

Analisis Perbandingan HPLC dan Teknik Lain untuk Deteksi Antibiotik

¹ Putri Eka Diah Lestari, ² Aulia Khajar Raudhatul Jannah, ³ Hasna' Khoirotnun Hisan, ⁴ Maoliani Nurul Fitri, ⁵ Nessa Aulia Azharani,

¹⁻⁵ Departement of Pharmacy, Universitas Negeri Semarang

Korespondensi penulis: nessaazharani02@gmail.com

Abstract. Antibiotics are a therapy used in bacterial infections. The β -lactam group, such as penicillin, amoxicillin and cephalosporin are first generation antibiotics that can be used in treating bacterial infections. Antibiotics can be analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Ultra high performance liquid chromatography (UHPLC) and high pressure liquid chromatography (HPLC) are important analytical techniques in molecular separation. UHPLC is specifically designed for higher pressures during chromatographic analysis with short columns and small particle sizes, while HPLC aims to separate molecules in minimum time. Nonetheless, method transfer and revalidation between UHPLC and HPLC is quite easy and can save time. The use of these liquid chromatography techniques allows for more efficient and time-saving analysis. In performing routine HPLC analysis, it is important to consider speed, sensitivity, resolution, cost of analysis, and column maintenance. Therefore, modern developments in liquid chromatography are applied to save time and solvent consumption. Since 2004, UHPLC has repeatedly demonstrated significant advantages over HPLC-based methods. Parameters used in method data validation include precision, accuracy, coefficient of variation, limit of detection (LOD), and limit of quantity (LOQ).

Keywords: Antibiotics; Analytes; HPLC; UHPLC; Parameters.

Abstrak. Antibiotik merupakan terapi yang digunakan pada infeksi bakteri. Golongan β -laktam, seperti penicillin, amoxicillin dan cephalosporin merupakan antibiotik generasi pertama yang dapat digunakan dalam mengatasi infeksi bakteri. Antibiotik dapat dianalisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Kromatografi cair kinerja ultra tinggi (UHPLC) dan kromatografi cair bertekanan tinggi (HPLC) merupakan teknik analisis yang penting dalam pemisahan molekul. UHPLC dirancang khusus untuk tekanan lebih tinggi selama analisis kromatografi dengan kolom pendek dan ukuran partikel kecil, sementara HPLC bertujuan memisahkan molekul dalam waktu minimum. Meskipun demikian, transfer metode dan validasi ulang antara UHPLC dan HPLC cukup mudah dan dapat menghemat waktu. Penggunaan teknik kromatografi cair ini memungkinkan analisis yang lebih efisien dan hemat waktu. Dalam melakukan analisis rutin HPLC, penting untuk mempertimbangkan kecepatan, sensitivitas, resolusi, biaya analisis, dan pemeliharaan kolom. Oleh karena itu, perkembangan modern dalam kromatografi cair diterapkan untuk menghemat waktu dan konsumsi pelarut. Sejak tahun 2004, UHPLC telah berulang kali menunjukkan keunggulan signifikan dibandingkan metode berbasis HPLC. Parameter yang digunakan dalam validasi data metode meliputi presisi, akurasi, koefisien variasi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantitas (LOQ).

Kata kunci: Antibiotik, Analit, HPLC, UHPLC, Parameter.

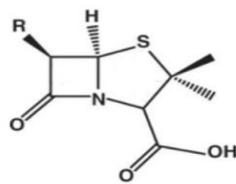
LATAR BELAKANG

Antibiotik merupakan terapi yang digunakan pada infeksi bakteri. Golongan β -laktam, seperti penicillin, amoxicillin dan cephalosporin generasi pertama yaitu antibiotik yang dapat digunakan dalam mengatasi infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes*. Makrolid generasi baru dapat dipakai jika alergi penicillin sebagai alternatif [1]. Terapi yang dapat digunakan pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah penicillin, gentamicin, meropenem, imipenem, atau doripenem, aztreonam, polymixin E, dan ciprofloxacin [2]. Selanjutnya antibiotik golongan β -laktam yaitu karbapenem yang merupakan turunan semi-sintetis yang diproduksi oleh *Streptomyces* sp. atau *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi plasma yang tinggi didistribusikan secara luas dan dicapai secara cepat. Glikopeptida dapat membunuh bakteri

