Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Amoksisilin dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Sediaan Injeksi Kering

Fahrudin Arif[1], Muhamad Khudzaifi[2], Teguh Setiawan Wibowo[3]
[1,2]Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kudus, Indonesia
[3]Program Studi Sarjana Manajemen, STIE Mahardika Surabaya, Indonesia
Email Korespondensi: fahrudinarif@umkudus.ac.id

ABSTRAK

Amoksisilin merupakan antibiotik β-laktam yang sering digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri dan tersedia dalam bentuk sediaan parenteral, termasuk injeksi kering. Kesesuaian kadar zat aktif pada sediaan parenteral merupakan aspek penting dalam menjamin mutu dan ketepatan dosis obat. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang akurat dan presisi untuk memastikan hasil penetapan kadar dapat diandalkan. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) banyak digunakan dalam analisis amoksisilin karena memiliki kemampuan pemisahan dan kuantifikasi yang baik. Namun, metode analisis perlu divalidasi untuk memastikan kesesuaiannya terhadap tujuan analisis dan karakteristik matriks sediaan. Penelitian ini bertujuan memvalidasi metode KCKT untuk penetapan kadar amoksisilin dalam sediaan injeksi kering 1 g/vial produksi industri farmasi swasta. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan kolom Bondapak C18 (4,6 × 150 mm), fase gerak buffer natrium dihidrogen fosfat pH 4,4 dan metanol (93:7), laju alir 1,5 mL/menit dengan panjang gelombang maksimal 230 nm. Parameter validasi meliputi linearitas, BD, BK, presisi, dan akurasi. Hasil menunjukkan nilai r sebesar 0,9999, BD 7,733 µg/mL, BK 25,778 µg/mL, %RSD presisi ≤2%, dan akurasi 98,58–101,61%. Kadar rata-rata sampel amoksisilin sebesar 102,87%. Metode KCKT memenuhi kriteria validasi dan dapat digunakan untuk penetapan kadar amoksisilin dalam sediaan injeksi kering secara akurat dan presisi.

Kata Kunci: Amoksisilin, Injeksi Kering, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Validasi metode analisa, Penetapan Kadar

ABSTRACT

Validation of a Method for Determining the Amoxicillin Concentration in Dry Injection Preparations Using High-Performance Liquid Chromatography

Amoxicillin is a β-lactam antibiotic commonly used in the treatment of bacterial infections and is available in parenteral dosage forms, including dry powder for injection. The conformity of active ingredient content in parenteral preparations is an important aspect of ensuring drug quality and dose accuracy. Therefore, an accurate and precise analytical method is required to ensure reliable assay results. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) is widely used for the analysis of amoxicillin because of its good separation and quantification capabilities. However, the analytical method must be validated to ensure its suitability for the intended analytical purpose and the characteristics of the dosage-form matrix. This study aimed to validate an HPLC method for the assay of amoxicillin in a 1 g/vial dry powder for injection manufactured by a private pharmaceutical company. The study was conducted experimentally using a Bondapak C18 column (4.6 × 150 mm), a mobile phase consisting of sodium dihydrogen phosphate buffer at pH 4.4

and methanol (93:7), a flow rate of 1.5 mL/min, and a maximum absorption wavelength of 230 nm. The validation parameters included linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision, and accuracy. The results showed an r value of 0.9999, a limit of detection (LOD) of 7.733 µg/mL, a limit of quantification (LOQ) of 25.778 µg/mL, a precision of ≤2% RSD, and an accuracy of 98.58–101.61%. The mean amoxicillin content in the samples was 102.87%. The HPLC method met the validation criteria and can be used for the accurate and precise assay of amoxicillin in dry powder for injection.

