

REVIEW JURNAL: ANALISIS PERBANDINGAN PENETAPAN KADAR BERBAGAI JENIS ANTIBIOTIK MENGGUNAKAN METODE HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Fadil Priyangan^{1*}, Faradila Elsa Anggraeni^{2*}, Ferlinda Pujianti^{3*}, Intan Dwi Cahayani^{4*}, Neli Qurotil A'yuni^{5*}, Sefti Aulia Fida⁶

Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Semarang

Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Semarang, Jl. Kelud Utara III No.15, Petompon, Kec. Gajahmungkur, Kota Semarang, Jawa Tengah, 50237

Email: fadilpriyangan26@students.unnes.ac.id^{1*}, faradilaelsaa35@students.unnes.ac.id^{2*}, ferlindapujianti@students.unnes.ac.id^{3*}, intandchy@students.unnes.ac.id^{4*}, neliquorrotilayuni@students.unnes.ac.id^{5*}, seftifida@students.unnes.ac.id⁶

Abstrak

Antibiotik merupakan terapi yang digunakan pada infeksi bakteri. Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroba, memiliki peran utama yang digunakan untuk membunuh atau mengurangi pertumbuhan bakteri. Penetapan kadar antibiotik menggunakan metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah banyak digunakan dalam berbagai bidang. *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) digunakan untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, biologis, senyawa yang tidak mudah menguap, isolasi senyawa dan pemurnian senyawa. metode penelitian melibatkan kajian literatur terhadap studi yang menggunakan HPLC. Literatur yang digunakan berjumlah 15 jurnal internasional yang berasal dari Google Scholar, Sciendirect, dan Pubmed. Kajian dilakukan dengan membandingkan hasil dan instrumen HPLC mencakup parameter seperti kolom kromatografi, fase gerak, detektor, *Limit of Detection* (LoD), *Limit of Quantification* (LoQ), *recovery*, serta waktu retensi.

Kata Kunci: Antibiotik, HPLC, Penetapan kadar.

Abstract

Antibiotics are a therapy used in bacterial infections. Antibiotic is a compound produced by microbes, has a main role that is used to kill or reduce the growth of bacteria. Determination of antibiotic levels using the

Received: Desember 2024
Reviewed: Desember 2024
Published: Desember 2024

Plagirism Checker No 234
Prefix DOI : Prefix DOI :
10.8734/Nutricia.v1i2.365
Copyright : Author
Publish by : Nutricia



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) method has been widely used in various fields. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) is used for the separation of a number of organic, inorganic, biological, non-volatile compounds, isolation of compounds and purification of compounds. the research method involved a literature review of studies using HPLC. The literature used totaled 15 international journal from Google Scholar, Sciendirect, and Pubmed. The review was conducted by comparing HPLC results and instruments including parameters such as chromatographic column, mobile phase, detector, Limit of Detection (LoD) Limit of Quantification (LoQ), recovery, and retention time.

Keywords: *Antibiotics, Determination, HPLC*

PENDAHULUAN

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau disebut juga dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) merupakan alat instrumen dengan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada beberapa bidang. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) digunakan untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, biologis, senyawa yang tidak mudah menguap, isolasi senyawa dan pemurnian senyawa. Namun, KCKT memiliki keterbatasan dalam identifikasi senyawa yang kompleks karena sulit untuk memperoleh resolusi yang baik, kecuali KCKT dihubungkan dengan spektrometer massa (MS). Teknik dasar pemisahan kromatografi adalah perbedaan kecepatan migrasi analit melalui fase diam dengan gerakan fase gerak cair yang digunakan untuk penentuan kualitatif dan kuantitatif senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap (Angraini & Desmaniar, 2020).

Menurut Aulia *et al.* (2021), komponen pokok dari KCKT yaitu:

1. Fase Gerak

Fase gerak terdiri atas campuran pelarut yang secara keseluruhan dapat bercampur dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Untuk fase normal, fase diam lebih polar daripada fase gerak sehingga daya elusi meningkat dengan meningkatkan polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik, fase diam kurang polar daripada fase gerak sehingga daya elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. Fase gerak diletakkan dalam wadah gelas yang dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Pada saat membuat pelarut, buffer dan reagen sangat dianjurkan dengan pelarut yang memiliki kemurnian tinggi dan lebih terpilih lagi jika pelarut yang akan digunakan untuk KCKT adalah derajat KCKT (*HPLC grade*) (Pratiwi *et al.*, 2023).

2. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa harus inert (tidak mudah bereaksi) terhadap fase gerak. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Pompa berfungsi sebagai penghantar fase gerak yang berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan dan bebas dari gangguan. Tipe pompa terdapat dua jenis, namun sejauh ini yang umum digunakan adalah pompa dengan aliran fase gerak yang konstan (Aziz *et al.*, 2020).

3. Tempat injeksi

Sampel yang akan dianalisis dibuat dalam bentuk cair dan larutan, kemudian disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom. Sampel yang diinjeksikan akan digelontori melewati keluk sampel dan kelebihanannya akan dikeluarkan ke pembuang. Pada saat penyuntikkan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan menggelontor sampel ke kolom (Tumanduk *et al.*, 2023).

4. Kolom

Terdapat dua jenis kolom pada KCKT, yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobor. Namun dalam prakteknya, yang banyak digunakan adalah kolom konvensional karena kolom konvensional lebih tahan dan bermanfaat untuk analisis rutin. Kolom konvensional terbuat dari stainless steel yang memiliki ukuran panjang bervariasi (3, 10, 15, 20 dan 25 cm) dengan diameter luar 0,25 inci dan diameter dalam 4,6 mm. Di dalam kolom terdapat fase diam dengan ukuran yang sama rata-rata diameter partikel 3,5 atau 10 μm dengan porositas yang kecil. Tekanan operasional yang digunakan kolom konvensional sekitar 500-3000 psi. Kolom konvensional memiliki kinerja dengan meningkatnya efisiensi dengan berkurangnya ukuran partikel fase diam, akan tetapi umur kolom dengan ukuran partikel 3 μm lebih pendek (Abriyani *et al.*, 2022).

