



Literature Review : Tinjauan Aplikasi HPLC (High Performance Liquid Chromatography) dalam Analisis Farmasi

Ermi Abriyani¹, Adiva Nafila Zulfa², Astriani Nurjanah³, Neni Nurlelah⁴, Risti Septanti⁵

^{1,2,3,4,5} Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan

Abstract

Received: 01 Juni 2024

Revised: 08 Juni 2024

Accepted: 15 Juni 2024

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is a liquid chromatography analysis method with a high level of sensitivity, resolution and speed. The aim of this study is to provide an overview of the application of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) in pharmaceutical analysis. The application of HPLC in the pharmaceutical sector includes analysis of raw materials, drug formulation, and quality control of finished products. The method used in this article review is to search for scientific articles from online databases such as Google Scholar, PubMed, and Science Direct. The study results show that HPLC has become an analytical method that is widely used in the pharmaceutical industry for the separation, identification and measurement of the concentration of pharmaceutical compounds with a high level of precision.

Keywords: HPLC, HPLC Applications, Pharmaceutical Analysis

(*) Corresponding Author: neninurlela447@gmail.com

How to Cite: Abriyani, E., Zulfa, A. N., Nurjanah, A., Nurlelah, N., & Septanti, R. (2024). Literature Review : Tinjauan Aplikasi HPLC (High Performance Liquid Chromatography) dalam Analisis Farmasi. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12704456>.

PENDAHULUAN

Pada tahun 1930, Tsweet pertama kali menemukan teknik analisis yang dinamakan kromatografi, dimana Tsweet telah berhasil memisahkan pigmen dari daun menggunakan kolom yang diisi dengan kapur (CaSO₄). Selain itu, Tsweet juga menciptakan istilah “Kromatografi” untuk menggambarkan area berwarna yang bergerak ke arah bawah kolom (Angraini & Desmaniar, 2020).

Farmakope Indonesia telah merekomendasikan metode analisis obat dengan didasarkan pada teknik kromatografi (CieleckaPiontek *et al.*, 2013). HPLC mewakili evolusi terbaru dari kromatografi cair kolom klasik dengan menggunakan kolom, detektor yang lebih sensitif dan responsif, serta kemajuan teknologi pada pompa bertekanan tinggi menjadikan HPLC sebagai metode dengan sistem pemisahan zat yang cepat dan efisien (Rosydiati, 2019).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan instrumen yang digunakan pada berbagai teknik analisis, termasuk analisis secara kualitatif, kuantitatif, isolasi, dan pemurnian. Prinsip dasar HPLC melibatkan proses adsorpsi yang dinamis, dimana molekul analit bergerak melalui celah berpori. Interaksi antara material kolom (fase diam) dengan komponen sampel mengakibatkan pemisahan. Durasi interaksi ini

yang dikenal sebagai waktu resistensi, dipengaruhi oleh kekuatan interaksi antara material kolom (fase diam) dan komponen sampel (Angraini & Desmaniar, 2020).

Penggunaan HPLC ini bertujuan untuk melakukan pemisahan molekul dalam waktu sesingkat mungkin. Pada umumnya, HPLC juga digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur jumlah senyawa dalam proses pengembangan obat-obatan (Chawla & Ranjan, 2016).

Prinsip kerja HPLC yaitu dengan memisahkan komponen analit berdasarkan tingkat polaritasnya. Pada tiap campuran yang keluar dideteksi oleh detektor dan dicatat dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak dalam kromatogram mengindikasikan jumlah komponen, sementara luas puncak mengindikasikan konsentrasi komponen dalam campuran (Kusuma & Ismanto, 2016).

Pada teknik HPLC dibagi menjadi fase normal (pelarut non-polar sebagai fase gerak), fase terbalik (pelarut polar sebagai fase gerak), dan penukar ion (gradien konsentrasi ion dalam fase gerak) (Sitorus *et al.*, 2015).

Analisis menggunakan HPLC mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya seperti waktu analisis yang relatif singkat, volume sampel yang minim, kemampuan untuk menganalisis senyawa organik dan anorganik, serta kemungkinan penggunaan kolom kembali. Suatu analisis dikatakan baik apabila memiliki waktu analisis yang cepat dan kemampuan pemisahan yang tinggi. Beberapa faktor yang memengaruhi hasil pemisahan yaitu seperti pengaturan komposisi fase gerak, laju alir serta pada keberadaan penambahan asam (Amin *et al.*, 2016).

Instrumen HPLC memiliki peran yang sangat vital dalam laboratorium kimia terutama dalam bidang kimia bahan alam. Hal ini dikarenakan instrumen HPLC dapat digunakan untuk mengukur kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak tumbuhan, baik dalam aspek kualitatif maupun kuantitatif. Selain itu, instrumen HPLC juga dapat dimanfaatkan untuk melakukan pemurnian atau pemisahan satu senyawa dari senyawa-senyawa lain. Sebelum diukur/dimurnikan menggunakan instrumen HPLC, perlu dilakukan persiapan ekstraksi sampel (pada bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, buah, biji, dan sebagainya) atau fraksinasi (Murningsih, 2000).

