

ABSTRAK

Nikotin merupakan salah satu zat kimia dalam rokok yang menimbulkan efek ketergantungan pada perokok. Kadar nikotin dalam darah manusia mencapai puncaknya (15-30 ng/ml) selama 5-8 menit setelah merokok. Oleh karena itu, metode bioanalisis nikotin dalam darah yang reliabel perlu ditetapkan. Metode bioanalisis nikotin dalam darah menggunakan HPLC telah dioptimasi dalam penelitian sebelumnya.

Pada penelitian ini, dilakukan validasi metode bioanalisis nikotin dalam darah menggunakan HPLC fase terbalik dengan fase gerak metanol:ammonium asetat (70:30), laju alir 1,0 mL/menit serta fase diam C-18. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi parameter selektivitas, presisi, *recovery*, linearitas, dan sensitivitas. Sampel plasebo dipreparasi dengan menggunakan NaOH dan ekstraksi menggunakan kloroform.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode yang diuji memiliki nilai koefisien korelasi 0,9988 ($\geq 0,998$), LOD:24,35 ng/mL; LOQ:81,17 ng/mL (sensitivitas yang baik), dan nilai resolusi 1,424 dan 1,482 (di bawah 2,0). Selain itu, *recovery* bernilai 52,968% (di luar 80%-110%), dan CV bernilai 37,637%; 47,110%; 53,377% (di atas 15%). Metode yang diuji tidak reliabel sehingga tidak dapat digunakan untuk menetapkan kadar nikotin dalam darah. Metode ekstraksi nikotin dari matriks darah perlu diperbaiki agar metode dapat memenuhi parameter validitas.

Kata kunci : Validasi, HPLC, Bioanalisis, Nikotin

ABSTRACT

Nicotine is one of the substances in cigarettes that causes dependence on smokers. Nicotine level in human blood reaches its peak (15-30 ng/ml) for 5-8 minutes after smoking. Therefore, a reliable bioanalysis method of nicotine in blood needs to be carefully carried out. The bioanalysis method of nicotine in the blood using HPLC has been optimized in previous study.

In this study, the bioanalysis method of nicotine in blood using reverse phase HPLC systems as followed: mobile phase (methanol:ammonium acetate 70:30), flow rate (1,0 mL/minute) and stationary phase (C-18) was going to be validated. This study aims to validate the parameters of selectivity, precision, recovery, linearity, and sensitivity. Placebo samples were prepared using NaOH followed by extraction using chloroform.

The results showed that the tested method had correlation coefficient 0.9988 (≥ 0.998), LOD:24,35 ng/mL; LOQ:81,17 ng/mL (good sensitivity) and resolution values 1.424; 1.482 (below 2.0). Furthermore, the recovery values 52.968% (outside 80%-110%) and the CV values 37.637%; 47,110%; 53,377% ($>15\%$). The tested method is not reliable so it cannot be used to determine the level of nicotine in the blood. The nicotine extraction method from blood matrix needs to be improved so that the method can meet the requirement of validity.

Keywords : Validation, HPLC, Bioanalysis, Nicotine