

Analisis Kloramfenikol dalam Sampel Sediaan Tetes Telinga di Kota Palembang dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

MAUIZATUL HASANAH DAN PUTRI WAHYUNI

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFI) Bhakti Pertiwi, Jl. Ariodillah III No.22A Palembang, Sumatera Selatan

Intisari: Telah dilakukan penelitian penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan penetapan kadar dan mengetahui kesesuaian kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) fase terbalik dengan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 273,4 nm. Fase diam yang digunakan adalah kolom C18, fase gerak metanol : air (70 : 30) dengan laju alir 1 ml/menit. Penentuan linearitas dengan kurva baku menunjukkan hubungan yang linier antara luas puncak dan konsentrasi baku kloramfenikol dengan konsentrasi 5-25 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0,998$). Persamaan regresi yang diperoleh adalah $y=39020,92x + 196296$, nilai *limit of detection* (LOD) sebesar 1,4920 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai *limit of quantitation* (LOQ) sebesar 4,9734 $\mu\text{g/ml}$. Uji presisi memberikan nilai koefisien variasi sebesar 0,8711 %. Hasil penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga ialah sampel A = 1,17 %, sampel B = 1,20 % dan sampel C = 1,19 %. Berdasarkan pengujian, sampel sediaan tetes telinga dengan kriteria kadar memenuhi persyaratan yang tertera pada Farmakope Indonesia edisi V.

Kata kunci: Kloramfenikol, kromatografi cair kinerja tinggi, tetes telinga

Abstract: Determination of Chloramphenicol content in ear drops has been performed with high performance liquid chromatography (HPLC) method. The purpose of this research was to determination and know the suitability of Chloramphenicol contents in ear drops by reversed phase reversed phase with ultraviolet detector at a wavelength of 273.4 nm. The C18 column was used as stationary phase, methanol : water (70 : 30) v/v as mobile phase, with flow rate of 1 ml/minute. Determination of calibration curve linearity showed a linear correlation between the peak area and chloramphenicol concentration with concentration 5-25 $\mu\text{g/ml}$ ($r = 0,998$). The equation of regression was $y = 39020,92x + 196296$, the limit of detection (LOD) value is 1,4920 $\mu\text{g/ml}$ and the value of limit of quantitation (LOQ) is 4,9734 $\mu\text{g/ml}$. The precision test showed a coefficient of variation was 0.8711%. The result of determination of chloramphenicol content in ear drops were sample A = 1,17 %, sample B = 1,20 % and sample C = 1,19 %. Based on the test, samples of ear drops with contents criteria was fulfilled the requirements of Indonesian Pharmacopoeia fifth edition.

Keywords: Chloramphenicol, high performance liquid chromatography, ear drops

Email: mauizatulhasanah@gmail.com

1 PENDAHULUAN

Kloramfenikol adalah salah satu senyawa antibiotik yang pertama kali diisolasi pada tahun 1947 dari *Streptomyces venezuelae* yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri (FKUI, 2012). Sediaan farmasi yang berupa obat dan bahan baku obat harus memenuhi syarat Farmakope Indonesia atau buku standar lain. Persyaratan kadar merupakan salah satu tolak ukur kualitas suatu obat. Obat akan optimal memberikan efek farmakologinya jika sesuai dengan kadar yang ditentukan (Depkes RI, 2009). Persyaratan kadar untuk tetes telinga kloramfenikol mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% kloramfenikol dari jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes RI, 2014).

Penentuan kadar senyawa aktif pada obat dilakukan dengan suatu metode analisis yang harus divalidasi, untuk melakukan verifikasi bahwa parameter – parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis. Parameter validasi metoda analisis yaitu akurasi, presisi, linearitas, LOD, LOQ, selektivitas, kekasaran, dan ketahanan (Gandjar dan Rohman, 2007). Validasi ulang perlu dilakukan meskipun validasi sebelumnya menghasilkan data yang sesuai dengan kriteria penerimaan (Noviyanto dkk, 2014).

