tabung berisi heparin, dan disentrifus 2500 G selama lima menit. Plasma dikoleksi dalam tabung steril dan disimpan dalam lemari es (18° C) hingga darah dianalisis.

Analisis kadar amikasin dilakukan dengan terlebih dahulu mencampur plasma dengan larutan asam trikloroasetat 10% dan menggunakan fase gerak dengan perbandingan 1:1:2. Campuran selanjutnya *divortex* selama 20 detik dan disentrifus 2500 G selama 15 menit. Selanjutnya supernatan diambil dan diinjeksikan ke dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Shimadzu versi 6,1 menggunakan program ClassVp. Pengaturan KCKT dilakukan dengan menggunakan fase gerak larutan asam oksalat: asetonitril:metanol (6:3:1), fase diam kolom Shimpack diameter 5µm panjang 150 mm, kecepatan alir 1 mL/menit. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 350 nm dengan detektor *ultra violet-visible* selama lima menit, dan suhu ruang 25° C. Volume injeksi yang diukur adalah 20 µL.

Sebelum mengukur kadar amikasin dalam sampel, dilakukan validasi metode untuk Alostil® dan *spiking* obat dalam plasma. Kadar obat dalam plasma sampel adalah respons (puncak area) yang dibandingkan dengan kurva standar hasil *spiking* obat. Parameter farmakokinetik (*Area Under Curve/AUC*, *Klirens/Cl*, *T1/2* eliminasi, dan *Vd/Volume of distribution*) dilakukan secara non kompartemental (Ritschel, 1995). Nilai AUC

dihitung menggunakan metode *trapezoidal linier*. *Klirens* dihitung menggunakan rumus $\frac{F \cdot Dose}{AUC}$ dengan F adalah ketersediaan hayati

obat. *T1/2* eliminasi dihitung dengan rumus $\frac{0,693}{k}$, dan k adalah *slope* atau kemiringan

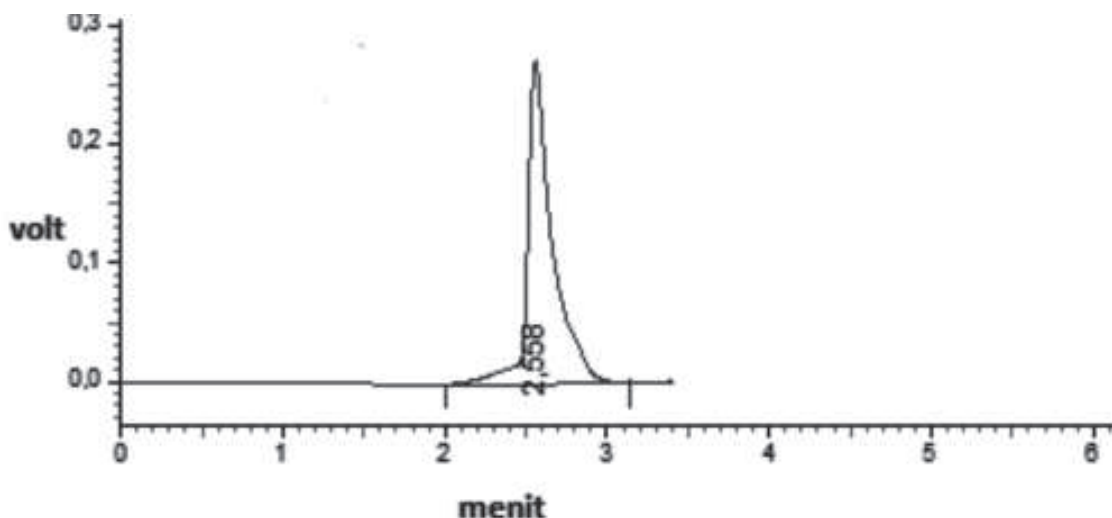
pada fase terminal grafik kadar yaitu nilai $\log \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$ dan *Vd* dihitung dengan rumus,