Kata Kunci: *Amoxicillin; Dry Powder Injection; High-Performance Liquid Chromatography (HPLC); Analytical Method Validation*

PENDAHULUAN

Sediaan injeksi merupakan sediaan parenteral yang diberikan melalui rute suntikan dan pada beberapa produk tersedia dalam bentuk serbuk atau injeksi kering yang perlu direkonstitusi atau diencerkan sebelum digunakan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2020). Sebagai sediaan yang diberikan secara parenteral, mutu dan kesesuaian kadar zat aktif merupakan aspek penting karena berkaitan langsung dengan jumlah zat aktif yang diberikan kepada pasien. Pengendalian mutu sediaan injeksi memerlukan metode analisis yang mampu memberikan hasil penetapan kadar secara akurat, presisi, dan dapat dipercaya. Persyaratan pengujian mutu tersebut menjadi semakin penting pada sediaan injeksi kering karena tahapan rekonstitusi dan preparasi sampel dapat memengaruhi hasil analisis kadar zat aktif.

Amoksisilin merupakan antibiotik β-laktam yang banyak digunakan dalam pengobatan berbagai infeksi bakteri dan tersedia dalam beberapa bentuk sediaan, termasuk sediaan parenteral. Penetapan kadar amoksisilin dalam produk farmasi merupakan salah satu bagian penting dalam pengawasan mutu untuk memastikan kesesuaian kandungan zat aktif dengan kadar yang tertera pada etiket. Ketepatan hasil analisis sangat bergantung pada kemampuan metode analisis dalam memisahkan dan mengukur analit secara tepat di dalam matriks sediaan. Oleh karena itu, metode analisis yang digunakan untuk penetapan kadar amoksisilin perlu memiliki karakteristik kinerja analitik yang sesuai dengan tujuan penggunaannya (ICH, 2023).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam analisis amoksisilin karena mampu melakukan pemisahan dan kuantifikasi senyawa secara selektif. Penelitian sebelumnya telah mengembangkan dan memvalidasi metode HPLC-UV untuk penetapan amoksisilin trihidrat pada bahan baku dan beberapa bentuk sediaan farmasi. Penelitian tersebut menggunakan kolom C18, fase gerak berbasis buffer fosfat dan metanol, laju alir 1,5 mL/menit, serta deteksi UV pada 230 nm, dengan evaluasi meliputi spesifisitas, linearitas, presisi, dan akurasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan linearitas, presisi, dan akurasi yang baik untuk matriks yang diteliti (Uwambajineza & Bizimana, 2021). Namun, penelitian tersebut berfokus pada bahan baku dan sediaan farmasi oral, sehingga kinerja metode pada matriks sediaan injeksi kering belum dapat diasumsikan secara langsung setara.

Penelitian lain juga telah menggunakan metode RP-HPLC untuk analisis amoksisilin sodium dengan kolom C18 dan deteksi UV, serta mengevaluasi

parameter spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi, dan batas kuantifikasi (McAlister et al., 2021). Penelitian tersebut menggunakan matriks dan kondisi kromatografi yang berbeda, antara lain fase gerak berbasis ammonium asetat dan campuran pelarut organik, sehingga kondisi tersebut tidak dapat secara langsung digunakan untuk menyimpulkan kesesuaian metode pada sediaan injeksi kering yang diteliti.

Perbedaan karakteristik matriks, komposisi formulasi, prosedur rekonstitusi, serta kondisi kromatografi dapat memengaruhi kinerja metode analisis (Raposo & Barceló, 2021). Metode KCKT yang telah digunakan pada bahan baku atau bentuk sediaan lain perlu dibuktikan kembali kesesuaiannya apabila diterapkan pada matriks sediaan injeksi kering. Berdasarkan penelitian terdahulu, masih diperlukan bukti kinerja analitik metode KCKT dengan kondisi kromatografi tertentu untuk penetapan kadar amoksisilin pada matriks sediaan injeksi kering. Dengan demikian, penelitian ini tidak dimaksudkan untuk mengembangkan prinsip metode KCKT yang baru, tetapi untuk melakukan validasi terhadap metode KCKT yang digunakan pada kondisi analisis dan matriks sediaan yang diteliti.