5. Fase Diam

Fase diam yang banyak digunakan adalah silika. Permukaan silika adalah polar dan sedikit asam. Fase diam silika yang banyak digunakan adalah oktadesil silika (ODS atau C18), karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Oktadesil silika merupakan silika yang dimodifikasi secara kimiawi dan hasil reaksi tersebut adalah silika fase terikat yang stabil terhadap hidrolisis. Silika yang dimodifikasi ini mempunyai karakteristik kromatografi dan selektivitas yang berbeda jika dibandingkan dengan silika yang tidak dimodifikasi. Oktadesil silika memiliki karakteristik non-polar, kisaran pH sekitar 2,5 – 7,5 dan akan mampu memisahkan sejumlah besar solut (Abriyani *et al.*, 2022).

6. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan, yaitu detektor universal yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif. Detektor yang spesifik hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia. Detektor yang paling banyak digunakan dan sangat berguna untuk analisis di bidang farmasi adalah detektor spektrofotometri UV-Vis, karena sebagian besar senyawa obat mempunyai struktur yang dapat diserap sinar UV-Vis. Detektor ini didasarkan adanya penyerapan radiasi UV-Vis pada kisaran panjang gelombang 190-800 nm oleh jenis solut yang mempunyai gugus kromofor (Abriyani *et al.*, 2022).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan teknik kromatografi yang komplementer, sehingga alat ini akan lebih maksimal digunakan jika terhubung dengan komputer. Dengan kata lain, alat ini dikendalikan dan dihubungkan pada komputer dengan software yang berkemampuan untuk memisahkan komponen campuran yang kompleks. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi mempunyai berbagai bentuk yang sesuai untuk berbagai jenis solut yang berbeda dan mampu memisahkan solut dalam campuran. Oleh karena itu, terdapat 4 deskriptor umum yang digunakan untuk melaporkan karakteristik bagian kolom kromatografi, sistem dan pemisahan partikulat (Abriyani *et al.*, 2022).

1. Faktor Retensi

Faktor retensi pada sistem kondisi KCKT didefinisikan sebagai berikut:

$$k' = \frac{V_R - V_o}{V_o}$$
$$= \frac{t_R - t_o}{t_o}$$

V_R : volume retensi analit

V_o : volume fase gerak dalam sistem kromatografi

t_R : waktu retensi analit

t_o : waktu retensi analit yang tidak dipertahankan

K' : faktor kapasitas

Jika faktor kapasitas dari suatu analit kurang dari satu, maka elusinya berlangsung sangat cepat yang artinya analit tertahan sedikit demi sedikit oleh kolom dan terelusi dekat puncak yang tidak diretensi. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemisahan kurang baik dan waktu retensi sulit diukur dengan cermat. Faktor kapasitas yang memiliki nilai sekitar 20 sampai 30 menunjukkan bahwa waktu elusi sangat lama dan kurang berarti untuk analisis. Jika faktor kapasitas antara 2 sampai 10 menunjukkan pemisahan yang baik (Abriyani *et al.*, 2022).

2. Efisiensi (N)

Efisiensi merupakan penilaian kualitas pemisahan kromatografi dari masing-masing puncak solut. Jumlah lempeng teoritis digunakan sebagai ukuran efisiensi. Efisiensi kolom secara umum berkaitan dengan waktu retensi, yakni lamanya waktu komponen atau molekul yang akan dianalisis dalam kolom. Didefinisikan sebagai jumlah lempeng teoritik yang dihitung dengan persamaan :

$$N = 16 \left(\frac{t_e}{w} \right)^2$$

t_e : waktu retensi analit

w : lebar puncak pada garis bawah (*baseline*)

Suatu ukuran alternatif yang tergantung pada panjang kolom kromatografi adalah tinggi lempeng (H) atau biasa disebut HETP (*High Equivalent Theoretical Plate*). Hubungan antara HETP dan jumlah lempeng

(N) serta panjang kolom, dengan persamaan :

$$N = \frac{L}{H}$$

L : panjang kolom

H : tinggi lempeng teoritik yang efektif (HETP).

Kolom yang memberikan jumlah lempeng (N) yang besar dan nilai HETP yang kecil akan mampu memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran yang lebih baik yang berarti bahwa efisiensi kolom adalah besar. Semakin besar harga N/L atau makin kecil H, maka kolom yang dipakai untuk pemisahan semakin efisien (Abriyani *et al.*, 2022).

3. Resolusi

Resolusi didefinisikan sebagai perbedaan antara waktu retensi dua puncak yang saling berdekatan:

$$R = 2 \frac{t_2 - t_1}{w_2 - w_1}$$

t_2 : waktu retensi analit 2

t_1 : waktu retensi analit 1

w_2 : lebar puncak analit 2

w_1 : lebar puncak analit 1

Berdasarkan persamaan tersebut dapat diketahui bahwa yang sangat berpengaruh terhadap pemisahan suatu komponen adalah waktu retensi masing-masing solut dan lebar puncak masing-masing komponen yang dipisahkan. Nilai Rs harus mendekati atau lebih dari 1,5 karena akan memberikan pemisahan puncak yang baik (*baseline resolution*) (Abriyani *et al.*, 2022).

4. Tailing factor

Profil konsentrasi solut yang bermigrasi akan simetris jika rasio distribusi solut konstan selama di kisaran konsentrasi keseluruhan puncak sebagaimana ditunjukkan oleh adsorpsi yang linear, yang merupakan plot konsentrasi solut dalam fase diam terhadap konsentrasi solut dalam fase gerak. Kurva isoterm akan berubah menjadi dua jenis puncak asimetris yakni membentuk puncak yang berekor (*tailing*) dan adanya puncak pendahulu (*fronting*). Tailing maupun fronting tidak dikehendaki karena dapat menyebabkan pemisahan kurang baik dan data retensi kurang reproduksibel.

Untuk menentukan tingkat asimetris puncak dilakukan dengan menghitung faktor asimetris yang disebut dengan tailing factor yang dinyatakan dengan rasio antara lebar setengah tinggi puncak 5% ($W_{0,05}$).

$$T = \frac{W_{0,05}}{2f}$$

Kromatogram yang memberikan harga TF = 1 menunjukkan bahwa kromatogram tersebut simetris. Harga TF > 1 menunjukkan bahwa kromatogram mengalami pengekoran (*tailing*). Semakin besar harga TF, maka kolom yang dipakai semakin kurang efisien. Dengan demikian harga TF dapat digunakan untuk melihat efisiensi kolom kromatografi (Abriyani *et al.*, 2022).