$\frac{F \cdot Div}{K \cdot AUC}$, dengan Div adalah dosis intravena

(Shargel *et al.*, 2005). Nilai F intravena adalah 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil validasi metode terhadap obat didapatkan dengan melakukan serangkaian pengenceran dan diperoleh linearitas $Y = 2328,1x + 304,6$ dengan koefisien korelasi $r = 0,92$. Validasi metode juga dilakukan terhadap obat yang di-*spike* dengan plasma ular dan didapatkan persamaan garis lurus $Y = 317,5x + 31,6$ dengan koefisien korelasi $r = 0,93$. Puncak kadar amikasin terdeteksi cukup jelas dengan waktu retensi 2,4-2,5 menit. Limit deteksi dan kuantifikasi adalah 0,01 µg/mL. Presisi diukur dengan melihat hasil ukur dalam satu hari (*intraday*) dan berturut turut setiap hari selama tiga hari (*interday*). Ketepatan atau akurasi



Gambar 1. Kromatogram dan waktu retensi (2,5 menit) amikasin konsentrasi 25µg/mL

pengukuran dihitung dengan melihat nilai perolehan kembali (CV %). Gambar 1 menyajikan profil kromatogram dan waktu retensi amikasin konsentrasi 25 µg/mL. Data validasi selengkapnya disajikan dalam Tabel 1.

Hasil analisis kadar obat dalam plasma ular didapatkan dengan membandingkan puncak area dengan kurva standar dari hasil validasi. Adapun kadar obat dari sampel seperti tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2 menjelaskan bahwa kadar amikasin yang diberikan melalui jalur posterior pada semua interval waktu lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian anterior. Kadar tertinggi pada pemberian posterior adalah $81,9 \pm 18,8$ pada menit pertama setelah pemberian dan kadar tertinggi anterior adalah $37,1 \pm 23,5$ pada menit ke 120. Berdasarkan pengujian

T-test terdapat perbedaan kadar yang signifikan pada semua waktu pengambilan sampel antara pemberian anterior dan posterior ($P < 0,05$).

Pola kadar obat pemberian posterior memiliki kadar puncak pada awal pemberian seperti lazimnya pemberian intravena di kelas mamalia, diikuti penurunan kadar namun ada fluktuasi kadar antara menit 30 hingga 960, sebelum akhirnya kadar obat turun kembali. Pada pemberian anterior, kurva yang dihasilkan fluktuatif dengan puncak kadar obat terjadi pada menit ke 120. Fase eliminasi tidak terlihat sehingga pada pemberian anterior, nilai $T_{1/2}$ tidak bisa ditentukan. Hasil perhitungan parameter farmakokinetik disajikan pada Tabel 3.

Kadar maksimal amikasin pemberian posterior ($81,9 \mu\text{g/mL}$) lebih tinggi dibandingkan anterior ($37,1 \mu\text{g/mL}$). Nilai ini lebih tinggi dari kadar maksimal yang dilaporkan Johnson *et al.*, (1997) yang menyatakan *C max* amikasin pemberian *intracoelum* adalah $11,5 \mu\text{g/mL}$. Penelitian tersebut memberikan profil kadar obat dalam darah yang mirip antara pemberian

Tabel 1. Data validasi pengukuran amikasin menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