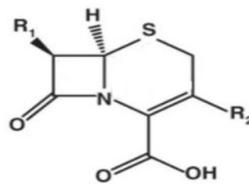
Received November 18, 2023; Accepted Desember 21, 2023; Published April 30, 2024

* Putri Eka Diah Lestari, nessaazharani02@gmail.com

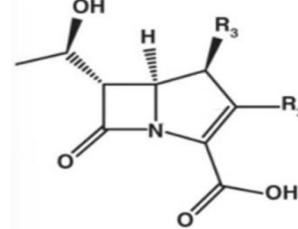
dikenal dengan telavancin dan vancomisin dengan mencegah sintesis dinding sel. Glikopeptida mengikat peptida rantai samping dari subunit peptidoglikan prekursor ke D-alanyl-D-alanine. Aminoglikosida merupakan molekul positif yang cukup besar, walaupun sepertiga ukuran vankomisin. Ukurannya dapat melewati membran luar bakteri oleh karena itu mempunyai aktivitas yang sangat baik terhadap bakteri gram negatif aerobik. Aminoglikosida dapat mengikat membran luar yang bermuatan negatif hingga terbentuk lubang serta penetrasi membran sitoplasma bakteri ke ribosom karena sifatnya yang bermuatan negatif. Antibiotik yang terdiri dari inti siklik besar biasa disebut cincin lakton makrosiklik atau makrolid. Makrolid menghalangi keluarnya peptida yang baru disintesis disebabkan ikatan ke subunit 50S yang erat dari ribosom bakteri [3]. Kuinolon merupakan antibiotik sintetik yang memiliki spektrum luas digunakan dalam pengobatan ternak dan budidaya perairan. Selain itu, kuinolon juga tidak diproduksi oleh mikroorganisme serta kelompok agen kemoterapi. Terakhir yaitu antibiotik tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas, sejenis polisiklik naftalena karboksamida digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme gram positif dan gram negatif. Termasuk turunan semisintetik yang diisolasi dari *Streptomyces aureofaciens* yaitu klortetrasiklin [4]



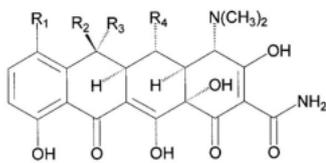
Penicillins



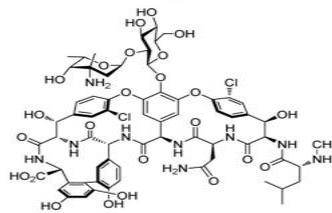
Cephalosporins



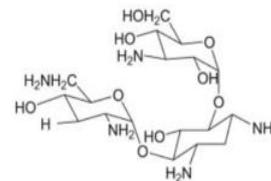
Carbapenem antibiotics



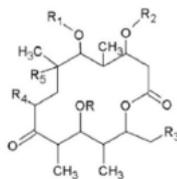
Tetracyclines



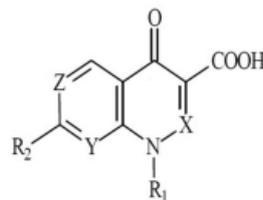
Vancomycin (a glycopeptide antibiotic)



Tobramycin (an aminoglycoside antibiotic)



Macrolides



Quinolones

Seiring perjalanan waktu, terdapat banyak antibiotik yang mengalami resistensi yang diikuti dengan evolusi bakteri [5]. Penggunaan antibiotik berlebihan merupakan salah satu faktor yang mendukung resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik adalah suatu bentuk resistensi bakteri terhadap antibiotik yang didasari oleh mutasi bakteri karena pemberantasan bakteri yang tidak sempurna. Resistensi antibiotik menjadi perhatian dunia karena bisa memicu kemanjuran pengobatan yang berkurang, angka kematian meningkat, serta meningkatkan biaya perawatan kesehatan [6].

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan instrumen yang digunakan untuk teknik analisis kualitatif, kuantitatif, pemisahan/isolasi, dan pemurnian. HPLC menggunakan dua fase kerja: fase gerak dan fase diam. Fase gerak adalah cairan atau pelarut yang mengangkut komponen campuran ke detektor, dan fase diam adalah fase padat di dalam kolom, berupa partikel dengan pori-pori kecil dan luas permukaan tinggi [7].

