

Validation of Analytical Method of Testing Cefotaxime Sodium in Injection Powder Preparation by High-Performance Liquid Chromatography

Validasi Metode Analisis Pengujian Sefotaksim Natrium dalam Sediaan Serbuk Injeksi dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Aneu Aryani Pratiwi^{1)*}, Dikdik Mulyadi¹⁾, Devi Indah Anwar¹⁾

¹Study Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Muhammadiyah Sukabumi, Sukabumi, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: aneudp4@gmail.com

Article History:

Received: July 2, 2023; Revised: July 9, 2023; Accepted: November 30, 2023; Online: November 30, 2023

ABSTRACT

Cefotaxime sodium was an antibiotic drug included in the third-generation cephalosporin group. The aim of this research was to validate the method used for the analysis of cefotaxime sodium injection powder using HPLC. Parameters performed in this study included system suitability, selectivity, linearity, accuracy, precision, robustness, Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantitation (LOQ). In this study, the mobile phase used was phosphate buffer pH 6,25 with methanol in the ratios of (30:70), (40:60), (50:50), (60:40), and (70:30) v/v. The analysis was carried out using a 150 × 4,6 mm 5µm C18 column and phosphate buffer pH 6,25 with methanol (40:60) v/v as a mobile phase with a flow rate of 1 mL/min, and a detector at a wavelength of 235 nm. The results showed that the system suitability test results met the requirements, with a plate number of 2288, a standard deviation of 0,93%, and a tailing factor of 1,3. The linearity results met the requirements of $r \geq 0,999$ with LOD and LOQ values of $3,3894 \times 10^{-4}$ mg/mL and $1,0271 \times 10^{-3}$ mg/mL, respectively. The accuracy results obtained a recovery value of 99,30% and an RSD of 0,48%. Precision results of repeatability and intermediate precision had RSDs of 0,38% and 0,85%, respectively. Robustness test results obtained a recovery value of 100,25% and an RSD of 0,85%. The results showed that the recovery values (98-102%) and $RSD \leq 1,5\%$ were in accordance with the validation requirements. It was concluded that the validation of the proposed method was recommended and could be used for routine analysis.

Keywords: Cefotaxime Sodium, Method Validation, HPLC

ABSTRAK

Sefotaksim natrium merupakan obat antibiotik yang termasuk dalam golongan sefalosporin generasi ketiga. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode untuk analisis sefotaksim natrium dalam sediaan serbuk injeksi dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Parameter yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi kesesuaian sistem, selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, *robustness*, *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ). Fase gerak yang digunakan yaitu dapar fosfat pH 6,25 dan metanol dengan perbandingan (30:70), (40:60), (50:50), (60:40) dan (70:30) v/v. Analisis dilakukan menggunakan kolom C18 150 × 4,6 mm 5µm dengan menggunakan fase gerak terdiri dari dapar fosfat pH 6,25 berbanding metanol (40:60) v/v, panjang gelombang 235 nm dengan kecepatan alir 1 mL/menit. Hasil penelitian menunjukkan kesesuaian sistem memenuhi persyaratan yaitu *plate number* 2288, simpangan baku 0,93% dan *tailing factor* 1,3. Hasil linearitas memenuhi persyaratan dengan nilai $r \geq 0,999$ dengan nilai LOD $3,3894 \times 10^{-4}$ mg/mL dan nilai LOQ $1,0271 \times 10^{-3}$ mg/mL. Hasil akurasi 99,30%, RSD 0,48%, presisi keberulangan RSD 0,38%, presisi antara RSD 0,85%. Hasil uji *robustness* diperoleh nilai perolehan kembali 100,25%, RSD 0,85%. Hasil penelitian sesuai dengan syarat nilai perolehan kembali (98-102%) dan $RSD \leq 1,5\%$.

Kata kunci: Sefotaksim Natrium, Validasi Metode, HPLC

PENDAHULUAN

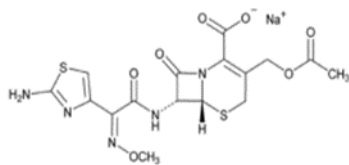
Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh mikroba. Salah satu jenis obat antibiotik ialah sefotaksim

([Gambar 1](#)) yang termasuk golongan sefalosporin generasi ketiga dan efektif membunuh bakteri Gram negatif (PERMENKES RI, 2011; Radji, 2014). Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi dan sering diresepkan pada anak-anak dan orang dewasa.

