

**METODE VALIDASI ANALISIS SENYAWA KIMIA OBAT DALAM SAMPEL BIOLOGIS (PLASMA DARAH)**

**Fira Aulia Fatan, Gisel Rizuna Qothrunnada, Issabella Elsiana, Kholifatul Ulum, Klaritya Anisya Kurnia, Shafa Qotrunnada Widyatamaka, Shipa Paujiah**

Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Indonesia

Email: [firaauliafatan@gmail.com](mailto:firaauliafatan@gmail.com), [giselrizunaq@gmail.com](mailto:giselrizunaq@gmail.com), [bellaelsiana@gmail.com](mailto:bellaelsiana@gmail.com),  
[kholifatululum@gmail.com](mailto:kholifatululum@gmail.com), [klarityanisyaaa@gmail.com](mailto:klarityanisyaaa@gmail.com),  
[shafa.qotrunnada@gmail.com](mailto:shafa.qotrunnada@gmail.com), [shipaujiah@gmail.com](mailto:shipaujiah@gmail.com)

**ARTIKEL INFO**

**ABSTRAK**

Diterima:

10 Mei 2022

Direvisi:

11 Mei 2022

Dipublish:

23 Mei 2022

**Kata Kunci:**

metode validasi analisis senyawa kimia; plasma darah, sampel biologis; validasi senyawa kimia

Plasma darah digunakan sebagai sampel biologis dalam menentukan kadar senyawa obat dikarenakan konsentrasi dari obat akan berikatan dengan reseptornya dan menentukan besar kecilnya efek farmakologi yang diberikan dari suatu obat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keakuratan plasma darah manusia sebagai sampel pada beberapa metode validasi dengan berbagai analit yang berbeda. Metode penelitian yang dilakukan adalah dengan melakukan studi literatur pada beberapa jurnal yang kredibel dengan kriteria jurnal 10 tahun terakhir mengenai penentuan kadar senyawa obat dalam darah manusia. Hasil yang didapatkan dari lima analit yang berbeda yaitu glibenklamid kombinasi dengan metformin, formalin, vankomisin, lisinopril dan a-mangostin yang telah dilakukan uji validasi dengan berbagai metode validasi yaitu SPE-MIP dilanjut KCKT, spektrofotometer UV-VIS, KCKT-UV, UPLC dan KLT densitometri dengan menggunakan sampel plasma darah manusia, semuanya memenuhi persyaratan validasi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa, plasma darah manusia yang dijadikan sebagai sampel dalam uji validasi dengan berbagai metode dan analit yang berbeda yang telah dilakukan seluruhnya akurat karena seluruh metode uji validasi memenuhi persyaratan.

**Keywords:**

*methods for validation of chemical compound analysis; blood plasma; biological samples; validation of chemical compounds*

**ABSTRACT**

*Blood plasma is used as a biological sample in determining the levels of drug compounds because the concentration of the drug will bind to its receptors and determine the size of the pharmacological effect of a drug. The purpose of this study was to determine the accuracy of human blood plasma as a sample in several validation methods with different analytes. The research method used is by conducting a literature study in several credible journals with the criteria of the journals of the last 10 years regarding the determination of levels of drug compounds in human blood. The results obtained from five different analytes, namely glibenclamide combination with metformin, formalin, vancomycin, lisinopril and a-mangostin which have been validated using various validation methods, namely SPE-MIP followed by HPLC, UV-VIS spectrophotometer, HPLC-UV, UPLC and TLC densitometry using human blood plasma samples, all meet the validation requirements. So it can be concluded that, human blood*

**How to cite:**

Fatan, F. A., Qothrunnada, G. R., Elsiana, I., Ulum, K., Kurnia, K. A., Widyatamaka, S. O., Paujiah, S., (2022) Metode Validasi Analisis Senyawa Kimia Obat dalam Sampel Biologis (Plasma Darah). *Jurnal Health Sains* 3(5). <https://doi.org/10.46799/jhs.v3i5.489>

**E-ISSN:**

2723-6927

**Published by:**

Ridwan Institute

---

*plasma used as a sample in the validation test with various different methods and analytes that have been carried out is entirely accurate because all validation test methods meet the requirements.*