Prinsip kerja HPLC yaitu dengan memisahkan analit berdasarkan polaritasnya. Setiap komponen senyawa yang muncul dideteksi oleh detektor dan dicatat dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak menyatakan jumlah komponen, dan luas puncak menyatakan konsentrasi komponen dalam senyawa [8].

Tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya disebut sebagai validasi metode analisis. Ada beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya. Adapun parameter parameter tersebut antara lain berupa kecermatan (akurasi), keseksamaan (presisi), selektivitas, linearitas dan rentang, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ), ketangguhan metode, kekuatan metode [9].

Tujuan dari penelitian adalah melakukan penetapan kadar dan validasi metode dengan HPLC sebagai metode awal untuk identifikasi dan penetapan kadar secara kuantitatif dalam antibiotik.

KAJIAN TEORITIS

Sebagian besar metode analisis obat didasarkan pada teknik kromatografi, salah satunya yaitu HPLC. HPLC merupakan teknik kromatografi cair yang kerap kali digunakan untuk pemisahan komponen campuran. Saat ini, terdapat instrumen kembangan dari HPLC, yaitu UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) yang memiliki analisis efisiensi yang tinggi. UHPLC menggunakan partikel yang lebih kecil dari HPLC [31].

Analisis ini diperlukan untuk menentukan fase gerak, fase diam, fase gerak, serta detektor yang sesuai. Dalam kajian ini juga terdapat analisis perbedaan HPLC dan UHPLC mengenai kecepatan analisis, resolusi, dan sensitivitas. Hasil kajian ini diharapkan dapat menjadi pedoman untuk memilih metode analisis yang paling tepat sesuai dengan kebutuhan dalam analisis deteksi antibiotik.

METODE PENELITIAN

Penyusunan artikel review ini dilakukan dengan mencari artikel dan dan jurnal yang berkaitan dengan analisis antibiotik menggunakan HPLC. Sumber literatur dalam artikel ini dicari melalui database PubMed NCBI, Google Scholar, dan ScienceDirect dengan menggunakan kata kunci “analisis antibiotik”. Jurnal penelitian yang digunakan dalam tinjauan literatur ini diterbitkan antara tahun 2013 hingga 2023. Kajian literatur ini menggunakan 31 artikel dari jurnal nasional dan internasional yang telah dipublikasikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Data Analisis HPLC pada Antibiotik

Zat yang dianalisis	Kondisi pemisahan	Kondisi deteksi	Data Validasi
Beta lactam [10] Penicillin	C18-Fase gerak: air, metanol, dan asetonitril	UV dengan panjang gelombang 500 nm	RSD (%) 75%; CV (%) <20% dan LOQ dan LOD beberapa puluh ng/L, dengan demikian, jumlah jejak antibiotik dapat dideteksi menggunakan teknik analisis ini.
Sefalosporin	C18-Fase gerak : air, metanol, dan asetonitril	UV dengan panjang gelombang 195 nm	RSD (%) 80% ;. CV (%) 20% LOQ dan LOD yang dilaporkan adalah puluhan ng/mL; karenanya, menunjukkan hasil yang dapat diterima untuk jumlah kecil dalam sampel biologis atau antibiotik yang diresepkan
Karbapenem	C18-MeOH	UV dengan panjang gelombang 300 nm	RSD (%) >90% ;CV (%)< 15% LOD dan LOQ <10µL ; oleh karena itu, ini merupakan metode analisis yang memadai untuk menentukan jejak sefalosporin