Penelitian ini digunakan sediaan injeksi kering amoksisilin 1 g/vial dengan metode KCKT menggunakan kolom Bondapak C18 (4,6 × 150 mm), fase gerak buffer natrium dihidrogen fosfat pH 4,4 dan metanol dengan perbandingan 93:7, laju alir 1,5 mL/menit dan panjang gelombang 230 nm. Validasi metode dilakukan untuk mengevaluasi linearitas, batas deteksi (BD), batas kuantifikasi (BK), presisi, dan akurasi. Penelitian ini diharapkan menghasilkan bukti bahwa kondisi KCKT yang digunakan mampu memberikan hasil penetapan kadar amoksisilin yang dapat diandalkan sehingga dapat mendukung pengujian mutu sediaan injeksi kering.

METODE

Metode dalam penelitian ini menggunakan metode ekperimental di laboratorium. Metode ini digunakan untuk validasi metode analisa penetapan kadar amoksisilin dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan parameter linieritas, batas deteksi/*limit of detection* (LOD) dan batas kuantitas/*limit of quantitation* (LOQ), presisi dan akurasi.

Alat

Alat yang digunakan adalah Neraca analitik, erlenmeyer, *beacker glass*, gelas ukur, sendok logam, pipet tetes, *Sigringe filt*er, labu takar, corong kaca, spuit, ultra Sonic Clerens, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi SHIMADZU prominance.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah Sediaan Injeksi Kering Amoksisilin, Standar Baku Pembanding Amoksisilin, NaH_2PO_4, Akuades, Metanol pro KCKT.

Cara Kerja

Pembuatan Buffer pH 4,4

7,8 gram NaH_2PO_4 dilarutkan dalam 1000 mL air, pH disesuaikan 4,4 ± 0,1 dengan penambahan NaOH 1 N atau asam fosfat, diencerkan dengan air hingga 1000 mL.

Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak dapar fosfat pH 4,4-metanol (93-7). Sebelum digunakan, dapar

fosfat dan metanol disaring masing-masing melalui membran filter 0,45 µm.

Pengukuran λ maksimum

Dibuat larutan standar amoksisilin dengan konsentrasi 10 µg/mL dan dipindai serapannya dengan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 200– 300 nm.

Pembuatan larutan standar amoksisilin

Ditimbang seksama 50 mg amoksisilin, dimasukkan ke dalam labu takar 100,0 mL, dilarutkan dengan akuades hingga batas tanda didapatkan konsentrasi larutan 500 µg/mL.

Pembuatan kurva kalibrasi

Membuat larutan dari baku amoksisilin dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm. Masing-masing konsentrasi disuntikkan sebanyak 20,0 µL kedalam intrumen KCKT dengan kondisi analisa terpilih, kemudian analisis hubungan antara luas puncak dan konsentrasi baku pembanding.

Validasi Metode

Linieritas

Lineritas ditentukan dengan membuat larutan amoksisilin dengan konsentrasi bertingkat 100 ppm; 200 ppm; 300 ppm; 400 ppm; 500 ppm; 600 ppm dan 700 ppm. Masing - masing larutan diinjeksikan ke KCKT kemudian dianalisis pada panjang gelombang maksimum untuk amoxicillin dan dibuat kurva kalibrasi untuk amoksisilin. Kemudian dibuat persamaan y = bx + a dan ditentukan harga r.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi (*Limit of Detection*/LOD) dan batas kuantitasi (*Limit of Quantitation*/LOQ) dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$Sy/x = \sqrt{\frac{\Sigma(y-y_i)^2}{n-2}}$$

Batas Deteksi (BD)

$$BD = \frac{3Sy/x}{b}$$

Batas Kuantitasi (BK)

$$BK = \frac{10Sy/x}{b}$$

(Meri Susanti & Dachriyanus, 2017)

Penentuan Keseksamaan (*precision*)

Dalam validasi keseksamaan (*precision*), digunakan dengan 7 kali pengulangan yaitu dengan konsentransi 500 ppm. Presisi metode dinyatakan oleh Koefisien Variasi/KV dari serangkaiaan data. KV dapat dirumuskan sebagai berikut.

