

ANALISIS SENYAWA OBAT DALAM SAMPEL BIOLOGIS PLASMA DARAH

Angel Novia Fransiska, Diba Masyrofah, Gita Kurniawati Putri, Lhidya Halizah Malik, Putri Wulanbirru, Tintia Rafika Putri

Universitas Singaperbangsa Karawang (UNSIKA) Jawa Barat, Indonesia

Email: angelnovia199@gmail.com, masyrofahdiba118@gmail.com,
gitakurniawatiputri@gmail.com, lhidyahalizahmalik@gmail.com,
wulanbirru03@gmail.com, tintiarafika.trp15@gmail.com

Abstrak

Senyawa obat yang digunakan dalam penelitian ini adalah plasma dengan amoksisilin, gliburida, vankomisin, amlodipin, dan parasetamol. Kromatografi-Spektrometri Massa (GC-MS). Senyawa pertama yang digunakan yaitu amoxicillin, konsentrasi plasma diukur pada 250 g/mL dan 500 g/mL, dan masing-masing konsentrasi diulang 3 kali. Gliburida, konsentrasi plasma ditentukan dengan 3 konsentrasi yaitu 1 g/mL, 2 g/mL dan 4 g/mL, dan masing-masing konsentrasi diulang 5 kali. Untuk Vankomisin, 4 konsentrasi digunakan untuk penentuan konsentrasi plasma, yaitu 3 g/mL, 15 g/mL, 31,5 g/mL dan 48 g/mL konsentrasi yang sesuai untuk penentuan amoksisilin, yaitu tingkat 500 g/mL. Semua konsentrasi sesuai untuk penentuan glyburide metode yang paling akurat adalah metode kromatografi cair/spektrometri massa (LC/MS), dan asetaminofen menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC/MS) metode.-MS), kadar parasetamol dalam sampel darah yang diperoleh adalah 175,2 ppm.

Kata kunci: kadar; plasma darah; senyawa obat

Abstract

The drug compounds used in this study were plasma with amoxicillin, glyburide, vancomycin, amlodipine, and paracetamol. Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The first compound used was amoxicillin, plasma concentrations were measured at 250 g/mL and 500 g/mL, and each concentration was repeated 3 times. Gliburides, plasma concentrations were determined in 3 concentrations, namely 1 g/mL, 2 g/mL and 4 g/mL, and each concentration was repeated 5 times. For Vancomycin, 4 concentrations were used for determination of plasma concentrations, namely 3 g/mL, 15 g/mL, 31.5 g/mL and 48 g/mL concentrations suitable for determination of amoxicillin, i.e. levels of 500 g/mL. All concentrations were suitable for the determination of glyburide the most accurate methods were liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS), and acetaminophen using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) method.-MS), levels of paracetamol in blood samples obtained is 175.2 ppm.

Keywords: rate; blood plasma; medicinal compound

Received: 2022-04-22; Accepted: 2022-05-05; Published: 2022-05-11

Pendahuluan

Validasi metode analisis merupakan proses yang menjamin analisis akurat, sfesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis telah sesuai dengan penggunaan yang dikehendaki (Fauziah et al., 2017). Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya. Adapun parameter-parameter tersebut antara lain adalah kecermatan (akurasi), kesaksamaan (presisi), selektivitas, linearitas dan rentang, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ), ketangguhan metode, kekuatan metode (Nyoman et al., 2015). Suatu metode analisis bisa dapat digunakan jika telah dilakukan validasi dan menyesuaikan dengan kondisi laboratorium dan peralatan yang tersedia, meski metode yang akan digunakan telah dipublikasi pada jurnal atau buku teks resmi (Uno et al., 2015).

Matriks biologi yang sering digunakan untuk menganalisis kadar obat atau senyawa lain adalah serum, urine, darah, dan saliva. Matriks biologi (terutama darah) diperoleh dengan cara invasif melalui vena (*Venipuncture*) (Supandi, 2015). Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan distribusi dari komponen yang ada di fasa gerak dan fasa diam (Rizalina et al., 2018).

