



Metode Validasi Golongan Obat *Beta Blocker* dalam Plasma Darah Manusia Menggunakan Metode HPLC

Beta Blocker Drug Classification Validation Method In Human Blood Plasma Using Hplc Method

¹⁾Andien Revelliani, ²⁾Hasna Nisrina, ³⁾Lala Komala Sari, ⁴⁾Marisah, ⁵⁾Riani, ⁶⁾Annastya Eka Agustin, ⁷⁾Faizal Auladi Rivianto

^{1,2,3,4,5,6,7)}Universitas Singaperbangsa Karawang, Indonesia.

*Email: ¹⁾ravellianiandien@gmail.com, ²⁾hasnanisrina08@gmail.com, ³⁾lalakomalas2903@gmail.com, ⁴⁾marisah0352@gmail.com, ⁵⁾ynryany@gmail.com, ⁶⁾karinaannastya@gmail.com, ⁷⁾Auladirivianto241199@gmail.com

*Correspondence: avellianiandien@gmail.com

DOI:

10.36418/comserva.v2i1.205

Histori Artikel:

Diajukan: 03-05-2022

Diterima: 05-05-2022

Diterbitkan: 25-05-2022

ABSTRAK

Bisoprolol dan atenolol merupakan obat golongan beta blocker yang selektif bekerja pada reseptor β_1 di jantung. Obat ini digunakan untuk pengobatan hipertensi. Hipertensi merupakan suatu kejadian dimana terjadinya peningkatan yang abnormal pada tekanan darah dalam pembuluh darah arteri secara terus-menerus. Batasan normal tekanan darah adalah 120/80 mmHg. Penulisan review artikel ini mengulas tentang analisis suatu senyawa obat antihipertensi dalam sampel biologis yaitu pada plasma darah manusia dengan menggunakan metode HPLC. Berdasarkan hasil dari beberapa jurnal yang telah ditelaah, diperoleh kesimpulan bahwa senyawa obat bisoprolol dan atenolol dalam plasma darah manusia didapatkan hasil yang akurat melalui instrument HPLC tersebut.

Kata kunci: *bisoprolol; atenolol; antihipertensi; HPLC*

ABSTRACT

Bisoprolol and atenolol are beta blockers that selectively act on β_1 receptors in the heart. This drug is used for the treatment of hypertension. Hypertension is an event where there is an abnormal increase in blood pressure in the arteries on a continuous basis. The normal range for blood pressure is 120/80 mmHg. The writing of this review article reviews the effect of antihypertensive drug compounds in biological samples, namely on human blood plasma using HPLC methods. Based on the results of several journals that have been reviewed, it was concluded that the drug compounds bisoprolol and atenolol in human blood plasma obtained accurate results through these two instruments.

Keywords: *bisoprolol; atenolol; antihypertensive; HPLC*

PENDAHULUAN

Tekanan darah tinggi atau yang dikenal sebagai hipertensi merupakan suatu faktor resiko terjadinya penyakit komplikasi kardiovaskuler. Hipertensi yang terjadi dalam jangka waktu lama dan terjadi secara terus-menerus tanpa pengobatan dapat memicu berbagai komplikasi

kesehatan dan penyakit lain seperti stroke, serangan jantung, gagal jantung, penyebab utama gagal ginjal kronik, dan bahkan dapat menyebabkan kematian.

Hipertensi merupakan suatu kejadian dimana terjadinya peningkatan yang abnormal pada tekanan darah dalam pembuluh darah arteri secara terus-menerus. Batasan normal tekanan darah adalah 120/80 mmHg, sedangkan seseorang yang dinyatakan mengidap hipertensi memiliki tekanan darah > 140/90 mmHg. Hipertensi dapat diobati dengan obat Antihipertensi, salah satunya obat golongan Beta-blocker.