Tahap validasi merupakan suatu usaha harus dilakukan untuk mendemonstrasikan bahwa metode bekerja dengan sampel yang mengandung analit tertentu, menghasilkan

konsentrasi yang diharapkan dalam suatu matriks sampel dengan tingkat akurasi dan presisi yang tinggi. Validasi metode yang sempurna hanya dapat terjadi jika metode tersebut sudah dikembangkan dan sudah dioptimasi. Dalam melakukan validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi masalah analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi (Utami *et al.*, 2020). Parameter yang digunakan dalam metode validasi terdapat 4 parameter, antara lain :

1. Kecermatan (akurasi)

Kecermatan merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konversi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan dan ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (spike placebo recovery) atau metode penambahan baku (standart addition method) (Utami *et al.*, 2020). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang sebenarnya. Dalam metode penambahan baku (adisi), sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis kembali, selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Hasil analisis dinyatakan baik jika nilai % recovery (Utami *et al.*, 2020). Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Rentang Kesalahan pada Konsentrasi Analit (Utami *et al.*, 2020).

Analit pada matrik sampel (%)	Rata-rata yang diperoleh (%)
100	98-102%
>10	98-102%
>1	97-103%
>0,1	95-105%
0,01	90-107%
0,001	90-107%
0,000.1 (1 ppm)	80-110%
0,000.01 (100 ppb)	80-110%
0,000.001 (10 ppb)	60-115%
0,000.000.1 (1 ppb)	40-120%

2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Presisi sering kali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Replikasi dalam uji presisi sebanyak 6-15 dilakukan pada sampel tunggal untuk tiap-tiap konsentrasi. Pada pengujian dengan KCKT, nilai RSD < 2% biasanya dipersyaratkan untuk

senyawa-senyawa aktif dalam jumlah yang banyak, sedangkan untuk senyawa-senyawa dengan kadar sekelumit, RSD berkisar antara 5-15% (Utami *et al.*, 2020).

$$RSD = \frac{100 \times SD}{X}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X}-x)^2}{n-1}}$$

3. Uji linearitas

Linearitas merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linearitas diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat kecil untuk menentukan kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasi. Data linearitas memenuhi jika nilai koefisien korelasi > 0,999 (Utami *et al.*, 2020).

4. Batas deteksi (LOD/*Limit of Detection*)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit berada di atas atau di bawah nilai tertentu. Syarat limit deteksi adalah sebesar tiga kali noise, yang akan dibandingkan dengan tinggi puncak dari standar terendah yang diperiksa (Utami *et al.*, 2020).

5. Batas kuantifikasi (LOQ/*Limit of Quantification*)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Syarat limit kuantifikasi adalah sebesar sepuluh kali noise, yang akan dibandingkan dengan tinggi puncak dari standar terendah yang diperiksa (Utami *et al.*, 2020).

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Review artikel ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Semarang dengan waktu kurang lebih 2 bulan di mulai pada bulan Oktober sampai bulan Desember 2024.

Tahapan Penelitian

Litelatur yang digunakan berjumlah 15 yang berasal dari Google Scholar, Sciendirect, dan Pubmed. Data yang digunakan pada literature review jurnal ini berasal dari berbagai jurnal internasional yang membahas tentang penetapan kadar antibiotik menggunakan *High performance liquid chromatography* (HPLC).

HASIL PENELITIAN

Tabel 2. Perbandingan Data Analisis HPLC pada Antibiotik

No	Judul Jurnal dan Pustaka	Obat yang dianalisis	Kondisi Instrumen	LoD (µg/mL)	LoQ (µg/mL)	Recovery (%)
1.	A Validated RP HPLC Method for simultaneous Determination of Cefixime and Clavulanic Acid Powder in Pediatric Oral Suspension	a.Cefixime b.Clavulani	Kolom: Kolom analitik C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm). Fase Gerak: Campuran metanol dan air yang mengandung disodium hydrogen phosphate dalam rasio 20:80 v/v Detektor: UV/VIS pada panjang gelombang 220 nm. Laju Alir: 1.0 mL/menit. Pompa: Agilent 1260 HPLC (Infinity II). Durasi: Waktu analisis total adalah 15 menit. Waktu Retensi: Cefixime sekitar 7 menit, Clavulanic Acid sekitar 3 menit. Suhu Kolom: 30°C.	a.0.0008 b.0.0021	a.0.0025 b.0.0065	a. 98.96 b. 99.05

2.	Determination of Some Cephalosporins in Pharmaceutical Dosage Forms by RP-HPLC Method	Sefalosporin	Kolom: C18, (250 mm × 4.6 mm i.d., particle size 5 µm) Fase gerak: Triethylamine: Methanol: Acetonitrile: Ultra Pure Water (2: 10: 20: 68 v/v%) Laju alir: 1.0 ml/menit Detektor: PDA L-2455 Panjang gelombang: 256 nm	0.09	0.29	100.74
3.	A novel RP-HPLC method for the detection and quantification of clarithromycin or spiramycin in bulk drug samples and dosage forms.	Clarithomyc in	Kolom: Phenomenex Luna C8 (8 5 µm, 250 x 4.6 mm Fase gerak: 0.1 M phosphate buffer (pH disesuaikan menjadi 6.0 dengan 0.1 M HCl) dan asetonitril dengan rasio 50/50 %v/v Detektor: UV/VIS PDA Panjang gelombang: 210 nm Laju alir: 0.5 ml/menit (isokratik) Volume injeksi sampel: 10 µL	4,0	16,0	99,95