HPLC telah menjadi salah satu teknik yang sangat diunggulkan dalam analisis farmasi. Dalam konteks industri farmasi modern, teknik kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) menjadi metode pemisahan yang paling umum digunakan di berbagai tahap penelitian, pengembangan, dan produksi obat. Dalam Farmakope Indonesia edisi V, di mana HPLC diakui sebagai metode yang paling banyak diterapkan untuk menetapkan kadar suatu sediaan obat (Asmin *et al.*, 2015).

METODE

Data dan informasi yang digunakan pada literatur ini berasal dari jurnal-jurnal, baik nasional maupun internasional. Pencarian data dan informasi dilakukan menggunakan metode *literature research*. Penelusuran jurnal yang terakreditasi sebagai pustaka primer dicari dengan kata kunci “aplikasi HPLC dalam farmasi” dan “analisis farmasi dengan metode KCKT” dan “HPLC/KCKT” dengan jangka waktu publikasi jurnal antara tahun 2013-2023. Hasil penelusuran yang didapatkan disaring berdasarkan daftar pustaka yang relevan sehingga didapatkan 25 jurnal

yang akan di *review*, diantaranya 20 jurnal penelitian internasional dan 5 jurnal penelitian nasional sesuai rentang waktu penelitian yang ditetapkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jurnal - jurnal terpilih dikelompokkan data-datanya yang sesuai dengan hasil yang dinilai dapat menjawab tujuan dengan menggunakan metode naratif. Jurnal yang sudah sesuai dengan inklusi dikumpulkan menjadi satu dan diringkas meliputi pustaka (nama peneliti dan tahun terbit), judul, metode dan hasil penelitian sebagai berikut.

Tabel 1. Data Artikel Terpilih yang di *Review*

No	Pustaka	Judul Artikel	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Darmawati A., Febri A., Riesta P., & Isnaeni (2020)	Determination and stability testing method of chlorpheniramine maleate in the presence of tartrazine using HPLC	Metode HPLC yang telah tervalidasi untuk penentuan CPM pada tablet yang telah dipaksa terdegradasi dengan panas kering pada suhu 105°C, radiasi UV 254 nm, hidrolisis dengan NaOH 1N, HCl 1N, dan oksidasi dengan H ₂ O ₂ 5%.	Kromatogram HPLC menunjukkan bahwa CPM terpecah menjadi klorfeniramin (CP) dan asam maleat (MA). Resolusi (Rs) antara CP dan analit lainnya, terutama dengan produk yang dihasilkan dari degradasi paksa oleh panas, radiasi UV, HCl, dan H ₂ O ₂ , bagus.
2.	Shams G., Hassan F. I., Teh L. C., Abbas M. A., Fadzilah A. M., Mohamad R. S., Ramlan A. A. (2014).	Development of HPLC Fingerprint Analysis of Traditional Diabetes Herbal Jamu Diabetes Plant Materials	Pendeteksian menggunakan metode Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) telah dikembangkan untuk analisis sidik jari kromatografi ekstrak bahan tumbuhan dalam Jamu Diabetes (JD)	Data disajikan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan sederhana, sensitif dan spesifik untuk temuan simultan senyawa penanda bioaktif baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dan dimungkinkan menggunakan profil sidik jari ini untuk keperluan standarisasi ekstraksi atau obat herbal dari bahan tersebut.
3.	Sinurat, J. P., Krisdianilo, V., Malem, R., & Berutu, R. (2020)	Analysis of Total Terpenoids from Maniltoa Grandiflora (A. Gray) Scheff Leaves Using TLC and HPLC Methods	Analisis ditingkatkan dalam HPLC menggunakan asetonitril 100% dan 0,1% asam fosfat pada panjang gelombang 210 nm, laju alir 0,500 mL/menit dan dielusi selama 30 menit.	Berdasarkan hasil HPLC terdapat 25 puncak yang menunjukkan adanya total terpenoid. Senyawa dengan puncak tertinggi adalah puncak no. 8 (ret.time's 6.234, area's 8503532 dan height's 276032), puncak no. 9 (ret.time's 6.674, area's 3322572 dan height's 141859) dan puncak no. 10 (ret.time's 7.288, area's 2758231 dan height's 103927).

