

**Review Article: Methods of Analysis of Tuberculosis Drugs in Blood Plasma****Review artikel: Metode Analisis obat Tuberkulosis Dalam Plasma Darah**

Datu Muhammad Cordova^{1*}, Shiyami Aulia Nur Darmawan¹, Mutiara Alfiyah¹, Marsah Rahmawati Utami¹, Lina Nurfadhila¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Indonesia.

e-mail author: 2010631210019@student.unsika.ac.id

ABSTRACT

Tuberculosis is a respiratory disorder that is contagious and is caused by an infection with the bacterium *Mycobacterium tuberculosis* (aerobic bacteria). Treatment of tuberculosis usually uses first-line drugs, namely isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide. The purpose of this study was to review the effectiveness of developing HPLC or UPLC methods with UV and MS detectors to review tuberculosis drug concentrations in biological blood plasma samples. The author's search method in compiling the results of a journal review regarding the development of methods for analyzing anti-tuberculosis drugs (OAT) in biological blood samples using databases from Google Scholar and Pubmed®. A total of 26 relevant journals will be used for discussion in the journal review. The results obtained are the most widely used method in the analysis of OAT using HPLC/UPLC mass and ultraviolet detectors in a biological sample, blood plasma. It has been reported in several studies that the UPLC method has increased sensitivity as indicated by a decrease in LOD and LOQ values compared to the HPLC method.

Keywords: Analysis; Anti-tuberculosis drugs; HPLC; UPLC; Blood plasma

ABSTRAK

Penyakit tuberkulosis merupakan suatu gangguan pernapasan yang menular dan penyebabnya dari adanya infeksi bakteri *Mycobacterium Tuberkulosis* (bakteri aerob). Pengobatan tuberkulosis biasa digunakan obat lini pertama yakni isoniazid, rifampisin, etambutol dan pirazinamid. Tujuan penelitian ini adalah untuk meninjau efektivitas dari pengembangan metode HPLC atau UPLC dengan detektor UV dan MS untuk meninjau konsentrasi obat tuberkulosis dalam sampel biologis plasma darah. Metode pencarian penulis dalam menyusun hasil review jurnal mengenai pengembangan metode analisis obat anti tuberkulosis (OAT) dalam sampel biologis darah dengan menggunakan *database* dari Google Scholar dan Pubmed®. Sejumlah 26 jurnal yang relevan akan digunakan untuk pembahasan dalam *review* jurnal. Hasil yang diperoleh adalah metode yang paling banyak digunakan dalam analisis OAT dengan menggunakan HPLC/UPLC detektor massa dan ultraviolet dalam suatu sampel biologis, plasma darah. Dilaporkan dalam beberapa penelitian bahwa metode UPLC terjadi peningkatan sensitivitas yang ditunjukkan dengan adanya penurunan nilai LOD dan LOQ dibandingkan dengan metode HPLC.

Kata kunci: Analisis; Obat Anti Tuberkulosis; HPLC; UPLC; Plasma darah

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan penyakit menular paling mematikan pada urutan kedua di dunia setelah Covid-19 dan menjadi peringkat ketiga belas sebagai faktor utama penyebab kematian di seluruh dunia pada tahun 2021 (WHO, 2022). Pada tahun 2022, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mendeteksi penderita Tuberkulosis lebih dari 700 kasus. Pada saat ini, Indonesia menempati peringkat kedua setelah India mengenai penyakit tuberkulosis, yaitu dengan jumlah kasus sebanyak 969 ribu dan kematian 93 ribu per tahun atau setara dengan 11 kematian per jam (Kemenkes RI, 2023).

Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Sumber penyebaran penyakit tuberkulosis ini adalah melalui individu *actively infected* yakni penderita tuberkulosis (TBC) aktif. Penderita TBC aktif menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk droplet (percikan dahak) pada saat batuk atau bersin. Droplet yang mengandung kuman dapat bertahan di udara pada suhu kamar selama beberapa jam. Seseorang dapat terinfeksi apabila droplet tersebut terhirup ke dalam saluran pernafasan lalu menyebar dari bagian paru-paru ke bagian tubuh lainnya melalui sistem peredaran darah, saluran limfe atau dapat terjadi penyebaran langsung ke bagian tubuh lainnya (Rafflesia, 2014).