Kadar kloramfenikol dapat ditentukan dengan beberapa metode yaitu secara volumetri, spektrofotometer UV, kromatografi lapis tipis (KLT) (Depkes RI, 1979). Penetapan kadar kloramfenikol dapat dilakukan secara kromatografi cair kinerja tinggi

(KCKT) menggunakan fase gerak campuran air : metanol : asam asetat glasial (Kemenkes RI, 2014).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Alaani dan Alnukkary (2016), terhadap sampel kloramfenikol, deksametason dan tetrahidrozolin HCl pada sediaan tetes mata menggunakan metode KCKT dengan kolom C18 dan fase gerak buffer posfat : asetonitril menunjukkan hasil yang memenuhi syarat untuk parameter validasi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari dan Utami (2009), terhadap sampel kloramfenikol pada sediaan tetes mata dengan KCKT menggunakan kolom shimpack ODS CLC C18 dan fase gerak metanol : air, memberikan hasil yang memenuhi syarat untuk parameter linearitas, selektivitas, LOD, LOQ, dan presisi namun masih memiliki akurasi yang kurang memenuhi syarat yang telah ditetapkan.

2 METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat gelas seperti labu ukur, erlenmeyer, pipet ukur, *beaker glass*, neraca analitik, Spektrofotometer UV – Vis (Shimadzu 1700), seperangkat alat kromatografi cair kinerja tinggi (Waters 486 Tunable Absorbance Detector, Waters 600 controller, waters 626 pump).

Bahan

Kloramfenikol baku, metanol *gradeHPLC*, metanol p.a, aquabidest, produk obat tetes telinga kloramfenikol, kertas whatman berpori ukuran 0,40 μm .

Sampel

Sampel tetes telinga kloramfenikol yang digunakan dipilih berdasarkan harga dan volume dari sampel. Pengambilan sampel tetes telinga kloramfenikol berdasarkan kadar dari semua sampel tetes telinga yang dijual di apotek yang ada di kota Palembang diperoleh 3 macam obat tetes telinga yang memiliki kandungan kloramfenikol dengan kadar 1% dalam 10 ml.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Kloramfenikol baku dilarutkan dengan metanol, dibuat konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$, kemudian dibuat konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$, diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-300 nm lalu diperoleh panjang gelombang maksimum dari kurva serapan yang dihasilkan.

Penyiapan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan adalah metanol : aquabidest (Sari dan Utami, 2009). Sebanyak 250 ml metanol *gradeHPLC* disaring dengan menggunakan kertas whatman berpori yang berukuran 0,40 μm dimasukkan ke dalam wadah fase gerak, sebanyak 250 ml aquabidest disaring menggunakan kertas whatman berpori yang berukuran 0,40 μm dimasukkan ke dalam wadah fase gerak lain.

Penyiapan Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Masing-masing unit kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) diatur. Kolom yang digunakan adalah kolom C-18, detektor UV yang diatur pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat, dan pompa disiapkan dengan metode aliran tetap pada laju alir 1,0 ml/menit. Setelah alat KCKT dihidupkan, maka pompa dijalankan dan fase gerak yang diatur dengan perbandingan metanol : aquabidest (70 : 30) dibiarkan mengalir selama 30 menit sampai diperoleh garis alas yang datar pada monitor yang menandakan sistem tersebut telah stabil.

Kurva Kalibrasi

Dari larutan induk baku dibuat variasi konsentrasi 5; 10; 15; 20; 25 $\mu\text{g/ml}$. Masing - masing konsentrasi diinjeksikan sebanyak 20 μl dengan laju alir 1 ml/menit, dengan fase gerak metanol : aquabidest (70 : 30) ke dalam sistem KCKT pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh catatan luas area yang ditunjukkan pada kromatogram, kemudian dibuat kurva kalibrasi yang merupakan hubungan antara luas area yang dihasilkan dengan konsentrasi yang ada.

