

INTISARI

Furosemid merupakan obat golongan *loop* diuretik dengan penggunaan yang luas pada pengobatan berbagai macam indikasi, sehingga banyak produk *copy* furosemid dibuat oleh industri farmasi. Salah satu persyaratan agar lolos registrasi obat *copy* adalah memenuhi uji bioekivalensi. Namun, metode yang telah ada masih terlalu rumit untuk diaplikasikan di laboratorium. Untuk mengatasi masalah tersebut, pada penelitian ini dikembangkan dan divalidasi sebuah metode KCKT untuk analisis furosemid dalam plasma manusia yang sederhana, cepat, dan sensitif.

Sistem KCKT dalam penelitian ini dilakukan secara isokratik pada kolom fase terbalik Luna Phenomenex[®] C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m) dengan fase gerak optimal yang terdiri dari metanol, asetonitril, dan bufer fosfat 20 mM pH 3,0 (10:30:60) pada kecepatan 1,6 mL/menit. Analit dideteksi dengan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 233 nm. Preparasi sampel plasma dilakukan dengan menambahkan metanol sebagai pengendap protein dan propranolol sebagai standar internal.

Metode analisis ini divalidasi sesuai panduan validasi metode bioanalisis dari FDA. Hasil validasi menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan selektif ($R_s > 2$), akurat (*recovery* 98-106% serta 98-112% untuk LLOQ, syarat: 85-115% serta 80-120% untuk LLOQ), dan teliti (CV kadar terhitung 2-10% serta 4-8% untuk LLOQ, syarat: CV < 15% serta CV < 20% untuk LLOQ). Kurva kalibrasi untuk furosemid terbukti linear ($r = 0,9997$) pada rentang 400 – 1400 ng/mL. Nilai LOD dan LLOQ berturut-turut sebesar 100 dan 400 ng/mL. Studi *robustness* menunjukkan bahwa sejumlah perubahan kondisi KCKT masih memenuhi persyaratan kecuali perubahan pada panjang gelombang detektor. Dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang dikembangkan terbukti dapat dipercaya untuk analisis furosemid dalam preparat plasma.

Kata Kunci: Furosemid, KCKT – UV, plasma manusia, validasi

ABSTRACT

Furosemide is a loop diuretic drug with extensive use in the treatment of various indications. There are many copies of furosemide products made by pharmaceutical industry. One of the qualification requirements for drug copy registration is meet the bioequivalence test. However, some methods are still too complicated to be applied in the laboratory. To overcome these problems, a simple, rapid, and sensitive HPLC method has been developed and validated for determination of furosemide in human plasma.

HPLC system was performed by isocratic condition on Phenomenex® Luna C18 (250 x 4.6 mm, 5 μ m) column with a mobile phase consisting of methanol, acetonitrile, and phosphate buffer 20 mM pH 3.0 (10:30:60 v/v/v) with a flow rate of 1.6 mL/min. The wavelength of ultraviolet detector was operated at 233 nm. Protein precipitation was conducted using methanol and propranolol was used as an internal standard.

This method was validated according to the FDA guidelines. The tests showed that the method was selective ($R_s > 2$), accurate (recovery 98-106% and 98-112% for LLOQ, requirement: 85-115% and 80-120% for LLOQ) also precise (CV 2-10% and 4-8% for LLOQ, requirement: CV < 15% and CV < 20% for LLOQ). Furthermore, the calibration curve for furosemide is linear ($r = 0.9997$) in the ranges of 400-1400 ng/mL while the value of LOD and LLOQ are 100 and 400 ng/mL respectively. In addition, robustness study showed that slight changes in the condition of HPLC still meet the requirements except a change in the wavelength detector. Thus, it can be concluded that the method is proven reliable for the analysis of furosemide in human plasma.

Keywords: Furosemide, HPLC – UV, human plasma, validation