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Penentuan Perolehan Kembali (*recovery*)

Studi penemuan kembali dilakukan dengan penambahan larutan sampel

adisi pada sampel dengan 3 macam konsentrasi yang berbeda yaitu 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm.

%Recovery = $\frac{\text{Nilai Aktual}}{\text{Nilai Teoritis}}$ X 100 %

(ICH, 2023)

Penetapan Kadar Sampel

Satu vial injeksi kering amoksisilin ditimbang seksama serbuk injeksi kering amoksisilin setara dengan 50 mg amoksisilin, serbuk dimasukkan ke dalam labu takar 100,0 mL, dilarutkan dengan akuades hingga batas tanda. Larutan disaring melalui penyaring membran filter dan digunakan filtrat sebagai larutan uji, larutan di masukkan kedalam vial dan dimasukkan kedalam tempat sampel dalam KCKT dan dicatat luas puncaknya dan dihitung kadarnya.

Perhitungan Kadar

W = $\frac{Area\ Sampel}{Area\ Standar}$ x C Standar

Kadar = $\frac{W}{mg\ Sampel}$ x $\frac{B.isi}{Etiket}$ x 100%

Ket :

W = Jumlah mg amoksisilin dalam bagian sampel

C = Konsentrasi

Larutan sampel dan larutan standar dalam preparasi diperlakukan sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode analisa menggunakan larutan baku amoksisilin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan parameter batas deteksi (BD), batas kuantitasi (BK), linieritas, presisi dan akurasi untuk menentukan kadar amoksisilin dalam sediaan injeksi kering.

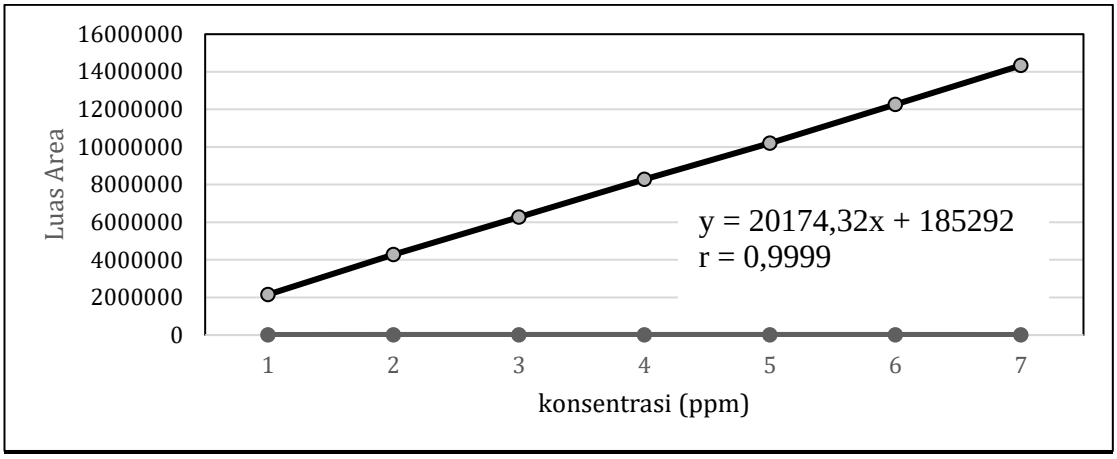
HASIL

Validasi metode analisa

Linieritas

Table 1. Kurva Baku Amoksisilin

Konsentrasi(ppm)	Luas Area
100	2147952
200	4271879
300	6276185
400	8278708
500	10204800
600	12269753
700	14335863



Gambar 1. Kurva Baku Amoksisilin

Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantifikasi (BK)

Table 2. Hasil Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Konsentrasi (x) (bpj)	Luas Area (y)	y'	(y – y') 2	BD (ppm)	BK (ppm)
100	2147952	2202725	3000081529		
200	4271879	4220157	2675165284		
300	6276185	6237587	1489805604		
400	8278708	8255021	561073969	7,7335	25,7784
500	10204800	10272453	4576928409		
600	12269753	12289885	405297424		
700	14335863	14307317	814874116		
Σ			13523226340		