Validasi Metode

1. Uji linearitas

Uji linearitas diperoleh dari kurva kalibrasi dengan persamaan garis yang merupakan hubungan antara konsentrasi dan luas area, yaitu dari seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 $\mu\text{g/ml}$. Persamaan garis yang diperoleh selanjutnya ditentukan derajat linieritasnya melalui penentuan koefisien korelasi dan koefisien regresi.

2. Penentuan uji akurasi dengan parameter % perolehan kembali

Digunakan sampel tetes telinga merk A (1% yang setara dengan 50 mg kloramfenikol) Larutan tersebut kemudian dipipet sebanyak 0,75 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambah metanol p.a sampai tanda, dikocok homogen. Kemudian disaring menggunakan kertas whatman berpori yang berukuran 0,40 μm , diinjeksikan sebanyak 20 μl ke dalam

sistem KCKT dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum dengan laju alir 1 ml/menit. Kemudian untuk penambahan larutan baku 200 µg/ml, dipipet sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu ditambahkan larutan sampel sebanyak 9,9 ml atau sampai tanda batas. Setelah itu dianalisa dengan perlakuan yang sama pada penetapan kadar sampel. Luas area masing – masing dicatat kemudian hasil luas area tersebut digunakan untuk menghitung % perolehan kembali, (Harmita, 2004).

3. Penentuan uji presisi

Larutan baku kloramfenikol dengan konsentrasi 15 ppm diinjeksikan sebanyak 20 µl dengan laju alir 1 ml/menit ke dalam sistem KCKT, kemudian dicatat luas area dan waktu retensi, dan diulangi sebanyak enam kali. Kemudian dihitung standar deviasi dan koefisien variasi dari data tersebut (Harmita, 2004).

4. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) masing-masing dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$SB = \sqrt{\frac{(Y - Y_i)^2}{n - 2}}, \quad LOD = \frac{3 \times SB}{slope}, \quad LOQ = \frac{10 \times SB}{slope}$$

Keterangan : SB = Simpangan Baku, *slope* = Kemiringan atau b pada persamaan regresi linier (Riyanto, 2014)

Penentuan Kadar Sampel Kloramfenikol

Dipipet masing-masing sebanyak 5 ml dari sampel A, B dan C kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda, disaring menggunakan kertas whatman berpori yang berukuran 0,40 µm. Larutan tersebut kemudian dipipet sebanyak 0,75 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambah metanol p.a sampai tanda. Setelah itu disaring menggunakan kertas whatman berpori yang berukuran 0,40 µm, diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam sistem KCKT dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum, laju alir 1,0 ml/menit dengan fase gerak metanol: aquabidest (70 : 30), kemudian dihitung kadarnya. Kadar kloramfenikol dihitung menggunakan kurva baku yang telah dibuat (Sari dan Utami, 2009).

Analisis Data

Uji linearitas yang didapatkan dari regresi linier yang menunjukkan hubungan linier dengan rentang variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 µg/ml. Setelah itu dilakukan uji akurasi yang didapatkan dari data dan dihitung persen perolehan kembali dengan ru-

mus yang ada. Kemudian dilakukan uji presisi yang diperoleh dari nilai serapan yang telah dihitung. Lalu penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) yang dihitung secara statistik melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi, dan hasil yang didapat dibuat dalam bentuk tabel.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga ini menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Metode ini bagus digunakan karena metode ini memiliki kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, mudah melaksanakannya, mampu memisahkan molekul – molekul dari suatu campuran, dapat dihindari terjadinya dekomposisi / kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam – macam detektor, kolom dapat digunakan kembali (Snyder dan Kirkland, 1979).