---

## **Pendahuluan**

Sampel biologis merupakan sampel yang diambil dari bagian tubuh untuk tujuan analisis. Sampel biologis yang umumnya digunakan untuk menentukan kadar senyawa obat dalam tubuh adalah plasma darah. Plasma darah digunakan sebagai sampel biologis dalam menentukan kadar senyawa obat dikarenakan konsentrasi dari obat akan berkaitan dengan reseptornya dan menentukan besar kecilnya efek farmakologi yang diberikan dari suatu obat, dimana reseptor ini sebagian besar terdapat dalam sel-sel jaringan maka pemeriksaan kadar obat dalam darah merupakan suatu metode yang paling akurat untuk pemantauan pengobatan/farmakokinetika klinik (Rizalina et al., 2018).

Sebelum uji praklinik dan uji farmakologi klinik dilakukan, maka suatu metode analisis harus divalidasi terlebih dahulu. Validasi metode analisis adalah suatu proses untuk membuktikan bahwa kinerja metode analisis telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan sesuai dengan penggunaan yang dikehendaki.

Validasi metode menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran

analit yang akan dianalisis yang berasal dalam matriks biologis, seperti darah, plasma, serum, atau urin, dapat dipercaya dan dapat dilakukan ulang untuk penggunaan yang diinginkan (Fauziah et al., 2017).

Terdapat beberapa validasi metode yang umumnya digunakan dalam menentukan kadar senyawa obat dalam plasma darah yaitu metode KLT-densitometri, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor UV, SPE-MIP, Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) dan Spektrofotometer UV-VIS. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keakuratan plasma darah manusia sebagai sampel dalam berbagai metode validasi dengan analit yang berbeda.

## **Metode Penelitian**

Metode yang digunakan pada penelitian ini merupakan literature review dengan bahan acuan 5 jurnal mengenai penentuan kadar senyawa obat dalam plasma darah manusia. Literature review merupakan metode yang mengkaji suatu topik yang sama dari berbagai jurnal untuk menghasilkan suatu tulisan mengenai topik tersebut. Dalam artikel beberapa metode penentuan yang digunakan yakni SPE-MIP, KCKT, Spektrofotometer UV-VIS dan UPLC.

### Hasil dan Pembahasan

**Tabel Hasil**

No	Analit	Matriks		Sistem	• LLOQ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Pustaka
1	Glibenklamid Kombinasi Metformin	Plasma darah manusia	SPE-MIP dilanjut KCKT	- Fase gerak = asetonitril:dapar fosfat dengan perbandingan 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 55:45 v/v, asetonitril:TFA 0,1% 55:45 v/v. - Kolom = SPE C18 - Elusi = gradient - Laju air = 1 mL/menit Detector = UV (227 nm)	Tidak disebutkan	
2	Formalin	Plasma darah manusia	Spektrofotometer UV-VIS	- Perbandingan sampel:reagen= standar formalin (0,2 ppm):pararosanil line HCl (25 ppm) dengan perbandingan 1:0,5, 1:1, 1:2. - Nilai presisi = 1,047% - Detector = UV- Vis double beam(539 nm)	Tidak disebutkan	
3	Vankomisin	Plasma darah manusia	KCKT-UV	- Fase gerak = 5 mM dapar fosfat pH 3 dan metanol (80:20 v/v) pada suhu kamar. - Kolom = C18 - Elusi = isokratik - Laju air = 1 mL/menit Detector = UV (213 nm)	• 3,0	

No	Analit	Matriks	Sistem	• LLOQ (µg/mL)	Pustaka
4	Lisinopril	Plasma darah manusia	UPLC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fase gerak = dapar asetat 0,01 M:ACN:MeOH perbandingan 70:20:10, 70:15:15 dan 70:10:20 (v/v/v).</li> <li>- Kolom = Acquity BEH C18</li> <li>- Elusi = isokratik</li> <li>- Laju air = 0,3 mL/menit</li> <li>- Detector = UV (296 nm)</li> </ul>	Tidak disebutkan
5	A-Mangostin	Plasma darah manusia	KLT-densitometri	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fase gerak = kloroform : etil asetat (9:1).</li> <li>- Elusi = isokratik</li> <li>- Detector = UV (254 nm) dan TLC Scanner 4 (317 nm)</li> </ul>	Tidak disebutkan

Berdasarkan hasil data yang di peroleh metode yang digunakan untuk validasi dalam sample plasma darah manusia dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti KCKT, UPLC, spektrofotometer UV-VIS, dll namun dengan adanya perbedaan tersebut tetap menghasilkan suatu metode yang valid untuk menganalisis suatu analit dalam plasma darah manusia. Glibenklamid adalah suatu obat yang sukar larut air dan merupakan obat golongan sulfonilurea (Susanto, 2019).