Presisi

Table 3. Hasil Presisi

No	**Luas Area**	**Konsentrasi (*x*)**	**$(x - \bar{x})^2$**	**SD**	**KV(%)**
1	10380306	505,34	0,0001		
2	10379061	505,28	0,0049		
3	10379048	505,28	0,0049		
4	10376471	505,15	0,04	0,231	0.045%
5	10389014	505,78	0,1849		
6	10383937	505,52	0,0289		
7	10375337	505,1	0,0625		
Σ			0,3213		
$\bar{x}$		505,35			

Akurasi

Tabel 4. Pengukuran Sampel dan Sampel Adisi Amoksisilin

Repl	Sampel		Sampel + Sampel Adisi					
	Conc. (ppm)	Area	Conc	Area	Conc	Area	Conc	Area
1	97,84	2159234	198,91	4198336	300,69	6250888	399,54	8245739
2	97,92	2160863	198,69	4193905	300,58	6249128	399,88	8252599
3	97,98	2162012	198,76	4195145	300,85	6252346	400,56	8266317
Rata 2	97,91		198,78		300,70		399,99	

Tabel 6. Hasil Akurasi

Penambahan Baku (%)	Konsentasi Sampel Adisi yang ditambahkan	Perolehan Kembali Amoksisilin (%)
100	103,41	98,58 - 98,78
	103,22	
	103,64	
200	198,06	101,44 – 101,61
	198,38	
	198,29	
300	300,65	100,26 – 100,46
	300,57	
	300,73	

Penetapan Kadar Amoksisilin

Tabel 5. Kadar Amoksisilin dalam Sediaan Injeksi Kering

Replikasi	Kadar Amoksisilin (%)
1	102,01
2	101,89
3	103,64
4	103,94

PEMBAHASAN

Penentuan Panjang gelombang maksimum amoksisilin dilakukan dengan dengan mengukur penyerapan panjang gelombang pada rentang 200-300 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, 2014). *Scanning* dilakukan dalam penelitian ini menghasilkan tinggi spektrum pada panjang gelombang amoksisilin 230 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 zat yang akan dianalisis.

Pembuatan kurva kalibrasi dibuat beberapa konsentrasi yang berbeda yaitu 100ppm; 200 ppm; 300 ppm; 400 ppm; 500 ppm; 600 ppm dan 700 ppm, yang menghasilkan persamaan untuk amoksisilin yaitu y = 20174,32x + 185292 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9999. Dari nilai koefisien korelasi yang didapat, dapat ditentukan bahwa metode ini dapat digunakan untuk analisis amoksisilin dalam sampel.

Validasi metode analisis yang dilakukan ini yakni validasi metode untuk analisis komponen utama dalam sediaan. Parameter yang diuji adalah linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi dan akurasi. Menilai linearitas selama validasi, minimal lima konsentrasi yang terdistribusi secara tepat di seluruh rentang direkomendasikan (ICH, 2023). Uji linieritas dilakukan dengan mengamati nilai koefisien korelasi (r) persamaan regresi linier kurva baku. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persamaan regresi linier untuk amoksisilin menghasilkan nilai r adalah 0,9999. Nilai r memenuhi persyaratan nilai koefisien korlerelasi (r) untuk seri 5 titik yakni lebih besar dari 0,99 (Miller & Miller, 2005). Hal ini menunjukkan kinerja metode mampu memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Harmita, 2004).

Batas deteksi (BD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Batas kuantitasi (BK) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). Semakin kecil nilai BD dan BK maka semakin sensitif suatu metode analisis tersebut (Gandjar dan Rohman, 2014). Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan deret baku dengan konsentrasi 100-700 ppm, diperoleh nilai Batas Deteksi (BD) sebesar 7,7335 ppm, sedangkan nilai Batas kuantitasi sebesar 25,7784 ppm. Nilai BD menunjukkan batas konsentrasi terendah analit yang masih dapat terdeteksi oleh metode analisis, sedangkan BK menunjukkan batas konsentrasi terendah analit yang dapat ditetapkan secara kuantitatif dengan tingkat ketelitian dan ketepatan yang dapat diterima. Nilai BD sebesar 7,7335 ppm menunjukkan bahwa metode analisis memiliki kemampuan untuk mendeteksi analit pada konsentrasi di atas nilai tersebut. Sementara itu, nilai BK sebesar 25,7784 ppm menunjukkan bahwa konsentrasi analit diatas nilai tersebut dapat dilakukan penetapan kadar secara kuantitatif.

