

# Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Dolutegravir dalam Dried Blood Spot (DBS) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Photodiode Array = Development and Validation of Bioanalytical Method of Dolutegravir in Dried Blood Spot (DBS) Using High Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array

Azizah Rahastin Sinansari Dewi, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920550101&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Terapi antiretroviral (ARV) berbasis dolutegravir (DTG) merupakan regimen lini pertama yang direkomendasikan WHO sejak tahun 2019 untuk orang dengan HIV/AIDS (ODHA). Munculnya HIV yang resistan terhadap DTG dapat secara signifikan mengurangi efektivitas regimen ARV yang mengandung DTG. Angka resistansi tersebut mungkin terus meningkat seiring dengan potensi meluasnya penularan HIV yang resistan terhadap DTG. Pemantauan kadar obat pada pasien yang menerima regimen ARV yang mengandung DTG memerlukan pengembangan dan validasi metode bioanalitik. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi preparasi sampel dan analisis DTG yang optimum pada sampel dried blood spot (DBS) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi – photodiode array (KCKT-PDA) yang tervalidasi berdasarkan standar FDA (2018) dan EMA (2022). Preparasi sampel DBS dilakukan dengan metode presipitasi protein menggunakan larutan pengekstraksi metanol. Karbamazepin digunakan sebagai baku dalam. Analisis dilakukan menggunakan KCKT-PDA dengan kolom C18 (Waters, Sunfire™ 5µm; 250 x 4.6mm) pada suhu 25°C. Sejumlah 20 µL sampel disuntikkan menggunakan autosampler, dielusi secara isokratik menggunakan fase gerak asetonitril – dapar fosfat pH 5 (45:55) dengan laju alir 0,8 mL/menit, dan dideteksi pada panjang gelombang 257 nm. Metode ini telah memenuhi standar validasi bioanalisis FDA (2018) dan EMA (2022) dengan LLOQ 0,25 µg/mL dan rentang kurva kalibrasi 0,25-10 µg/mL. Pengambilan sampel mikro menggunakan DBS dapat digunakan untuk mengukur kadar dolutegravir dengan karbamazepin sebagai baku dalam, dimana penerapan metode yang sederhana dan sensitif ini dapat menyederhanakan kegiatan pemantauan kadar obat dalam darah (PKOD) sekaligus mencegah penyebaran HIV yang resistan terhadap DTG.

.....Dolutegravir (DTG) based antiretroviral therapy (ART) is a first-line regimen that has been recommended by WHO since 2019 for people living with HIV. The emergence of DTG-resistant HIV can significantly reduce the effectiveness of current DTG-containing antiretroviral regimens. The number of resistance may continue to increase along with the potential spread transmission of DTG-resistant HIV. Prior to monitoring the drug level, development and validation of the bioanalytical method was needed. The aim of this study was to obtain an optimum sample preparation and analysis condition of DTG in dried blood spot (DBS) using high performance liquid chromatography – photodiode array (HPLC-PDA) that validated based on the FDA guidelines (2018) and EMA guidelines (2022). DBS sample preparation was performed using protein precipitation method with methanol extraction solution. Carbamazepine is used as an internal standard (IS). The quantification analysis was carried out using HPLC-PDA with C18 column (Waters, Sunfire™ 5µm; 250 x 4.6mm) at 25°C. A volume of 20 µL of sample was injected using autosampler, eluted using an isocratic mobile phase of acetonitrile - phosphate buffer pH 5 (45:55) at a flow rate of 0.8 mL/min, and detected at a wavelength of 257 nm. This method has met FDA (2018) and EMA (2022)

bioanalytical validation standards with an LLOQ of 0.25 µg/mL and a calibration curve range of 0.25-10 µg/mL. The microsampling using dried blood spot could quantify dolutegravir with carbamazepine as IS, where the application of this simple and sensitive method will then simplify the therapeutic drug monitoring activities while preventing the spread of DTG-resistant HIV.