Glikopeptida [11]	C18-fase gerak polar yang mengandung air dan pelarut organik polar, seperti asetonitril, metanol atau campuran keduanya	sebagian besar dengan MS atau deteksi fluoresensi, dilengkapi dengan detektor susunan dioda, pada panjang gelombang di bawah 400 nm, detektor hamburan cahaya evaporatif atau spektrometri massa dalam mode ESI	RSD(%) berada pada kisaran 70–110%; CV <15%; LOD dan LOQ menunjukkan mikrogram/mL; karenanya, menjelaskan metode yang memadai untuk menentukan glikopeptida dalam sampel biologis dan produk makanan.
Aminoglikosida [12]	C18-fase gerak campuran asetonitril, air, dan asam asetat	UV dengan panjang gelombang	CV <15%; Recovery (%) 72% pada angka determinasi 7
Makrolida [13]	C18-Asetonitril sebagai pengganti MeOH	UV dengan panjang gelombang di bawah 285 nm	RSD<20%, CV<10%. LOD dan LOQ yang dilaporkan berada dalam kisaran mikrog/mL atau ng/mL; karenanya, metode analisis optimal dalam literatur dijelaskan untuk sampel biologis.
Kuinolon [14], [15]	C18-asetonitril atau metanol	UV dengan panjang gelombang 400 nm	RSD <20%, dengan asumsi bahwa metode tersebut telah divalidasi untuk menentukan kuinolon, serta pemulihan literatur telah selesai >60%. Selain itu, LOD dan LOQ menunjukkan urutan ng/mL, yang menjelaskan metode analisis optimal untuk menganalisis dan memisahkan antibiotik jenis ini
Tetrasiklin [16]	C18-asetonitril, MeOH dan asam format	UV-Vis dengan panjang gelombang ,400 nm	RSD<20% dan CV >65% dengan asumsi bahwa metode tersebut merupakan metode analisis yang tepat untuk diandalkan dalam menentukan tetrasiklin. LOD dan LOQ umumnya dalam urutan ng/L; oleh karena itu, ini berarti penentuan puncak kromatografi analit kita sudah benar.

1. Beta Lactam

a) Penicilin

Metode yang digunakan adalah dengan Ultra-performance LC (UHPLC) yang membutuhkan waktu 3-5 menit [17]. Diperlukan penggunaan kolom C18 karena interaksi dengan matriks hidrofobik berdasarkan polaritas molekul, menggunakan fase gerak organik terutama yang mengandung asetonitril atau metanol. Di beberapa sumber digunakan kolom HILIC atau C8. Penggunaan kolom ini digunakan saat dibutuhkan waktu retensi yang pendek, kolom HILIC memiliki retensi yang kuat dan isomer yang selektif, serta menunjukkan sifat pertukaran ion yang rendah [18]. Struktur kimia penicillin tidak memiliki gugus kromofor atau luminofor yang kuat, maka dari itu metode LC biasanya melibatkan MS [19], [20]. Absorbansi panjang gelombang lebih rendah atau mendekati 250 nm. Detektor sebagian besar dilengkapi dengan detector array dioda untuk memilih panjang gelombang terbaik untuk analisis [21]. Dapat dilakukan evaluasi persen recovery yang dapat diterima jika lebih dari 75%, sedangkan ketepatan metode dapat diterima jika koefisien variasi < 20% [10].

b) Sefalosporin

Pada pemisahan sefalosporin digunakan kromatografi terbalik (reverse chromatography) dengan fase diam C8 [20] atau C18. Dalam kisaran pH 3-8, retensi kromatografi akan sangat bergantung pada kapasitas disosiasi gugus karboksilat yang sebagian terionisasi [22]. Absorbansi UV dapat digunakan untuk kuantifikasi sefalosporin. Sebagian besar pelarut yang digunakan pada HPLC memiliki rentang di UV-Visibel. Hal tersebut membuat kompatibel dengan detektor UV bahkan pada panjang gelombang yang pendek.

c) Karbapenem

Karbapenem memiliki struktur yang mirip dengan penicillin. Yang membedakan keduanya adalah cincin dengan atom karbon di posisi 1 yang biasanya dimiliki oleh penicillin dan sefalosporin. Pada identifikasi karbapenem digunakan kromatografi cair fase terbalik dengan kolom C18 dan fase gerak metanol. Selain itu, deteksi UV dilakukan pada 300 nm. Karbapenem tidak memiliki gugus kromofor dan luminofor.

d) Glikopeptida

Selektivitas yang sangat baik dapat diperoleh untuk senyawa hidrofilik polar seperti glikopeptida menggunakan HILIC. Adanya kandungan pelarut organik yang tinggi dalam fase gerak menyebabkan penguapan yang cepat selama electrospray ionization (ESI) [11]. Kolom yang digunakan adalah C18 dengan fase gerak polar yang mengandung air dan pelarut organik polar, seperti asetonitril [23], metanol [24], ataupun campuran keduanya [25]. Prosedur analisis menunjukkan bahwa CV berada di bawah 15%. Menurut perbandingan RSD (%) dan presisi pada literatur, metode ini dapat diandalkan untuk menganalisis glikopeptida.

