

VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR *COTRIMOXAZOLE* SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN SUSPENSI

Selvianda Rohma Destarina¹, Khoirul Anwar^{2*}

¹⁻² Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

E-mail: khoirula@unwahas.co.id

ABSTRAK

Cotrimoxazole adalah antibiotik spektrum luas untuk mengatasi infeksi bakteri gram positif maupun negatif yang mengandung kombinasi dari sulfamethoxazole dan trimethoprim. Metode analisis Sulfamethoxazole dan trimethoprim dapat dilakukan menggunakan KCKT yang dapat mengukur berbagai zat secara sensitif dan selektif. Metode analisis harus divalidasi untuk memastikan bahwa parameter kinerjanya memadai dalam mengatasi permasalahan analisis. Validasi metode dilakukan untuk memastikan bahwa metode tersebut akurat, spesifik dan tahan untuk kisaran analit yang akan dianalisis. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk analisis kadar *Sulfamethoxazole* dan *Trimethoprim* dalam sediaan suspensi. Sistem KCKT yang dikembangkan adalah tipe fase terbalik dengan kolom C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol: aquabidest (30:70, v/v) dengan kecepatan alir 1,0 mL/menit dan panjang gelombang deteksi 254 nm. Uji validasi metode analisis meliputi parameter linearitas, sensitivitas (LOD dan LOQ), selektivitas, presisi, dan akurasi. Hasil penelitian uji linieritas *Sulfamethoxazole* dengan nilai $r = 0,9992$; LOD *Sulfamethoxazole* 1,624 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 5,414 $\mu\text{g/mL}$ dan *Trimethoprim* nilai $r = 0,9996$; LOD *trimethoprim* 0,241 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 0,803 $\mu\text{g/mL}$ sensitivitas dan selektivitas baik, presisi *Sulfamethoxazole* dan *Trimethoprim* diperoleh $\%RSD \leq 2\%$. Akurasi *sulfamethoxazole* diperoleh 100,040-100,679%; dan *trimethoprim* 100,456-100,891%. Kadar rata-rata *sulfamethoxazole* 100,581%, dan *trimethoprim* 100,210%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua hasil uji validasi memenuhi persyaratan parameter validasi dan hasil analisis kandungan *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* dalam sediaan suspensi dan aplikasinya.

Kata Kunci: Cotrimoxazole, *Sulfamethoxazole* dan *Trimethoprim*, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Validasi metode analisis

ABSTRACT

Cotrimoxazole is a broad spectrum antibiotic to treat gram-positive and negative bacterial infections containing a combination of sulfamethoxazole and trimethoprim. The analysis method for Sulfamethoxazole and trimethoprim can be carried out using HPLC which can measure various substances sensitively and accurately. The analysis method must be validated to ensure that its performance parameters are adequate to address the analysis problem. Method validation is carried out to ensure that the method is accurate, specific and robust to the range of analytes to be analyzed. The aim of this research is to develop a High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method to analyze the levels of Sulfamethoxazole and Trimethoprim in suspension preparations. The HPLC system developed is a reverse phase type with a C_{18} column and the mobile phase is a mixture of methanol: aquabidest (30:70, v/v) with a flow speed of 1.0 mL/minute and a detection wavelength of 254 nm. The analytical method validation test includes parameters of linearity, sensitivity (LOD and LOQ), selectivity, precision and accuracy. The research results of the Sulfamethoxazole linearity test with a value of $r = 0.9992$; Sulfamethoxazole LOD 1,624 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 5.414 $\mu\text{g/mL}$ and Trimethoprim r value

= 0.996; LOD of trimethoprim 0.241 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 0.803 $\mu\text{g/mL}$ good sensitivity and selectivity, Sulfamethoxazole and Trimethoprim precision obtained %RSD $\leq 2\%$. The accuracy of sulfamethoxazole was obtained from 100.040-100.679%; and trimethoprim 100.456-100.891%. The average level of sulfamethoxazole was 100.581%, and trimethoprim was 100.210%. The research results showed that all validation test results met the validation parameter requirements and the results of the sulfamethoxazole and trimethoprim content in the suspension preparation and its application.