Beta blocker merupakan obat antihipertensi yang bekerja melalui penghambatan reseptor adrenergic pada beberapa organ tubuh. Reseptor beta blocker ada dua yaitu reseptor $\beta 1$ dan $\beta 2$. Reseptor $\beta 1$ terdapat pada jantung dan ginjal, yang berfungsi dalam pengaturan denyut jantung, kontraktilitas jantung, dan pelepasan renin. Sedangkan reseptor $\beta 2$ terdapat di paru-paru, hati, pancreas, dan otot polos arteri, yang berfungsi dalam pengaturan bronkodilatasi dan vasodilatasi. Contoh obat golongan beta blocker adalah bisoprolol dan atenolol.

Bisoprolol dan atenolol merupakan obat golongan beta blocker yang selektif bekerja pada reseptor $\beta 1$ di jantung. Obat ini digunakan untuk pengobatan hipertensi. Selain untuk hipertensi, bisoprolol dan atenolol dapat digunakan untuk mengobati angina pectoris, aritmia, dan infark miokard. Baik bisoprolol maupun atenolol dapat digunakan secara tunggal maupun kombinasi dengan obat antihipertensi lainnya dalam mengobati hipertensi.

Atenolol sendiri mempunyai nama kimia 4-(2-hydroxy-3-isopropyl-aminopropoxy) phenylacetamide. Rumus kimia dari atenolol adalah $C_{14}H_{22}NO_3$ dengan berat molekul 266,34. Mekanisme kerja atenolol yaitu dengan cara menyekat atau menghambat $\beta 1$ adenoreseptor yang selektif bekerja pada reseptor $\beta 1$ di jantung. Waktu paruh eliminasi atenolol dari tubuh sekitar 6 jam dengan dosis lazim yang diberikan 25 mg - 100 mg perhari. Sedangkan bisoprolol atau yang dikenal dengan bisoprolol hemifumarate merupakan antagonis reseptor $\beta 1$ yang mempunyai sifat kardioselektif yang kuat. Bisoprolol hemifumarate mempunyai nama kimia 1-{p-[(2-isopropoxyethoxy)methyl]phenoxy}-3-isopropyl-amino-2-propanol hemifumarate. Rumus kimia dari bisoprolol yaitu $C_{18}H_{31}NO_4$ dengan berat molekul 325,4. Waktu eliminasi bisoprolol hemifumarate selama 9-12 jam, dengan initial dose 5 mg perhari dan maintenance dose sebanyak 5-20 mg perhari.

Fase gerak yang digunakan dalam analisis bisoprolol dan atenolol ini yaitu dengan menggunakan fase balik. Fase balik adalah pelarut atau fase gerak yang digunakan lebih polar dibanding fase diam. Pada fase balik kandungan utama fase geraknya adalah air. Pelarut yang dapat bercampur dengan air diantaranya metanol, etanol, dan tetrahidrofur. Pada analisis senyawa bisoprolol dan atenolol menggunakan fase gerak metanol : air. Pemilihan metanol sendiri karena merupakan pelarut yang sangat murni, mudah didapat, dan hasilnya baik dalam pemisahan. Pada analisis atenolol, ditambahkan asam trifluoasetat (TFA) dalam fase geraknya, penambahan pelarut ini bertujuan untuk meningkatkan nilai resolusi dan menurunkan tailing factor sehingga didapatkan nilai resolusi dan tailing factor yang memenuhi syarat. Tailing Factor (TF) sendiri merupakan terjadinya pengekoran pada kromatogram sehingga bentuk kromatogram menjadi tidak simetris.

Analisis bisoprolol dan atenolol dalam plasma darah bertujuan untuk *Theurapeutic Drug Monitor* (TDM). TDM atau Pemantauan Kadar Obat termasuk ke dalam cabang ilmu kimia klinik dan farmakokinetik, dimana berkaitan dengan optimalisasi efek obat dan penyesuaian dosis obat dengan cara mengukur konsentrasi obat dalam cairan tubuh. TDM ini bertujuan untuk memaksimalkan efek terapi serta mengurangi efek samping ataupun efek toksik dari obat. Pemantauan Kadar Obat biasanya dilakukan terhadap beberapa jenis obat yang memiliki indeks terapi sempit, dimana bertujuan untuk menghindari kondisi kekurangan dosis (*underdose*) dan kelebihan dosis (*overdose*). Metode yang digunakan dalam analisis bisoprolol dan atenolol yaitu metode HPLC. Metode ini dipilih karena mampu memisahkan bahan-bahan yang dapat mengganggu analisis serta dapat mendeteksi kadar obat dalam plasma yang sangat kecil. Selain itu, metode HPLC memiliki keuntungan antara lain metode yang sensitif, spesifik, dan akurasi yang lebih baik.