Cite this Pratiwi, A.A., Mulyadi, D. and Anwar, D.I. (2023) 'Validation of Analytical Method of Testing Cefotaxime Sodium in Injection Powder Preparation by High-Performance Liquid Chromatography', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 10(2), pp. 26-30. DOI: 10.20473/bikfar.v10i2.47179.



Copyright: ©2023 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA) license



Gambar 1. Struktur Sefotaksim Natrium (DEPKES RI, 2020)

Setiap metode yang akan digunakan dalam pengujian obat harus mampu memberikan hasil yang terpercaya, karena itulah perlu adanya proses verifikasi ataupun validasi sebelum metode tersebut digunakan untuk analisis rutin (Ravisanekar *et al.*, 2015). Adanya perbedaan alat, bahan kimia, keterbatasan alat dan kondisi lain yang bisa menyebabkan metode tersebut tidak dapat digunakan secara keseluruhan, sehingga sering dilakukan modifikasi atau penyederhanaan metode (Nasution, 2006). Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai untuk peruntukannya (Gandjar & Rohman, 2007).

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menetapkan kadar dalam obat. Pemilihan metode kromatografi didasarkan beberapa hal, baik berdasarkan molekul obat yang akan dianalisis, model/kondisi KCKT yang digunakan, serta perangkat yang menyusun kinerja KCKT tersebut (Hadjar & Ibnu, 2011).

Penelitian Sofyan *et al.*, (2009) melaporkan bahwa validasi metode senyawa sefotaksim secara KCKT dengan fase gerak larutan dapar fosfat 0,01 M pH 4,6 dan metanol (80:20) kecepatan alir 0,8 mL/menit menghasilkan beberapa parameter validasi yang memenuhi persyaratan dan membutuhkan waktu analisis sekitar 7-10 menit (Sofyan *et al.*, 2009). Pada penelitian Al-Hakkani (2020) tentang validasi metode analisis sefotaksim secara KCKT dengan fase gerak larutan dapar fosfat pH 6,15 dan metanol (130 : 1000 v/v) membutuhkan waktu analisis sekitar 15 menit (Hakkani, 2020). Analisis dikatakan baik jika diperlukan waktu yang singkat dan menghasilkan daya pisah tinggi (Gritter *et al.*, 1991). Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil analisis dalam KCKT di antaranya yaitu fase gerak, jenis, panjang, diameter, dan suhu kolom serta kecepatan alir fase gerak (Amin *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini akan dilakukan optimasi dan validasi metode analisis pada sefotaksim sediaan serbuk injeksi secara KCKT dengan mengubah perbandingan fase gerak, kolom dan pelarut agar mendapatkan waktu retensi yang lebih cepat dan efisien.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik (ShimadzuAP225WD), labu ukur 20 mL (pyrex), gelas kimia 1000 mL, KCKT Shimadzu LC2010, *millex syringe filter* 0,45 μ m, kolom C18 125 \times 4 mm 5 μ m, kolom C18 150 mm \times 4,6 5 μ m dan kolom C18 250 \times 4 mm 5 μ m vakum kaca, *degasser elma ultrasonic*, *syringe* 25 mL, pH meter, pipet mohr 5 mL dan pipet volumetrik 2 mL.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah standar sefotaksim natrium (Mersi), *purified water*, metanol (J.T. Baker), asam fosfat (Merck), disodium hidrogen fosfat (Merck).

Prosedur Kerja

Kondisi Pengerjaan KCKT

Adapun kondisi pengerjaan KCKT ialah sebagai berikut:

Kolom	: C18 125 \times 4 mm 5 μ m C18 150 \times 4,6 mm 5 μ m C18 250 \times 4 mm 5 μ m
Aliran pompa	: 1 mL/menit
Volume injek	: 20 μ L
Pelarut	: Air
Panjang gelombang detektor	: 235 nm

Pembuatan Fase Gerak Dapar Fosfat pH 6,25

Menimbang disodium hidrogen fosfat sebanyak 7,1 gram, kemudian larutkan dengan air 800 mL dalam gelas piala 1000 mL, diaduk sampai homogen. Larutan diatur hingga diperoleh pH 6,25 \pm 0,05 dengan menambahkan asam fosfat. Tambahkan air suling hingga 1000 mL, dihomogenkan kemudian disaring menggunakan vakum kaca.

Pembuatan Larutan Induk Standar Sefotaksim Natrium

Baku standar sefotaksim natrium ditimbang sebanyak 21 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambah pelarut, kemudian disonikasi selama \pm 10 menit, ditambah air suling hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan.