Dalam validasi metode ini dilakukan menggunakan metode analisis KCKT dengan modifikasi pada pretreatment ekstraksi fase padat molecularly imprinted polymer (SPE-MIP). Modifikasi ini dilakukan dengan tujuan dapat memperbaiki kekurangan yang terjadi pada SPE yaitu selektivitas SPE bergantung pada penjerap yang digunakan untuk berikatan dengan analitnya jika lebih kuat

maka analit dapat terperangkap dalam penjerap, oleh karena itu MIP bertujuan untuk memiliki selektivitas yang tinggi terhadap molekul targetnya.

Prosedur pertama yang dilakukan adalah penyiapan alat dan bahan. Seperti dilakukan pembuatan fase gerak yaitu TFA 0,1%, larutan baku sampel yaitu glibenklamid, metformin HCL, dan glikazid sebagai baku internal. Selanjutnya optimasi kondisi system KCKT, system SPE-MIP, dan validasi metode (Rohayati et al., 2015).

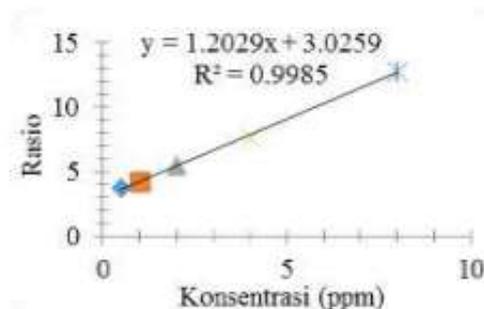
Prosedur pengerjaan yang pertama adalah dilakukan tahap ekstraksi dengan SPE, sampel plasma yang telah ditambahkan glibenklamid, metformin dan glikazid dimasukan kedalam cartridge SPE. Setelah proses SPE dihasilkan sebuah analit yang nantinya akan dianalisis dengan KCKT.

Validasi metode SPE-MIP tentunya meliputi linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ. Uji Linearitas dilihat berdasarkan kurva kalibrasi yang telah dibuat dengan persamaan  $y=1.202x + 3.025$  dengan nilai  $r = 0.998$  dan metode ini dapat dikatakan linier.

Selanjutnya, uji akurasi dan presisi dilihat berdasarkan uji terhadap 3 variasi konsentrasi. Nilai akurasi SPE-MIP 92,28%; 106,02%, dan 97,39% hal ini memenuhi syarat yaitu 80-120% sehingga dapat dikatakan akurat. Uji presisi di lihat berdasarkan kadar glibenklamid yang ditetapkan berdasarkan kurva kalibrasinya, yaitu 1,95%; 4,54%; dan 4,56%. Hal ini memenuhi syarat yaitu  $k_v < 15\%$ . Untuk uji nilai LOD dan LOQ, dengan hasil nilai LOD 0.519972  $\mu\text{g/ml}$  dan LOQ 1.733239  $\mu\text{g/ml}$ . dapat diartikan bahwa validasi metode dengan pre-treatment SPE-MIP dan dianalisis dengan KCKT valid memenuhi persyaratan.

Pada penelitian yang dilakukan fitra, dkk mengenai validasi metode analisis a-mangostin dalam plasma darah menggunakan metode KLT-densitometri. A-mangostin adalah suatu ekstrak tanaman yang banyak sekali khasiatnya. Validasi metode analisis A-mangostin menggunakan KLT Densitometri. Penggunaan metode ini dikarenakan metode ini relative lebih sederhana, murah, namun tetap harus memilah fase gerak yang cocok supaya dapat menghasilkan pemisahan yang baik antara a-mangostin dan senyawa lain. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform dan etil asetat (9:1). Setelah proses KLT terlaksana, plat KLT dikeringkan dan diamati dibawah sinar UV 254 nm. Diperoleh hasil nilai  $R_r = 1$  dan  $R_f = 0.533$ , (sesuai pada farmakope herbal Indonesia bahwa nilai  $r_f$  a – mangostin 0,53). nilai  $R_r$  jarak yang ditempuh oleh sampel dengan zat pembandingnya adalah sama, sedangkan nilai  $R_f$  adalah jarak yang ditempuh noda dalam plat KLT. Untuk membuktikan lebih akurat dari validasi metode ini adalah dengan melihat kurva kalibrasi, linearitas, penetapan kadar, uji