Tingginya angka hipertensi di Indonesia, membuat penulis untuk mengembangkan metode analisis yang dapat digunakan untuk menganalisis bisoprolol dan atenolol dalam plasma darah. Penulisan review artikel ini bertujuan untuk memudahkan pembaca dalam memilih metode analisis yang sesuai untuk obat golongan beta blocker khususnya bisoprolol dan atenolol dalam plasma darah secara akurat.

METODE

Melakukan perbandingan dari beberapa literature yang tersedia di internet. Penelusuran menggunakan mesin pencarian google untuk membantu mencari literatur. Untuk mempermudah penelusuran digunakan *keyword* pada mesin pencarian *google* dengan *keyword* Analisa kadar obat antihipertensi didalam plasma darah manusia dengan menggunakan metode HPLC. Diperoleh referensi dari jurnal yang diterbitkan oleh *Journal of Chromatographic Science* serta beberapa literature pendukung yang telah dipercaya dan sudah banyak publikasinya.

Setelah memperoleh berbagai referensi tentunya memerlukan proses skrinning dan penyeleksian referensi. Hal ini berfungsi untuk menjaga kualitas dan kesesuaian dengan topik review artikel. Proses penyeleksian menggunakan ketentuan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi yang telah ditetapkan. Kriteria inklusi meliputi jurnal yang dicari sesuai dengan topik yaitu analisa kadar obat antihipertensi didalam plasma darah manusia dengan menggunakan metode HPLC. Sedangkan untuk kriteria eksklusi literatur yang diterbitkan maksimal 10 tahun terakhir ataupun diterbitkan pada tahun 2012. Didapatkan dua jurnal yang digunakan sebagai acuan review artikel ini. Kedua jurnal tersebut membahas penggunaan metode HPLC untuk menganalisa kadar obat antihipertensi dalam plasma manusia. Adapun dari kedua literature tersebut digunakan obat bisoprolol dan atenolol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Bisoprolol dan Atenolol. Berikut adalah tabel ringkasan hasil:

Keterangan	Bisoprolol	Atenolol
Metode	HPLC	HPLC

Kriteria	Fase Diam: Kolam C18 (250 mmx4,6mm) Fase gerak: Metanol-water (70:30 v/v) Panjang gelombang visibel : 458 nm-535 nm	Fase Diam: Kolam C18 (250 mmx4,6mm) Fase Gerak: Metanol-water (50:50 v/v) mengandung 0,1 % asam trifluoroasetat (TFA). Panjang gelombang ultraviolet : 276 nm-296 nm
LOD	3,2 µg/ml	1,5 µg/ml
LOQ	10 µg/ml	5 µg/ml
Linearitas	10-2000 µg/ml	5-150 µg/ml
%Recovery	97,60%, 97,70%, 97,59 %	Rata-rata : 98,4%
%RSD	1,94%, 0,35 %, 0,06%	%RSD area puncak dan waktu retensi untuk atenolol berada dalam 1,92%, menunjukkan kesesuaian sistem
Stabilitas	Sampel stabil selama 3 jam pada suhu 4°C dan 1,5 jam pada suhu kamar	Stabil pada suhu kamar selama 6 jam

Bisoprolol dan atenolol adalah antihipertensi golongan Beta-blocker. Beta-blocker merupakan golongan obat yang bekerja melalui mekanisme penghambatan reseptor-reseptor beta adrenergik di beberapa organ seperti jantung, pembuluh darah perifer, bronkus, pankreas dan hati. Beta-blocker memiliki peran dalam pengobatan kardiovaskular dan non kardiovaskular diantaranya pada terapi angina, aritmia, *Congestive Heart Failure* (CHF), hipertensi, infark miokard, profilaksis perdarahan viseral, profilaksis migrain dan tirotoksikosis.