Pemeriksaan kadar obar dalam plasma darah yaitu metode yang susuai untuk menjamin kualitas obat dan optimalisasi terpai obat dalam pelayanan farmasi, maka dari itu diperlukan metode analisis yang valid untuk menentukan kadar senyawa obat yang ada di dalam plasma darah (Tania et al., 2016). Untuk senyawa obat yang dipakai berbeda-beda, sedangkan untuk sampel biologisnya sama yaitu plasma darah dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk penetapan Amoxicillin, Glibenclamide, vankomisin, Kromatografi Gas untuk penentuan Amlodipin, dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk Paracetamol.

Senyawa obat yang pertama, Amoxicillin adalah antibiotik semisintetik penisilin yang memiliki cincin B-laktam biasanya di gunakan pada terapi phenomia (Sofyani et al., 2018). Amoxicillin merupakan antibiotik yang konsentrasi dalam darah sangat kecil sehingga diperlukan metode analisis yang sensitif, selektif, dan valid untuk analisis (Sofyani et al., 2018). Berdasarkan *Food and Drug Administration* (FDA) merupakan salah satu obat yang wajib diuji bioekuivalensinya, uji bioekivalensi ini berkatan dengan kualitas obat yang ada di dalam plasma darah yang penting dilakukan untuk menjamin obat yang diuji memiliki khasiat dan keamanan untuk pasien (Nyoman et al., 2015), (Tania et al., 2016).

Senyawa obat yang ke dua, Glibenclamide adalah obat antidiabetika golongan sulfonilurea yang sukar larut dalam air (Rohayati et al., 2015). Salah satu golongan antidiabetik oral yang sering digunakan ialah golongan glibenclamide atau sering disebut juga gliburide yang termasuk kedalam obat golongan sulfonil urea (Tresnawati & Saputri, 2017). Glibenclamide bekerja dengan cara menstimulasi pengeluaran insulin dengan cara menghambat penempelan reseptor sulfonil urea di sel β pulau langhears

dan akhirnya menyebabkan adanya tegangan pembukaan calcium channel yang akhirnya terjadi peningkatan kalsium intra sel β . Analisis glibenklamid dalam cairan biologi dilaporkan dapat dilakukan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), spektrofotometri ultraviolet-visibel, elektroforesis kapiler, serta kromatografi cair spektrometri massa (Tresnawati & Saputri, 2017).

Senyawa obat yang ke tiga, Vankomisin merupakan salah satu terapi antibiotika lini pertama yang diindikasikan secara luas pada infeksi bakteri gram positif multi-resisten invasif, terutama pada *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di banyak negara, vankomisin digunakan untuk injeksi komplikasi seperti meningitis, pneumonia, osteomyelitis dan endocarditis (Suardi et al., 2016), (Wibowo, Maulidina, Fitri, & Ningrum, 2019). Jika dibandingkan antibiotika lainnya, vankomisin memiliki indeks terapeutik sempit dengan tingkat variabilitas farmakokinetika tinggi. Beberapa metode penetapan kadar vankomisin dalam plasma manusia menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor UV fluoresensi, dan spektrometri massa (Wibowo, Maulidina, Fitri, & Ningrum, 2019).

Senyawa obat yang ke empat, Amlodipin adalah obat anti hipertensi (penurunan tekanan darah tinggi) yang sering digunakan, bekerja dengan cara mengendurkan pembuluh darah (Zulfiah, 2019). Pengguna obat ini biasanya sudah ketergantungan dan tidak bisa lepas dengan obat tersebut. Penggunaan obat ini biasanya seumur hidup Amlodipine memberikan efek farmakologis sebagai agen antihipertensi dengan mekanisme kerja *Calcium Channel Blocker* (CCB), analisis amlodipin di dalam plasma darah bertujuan untuk *Therapeutic Drug Monitor* (TDM) (Alawiyah & Mutakin, 2017).

Senyawa obat yang ke lima, paracetamol adalah golongan obat analgesik non opioid yang dijual secara bebas (Sudarma & Subhaktiyasa, 2021b). Paracetamol digunakan untuk meredakan nyeri ringan atau sedang dan kondisi demam ringan (Oktaviana et al., 2019). Obat ini menjadi pilihan analgesik yang relatif aman bila dikonsumsi dengan benar sesuai petunjuk penggunaan. Tujuan dari mereview jurnal ini adalah untuk mengetahui kadar dari beberapa senyawa obat yang berada di dalam plasma darah.