akurasi, presisi, dan penentuan batas deteksi dan batas kuantitas (Sahriawati et al., 2019).



Dapat diperoleh dari Kurva kalibrasi pada A-mangostin diperoleh hubungan yang linear dengan konsentrasi analit 50, 100, 150, 200, 250 ppm menghasilkan luas area berturut turut 1612,19; 2729,28; 3858,69; 4416,25; dan 5974,31. Dan didapat persamaan  $y=594,781 + 20,82242x$  dengan  $r=0,992206$ . Semakin besar konsentrasi dari larutan maka akan semakin besar pula luas areanya, hal ini berdasarkan nilai  $0,99 \leq r \leq 1$ . Pada penetapan kadar menggunakan metode KLT ini memperoleh kadar yang tinggi, dikarenakan pada perlakuan sampel A-mangostin murni ditambahkan ke dalam plasma darah dan ikatan protein yang terjadi dilepaskan dengan cara di vortex terlebih dahulu. Untuk melihat ke-akurasi-an validasi metode ini berdasarkan parameter persen perolehan. Perolehan a-mangostin dengan rata rata 96,0591%, hal ini berada pada range yang diperbolehkan yaitu 90-107%, bahwa metode ini memenuhi syarat akurasi. Selanjutnya presisi, presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian yang dilakukan secara berulang, pada penelitian yang dilakukan oleh fitra, dkk diperoleh nilai %RSD  $< 16\%$  yang dimana hal ini dapat dikatakan memiliki nilai keterulangan yang baik. Kemudian, batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK). Nilai yang diperoleh BK dan BD adalah untuk melihat batas minimum analit untuk dapat di analisis dan

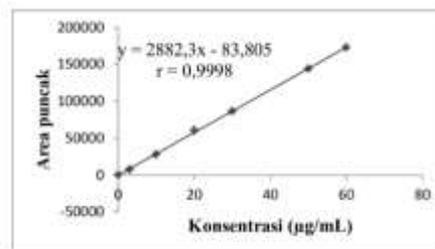
mendapatkan tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik.

Pada penelitian yang dilakukan (Lindawati et al., 2020) mengenai validasi metode formalin menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan reagen pararosaniline HCL. Sampel yang digunakan adalah cabai hasil panen dan darah manusia yang telah mengonsumsi cabai tsb. Spektrofotometri UV-VIS digunakan dalam validasi metode ini dikarenakan pengaplikasiannya yang mudah dan murah dibandingkan dengan HPLC & GC. Pada metode ini menggunakan reagen pararosaniline HCL dengan perbandingan sampel dan reagen 1:1 sampel pada konsentrasi 0,1 ppm dengan perolehan absorbansi 0,617. Reagen pararosaniline HCL akan menghasilkan warna merah jambu agak ungu pada sampel dan kemudian diamati menggunakan spektrofotometri UV VIS Panjang gelombang 539 nm. Untuk validasi metode dengan melihat parameter spesifisitas, linearitas, LOD, LOQ, akurasi, dan presisi.

Pada pengujian linearitas dilihat berdasarkan kurva kalibrasi, nilai  $r$  yang diperoleh adalah 0,996 yang artinya nilai  $r$  mendekati 1 sehingga dapat dikatakan linier dan nilai  $V_x < 2$ . Pengujian LOD dan LOQ pada penelitian ini diperoleh hasil LOD mendekati 100% dalam tubuh, sedangkan LOQ dibawah 100%, dapat diartikan bahwa analit masih bisa terdeteksi namun sulit untuk dilihat bila kuantitasnya. Kemudian, pengukuran tingkat akurasi dari validasi metode ini diperoleh rata-rata 88,173% dimana rentang keakuratan 85-110%, yang artinya metode ini dapat dikatakan akurat. Melihat dari sisi presisi, dilakukan 6 kali pengukuran diperoleh nilai RSD 1,047%, dimana syarat RSD  $< 2\%$  yang artinya metode ini cukup presisi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Wibowo et al., 2018) tentang validasi metode bioanalisis vankomisin dalam spiked-plasma manusia menggunakan Kromatografi