Uji Kesesuaian Sistem

Larutan induk standar sefotaksim dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 20 mL tambahkan pelarut hingga tanda batas, selanjutnya dihomogenkan. Sebanyak 5 kali pengulangan penyuntikan menggunakan fase gerak kombinasi dapar fosfat pH 6,25 berbanding metanol dengan perbandingan (30:70), (40:60), (50:50), (60:40) dan (70:30) v/v. Syarat *plate number* yang tidak kurang dari 1000, *tailing factor* kurang dari 2 dan simpangan baku (RSD) kurang dari 1,5%.

Uji Spesifisitas/Selektivitas

Larutan sampel dan larutan standar sefotaksim dipipet masing-masing 2 mL ke dalam labu ukur 20 mL, ditambah pelarut hingga tanda batas kemudian dihomogenkan. Suntikkan secara terpisah larutan sampel 100%, larutan standar 100%, fase gerak dan pelarut masing-masing sebanyak tiga kali replikasi ke dalam sistem KCKT.

Uji Akurasi

Untuk pengukuran akurasi 80%, 100% dan 120% larutan sampel dipipet masing-masing sebanyak 1,8 mL, 2 mL dan 2,2 mL kemudian masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam labu ukur 20 mL, ditambah pelarut hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Disuntikkan secara terpisah larutan sampel 80%, 100% dan 120% masing-masing sebanyak tiga kali replikasi ke dalam sistem KCKT.

Uji Linearitas

Pengukuran linearitas 80%, 90%, 100%, 110% dan 120% masing-masing larutan induk standar sefotaksim dipipet sebanyak berturut-turut 1,6 mL, 1,8 mL, 2 mL, 2,2 mL dan 2,4 mL, kemudian secara terpisah dimasukkan ke dalam labu ukur 20 mL, ditambah pelarut hingga tanda batas, selanjutnya dihomogenkan. Kemudian disuntikkan secara terpisah masing-masing sebanyak satu kali replikasi ke dalam sistem KCKT. Kriteria keberterimaan yaitu koefisien korelasi $\geq 0,990$.

Uji Presisi

Presisi Keberulangan

Larutan sampel 100% dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 20 mL, ditambah pelarut hingga tanda batas kemudian dihomogenkan. Disuntikkan larutan sampel sebanyak enam kali replikasi ke dalam sistem KCKT.

Presisi Antara

Uji presisi keberulangan dilakukan dengan analisis yang berbeda. Kriteria keberterimaan untuk presisi keberulangan dan presisi antara yaitu $\%RSD \leq 1,5\%$.

Uji Robustness

Uji presisi keberulangan dilakukan setelah sampel disimpan selama 24 jam dan menggunakan larutan standar yang baru.

Uji LOD dan LOQ

Uji LOD dan LOQ dihitung berdasarkan kemiringan garis dan simpangan baku *intercept* kurva standar, diperoleh dari penentuan standar deviasi dari respon dengan $LOD = 3,3 \times (SD/S)$, nilai $LOQ = 10 \times (SD/S)$. Nilai SD adalah standar deviasi dari kurva kalibrasi dan S adalah slope dari kurva kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kesesuaian Sistem

Penelitian ini dilakukan pengembangan fase gerak campuran larutan dapar fosfat pH $6,25 \pm 0,05$ berbanding metanol dengan perbandingan (30:70), (40:60), (50:50), (60:40) dan (70:30) v/v. Kondisi analisis pengujian sefotaksim natrium dalam sediaan serbuk injeksi menggunakan tiga kolom C18 125×4 mm, $150 \times 4,6$ mm dan 250×4 mm. Kemudian ditentukan kondisi optimum yang sesuai dengan Farmakope Indonesia untuk selanjutnya dilakukan validasi metode analisis. Hasil uji kesesuaian sistem untuk kolom C18 125×4 mm ditunjukkan pada [Tabel 1](#).

Tabel 1. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak Larutan Dapar Fosfat pH $6,25 \pm 0,05$ dengan Metanol pada Berbagai Perbandingan

Perbandingan Waktu			
Fase Gerak	Waktu Retensi (menit)	Tailing Factor	Plate Number
30:70	1,18	0,79	229,46
40:60	1,20	1,04	677,06
50:50	1,27	1,06	942,02
60:40	1,53	1,16	1344,72
70:30	2,16	0,85	1452,97

Hasil uji kesesuaian sistem untuk kolom C18 $150 \times 4,6$ mm ditunjukkan pada [Tabel 2](#).