Tekanan darah tinggi (hipertensi) merupakan suatu keadaan dimana tekanan darah seseorang ≥ 140 mmHg (sistolik) dan/atau ≥ 90 mmHg (diastolik). Selain sebagai salah satu jenis penyakit tidak menular, Hipertensi juga menjadi faktor risiko utama penyakit kardiovaskuler lainnya.

Pemantauan kadar obat/ *therapeutic drugs monitoring* (TDM) merupakan cabang ilmu kimia klinik dan farmakokinetik yang berkaitan dengan optimalisasi efek obat serta penyesuaian dosis obat secara individu dengan cara mengukur konsentrasi obat dalam cairan tubuh. Tujuan dari pemantauan kadar obat adalah untuk memaksimalkan efek terapi serta mengurangi efek samping ataupun efek toksik obat.

Pemeriksaan kadar obat dalam plasma merupakan metode yang sesuai untuk penjaminan kualitas obat dan optimalisasi terapi obat dalam pelayanan farmasi. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang valid untuk menetapkan kadar atenolol dan bisoprolol dalam plasma. Dalam menganalisis konsentrasi obat dalam plasma, metode HPLC umumnya

digunakan karena mampu memisahkan bahan-bahan yang dapat mengganggu analisis serta mampu mendeteksi dan menetapkan kadar obat dalam plasma yang sangat kecil dan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Penggunaan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dipilih karena mempunyai kepekaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode KLT untuk menganalisis suatu senyawa dengan konsentrasi yang sangat kecil, jumlah sampel yang digunakan relatif sedikit, dan memiliki tingkat selektifitas yang tinggi.

Pada review ini fase gerak yang digunakan sama, yaitu metanol : air tetapi dengan perbandingan yang berbeda. Pada atenolol fase gerak yang digunakan metanol : air (50:50 v/v) sedangkan pada bisoprolol fase gerak yang digunakan metanol : air (70:30 v/v). Fase diam yang digunakan juga sama, yaitu kolom C18. Oktadesilsilan (ODS atau C18) adalah fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Pada atenolol laju alir 1 mL/menit. Eluen dipantau dengan deteksi fluoresensi pada 276 nm (eksitasi) dan 296 nm (emisi). Sedangkan Pada bisoprolol laju alir 1,2 mL/menit. Laju alir adalah faktor penting yang menentukan keberhasilan HPLC. Laju alir yang baik dapat memisahkan senyawa dengan waktu yang cepat tanpa adanya pemanjangan puncak. Eluen dipantau dengan mendeteksi pada panjang gelombang eksitasi dan emisi masing-masing 458 dan 525 nm.

Dilihat dari hasil pada pengujian atenolol yang telah dilakukan, yaitu metode HPLC dendeteksi fluoresensi untuk analisis atenolol dalam plasmamanusia. Kurva kalibrasi metode HPLC linier untuk atenololdalam kisaran 25-800 ng / mL. Presisi dinyatakan sebagai %RSD, yaitu kurang dari 8,9%, dan akurasi 0,1%. LOQ dan LOD masing-masing adalah 25 dan 10 ng/mL. Fase gerak dalam metode yang diusulkan adalah metanol:air (50:50, v/v) yang mengandung 0,1% TFA. Penggunaan buffer TFA mempunyai kelebihan sebagai penghambat ionisasi yang baik serta memiliki pH 2. Penggunaan bufer dengan nilai < 2,5 juga dapat mencegah terjadinya deprotonasi gugus hidroksi dari molekul kolom silika C18, deprotonasi dapat terjadi pada pH > 3,5 sehingga kolom dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang.

Stabilitas menunjukkan bahwa atenolol stabil pada suhu kamar selama 6 jam. Stabilitas autosampler menunjukkan bahwa sampel yang diekstraksi stabil selama 24 jam pada suhu 108 °C. Hasil stabilitas *freeze-thaw* dan ekstrak kering menunjukkan bahwa atenolol stabil hingga tiga siklus *freeze-thaw* dan hingga 24 jam pada -208°C dalam bentuk ekstrak kering masing-masing.