Cair Kinerja Tinggi-detektor UV untuk pemantauan kadar obat dalam darah. Telah dilakukan studi pendahuluan optimasi system kromatografi berupa variasi jumlah campuran pelarut fase gerak yang digunakan untuk mendapatkan nilai retensi ideal untuk aplikasi pemantauan kadar obat dalam darah (PKOD), dengan Hasil CV 1,21% pada injeksi spiked-plasma vankomisin 3,0  $\mu\text{g/mL}$  dengan kisaran waktu retensi menit ke 5,613 hingga 5,811. Validasi metode bioanalisis vankomisin pada plasma darah manusia menggunakan Teknik kuantifikasi standar eksternal kalibrasi ganda. Pasien yang menerima terapi obat vankomisin memiliki efek farmakokinetika yang bervariasi, oleh karena itu rentang kadar yang digunakan cukup lebar dengan integrasi area puncak menggunakan model exponentially modified gaussian (EMG) pendekatan valley-to-valley event atau pengukuran area puncak dimulai dari titik awal hingga titik akhir puncak.



Gambar 1. Kurva kalibrasi vankomisin dalam plasma

Persamaan nilai regresi linear yang didapat dari hasil penelitian ini yaitu  $y = 2882,3x - 83,805$  dengan nilai Limit of Detection (LoD) 1,56  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan nilai LoQ (Limit of Quantification) 4,7  $\mu\text{g/mL}$ . Terdapat korelasi antara area puncak dan konsentrasi vankomisin karena memenuhi persyaratan keberterimaan sebesar  $r > 0,999$ . Oleh karena itu didapatkan bahwa metode validasi bioanalisis vankomisin dalam spiked-plasma dengan rentang konsentrasi 0  $\mu\text{g/mL}$  – 60  $\mu\text{g/mL}$  yang dikembangkan memenuhi parameter persyaratan linear uji.

Penelitian ini memiliki selektivitas yang baik dengan memperoleh nilai CV 9,06 dan nilai %diff pada rentang -12,26 hingga 8,75%, sehingga mampu memisahkan dan mengkuantifikasi kadar vankomisin dari metabolit asing yang dapat mengganggu proses analisis, dan tidak dipengaruhi oleh perbedaan sumber plasma. Dilakukan uji carry-over untuk menentukan keberadaan analit dalam sampel blanko plasma setelah analisis pada konsentrasi tinggi yang dilakukan dengan membandingkan area blanko plasma yang dihasilkan setelah pembacaan analit pada konsentrasi tinggi (ULoQ) dan area LLoQ. Berdasarkan hasil overlay kromatogram blanko plasma yang dianalisis setelah injeksi sampel vankomisin spiked-plasma konsentrasi tinggi tidak dihasilkan puncak pada kisaran waktu retensi vankomisin, yang membuktikan tidak ada analit vankomisin dalam blanko plasma yang ikut setelah analisis konsentrasi tinggi yang ditetapkan < 20% LLoQ. Oleh karena itu, pembacaan sampel dapat dilakukan secara acak tanpa memperhatikan urutan konsentrasi analit. Pada pengujian akurasi dan presisi vankomisin dalam spiked-plasma intra-hari dan antar-hari pada konsentrasi QCM memenuhi persyaratan % diff dan CV yaitu

kurang dari 15%. Berdasarkan hasil uji akurasi dan presisi intra-hari (Tabel 1) dan antar-hari (Tabel 2) didapat bahwa kadar vankomisin yang diperoleh memiliki kedekatan dengan kadar yang diketahui serta pengujian dari tiap replikasinya memiliki kedekatan satu dengan lainnya.