			Waktu retensi: 11,5 ± 1 menit			
4.	Validation of HPLC-UV method for determination of amoxicillin Trihydrate in capsule	Amoxicillin Trihydrate	Kolom: C18 (Hypersil, 250 mm × 4,6 mm, ukuran partikel 5 µm) Fase gerak: Kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄) dan metanol dalam rasio 95:5 Detektor: UV Panjang Gelombang: 254 nm Laju alir: 1,5 mL/menit Pompa: Dual Piston Pump Durasi: 10 menit Waktu retensi: 3,5 ± 0,02 menit	1,579	4,785	100,6
5.	Quantitative determination of amoxicillin from formulated dosage form by reversed phase high performance liquid chromatography separation technique and a new	Amoxicillin	Kolom: Capcell Pak C18 (15 mm × 250 mm) Fase gerak: Methanol: Water (35:65) Laju aliran: 1 mL/menit	0.03	0.09	96.80 98.0 102.72

	method validation		Volume injeksi: 25 µL Panjang gelombang (λ max): 272 nm Waktu retensi amoxicillin: 4.66 menit Durasi: 7.0 menit Suhu kolom: 15-17°C.			
6.	RP-HPLC-UV validation method for levofloxacin hemihydrate estimation in the nano polymeric ocular preparation	Levofloxacin	Pompa: L2130 Detektor: UV-Vis L- 2420 Detektor: UV-Vis L2420 Kolom: Luna Phenomenex C18 (250 4.6 mm; 5m) Fase gerak: Acetonitrile, methanol , and phosphate buffer pH 3.0 (17:3:80 v/v/v) Laju alir: 1 mL/menit Panjang gelombang: 295 nm	0.66686	2.22286	
7.	Validation Methods for Determination of Enrofloxacin Level in Animal Medicine	Enrofloxacin	Kolom: C18 (150 × 4,6 mm)	0,003	0,011	99,916 -

	Products using High-Performance Liquid Chromatography Instrument		Fase gerak: Campuran 0,05 M NaH_2PO_4 (pH 2,5) dan asetonitril dengan rasio 65:35 Detektor: UV Panjang gelombang: 278 nm Laju alir: 1 mL/menit Waktu retensi: 1,892 menit Suhu Kolom: 30°C			100,762
8.	HPLC-MS/MS Method for the Detection of Selected Toxic Metabolites Produced by <i>Penicillium</i> spp. in Nuts	Penicillin	Kolom: Gemini-NX C18 (150 × 2 mm, ukuran partikel 3 μm) Fase gerak: Air dengan asam format 0,05% dan acetoneitrile Detektor: MS Laju alir: 200 μL /menit Durasi: 51 menit Waktu retensi: Andrastin= 34,61 menit, Chaetoglobosi = 29,25 menit	3,04	10,1	79,3- 83,8

9.	A Simultaneous, Validated RP-HPLC Method for Determination of Eight Cephalosporins in Pharmaceutical Formulations.	a. Cefepime Hydrochloride b. Ceftazidime c. Ceftiofur Sodium d. Cefotaxime Sodium e. Ceftriaxone Sodium f. Cefoperazone Sodium g. Cephadrine h. Cefazolin Sodium	Kolom: Kolom Agilent Zorbax C8 (5 μm, 250 mm $\times$ 4.6 mm). Fase Gerak: larutan buffer ammonium asetat 0,1 M (pH 5.6) dan asetonitril dengan rasio 95:5 (v/v). Detektor: UV/VIS dengan panjang gelombang 250 nm. Panjang Gelombang: 250 nm. Laju Alir: 0.8 mL/menit. Pompa: Agilent 1200 HPLC. Durasi: 35 menit. Waktu Retensi: Cefepime Hydrochloride: 6,08 Menit Ceftazidime: 8,81 Menit Ceftiofur Sodium: 9,85 Menit Cefotaxime Sodium: 10,94 Menit Ceftriaxone Sodium: 17,51 Menit Cefoperazone	a. 0.03 b. 0.027 c. 0,018 d. 0,026 e. 0,022 f. 0,018 g. 0,019 h. 0,026	a.0.09 b. 0,018 c. 0,050 d. 0,08 e. 0,067 f. 0,056 g. 0,057 h. 0,080	98.25-101.21
----	--	---	---	---	---	--------------

			Sodium: 23,58 Cephadrine: 25,67 Cefazolin Sodium: 29,44 Suhu Kolom: 30°C			
10.	HPLC Analytical Method Validation for Determination of Cefotaxime in the Bulk and Finished Pharmaceutical Dosage Form	Cefotaxime	Kolom: BDS (150 mm x 4.0 mm x 5 µm) Fase gerak: Methanol dan buffer fosfat (1000 mL:130 mL) pH 6,15 Detektor: Photodiode Array Detector (PDA) Panjang gelombang: 235 nm Laju alir: 1,0 mL/menit. Pompa: Sistem isokratik Durasi: 15 menit Waktu retensi: 12,5 menit Suhu kolom: 30°C	35,5	107,6	98 - 102
11.	Validation of Analysis Method for Determination of	Linkomisin	Kolom: C18 (150 mm x 4,6 mm)	4,19	13,98	99,86

	Lincomycin Levels in Broiler Chickens using High Performance Liquid Chromatography (HPLC)		Fase gerak: Campuran buffer dan asetonitril (89:11) Detektor: UV Panjang gelombang: 220 nm Laju alir: 1,0 mL/menit Pompa: Isokratik Durasi: 15 menit Waktu retensi: 10 menit Suhu kolom: 35°C			
12.	A novel silica supported chitosan/glutaraldehyde as an efficient sorbent in solid phase extraction coupling with HPLC for the determination of Penicillin G from water and wastewater samples	Penicillin	Kolom: Ultimate XB C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) Fase gerak: Methanol dan buffer fosfat (0.1 M KH ₂ PO ₄ , pH 4.5) Detektor: UV Panjang gelombang: 220 nm Laju alir: 0.6 mL/menit Pompa: sistem isokratik	0.493	1.638	91.31 - 123.27

			Waktu retensi: 4,2 menit Suhu kolom: 35°			
13.	Stability indicating RP-HPLC method development and validation of cefepime and amikacin in pure and pharmaceutical dosage forms	a. Cefepime b. Amikacin	Kolom: Waters XTerra RP-C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) Fase Gerak: Methanol: Acetonitrile: Acetate Buffer (75:20:05, v/v), dengan pH 5.1 Detektor: UV Panjang gelombang 212 nm. Laju Alir: 1.0 mL/menit.	a. 0.003 b. 0.05	a.0.01 b.0.20	a. 98.58-101.37 b. 98.3-100.37
14.	HPLC Assay of Model Tablet Formulations Containing Metronidazole and Ciprofloxacin	a. (MET) Metronidazole b. (CIP) Ciprofloxacin	Kolom: LiChrosorb® RP-18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm). Fase Gerak: Campuran triethylamine, o-phosphoric acid, dan acetonitrile (0.02:80:20 v/v/v). Detektor: UV/VIS pada panjang gelombang 290 nm. Laju Alir: 1.0 mL/menit. Pompa: SHIMADZU	a. 0.012 b. 0.040	a. 0.125 b. 0.400	a. 100.1 b. 100.2