Metode Penelitian

Review jurnal ini menggunakan referensi primer yang berupa jurnal dan bersumber dari google scholar yang sudah dipublikasi dan terpercaya. Metode yang digunakan pada literature review adalah dengan mengumpulkan beberapa jurnal tentang mengetahui kadar senyawa obat dalam plasma darah.

Hasil dan Pembahasan

A. Hasil

Senyawa Obat	Metode	Hasil
Amoxicillin	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	500 µg/mL dengan waktu retensi di menit ke 2,71
Glibenclamide		Resolusi 2,35 dengan waktu retensi di menit ke 1,14 dan 2,5 dengan waktu retensi di menit ke 1,15. (>1,5)
Vankomisin		3 µg/mL dengan waktu retensi di menit ke 5, 613 sampai 5, 811
Amlodipin	Liquid Chromatography/Mass Spectrophotometry (LC/MS)	0,5 µg/mL
Paracetamol	Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC - MS)	175,2 ppm.

B. Pembahasan

Penetapan kadar plasma yang digunakan dalam jurnal ini dilakukan menggunakan 2 konsentrasi berbeda. Pada senyawa pertama Amoxicillin dilakukan penetapan kadar dalam darah menggunakan konsentrasi 250 µg/mL dan 500 µg/mL, tiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Untuk konsentrasi 250 µg/mL dihasilkan rata-rata luas puncak 441847,33, rata-rata waktu retensi 2,76 dan rata-rata kadar terukurnya 1,67. Sedangkan untuk konsentrasi 500 µg/mL rata-rata luas puncak 2069980,33, waktu retensi nya 2,71 dan kadar terukurnya 3,88. Sebelumnya telah dilakukan validasi penetapan kadar Amoxicillin dalam plasma secara *in Vitro* dengan metode yang sudah divalidasi, dan menunjukkan bahwa Amoxicillin memiliki kadar yang sangat rendah, dan maka dari itu diperlukan kadar terukur yang tinggi agar amoxicillin dalam plasma dapat terukur. Dan dapat dibuktikan bahwa konsentrasi yang memiliki nilai kadar terukur yang tinggi adalah konsentrasi kedua yaitu 500 µg/mL, yang artinya kadar yang cocok untuk penetapan amoxicillin yaitu kadar pada konsentrasi 500 µg/mL (Nyoman et al., 2015).

Sedangkan untuk senyawa kedua yaitu Glibenclamide, penetapan kadar dalam darah menggunakan 3 konsentrasi yaitu, 1 µg/mL, 2 µg/mL dan 4 µg/mL, tiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Nilai presisi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi secara berurutan yaitu 16,90%, 10,92% dan 4,91% sedangkan untuk SPE-MIP MAA adalah 1,95%; 4,54%; dan 4,56%.

Untuk nilai akurasi dari tiap konsentrasi diantaranya 95,99%, 99,2%, dan 105,17% secara berurutan. Sedangkan untuk SPE-MIP MAA adalah 92,28%; 106,02%; dan 97,39%. Untuk mengetahui selektivitas metode yang digunakan, dapat dilihat dari daya keterpisahan (resolusi) kedua puncak. Dari pembahasan dapat ketiga konsentrasi cocok atau yang dapat digunakan dalam penetapan kadar Glibenclamide dikombinasikan dengan Metformin dalam darah. Dikatakan demikian karena hasil nilai resolusi yang diperoleh memenuhi persyaratan yakni $>1,5$, yang dilihat dari hasil resolusi yaitu 2,35 dengan waktu retensi di menit ke 1,14 dan 2,5 dengan waktu retensi di menit ke 1,15 (Rohayati et al., 2015).