e) Aminoglikosida

Antibiotik aminoglikosida bersifat sangat polar dan berbentuk polionik dalam air. Maka dari itu, aminoglikosida tidak dapat digunakan kolom C18 sebagai fase diam karena sifat hidrofilik. Untuk memisahkan senyawa hidrofilik digunakan ion-pair chromatography (IPC) atau Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) [26]. Metode analisis utama yang digunakan pada analisis aminoglikosida adalah kolom C18 dengan suhu 20-30°C dengan detektor ESI serta pada panjang gelombang dibawah 400 nm [27]. Pada analisis diperoleh nilai RSD <15% dan CV <20% yang mana telah dinyatakan tepat dan akurat.

f) Makrolida

Teknik yang sering digunakan untuk penilaian kemurnian makrolida adalah kromatografi cair dengan deteksi UV dan panjang gelombang dibawah 285 nm serta kolom C18 [13], [15]. Bentuk puncak sangat meningkat ketika asetonitril digunakan sebagai pengganti metanol. Pada bagian pemisahan ini dihasilkan running time dibawah 10 menit [15]. Analisis metode yang digunakan telah memadahi untuk penentuan senyawa ini. Diperoleh RSD <20%, CV <10%.

g) Kuinolon

Teknik yang paling umum digunakan untuk menentukan kuinolon adalah kromatografi cair dengan deteksi UV karena gugus kromofor yang dimilikinya [28]. Panjang gelombang yang dipilih umumnya dibawah 400 nm. Kondisi kromatografi untuk resolusi kuinolon adalah hidro organik-RP-HPLC yang menggunakan kolom C18 atau C8. Fase gerak yang digunakan mengandung asetonitril atau metanol. Diperoleh RSD <20% dengan pemulihan >60%. Dapat disimpulkan metode analitik yang digunakan telah optimal untuk menganalisis kuinolon.

h) Tetrasiklin

Digunakan C18 sebagai kolom dengan detektor UV-Vis yang panjang gelombangnya tidak lebih dari 400 nm. Fase gerak yang umum digunakan ialah asetonitril, MeOH, dan asam format dengan laju alir 1 mL/menit. Dengan hasil CV >65% dan RSD <20%, dapat diasumsikan bahwa metode analisis telah tepat [29].

Pada umumnya metode analisis HPLC yang digunakan sebagai penentuan antibiotik menggunakan kolom RP-C18 untuk memisahkan analit, kecuali pada glikopeptida yang umumnya menggunakan kolom HILIC. HILIC menggunakan fase diam hidrofilik dengan silika sederhana atau yang terkait dengan diol (anionik), aminoferol (kationik), dan amida atau zwitterion (netral), dengan tipe fase terbalik eluen seperti asetonitril dan air. Amonium asetat dapat ditambahkan ke fase gerak untuk menyesuaikan pH dan kekuatan ionic fase gerak [11]. Saat fase gerak dengan tinggi proporsi air mengalir melalui kolom HILIC, akan menghasilkan lapisan tipis di sekitar fase diam hidrofilik. Proporsi non polar pelarut dalam fase gerak secara bertahap meningkat dan analit terlepas secara berurutan dari lapisan air, tergantung pada hidrofilisitasnya.

Tujuan penggunaan HPLC adalah memisahkan molekul dalam waktu minimum. Metode umum yang tersedia untuk mempersingkat proses analitik adalah memperpendek panjang kolom, meningkatkan kecepatan aliran, mengurangi ukuran partikel, dan meningkatkan suhu. Perkembangan modern menghasilkan Sistem kromatografi cair kinerja ultra tinggi (UHPLC) yang dirancang khusus untuk tekanan lebih tinggi selama analisis kromatografi dengan kolom pendek dan ukuran partikel kecil. Karena prinsip kromatografi dan mekanisme deteksi pada UHPLC dan HPLC sama, transfer metode dan validasi ulang cukup mudah dan terutama menghemat waktu, karena waktu proses pada UHPLC adalah 15 menit [30].