Keywords: Cotrimoxazole, Sulfamethoxazole and Trimethoprim, High Performance Liquid Chromatography, Validation of analytical methods

LATAR BELAKANG

Penggunaan antibiotik untuk mengatasi infeksi bakteri sangat penting dalam mengurangi tingkat kesakitan dan kematian. Namun, penggunaan secara berlebihan dan tidak sesuai dalam pengobatan penyakit dapat menyebabkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik (Meiyanti dkk., 2016). Resistensi antibiotik menyebabkan bakteri kehilangan respons terhadap obat yang seharusnya dapat membunuhnya (Wulandari dan Rahmawardany, 2022).

Cotrimoxazole merupakan kombinasi dari dua obat yaitu sulfamethoxazole dan trimethoprim yang digunakan untuk infeksi saluran kemih. Sulfamethoxazole adalah obat dalam golongan sulfonamida yang merupakan turunan dari sulfanilamid dan berfungsi sebagai antibakteri. Sulfamethoxazole memiliki spektrum antibakteri luas yang melibatkan banyak jenis bakteri dan bersifat bakteristatik (Lely dkk., 2019).

Trimethoprim adalah suatu basa lemah yang bersifat lipofilik dan memiliki sifat bakteristatik. Trimethoprim memiliki spektrum antibakteri yang mirip dengan sulfonamida dan efektif dalam melawan bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerjanya melibatkan pengikatan dengan enzim bakteri dihidrofolat reduktase dan menghambat aktivitasnya. Aktivitas antibakterinya dapat diperkuat oleh sulfonamida (Simorangkir dkk., 2020).

Metode analisis Sulfamethoxazole dan trimethoprim dapat dilakukan menggunakan KCKT yang ideal untuk mengukur berbagai zat secara sensitif dan selektif. Kromatografi cair kinerja tinggi adalah teknik pemisahan yang paling banyak digunakan karena memiliki waktu analisis cepat, jumlah sampel yang diperlukan sedikit, kepekaan tinggi, serta dapat digunakan pada sampel organik atau anorganik, dan memiliki pemisahan molekul yang baik. Metode analisis harus divalidasi untuk memastikan bahwa parameter kerjanya memadai dalam mengatasi permasalahan analisis. Validasi metode dilakukan untuk memastikan bahwa metode tersebut akurat, spesifik dan tahan untuk kisaran analit yang akan dianalisis (Rohman, 2016).

Simorangkir dkk., (2022) melakukan pengembangan metode analisis obat sulfamethoxazole dan trimethoprim menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan mengacu pada standar Farmakope Indonesia edisi V metode I menggunakan fase diam kolom C18 (150 x 4,6 mm). Fase gerak yang digunakan terdiri dari air : trietilamina : asetonitril (700 : 1 : 200 v/v) dan laju alir 1,5 mL/menit. Metode II merupakan hasil pengembangan metode yang ditemukan oleh perusahaan Thermo Fisher Scientific menggunakan fase diam kolom C18 (150 x 4,6 mm). Fase gerak terdiri dari buffer fosfat : metanol (60 : 40 v/v) dan laju alir 0,8 ml/menit. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian penetapan kadar cotrimoxazole secara kromatografi cair kinerja tinggi serta aplikasinya dalam sediaan suspensi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah baku pembanding sulfamethoxazole dan trimethoprim. Sampel obat suspensi cotrimoxazole yang mengandung sulfamethoxazole dan trimethoprim

Alat

Seperangkat alat KCKT (Jasco LC-Nett II/ADC) dilengkapi detector UV, Pompa (PU 2080 plus), Kolom C₁₈ (LiChroCART) (125x4µm), Spektrofotometer UV/Vis (1800 Shimadzu), pengolah data pada komputer (Ezchrom elite), membran filter 0,45 µm (Nylon), digital ultrasonic cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk, alat-alat gelas (Pyrex).

Cara kerja

Pengumpulan sampel

Sampel obat yang digunakan 1 yaitu suspensi yang mengandung 2 senyawa obat yaitu sulfamethoxazole dan trimethoprim. Pengambilan sampel menggunakan teknik random sampling, obat yang dipilih dengan merek dagang generik

Pembuatan larutan induk sulfamethoxazole dan trimethoprim

Baku pembanding sulfamethoxazole dan trimethoprim ditimbang sebanyak 10 mg dimasukkan kedalam labu takar 50 mL, dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga di dapatkan larutan dengan konsentrasi 200 µg/mL. Larutan disonifikasi selama 5 menit dan disaring dengan membran penyaring nitro selulosa 0,45 µL (Sulistiana, 2023).