Penelitian ini menggunakan KCKT dengan sistem fase terbalik. Fase diam yang digunakan adalah kolom C-18 yang relatif kurang polar dibandingkan dengan fase gerak yang digunakan, yaitu metanol : aquabidest (70:30) yang lebih polar, dengan menggunakan detektor UV pada panjang gelombang 273 nm. Penelitian yang dilakukan oleh Sari dan Utami, 2013 menggunakan fase gerak metanol : air (40:60) pada sediaan tetes mata memberikan hasil yang memenuhi syarat untuk parameter linearitas, selektivitas, LOD, LOQ, dan presisi namun masih memiliki akurasi yang kurang memenuhi syarat yang telah ditetapkan.

Sebelum dilakukan validasi metode dan penetapan kadar, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum baku kloramfenikol menggunakan spektrofotometer UV dengan pelarut metanol. Penentuan panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan dengan pelarut metanol menggunakan spektrofotometer UV pada rentang panjang gelombang antara 200-300 nm. Hasil penentuan panjang gelombang dengan konsentrasi 20 µg/ml, diperoleh panjang gelombang maksimum 273,4 nm dengan serapan 0,638 yang memberikan puncak yang baik dan hampir sesuai dengan literatur yang ada. Hasil panjang gelombang yang diperoleh mengalami sedikit pergeseran dari panjang gelombang literatur yaitu 272 nm, (Suguna dkk, 2014).

Validasi metode analisa yang dilakukan bertujuan untuk membuktikan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi persyaratan yang telah ditentukan, sesuai dengan tujuan penggunaannya, sehingga hasil yang diperoleh dari peneli-

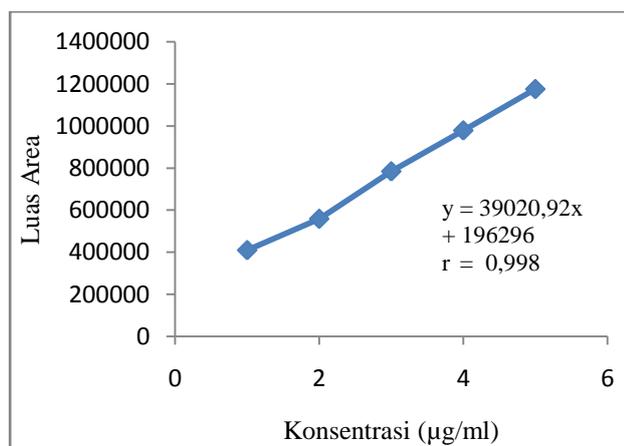
tian yang dilakukan merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya (Harmita, 2004).

Persamaan kurva kalibrasi (linearitas) menunjukkan hubungan antara luas area dan konsentrasi larutan standar.

Tabel 1. Luas area tiap konsentrasi larutan standar kloramfenikol pada panjang gelombang maksimum 273,4 nm

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Luas Area
5	410039
10	559023
15	784421
20	978985
25	1175581

Pengukuran kurva kalibrasi (linearitas) diukur dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, dan 25 $\mu\text{g/ml}$ yang dibuat dari larutan induk baku kloramfenikol 200 $\mu\text{g/ml}$. Dari hasil kurva kalibrasi (linearitas) diperoleh persamaan regresi linier yaitu $Y = 39020,92 X + 196296$ dengan nilai $r = 0,998$. Nilai r bisa diterima karena (r) tabel < (r) hitung yaitu $0,811 < 0,998$ sehingga memenuhi uji linearitas (Harmita, 2004).



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar kloramfenikol

Parameter validasi selanjutnya yaitu akurasi yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (%recovery) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan dengan 2 cara 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 tertentu larutan baku yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan).

Hasil perhitungan dari nilai persen perolehan kembali (%recovery) yang diperoleh ialah sebesar 91,03 % dimana persen perolehan kembali ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memenuhi syarat akurasi yang baik. Menurut Gunawan (1994), suatu metode mempunyai akurasi yang baik apabila nilai persen perolehan kembali berkisar antara 80 – 120 %.