Berdasarkan referensi rata-rata geometrik rasio persentase individu tablet 50-mg adalah 102,2% untuk AUC_{0-24j} dan 101,6% untuk C_{max} . Rata-rata AUC , C_{max} dan T_{max} atenolol yang diperoleh dari pasien dengan hipertensi ($587,32 \pm 95,028$ jam ng/mL, $138,7 \pm 13,430$ ng/mL dan $3,0 \pm 0,659$ jam, masing-masing) lebih rendah dari penelitian yang telah dilakukan oleh Pires de Abreu dkk di bawah desain studi yang sebanding. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan kelompok etnis dan metode analisis.

Bisoprolol menunjukkan linearitas yang baik dalam kisaran 10-2.000 ng/mL untuk plasma. LOD dan LOQ BIS dalam plasma masing-masing adalah 3,2 dan 10 ng/mL. Presisi dan akurasi diuji dengan memasukkan tiga konsentrasi berbeda (10, 500 dan 2.000 ng/mL) ke dalam plasma. Pada *intra-day* untuk konsentrasi 10 ng/mL %RSD adalah 1,86% dengan akurasi +7,0%, konsentrasi 500 ng/mL %RSD adalah 0,35% dengan akurasi -0,48%, konsentrasi 2.000 ng/mL %RSD adalah 0,64% dengan akurasi -5,05%. Pada *Inter-day* untuk konsentrasi 10 ng/mL %RSD adalah 1,87% dengan akurasi +6,5 %, konsentrasi 500 ng/mL %RSD adalah 0,23% dengan akurasi -0,52%, konsentrasi 2.000 ng/mL %RSD adalah 0,07% dengan akurasi -5,08%.

Rata-rata hasil recovery diperoleh pada kisaran 97,59 hingga 97,70%. Ini adalah nilai yang sangat cocok untuk penentuan senyawa. Stabilitas menunjukkan stabil selama setidaknya empat hari pada suhu 48°C dan sekitar 3 jam pada suhu kamar. Stabilitas dalam fase gerak juga diuji, dan ditemukan bahwa sampel stabil setidaknya selama 3 jam pada suhu 4,8°C dan 1,5 jam pada suhu kamar (dalam autosampler). untuk studi farmakokinetik.

Setelah pemberian dosis tunggal oral 5 mg bisoprolol kepada sukarelawan yang sehat, konsentrasi plasma maksimum 31 ng/mL (C_{max}) dicapai pada 3 jam (T_{max}). Waktu paruh eliminasi obat ($t_{1/2}$) dan luas di bawah kurva (AUC_{0-24}) ditemukan masing-masing 10,1 jam dan 274,5 ng xh / mL.

Dalam review jurnal yang kami lakukan, validasi yaang telah dilakukan termasuk ke dalam pengujian kategori 2 analisis kuantitatif. Pengujian kategori 2 dapat dibagi lagi menjadi 2 sub-kategori, yaitu analisis kuantitatif dan uji batas. Pada analisis kuantitatif, dilakukan pengujian pada parameter akurasi, presisi, spesifisitas, LOQ, Linearitas, kisaran (range), dan ruggedness. Parameter LOD tidak dilakukan karena tidak begitu penting, tetapi parameter yang lain dibutuhkan. Keadaan yang berlawanan berlaku untuk uji batas, karena informasi kuantitatifnya tidak diperlukan maka pengukuran LOD, spesifisitas, dan ruggedness sudah mencukupi. Oleh karena itu, Pada penelitian ini termasuk pengujian kategori 2 analisis kuantitatif karena dalam penelitian dilakukan pengujian akurasi, presisi, LOD, LOQ, dan linearitas, stabilitas, dan % recovery, yaitu didapatkannya informasi kuantitatif.

