

**VALIDASI METODE BIOANALISIS KAFEIN DALAM SAMPEL DARAH  
ORANG JAWA DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI  
FASE TERBALIK**

**Christine Patramurti, Florentinus Dika Octa Riswanto, Suryatmoko Agung**

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, Indonesia

**ABSTRACT**

A series of high-performance liquid chromatography (HPLC) has been widely performed to measure the levels of caffeine in the blood. However, no studies have used javanese blood sample to measure caffeine level. In this research, reversed-phase HPLC method have been used to determine the bioanalytical method validation parameters of the caffeine in javanese blood sample. Javanese blood plasma obtained using a blood donation questionnaire at PMI Kota Yogyakarta. Blood plasma is added with caffeine and acetanilide internal standard. After that, It deproteinated by methanol and then it separated by a C<sub>18</sub> column using a mobile phase aquabidestilata and methanol (50:50), and monitored by UV detector, with the wavelength set at 256 nm. The relationship between caffeine concentrations and peak ratio (caffeine-IS) was linear over the range of 6-20 µg / mL. Limit of detection was detected at 2 µg / mL, lower limit of quantification at 3 µg / mL, and the limit of quantification at 4 µg / mL. Accuracy test average was at  $100 \pm 15\%$ . coefficient of variation (CV) in intra-run and Inter-run <13% and <10%. This method has been successfull to measure the levels of caffeine in the blood sample Java people with valid and reliable.

**Keywords:** HPLC, Javanese blood, method validation, bioanalysis

## ABSTRAK

Serangkaian metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) telah banyak dilakukan untuk mengukur kadar kafein dalam darah. Namun, belum ada penelitian yang menggunakan sampel plasma darah orang jawa. Pada penelitian ini dilakukan metode KCKT fase terbalik untuk mengetahui parameter validasi metode bioanalisis kafein dalam sampel darah orang jawa. Sampel plasma darah orang jawa didapatkan dengan kuisioner Donor Darah di PMI Kota Yogyakarta. Plasma darah ditambahkan dengan baku kafein dan standar internal asetanilida. Setelah itu, dideproteinasi dengan menggunakan metanol. Setelah itu, dipisahkan dengan kolom C<sub>18</sub> menggunakan fase gerak *aqua bidestilata* dan metanol (50:50), kecepatan alir 1 mL/menit, dengan detektor UV pada panjang gelombang 256 nm. Hasil kurva kalibrasi menyatakan hubungan antara konsentrasi kafein dan rasio *area under curve* (AUC) sudah linear pada konsentrasi 6-20 µg/mL. Penelitian ini mendeteksi *limit of detection* pada 2 µg/mL, *lower limit of quantification* pada 3 ppm, *limit of quantification* pada 4 ppm, rata-rata uji akurasi dalam rentang  $100 \pm 15\%$ , persen perolehan kembali diluar rentang  $100 \pm 15\%$ , dengan koefisien variasi (KV) < 13%. Dari hasil uji presisi *interday* didapatkan standar deviasi dibawah 1,3 dan KV dibawah 10%. Metode ini telah gagal mengukur kadar kafein dalam sampel darah orang jawa dengan valid dan reliabel.

**Kata kunci:** KCKT, darah keturunan jawa, validasi metode, bioanalisis