Penentuan panjang gelombang

Panjang gelombang dilakukan dengan menscanning larutan induk sulfamethoxazole dan trimethoprim konsentrasi 6 µg/mL, dimasukkan didalam kuvet secukupnya dan dispektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, selanjutnya dipilih panjang gelombang yang optimal (Nurrosyidah, 2022).

Optimasi fase gerak

Fase gerak yang digunakan adalah metanol:aquabides (30:70 v/v), (70:30 v/v), (50:50 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit. Selanjutnya dipilih perbandingan fase gerak yang memberikan hasil yang optimal.

Pembuatan kurva baku

Larutan stok baku *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* dilakukan dengan membuat seri konsentrasi larutan baku *sulfamethoxazole* 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 µg/mL. Larutan baku *trimethoprim* 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 µg/mL, dimasukkan dalam labu takar 5 mL ditambahkan fase gerak metanol:aquabides (30:70 v/v) sampai tanda batas dan kocok hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi 2,4,6,8,10 dan 12 µg/mL. larutan disaring dengan membran penyaring nylon 0,45 µm, diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 µL dideteksi pada panjang gelombang 254 nm dengan laju alir 1 mL/menit. Hasil yang diperoleh dari kromatogram dibuat kurva baku (kalibrasi) dan dihitung persamaan regresi linier serta faktor korelasinya. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Validasi metode analisis

Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan metode penambahan baku dengan uji perolehan kembali (recovery), pada sampel akan ditambahkan baku dengan perbandingan konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari sulfamethoxazole dan trimethoprim, dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Kriteria yang tepat diberikan apabila hasil analisis memberikan perolehan kembali antara 98-102% (Susanti dan Dachriyanus, 2017).

Presisi

Larutan induk *sulfamethoxazole* konsentrasi 10, 20, dan 30 µg/mL dan Larutan baku *trimethoprim* 2, 4, dan 6 µg/mL, diinjeksikan kedalam sistem KCKT dengan volume penyuntikan sebanyak 2,0 µL. replikasi sebanyak 6 kali dan dihitung nilai SD nya. Nilai yang diperoleh dimasukkan kedalam rumus RSD. Presisi dinyatakan dengan % RSD (Relative Standard Deviation) dan persyaratan % RSD < 2% (Susanti dan Dachriyanus, 2017).

Selektivitas

Larutan sampel dengan konsentrasi 6 µg/mL diinjeksikan sebanyak 20 µL kedalam sistem KCKT. Terdapat hasil 2 kromatogram pada suatu zat, maka nilai R lebih dari dua. Nilai

resolusi yang digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan selektivitas metode analisis berdasarkan pemisahan antar puncak (peak) dengan nilai baik $> 1,5$ (Susanti dan Dachriyanus, 2017).

Lineritas

Larutan induk *sulfamethoxazole* konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$ dan Larutan baku *trimethoprim* 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 μl . Replikasi sebanyak 3 kali. Nilai a , b dan r dihitung sehingga diperoleh persamaan garis linier $y = bx + a$, hubungan linier yang dapat diterima jika nilai r mendekati 1 (Susanti dan Dachriyanus, 2017).

Sensitivitas

Larutan induk *sulfamethoxazole* konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$ dan Larutan baku *trimethoprim* 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 μL . Regresi linear dibuat antara luas kromatogram terhadap kadar sulfamethoxazole dan trimethoprim. Hitung nilai y hitung slope, dengan nilai LOD diperoleh dari persamaan $y = YB + 3 SB$. Nilai LOQ dari persamaan $y = YB + 10 SB$. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin peka suatu metode (Gandjar dan Rohman, 2015).

Preparasi sampel

Sampel suspensi yang mengandung sulfamethoxazole dan trimethoprim dipipet 5 ml dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas, diletakkan larutan sampel pada alat ultrasonikator hingga homogen selama 15 menit, kemudian disaring dengan membrane filter 0,45 μm , bilas dengan fase gerak. Larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 254 nm, laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 μL . Hasil yang diperoleh digunakan untuk menganalisis kadar sulfamethoxazol dan trimethoprim (Sulistiana, 2023).