Tabel 2. Perbedaan HPLC dan UHPLC [31]

Jenis	Ukuran partikel	Pompa	Dimensi kolom	Tekanan balik	Laju alir	Parameter pendeteksian
HPLC	3-5 μ L	400 bars	Diameter 4,6 mm dan panjang 250 mm	30 MPa	1-2 ml/menit	Puncak sempit dihasilkan dengan UHPLC, memerlukan detektor yang dapat mengimbangi dan menyediakan jumlah titik data per puncak yang diperlukan untuk pendeteksian. Namun, sebagian besar detektor modern mampu mendeteksi kecepatan hingga 250 Hz, yang
UHPLC	<2,0 μ L	1000 bars	Diameter 2,1 mm dan panjang 100 mm	90 MPa	0,2-0,7 ml/menit	

						cukup untuk HPLC dan UHPLC
--	--	--	--	--	--	----------------------------

Dalam melakukan analisis rutin HPLC, penting untuk tidak hanya mempertimbangkan kecepatan, sensitivitas, dan resolusi tetapi juga biaya analisis dan pemeliharaan kolom. Dalam fase gerak yang sesuai, diperlukan pencucian sistem secara hati-hati dan laju aliran yang memadai. Awalnya, proses analitis memakan waktu sekitar 40 menit dengan tekanan balik sekitar 400 bar. Itu merupakan waktu yang cukup lama untuk serangkaian analisis rutin di laboratorium farmasi dan forensik. Oleh karena itu, perkembangan modern dalam kromatografi cair (LC) diterapkan untuk menghemat waktu dan konsumsi pelarut. Karena fungsi UHPLC sesuai dengan prinsip kromatografi dan mekanisme pemisahan HPLC, transfer metode dan validasi ulang menjadi cukup mudah dan terutama menghemat waktu. Sejak tahun 2004, Ultra High Performance LC (UHPLC) telah berulang kali menunjukkan keunggulan signifikan dibandingkan metode berbasis HPLC. Dalam UHPLC, sistem bertekanan sangat tinggi memungkinkan penggunaan kolom dengan partikel kecil dan diameter kecil, yang berdampak positif pada efisiensi dan waktu analisis. Hasil penyelidikan kami menunjukkan bahwa waktu pengoperasian pada UHPLC jauh lebih singkat dibandingkan HPLC rutin (15 menit vs 40 menit). Meskipun instrumen UHPLC lebih mahal dibandingkan HPLC, karena laju analisis yang lebih cepat, konsumsi pelarut yang lebih rendah (sekitar setengahnya), dan waktu pengoperasian yang lebih singkat, biaya analisis dalam UHPLC lebih rendah dibandingkan HPLC. UHPLC/MS lebih sensitif dibandingkan yang lain namun biayanya jauh lebih tinggi dibandingkan 2 teknik lainnya. Dalam metode HPLC rutin, peningkatan kecepatan operasi dan efisiensi dapat diperoleh dengan mengurangi ukuran pengepakan fase diam [30]. UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) umumnya dianggap lebih baik daripada HPLC (High Performance Liquid Chromatography). UHPLC memiliki kecepatan analisis yang lebih tinggi, resolusi yang lebih baik, dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan HPLC. Namun, pemilihan antara keduanya tergantung pada kebutuhan analisis spesifik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan Antibiotik dapat dianalisis menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Adapun antibiotik yang dianalisis meliputi golongan beta-laktam (meliputi Penicillin, Sefalosporin, Karbapenem), Glikopeptida, Aminoglikosida, Makrolida, Kuinolon, dan Tetrasiklin. umumnya metode analisis yang digunakan sebagai penentuan antibiotik menggunakan kolom RP-C18 seperti tetrasiklin, sefalosporin, beta-lactam, kuinolon. Sedangkan untuk

aminoglikosida dan glikopeptida digunakan Ion-Pair Chromatography (IPC) atau Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC). Parameter yang digunakan dalam validasi data metode meliputi presisi, akurasi, koefisien variasi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantitas (LOQ).

Perkembangan modern dalam kromatografi cair diterapkan untuk menghemat waktu dan konsumsi pelarut, contohnya UHPLC. Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) memiliki keunggulan dibandingkan dengan High Performance Liquid Chromatography (HPLC). UHPLC dirancang khusus untuk tekanan lebih tinggi selama analisis kromatografi dengan kolom pendek dan ukuran partikel kecil. Meskipun prinsip kromatografi dan mekanisme deteksi pada UHPLC dan HPLC sama, UHPLC memberikan kecepatan analitis yang lebih cepat, resolusi yang lebih tinggi, dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan HPLC. Selain itu, transfer metode dan validasi ulang pada UHPLC lebih mudah dan menghemat waktu. Oleh karena itu, dalam konteks kecepatan, resolusi, dan sensitivitas, UHPLC dianggap lebih unggul daripada HPLC.