SIMPULAN

Kesimpulan dari review jurnal kali ini yaitu, metode HPLC merupakan metode untuk memvalidasi sampel biologis yang sangat baik. Karena kelebihan dari alat ini antara lain sudah umum digunakan dalam laboratorium, sensitif untuk menganalisis sampel, dan dapat menggunakan konsentersasi rendah. Hal ini telah dibuktikan melalui pengujian obat bisoprolol dan atenolol dalam plasma darah manusia didapatkan hasil yang akurat melalui kedua instrumen tersebut. Selain itu, hasil uji validasi baik presisi, akurasi, *recovery*, linearitas, stabilitas, LOD, dan LOQ nya sudah memenuhi kriteria ICH (*International Conference on Harmonization*).

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, M. (2015). *Pengembangan Dan Validasi Metode Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Secara In Vitro*.
- Bekerjadi, B. A. O. S. Y., & Pusat, S. (2018). Analisis Obat Antihipertensi: Golongan Simpatolitik. *Analisis Obat Dalam Sediaan Farmasi*, 139.
- Dayyih, W. A., Hamad, M., Awwad, A. A., Mallah, E., Zakarya, Z., Dayyih, A. A., & Arafat, T. (2017). A Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method For Evaluation Of Two Brands Of Enalapril 20 Mg Tablets In Healthy Human Volunteers. *Journal Of Analytical Methods In Chemistry*, 2017.
- Dewi, N. M. A. R. (2019). Aplikasi Analisis Kimia Kuantitatif Untuk Pemantauan Kadar Obat (Theurapeutic Drugs Monitoring). *Amina*, 1(1), 6–10.
- Fransiska, A. N., Masyrofah, D., Putri, G. K., Malik, L. H., Wulanbirru, P., & Putri, T. R. (2022). Analisis Senyawa Obat Dalam Sampel Biologis Plasma Darah. *Syntax Idea*, 4(5), 905–912.
- Kaddar, N., Pilote, S., Wong, S., Caillier, B., Patoine, D., Drolet, B., & Simard, C. (2013). Simultaneous Determination Of Dofetilide And Amlodipine In Plasma By Hplc. *Journal Of Chromatography And Separation Techniques*, 4(6), 192.
- Putri, A. N., & Fitriah, R. (2019). Formulation And Optimization Of Bisoprolol Fumarate Orally Fast Dissolving Film With Combination Of Hpmc E15 And Maltodextrin As Matrix Polymers. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology*, 1(1), 42–51.
- Sari, O. M., Cahaya, N., & Susilo, Y. H. (2020). Studi Penggunaan Obat Golongan Beta-Blocker Pada Pasien Rawat Inap Rumah Sakit Ansari Saleh Banjarmasin. *Jurnal Farmasi Udayana*, 9(2), 123.
- Sebaiy, M. M., Abdellatef, H. E., Elmosallamy, M. A., & Alshuwaili, M. K. (2020). Isocratic Hplc Method For Simultaneous Determination Of Amlodipine And Xipamide I N Human Plasma. *Open J Anal Bioanal Chem*, 4(1), 1–6.
- Shaikh, J. S. A., Raut, S., Abdul, A., & Pathan, M. A. A. K. (2020). High Performance Liquid Chromatographic Assay Of Amlodipine, Valsartan And Hydrochlorothiazide Simultaneously And Its Application To Pharmaceuticals, Urine And Plasma Analysis. *Journal Of Chromatography B*, 1155, 122295.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Aura.
- Suherman, M., & Hasanah, A. N. (2017). Molekular Imprinting Polimer Untuk Pengujian Atenolol Dalam Cairan Biologis: Review Jurnal. *Farmaka*, 15(3), 56–72.
- Tatar Ulu, S., & Aydoğmuş, Z. (2012). An Hplc Method For The Determination Of Bisoprolol In Human Plasma And Its Application To A Pharmacokinetic Study. *Journal Of Chromatographic Science*, 50(7), 615–619.
- Yilmaz, B., Arslan, S., & Asci, A. (2012). Hplc Method For Determination Of Atenolol In Human Plasma And Application To A Pharmacokinetic Study In Turkey. *Journal Of Chromatographic Science*, 50(10), 914–919.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY SA) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).