Untuk mengetahui keberadaan degradasi analit dalam matriks plasma saat proses analisis, mulai dari penyiapan sampel hingga proses selesai agar hasilnya akurat dan memenuhi kriteria keberterimaan dilakukan uji stabilitas vankomisin dalam spiked-plasma dengan menggunakan QCL (*Quality Control-Low*) dan QCH (*Quality Control-High*). Berdasarkan hasil uji stabilitas didapat bahwa analit vankomisin dalam matriks plasma tidak mengalami degradasi dan memenuhi kriteria, sehingga dapat dinyatakan bahwa vankomisin mampu stabil dalam plasma darah selama 24 jam di suhu kamar (25 C) dan stabil pada suhu penyimpanan -20 C selama 21 hari. Pada proses uji stabilitas, dilakukan uji stabilitas beku-cair, uji stabilitas paska preparasi atau autosampler.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ririn Sumiyani, dkk mengenai validasi metode penetapan kadar lisinopril.

Tabel 1. Hasil uji akurasi dan presisi intra-hari *spiked*-plasma vankomisin

Konsentrasi sebenarnya (µg/mL)	Konsentrasi terukur (µg/mL)	Rata-rata kadar (µg/mL)	SD	CV	% diff
3	2,71	2,59	0,11	4,10%	-9,83%
	2,44				-18,79%
	2,62				-12,80%
	2,65				-11,72%
	2,53				-15,76%
15	15,46	15,52	0,25	1,60%	3,08%
	15,53				3,53%
	15,50				5,94%
	15,89				3,30%
	15,20				1,31%
31,5	31,99	33,60	1,50	4,47%	1,55%
	32,07				1,82%
	34,42				9,27%
	35,36				12,24%
	34,18				8,49%
48	54,55	52,05	1,50	2,89%	13,65%
	51,51				7,32%
	51,43				7,15%
	50,59				5,40%
	52,15				8,64%

Tabel 2. Hasil uji akurasi dan presisi antar-hari *spiked*-plasma vankomisin

Konsentrasi sebenarnya (µg/mL)	Rata-rata kadar (µg/mL)	SD	CV	% diff
3,0	2,70	0,19	7,08%	-18,79 - 3,47%
15,0	15,41	1,13	7,36%	-13,06-13,40%
31,5	32,27	2,49	7,73%	-13,71-9,93%
48	50,20	3,00	5,97%	-13,65-13,20%

Dalam *spiked* plasma secara Ultra Performance Liquid Chromatography melalui derivatisasi dengan 1-fuoro 2,4 dinitrobenzen. Untuk mendapatkan hasil derivatisasi yang maksimal perlu dilakukan optimasi pH pelarut, suhu reaksi, kondisi UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography), mol derivatisasi dapat dilakukan mulai waktu derivatisasi 56-70 menit. Hasil uji kesesuaian system dengan mengetahui nilai parameter RSD keterulangan, faktor tailing, resolusi, dan nilai theoretical plates, serta faktor kapasitas yang telah memenuhi persyaratan. Pada validasi metode analisis digunakan parameter uji linieritas, selektivitas, batas kuantitasi, batas deteksi, presisi dan akurasi. Hasil uji selektivitas menggunakan metode UPLC memenuhi persyaratan validasi yang dibuktikan dengan pemisahan yang bagus antara analit dan komponen lain dan ditunjukkan dengan resolusi analit lebih dari 2,5. Pada uji

ratio, dan waktu kestabilan produk. Reaksi derivatisasi lisinopril optimum terjadi pada pH 11,0 dan hasil optimasi komposisi fase gerak terbaik pada komposisi fase gerak dapar asetat (0,01 M, pH 3,5):asetoniril:methanol = 70:10:20 (v/v/v) dengan laju alir 0,3 mL/menit. Produk linieritas, kurva yang dihasilkan linier sehingga dapat digunakan sebagai kurva baku dan perhitungan batas deteksi serta kuantitasi instrument. Selain itu, nilai % rekovery dan uji presisis yang menunjukkan nilai 2.46-7.98% telah memenuhi persyaratan validasi. Sehingga, hasil uji ketelitian yang dilakukan telah memenuhi nilai RSD yang telah ditentukan ( $RSD \leq 15\%$ ).

Dari semua uji yang telah dibuktikan, dapat disimpulkan bahwa validasi metode memenugi persyaratan selektivitas dan penetapan kadar lisinopril pada *spiked*-plasma derivatisasi dengan FDNB secara UPLC mempunyai peluang sebagai metode

alternatif penetapan kadar yang dilakukan secara HPLC-MS-MS dengan nilai sensitivitas yang relative sama.