Tabel 2. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak Larutan Dapar Fosfat pH $6,25 \pm 0,05$ dengan Metanol pada Berbagai Perbandingan

Perbandingan Waktu			
Fase Gerak	Waktu Retensi (menit)	Tailing Factor	Plate Number
30:70	1,50	1,29	970,00
40:60	1,63	1,31	2288,84
50:50	1,80	1,31	2640,53
60:40	2,29	1,20	3473,71
70:30	3,80	1,07	5348,76

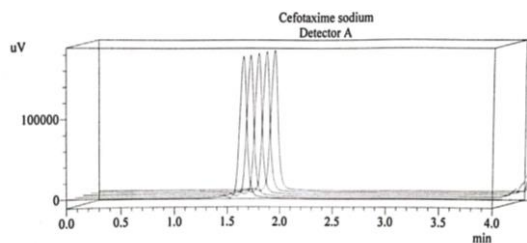
Hasil uji kesesuaian sistem untuk kolom C18 250×4 mm ditunjukkan pada [Tabel 3](#).

Tabel 3. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak Larutan Dapar Fosfat pH $6,25 \pm 0,05$ dengan Metanol pada Berbagai Perbandingan

Perbandingan Waktu			
Fase Gerak	Waktu Retensi (menit)	Tailing Factor	Plate Number
30:70	2,23	1,17	2061,12
40:60	2,49	1,34	3230,97
50:50	3,08	0,92	1967,89
60:40	4,49	0,88	3120,38
70:30	5,21	1,44	5541,69

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk melihat sistem yang akan digunakan analisis telah memenuhi persyaratan dan juga untuk mengevaluasi daya elusi dan waktu retensi yang diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil uji kesesuaian sistem sefotaksim natrium dengan fase gerak dapar fosfat pH $6,25 \pm 0,05$: metanol (40:60) dengan menggunakan kolom C18 150 mm- $4,6$ ([Gambar 2](#)) menunjukkan hasil terbaik dengan memberikan puncak kromatogram muncul di menit 1,63 dengan *tailing factor* 1,31 dan *plate number* 2288,84. Nilai *plate number* yang besar menunjukkan semakin besar efisien kolom. Nilai *plate number* dapat menurun karena kolom yang sering digunakan, sehingga kinerja kolom tersebut menurun. Semakin besar nilai *plate number*, maka semakin baik pemisahannya karena puncak yang dihasilkan akan semakin tajam (Rubiyanto, 2016). Waktu retensi merupakan waktu yang diperlukan analit untuk keluar dari kolom hingga sinyalnya ditangkap maksimal oleh detektor (Sukma & Rahmatul, 2019). Pemisahan menggunakan KCKT menganut prinsip yaitu “*like dissolve like*”, yaitu senyawa polar menyukai senyawa polar dan sebaliknya. Pada percobaan ini digunakan fase terbalik, fase gerak bersifat polar dan fase diam bersifat non polar. Pemisahan yang baik dalam KCKT dipengaruhi salah satunya oleh pengaturan komposisi fase gerak. Komposisi perbandingan larutan dapar fosfat pH $6,25 \pm 0,05$: metanol (40:60) menunjukkan bahwa semakin banyak methanol, maka waktu retensi menjadi singkat. Pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa fase gerak yang digunakan dapat membawa senyawa sefotaksim natrium dengan baik. Pada fase terbalik zat yang lebih polar akan terelusi lebih dulu dan memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibanding zat

non polar (Putra, 2004). Hasil uji kesesuaian sistem ini telah sesuai dengan Farmakope Indonesia VI tahun 2020 dengan syarat *tailing factor* ≤ 2 , *plate number* ≥ 1000 .



Gambar 2. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Dapar Fosfat pH 6,25 : metanol (40:60) dengan menggunakan Kolom C18 150 mm-4,6

Uji Spesifisitas/Selektivitas

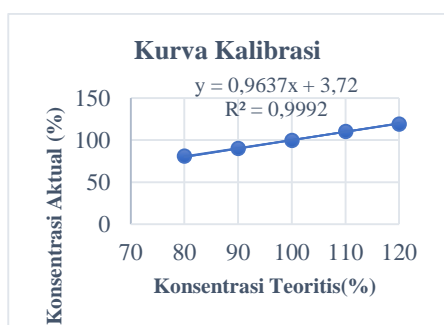
Spesifisitas atau selektivitas menunjukkan kemampuan metode analisis menentukan analit tertentu dalam sampel secara spesifik dan tidak terpengaruh oleh adanya pengotor (Gumustas *et al.*, 2013). Hasil uji spesifisitas/selektivitas pada penelitian ini menunjukkan bahwa pelarut dan fase gerak tidak memberikan puncak pada waktu retensi yang dapat mempengaruhi keluarnya puncak sampel (Tabel 4). Hal ini berarti bahwa metode ini tidak dipengaruhi oleh pelarut dan fase gerak.