4.	Adilakshmi N. & Sreekanth N. D. S. (2020)	A Novel Rp – HPLC Methodology For Method Development And Validation Of Aceclofenac And Tizanidine Pharmaceutical Dosage Forms	Penelitian ini menggunakan metode Teknik LC yang sederhana dan selektif dipilih untuk penentuan Aceclofenac dan Tizanidine dalam bentuk pil dalam jumlah tidak terbatas. Pemisahan proses kromatografi dicapai pada kolom c18	Hasil data disimpulkan bahwa metode yang baru dikembangkan untuk estimasi simultan Aceclofenac dan Tizanidine adalah sederhana, tepat, akurat, dan resolusi yang lebih tinggi, waktu resistensi lebih pendek, serta hemat biaya.
5.	Anthony G.K., & Ramya S. S. (2014).	Development And Validation Of RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation Of Risperidone And Haloperidol In Tablet Dosage Forms	Penentuan dilakukan dengan menggunakan kolom XBridge C18 [4,6 x 150 mm] sebagai fase diam dan fase gerak yang terdiri dari Metanol: trietil amina Buffer (60:40) dan pH trietilamina diatur hingga pH2,5 menggunakan asam ortofosfat.	Hasil analisis dapat dikatakan bahwa metode yang diusulkan tepat, sensitif, dan akurat, sehingga dapat digunakan sebagai standar metode farmakope standar untuk penentuan Risperidone dan Haloperidol dalam tablet menggunakan sistem HPLC.
6.	Shakoor A., Mahmood A., Rabia I., Sajad H., Arifa T., Badrul M. J., & Ahmad A. (2020).	Stability-Indicating RP-HPLC Method For Simultaneous Determination of Metformin Hydrochloride and Vildagliptin in Tablet and Biological Samples	Penelitian ini menggunakan Metode kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik (RP-HPLC)	Hasil metode ini terbukti sederhana dan cepat untuk penentuan metformin hidroklorida dan vildagliptin dalam tablet yang tersedia secara komersial dan sampel biologis memberikan perolehan kembali berkisar antara 100,13-100,29%
7.	Bakshi P., Andrew K., William F., Ajay K. B. (2018).	Development And Validation Of An HPLC-UV Method For Analysis Of Methylphenidate Hydrochloride And Loxapine Succinate In An Activated Carbon Disposal System	Metode yang kuat dan tervalidasi untuk metilfenidat hidroklorida dan loksapin suksinat dikembangkan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dan efisiensi penonaktifan pembuangan.	Metode ini memberikan linearitas yang baik ($R^2 = 0,999$) pada kisaran 5-100 $\mu\text{g/mL}$ untuk metilfenidat hidroklorida dan 0,1-100 $\mu\text{g/ml}$ untuk loxapine suksinat. Metode pengujian berhasil diterapkan untuk mempelajari penonaktifan obat ini.
8.	Ravisankar P., & Devala R. G. (2013).	RP-HPLC Method For The Separation Of Paracetamol, Tizanidine, Aceclofenac,	Metode RP-HPLC dikembangkan dengan menggunakan Kolom Welchrom	Waktu retensi parasetamol, tizanidine, aceclofenac dan chlorzoxazone masing-masing adalah 3.200 menit, 3.593 menit, 7.717 menit

		Chlorzoxazone: Application To Tizanidine Determination In Tablet Dosage Form	C18 (4,6 mm id X 250 mm, ukuran partikel 5 µm),	dan 8.857 menit. Metode ini berhasil memisahkan semua obat yang disebutkan di atas dalam waktu kurang dari 10 menit. tizanidine ditemukan memberikan respons linier dalam kisaran konsentrasi 2-10µg/ml. Metode penambahan standar dan pemulihan rata-rata ditemukan 98,824 hingga 100,126 %. Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditemukan sebesar 0,1761µg/ml. dan 0,5336µg/ml.
9.	Astrid K. P., Sugijanto K., & Noor E. N. S. (2019).	Isolation Of Glucosamine HCl From Scylla Paramamosain And Determination By HPLC	Metode yang digunakan untuk menyiapkan glukosamin hidroklorida (Glu-HCl) dari limbah S. paramamosain dengan hidrolisis asam pada empat kelompok perlakuan dan kuantisasi dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).	Hasil rendemen 6,15 ± 0,62% dan analisis HPLC diperoleh kadar Glu-HCl sebesar 98,48 ± 0,74%. Glu-HCl yang dihasilkan dari Eksperimen 1 telah mendekati persyaratan USP 41, kecuali rotasi optik dan kadar abu
10.	Tabet A., Abbes B., & Yassine N. (2018).	Phenolic content, HPLC analysis and Antioxidant activity extract from Tamarix Articulata	Analisis HPLC digunakan untuk mengidentifikasi masing-masing polifenol, dan jumlahnya juga ditentukan.	Analisis HPLC menunjukkan hal itu setidaknya ada 8 senyawa fenolik yang luar biasa dari ekstrak daun, dan yang paling penting termasuk asam vanilat, naringin, dan asam caffeic.
11.	Imam M. S., Afnan S. B., Mohammed G., Ahmed H. A., Ahmed A. A., & Sherif R. (2023).	Adjusted green HPLC determination of nirmatrelovir and ritonavir in the new FDA approved co-packaged pharmaceutical dosage using supported computational calculations	metode HPLC ramah lingkungan menggunakan pengujian komputasi pra-eksperimen dari berbagai fase diam serta pemilihan fase gerak sesuai dengan prinsip kimia analitik ramah lingkungan.	Data hasil sistem kromatografi memungkinkan pemisahan awal yang lengkap dengan waktu retensi 4,9 menit untuk nirmatrelovir dan 6,8 menit untuk ritonavir. Metode tersebut berhasil menentukan nirmatrelovir dan ritonavir pada rentang konsentrasi 1,0-20,0 µg/mL dalam bentuk murni dan dalam bentuk sediaan farmasi