### Kesimpulan

Dari beberapa metode validasi serta senyawa kimia obat yang digunakan dalam penelitian dengan menggunakan sampel biologis yaitu plasma darah, mendapatkan hasil yang seluruhnya memenuhi syarat. Metode KLT-densitometri dapat dikatakan sebagai metode yang valid untuk analisis  $\alpha$ -mangostin karena memenuhi parameter validasi linearitas, akurasi, presisi intraday diperoleh rata-rata persen RSD yaitu 1,6440%, 2,1993% dan 1,6389%, presisi interday yaitu 2,8533%, 1,4208%, 3,0985%, batas deteksi 37,832332 ppm dan batas kuantitasi 110,8014ppm. Penetapan kadar lisinopril dalam spiked plasma secara Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

melalui derivatisasi dengan FDNB juga memenuhi persyaratan validasi.

Uji validasi metode bioanalisis vankomisin dalam spiked-plasma memenuhi parameter persyaratan linear uji karena memenuhi persyaratan keberterimaan sebesar  $r > 0,999$ . Dan validasi metode formalin menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan reagen pararosaniline HCL menunjukkan hasil  $r$  yang mendekati 1 sehingga dikatakan linear, untuk hasil LOD, LOQ, akurasi, dan presisi pun menunjukkan hasil yang dapat dikatakan akurat. Serta untuk validasi metode Glibenklamid dengan pre-treatment SPE-MIP dan dianalisis dengan KCKT yang meliputi linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ juga valid memenuhi persyaratan. Sehingga dapat dikatakan bahwa plasma darah cukup akurat jika digunakan sebagai sampel pada metode validasi analisis

### BIBLIOGRAFI

- Fauziah, F., Kardela, W., Rasyid, R., & Silvi, M. (2017). Validasi Metode Analisis  $\alpha$ -Mangostin dalam Plasma Darah Manusia Secara In Vitro dengan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(2), 96–102. [Google Scholar](#)
- Lindawati, L., Salamah, I., Asriyadi, A., & Fadhli, M. (2020). Sistem Persediaan Slot Parkir Dengan Pengaman Data Berbasis Arduino. *Jurnal Digit*, 9(2), 122–131. [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.
- Sahriawati, S., Sumarlin, S., & Wahyuni, S. (2019). Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kolesterol Ayam Broiler dengan Metode Lieberman-Burchard. *Lutjanus*, 24(2), 31–40. [Google Scholar](#)
- Susanto, E. (2019). *Peptida Bioaktif sebagai Antioksidan Eksplorasi pada Ceker Ayam*. Deepublish. [Google Scholar](#)
- Sumiyani, Ririn. Martono, Sudibyo. Sugiyanto. (2016). Validasi Metode Penetapan Kadar Lisinopril dalam Spiked Plasma Secara Ultra Performance Liquid Chromatography Melalui Derivatisasi dengan 1-Fluoro 2,4 Dinitrobenzen. *Jurna Google Scholar l Farmasi Indonesia*, 8(1), 344–355. [Google Scholar](#)

- Setyanigrum, Lindawati. Christiana, Wahyuni. Kuswandi, Bambang. (2019). Validasi Metode Spektrofotometri UV-VIS untuk Analisis Formalin Menggunakan Pararosaniline HCl pada Sampel Plasma Darah. *Jurnal Kesehatan dr. Soebandi*, 7(1), 13-22. [Google Scholar](#)
- Wibowo, A. A., Lusiani, C. E., Ginting, R. R., & Hartanto, D. (2018). Simulasi CHEMCAD: Studi Kasus Distilasi Ekstraktif pada Campuran Terner n-Propil Asetat/n-Propanol/Air. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 2(2), 75–83. [Google Scholar](#)

---

**Copyright holder:**

Fira Aulia Fatan, Gisel Rizuna Qothrunnada, Issabella Elsiana, Kholifatul Ulum, Klaritya Anisya Kurnia, Shafa Qotrunnada Widyatamaka, Shipa Paujiah (2022)

**First publication right:**

Jurnal Health Sains

**This article is licensed under:**