Tabel 4. Hasil Uji Spesifisitas/Selektivitas

Nama Sampel	Luas Area	Luas Standar	% Perolehan Kembali
Pelarut 1	0	0	0
Pelarut 1	0	0	0
Pelarut 1	0	0	0
MPS 1	0	0	0
MPS 2	0	0	0
MPS 3	0	0	0
Sampel 1	798596	800207	99,80
Sampel 1	791688	800207	98,95
Sampel 1	807199	800207	100,87

Uji Linearitas

Pengujian linearitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Alegre *et al.*, 2012). Hasil uji linearitas (Gambar 3) yang didapatkan ialah $r \geq 0,999$ sesuai dengan syarat $r \geq 0,990$. Nilai koefisien korelasi yang mendekati satu dianggap menjadi bukti bahwa metode memiliki nilai linearitas yang baik (Beg *et al.*, 2012).



Gambar 3. Hasil Uji Linearitas

Uji Akurasi

Akurasi merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah metode analisis mampu menghasilkan nilai perolehan kembali yang baik. Akurasi merupakan parameter paling penting yang harus dipenuhi oleh suatu metode analisis (Araujo, 2009). Didapatkan hasil perolehan kembali untuk akurasi yaitu 99,30% dengan simpangan baku (RSD) 0,48%. Hasil tersebut telah sesuai dengan persyaratan nilai perolehan kembali untuk akurasi yaitu 98-102% (Harmita, 2004).

Uji Presisi

Presisi menunjukkan kedekatan hasil serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengujian berulang pada kondisi tertentu. Presisi dibagi menjadi tiga kategori yaitu keberulangan, ketertiruan dan presisi antara (ICH, 2005). Hasil uji presisi keberulangan dengan menggunakan konsentrasi 100%, nilai RSD yang didapatkan ialah 0,38%. Hasil uji presisi antara dilakukan dengan analisis yang berbeda dan mendapatkan nilai RSD 0,85%. Hasil presisi keberulangan dan presisi antara sudah sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia VI tahun 2020 yaitu $RSD \leq 1,5\%$.

Uji Robustness (Ketahanan)

Uji *robustness* merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan dari suatu metode analisis untuk mempertahankan hasil analisa dengan adanya perubahan kecil pada kondisi pengujian (Peris *et al.*, 2015). Uji *robustness* dilakukan dengan membandingkan hasil pengujian pada keadaan normal dan pada saat adanya perubahan kecil seperti perubahan pH, suhu, laju alir, komponen fase gerak ataupun faktor lainnya (Agrahari & Youan, 2012). Pada penelitian ini uji ketahanan dilakukan dengan menyimpan larutan sampel selama 24 jam dan menggunakan larutan standar baru. Hasil yang didapatkan tidak ada perubahan signifikan dengan melihat luas area sampel pada jam ke 0 dan jam ke 24. Nilai perolehan kembali yang didapatkan yaitu 100,25% dengan RSD 0,85%.

Uji LOD dan LOQ

Limit of detection (LOD) merupakan konsentrasi analit terkecil yang masih bisa dideteksi pada pengukuran (Kruve *et al.*, 2015). Nilai LOD dari pendekatan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai *slope* didapatkan dengan menggunakan rumus (ICH, 2005):

$$LOD = (3,3 \times SD)/S$$

SD = standar deviasi

S = *slope*

Konsentrasi analit terkecil yang masih dapat dideteksi dengan metode yang dievaluasi adalah $3,3894 \times 10^{-4}$ mg/mL.

Limit of quantification (LOQ) merupakan konsentrasi analit terendah yang dapat dikuantitasi dengan akurat dan teliti. Batas kuantitasi juga menunjukkan sensitivitas metode yang digunakan (Kruve *et al.*, 2015). Dari penelitian ini didapat nilai LOQ yaitu $1,0271 \times 10^{-3}$ mg/mL. Nilai LOQ dari pendekatan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai *slope* didapatkan dengan menggunakan rumus (ICH, 2005):

$$LOQ = (10 \times SD)/S$$

SD = nilai standar deviasi

S = *slope* dari kuva kalibrasi.