Pengobatan atau terapi pada tuberkulosis membutuhkan waktu yang lama. Pengobatan tuberkulosis bisa mencapai lebih dari 6 bulan, dan pengobatan tuberkulosis resisten obat membutuhkan waktu yang lebih lama (18 – 24 bulan) (Aviana *et al.*, 2021). Menurut Food and Drug Administration (FDA), obat-obatan yang digunakan sebagai lini pertama pengobatan tuberkulosis diantaranya adalah isoniazid, rifampisin, etambutol dan pirazinamid. Salah satu faktor penyebab kegagalan pengobatan TB yakni karena keberadaan kadar obat tuberkulosis dalam tubuh yang rendah sehingga mengakibatkan terjadi resisten dan peningkatan *side effect* dari pengobatan.

Plasma darah merupakan salah satu jenis sampel biologis yang biasa digunakan dalam studi bioanalisis. Pemilihan sampel plasma darah dalam menentukan konsentrasi obat didasarkan pada keterikatan reseptor dengan obat yang merupakan metode yang akurat untuk pemantauan

farmakokinetika klinik (Rizalina *et al.*, 2018). Obat antituberkulosis seperti rifampisin (RIF) bersifat lipofilik dan hampir 90% diserap dari saluran pencernaan dan proses metabolisme di hati menjadi bentuk terdeasetilasi rifampisin. Setelah itu, masuk ke dalam resirkulasi enterohepatik dan dikeluarkan dari tubuh dengan sebagian besar metabolit diekskresikan melalui cairan empedu (Sarkar & Ganguly, 2016).

Therapeutic drug monitoring (TDM) atau pemantauan kadar obat merupakan cabang ilmu kimia klinik dan farmakokinetik yang berkaitan dengan optimalisasi efek obat serta penyesuaian dosis obat secara individu dengan cara mengukur konsentrasi obat dalam cairan tubuh (Hazarika, 2015). Dalam penggunaannya, *Therapeutic drug monitoring* (TDM) digunakan untuk mengoptimalkan dan mempersonalisasi berbagai terapi obat. Optimalisasi dosis obat dapat meningkatkan hasil pengobatan, mengurangi toksisitas dan mengurangi resiko resistensi obat (Tuzimski & Petruczynik, 2020). Seiring berkembangnya zaman, banyak pengujian untuk mengetahui konsentrasi obat di dalam darah, salah satunya adalah penggunaan *Therapeutic drug monitoring* (TDM) yang digunakan dalam terapi tuberkulosis. Dalam bidang klinis, sampel darah adalah matriks yang paling sering digunakan untuk pemantauan kadar obat (TDM). Sebagian besar pemantauan kadar obat dilakukan dengan menggunakan kromatografi cair yang digabungkan dengan teknik spektrometri massa tandem (LC-MS/MS) karena selektivitas dan sensitivitasnya yang tinggi. Kromatografi kinerja tinggi dengan metode deteksi ultraviolet (HPLC-UV) juga digunakan untuk pemantauan kadar obat, metode ini sering digunakan karena lebih sederhana dan terjangkau untuk pemantauan klinis (Tuzimski & Petruczynik, 2020).

Beberapa metode yang digunakan untuk penetapan kadar seperti obat tuberkulosis dalam plasma darah diantaranya adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) dengan detektor UV atau MS. Dalam pengembangannya, HPLC dengan detektor UV memberikan nilai batas bawah deteksi mencapai 1,25 ng/ml (Sholihah *et al.*, 2011) dan detektor MS memiliki nilai batas deteksi mencapai 0,08 ng/ml (Ju *et al.*, 2014). UPLC dengan detektor MS

memiliki nilai batas bawah kuantifikasi mencapai 5 ng/ml (Wang *et al.*, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk meninjau metode yang digunakan untuk analisis obat tuberkulosis dalam sampel darah yakni menggunakan metode HPLC dan UPLC dengan detektor MS atau UV.