			Corporation, LC-20 AD. Durasi: Total waktu analisis kurang dari 8 menit. Waktu Retensi: MET: 3.46 menit. CIP: 6.68 menit. Suhu Kolom: 33°C.			
15.	A rapid, developed and validated RP-HPLC method for determination of azithromycin	Azithromycin	HPLC: LC-20A Detektor: PDA 210 nm Kolom: fase terbalik ODS-3 (250 mm×4,6 mm×5 μm) Laju alir: 1,2 ml/menit Volume injeksi: 50 μL Suhu kolom: 40° C Fase gerak: Metanol: Buffer fosfat (9:1, v/v)	28,7	86,9	80-120

PEMBAHASAN

Penetapan kadar antibiotik menggunakan metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah banyak digunakan dalam berbagai bidang, seperti industri farmasi, penelitian laboratorium, serta pengawasan kualitas obat. Metode ini dikenal karena menawarkan tingkat sensitivitas, akurasi, dan selektivitas yang sangat tinggi dalam

menganalisis berbagai jenis antibiotik. Sensitivitas HPLC memungkinkan deteksi kadar antibiotik dalam konsentrasi yang sangat rendah, sedangkan akurasi dan selektivitasnya memastikan bahwa hasil pengukuran mencerminkan kadar sebenarnya dari antibiotik yang dianalisis, bahkan dalam campuran yang kompleks. Hal ini menjadikan HPLC sebagai metode standar yang sering direkomendasikan dalam berbagai pedoman resmi terkait analisis obat dan produk farmasi.

Salah satu keunggulan utama HPLC terletak pada kemampuannya untuk memisahkan senyawa aktif dalam antibiotik dengan komponen lain yang mungkin ada dalam sampel, seperti zat pengawet, pelarut sisa, atau senyawa pengotor. Dengan menggunakan kombinasi kolom kromatografi yang sesuai dan fase gerak yang dioptimalkan, metode ini dapat meminimalkan gangguan dari komponen lain sehingga memberikan hasil analisis yang spesifik. Detektor yang umum digunakan dalam metode HPLC, seperti detektor UV-Vis (*Ultraviolet-Visible Spectroscopy*) atau *Photodiode Array* (PDA), mampu mendeteksi antibiotik berdasarkan karakteristik serapan cahaya yang dimilikinya.

Selain sensitivitas dan akurasi, HPLC juga menawarkan fleksibilitas yang tinggi dalam hal parameter analisis. Peneliti atau analis dapat menyesuaikan jenis kolom, fase gerak, laju alir, suhu kolom, dan panjang gelombang deteksi sesuai dengan karakteristik spesifik antibiotik yang dianalisis. Misalnya, antibiotik dengan sifat polar akan memerlukan fase gerak dan jenis kolom yang berbeda dibandingkan dengan antibiotik bersifat non-polar. Dengan adanya fleksibilitas ini, HPLC dapat digunakan untuk menganalisis berbagai jenis antibiotik, seperti penisilin, tetrasiklin, makrolida, dan lainnya, dengan hasil yang tetap konsisten dan valid.

Validasi metode HPLC menjadi langkah penting dalam memastikan hasil analisis yang dihasilkan dapat diandalkan. Proses validasi melibatkan pengujian terhadap parameter seperti akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), dan *recovery*. Setiap parameter ini memastikan bahwa metode yang digunakan dapat memberikan hasil yang konsisten, stabil, dan sesuai dengan standar yang berlaku. Misalnya, nilai LOD yang rendah menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi antibiotik dalam konsentrasi yang sangat kecil, sedangkan nilai *recovery* yang tinggi menunjukkan bahwa metode ini dapat mengukur kembali kadar antibiotik yang sebenarnya dengan kesalahan minimal.

Penggunaan metode HPLC juga memainkan peran penting dalam pengujian stabilitas antibiotik selama penyimpanan dan distribusi. Dengan metode ini, perubahan konsentrasi atau degradasi antibiotik akibat faktor lingkungan seperti suhu, cahaya, dan kelembapan dapat dipantau dengan akurat. Informasi ini sangat penting untuk memastikan efektivitas dan keamanan antibiotik yang dikonsumsi oleh pasien. Selain itu, metode HPLC juga sering digunakan dalam pemantauan residu antibiotik dalam produk pangan, seperti daging dan

susu, untuk memastikan bahwa kadar antibiotik yang terkandung di dalamnya tidak melebihi batas yang diizinkan.

Secara keseluruhan, metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah membuktikan keunggulannya sebagai teknik analisis yang andal untuk penetapan kadar antibiotik dalam berbagai jenis sampel. Dengan kemampuan yang dapat diadaptasi sesuai kebutuhan analisis dan perkembangan teknologi instrumen yang semakin canggih, HPLC akan terus menjadi pilihan utama dalam analisis antibiotik di masa mendatang. Peningkatan dalam teknologi deteksi, seperti integrasi dengan *Mass Spectrometry* (MS), diharapkan semakin memperluas kemampuan HPLC dalam menganalisis antibiotik dengan kompleksitas yang lebih tinggi.

Dalam penelitian ini, dilakukan perbandingan hasil dari berbagai jurnal yang membahas analisis kadar antibiotik dengan HPLC.

1. Parameter Instrumen HPLC

- Setiap jurnal menggunakan kolom yang berbeda, seperti kolom C18, C8, dan Phenomenex Luna C18, yang memiliki ukuran partikel dan panjang kolom yang bervariasi.
- Fase gerak yang digunakan juga bervariasi, mulai dari campuran metanol-air, buffer fosfat-asetonitril, hingga campuran organik seperti methanol dan triethylamine.
- Detektor yang digunakan meliputi UV/VIS, PDA (*Photodiode Array Detector*), dan MS (*Mass Spectrometry*), dengan panjang gelombang deteksi yang disesuaikan untuk setiap jenis antibiotik.

2. Sensitivitas Metode (LOD dan LOQ)

- Nilai LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*) menunjukkan batas terendah antibiotik yang masih dapat dideteksi dan dikuantifikasi dengan baik.
- Misalnya, untuk Cefixime, LOD tercatat sebesar 0.0008 µg/mL, sementara untuk Levofloxacin, LOD sebesar 0.66686 µg/mL. Variasi ini dipengaruhi oleh parameter metode dan sifat kimia antibiotik yang diuji.