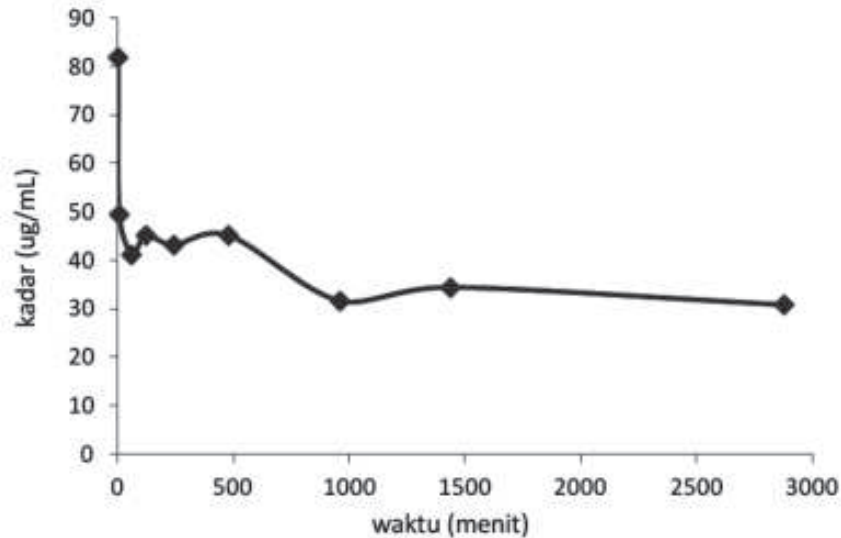
Parameter	Nilai
Waktu retensi	2,4-2,5 menit
Limit deteksi (<i>Limit of Detection</i>)	0,01 µg/mL
Limit determinasi (<i>Limit of Quantification</i>)	0,01 µg/mL
Stabilitas (25 °C)	3 hari
Akurasi/rekoveri <i>intraday</i> dan <i>interday</i>	82-105% dan 85-107%
Presisi <i>intraday</i> dan <i>interday</i>	0,86 dan 1,02
Linearitas obat	$Y=2328x+304,6$ $r=0,92$
Linearitas <i>spiking</i> obat dalam plasma	$Y=317,5x+31,6$ $r=0,93$

Tabel 2. Perbandingan kadar amikasin pemberian anterior (vena sublingualis) dan posterior (vena *coccygea*) dalam µg/mL

Waktu (menit)	Kadar amikasin (rata-rata ± SD)	
	posterior	anterior
1	$81,9 \pm 18,8$	$20,1 \pm 9,5$
5	$49,6 \pm 35,1$	$22,4 \pm 2,5$
10	$37,7 \pm 15,5$	$23,5 \pm 2,5$
30	$26,7 \pm 0,9$	$22,5 \pm 1,9$
60	$41,4 \pm 14,4$	$21,5 \pm 3,6$
120	$45,2 \pm 17,37$	$37,1 \pm 23,5$
240	$43,2 \pm 22,7$	$31,1 \pm 10,3$
480	$45,1 \pm 20,8$	$29,4 \pm 6,5$
960	$31,6 \pm 14,0$	$22,6 \pm 3,4$
1440	$34,4 \pm 18,2$	$20,2 \pm 5,4$
2880	$30,8 \pm 10,3$	$19,0 \pm 2,3$

Tabel 3. Perbandingan profil farmakokinetik amikasin 5 mg/kg bb pemberian intravena anterior dan posterior.

Parameter	Satuan	posterior	anterior
Volume distribusi (Vd)	L/kg	0,78	3,6
T1/2 eliminasi	menit	12.786	-
	jam	213,09	-
Klirens	mL/menit/kg	0,0427	0,066
AUC	µg/mL.menit	117.143,7	75.384



Gambar 3. Kurva eliminasi amikasin pada pemberian intravena posterior

intrakardial dan intramuskuler. Pada pemberian intramuskuler kadar obat pada kisaran waktu 15 hingga 360 menit setelah pemberian adalah 10-11 µg/mL. Pada penelitian ini adanya fluktuasi kadar pada waktu 30 hingga 280 menit belum dapat dijelaskan, akan tetapi dimungkinkan adanya pengaruh perubahan metabolisme ular akibat restrain kimiawi yang diberikan. Volume distribusi pada pemberian anterior menunjukkan nilai yang lebih tinggi (3,6 L/kg) dibandingkan posterior (0,78 L/kg), dengan catatan perhitungan nilai *slope* dan AUC pada pemberian posterior lebih tinggi dibandingkan dengan anterior, sehingga faktor pembagi untuk posterior lebih besar. Namun, pengertian Vd sebenarnya adalah nilai volume hipotesis yang diperlukan untuk melarutkan obat yang ditemukan di dalam darah (Rowland dan Tozer, 1989). Nilai Vd yang tinggi menunjukkan obat terdistribusi cukup tinggi di dalam cairan tubuh dan memiliki penetrasi ke jaringan yang baik. Pada reptilia, kisaran Vd untuk amikasin pada kura-kura *Gopher* pada temperatur 20-30° C adalah 0,221