12.	Chen Q., Yuan Z., Maosheng L., Ping Z., Shangbin Z., Huilin L., & Jianping C. (2020).	HPLC-MS and Network Pharmacology Analysis to Reveal Quality Markers of Huo-Xue-Jiang-Tang Yin, a Chinese Herbal Medicine for Type 2 Diabetes Mellitus	Metode yang digunakan adalah HPLC-MS yang cepat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur komponen HXJTY.	Hasil menunjukkan total 22 komponen diidentifikasi dan diukur dari HXJTY oleh HPLC-MS.
13.	Zeliou K, Kontaxis N, I, Margianni E, Petrou C, Lamari F. N. (2017).	Optimized and Validated HPLC Analysis of St. John's Wort Extract and Final Products by Simultaneous Determination of Major Ingredients	Pemisahan HPLC dilakukan pada kolom C18 dengan kombinasi langkah gradien dan isokratik; fase gerak terdiri dari larutan amonium asetat (pH 4,5; 10 mM), asetonitril dan metanol.	Studi validasi mengungkapkan bahwa asam transklorogenat sebagian diubah menjadi isomer cisnya selama analisis. Metodenya menunjukkan linearitas, presisi dan akurasi yang baik.
14.	Sarfraz S., Muhammad S., Mohsin J., Nadia H., Shahid I. S., Amin, Ali B., Ahmed H. J., Randa A. A., Eman A., Abd-ElAziem F., Samar O. A., & Eslam B. E. (2023).	Validation of a Cost-Effective RP-HPLC Method for Quantitative Investigation of Daclatasvir Dihydrochloride in Pharmaceutical Formulations	Metode yang digunakan adalah teknik RP-HPLC	Senyawa antivirus daclatasvir dihydrochloride telah diuji dalam bentuk bahan obat dan produk obat (dosis tabel) menggunakan pendekatan RP-HPLC yang mudah, dapat diandalkan, terjangkau, dan cepat. Metode yang dikembangkan terbukti linier, selektif, tepat, akurat, kuat, dan dapat direproduksi, sesuai pedoman ICH.
15.	Chen F., Baoxia F., Peng L., & Sicen W. (2021).	A Fast and Validated HPLC Method for the Simultaneous Analysis of Five 5-HT ₃ Receptor Antagonists via the Quantitative Analysis of Multicomponents by a Single Marker	Metode yang digunakan yaitu kromatografi cair kinerja tinggi yang dikombinasikan dengan analisis kuantitatif dengan metode penanda tunggal dilakukan dengan ondansetron dan waktu retensi relatif dan kemiripan spektral ultraviolet sebagai indikator ganda.	Hasil yang dicapai menggunakan kolom C18 (150 mm × 4,6 mm, 5,0 µm), dan fase gerak terdiri dari asetonitril-0,05 mol L ⁻¹ kalium dihidrogen fosfat (pH 4,0) (25 : 75) pada laju aliran 1,0 mL·min ⁻¹ dan panjang gelombang deteksi 307 nm (ondansetron, azasetron, ramosetron), 302 nm (granisetron), dan 285 nm (tropisetron).
16.	Murthy T. G. K., & Geethanjali J. (2014).	Development of a Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of	Metode yang digunakan adalah RP-HPLC fase terbalik untuk analisis metformin	Waktu retensi Metformin dan Rosuvastatin masing-masing adalah 2,147 menit dan 3,80 menit. Metode ini linier dalam kisaran 5µg ml