3. Recovery (Tingkat Pemulihan)

- Recovery menggambarkan seberapa akurat metode dapat mengukur kadar antibiotik yang sebenarnya.
- Nilai recovery pada berbagai antibiotik bervariasi, seperti Cefixime (98.96%), Amoxicillin (100.6%), dan Enrofloxacin (99.916% - 100.762%).
- Tingkat recovery yang tinggi menunjukkan metode yang andal dan dapat diandalkan untuk analisis.

4. Waktu Retensi dan Stabilitas Analisis

- Waktu retensi untuk setiap antibiotik juga berbeda-beda, seperti Cefixime (7 menit) dan Cefotaxime (12.5 menit).

- Stabilitas metode diuji berdasarkan waktu analisis yang konsisten dan durasi total analisis yang efisien.
- 5. Aplikasi Praktis
 - Metode HPLC yang tervalidasi ini dapat diaplikasikan dalam pengujian kontrol kualitas di industri farmasi dan laboratorium penelitian.
 - Metode ini juga membantu memastikan bahwa sediaan antibiotik yang diproduksi memenuhi standar kadar yang ditetapkan untuk efektivitas terapeutik.
- 6. Perbandingan Antar Metode
 - Jurnal menunjukkan bahwa meskipun metode HPLC serupa digunakan, terdapat variasi dalam parameter instrumen yang mempengaruhi hasil akhir analisis.
 - Antibiotik yang berbeda memerlukan penyesuaian kondisi analisis, seperti jenis kolom, fase gerak, laju alir, dan panjang gelombang deteksi.

Dengan demikian, berdasarkan analisa jurnal yang di temukan penulis, maka review yang dihasilkan dimana berbagai metode validasi analisis menggunakan *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah dikembangkan untuk mendeteksi dan mengukur kandungan obat dalam berbagai sediaan farmasi. Studi pertama menggunakan metode RP-HPLC untuk analisis simultan Cefixime dan Clavulanic Acid dalam sediaan suspensi oral anak. Penggunaan kolom C18 dengan fase gerak campuran metanol dan air yang mengandung disodium hydrogen phosphate (20:80 v/v) serta detektor UV/VIS pada panjang gelombang 220 nm menghasilkan batas deteksi (LOD) sebesar 0,0008 µg/mL untuk Cefixime dan 0,0021 µg/mL untuk Clavulanic Acid, dengan tingkat *recovery* rata-rata masing-masing 98,96% dan 99,05%. Studi kedua menganalisis berbagai jenis sefalosporin menggunakan kolom C18 dan fase gerak campuran Triethylamine, Methanol, Acetonitrile, dan Ultra Pure Water (2:10:20:68 v/v%). Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 256 nm dengan tingkat *recovery* mencapai 100,74%.

Selanjutnya, metode RP-HPLC untuk Clarithromycin menggunakan kolom Phenomenex Luna C8 dengan fase gerak buffer fosfat 0,1 M (pH 6,0) dan asetonitril (50:50 v/v) pada laju alir 0,5 mL/menit menghasilkan LOD sebesar 4,0 µg/mL dan LOQ sebesar 16,0 µg/mL dengan *recovery* 99,95%. Untuk Amoxicillin Trihydrate, metode validasi HPLC menggunakan kolom C18 Hypersil dan fase gerak KH₂PO₄:Metanol (95:5) memberikan LOD sebesar 1,579 µg/mL, LOQ 4,785 µg/mL, dan tingkat *recovery* sebesar 100,6%. Studi lainnya menggunakan kolom Capcell Pak C18 dengan fase gerak Methanol:Air (35:65) menghasilkan tingkat *recovery* sebesar 96,80% hingga 102,72%.

Pada metode untuk Levofloxacin, HPLC dengan kolom Luna Phenomenex C18 dan fase gerak campuran acetonitrile, methanol, dan phosphate buffer (pH 3,0, 17:3:80 v/v/v) menghasilkan LOD sebesar 0,66686 µg/mL dan LOQ 2,22286 µg/mL. Sementara itu, metode untuk Enrofloxacin dengan kolom C18 dan fase gerak NaH₂PO₄ 0,05 M (pH 2,5):Asetonitril

(65:35) menunjukkan LOD 0,003 µg/mL, LOQ 0,011 µg/mL, serta tingkat *recovery* 99,916%–100,762%.

Metode HPLC-MS/MS digunakan untuk mendeteksi metabolit toksik *Penicillium* spp. pada kacang dengan kolom Gemini-NX C18 dan fase gerak air dengan asam format 0,05% serta acetonitrile, menghasilkan *recovery* sebesar 79,3%–83,8%. Selain itu, metode untuk delapan jenis sefalosporin menggunakan kolom Agilent Zorbax C8 dengan fase gerak ammonium asetat dan acetonitrile menghasilkan tingkat *recovery* 98,25%–101,21%.

Validasi metode untuk Cefotaxime menggunakan kolom BDS dengan fase gerak Methanol dan buffer fosfat (pH 6,15) menghasilkan LOD 35,5 µg/mL, LOQ 107,6 µg/mL, dan *recovery* 98%–102%. Sementara itu, untuk Lincomycin, metode dengan kolom C18 dan fase gerak buffer:Asetonitril (89:11) memberikan *recovery* sebesar 99,86%. Penelitian terakhir mengenai Penicillin menggunakan kolom Ultimate XB C18 dengan fase gerak Methanol dan buffer fosfat (pH 4,5) menunjukkan LOD sebesar 0,493 µg/mL, LOQ 1,638 µg/mL, dan *recovery* 91,31%–123,27%. Validasi metode HPLC yang digunakan dalam berbagai penelitian menunjukkan keakuratan, presisi, serta kemampuan yang baik dalam mendeteksi dan mengukur berbagai jenis obat pada sediaan farmasi dan sampel biologis.

Secara keseluruhan, metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) terbukti efektif untuk menganalisis kadar berbagai jenis antibiotik dengan tingkat akurasi, presisi, dan sensitivitas yang tinggi. Keunggulan utama metode ini terletak pada kemampuannya dalam memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur senyawa dalam campuran kompleks dengan hasil yang konsisten dan dapat diandalkan. Hal ini menjadikan HPLC sebagai metode pilihan dalam pengujian kontrol kualitas di industri farmasi maupun penelitian akademis. Selain itu, metode ini memiliki fleksibilitas yang tinggi untuk disesuaikan dengan karakteristik fisikokimia antibiotik tertentu, seperti kelarutan, polaritas, dan stabilitas senyawa, sehingga memberikan hasil yang lebih spesifik dan akurat.

