

# Pengembangan dan validasi metode analisis etinil estradiol dan levonorgestrel dalam plasma secara simultan dengan kromatografi cair kinerja ultra tinggi tandem spektrometri massa = Development and validation simultaneous of ethinyl estradiol and levonorgestrel quantification method in plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry

Devina, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20474546&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Etinil estradiol dan levonorgestrel merupakan salah satu contoh obat kontrasepsi low dose-combined oral contraceptives COCs yang bekerja sinergis dengan cara menekan gonadotropin dan penghambatan ovulasi. Etinil estradiol dan levonorgestrel termasuk obat wajib uji bioekivalensi dan memiliki kadar dosis yang sangat kecil, sehingga diperlukan metode analisis yang sensitif dan selektif, serta tervalidasi menggunakan kromatografi cair tandem spektrometri massa. Penelitian ini dikembangkan pertama kali di Indonesia dengan prednison sebagai baku dalam.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kondisi optimum dan metode analisis yang tervalidasi mengacu pada European Medicines Agency EMEA tahun 2011. Pemisahan secara kromatografi fase terbalik dilakukan dengan kolom Acquity UPLC BEH C18 2,1 50 mm; 1,7 m, dengan laju alir 0,3 mL/menit dan kondisi gradien fase gerak asam formiat 0,1 dalam air dan asetonitril selama 5 menit. Preparasi sampel menggunakan pengendapan protein yang dilanjutkan ekstraksi cair-cair dengan etil asetat : n-heksana 10:90 dan derivatisasi etinil estradiol dengan dansil klorida.

Analisis kuantitatif analit dilakukan menggunakan spektrometri massa triple quadrupole dengan electrospray ionization ESI mode ion positif. Nilai transisi pada multiple reaction monitoring MRM diatur pada  $m/z$  530,16 > 171,08 untuk etinil estradiol terderivatisasi dansil klorida;  $m/z$  313,16 > 245,10 untuk levonorgestrel; dan  $m/z$  359,10 > 147,04 untuk prednison. Secara keseluruhan, metode telah tervalidasi memiliki akurasi diff -9,99 hingga 4,96 dan presisi KV antar hari yaitu 6,27-14,27 yang baik, serta sensitif dengan nilai batas kuantifikasi lebih rendah LLOQ sebesar 5 pg/mL dan 100 pg/mL untuk etinil estradiol dan levonorgestrel.

.....Ethinyl estradiol and levonorgestrel are one example of low dose combined oral contraceptives COCs contraceptive drugs that work synergistically by suppress gonadotropin and inhibition of ovulation. Ethinyl estradiol and levonorgestrel are include required bioequivalence test drugs and have a very small dosage levels, so a highly sensitive, selective, and validated method is needed by using liquid chromatography tandem mass spectrometry. This method was developed first time in Indonesia with prednisone as internal standard.

The purpose of this research is to get the optimum condition and the analytical method had been fully validated according to European Medicines Agency EMEA guidelines, 2011. A reverse phase chromatography separation was performed on an Acquity UPLC BEH C18 column 2.1 50 mm 1.7 m, eluted at a flow rate 0.3 mL min under a gradient of mobile phase of 0.1 formic acid in water and acetonitril within 5 minutes. Sample preparation were used protein precipitation followed by liquid liquid extraction with ethyl acetate n hexane 10 90 and derivatization ethinyl estradiol with dansyl chloride.

Quantification analysis was performed by a triple quadrupole mass spectrometry with electrospray ionization ESI in positive ion mode. The multiple reaction monitoring MRM was set at m/z 530.16/171.08 for ethinyl estradiol derivatized by dansyl chloride, m/z 313.16/245.10 for levonorgestrel and m/z 359.10/147.04 for prednisone. Overall, the validated method was accurate (diff 9.99 to 4.96), precise (between run CV 6.27 to 14.27), and sensitive with the lower limit of quantification (LLOQ) at 5 pg/mL and 100 pg/mL for ethinyl estradiol and levonorgestrel respectively.