Keseksamaan (Presisi) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Keterulangan (*Repeatability*) merupakan penilaian terhadap ketepatan pada kondisi percobaan yang sama (berulang) bail orang, peralatan, tempat maupun waktunya. Dua pilihan pengujian telah diizinkan ICH untuk menilai keterulangan yaitu : Suatu pengukuran sebanyak 9 kali (minimal) yang mencakup kisaran yang digunakan dalam prosedur analisis (misalkan dengan 3 kosentrasi yang berbeda pada kisaran kosentrasi dengan masing-masing dilakukan replikasi sebanyak 3 kali) atau Suatu pengukuran sebanyak 6 kali (minimal) pada kosentrasi 100% dari kosentrasi uji (ICH, 2023). Dari hasil pengujian, dihitung standar deviasi (simpangan baku /SD) dan relatif standar

deviasi (simapanga baku relatif / RSD) atau disebut koefisien variasi / keragaman (CV). Secara umum nilai RSD yang dapat diterima jika bahan baku obat : tidak lebih dari 1,0% (Meri Susanti & Dachriyanus, 2017). Hasil uji presisi amoksisilin pada konsentrasi 505 µg/mL dengan 7 replikasi memenuhi persyaratan <1% yaitu sebesar 0,045%

Kecermatan (akurasi) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analis dengan kadar analit yang sebenarnya. Uji akurasi dilakukan secara metode penambahan baku (standard addition method). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). (Harmita, 2004). Uji akurasi metode dilakukan dengan metode adisi standar (standard addition method) pada tiga tingkat konsentrasi, yaitu 100%, 200%, dan 300%. Larutan sampel amoksisilin dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL dalam labu ukur 100 mL dan dibuat sebanyak tiga replikasi. Selanjutnya, disiapkan larutan baku adisi amoksisilin dengan konsentrasi masing-masing 1000 µg/mL, 2000 µg/mL, dan 3000 µg/mL. Untuk tingkat konsentrasi 100%, dipipet 2 mL baku adisi amoksisilin 1000 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL ditambahakan larutan sampel amoksisilin 100 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL sampai tanda batas, campuran dihomogenkan, kemudian dilakukan pengukuran menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) sesuai kondisi analisis yang telah ditetapkan. Pada tingkat konsentrasi 200%, dipipet 2 mL baku adisi amoksisilin 2000 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL ditambahakan larutan sampel amoksisilin 100 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL sampai tanda batas. Campuran dihomogenkan dan selanjutnya dianalisis menggunakan KCKT. Pada tingkat konsentrasi 300%, dipipet 2 mL baku adisi amoksisilin 3000 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL ditambahakan larutan sampel amoksisilin 100 µg/mL kedalam labu ukur 20 mL sampai tanda batas. Campuran dihomogenkan dan dianalisis menggunakan KCKT dengan kondisi yang sama. Setiap tingkat konsentrasi dilakukan sebanyak tiga replikasi. Konsentrasi amoksisilin dalam larutan hasil penambahan dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva baku. Persentase perolehan kembali (% recovery) dihitung dengan membandingkan jumlah analit yang diperoleh dari hasil pengukuran terhadap jumlah analit teoritis yang ditambahkan. Hasil % recovery pada masing-masing tingkat konsentrasi digunakan sebagai parameter untuk menentukan akurasi metode analisis. Hasil uji pada Tabel 6 menunjukkan semua nilai perolehan kembali memenuhi persyaratan yakni 98-102% (Meri Susanti & Dachriyanus, 2017). Berdasarkan ketiga konsentrasi yang telah diperoleh bermakna bahwa metode mampu mengukur kadar senyawa secara tepat sesuai dengan kadar sebenarnya.