Variasi dalam instrumen dan parameter analisis menjadi salah satu faktor penting yang memengaruhi keberhasilan metode HPLC dalam menganalisis berbagai jenis antibiotik. Perbedaan dalam pemilihan kolom kromatografi, seperti kolom C18, C8, atau kolom khusus lainnya, akan memengaruhi proses pemisahan senyawa. Begitu pula dengan fase gerak yang digunakan, yang dapat berupa campuran pelarut organik seperti metanol-air atau asetonitril-buffer fosfat. Pemilihan panjang gelombang deteksi pada detektor UV/VIS atau PDA (*Photodiode Array Detector*) juga disesuaikan dengan karakteristik absorpsi antibiotik yang dianalisis. Parameter-parameter ini perlu dioptimalkan untuk setiap jenis antibiotik agar dapat mencapai efisiensi pemisahan dan sensitivitas yang maksimal.

Keberhasilan metode HPLC juga sangat dipengaruhi oleh validasi metode yang mencakup parameter seperti *Limit of Detection* (LOD), *Limit of Quantification* (LOQ), dan

tingkat pemulihan (*recovery*). Nilai LOD dan LOQ yang rendah menunjukkan kemampuan metode untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antibiotik dalam jumlah yang sangat kecil. Sementara itu, nilai *recovery* yang tinggi menunjukkan bahwa metode ini mampu mengukur kadar sebenarnya dari antibiotik dengan tingkat kesalahan yang minimal. Dengan validasi yang baik, metode HPLC dapat diandalkan untuk memastikan bahwa sediaan antibiotik yang diuji memenuhi standar kualitas yang ditetapkan.

Selain itu, metode HPLC memiliki keunggulan dalam hal durasi analisis dan stabilitas metode. Waktu retensi yang terukur dengan konsisten memastikan bahwa setiap antibiotik dapat diidentifikasi dengan tepat dalam waktu yang relatif singkat. Stabilitas metode juga memastikan bahwa analisis dapat diulangi dengan hasil yang serupa, sehingga meningkatkan keandalan data yang dihasilkan. Efisiensi waktu analisis ini penting terutama dalam lingkungan industri yang memerlukan pengujian dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat.

Dengan semua keunggulan tersebut, metode HPLC menjadi alat yang sangat penting dalam pengendalian kualitas produk antibiotik, penelitian formulasi obat baru, serta pemantauan kadar antibiotik dalam sampel biologis. Pengembangan lebih lanjut dalam teknologi instrumen HPLC, seperti integrasi dengan detektor *Mass Spectrometry* (MS), akan semakin meningkatkan kemampuan metode ini dalam mendeteksi senyawa dengan sensitivitas yang lebih tinggi. Oleh karena itu, metode HPLC diperkirakan akan terus menjadi standar emas dalam analisis kadar antibiotik di berbagai bidang terkait.

Pembahasan mengenai metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam penetapan kadar antibiotik telah diuraikan secara rinci, menyoroti berbagai keunggulan teknis dan aplikasinya. Berikut adalah ringkasan dan analisis utama:

Keunggulan Metode HPLC

1. Sensitivitas Tinggi

HPLC mampu mendeteksi konsentrasi antibiotik dalam jumlah yang sangat kecil (LOD rendah). Hal ini relevan untuk pengujian residu atau produk dengan kadar rendah.

2. Akurasi dan Presisi

Akurasi metode ini memungkinkan pengukuran yang mencerminkan kadar sebenarnya dalam sampel, bahkan di lingkungan kompleks. Presisi memastikan hasil yang konsisten di berbagai pengulangan.

3. Fleksibilitas Parameter Analisis

Parameter seperti jenis kolom, fase gerak, suhu kolom, dan panjang gelombang deteksi dapat dioptimalkan untuk berbagai antibiotik, seperti:

- Kolom C18 untuk analisis umum.
- Fase gerak buffer fosfat atau campuran organik untuk stabilitas analisis.
- Detektor UV/VIS dan PDA untuk deteksi spesifik.

4. Kemampuan Memisahkan Komponen

HPLC memisahkan senyawa aktif antibiotik dari pengotor seperti zat pengawet atau pelarut sisa, menghasilkan hasil analisis yang spesifik.

Validasi Metode

Proses validasi mencakup parameter penting seperti:

- LOD dan LOQ: Misalnya, nilai LOD Cefixime sebesar 0.0008 µg/mL menunjukkan deteksi tingkat ultra-trace.
- Recovery: Tingkat pemulihan tinggi, seperti Amoxicillin dengan nilai 100.6%, memastikan keandalan metode.
- Linearitas dan Stabilitas: Parameter ini memastikan hasil yang valid meskipun kondisi lingkungan bervariasi.

Aplikasi Praktis

1. Industri Farmasi

Digunakan untuk kontrol kualitas antibiotik dalam bentuk sediaan farmasi, seperti tablet dan suspensi oral.

2. Penelitian dan Monitoring

Digunakan untuk analisis stabilitas selama penyimpanan atau distribusi antibiotik.

3. Pengujian Residu

Memastikan kadar residu antibiotik dalam pangan seperti daging dan susu tidak melebihi batas yang diizinkan.

Metode HPLC menawarkan solusi analisis yang sangat andal dengan akurasi dan sensitivitas yang tinggi, menjadikannya metode utama dalam analisis antibiotik.

Perkembangan teknologi, seperti integrasi HPLC dengan MS, diharapkan memperluas kapasitas analisis untuk senyawa yang lebih kompleks di masa depan.

KESIMPULAN

Metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu teknik analisis yang paling andal dan banyak digunakan dalam bidang farmasi dan kimia, terutama untuk analisis senyawa seperti antibiotik. Keunggulan utama metode ini terletak pada akurasi, sensitivitas, dan selektivitasnya yang tinggi dalam mendeteksi serta mengukur konsentrasi senyawa target. Dengan kemampuan untuk memisahkan komponen dalam campuran kompleks secara efisien, HPLC menjadi metode pilihan dalam pengujian kualitas obat, studi stabilitas, serta pemantauan residu antibiotik dalam produk pangan dan lingkungan. Selain itu, metode ini memiliki fleksibilitas dalam penggunaan berbagai jenis kolom dan fase gerak, yang memungkinkan penyesuaian untuk berbagai jenis sampel dan kondisi analisis.