METODE

Penulis dalam menyusun jurnal studi, menggunakan metode pencarian riset tentang pengembangan metode analisis obat anti tuberkulosis (OAT) dalam sampel biologis darah dengan memperoleh *database* dari media pencarian seperti Pubmed dan Google Scholar dengan kata kunci pencarian "Determination", "Anti-Tuberculosis Drugs", "Blood Sample", dan "HPLC; UPLC" pada kata kunci ditambahkan pencarian lanjutan dengan kata 'OR', dan 'AND'. Kriteria inklusi artikel yang digunakan adalah artikel dengan waktu 10 tahun terakhir dimulai tahun 2013 hingga 2023, menggunakan analisis penentuan konsentrasi dan determinasi metode pada obat anti-tuberkulosis (OAT). Hasil pencarian jurnal awal ditemukan sejumlah 566 jurnal, kemudian dikerucutkan sesuai dengan kriteria kesamaan topik menjadi 26 artikel. Sejumlah 26 jurnal yang relevan akan digunakan untuk pembahasan dalam *review* jurnal.

HASIL DAN DISKUSI

Penyakit tuberkulosis termasuk salah satu penyakit infeksi progresif menular yang diakibatkan oleh bakteri aerob *Mycobacterium Tuberculosis*. Pengobatan tuberkulosis yang biasa diberikan yaitu dengan pemberian obat tuberkulosis yang standar yaitu isoniazid, rifampisin, pirazinamid, dan etambutol. Pengobatan tuberkulosis (TB) dapat dilakukan secara kombinasi paket dan *Fix Dose Combination* (FDC). FDC menyediakan kombinasi yang umum digunakan yaitu kombinasi 4 antibiotik (rifampicin, isoniazid, pirazinamid, dan etambutol) yang dapat digunakan sebagai pengobatan awal dan kombinasi 2 antibiotik (isoniazid-rifampicin) untuk pengobatan selanjutnya. Kombinasi ini didasarkan pada kepraktisan dan untuk meningkatkan kepatuhan pasien TB dalam mengonsumsi Obat tuberkulosis (Kautsar & Intani., 2016).

Terapi pengobatan tuberkulosis terus dikembangkan untuk mencapai hasil pengobatan

TB yang maksimal. Pengobatan baru terhadap TB dan penggunaan rejimen TB *multidrug-resistant* (MDR) yang lebih pendek menjadi pengembangan dari terapi tuberkulosis (Soedarsono., 2021; Van Der Werf *et al.*, 2017; World Health Organization (WHO), 2016). Usaha untuk mencegah MDR-TB dan efek samping pengobatan, dapat dilakukan dengan uji monitoring terapeutik dari konsentrasi obat TB di dalam darah (Jang *et al.*, 2016; Tuzimski, Tomasz; Petruczynik, 2020). *Therapeutic drug monitoring* (TDM) merupakan praktik klinis dalam mengukur konsentrasi obat dalam cairan tubuh yang berperan dalam mengoptimalkan terapi obat anti tuberkulosis (Dewi, 2019; Papamichael *et al.*, 2017; Tamargo *et al.*, 2015).

Analisis konsentrasi obat anti tuberkulosis (OAT) dalam sampel darah menggunakan metode HPLC dan UPLC dengan detektor MS atau UV (Tabel 1). Metode *High performance liquid chromatography* (HPLC) adalah analisis metode kromatografi cair dalam filtrasi, identifikasi dan kuantifikasi senyawa obat (Chawla & Ranjan, 2016). Sedangkan *ultra performance liquid chromatography* (UPLC) merupakan pengembangan metode HPLC dengan meningkatkan tiga titik kritis seperti kecepatan, resolusi dan sensitivitas (Chemistry, 2015). HPLC dan UPLC memiliki prinsip yang sama yaitu penginjeksian sampel ke dalam fase diam, lalu adanya fase gerak yang ditekan dengan tekanan tinggi melalui instrumen kolom yang menyebabkan analisis dari OAT (Akash & Rehman, 2019). Analisis OAT dalam sampel plasma darah didasarkan pada pemisahan tingkat kepolaran sampel antara fase diam dan fase gerak (Aprilia *et al.*, 2018; Kusuma & Ismanto, 2016). Perbandingan metode HPLC dan UPLC tertera pada tabel 2 (Chawla & Ranjan, 2016; Chemistry, 2015).