		Metformin Hydrochloride and Rosuvastatin Calcium in Bulk and In-House Formulation	hidrkolorida dan rosuvastatin dalam bubuk curah dan Formulasi In-House pada Fenomena C18 (250× Kolom kromatografi 4,6 mm i.d)	hingga 30µg ml dan 0,4 µg mL "hingga 2,4µg mL masing-masing untuk Metformin dan Rosuvastatin.
17.	Zanwar A.S., Sen D. B., SEN A. K., SETH A. K. (2019).	Simultaneous Estimation Of Mometasone Furoate And Formoterol Fumarate By HPLC Method In Rotacaps	Metode RP-HPLC, pemisahan kromatografi dicapai dengan menggunakan campuran sistem pelarut yang terdiri dari metanol-air (pH 3.5) dengan perbandingan 85:15 % v/v pada laju aliran 1 ml/menit dan deteksi dilakukan pada 225 nm	Waktu berjalan untuk estimasi simultan obat untuk metode yang diusulkan adalah 10 menit karena obat dielusi pada 5,217 menit (MOM) dan 8,650 menit. menit (FOR). Linearitasnya ditemukan pada kisaran 33,33-299,97 µg/ml dan 1-9 µg/ml untuk MOM dan FOR. Nilai limit dari deteksi dan batas kuantifikasi adalah 3,634, 0,266 µg/ml dan 11,014, 0,807 µg/ml.
18.	Kumar P. R., & Kumar R. (2017).	A Validated Analytical Hplc Method For The Quantification Of Lincomycin Hydrochloride In Bulk And Solid Dosage Form	Metode RP-HPLC dilakukan dengan menggunakan kolom SIL RPC kemasan halus. Fase gerak (air metanol) dipompa pada laju aliran 1 ml/menit dengan perbandingan 90:10 v/v dan eluen dipantau pada 254 nm.	Waktu retensi obat adalah 3,73 menit dan dihasilkan pada respon linier pada rentang konsentrasi 5-25µg/ml. Presentase RSD ditemukan di bawah 2%. LOD dan LOQ masing-masing ditemukan sebesar 0,854µg/ml dan 0,258µg/ml.
19.	Panchale W. A., Rajnandini S., Minakshi S. R., Yuvraj L. P. (2019).	Chromatographic Analysis of Famotidine, Paracetamol and Ibuprofen from Tablet Formulation	Metode HPLC fase terbalik untuk estimasi simultan famotidine (FAM), parasetamol (PCT) dan ibuprofen (IBU) dalam formulasi obat dan tablet massal. Pemisahan itu dilakukan pada Nukleosil C-18 (15cm, 4,6 mm I.D × 250 mm) menggunakan fase gerak metanol dan air (asam fosfat, 0,05%) (83:17, v/v) pada laju aliran 0,7 ml/menit.	Waktu retensi FAM, PCT dan IBU ditemukan masing-masing 1,81, 2,58 dan 8,58 menit. Hubungan linier ditemukan pada kisaran konsentrasi 0,5-3 µg/ml untuk FAM (r2 = 0,999), 5-25 µg/ml untuk PCT (r2 = 0,999) dan 5-30 µg/ml untuk IBU (r2 = 0,999). Kemurnian % ditemukan menjadi 98,40±1,49, 99,86±0,27 dan 100,31±0,76, untuk FAM, PCT dan IBU, masing-masing.

20.	Sitorus, L., Pontoh, J., & Kamu, V. (2015).	Analisis Beberapa Asam Organik dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Grace Smart Rp 18 5 μ	Metode HPLC fase terbalik dengan kolom Grace Smart Rp 18 5 μ .	Hasil dari asam-asam organik yang terdeteksi menggunakan HPLC Cecil CE4201 dengan kolom Grace smart Rp 18 5 μ , terdapat beberapa puncak yang belum teridentifikasi apakah senyawa asam organik atau bukan sehingga metode ini masih perlu dioptimalkan.
21.	Mulidin, Asri Y. D. N., Nissa K. H., Lina N & Marsah R. U. (2023).	Analisis dan Validasi Obat Metformin Dalam Plasma Manusia Menggunakan Metode HPLC	Validasi metode analisis mencakup semua prosedur yang menunjukkan pengukuran kuantitatif analit dari matriks biologis seperti plasma.	Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan pengujian penetapan kadar metformin dalam plasma darah serta validitas, efisiensi dan estimasi waktu yang baik adalah RP-HPLC, dibandingkan bioanalisis yang menggunakan metode HPLC-UV dan UHPLC.
22.	Angraini N. & Desmaniar P. (2020)	Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan	Penelitian ini menggunakan metode HPLC fase terbalik. Metode ini diaplikasikan dengan kolom C18 ukuran 150 mmL x 46 mmL dan dideteksi pada λ 264 nm dengan fase gerak campuran asam asetat 0.1 % dan metanol 60 : 40.	Hasil penelitian menunjukkan kadar asam askorbat pada mangrove <i>Rhizophora apiculata</i> yang dianalisis dengan HPLC adalah 9.021 ppm.
23.	Rahmawati N. L., Akhmad A., & Abdul B. (2023).	Penetapan Kadar Parasetamol Pada Sediaan Sirup Obat Dengan Menggunakan Metode HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	Metode <i>High Performance Liquid Chromatograph</i> (HPLC) untuk menentukan kadar parasetamol pada sediaan obat sirup.	Dari hasil penelitian diperoleh rata-rata jumlah kadar zat aktif pada sirup parasetamol dengan jumlah 94,29%, bisa disimpulkan bahwa kadar tersebut memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia Edisi VI yang terdapat kadar parasetamol tidak kurang dari 90,00% dan tidak melebihi 110,0%
24.	Suhendi A., & Ramly E. A. (2021)	Validasi Metode Analisis Kapsul Rifampisin Dengan HPLC-PDA	Sistem kromatografi yaitu HPLC Alliance 2695, C18 (100 x 4,6 mm; 5 μ m), fase gerak sistem gradient berupa asetonitril dan akuades dengan laju	Hasil penetapan parameter validasi didapatkan bahwa metode akurat dengan %recovery $99,96 \pm 0,04\%$ dan RSD $0,64 \pm 0,30\%$. Parameter linieritas didapatkan koefisien korelasi 0,998, kerberulangan dan presisi

