

Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Fenitoin Dalam Dried Blood Spot (DBS) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Photodiode Array (KCKT-PDA) = Development and Validation of Quantification Method for Phenytoin in Dried Blood Spot (DBS) Using High Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array (HPLC-PDA)

Jihan, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920518314&lokasi=lokal>

Abstrak

Fenitoin adalah obat antikonvulsan yang digunakan dalam manajemen terapi epilepsi, kejang tonik-klonik, kejang kompleks parsial, dan status epilepticus. Fenitoin memiliki indeks terapeutik yang sempit (10–20 µg/mL), farmakokinetika yang tidak linear, dan potensi neurotoksisitas dan kardiotoksisitas serius. Oleh karena itu, kadar fenitoin dalam darah perlu dipantau untuk memastikan efektivitas dan keamanan terapi yang diberikan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode analisis dan preparasi sampel dalam DBS menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Photodiode Array (KCKT-PDA) yang optimum dan tervalidasi sesuai pedoman Food and Drug Administration (2018). Analisis dilakukan menggunakan KCKT-PDA dengan kolom C18 (Waters, Sunfire TM, 5 µm; 250 x 4,6 mm). Elusi dilakukan dengan fase gerak metanol-asetonitril-air (44:10:46) secara isokratik dengan laju alir, 1,0 mL/menit, suhu kolom 35°C, dan volume injeksi 20 µl. Preparasi sampel dilakukan dengan menotolkan 30 µl darah mengandung fenitoin pada Dried Blood Spot (DBS) lalu dikeringkan selama 120 menit. DBS kemudian dipotong menjadi kecil (dipotong menjadi kecil ±3 mm) dan dimasukkan ke dalam sample cup dan ditambahkan 30 µl karbamazepin 10 µg/mL sebagai baku dalam dan diekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menambahkan 400 µl metanol ke dalam sample cup, lalu dikocok dengan vorteks selama 30 detik, disonikasi selama 15 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan kemudian dipipet sebanyak 300 µl dan dikeringkan dengan aliran gas nitrogen. Ekstrak kering direkonstitusi menggunakan 100 µl fase gerak lalu divorteks selama 30 detik, disonikasi 2 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 3 menit. Metode ini sudah memenuhi parameter validasi penuh menurut Food and Drug Administration (2018) dengan LLOQ 0,1 µg/mL dan rentang kurva kalibrasi 0,1-50 µg/mL dengan koefisien korelasi (r) 0,9989-0,9994.

.....Phenytoin is an anticonvulsant drug which can be use in the management of epilepsy, tonic-clonic seizure, complex partial seizure, and status epilepticus. Phenytoin has a narrow therapeutic index (10–20 µg/mL), non-linear pharmacokinetics profile, and serious neurotoxicity and cardiotoxicity potentials. Thus, therapeutic drug monitoring of phenytoin serum level is required to ensure therapy's safety and efficiency. This study aims to obtain an optimum and validated analysis and preparation method for phenytoin in Dried Blood Spot (DBS) using HPLC-PDA based on Food and Drug Administration Guidelines (2018). The quantification of phenytoin is performed using C18 (Waters, Sunfire, 5 µm; 250 x 4,6 mm) column with injection volume of 20 µl. The mobile phase consists of methanol-acetonitrile-water (44:10:46) with 1,0 ml/min flow rate and the column temperature maintained at 35°C. Sample in DBS was extracted by liquid-liquid extraction using 400 µl of methanol which was then mixed by vortex for 30 seconds, sonicated for 15 minutes, and centrifugated at 10.000 rpm for 5 minutes. Supernatant obtained was pipetted for 30 µl and

evaporated using nitrogen gas flow. The dried extract was reconstituted with 100 µg of the mobile phase, mixed by vortex for 30 seconds, sonicated for 2 minutes, and centrifugated at 10.000 rpm for 3 minutes. This method has met the qualifications for a validated analytical method set by the Food and Drug Administration Guidelines (2018). The LLOQ value was 0,1 µg/mL and the range of calibration curve was 0,1-50 µg/mL ($r = 0,9989 - 0,9994$).