Seiring dengan perkembangan teknologi, integrasi HPLC dengan detektor yang lebih canggih seperti *Mass Spectrometry* (MS) semakin meningkatkan kapasitas analisis metode ini. Kombinasi HPLC-MS memungkinkan identifikasi dan karakterisasi senyawa dengan tingkat presisi yang lebih tinggi, bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah. Teknik ini juga mampu memberikan informasi struktural yang lebih mendalam mengenai senyawa yang dianalisis, yang sangat penting dalam penelitian dan pengembangan obat baru. Dengan adanya detektor MS, tantangan dalam menganalisis senyawa yang memiliki struktur kompleks atau sangat mirip satu sama lain dapat diatasi dengan lebih efektif.

Di masa depan, teknologi HPLC diharapkan terus berkembang dengan integrasi sistem otomatisasi dan kecerdasan buatan (*Artificial Intelligence/AI*) untuk meningkatkan efisiensi dan kecepatan analisis. Penggunaan perangkat lunak canggih dalam pengolahan data juga akan semakin mempermudah peneliti dalam menginterpretasikan hasil dengan lebih akurat. Selain itu, inovasi dalam desain kolom dan fase gerak diharapkan dapat memperluas aplikasi HPLC untuk analisis senyawa yang lebih kompleks dan beragam. Dengan terus berkembangnya teknologi ini, HPLC akan tetap menjadi metode unggulan dalam dunia analisis kimia dan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El Aziz Shama, S., Abd El Azim, S., Elham, A., & Shaimaa, H. N. (2021). A simultaneous, validated RP-HPLC method for determination of eight cephalosporins in pharmaceutical formulations. *Sys Rev Pharm*, 12(3), 646-53.
- Abriyani, E., Yanti, D., Yuliani, Y., Shapa Azzahra, S., & Aldi Firdaus, M. (2022). Analisis Kafein Dalam Kopi Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 1(5), 1398–1409.
- Alfeen, A., & Elias, B. (2015). Determination of Some Cephalosporins in Pharmaceutical Dosage Forms by RP-HPLC Method. *Chemistry and material research*, 7(11), 66-73.
- Al-Hakkani, M. F. (2019). A rapid, developed and validated RP-HPLC method for determination of azithromycin. *SN Applied Sciences*, 1(3), 222.
- Angraini, N., & Desmaniar, P. (2020). Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk Analisis Asam Askorbat Guna Menunjang Kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*, 2(1).
- Aulia, S.S., Sopyan, I., & Muchtaridi, M. (2021). Penetapan Kadar Simvastatin menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Jurnal Farmaka*, 14(4).
- Aziz, Z., Nurhidayati, L., Abdillah, S., & Yuliana, N. D. (2020). Optimasi dan Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Menetapkan Kadar Asam Klorogenat dalam Ekstrak Etanol Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 67-76.
- Chandra, R. (2016). Quantitative determination of amoxicillin from formulated dosage form by reversed phase high performance liquid chromatography separation technique and a new method validation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 308-311.
- Irianti, I. N., Kurniawan, J., & Wijayanti, A. D. (2021). Validation Methods for Determination of Enrofloxacin Level in Animal Medicine Products using High-Performance Liquid Chromatography Instrument. *Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 2(1), 20-24.
- Kalyani, L., & Rao, C. V. N. (2018). Stability indicating RP-HPLC method development and validation of cefepime and amikacin in pure and pharmaceutical dosage forms. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54, e17258.
- Katsidzira, R. M., Wessels, A., & Aucamp, M. (2016). A novel RP-HPLC method for the detection and quantification of clarithromycin or spiramycin in bulk drug samples and dosage forms.
- Maharini, I., Martien, R., & Nugroho, A. K. (2022). RP-HPLC-UV validation method for levofloxacin hemihydrate estimation in the nano polymeric ocular preparation. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(2), 103582.
- Mahmoudian, M. H., Fazlzadeh, M., Niari, M. H., Azari, A., & Lima, E. C. (2020). A novel silica supported chitosan/glutaraldehyde as an efficient sorbent in solid phase extraction coupling with HPLC for the determination of Penicillin G from water and wastewater samples. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(9), 7147-7159.
- Marcel, S., Tito, U., Ines, I., & Pierre, N. J. (2018). Validation of HPLC-UV method for

- determination of amoxicillin Trihydrate in capsule. *Annals of Advances in Chemistry*, 2, 055-072.
- Maslarska, V., Tsvetkova, B., Peikova, L., Kostova, B., Rachev, D., Bozhanov, S., & Zareva, N. (2016). HPLC assay of model tablet formulations containing metronidazole and ciprofloxacin. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 306-310.
- Mostafa F. Al-Hakkani. (2020). HPLC Analytical Method Validation for Determination of Cefotaxime in the Bulk and Finished Pharmaceutical Dosage Form. *Sustainable Chemical Engineering*, 33-42.
- Muzaki, A. Y., Wibisono, C., Irianti, I. N., Wijayanti, A. D., & Widiasih, D. A. (2023). Valiasi Metode Analisis Penetapan Kadar Linkomisin pada Ayam Broiler menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Jurnal Sain Veteriner*, 41(2), 207-214.
- Nepal, U., Panthi, V. K., Chaudhary, N. P., & Chaudhary, S. (2022). A Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Cefixime and Clavulanic Acid Powder in Pediatric Oral Suspension. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2022(1), 8331762.
- Pratiwi, S. A., Februyani, N., & Basith, A. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 1-10.
- Spadaro, D., Meloni, G. R., Siciliano, I., Prencipe, S., & Gullino, M. L. (2020). HPLC-MS/MS method for the detection of selected toxic metabolites produced by *Penicillium* spp. in nuts. *Toxins*, 12(5), 307.
- Tumanduk, R., Nasrum, M. M., Rosana, A., & Hamid, F. (2023). Analisis residu amoksisilin pada hepar dan ventrikulus ayam petelur di pasar tradisional Kota Makassar. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 12(1), 20-25.
- Utami, D. P., Wardhani, D. S., & H, I. N. (2020). Penentuan Batas Deteksi Metode, Limit Deteksi, dan Limit Kuantisasi Pengujian Kesadahan Secara Titrimetri Menggunakan Alat Titrasi Konvensional. 18(1), 57-61.