				alir 1,0 mL/menit dan dideteksi pada 254 nm.	antara didapatkan RSD masing-masing yaitu 1,51% dan 1,54%. Nilai LoQ didapatkan dari persamaan regresi linier residual yaitu 0,0164%.
25.	Yunianto P., Nurhadi N., & Agus S. (2017)	Isolasi, Metode Optimasi Proses Senyawa Eurycomanon dari Akar Tanaman Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i>)	Validasi dan Awal Ekstraksi Penanda	Penelitian ini menggunakan metode analisa disolasi lebih lanjut dengan HPLC semi preparatif	Metode analisa diperoleh dengan menggunakan HPLC dengan eluen bergradien (asetonitril : H ₂ O) pada detektor UV 254 nm dengan kolom RP C-18, 150 × 46 mm, 5 µm.

Artikel yang bersumber dari berbagai jurnal yang telah direview menunjukkan bahwa dengan perbedaan kriteria metode yang ditinjau, HPLC menjadi metode analisis yang sudah umum digunakan dalam identifikasi senyawa maupun dalam industri farmasi dengan aplikasi yang melibatkan analisis bahan baku, formulasi obat, dan pengendalian kualitas produk jadi.

HPLC juga digunakan dalam studi stabilitas obat, farmakokinetik, dan bioavailabilitas, memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan dan pemantauan obat. Secara keseluruhan, literatur review ini menggambarkan peran integral HPLC dalam mendukung keamanan dan kualitas produk farmasi, sambil terus mengejar peningkatan dalam aplikasi dan teknologinya.

Prinsip dasar HPLC melibatkan penyuntikan sampel ke dalam kolom yang berisi fase diam, diikuti oleh pemompaan fase gerak menuju kolom dengan tekanan tinggi. Pemisahan sampel terjadi melalui partisi antara fase gerak dan fase diam. Tujuan dari fase gerak adalah untuk mengelusi sampel sehingga mencapai detektor. Dalam HPLC fase terbalik, atau *Reversed Phase HPLC*, digunakan fase gerak yang bersifat nonpolar. Penggunaan nilai pKa dan pH pada analit dimaksudkan untuk menentukan dan memverifikasi waktu retensi serta profil puncak pada kromatogram. Modifikasi pH melalui penambahan dapar dan fase gerak dapat memengaruhi karakteristik bentuk puncak pada kromatogram.

Perkembangan HPLC berkembang sejalan dengan evolusi bahan pengemas, di mana prinsip dasarnya menunjukkan bahwa dengan mengurangi ukuran partikel pengemas kolom, efisiensi dan resolusi pemisahan dapat ditingkatkan. Ukuran partikel kurang dari 2,5 µm memberikan peningkatan efisiensi yang signifikan tanpa mengurangi kecepatan linier atau laju aliran, sesuai dengan persamaan Van Deemter yang sering digunakan. Penggunaan partikel yang lebih kecil memungkinkan ekspansi ke batas baru yang dikenal sebagai Kinerja Ultra.

Walaupun HPLC memiliki keunggulan berupa ketahanan, kemudahan penggunaan, selektivitas yang baik, dan sensitivitas yang dapat disesuaikan, namun keterbatasannya terletak pada efisiensi yang lebih rendah dibandingkan dengan kromatografi gas atau elektroforesis kapiler karena koefisien difusi yang rendah dalam fase cair.

Penelitian menunjukkan bahwa meningkatkan efisiensi dapat dilakukan dengan menggunakan partikel yang lebih kecil, namun konsekuensinya adalah peningkatan tekanan balik yang cepat. Oleh karena itu, dalam sistem HPLC, strategi yang digunakan adalah dengan menggunakan kolom yang lebih pendek yang diisi dengan partikel berukuran sekitar 2 μm . Pendekatan ini bertujuan untuk mempercepat proses analisis tanpa mengorbankan efisiensi, sekaligus menjaga agar beban yang dapat diterima tetap terjaga.

Dalam upaya memahami maksud dari metode analisis HPLC, penting untuk mempertimbangkan cara penerapannya dalam konteks analisis farmasi. Aplikasi ini melibatkan semua tahap dalam proses pengolahan obat, mulai dari penemuan zat obat awal hingga pembuatan formulasi produk yang nantinya akan diberikan kepada pasien. Dalam sebagian besar situasi, laporan menunjukkan bahwa penggunaan kondisi HPLC fase terbalik (RP) dan deteksi UV merupakan hal yang umum.