Presisi merupakan salah satu parameter validasi yang menunjukkan bahwa hasil yang didapat dalam pengukuran tidak memiliki perbedaan yang jauh dari hasil sebenarnya. Pengukuran uji presisi dilakukan pada salah satu konsentrasi. Untuk menentukan presisi diukur dari simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Uji presisi dinyatakan memenuhi persyaratan atau kriteria apabila nilai %RSD-nya kurang atau sama dengan 5%. Pada pengujian dengan KCKT, nilai RSD antara 1-2 % biasanya dipersyaratkan untuk senyawa – senyawa aktif dalam jumlah banyak, sedangkan untuk senyawa – senyawa dengan kadar sekelumit, RSD berkisar antara 5 – 15 % (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pengukuran uji presisi pada salah satu larutan standar kloramfenikol dengan konsentrasi 15 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 6 kali pengulangan, dibaca luas areanya. Hasil perhitungan simpangan baku (SD) diperoleh nilai sebesar 0,8711 %, nilai RSD-nya yaitu sebesar 6,09 % sehingga uji presisi yang diukur pada salah satu larutan standar kloramfenikol telah memenuhi persyaratan atau kriteria yaitu nilai %RSD-nya sebesar 5-15 % (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kurva kalibrasi (linearitas) yang didapat, digunakan untuk menentukan batas deteksi dan batas kuantitasi. Batas deteksi (LOD) digunakan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam suatu sampel yang masih dapat dideteksi. Batas kuantitasi (LOQ) digunakan untuk mengetahui kuantitas analit terkecil yang masih dapat menghasilkan pengukuran yang teliti dan seksama (Harmita, 2004). Persamaan regresi dari kurva baku (linearitas) diketahui batas deteksi yang diperoleh ialah sebesar 1,4920 $\mu\text{g/ml}$, angka ini menunjukkan bahwa konsentrasi kloramfenikol terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh KCKT. Batas kuantitasi yang diperoleh ialah sebesar 4,9734 $\mu\text{g/ml}$. Dimana nilai tersebut cukup memadai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga secara KCKT.

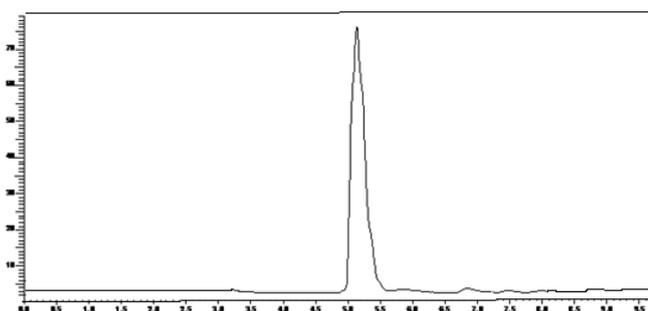
Penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga dapat dilakukan dengan menggunakan data luas area. Dalam penelitian ini digunakan perhitungan menggunakan data luas area, sebab luas area kromatogram sebanding (proporsional) dengan

konsentrasi zat yang menghasilkan puncak (Putra, 2004).

Tabel 1. Hasil pengukuran luas area kloramfenikol dalam sediaan tetes telinga

Nama Sampel	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Kadar Kloramfenikol (%)*
A	5,660	1963952	1,17
B	5,952	2009322	1,20
C	6,753	1990342	1,19

Dengan pola kromatogram hasil penyuntikan larutan sampel tetes telinga Kloramfenikol, ditampakan pada gambar 2



Gambar 2. Polakromatogram hasil penyuntikan sampel tetes telinga

Hasil penelitian penetapan kadar kloramfenikol dalam 3 sampel tetes telinga merk A sebesar 1,17%, merk B sebesar 1,20%, dan merk C sebesar 1,19%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa kadar kloramfenikol yang terdapat dalam 3 sampel uji memenuhi persyaratan yaitu untuk tetes telinga kloramfenikol mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% kloramfenikol dari jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes RI, 2014).