L/kg dan 0,241 L/kg (Caligiuri *et al*, 1990).

Nilai T1/2 eliminasi pemberian posterior adalah 213,09 jam. Gambar 3 menyajikan kurva eliminasi untuk pemberian intravena posterior. Nilai T1/2 untuk pemberian anterior tidak bisa ditentukan karena hingga menit ke 2880 tidak nampak adanya fase eliminasi dari kurva kadar. Penelitian farmakokinetik marbofloksasin pada *Python regius* yang dilaporkan oleh Coke *et al.*, (2006) juga menunjukkan adanya fluktuasi kadar sehingga menyulitkan penetapan parameter farmakokinetik. Nilai ini lebih lama dibandingkan dengan yang dilaporkan Johnson *et al.*, yaitu berkisar 4,5 hari (108 jam). Penelitian Hilf *et al.* (1991) tentang farmakokinetik golongan aminoglikosida lain yaitu gentamisin pada *Python curtus* menyatakan waktu paruh obat bervariasi antara 32 hingga 110 jam. Adkesson *et al.*, (2011) melaporkan nilai T1/2 *ceftiofur* pada *Python regius* 64,31 jam dengan variasi individu yang lebar (14,2 jam).

Nilai klirens pemberian anterior lebih tinggi (0,066 mL/menit/kg) dibandingkan posterior

yaitu 0,0427 mL/menit/kg. Namun demikian nilai AUC pemberian posterior lebih tinggi (117.143,7 $\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{menit}$) dibandingkan dengan anterior (75.384 $\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{menit}$). Penelitian Holz *et al.*, (1997) tentang pengaruh vena portal renalis terhadap profil farmakokinetik gentamisin pemberian anterior dan posterior tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap T_{max} , C_{max} , $T_{1/2}$, AUC, klirens, dan Vd. Senyawa aminoglikosida memiliki efek nefrotoksik sehingga aplikasi senyawa ini selalu mempertimbangkan kemungkinan risiko akumulasi pada ginjal. Pada reptilia pemberian obat lebih sering dilakukan melalui bagian anterior tubuh karena pemberian melalui posterior dianggap akan menurunkan kadar dan efikasi obat karena adanya struktur vena portal renalis. Beberapa hasil penelitian tentang pengaruh vena portal renalis terhadap obat (Holz *et al.*, 1997; Beck *et al.*, 1995) ternyata belum dapat memberikan jawaban bahwa pemberian obat melalui bagian posterior menyebabkan penurunan kadar atau efikasi obat. Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) amikasin untuk ular belum diketahui, namun berdasarkan pengamatan klinis, tidak terdapat gejala toksisitas pada semua hewan coba hingga akhir penelitian meskipun kadar obat cukup tinggi. Menurut Craig *et al.*, (1991) untuk aminoglikosida dibutuhkan 8-10 kali MIC untuk memberikan efek terapi, dan berdasarkan perhitungan nilai MIC amikasin untuk mamalia maka nilai tersebut adalah 2-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Lorian, 1991). Namun, harus diingat bahwa beberapa mikroorganisme pada mamalia telah mengalami resistensi, sedang pada reptilia penelitian tentang resistensi agen infeksi masih terbatas.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan pemberian amikasin pada ular sanca batik (*B. reticulatus*) secara intravena posterior memberikan kadar yang lebih tinggi dibandingkan anterior. Profil farmakokinetik pemberian anterior memiliki nilai-nilai Vd dan klirens yang lebih tinggi, dan nilai AUC yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian posterior.