Beberapa penelitian mendukung pemilihan kondisi kromatografi yang optimal melalui penyelidikan ortogonalitas sistem kromatografi yang melibatkan variasi fase stasioner dan gerak, menggunakan berbagai pengubah organik, variasi pH, dan suhu kolom. Sebanyak 25 senyawa obat telah digunakan sebagai model dalam penelitian ini.

Penelitian juga menyoroti upaya untuk mengembangkan metode alternatif HPLC yang lebih efisien dan inovatif. Penggunaan kolom pendek dengan partikel berukuran lebih kecil menjadi salah satu strategi untuk meningkatkan efisiensi analisis.

Dengan tingginya tingkat sensitivitas dan selektivitas, HPLC yang dikombinasikan dengan spektrometri massa tandem, atau HPLC-MS/MS, telah menjadi metode utama dalam penelitian bioassay serta farmakokinetik dan metabolik. Perkembangan terbaru dalam bidang ini mencakup penggunaan kolom dengan partikel ultra-halus, memungkinkan pemanfaatan kolom pendek (5 cm atau kurang) dan analisis yang cepat, seperti UPLC (kromatografi cair kinerja ultra), yang dapat dilakukan dalam waktu singkat, misalnya, 5 menit atau bahkan kurang dari 1 menit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil review literatur yang melibatkan 25 artikel nasional maupun internasional, dapat disimpulkan bahwa aplikasi *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam analisis farmasi memainkan peran utama dalam identifikasi, kuantifikasi, dan pengendalian kualitas senyawa-senyawa farmasi. Kecepatan dan ketepatan analisis HPLC, bersama dengan perannya dalam pemantauan proses produksi dan studi stabilitas obat, membuatnya menjadi pilihan standar dalam industri farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adilakshmi N. & Sreekanth N. D. S. 2020. A Novel Rp-HPLC Methodology For Method Development And Validation Of Aceclofenac And Tizanidine Pharmaceutical Dosage Forms. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*. 8(4), 33-44.
- Amin, S., Amir, M., dan Slamet, I. 2016. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Analisis Senyawa Diuretik Yang Disalahgunakan Sebagai Doping Dalam Urin. *Jurnal Sains Keolahragaan & Kesehatan*. Volume I, No. 2.
- Angraini, N., & Desmaniar, P. (2020). Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 69.
- Anthony G.K., & Ramya S. S. 2014. Development And Validation Of RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation Of Risperidone And Haloperidol In Tablet Dosage Forms. *Int.J.Pharm Drug Anal*. 2(9), 666-671.
- Asmin S., Sri H. G., Wa O. H., Wa Y. P. S., Anna F. R. M., Arif M., Merlyn H. I. 2015. HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Kendari : Universitas Halu Oleo.
- Astrid K. P., Sugijanto K., & Noor E. N. S. 2019. Isolation Of Glucosamine Hcl From Scylla Paramamosain And Determination By HPLC. *Jurnal Teknologi*. 81(5), 1–8.
- Bakshi P., Andrew K., William F., Ajay K. B. 2018. Development And Validation Of An HPLC-UV Method For Analysis Of Methylphenidate Hydrochloride And Loxapine Succinate In An Activated Carbon Disposal System. *J-Pharm Anal*. 8(6):349-356.
- Chawla, G., & Ranjan, C. 2016. Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography. *Open Chemistry Journal*, 3(1), 1–16.
- Chen F., Baoxia F., Peng L., & Sicen W. 2021. A Fast and Validated HPLC Method for the Simultaneous Analysis of Five 5-HT₃ Receptor Antagonists via the Quantitative Analysis of Multicomponents by a Single Marker. *International Journal of Analytical Chemistry*, pp 9.
- Chen Q., Yuan Z., Maosheng L., Ping Z., Shangbin Z., Huilin L., & Jianping C. 2020. HPLC-MS and Network Pharmacology Analysis to Reveal Quality Markers of Huo-Xue-Jiang-Tang Yin, a Chinese Herbal Medicine for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Chemistry*, pp 12.
- Cielecka-Piontek, J., Zalewski, P., Jelińska, A., & Garbacki, P. 2013. UHPLC: the greening face of liquid chromatography. *Chromatographia*, 76(21-22) : 1429-1437.
- Darmawati A., Febri A., Riesta P., & Isnaeni. 2020. Determination And Stability Testing Method Of Chlorpheniramine Maleate In The Presence Of Tartrazine Using HPLC. *Pharmaciana*. 10 (3), 269-280.
- Imam M. S., Afnan S. B., Mohammed G., Ahmed H. A., Ahmed A. A., & Sherif R. 2023. Adjusted green HPLC determination of nirmatrelvir and ritonavir in the new FDA approved co packaged pharmaceutical dosage using supported computational calculations. *nature portofolio*. 13:137.