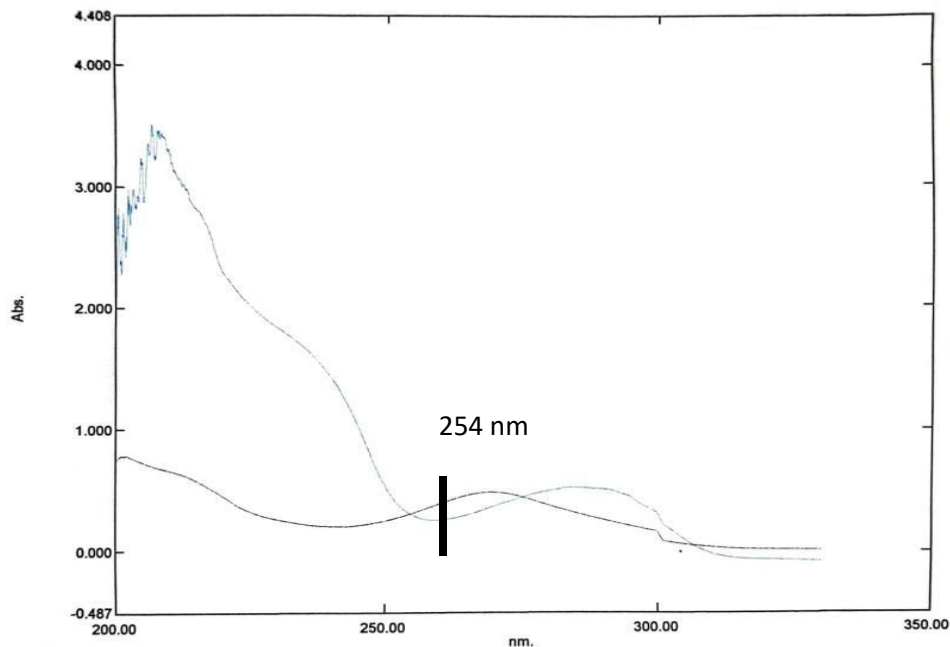
Penetapan kadar Sulfamethoxazole dan Trimethoprim dalam obat suspensi Cotrimoxazole

Sediaan suspensi dipipet sebanyak 5 μL . Larutan dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan fase gerak sampai tanda batas, dikocok selama 30 menit. Diencerkan pada labu takar 50 mL. Larutan disaring dengan membran penyaring 0,45 μm dan diinjeksikan sebanyak 20 μm ke KCKT dan di deteksi dengan panjang gelombang maksimum. Percobaan direplikasi 5 kali. Luas puncak yang diperoleh diplotkan ke persamaan kurva baku sehingga diperoleh kadarnya (Sulistiana, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* dilakukan dengan mengukur penyerapan panjang gelombang pada rentang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV. Senyawa yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV harus memiliki beberapa cincin aromatis dengan sistem konjugasi dan ausokrom sehingga dapat menyerap sinar UV (Gandjar dan Rohman, 2015). Scanning dilakukan dalam penelitian ini menghasilkan tinggi spektrum pada panjang gelombang *sulfamethoxazole* 269 nm sedangkan tinggi spektrum pada panjang gelombang *trimethoprim* 285 nm. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan karena KCKT yang digunakan menggunakan dektektor UV sehingga perlu dilakukan pengukuran panjang gelombang untuk mengetahui berapa panjang gelombang dari masing-masing zat yang akan dianalisis. Hasil panjang gelombang yang dianalisis menggunakan spektrofotometri diperoleh panjang gelombang maksimum *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* adalah 254 nm.



Gambar 1. Penentuan panjang gelombang maksimum *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim*

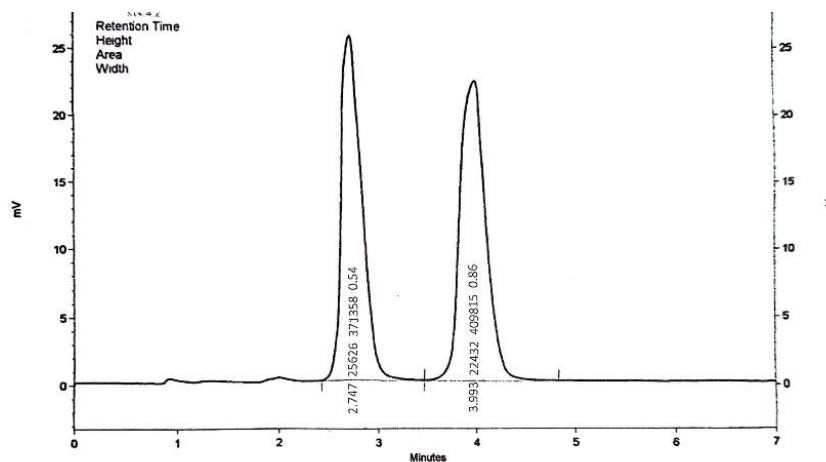
Optimal Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan cara merubah komposisi fase gerak pada tiga perbandingan. Cara ini dipilih karena komposisi fase gerak yang optimal dapat memperbesar daya pemisahan antar puncak kromatogram sehingga meningkatkan selektivitas metode dan meningkatkan sensitivitas metode. Penetapan komposisi fase gerak yang optimum didasarkan pada besarnya nilai resolusi (R) dan luas puncak kromatogram *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim*. Nilai resolusi yang memenuhi syarat adalah $R \geq 1,5$ yang menandakan pemisahan baik. Hasil optimasi fase gerak terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Optimasi komposisi fase gerak