Parameter dalam validasi metode HPLC dan UPLC meliputi tingkat presisi, linieritas, akurasi, selektivitas, kesesuaian sistem, limit deteksi (LOD) dan limit kuantifikasi (LOQ) (Arbianto, *et al.*, 2020). LOD (*limit of detection*) merupakan parameter uji batas terkecil yang dimiliki suatu instrumen untuk mendeteksi suatu analit (Torowati & Galuh, 2014). Sedangkan LOQ (*limit of Quantification*) merupakan batasan jumlah analit dalam sampel yang masih dapat diukur presisi menggunakan instrumen (Sumarno & Kusumaningtyas, 2018). Tingkat LOQ yang kecil

pada instrumen akan menjadikan nilai konsentrasi dari analit dapat terkuantifikasi (Ingle *et al.*, 2017). Pada review jurnal, ditemukan 14 jurnal yang menggunakan metode HPLC dan 13 jurnal menggunakan metode UPLC dalam menganalisis obat anti-tuberkulosis (OAT). Nilai kuantifikasi terendah (LOQ) terdapat dengan nilai 0,1 ng/mL dari riset yang ditemukan (X. Wang *et al.*, 2020). Penggunaan metode UPLC-MS/MS dengan analit rifampentin.

Hasil kuantifikasi (LOQ) kromatografi disesuaikan dengan kondisi dari jenis fase gerak, kolom, jenis elusi, detektor, dan laju alir. Hasil *review* terdapat 19 riset menggunakan kolom oktadesil silika (C18), sejumlah metode analisis menggunakan kolom oktasilana (C8), dan ada tiga metode analisis penelitian menggunakan kolom fase silika berbasis diol. Penentuan konsentrasi obat anti-tuberkulosis (OAT), kolom oktadesil silika lebih sering dilakukan, karena kolom ini dinilai lebih efisien saat proses penguraian senyawa kimia obat yang bersifat tidak polar. Hal ini bisa terjadi karena kolom oktadesil silika (C18) dinilai memiliki rantai panjang karbon yang bagus pada pemisahan senyawa non-polar. Sementara itu, kolom oktasilana (C8) dinilai efisien untuk filtrasi senyawa polar dengan berisikan rantai karbon yang lebih pendek dibandingkan kolom oktadesil silika. Obat anti-tuberkulosis (OAT) termasuk ke dalam zat kimia yang bersifat tidak polar, oleh karena itu penggunaan kolom oktadesil silika lebih baik untuk digunakan.

Fase gerak merupakan beberapa pelarut tunggal atau campuran yang berperan dalam mempengaruhi dari kekuatan elusi dan resolusi suatu sampel. Kekuatan dari elusi dan resolusi bergantung pada tingkat kepolaran pelarut, fase diam, dan karakteristik dari sampel yang digunakan. Dalam kondisi normal fase diam bersifat lebih polar, maka kekuatan elusi suatu sampel bisa tinggi apabila tingkat polaritas dari solvent juga meningkat. Berbeda dengan kondisi terbalik yang karakteristiknya fase gerak bersifat lebih polar, maka kekuatan elusi suatu sampel akan lebih rendah karena adanya peningkatan kepolaran dari solvent. Hasil *review* menunjukkan bahwa fase gerak yang banyak digunakan yaitu asetonitril. Asetonitril merupakan fase gerak yang

digunakan untuk pelarut non polar. Asetonitril bersifat polar aprotik dan mempunyai kelebihan dibanding fase gerak yang lain yaitu asetonitril mempunyai nilai penyerapan terhadap UV yang kecil, suhu didih yang besar, dan kekuatan elusi yang tinggi sehingga digunakan fase gerak yang sering digunakan pada metode HPLC maupun UPLC.

Berdasarkan hasil *review*, sistem elusi yang digunakan yaitu sistem elusi isokratik dan sistem elusi gradien. Sistem elusi isokratik merupakan suatu proses pemisahan dengan menggunakan komposisi pelarut yang sama. Dalam hal ini pelarut yang digunakan dari awal hingga akhir proses pemisahan konstan. Pada sistem elusi isokratik dihasilkan puncak kromatogram yang rendah dan sampel tertahan pada kolom sehingga puncak kromatogram yang dihasilkan melebar. Sedangkan sistem elusi gradien merupakan suatu proses pemisahan dengan menggunakan komposisi pelarut yang berbeda dalam kurun waktu tertentu. Pada sistem elusi gradien dihasilkan puncak kromatogram yang tidak lebar dibandingkan pada sistem isokratik. Hal ini dikarenakan proses pemisahan sistem gradient lebih signifikan daripada sistem isokratik.