DAFTAR PUSTAKA

- Adkesson MJ, Fernandez-Varon E, Cox S, Martin-Jimenez, T. 2011. Pharmacokinetics of long-acting ceftiofur formulation (ceftiofur crystalline free acid) in the ball python (*Python regius*). *J Zoo Wildlife Med* 42(3):444-450
- Beck K, Loomis M, Lewbart G, Spelman L, Papich M. 1995. Preliminary comparison of plasma concentrations of gentamicin injected into the cranial and caudal limb musculature of the eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*). *J Zoo Wildlife Med* 26:265-268.
- Booth NH. 1995. Toxicology of Drug and Chemical Residue. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Ed. By Booth NH and McDonald LE. Iowa State University Press Pp 1157-1160.
- Brown SA, Riviere JE. 1991. Comparative pharmacokinetics of aminoglycoside antibiotics. *J Vet Pharmacol Ther* 14:1-35
- Caligiuri, R, Kollias, GV, Jacobson, F, McNab, B, Clark, CH, Wilson, RC. 1990. The effect of ambient temperature on amikacin pharmacokinetic in gopher tortoises. *J Vet Pharmacol Ther* 13:287-291.
- Coke RL, Isaza R, Koch DE, Pellerin MA, Hunter, RP. 2006. Preliminary single-dose pharmacokinetic of marbofloxacin in ball python (*Python regius*). *J Zoo Wildlife Med* 37(1):6-10.
- Craig WA, Redington, J, Ebert, SC. 1991. Pharmacodynamic of amikacin in vitro and in mouse thigh and lung infections. *J Antimicrob Chemother* 27(suppl.c):29-40.
- Hilf M, Swanson D, Wagner R. 1991. A new dosing schedule for gentamicin in blood pythons (*Python curtus*): a pharmacokinetic study. *Res Vet Sci* 50:127-130.
- Holz P, Barker IK, Burger JP, Crawshaw GJ, Conlon PD. 1997. The effect of the renal portal system on pharmacokinetic parameters in the red-eared slider (*Trachemys Scripta Elegans*). *J of Zoo and Wildlife Med* 28(4):386-393.
- Johnson JH, Jensen JM, Brumbaugh GW, Boothe DM. 1997. Amikacin pharmacokinetics and the effects of ambient temperature on the dosage regimen in ball python (*Python regius*). *J of Zoo and Wildlife Med* 28(1): 80-88.

- Lorian V. 1990. Susceptibility to antibiotics. In; *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore. Williams and Wilkins. Pp.1040-1041.
- Mader DR, Conzelman GH, Baggot JG. 1985. Affect of ambient temperature on the half-live and dosage regimen of Amikacin in the gopher snake. *J Am Vet Med Assoc* 187 : 1134-1136.
- Mader DR. 2008. Antibiotic therapy in reptiliae. *In CVC Proceeding*. Pp. 20-23.
- Raiti P. 2002. Snakes. In: Anna Meredith & Sharon Redrobe (ed). *BSAVA Manual of Exotic Pets*. 4th ed. British Small Animal Veterinary Association. 241-256.
- Ritschel WA. 1992. *Handbook of Basic Pharmacokinetic. Including Clinical Applications*. Drug Intelligent Pub. Inc. Hamilton. London. 225,292,356-363.
- Rowland, M, Tozer, TN.1989. *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Application*. Philadelphia. Lea and Febiger. Pp 33-47.
- Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC. 2005. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics*. 5th ed. Mc. Graw Hill. Company, Inc. USA. pp.37-41
- Shine R, Ambariyanto PS, Harlow, Mumpuni. 1999. Reticulated pythons in Sumatra, harvesting and sustainability. *Biological Conservation* 87: 349-357.