

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Kegiatan analisis obat semakin dikenal secara luas dan bahkan mulai dilakukan secara rutin dengan metode yang sistematis. Hal ini juga didukung oleh perkembangan yang pesat dari instrumen analisis yang mampu mendeteksi kadar obat dalam konsentrasi yang sangat rendah (mikro atau nanogram per mililiter) yang terdapat dalam matriks biologi (1).

Intensitas efek farmakologi suatu obat seringkali dikaitkan dengan dosis obat yang dikonsumsi, namun sebenarnya konsentrasi obat bebas yang berikatan dengan reseptorlah yang menentukan besarnya efek farmakologi yang diberikan oleh suatu obat. Reseptor sebagian besar terdapat dalam sel-sel jaringan, oleh karena sebagian besar sel-sel jaringan diperfusi oleh darah, maka pemeriksaan kadar obat dalam darah merupakan suatu metode yang paling tepat untuk pemantauan pengobatan dan pengoptimalan manfaat terapi obat dalam pelayanan farmasi (2).

Analisis obat pada umumnya dilakukan terhadap cairan biologis tubuh seperti plasma atau serum, sebab terdapat hubungan yang baik antara konsentrasi obat dalam darah dengan efek terapi yang ditimbulkan. Metode analisis yang digunakan untuk menentukan kadar obat mempunyai peran

yang penting dalam hal evaluasi, interpretasi bioavailabilitas dan bioekivalensinya (1).

Untuk menetapkan kadar obat dalam plasma, diperlukan suatu metode analisis yang tepat dengan tingkat selektivitas dan sensitivitas yang tinggi, gangguan yang sedikit mungkin, dan nilai akurasi serta presisi yang tinggi. Untuk memperoleh hal tersebut, maka metode analisis yang akan digunakan harus divalidasi terlebih dahulu. Metode validasi pada analisis kimia terdiri dari beberapa seri percobaan laboratorium yang tujuannya adalah untuk memastikan bahwa metode analisis yang akan divalidasi, parameternya harus memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan (3).

Suatu metode analisis baru dapat dipakai atau digunakan bila telah dilakukan validasi yang kondisinya disesuaikan dengan laboratorium dan peralatan yang tersedia, meskipun metode yang akan dipakai tersebut telah dipublikasikan pada jurnal, buku teks atau buku resmi seperti farmakope (3). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan dan keterbatasan alat, bahan kimia atau kondisi lain yang menyebabkan metode tersebut tidak dapat diterapkan secara keseluruhan. Sehingga sering dilakukan modifikasi, penyederhanaan maupun perbaikan metode, akibatnya metode tersebut harus divalidasi dengan cara yang benar. Apabila metode ini dapat dipertanggungjawabkan secara keseluruhan (presisi, akurasi, selektivitas, batas deteksi, batas kuantitasi, stabilitas dan lain-lain), tidak menyimpang dan diakui oleh pihak yang berkompeten, maka metode yang dimodifikasi ini dianggap valid dan dapat digunakan untuk analisis rutin (4).

Untuk memperoleh kadar obat total dalam plasma diperlukan perlakuan khusus terhadap sampel plasma sebelum diinjeksikan, yang meliputi isolasi dari substansi matriks, pembebasan obat dari ikatannya dengan protein dan pemisahan obat dari komponen lain atau metabolit. Upaya-upaya yang bisa dilakukan untuk mencapai tujuan di atas di antaranya adalah dengan cara pengendapan protein, ultrafiltrasi, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat (SPE) (2).

Levofloksasin adalah antibakteri sintetik golongan fluorokuinolon yang merupakan S -(-) isomer dari ofloksasin dan memiliki aktivitas antibakteri dua kali lebih besar daripada ofloksasin (5). Levofloksasin merupakan obat yang diindikasikan untuk kondisi serius yang memerlukan respon pasti dan merupakan salah satu obat yang masuk dalam kategori obat wajib uji Bioekivalensi (BE), oleh karena itu perlu dilakukan pemantauan kadarnya di dalam darah. Levofloksasin memiliki efek antibakterial dengan spektrum luas, aktif terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif termasuk bakteri anaerob. Karena memiliki keunggulan dalam aktivitas antibakteri dan efek samping yang rendah pada pemberian oral, maka levofloksasin digunakan secara luas untuk pengobatan penyakit infeksi seperti pneumonia dan bronkitis kronik (6).

Pada pemberian secara oral, levofloksasin diabsorpsi cepat dan hampir sempurna, dimana konsentrasi maksimum dalam plasma dicapai dalam waktu 1 sampai 2 jam, dengan rentang konsentrasi dalam plasma adalah sebesar 0,5000-5,7000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (7). Bioavailabilitas absolut dari

levofloksasin adalah sebesar 99% dengan waktu paruh eliminasi rata-rata sekitar 6-8 jam. Ikatan antara levofloksasin dengan protein plasma adalah hampir sebesar 30-40%. Levofloksasin mengalami metabolisme terbatas dan diekskresikan terutama melalui ginjal dalam bentuk tidak berubah (5,7).

Dari penelitian terdahulu, salah satu metode yang banyak digunakan untuk analisis levofloksasin dalam plasma adalah dengan metode KCKT. KCKT fase terbalik merupakan metode yang banyak digunakan karena lebih sederhana, selektif dan waktu analisisnya lebih singkat. Beberapa peneliti terdahulu menggunakan metode KCKT dengan detektor ultraviolet dan fluoresensi. Analisis dengan detektor fluoresensi merupakan analisis yang sangat peka, sehingga kadar senyawa yang sangat kecil dalam matriks biologis dapat ditentukan dengan tepat. Selain itu, penggunaan detektor fluoresensi akan mengurangi gangguan-gangguan dari senyawa endogen yang berasal dari plasma.

Dalam penelitian ini, akan dilakukan optimasi metode analisis levofloksasin dalam plasma *in vitro* yang penentuannya dilakukan secara kromatografi cair kinerja tinggi-fluoresensi dengan mengadaptasi salah satu metode yang ada (8). Selain itu, akan dilakukan juga validasi terhadap metode analisis tersebut, untuk memperoleh metode analisis dengan tingkat selektivitas dan sensitivitas yang tinggi, serta dengan sedikit mungkin gangguan, sehingga dapat diterapkan untuk pengujian bioavailabilitas dan bioekivalensi obat pada masa yang akan datang.

B. TUJUAN PENELITIAN

1. Memperoleh kondisi optimum untuk analisis levofloksasin dalam plasma *in vitro* secara kromatografi cair kinerja tinggi-fluoresensi.
2. Memperoleh metode yang valid untuk analisis levofloksasin dalam plasma *in vitro* secara kromatografi cair kinerja tinggi-fluoresensi.

