

# Optimasi dan validasi metode analisis isoniazid dan pirazinamid dalam tablet 4 Fixed Dose Combination (4FDC) dan plasma in vitro secara kromatografi cair kinerja tinggi = Optimization and validation of analytical method of isoniazid and pyrazinamide in tablet 4 Fixed Dose Combination (4FDC) and plasma in vitro by high performance liquid chromatography

Stella, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20278742&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Pengobatan tuberkulosis biasanya menggunakan obat kombinasi yang disebut fixed dose combination (FDC) yang dapat terdiri dari 2 atau 4 zat aktif yaitu isoniazid (INH), pirazinamid (PZA), rifampisin (RIF), dan etambutol (ETA). Dikarenakan toksiknya obat yang digunakan, maka diperlukan suatu metode analisis untuk mengetahui kadar obat dalam darah. Metode kromatografi cair kinerja tinggi yang sederhana dan reproduksibel telah dikembangkan untuk penentuan kadar INH dan PZA secara simultan di dalam tablet dan plasma manusia secara in vitro. Sistem kromatografi terdiri dari kolom Shimpack® C18 (250 × 4,6 mm, 5 m) dengan fase gerak kalium dihidrogen fosfat pH 6,2-asetonitril (97:3) untuk analisis di dalam tablet dan fase gerak kalium dihidrogen fosfat pH 6,2-asetonitril (99:1) untuk analisis pada plasma manusia secara in vitro. Larutan dideteksi pada panjang gelombang 242 nm dan laju alir 1,0 mL/menit. Sebagai baku dalam digunakan asam nikotinat. Pada validasi tablet, metode dinyatakan linear dengan nilai koefisien korelasi (r) untuk INH dan PZA berturut-turut 0,9992 dan 0,9992; presisi dengan nilai koefisien variasi (KV) 1,46% dan 0,92%; serta akurat dengan nilai perolehan kembali untuk 3 konsentrasi sebesar 98% - 102%.

Proses ekstraksi plasma dilakukan dengan metode pengendapan protein menggunakan asetonitril kemudian dikocok dengan vortex selama 1 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 5 menit. Supernatan kemudian diuapkan dan direkonstitusi dengan fase gerak. Pada validasi plasma, nilai perolehan kembali rata-rata untuk INH dan PZA berturut-turut 99,79% dan 99,08% serta nilai LLOQ berturut-turut 4,74 µg/mL dan 16,00 µg/mL. Metode ini juga memenuhi kriteria akurasi dan presisi intra hari dan antar hari selama 5 hari dengan % diff tidak melampaui ± 20% pada LLOQ dan ± 15% pada konsentrasi selain LLOQ. Pada uji stabilitas, INH dan PZA dalam plasma dinyatakan stabil selama 7 hari.

.....Treatments for tuberculosis commonly use combination of drugs called fixed dose combination (FDC). It consists of 2 or 4 active ingredient pharmaceutical namely isoniazid (INH), pyrazinamide (PZA), rifampicin (RIF), and ethambutol (ETA). Due to the drug toxicity, analytical method is required to determine the concentration of antituberculosis drug in human plasma. A simple and reproducible high-performance liquid chromatography method was developed for simultaneous determination of INH and PZA in the tablet and human plasma. Chromatography was performed on a Shimpack® C18 column (250 × 4.6 mm, 5 m) under isocratic elution with potassium dihydrogen phosphate pH 6.2-acetonitrile (97:3) for tablet and potassium dihydrogen phosphate pH 6.2-acetonitrile (99:1) for analytical in human plasma. Detection was made at 242 nm and analysis was run at a flow-rate of 1.0 ml/min. Nicotinic acid was used as internal standard. In tablet validation, the calibration curve was linear by r values 0.9992 and 0.9992, precision by coefficient of variation (CV) were 1.46% and 0.92% also accurate by % recovery for 3 concentrations were 98% - 102% for INH and PZA, respectively.

Plasma extraction was done by deproteination with acetonitrile, mix with vortex for 1 minute, then centrifuge it on 10000 rpm for 5 minutes. The residue was evaporated and reconstituted in eluen. In plasma validation, the recovery was 99.79% and 99.08% for INH and PZA, respectively. The lower limit of quantification (LLOQ) in plasma was 4.74 g/ml and 16.00 g/ml for INH and PZA, respectively. The method also fulfill the criteria for accuracy and precision intra and inter day by % diff values not exceed  $\pm 20\%$  for LLOQ and  $\pm 15\%$  for concentrations except LLOQ. On the stability study, INH and PZA in plasma is pronounced to be stable for 7 days.