

INTISARI

Asiklovir adalah salah satu obat antivirus yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi virus seperti *varisela zoster* dan *herpes simplek*. Obat virustika yang diberikan secara oral harus dilakukan uji bioavailabilitas agar obat tersedia secara sistemik untuk mencapai efek yang diinginkan. Validasi metode penetapan kadar obat dalam plasma merupakan studi awal dalam bioavailabilitas dan bioekivalensi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis penetapan kadar asiklovir dalam *spiked* plasma secara KCKT fase terbalik yang dapat memenuhi parameter validasi yang sesuai dengan panduan EMA. Metode ini diharapkan menjadi metode analisis yang cepat, sederhana, sensitif dan aman untuk kolom.

Teknik yang digunakan untuk mengekstraksi asiklovir dari plasma pada penelitian ini adalah ekstraksi presipitasi protein dengan menggunakan metanol dan sistem KCKT fase terbalik dilakukan secara isokartik pada kolom *Cosmosil 5C₁₈ – MS – II* (250 x 4,6 mm i.d, 5 µm) dengan kombinasi fase gerak metanol : larutan KH₂PO₄ 0,02 M pH 3,2 mengandung SDS 1 mM pada deteksi UV 252 nm dengan laju alir 1 mL/menit dan vanilin digunakan sebagai standar internal. Hasil validasi menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan selektif ($R_s > 2$), akurat (% error -7,51 – 4,66 % serta 2,09 – 7,61 % untuk LLOQ dengan persyaratan <15% serta <20% untuk LLOQ) dan teliti (RSD kadar terhitung 9,06 – 14,97 % serta 12,33 – 12,71 % untuk LLOQ dengan persyaratan <15% serta <20% untuk LLOQ). Kurva kalibrasi untuk asiklovir terbukti linear ($r = 0,9992$) sesuai persyaratan >0,99 pada rentang 0,0496 – 1,1900 µg/mL dan nilai LLOQ sebesar 0,0496 µg/mL. Stabilitas analit asiklovir pada perlakuan preparasi setelah 4 jam, 24 jam dan *freeze and thaw* dapat dikatakan analit stabil (% error -12,13 – 13,71 % dengan persyaratan <15%) dan dilution integrity (% error -3,70 – 14,41 % dengan persyaratan <15%) dan tidak terdapat *carry over* pada pengujian asiklovir dalam plasma. Dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang dikembangkan terbukti dapat dipercaya untuk analisis asiklovir dalam *spiked* plasma dan dapat digunakan untuk uji BA/BE.

Kata Kunci: Asiklovir, KCKT fase terbalik, *spiked* plasma, validasi, EMA

ABSTRACT

Acyclovir is an antiviral agent for varicella zoster and herpes simplex infection treatment. Virustatic drugs administered per oral require bioavailability test to ensure systemic availability to achieve the desired effect. The method validation for drug determination in plasma is a preliminary study in the bioavailability and bioequivalence study. This study aims to develop an analytical method for acyclovir determination in spiked plasma by reversed-phase HPLC that fulfills the validation parameters required by the EMA guideline. This method is expected to be a fast, straightforward, and sensitive method that does not damage the HPLC column. The acyclovir is extracted from the blood plasma by protein precipitation using methanol and the isocratic reversed-phase HPLC uses Cosmosil 5C₁₈ – MS – II (250 x 4.6 mm; i.d 5 µm) with a combination of methanol and KH₂PO₄ 0.02 M pH 3.2 containing SDS 1 mM as the mobile phase at 1 mL/min flow rate and detected by UV at 252 nm. Vanillin is used as an internal standard. The validation result decided that the method is selective ($R_s > 2$, accurate (percent error between -7.51 – 4.66% and between 2.09 – 7.61% for the LLOQ, fulfilling the requirement that are <15% and 20% for the LLOQ) and precise (CV of calculated concentration 9.06 – 14.97% and 12.33 – 12.71% for the LLOQ, fulfilling the requirement that are <15% and 20% for the LLOQ). The acyclovir calibration curve is considered linear ($r = 0.9992$) in accordance with the requirement >0.99 within the range between 0.0496 – 1.1900 µg/mL and LLOQ of 0.0496 µg/mL. Acyclovir is stable 4 hours and 24 hours after being prepared as well as on freeze and thaw cycle (percent error -12.13 – 13.71% fulfilling the requirement of <15%). The dilution integrity resulted in the percent error of -3.70 – 14.41% (<15% required) and there is no carry over effect observed during the analysis of acyclovir in plasma. It can be concluded that the developed analytical method can be applied in acyclovir analysis in spiked plasma and BA/BE studies.

Keywords: Acyclovir, reversed-phase HPLC, spiked plasma, validation, EMA