Untuk mendeteksi suatu sampel, maka digunakan pendeteksi yang langsung terhubung dengan instrumen analisis. Dalam *review* ini pendeteksi yang digunakan yaitu ultraviolet (UV) dan massa spektroskopi (MS). Pendeteksi UV merupakan jenis detektor yang sering dan paling umum digunakan dalam analisis dengan metode HPLC. Dalam menganalisis sampel, pendeteksi UV dinilai memiliki sensitif yang kurang dalam jumlah kecil. Namun, detektor ini juga mempunyai kelebihan yaitu peralatan yang digunakan simpel dan tidak terlalu mahal. Sedangkan detektor MS atau spektroskopi massa merupakan detektor yang biasa digunakan dalam metode analisis kromatografi yang terbaru. Kelebihan dari detektor ini yaitu mempunyai sensitivitas dan selektivitas sangat tinggi, dapat digunakan untuk menganalisis sampel dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat. Namun kekurangan dari detektor ini yaitu peralatan yang digunakan mempunyai harga relatif mahal.

Tabel 1. Metode analisa obat anti tuberkulosis (OAT) dalam plasma darah

Metode dalam Jurnal	Analit (obat)	Sampel biologis	Sistem riset	LOQ (ng/mL)	Rujukan
HPLC-UV	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan dapar asetat 0,05 M berpH 5,7 : asetonitril (65:35 v/v). ● Kolom : Oktasilana (C8). ● Elusi : Gradien ● Flow rate : 1,2 mL/menit ● Pendeteksi : UV 	5000	(Louveau et al., 2016)
HPLC-MS	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan dapar asetonitril: air: asam asetat (66:33.9:0.1 v/v/v) ● Kolom : Oktasilana (C8). ● Elusi : Isokratik ● Flow rate : 3 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	1000	(Grégoire et al., 2016)
HPLC-UV	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak air dan metanol ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Gradien. ● Flow rate : 1 mL/menit. ● Pendeteksi : UV 	1000	(Bozorg et al., 2019)
HPLC-UV	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak air : asam asetat 0,01% dan asetonitril: asam asetat 0,01%. ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Gradien. ● Flow rate : 1,2 mL/menit ● Pendeteksi : UV 	100	Goutal et al., 2016)

HPLC-MS	Streptomisin	Plasma tikus	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan dua fase gerak: (A) asam format 0,5% (0,54 ml/menit) dan (B) asetronitril ACN (0,06 ml/ menit). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Isokratik. ● Flow rate : 0,5 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	10	(Z. Wang et al., 2019)
HPLC-UV	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan larutan amonium dihidrogen fosfat 42mM pada pH 4.60): asetonitril: metanol (46:40:14 v/v/v). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 1-1,2 mL/menit ● Pendeteksi : UV 	1200	(Li et al., 2014)
HPLC-MS	Rifampisin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan air dengan asam format 0,1% (pertama), metanol dengan asam format 0,1% (kedua), air dengan asam format 10 mM (ketiga), dan asetonitril dengan asam format 0,1% (keempat) ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : gradien ● Flow rate : 0,9 mL/menit ● Pendeteksi : MS 	2000	(Jourdil et al., 2013)
HPLC Kolom terbalik	Rifampisin	Plasma tikus	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan Metanol – air (5:95 v/v). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Isokritik. ● Flow rate : 1-2 ml/menit. ● Pendeteksi : UV 	200	(Zhang et al., 2015)