4 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapat kesimpulan sebagai berikut:

1. Kadar kloramfenikol dalam sampel tetes telinga merk A sebesar 1,17 %, merk B sebesar 1,20 %, dan merk C sebesar 1,19 %. Hasil tersebut didapatkan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi yang valid sesuai dengan parameter – parameter validasi metode yang meliputi, linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ.
2. Kadar kloramfenikol dari semua sampel yang diuji memenuhi persyaratan yang ada yaitu persyaratan Farmakope Indonesia untuk tetes telinga kloramfenikol mengandung tidak kurang dari

90,0% dan tidak lebih dari 130,0% kloramfenikol dari jumlah yang tertera pada etiket.

REFERENSI

- [1] Ahuja, S. dan Dong, M.W. 2005. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. USA: Elsevier, Inc.
- [2] Alaani, H. dan Alnukkary, Y. 2016. Stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of Chloramphenicol, Dexamethasone Sodium Phosphate and Tetrahydrozoline Hydrochloride in ophthalmic solution. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 6(1), 137-141.
- [3] Carolina, A. 2008. *Iso farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- [4] Dachriyanus. 2004. *Analisa struktur senyawa organik*. Universitas Andalas. Padang.
- [5] Depkes RI. 2009. *Undang – undang no. 39 tahun 2009 tentang kesehatan*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [6] Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia (Edisi III)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [7] Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia (Edisi IV)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [8] FKUI. 2012. *Farmakologi dan terapi*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- [9] Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- [10] Gunawan, I. 1994. *Metode validasi pada analisis kimia*. Universitas Airlangga. Surabaya
- [11] Harmita. 2004. Petunjuk validasi metode dan cara perhitungan. *Jurnal majalah ilmu kefarmasian*, 1 (3), 117-135
- [12] ISO. 2014. *Kloramfenikol*. Volume 49. Jakarta. PT. ISFI Penerbitan.
- [13] Kazakevich, Y. dan Lobrutto, R. 2007. *HPLC for pharmaceutical scientists*. USA: A Jhon Willey & Sons, Inc. Publication.
- [14] Kemenkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia (Edisi V)*. Jakarta: Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Republik Indonesia.
- [15] Noviyanto, F., Tjiptasurasa., dan Utami, P. I. 2014. Ketoprofen, penetapan kadarnya dalam sediaan gel dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Pharmacy*, 01, 1-8.
- [16] Putra, E.D.L. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam bidang farmasi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- [17] Riyanto. 2014. *Validasi dan verifikasi metode uji*. Yogyakarta: Deepublish.
- [18] Sari, F. D. P. dan Utami, P. I. 2009. Penetapan kadar Kloramfenikol dalam tetes mata pada sediaan generik dan merk dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Pharmacy*, 06, 53-59.

- [19] Setiabudy dan Kurnadi. 2001. *Farmakologi dan terapi* (Edisi V). Jakarta: Penerbit Gaya Baru.
- [20] Snyder, L.R. dan Kirkland, J.J. 1979. *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (Edisi II). New York: A Jhon Willey & Sons, Inc. Publication.
- [21] Snyder, L.R., Kirkland, J.J., dan Dolan, J.W. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. New York: A Jhon Willey & Sons, Inc. Publication.
- [22] Sudjadi dan Rohman, A. 2012. *Analisis farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- [23] Suguna, P., Naidu, N.V.S., dan Sathyanarayana, B. 2014. Determination of Chloramphenicol in bulk drug and pharmaceutical dosage forms by HPLC. *IOSR journal of pharmacy*, 4(12), 60-70.
- [24] Tjay, T. H. dan Rahardja, K. 2007. *Obat – obat penting khasiat, penggunaan, dan efek – efek sampingnya* (Edisi VI). Jakarta: PT Elex Media Komputindo: hal. 65. _____