KESIMPULAN

Validasi metode analisis pengujian sefotaksim natrium secara KCKT telah berhasil dilakukan. Hasil validasi metode analisis meliputi uji kesesuaian sistem, akurasi, presisi, linearitas, *robustness*, LOD dan LOQ telah memenuhi persyaratan sesuai dengan Farmakope Indonesia. Metode ini dapat dilakukan untuk analisa secara rutin dan dianggap valid.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrahari, V. and Youan, B.B.C. (2012) 'Sensitive and rapid HPLC quantification of tenofovir from hyaluronic acid-based nanomedicine', *AAPS PharmSciTec*, 13(1), pp. 202-210.
- Alegre, M.R., Romero, J.E. and Broch, S.C. (2012) 'Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question', *Journal of Chromatography A*, 1232, pp. 101-109.
- Al-Hakkani, M.F. (2020) 'HPLC analytical method validation for determination of cefotaxime in the bulk and finished pharmaceutical dosage form', *Universal Wiser Publisher*, 1(1), pp. 33-42.
- Amin, S., Amir, M. and Slamet, I. (2016) 'Kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis senyawa diuretik yang disalahgunakan sebagai doping dalam urin', *Jurnal Sains Keolahragaan & Kesehatan*, 1(2).
- Araujo, P. (2009) 'Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation', *Journal of Chromatography B*, 877(23), pp. 2224-2234.
- Beg, S., Kohli, K., Swain, S. and Hasnain, M.S. (2012) 'Development and validation of RP-HPLC method for quantitation of amoxicillin trihydrate in bulk and pharmaceutical formulations using Box-Behnken experimental design', *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35(3), pp. 393-406.
- Departemen Kesehatan RI. (2020) *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Gandjar, I.G. and Rohman, A. (2007) *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M. and Schwarting, A.M. (1991) *Chromatography*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata, Bandung: ITB.
- Gumustas, M., Kurbanoglu, S., Uslu, B. and Ozkan, S.A. (2013) 'UPLC versus HPLC on drug analysis: advantageous, applications and their validation parameters', *Chromatographia*, 76(21), pp. 1365-1427.
- Hadjar, M.M.I. (2011) Teknik analisis obat dalam cairan biologis dengan GLC dan HPLC.
- Harmita (2004) 'Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya', *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), pp. 117-135.
- ICH (International Conference on Harmonization) (2005) *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*. Geneva: International Conference on Harmonization.
- Kruve, A., Rebane, R., Kipper, K., Oldekop, M.L., Evard, H. et al. (2015) 'Tutorial review on validation of chromatography mass-spectroscopy method. Part I', *Analytica Chimica Acta*, 870, pp. 29-44.
- Nasution, A.Y. (2006) Validasi metode analisis nifedipin dalam plasma in vitro secara kromatografi cair kinerja tinggi. [Skripsi] Depok: Program Sarjana Ekstensi Farmasi UI.
- Peris Vicente, J., Esteve-Romero, J. and Carda Broch, S. (2015) 'Validation of analytical methods based on chromatographic techniques: an overview', *Statistical Validation Parameter*, pp. 1757-1808.
- PERMENKES RI (Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia) (2011) *Pedoman umum penggunaan antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Putra, E.D. (2004) 'Kromatografi cair kinerja tinggi dalam bidang farmasi', *USU Digital Library*. Diakses pada tanggal 18 Juni 2023.
- Radji, M. (2014) Mekanisme aksi molekuler, antibiotik dan kemoterapi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ravisankar, P., Navya, C.N., Pravallika, D. and Sri, D.N. (2015) 'A review on step-by-step analytical method validation', *IOSR Journal of Pharmacy*, 5(10), pp. 7-19.
- Rubiyanto, D. (2016) Teknik dasar kromatografi. Yogyakarta: CV Budi Utama.
- Sofyan, I., Rijal, S.M. and Driyanti, R. (2009) Validasi metode analisis senyawa cefotaxime dengan standar internal cefadroxil secara kromatografi cair kinerja tinggi. Sumedang: UNPAD.
- Sukma, F.F. and Fajri, R. (2019) 'Identifikasi asam dehidroasetat dalam produk kosmetika dengan menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography)', *Quimica: Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 1(2), pp. 15-17.