Fase Gerak (Dapar)	Waktu Retensi (menit)		Luas Puncak Kromatogram		Nilai Resolusi	Ket.
	SU	TRI	SU	TRI	SU-TRI	
30:70	2,747	3,993	370393	405762	1,78	Optimum
70:30	2,577	3,750	295288	325408	1,002	
50:50	2,520	3,730	214189	232727	1,095	

Fase gerak dengan komposisi dapar metanol : aquabides (30:70 v/v) menghasilkan nilai pemisahan dan luas area puncak kromatogram paling besar sehingga ditetapkan sebagai fase gerak terpilih untuk analisis. Kromatogram pada fase gerak terpilih dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Kromatogram dengan fase gerak metanol : aquabidest (30:70 v/v)

Kurva Baku

Kurva baku dipilih dari persamaan regresi linier yang diperoleh dari seri konsentrasi larutan campuran SU dan TRI pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 µg/mL yang terdapat pada Tabel II. Berdasarkan Tabel 2 maka dapat diketahui bahwa persamaan regresi linier terbaik diperoleh pada replikasi pertama karena memiliki nilai koefisien korelasi (r) paling besar untuk ketiga senyawa sehingga terpilih sebagai persamaan kurva baku. Dengan demikian, persamaan kurva baku SU adalah $Y = 8277,3x + 119344$ dan TRI adalah $Y = 45095x + 129634$

Tabel 2. Persamaan kurva baku *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim*

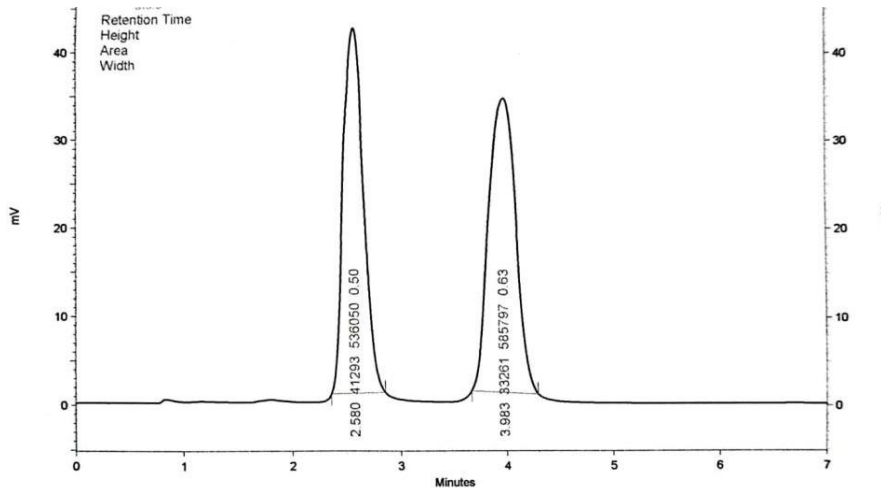
Replikasi	Persamaan Kurva Baku	
	<i>Sulfamethoxazole</i>	<i>Trimethoprim</i>
1	$Y = 8277,3x + 119344$ $r = 0,9992$	$Y = 45095x + 129634$ $r = 0,9996$
2	$Y = 8487,9x + 68305$ $r = 0,9983$	$Y = 46708x + 64921$ $r = 0,9985$
3	$Y = 7987,7x + 60097$ $r = 0,9975$	$Y = 41679x + 106145$ $r = 0,9981$

Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis yang dilakukan ini termasuk dalam kategori 1 yakni validasi metode untuk analisis komponen utama dalam sediaan. Dengan demikian, parameter yang diuji adalah linieritas, sensitivitas, spesifitas/selektivitas, presisi dan akurasi (Lister, 2015). Uji linieritas dilakukan dengan mengamati nilai koefisien korelasi (r) persamaan regresi linier kurva baku yang terpilih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga persamaan regresi linier untuk SU dan TRI menghasilkan nilai r masing-masing adalah 0,9992 dan 0,9996. Ketiga nilai r memenuhi persyaratan nilai koefisien korelasi (r) untuk seri 5 titik yakni lebih besar dari 0,99 (Miller dan Miller, 2005). Hal ini menunjukkan kinerja metode mampu memberikan perubahan respon linier dengan perubahan kadar zat yang dianalisis (Harmita, 2004).

Uji sensitivitas metode dilakukan dengan menghitung nilai LOD dan LOQ menggunakan persamaan regresi linier kurva baku. Nilai LOD dan LOQ ini menandakan batas terkecil konsentrasi analit yang masih diizinkan untuk dilakukannya analisis. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis tersebut (Gandjar dan Rohman, 2015). Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh untuk SU adalah 1,624 µg/mL dan 5,414 µg/mL dan LOD dan LOQ untuk TRI adalah 0,241 µg/mL dan 0,803 µg/mL. Nilai sulfamethoxazole lebih sensitif dibandingkan hasil yang diperoleh (Sartika J, 2010) dengan LOD 9,10 µg/mL (Sartika J, 2010) dengan LOD 2,20 µg/mL dan LOQ 7,34 µg/mL.

Hasil uji selektivitas ditetapkan berdasarkan nilai resolusi (R) antara puncak kromatogram SU dan TRI. Uji selektivitas menghasilkan pemisahan yang baik dengan nilai $R \geq 1,5$ yang dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Kromatogram sulfamethoxazole dan trimethoprim

Hasil uji presisi metode ditentukan berdasarkan nilai %RSD (*Relative Standard Deviasi*) pada data waktu retensi, luas puncak dan tinggi puncak kromatogram yang dilakukan replikasi sebanyak 6 kali dan diinjeksikan ke alat KCKT sebanyak 2 μ L pada kondisi optimum. Tabel 3 menunjukkan hasil uji presisi SU dan TRI pada konsentrasi 10, 20 dan 30 μ g/mL memenuhi persyaratan <2% (Harmita, 2004).

Tabel 3. Hasil uji presisi sulfamethoxazole

Kadar	%RSD		
	Sulfa	Kadar	Trimet
10	0,906%	2	1,176%
20	0,409%	4	0,379%
30	0,206%	6	0,305%

Uji akurasi dilakukan secara metode penambahan zat standar. Hasil uji pada Tabel 4 menunjukkan semua nilai perolehan kembali memenuhi persyaratan yakni 98-102% (Lister, 2015) yang bermakna bahwa metode mampu mengukur kadar ketiga senyawa secara tepat sesuai dengan kadar sebenarnya.

Tabel 4. Akurasi metode analisis sulfamethoxazole dan trimethoprim

Penambahan Baku (%)	Perolehan kembali (%)	
	Sulfamethoxazole	Trimethoprim
80	100,040-100,453	99,919-100,576
100	100,072-100,581	99,755-100,450
120	100,188-100,679	99,902-100,206

Penetapan Kadar Sulfamethoxazole dan Trimethoprim

Penetapan kadar sulfamethoxazole dan trimethoprim dalam suspensi menggunakan KCKT bertujuan untuk mengetahui kadar sulfamethoxazole dan trimethoprim dalam suspensi yang beredar dipasaran, hal tersebut dilakukan karena produsen tidak mencantumkan kadar sulfamethoxazole dan trimethoprim dalam sediaan suspensi, sehingga dapat dilakukan pengembangan metode analisis. Penetapan kadar sulfamethoxazole dan trimethoprim

dilakukan dengan cara mensubstitusikan luas puncak (y) pada sampel dengan persamaan regresi linier sampel *sulfamethoxazole* yang telah diperoleh yaitu $y = 8277,3x + 119344$, sedangkan persamaan regresi linier sampel *trimethoprim* yang diperoleh yaitu $y = 45095x + 129634$. Hasil analisis kandungan *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* secara KCKT dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* dalam sediaan suspensi