Kumar P. R., & Kumar R. R. 2017. A Validated Analytical Hplc Method For The Quantification Of Lincomycin Hydrochloride In Bulk And Solid Dosage Form. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 9(3), ISSN- 0975-7058.

Kusuma, A. S. W., & Ismanto, R. M. H. (2016). Penggunaan Instrumen High-Performance Liquid Chromatography Sebagai Metode Penentuan Kadar Kapsaisin Pada Bumbu Masak Kemasan “Bumbu Marinade Ayam Special” Merek Sasa. *Jurnal Farmaka*, 14(2), 41–46.

Mulidini, Asri Y. D. W., Nissa K. H., Lina N., Marsah R. U. 2023. Analisis dan Validasi Obat Metformin Dalam Plasma Manusia Menggunakan Metode HPLC. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*. 6(2), 741-749.

Murningsih, T., & Chairul. (2000). Mengenal HPLC: Peranannya Dalam Analisa Dan Proses Isolasi Bahan Kimia Alam. *Berita Biologi*, 5(2), 261–272.

Murthy T. G. K., & Geethanjali J. 2014. Development of a Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Metformin Hydrochloride and Rosuvastatin Calcium in Bulk and In-House Formulation. *J Chromatogr Sep Tech* 5: 252.

Panchale W. A., Rajnandini S., Minakshi S. R., Yuvraj L. P. 2019. Chromatographic Analysis of Famotidine, Paracetamol and Ibuprofen from Tablet Formulation. *J. Pharm. and Tech*. 12(1), 231-236.

Rahmawati N. L., Akhmad A., & Abdul B. 2023. Penetapan Kadar Parasetamol Pada Sediaan Sirup Obat Dengan Menggunakan Metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography). *Jurnal Farmasi, Kesehatan dan Farmasi (FASKES)*.1(1).

Ravisankar P., & Devala R. G. 2013. RP-HPLC Method For The Separation Of Paracetamol, Tizanidine, Aceclofenac, Chlorzoxazone: Application To Tizanidine Determination In Tablet Dosage Form. *International Research Journal Of Pharmacy*. 4(6), 156-163.

Rosydiati. 2019. Karakterisasi puncak kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis Indole Acetic Acid (IAA). *Kandaga*, 1(2), 65–73.

Sarfraz S., Muhammad S., Mohsin J., Nadia H., Shahid I. S., Amin, Ali B., Ahmed H. J., Randa A. A., Eman A., Abd-ElAzim F., Samar O. A., & Eslam B. E. 2023. Validation of a Cost-Effective RP-HPLC Method for Quantitative Investigation of Daclatasvir Dihydrochloride in Pharmaceutical Formulations. *Journal of Chemistry*, pp 9.

Shakoor A., Mahmood A., Rabia I., Sajad H., Arifa T., Badrul M. J., & Ahmad A. 2020. Stability-Indicating RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Metformin Hydrochloride and Vildagliptin in Tablet and Biological Samples. *Acta Chromatographica* 32(1), 39–43.

Shams G., Hassan F. I., Teh L. C., Abbas M. A., Fadzilah A. A. M., Mohamad R. S., Ramlan A. A. 2014. Development of HPLC Fingerprint Analysis of Traditional Diabetes Herbal Jamu Diabetes Plant Materials. *Jurnal Teknologi*. 68(1), 83–88

Sinurat, J. P., Krisdianilo, V., Malem, R., & Berutu, R. (2020). Analysis of Total Terpenoids from *Maniltoa Grandiflora* (A . Gray) Scheff Leaves Using TLC and HPLC Methods. *Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 2(2), 40–44.

Sitorus, L., Pontoh, J., & Kamu, V. (2015). Analisis Beberapa Asam Organik dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Grace Smart Rp 18 5 μ . *Jurnal MIPA*, 4(2), 148.

Suhendi A., & Ramly E. A. 2021. Validasi Metode Analisis Kapsul Rifampisin Dengan HPLC-PDA. *Farmasains*. 8(1), 31-36.

Tabet A., Abbes B., & Yassine N. 2018. Phenolic content, HPLC analysis and Antioxidant activity extract from *Tamarix Articulata*. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*.8(4):1-8.

Yunianto P., Nurhadi N., & Agus S. 2017. Isolasi, Validasi Metode dan Optimasi Awal Proses Ekstraksi Senyawa Penanda Eurycomanon dari Akar Tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*). *Chimica et Natura Acta*. 5(2).

Zanwar A.S., Sen D. B., SEN A. K., SETH A. K. 2019. Simultaneous Estimation Of Mometasone Furoate And Formoterol Fumarate By HPLC Method In Rotacaps. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 11(2), 12-16.

Zeliou K, Kontaxis NI, Margianni E, Petrou C, Lamari FN. 2017. Optimized and Validated HPLC Analysis of St. John's Wort Extract and Final Products by Simultaneous Determination of Major Ingredients. *J Chromatogr Sci*. 55(8):805-812.