

Pengaruh jenis antikoagulan pada analisis etinil estradiol dan levonorgestrel dalam plasma *in vitro* menggunakan kromatografi cair kinerja ultra tinggi tandem spektrometri massa = Effect of various anticoagulants on ethinyl estradiol and levonorgestrel analysis in human plasma *in vitro* by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

Firda Zakiatun Nufus, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20474335&lokasi=lokal>

---

#### Abstrak

Etinil estradiol dan levonorgestrel merupakan salah satu kombinasi kontrasepsi oral gabungan dosis rendah yang banyak digunakan di masyarakat. Namun, obat ini memiliki konsentrasi yang rendah dalam plasma, sehingga dibutuhkan metode analisis yang tepat dan sensitif. Saat ingin mendapatkan plasma dari darah dibutuhkan adanya penambahan antikoagulan. Ketika melakukan studi *in vitro* untuk pengembangan metode dan validasi metode analisis, antikoagulan yang digunakan yaitu sitrat. Namun, antikoagulan yang umum digunakan untuk studi *in vivo* adalah EDTA dan heparin, sehingga perlu dilakukan validasi parsial.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh jenis antikoagulan terhadap analisis etinil estradiol dan levonorgestrel dalam plasma menggunakan kromatografi cair kinerja ultra tinggi tandem spektrometer massa. Kondisi analisis optimal diperoleh menggunakan kolom BEH C18 1,7 m; 50 x 2,1 mm fase gerak 0,1 asam formiat dalam air - asetonitril; metode elusi gradien; laju alir 0,3 mL/menit; suhu kolom 40 C volume penyuntikkan 10,0 L waktu analisis 5 menit dan prednison sebagai baku dalam. Aliquot diperoleh dengan kombinasi metode preparasi pengendapan protein dan ekstraksi cair-cair. Metode yang diperoleh mendapatkan hasil yang linear pada rentang konsentrasi 5-500 pg/mL untuk etinil estradiol dan 100-10.000 pg/ml untuk levonorgestrel.

Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan untuk parameter stabilitas dan recovery  $p > 0,05$ ; ANOVA, namun peak area ratio menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan  $p < 0,05$  Kruskal Wallis untuk sitrat, heparin, dan EDTA. Secara keseluruhan, analisis dengan plasma sitrat dan heparin memberikan hasil yang lebih baik dari plasma EDTA.

.....Ethinyl estradiol and levonorgestrel is one of low dose oral contraception combinations that commonly used. However, this medication is known to have low concentration in plasma therefore an appropriate and sensitive analysis to identify it, should be taken into account. In order to obtain plasma from blood, an addition of anticoagulant is needed. A research about *in vitro* study for method development and validation method analysis used citrate as anticoagulant. But, anticoagulants that regularly used for *in vivo* study are EDTA and heparin, therefore partial validation is needed.

This research objective is to evaluate the different types of anticoagulant to ethinyl estradiol and levonorgestrel in plasma by using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Optimal analysis condition is obtained with column BEH C18 1,7 m 50 x 2,1 mm mobile phase consisting 0.1 formic acid in water – acetonitrile gradient elution method flow rate of 0.3 mL minute column temperature of 40 C injection volume of 10,0 L 5 minutes analysis time and prednisone as internal standard. Aliquot is resulted by combining preparation method of protein precipitation and liquid liquid extraction. There was a linear result with the range of 5-500 pg/mL concentration of ethinyl estradiol and 100-10.000 pg

ml concentration of levonorgestrel.

There was no significant difference for stability and recovery of ethinyl estradiol and levonorgestrel in citrate, heparin, and EDTA plasma p 0.05 ANOVA, but it showed significant difference for peak area ratio p 0.05 Kruskal Wallis, between citrate, EDTA, and heparin plasma. In general, citrate and heparin plasma analysis had better result than EDTA plasma analysis.