Replikasi	Kadar (%)	
	<i>Sulfamethoxazole</i>	<i>Trimethoprim</i>
1	100,351	100,351
2	100,026	100,026
3	100,299	100,299
4	100,233	100,233
5	100,351	100,351
6	100,001	100,001

Penetapan kadar ini diketahui dari hasil penginjeksian dengan menggunakan KCKT. Pegujian ini dilakukan dengan cara menginjeksikan sampel sebanyak 6 kali dengan tujuan untuk memperoleh hasil yang akurat. Hasil penelitian berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa kadar rata-rata sampel *sulfamethoxazole* yaitu 100,581% memenuhi syarat yang ditetapkan oleh Farmakope indonesia edisi VI yaitu memiliki persyaratan penetapan kadar yaitu mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%. Kadar rata-rata sampel *trimethoprim* 100,210% memenuhi syarat yang ditetapkan oleh Farmakope indonesia edisi VI yaitu memiliki persyaratan penetapan kadar yaitu mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil penelitian analisis kandungan *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* menggunakan KCKT dengan fase diam kolom C_{18} (LiChroCART), fase gerak yaitu metanol : aquabides (30:70, v/v), menunjukkan bahwa uji linieritas *sulfamethoxazole* yaitu 0,9992 dan *trimethoprim* 0,9996; LOD *sulfamethoxazole* 1,624 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 5,414 $\mu\text{g/mL}$; LOD *trimethoprim* 0,241 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 0,803 $\mu\text{g/mL}$ sensitivitas dan selektivitas baik, presisi *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* diperoleh $\%RSD \leq 2\%$. Akurasi *sulfamethoxazole* diperoleh 100,040-100,679%; dan *trimethoprim* 100,456-100,891%.

Didapatkan kadar rata-rata *sulfamethoxazole* 100,581%, dan *trimethoprim* 100,210%. Dapat disimpulkan bahwa kadar *sulfamethoxazole* memenuhi syarat menurut Farmakope Indonesia edisi VI yaitu memiliki persyaratan penetapan kadar yaitu mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dan kadar *trimethoprim* memenuhi syarat menurut Farmakope Indonesia edisi VI yaitu memiliki persyaratan penetapan kadar yaitu mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%.

Saran

Analisis kadar *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim* dapat dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi yang dapat diperluas kembali pada sampel dan senyawa lainnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim yang telah membantu jalannya kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. (2015). Kimia Farmasi Analisis, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 323-379.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117–135.
- Lely, N., Yulisa, S., dan Sirumapea, L. (2019). Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Zn(II) Sulfametoksazol dan Schiff Base dari Sulfametoksazol dan Vanillin serta Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella thypi*, *Jurnal Penelitian Sains*, 21(2), 59-65.
- Lister, A.S. (2005). Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical Analysis, in S. Ahuja & M.W. Dong (eds.), *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, pp. 191–217, Worldwide Research & Development, Purdue Pharma, New York.
- Miller, J.C. & Miller, J.N. (2005). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Edinburgh Gate, England
- Meiyanti., Salim, O., C., Herwana, E., Kalumpiu, J. V., Lesmana, M. (2016). Antibiotic Susceptibility of *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* Isolated from Diarrhea Patients In Jakarta, Indonesia, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 7(3), 95–101.
- Nurrosyidah, J. (2022). Analisis Kadar Alfa Arbutin dan Niasinamid dalam Tiga Merek Dagang Krim Pemutih Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Skripsi, Universitas Wahid Hasyim*, 14-16.
- Rohman. (2016). Validasi dan penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Simorangkir, T. P. H., Yuliani, I., dan Kurnia, A. (2020). Pengembangan Metode Hijau Untuk Analisis Sulfametoksazol dan Trimetoprim pada Produk Sultrim di Lembaga Farmasi Puskesmas, Bandung, *The Indonesia Green Technology Journal*, 25-32.
- Sulistiana, E. (2023). Analisis Kadar Vitamin A dan Vitamin E dalam Tiga Merek Dagang Krim Antiaging Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Skripsi, Universitas Wahid Hasyim*, 15-16.
- Susanti, M., dan Dachriyanus. (2017). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi, Universitas Andalas, Sumatra Barat.
- Wulandari, A. dan Rahmawardany, C. Y. (2022). Perilaku Penggunaan Antibiotik di Masyarakat, *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 15(1), 9-16.