Sementara itu senyawa ke tiga yaitu Vankomisin, dilakukan penetapan kadar dalam darah menggunakan 4 konsentrasi yaitu, 3 $\mu\text{g/mL}$, 15 $\mu\text{g/mL}$ 31,5 $\mu\text{g/mL}$ dan 48 $\mu\text{g/mL}$, masing-masing konsentrasi dilakukan pengujian sebanyak 5 kali. Hasil dari metode KCKT ini memperoleh nilai CV 1, 21% pada konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ dengan waktu retensi nya di menit ke 5, 613 sampai 5, 811. Kemudian dilakukan juga pengujian akurasi dan presisi kadar vankomisin, hasil dari pengujian akurasi dan presisi kadar vankomisin intra hari diperoleh memiliki kedekatan dengan kadar yang diketahui serta pengujian dari tiap replikasinya memiliki kedekatan satu dengan lainnya. Selain pengujian akurasi dan presisi intra hari, kadar Vankomisin juga dilakukan pengujian akurasi dan presisi antar hari. Pada pengujian antar hari (*between run*) diperoleh dan dinyatakan bahwa nilai % diff dan CV yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 15%. Pada konsentrasi 48 $\mu\text{g/mL}$ diperoleh % diff dengan rentang -13,65% - 13,20% dan CV sebesar 5,97%. Yang maknanya pada pengujian Vanskomin dalam spiked plasma antar hari, yang replikasi nilai kadar nya memiliki kedekatan dengan kadar yang lainnya yaitu pada konsentrasi 48 $\mu\text{g/mL}$ (Wibowo, Maulidina, Fitri, & Dwi, 2019).

Selanjutnya yaitu senyawa keempat, Amlodipin berikatan dengan protein plasma 98% maka dari itu menyebabkan jumlah kadar dalamnya sedikit dan diperlukan metode analisis yang sangat akurat. Metode yang digunakan adalah instrumentasi *Ultra Perfomance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry* dan *Liquid Chromatography/ Mass Spectrophotometry* (LC/MS). Dari kedua metode ini yang paling akurat adalah metode *Liquid Chromatography/ Mass Spectrophotometry* (LC/MS) dikarenakan mampu mendeteksi konsentrasinya lebih kecil sehingga digunakan dalam analisis amlodipin dalam cairan plasma darah (Alawiyah & Mutakin, 2017).

Senyawa yang terakhir adalah Paracetamol. Analisis kadar paracetamol dalam plasma darah secara kualitatif diketahui dari kromatogram yang berupa RT (Retention time) yang sama atau mendekati standar paracetamol yang menunjukkan terdeteksi senyawa paracetamolnya. Nilai retention time pada sampel plasma darah memiliki nilai 15.056. Dalam analisis kadar paracetamol dalam plasma darah menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), diperoleh kembali kadar dari paracetamol pada sampel darah yaitu 175,2 ppm (Sudarma & Subhaktiyasa, 2021a).

Kesimpulan

Amoxicilin dilakukan penetapan kadar dalam darah menggunakan konsentrasi 250 µg/mL dan 500 µg/mL, konsentrasi yang cocok untuk penetapan amoxicilin yaitu pada kadar 500 µg/mL. Penetapan glibenklamid kadar dalam darah menggunakan konsentrasi 1 µg/mL, 2 µg/mL dan 4 µg/mL, semua konsentrasi cocok digunakan untuk penetapan kadar glibenklamid. Penetapan kadar vanskomin dalam darah menggunakan konsentrasi 3 µg/mL, 15 µg/mL 31,5 µg/mL dan 48 µg/mL, kadar yang memiliki kedekatan dengan kadar yang lainnya yaitu pada konsentrasi 48 µg/mL. Amlodipin menggunakan metode instrumentasi *Ultra Perfomance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry* dan *Liquid Chromatography/ Mass Spectrophotometry* (LC/MS). Metode yang paling akurat adalah metode *Liquid Chromatography/ Mass Spectrophotometry* (LC/MS), karena mampu mendeteksi konsentrasinya lebih kecil sehingga digunakan dalam analisis amlodipin dalam cairan plasma darah. Paracetamol menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), diperoleh kadar paracetamol pada sampel darah yaitu 175,2 ppm.