DAFTAR REFERENSI

- S. Kim, "Optimal diagnosis and treatment of group a streptococcal pharyngitis," *Infect. Chemother.*, vol. 47, no. 3, pp. 202–204, 2015, doi: 10.3947/ic.2015.47.3.202.
- L. S. P. Moore, J. Cunningham, and H. Donaldson, "A clinical approach to managing pseudomonas aeruginosa infections," *Br. J. Hosp. Med.*, vol. 77, no. 4, pp. C50–C54, 2016, doi: 10.12968/hmed.2016.77.4.C50.
- D. Anggita, S. Nuraisyah, and E. P. Wiriansya, "Mekanisme Kerja Antibiotik," *UMI Med. J.*, vol. 7, no. 1, pp. 46–58, 2022.
- J. Peris-Vicente *et al.*, "Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples," *Microchem. J.*, vol. 177, 2022, doi: 10.1016/j.microc.2022.107309.
- N. H. Savitri, D. N. Indiastuti, and M. R. Wahyunitasari, "Inhibitory Activity of Allium Sativum L. Extract Against Streptococcus Pyogenes and Pseudomonas Aeruginosa," *J. Vocat. Heal. Stud.*, vol. 3, no. 2, p. 72, 2019, doi: 10.20473/jvhs.v3.i2.2019.72-77.
- A. Nuraini, R. Yulia, and Setiasih, "Hubungan Pengetahuan dan Keyakinan dengan Kepatuhan Menggunakan Antibiotik Pasien Dewasa," *J. Manag. Pharm. Pract.*, vol. 8, no. 4, pp. 165–174, 2018.
- N. Angraini and P. Desmaniar, "Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan," *J. Penelit. Sains*, vol. 22, no. 2, p. 69, 2020, doi: 10.56064/jps.v22i2.583.
- T. H. Zainal, E. Wahyudin, and Y. Rifai, "PENETAPAN KURVA STANDAR SENYAWA TETRA HIDROXY ETHYL DISULPHATE (THES) DALAM PLASMA MARMUT

- (*Cavia porcellus*) MENGGUNAKAN KCKT,” *Maj. Farm. dan Farmakol.*, vol. 22, no. 3, pp. 90–92, 2019, doi: 10.20956/mff.v22i3.5828.
- N. Nyoman, P. Sari, M. Revolva, and J. Runtuwene, “Validasi Metode Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Amoxicilin Dalam Plasma Secara in Vitro,” *Pharmakon*, vol. 4, no. 3, pp. 96–103, 2015.
- M. Carlier, V. Stove, J. J. De Waele, and A. G. Verstraete, “Ultrafast quantification of β -lactam antibiotics in human plasma using UPLC-MS/MS,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 978–979, pp. 89–94, 2015, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.11.034.
- S. L. Parker, J. Lipman, J. A. Roberts, and S. C. Wallis, “A simple LC-MS/MS method using HILIC chromatography for the determination of fosfomycin in plasma and urine: Application to a pilot pharmacokinetic study in humans,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 105, pp. 39–45, 2015, doi: 10.1016/j.jpba.2014.11.042.
- S. K. Amponsah, J. A. Boadu, D. K. Dwamena, and K. F. M. Opuni, “Bioanalysis of aminoglycosides using high-performance liquid chromatography,” *ADMET DMPK*, vol. 10, no. 1, pp. 27–62, 2022, doi: 10.5599/admet.1183.
- E. Topp, J. Renaud, M. Sumarah, and L. Sabourin, “Reduced persistence of the macrolide antibiotics erythromycin, clarithromycin and azithromycin in agricultural soil following several years of exposure in the field,” *Sci. Total Environ.*, vol. 562, pp. 136–144, 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.210.
- Y. Zhao *et al.*, “Modification of garlic peel by nitric acid and its application as a novel adsorbent for solid-phase extraction of quinolone antibiotics,” *Chem. Eng. J.*, vol. 326, pp. 745–755, 2017, doi: 10.1016/j.cej.2017.05.139.
- J. Zhang *et al.*, “Determination of quinolones in wastewater by porous β -cyclodextrin polymer based solid-phase extraction coupled with HPLC,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1068–1069, pp. 24–32, 2017, doi: 10.1016/j.jchromb.2017.09.046.
- C. Nebot *et al.*, “Monitoring the presence of residues of tetracyclines in baby food samples by HPLC-MS/MS,” *Food Control*, vol. 46, pp. 495–501, 2014, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.042.
- N. Pinder, T. Brenner, S. Swoboda, M. A. Weigand, and T. Hoppe-Tichy, “Therapeutic drug monitoring of beta-lactam antibiotics – Influence of sample stability on the analysis of piperacillin, meropenem, ceftazidime and flucloxacillin by HPLC-UV,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 143, pp. 86–93, 2017, doi: 10.1016/j.jpba.2017.05.037.
- J. Rossmann, S. Schubert, R. Gurke, R. Oertel, and W. Kirch, “Simultaneous determination of most prescribed antibiotics in multiple urban wastewater by SPE-LC-MS/MS,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 969, pp. 162–170, 2014, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.08.008.
- L. M. Chiesa, M. Nobile, S. Panseri, and F. Arioli, “Antibiotic use in heavy pigs: Comparison between urine and muscle samples from food chain animals analysed by HPLC-MS/MS,” *Food Chem.*, vol. 235, pp. 111–118, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.184.
- N. Al-Afy, H. Sereshti, A. Hijazi, and H. Rashidi Nodeh, “Determination of three tetracyclines in bovine milk using magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1092, pp. 480–488, 2018, doi: 10.1016/j.jchromb.2018.06.049.