Penetapan kadar amoksisilin yang digunkan adalah injeksi kering generik produksi industri farmasi swasta yang beredar dipasaran. Penetapan kadar dimulai dengan cara ditimbang seksama serbuk injeksi kering amoksisilin setara dengan 50 mg amoksisilin, serbuk dimasukkan ke dalam labu takar 100,0 mL, dilarutkan dengan akuades hingga batas tanda. Larutan disaring melalui penyaring membran filter dan digunakan filtrat sebagai larutan uji, larutan dimasukkan kedalam vial dan dimasukan kedalam tempat sampel dalam KCKT dan dicatat luas puncaknya dan dihitung kadarnya. Penetapan kadar amoksisilin dilakukan dengan cara membandingkan luas puncak (y) pada sampel dengan luas puncak baku. Hasil penelitian diketahui bahwa kadar rata-rata sampel amoksisilin yaitu 102,87%

memenuhi syarat. Kadar dalam injeksi kering amoksisilin menurut *United States Pharmacopeia* mengandung tidak kurang dari 90 % dan tidak lebih dari 105 % dari jumlah berlabel amoksisilin (USP, 2021)

SIMPULAN

Hasil penelitian analisis kadar amoksisilin dalam sedian injeksi kering menggunakan KCKT dengan fase diam kolom C18 (bondapak), fase gerak yaitu Buffer natrium dihidrogen fosfat pH 4,4 dan metanol (93:7), menunjukan bahwa uji linieritas amoksisilin yaitu 0,9999; BD amoksisilin 7,73 μg/mL; BK 25,78 μg/mL; presisi amoksisilin diperoleh % RSD ≤ 1% yaitu 0,045%. Akurasi amoksisilin diperoleh 98,58 – 101,61%. Penetapan kadar rata-rata amoksisilin 102,87%. Kadar amoksisilin injeksi kering memenuhi syarat menurut *United States Pharmacopeia* yaitu memiliki persyaratan penetapan kadar yaitu mengandung tidak kurang dari 90 % dan tidak lebih dari 105 % dari jumlah berlabel amoksisilin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat mengapresiasi bantuan dan fasilitas yang diberikan Universitas Muhammadiyah Kudus selama proses penelitian. Ucapan terima kasih kepada STIE Mahardika Surabaya atas saran yang berharga dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2020). Farmakope Indonesia edisi VI. In *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.

Gandjar dan Rohman. (2014). Kimia Farmasi Analisis. *Yogyakarta: Pustaka Pelajar*.

Harmita, H. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, *1*(3). https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375

ICH. (2023). International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use ICH Guideline validation of analytical procedures Q2(R2). *ICH Harmonisation for Better Health*, *2*(December 2023).

McAlister, E., Kearney, M. C., Martin, E. L., & Donnelly, R. F. (2021). From the laboratory to the end-user: a primary packaging study for microneedle patches containing amoxicillin sodium. *Drug Delivery and Translational Research*, *11*(5). https://doi.org/10.1007/s13346-020-00883-5

Meri Susanti, & Dachriyanus. (2017). *KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas Lantai Dasar Gedung Perpustakaan Pusat Kampus Universitas Andalas.

Miller, J. N., & Miller, J. C. (2005). Chemometrics for Analytical Chemistry. In *Analytical Chemistry*.

Raposo, F., & Barceló, D. (2021). Challenges and strategies of matrix effects using chromatography-mass spectrometry: An overview from research versus regulatory viewpoints. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 134). https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116068

USP. (2021). USP 43-NF 38. In *United States Pharmacopeial Convention* (Number c).

Uwambajineza, T., & Bizimana, T. (2021). Development and Validation of a Simple HPLC-UV Method for Determination of Amoxicillin trihydrate in Bulk Drug and Pharmaceutical Dosage Forms. *Rwanda Journal of Medicine and Health Sciences*, *4*(1). https://doi.org/10.4314/rjmhs.v4i1.6