BIBLIOGRAFI

- Alawiyah, A., & Mutakin. (2017). Analisis Amlodipin Dalam Plasma Darah Dan Sediaan Farmasi. *Farmaka*, 15(3), 123–132. [Google Scholar](#)
- Fauziah, F., Kardela, W., Rasyid, R., & Silvi, M. (2017). Validasi Metode Analisis A-Mangostin dalam Plasma Darah Manusia Secara In Vitro dengan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(2), 96–102. [Google Scholar](#)
- Nyoman, N., Sari, P., Revolta, M., & Runtuwene, J. (2015). Validasi Metode Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Amoxicilin Dalam Plasma Secara in Vitro. *Pharmacon*, 4(3), 96–103. [Google Scholar](#)
- Oktaviana, E., Hidayati, I. R., & Pristiany, L. (2019). Pengaruh Pengetahuan terhadap Penggunaan Obat Parasetamol yang Rasional dalam Swamedikasi (Studi pada Ibu Rumah Tangga di Desa Sumberpoh Kecamatan Maron Kabupaten Probolinggo). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 44. [Google Scholar](#)
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., & Nurcahyo, B. (2018). Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 254–261. [Google Scholar](#)
- Rohayati, A., Hasanah, A. N., Saptarini, N. M., & Aryanti, A. D. (2015). Optimasi Kondisi Pemisahan Glibenklamid Kombinasi Metformin dalam Plasma Darah Menggunakan KCKT Optimization of Separation Condition of Glibenclamide and Metformin in Blood Plasma Using HPLC. *Ijpsst*, 2(3), 96–104. [Google Scholar](#)
- Sofyani, C., Rusdiana, T., & Chaerunnisa, A. (2018). REVIEW: Validasi Metode Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Uji Disolusi Terbanding Tablet Amoksisilin. *Farmaka*, 16(1), 324–328. [Google Scholar](#)

- Suardi, M., Sofjan, M., & Raveinal, R. (2016). Kesesuaian Dosis Vankomisin pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 3 dan 4 di Bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(1), 64–71. [Google Scholar](#)
- Sudarma, N., & Subhaktiyasa, I. P. G. (2021a). Analisis Kadar Paracetamol Pada Darah. *Bali Medika Jurnal*, 8(3), 285–293. [Google Scholar](#)
- Sudarma, N., & Subhaktiyasa, I. P. G. (2021b). Analisis kadar paracetamol pada darah dan serum Sis Kadar Paracetamol Pada Darah Dan Serum: Analysis of paracetamol levels in blood and serum. *Bali Medika Jurnal*, 8(3), 285–293. [Google Scholar](#)
- Tania, L., Sitepu, E. S., & Harahap, Y. (2016). Validasi Metode Analisis Ofloksasin dalam Plasma In Vitro secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Fluoresensi Mengacu pada European Medicines Agency Guideline. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2), 61–71. [Google Scholar](#)
- Tresnawati, W., & Saputri, F. A. (2017). REVIEW: Analisis Penentuan Glibenklamid dalam Pharmaceutical Dosage Forms. *Farmaka*, 14(2), 232–245. [Google Scholar](#)
- Uno, N. R., Sudewi, S., & Lolo, W. A. (2015). Validasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Tablet Asam Mefenamot Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Pharmakon*, 4(4), 156–167. [Google Scholar](#)
- Wibowo, A., Maulidina, D. I., Fitri, W. S., & Dwi, V. (2019). Validasi Metode Bioanalisis Vankomisin dalam Spiked - plasma Manusia Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi - detektor UV untuk Aplikasi Pemantauan Kadar Obat dalam Darah. *Eksakta: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 19(1), 35–45. [Google Scholar](#)
- Wibowo, A., Maulidina, D. I., Fitri, W. S., & Ningrum, V. (2019). Validasi Metode Bioanalisis Vankomisin HCl dalam Spiked-plasma Manusia Menggunakan KCKT-UV untuk Aplikasi PKOD. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 19(1), 57–70. [Google Scholar](#)
- Zulfiah, Z. (2019). Tingkat Kepuasan Pasien Terhadap Pelayanan Informasi Obat Hipertensi (Amlodipine 5 Mg) Di Klinik Nur Ichsan Tahun 2019. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5(2), 105–109. [Google Scholar](#)

Angel Novia Fransiska, Diba Masyrofah, Gita Kurniawati Putri, Lhidya Halizah Malik,
Putri Wulanbirru, Tintia Rafika Putri

Copyright holder:

Angel Novia Fransiska, Diba Masyrofah, Gita Kurniawati Putri, Lhidya Halizah
Malik, Putri Wulanbirru, Tintia Rafika Putri (2022)

First publication right:

[Syntax Idea](#)

This article is licensed under:

