

# ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA KLORAMFENIKOL PADA SEDIAAN TETES MATA SAMPEL NAMA DAGANG DI KOTA PALEMBANG DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Mauizatul Hasanah<sup>1</sup>, Budi Untari<sup>2</sup>, Cintia Afrilianti<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>STIFI Bhakti Pertiwi Palembang Jl. Ariodillah III No.22A Palembang

<sup>2</sup>S-1 Farmasi, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Ogan Ilir, Sumsel

e-mail : <sup>1</sup>mauizatulhasanah@gmail.com

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian analisis kadar kloramfenikol pada sediaan tetes mata sampel nama dagang yang dijual di apotek kota Palembang dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kesesuaian kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada fase terbalik dengan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 273,4 nm. Fase diam yang digunakan adalah kolom C<sub>18</sub>, fase gerak metanol:larutan asam asetat glasial 0,1% (75:25) dengan laju alir 1,0 ml/menit. Penentuan linearitas dengan kurva baku menunjukkan hubungan yang linier antara luas puncak dan baku kloramfenikol dengan konsentrasi 5-25 mg/L ( $r=0,998$ ). Persamaan regresi yang diperoleh adalah  $Y=39020,92x + 196296$ . Uji presisi memberikan hasil nilai koefisien variasi sebesar 6,09%. Nilai *limit of detection* (LOD) sebesar 1,4920 mg/L dan nilai *limit of quantitation* (LOQ) sebesar 4,9734 mg/L. Uji akurasi memberikan hasil nilai persen perolehan sebesar 100,71%. Hasil penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata ialah sampel A, B, dan C sebesar 100,75%, 102,64%, 105,29%. Berdasarkan pengujian, sampel tetes mata dengan kriteria harga dan volume memenuhi persyaratan yang tertera pada Farmakope Indonesia edisi V.

**Kata Kunci:** Kloramfenikol, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), tetes mata.

## PENDAHULUAN

Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik yang bersifat bakteriostatik (Tjay dan Rahardja, 2010). Kloramfenikol sediaan tetes mata dalam perawatan eksternal digunakan untuk mengobati konjungtivitis bakteri (Rimawi dan Kharoaf, 2011). Dilihat dari strukturnya, unsur elektronegatifan kloramfenikol bersifat polar, sehingga dapat dipisahkan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi pada fase terbalik. Kloramfenikol juga memiliki gugus kromofor sehingga dapat dianalisis oleh detektor UV (Connors, 1992).

Undang-undang Nomor 36 tahun 2009 pada pasal 105 ayat 1 tentang Kesehatan menjelaskan bahwa obat dan bahan baku obat harus memenuhi syarat Farmakope Indonesia atau buku standar lain (Yudhoyono, 2009). Persyaratan kadar merupakan salah satu tolak

ukur kualitas obat. Sediaan obat yang berkualitas baik akan memberikan efek farmakologinya jika sesuai dengan kadar yang telah ditentukan. Persyaratan kadar kloramfenikol sediaan tetes mata yaitu mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes RI, 2014).

Penetapan kadar kloramfenikol ditentukan dengan beberapa metode yaitu secara titrasi bebas air, nitrimetri, bromometri, argentometri, dan volumetri. Penetapan kadar tetes mata kloramfenikol dapat dilakukan secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Kemenkes RI, 2014).

Penelitian Suguna dkk (2015) tentang penetapan kadar kloramfenikol menggunakan metode Spektrofotometri UV-Visible. Metode ini dilakukan untuk penetapan kadar kloramfenikol tetapi kurang memenuhi kriteria parameter validasi metode analisa jika

dibandingkan dengan metode KCKT. Penelitian yang dilakukan oleh Pasri (2010) bahwa penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan kapsul menggunakan metode KCKT memberikan hasil akurasi dan presisi dengan persen perolehan kembali = 99,71% dan RSD = 0,8031%, serta memenuhi persyaratan kadar yang ditetapkan Farmakope Indonesia edisi IV (1995), dengan demikian metode ini dapat digunakan untuk penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan kapsul.

Kromatografi cair kinerja tinggi memiliki banyak kelebihan antara lain mampu memisahkan molekul-molekul suatu campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, serta mudah dalam melakukan "sample recovery" (Putra, 2004).

Sebelum melakukan penetapan kadar kloramfenikol dilakukan validasi untuk menjamin metode analisis yang akurat, spesifik, reproduksibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu mengatasi problem analisis. Parameter validasi metode yaitu akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, spesifikasi, linieritas dan rentang (Gandjar dan Rohman, 2007). Validasi terhadap suatu metode analisis menjadi faktor penting karena hanya metode analisis yang dibuktikan validasinya, hasil pengukurannya dipertanggung jawabkan (Sugihartini dkk, 2014). Validasi ulang perlu dilakukan meskipun validasi sebelumnya menghasilkan data yang sesuai (Noviyanto dkk, 2014).

## METODE PENELITIAN

### Alat

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Water 486 tunable absorbance detector, water 600 controller, water 626 pump, kolom C<sub>18</sub>);

Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu 1700); syringe (SGE); dan alat-alat gelas (seperti labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, dan *beaker glass*) (Lampiran 4); dan timbangan analitik.

### Bahan

Kloramfenikol baku (Nanjing Baijingyu Pharmaceutical) dari PT. Indofarma; tetes mata kloramfenikol nama dagang; metanol (*grade HPLC*); metanol *p.a (for analysis)*; aquabidest; asam asetat glasial); dan kertas whatman.

### Prosedur

#### *Pengambilan Sampel Tetes Mata*

Pengambilan sampel tetes mata kloramfenikol berdasarkan kriteria volume dan kadar sampel. Sampel tersebut diperoleh tiga kelompok tetes mata kloramfenikol nama dagang yang terdapat dari apotek di kota Palembang yang memiliki kandungan setara dengan 50 mg.

#### *Preparasi Larutan Induk Baku Kloramfenikol*

Ditimbang seksama kloramfenikol baku sebanyak 20 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Diencerkan dengan metanol *p.a* sampai tanda sehingga diperoleh larutan induk kloramfenikol dengan konsentrasi 200 mg/L.

#### *Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kloramfenikol Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis*

Dipipet sebanyak 1,0 ml larutan induk baku kloramfenikol di masukkan ke dalam labu ukur 10 ml, diencerkan dengan metanol *p.a* sampai garis tanda disaring menggunakan kertas whatman sehingga diperoleh konsentrasi 20 mg/L. Diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 230-300 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimum dari kurva serapan yang dihasilkan.

### **Preparasi Fase Gerak**

Sebanyak 300 ml metanol *grade HPLC* disaring dengan menggunakan kertas whatman dimasukkan ke dalam wadah fase gerak dan sebanyak 300 ml larutan asam asetat glasial 0,1% (v/v) disaring dengan menggunakan kertas whatman dimasukkan ke dalam wadah fase gerak yang berbeda.

### **Penyiapan Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Masing-masing unit diatur pada alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Kolom yang digunakan adalah kolom C<sub>18</sub>. Detektor UV dan pompa diatur berdasarkan panjang gelombang maksimum yang telah di peroleh sedangkan metode aliran tetap pada laju aliran 1,0 ml/menit. Perbandingan fase gerak metanol dan larutan asam asetat glasial 0,1 % (75:25) v/v. Setelah diperoleh kondisi yang sesuai, pompa dijalankan dan fase gerak dibiarkan mengalir selama 30 menit sampai diperoleh garis alas datar pada monitor, maka dari itu menandakan bahwa sistem telah stabil (Hamdani dkk, 2014).

### **Pembuatan Kurva Kalibrasi Kloramfenikol**

Untuk membuat seri konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25 mg/L, dipipet sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml, 1,25 ml dari larutan induk kloramfenikol pada konsentrasi 200 mg/L. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, diencerkan dengan metanol *p.a*, dikocok dan ditara sampai tanda batas lalu disaring menggunakan kertas whatman. Masing-masing konsentrasi diinjeksikan sebanyak 20 µl dengan laju alir 1,0 ml/menit ke dalam sistem KCKT pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh waktu retensi, luas area dan tinggi area. Dicatat semua data yang ditunjukkan pada kromatogram. Data kromatogram yang diperoleh selanjutnya dibuat kurva kalibrasi dengan mencari hubungan antara konsentrasi (X) dengan luas area kromatogram (Y) dan kemudian ditentukan persamaan regresinya ( $y = ax+b$ ).

### **Validasi metode**

Validasi metode dilakukan meliputi uji linearitas, uji presisi, LOD dan LOQ (Edi, 2008), dan uji akurasi (Sari dan Utami, 2009). Uji linearitas diperoleh dari kurva kalibrasi dengan persamaan garis X (konsentrasi) dan Y (kromatogram) yaitu dari seri konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25 mg/L. Persamaan garis yang diperoleh selanjutnya ditentukan derajat linearitasnya melalui koefisien regresi ( $y = ax+b$ ) dan koefisien kolerasi (r).

### **Penetapan Kadar Sampel Kloramfenikol**

Dipipet masing-masing 10 ml obat tetes mata kloramfenikol yang setara dengan 50 mg dari sampel A, B dan C, dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml, diencerkan dengan metanol *p.a* sampai tanda batas. Dari larutan sampel kemudian dipipet sebanyak 2,5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, diencerkan dengan metanol *p.a* sampai tanda batas, kemudian disaring dengan kertas whatman sehingga diperoleh larutan konsentrasi 20 mg/L. Diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam sistem KCKT dengan laju alir 1,0 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum. Kadar kloramfenikol dihitung menggunakan kurva kalibrasi yang telah dibuat

### **Analisis Data**

Analisis validitas metode diketahui dari beberapa parameter uji, yaitu: uji linearitas yang didapatkan dari regresi linier sehingga menunjukkan hubungan luas area dengan rentang seri konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25 mg/L. Setelah itu dilakukan uji presisi untuk melihat nilai standar deviasi dan relatif standar deviasi. Lalu penentuan batas deteksi (*limit of detection*, LOD) dan batas kuantitasi (*limit of quantitation*, LOQ) yang dihitung secara statistik melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi. Kemudian dilakukan uji akurasi yang didapatkan dari perbandingan luas area larutan sampel dengan penambahan larutan induk 200 mg/L dan tanpa penambahan larutan induk 200 mg/L

yang digunakan untuk menghitung persen perolehan kembali. Hasil dibuat dalam bentuk tabel.

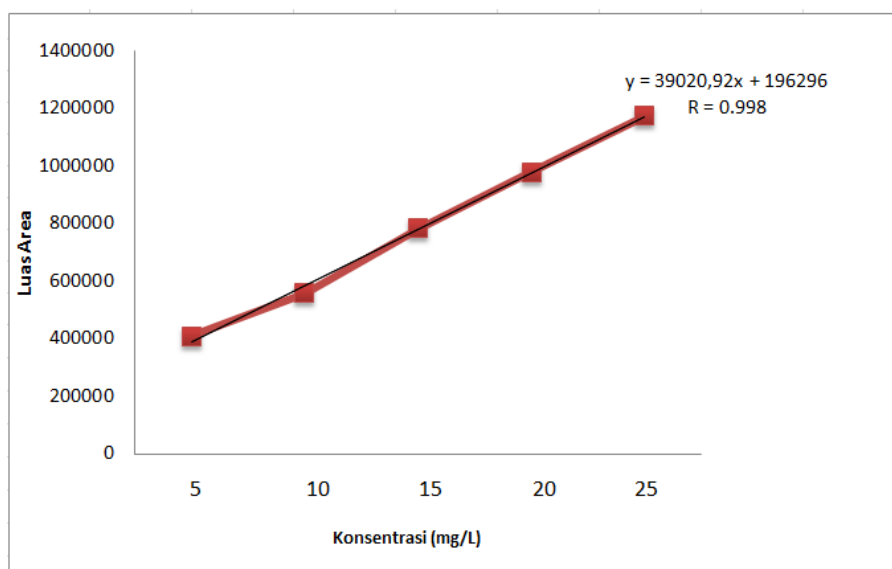
Larutan induk baku kloramfenikol yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mencari panjang gelombang maksimum dan kurva kalibrasi. Dari larutan induk kloramfenikol 200 mg/L dibuat seri konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25 mg/L. Dari masing-masing seri konsentrasi akan didapatkan luas area yang akan diplot menjadi persamaan regresi untuk membuat kurva kalibrasi yang nantinya akan didapatkan nilai persamaan regresi linier  $y = ax + b$ . Kemudian penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata dihitung dengan mensubstitusikan nilai  $y$  dengan luas area dari masing-masing sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel tetes mata kloramfenikol digunakan berdasarkan kriteria volume dan kadar yang terdapat di kota Palembang, yaitu tiga produk tetes mata kloramfenikol nama dagang. Sebelum dilakukan penetapan kadar menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari larutan baku kloramfenikol pada konsentrasi 20 mg/L dan metanol *p.a* sebagai blanko. Sehingga

diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 273,4 nm dengan absorbansi 0,638 memberikan puncak yang baik dan hampir sesuai dengan literatur yang ada. Pada kondisi panjang gelombang maksimum yang didapat ini digunakan untuk menganalisa larutan standar dan sampel. Hasil panjang gelombang yang diperoleh mengalami sedikit pergeseran dari panjang gelombang literatur yaitu 272 nm (Sreevatsav dkk, 2013). Panjang gelombang yang diperoleh mengalami pergeseran sebesar 1,4 nm sehingga dapat disebabkan karena kondisi pengujian pada saat penelitian berbeda dengan kondisi pengujian pada literatur. Hal tersebut dapat mempengaruhi absorbansi dari senyawa (Gandjar dan Rohman, 2007).

Sebelum melakukan penetapan kadar perlu divalidasi terlebih dahulu untuk menjamin dan membuktikan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi persyaratan yang telah ditentukan, sesuai dengan tujuan penggunaannya sehingga hasil yang diperoleh dari penelitian merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya. Parameter yang digunakan dalam validasi metode pada penelitian ini antara lain linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (*limit of detection*, LOD) dan batas kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ), serta penetapan kadar zat aktif kloramfenikol dalam sediaan tetes mata (Harmita, 2004).



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar kloramfenikol

Persamaan kurva kalibrasi menunjukkan hubungan antara luas area dan konsentrasi larutan standar. Penentuan kurva kalibrasi dibuat seri konsentrasi 5 mg/L; 10 mg/L; 15 mg/L; 20 mg/L; dan 25 mg/L dari larutan baku kloramfenikol 200 mg/L sehingga di peroleh persamaan regresi  $y=39020,92x+196296$  dengan nilai  $r=0,998$ . Nilai  $r$  bisa diterima karena  $(r)$  tabel  $< (r)$  hitung yaitu  $0,811 < 0,998$  sehingga memenuhi syarat uji linearitas (Harmita, 2004)

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai relatif standar deviasi (RSD). Pengujian parameter presisi dilakukan dengan tujuan mengetahui ketepatan suatu hasil analisis pada kondisi analisis yang sama berupa peralatan yang digunakan, analisis yang mengerjakan, tempat, dan waktu pelaksanaan. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan nilai RSD dari 6 kali replikasi konsentrasi kloramfenikol 15 mg/L didapatkan nilai SD sebesar 0,8711 mg/L dan nilai RSD sebesar 6,09 %. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai RSD  $< 2\%$ . Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium, sehingga nilai RSD 5-19% masih dapat diterima. Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa metode yang digunakan memenuhi persyaratan presisi (Harmita, 2004).

Parameter selanjutnya yang diuji adalah batas deteksi (*limit of detection*, LOD) dan batas kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ). Batas deteksi (*limit of detection*, LOD) digunakan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam suatu sampel yang masih dapat dideteksi. Batas kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ) digunakan untuk kuantitas analit terkecil yang masih dapat menghasilkan pengukuran yang teliti dan seksama (Harmita, 2004). Berdasarkan data yang diperoleh maka nilai LOD yang didapat ialah sebesar 1,4920 mg/L, angka ini menunjukkan bahwa konsentrasi kloramfenikol terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh kromatografi cair kinerja tinggi dan nilai LOQ yang diperoleh ialah sebesar 4,9734 mg/L, dimana nilai

tersebut cukup memadai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif kloramfenikol dalam sediaan tetes mata secara KCKT.

Parameter selanjutnya akurasi. Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat di bedakan menjadi dua metode yaitu metode simulasi (*spiked placebo recovery*) dan metode penambahan bahan baku (*standard addition method*) (Harmita, 2004). Penelitian ini menggunakan metode penambahan bahan baku (*standard addition method*) yaitu sampel dianalisis lalu sejumlah larutan baku kloramfenikol yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan nilai rata-rata persen perolehan kembali sebesar 100,71 %. Hal ini menunjukkan bahwa persen perolehan kembali dari ketiga pengulangan memenuhi persyaratan yaitu berada pada rentang 97-103 % (Harmita, 2004).

Penetapan kadar kloramfenikol sediaan tetes mata dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi karena mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran dengan baik, mampu memisahkan zat yang labil dan tidak mudah menguap, memiliki kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, memiliki resolusi yang baik, dapat menggunakan berbagai detektor, kolom dapat digunakan kembali, dilakukan pada suhu kamar, dan mudah melakukan perolehan kembali. Tetapi jika sampel yang dianalisis sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penelitian yang dilakukan oleh Sari dan Utami (2009), bahwa penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata menggunakan fase gerak metanol dan air (40:60). Sedangkan fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol dan larutan asam asetat glasial 0,1% dengan perbandingan (75:25). Alasan memilih fase

gerak tersebut karena metode kromatografi cair kinerja tinggi yang digunakan pada fase terbalik, dimana fase diam yang relatif kurang polar dibandingkan fase gerak (kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut) dan fase gerak juga dapat mempengaruhi waktu retensi dari sampel yang dianalisis. Berdasarkan kelarutannya kloramfenikol mudah larut dalam etanol, tetapi karena metanol merupakan pelarut yang bersifat organik dan memiliki nilai viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan etanol maka fase gerak yang digunakan adalah metanol. Metanol yang digunakan harus *grade HPLC* agar tidak adanya pengotor dalam reagen yang menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi (Gandjar dan Rohman, 2007). Aquabidest digunakan sebagai fase gerak untuk membuat suasana fase gerak menjadi lebih polar. Sedangkan asam asetat glasial digunakan untuk mengendalikan keasaman sehingga dapat menahan ionisasi analit dan mengurangi ekor puncak senyawa asam. Maka larutan asam asetat glasial 0,1% mempunyai pengaruh yang baik terhadap waktu retensi dan luas area (Munson, 1991).

Hasil optimasi fase gerak pada penetapan kadar kloramfenikol dan hidrokortison asetat dalam sediaan krim yang telah dilakukan Hamdani dkk, 2014 bahwa kondisi KCKT yang optimum dengan pemisahan yang baik dan waktu yang singkat diperoleh perbandingan fase gerak metanol dan larutan asam asetat 0,1% (75:25). Oleh karena itu, perbandingan yang digunakan untuk fase

gerak adalah 75:25. Pada penggunaan fase gerak metanol dan air (40:60) diperoleh waktu retensi sebesar 6,575 menit, sedangkan pada penggunaan fase gerak metanol dan larutan asam asetat glasial 0,1% (75:25) diperoleh waktu retensi pada sampel merek A sebesar 5,661 menit; merek B sebesar 5,669 menit; merek C 5,616 menit. Hal ini menunjukkan bahwa luas area yang didapat waktu retensinya lebih cepat, reprodusibel, dan stabil dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Dalam penelitian ini digunakan perhitungan menggunakan data luas area dan konsentrasi pada masing-masing sampel, sebab luas area kromatogram sebanding (proporsional) dengan konsentrasi zat yang menghasilkan puncak (Putra, 2004). Kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata ini diperoleh menggunakan persamaan regresi  $y = 39020,92x + 196296$  dengan luas area masing-masing sampel. Dari persamaan regresi tersebut diperoleh nilai X yang merupakan konsentrasi sampel. Hasil penelitian pada penetapan kadar kloramfenikol yang diperoleh dari tiga sampel sediaan tetes mata di apotek kota Palembang merek A sebesar 100,75 %, merek B sebesar 102,64 % dan merek C sebesar 105,29 %. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa kadar kloramfenikol yang terdapat dalam tiga sampel uji memenuhi persyaratan pada Farmakope Indonesia edisi V(2014) yaitu mengandung  $C_{16}H_{14}O_3$  tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 130% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Tabel 1. Data hasil penetapan kadar kloramfenikol sediaan tetes mata

No.	Nama Sampel	Waktu retensi (menit)	Luas area	Kadar zat aktif Kloramfenikol (%)	Kadar sampel kloramfenikol dalam etiket (0,5%)
1	Sampel A	5,661	982607	100,75	0,5037
2	Sampel B	5,669	997341	102,64	0,5132
3	Sampel C	5,616	1018022	105,29	0,5264

Setelah itu, masing-masing sampel kloramfenikol dalam sediaan tetes mata yang tertera pada etiket diperoleh merek A sebesar

0,5037 %; merek B 0,5132 %; merek C 0,5264 %, pada Tabel 1. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa kadar

kloramfenikol yang diperiksa menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi dengan menggunakan fase gerak metanol dan larutan asam asetat glasial 0,1%, didapatkan hasil yang sesuai dengan kadar yang terdapat dalam etiket sediaan tetes mata kloramfenikol yaitu 0,5%.