- M. Cámara, A. Gallego-Picó, R. M. Garcinuño, P. Fernández-Hernando, J. S. Durand-Alegría, and P. J. Sánchez, "An HPLC-DAD method for the simultaneous determination of nine β -lactam antibiotics in ewe milk," *Food Chem.*, vol. 141, no. 2, pp. 829–834, 2013, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.131.
- M. Paal, M. Zoller, C. Schuster, M. Vogeser, and G. Schütze, "Simultaneous quantification of cefepime, meropenem, ciprofloxacin, moxifloxacin, linezolid and piperacillin in human serum using an isotope-dilution HPLC–MS/MS method," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 152, pp. 102–110, 2018, doi: 10.1016/j.jpba.2018.01.031.
- K. Y. Kim, S. H. Cho, Y. H. Song, M. S. Nam, and C. W. Kim, "Direct injection LC-MS/MS method for the determination of teicoplanin in human plasma," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1008, pp. 125–131, 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2015.11.037.
- X. Song *et al.*, "Simultaneous determination of eight cyclopolypeptide antibiotics in feed by high performance liquid chromatography coupled with evaporation light scattering detection," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1076, pp. 103–109, 2018, doi: 10.1016/j.jchromb.2018.01.020.
- I. Baranowska, P. Markowski, and J. Baranowski, "Simultaneous determination of 11 drugs belonging to four different groups in human urine samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography method," *Anal. Chim. Acta*, vol. 570, no. 1, pp. 46–58, 2006, doi: 10.1016/j.aca.2006.04.002.
- É. Alechaga, E. Moyano, and M. T. Galceran, "Mixed-mode liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of aminoglycosides in meat," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 406, no. 20, pp. 4941–4953, 2014, doi: 10.1007/s00216-014-7912-7.
- F. Deng *et al.*, "Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of five glycopeptide antibiotics in food and biological samples using solid-phase extraction," *J. Chromatogr. A*, vol. 1538, pp. 54–59, 2018, doi: 10.1016/j.chroma.2018.01.036.
- U. Woiwode, A. Sievers-Engler, and M. Lämmerhofer, "Preparation of fluorescent labeled gentamicin as biological tracer and its characterization by liquid chromatography and high resolution mass spectrometry," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 121, pp. 307–315, 2016, doi: 10.1016/j.jpba.2015.12.053.
- S. C. Anderson *et al.*, "Qualitative and quantitative drug residue analyses: Chlortetracycline in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and supermarket meat by liquid chromatography tandem-mass spectrometry," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1092, pp. 237–243, 2018, doi: 10.1016/j.jchromb.2018.05.027.
- B. Behnoush, A. Sheikazadi, E. Bazmi, A. Fattahi, E. Sheikazadi, and S. H. Saberi Anary, "Comparison of UHPLC and HPLC in benzodiazepines analysis of postmortem samples," *Med. (United States)*, vol. 94, no. 14, 2015, doi: 10.1097/MD.0000000000000640.
- S. Annissa, I. Musfiroh, and L. Indriati, "Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC : Article Review," *Farmaka*, vol. 17, no. 3, pp. 189–197, 2019.