## SIMPULAN

Kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata sampel A, B dan C yang dianalisis adalah 100,75 %; 102,64 %; 105,29 %, dan hasil didapatkan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi sesuai dengan parameter-parameter validasi metode yang meliputi linearitas, presisi, LOD, LOQ dan akurasi.

Kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes mata dari semua sampel sesuai dengan persyaratan yang tertera dalam Farmakope Indonesia edisi V, yaitu mengandung  $C_{16}H_{14}O_3$  tidak kurang dari 90 % dan tidak lebih dari 130 % dari jumlah yang tertera dalam etiket.

## DAFTAR PUSTAKA

- Connors, K.A. 1992. *Stabilitas kimiawi sediaan farmasi*. Penerjemah: D.D. Gunawan. Semarang: IKIP Press.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia* (Edisi III). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jendral pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jendral pengawasan Obat dan Makanan.
- Edi, R. 2008. *Optimasi fase gerak metanol:campuran air-asam fosfat pada penentuan kadar sediaan tablet Simetidin dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)*. (Skripsi). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Gandjar, I.G., Rohman, A. 2007. *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hamdani, S., Maimonah, S., Akmal. 2014. *Optimasi fase gerak pada penetapan kadar kloramfenikol dan hidrokortison asetat dalam sediaan krim secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)*. (Skripsi). Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah ilmu kefarmasian*, 1(3), 117-135.
- Kemenkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia* (Edisi V). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Munson, J.W. 1991. *Analisa Farmasi*. Surabaya: Universitas Air Langga.
- Noviyanto, F., Tjiptasurasa., dan Utami, P.I. 2014. Ketoprofen penetapan kadar dalam sediaan gel dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Pharmacy*, 1-8.
- Pasri. 2010. *Penerapan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada penetapan kadar Kloramfenikol dalam sediaan kapsul dengan nama dagang dan generik*. (Skripsi). Medan : Universitas Sumatra Utara.
- Putra, E.D.L. 2004. *Kromatografi cair kinerja tinggi dalam bidang farmasi*. Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam: Universitas Sumatra Utara.
- Sari, F.D.P., Utami, P.I. 2009. Penetapan kadar Kloramfenikol dalam tetes mata pada sediaan generik dan merk dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Pharmacy*, 6(2), 53-59.
- Sreevatsav, S.K., Ramesh, C., Prasad, N.S., Maleraju, J., Sunder, K.S. 2013. RP HPLC method development and validation of Chloramphenicol eye and ear drops. *International journal of biopharmaceutics*, 4(3), 166-174.
- Sugihartini, N., Fadholi, A., Pramono, S., Sismindari. 2014. Validasi metode analisa penetapan kadar epigalokatekin galat dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal pharmacia*, 4(2), 111-115.

- Suguna, P., Naidu, N.V.S., Sathyanarayan, B. 2014. Determination of Chloramphenicol in bulk drug and pharmaceutical dosage forms by HPLC. *IOSR journal of pharmacy*, 4(12), 60-70.
- Suguna, P., Ramacandra, B., Naidu, N.V.S. 2015. Development and validation of UV-Visible spectrophotometric method for the determination of Chloramphenicol in pure and in dosage form. *J.Pharm. Phytopharmacol*, 4(5), 271-275.
- Tjay, T.H., Rahardja, K. 2010. *Obat-obat penting khasiat penggunaan dan efek-efek sampingnya* (Edisi VI). Jakarta: PT Elex Media Komputindo. Hal 82-83.
- Yudhoyono, S.B. 13 Oktober 2009. *Undang-undang republik Indonesia nomor 36 tahun 2009 tentang kesehatan*. Diakses 10 April 2017 dari <http://www.sjdih.depkeu.go.id/fulltext/2009/36TAHUN2009UU.htm>