HPLC-MS	Pirazina mid(PZA), Isoniazid (INH), etambutol (EMB), Streptomisin (STM), rifampicin (RFP).	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Fase gerak terdiri dari 40 : 60 A:B. Pergerakan fase gradient A dari 40% hingga 95%. fase gerak A (0,02% heptafluorobutyric acid + 0,2% asam formit di metanol) fase gerak B (0,02% asam heptafluorobutil + 0,2% asam formit di air). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi: Gradien. ● Flow rate : 0,3 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	PZA 200, INH 80, EMB 0,2, STM 2000, RFP 200	(Gao et al., 2018)
HPLC-UV	Pirazina mid (PZA), Isoniazid (INH), Rifampisin (RFP), Ac-Isoniazid (Ac-INH),	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Menggunakan bahan campuran larutan natrium heptana sulfonat 20 mM dan dapar fosfat 2,5 mM: asetonitril (95:5). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Gradien ● Flow rate : 0,4 mL/menit ● Pendeteksi : UV 	PZA 2340, INH 570, RFP 1200, Ac-INH 470.	(Hernández-González et al., 2021)
HPLC-MS	Etambutol	Plasma manusia, cairan bronchoalveolar, dan sel alveolar.	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase: Penggunaan asetonitril 80%, 4mM amonium asetat, dan 0,10% asam trifluoroasetat. ● Kolom : silika hipersil (50- × 4.6-mm) 	50 ng/mL untuk plasma darah.	John E., Lin E., Zhao Yeping., Zurlinden E. 2002
HPLC-UV	Isoniazid	Injeksi sediaan sirup	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan campuran dapar fosfat: asetonitril (75:25, v/v) ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) ● Elusi : Gradien ● Flow rate : 1,2 mL/menit ● Pendeteksi : UV 	LoD: sebesar 1110 ng/mL; LoQ: 8850 ng/mL	Budiarti A., Yuniarsih N.H
HPLC	Isoniazid dan Asetilisoniazid	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Dapar Fosfat: asetonitril; Dapar formiat-metanol; larutan heksansulfonat 5,10, dan 20 mM- Metanol ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) atau Oktasilana (C8). ● Flow rate : 0,8, 1, atau 1,2 mL/menit. 	LLoQ untuk INH dan AcINH berturut-turut adalah 1258 dan 1188	Yantih N., 2019

UPLC-MS	Rifampisin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak amonia asetat (pertama) dan 90% asetonitril dalam air mengandung asam format 0,1% (kedua). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) atau Oktasilana (C8). ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 0,5 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	25	(Hee et al., 2015)
UPLC-MS	Pirazinamid (PZA), isoniazid (INH), etambutol (EMB), rifampisin (RFP), rifabutina (RFB)	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : 5 mM larutan amonium asetat yang mengandung 0,05 % asam asetat (A) dan 50mM larutan amonium asetat-asetonitril (1:9, v/v) (B) ● Kolom : kolom C18 non-polar ● Elusi : Gradien ● Flow rate : 0,4 mL/menit ● Pendeteksi : MS. 	RFP 38–4900, RFB & EMB 15–1960, PZA 306–3920, INH 77–980.	(Wu et al., 2020)
UPLC-MS	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : amonia format 5 mM dan asam format 0,1% dalam air (pertama) serta asetonitril (kedua). ● Kolom : kolom C18 non-polar ● Elusi : Gradien. ● Flow rate : 0,6 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	1000	(Panda et al., 2020)
UPLC-MS	Pirazinamid (PZA), isoniazid (INH), etambutol (EMB), rifampicin (RFP),	Plasma manusia & PBMC	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Fase gerak dari plasma : asetonitril – air. Fase gerak dari PBMC : air/asetonitril (95:5, v/v). ● Kolom : UPLC HSS T3 1.8Mm (2.1×150 mm) kolom. ● Elusi : Isokratik ● Flow rate : - ● Pendeteksi : MS 	EMB 2,93, INH 0,391, PZA 0,391, RFP 0,976.	(Baietto et al., 2015)
UPLC-	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Terdiri dari asam format 0,1% larutan (pertama) dan asetonitril 	200	(Kim et al., 2015)

			dengan kandungan asam format 0,1% (kedua).		
			<ul style="list-style-type: none"> ● Kolom : kolom fase silika berbasis diol. ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 0,2 mL/menit ● Pendeteksi : MS 		
UPLC-MS	Isoniazid (INH), Etambutol (EMB), Pirazinamid (PZA), Rifampicin (RFP), Rifabutin, Rifapentin, Etionamid, Protionamid, Thiosemicarbazone Klofazimin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : : asetonitril-air (m mengandung 0,1% formik asam). ● Kolom : Shiseido CAPCELL RAK-ADME (2,1 mm×50 mm, 3 µm) kolom. ● Elusi : Gradien. ● Flow rate : 0,4 mL/menit. ● Pendeteksi : Mass spectrometri. 	INH 5, EMB 1, PZA 5, RFP 5, Rifabutin 1, Rifapentin 0,1, Etionamid 1, protionamid 1, Thiosemicarbazone 2, klofazimin 0,1.	(X. Wang et al., 2020)
UPLC-MS	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : penggunaan dalam fase gerak ammonia format 10 mmol/L dalam air (pertama) dan asam format 0,1% dalam metanol (kedua). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 0,35 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	200	(Xing et al., 2021)
UPLC-MS	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak dengan air/asam format 0,1% dan amonia format 5 mM (pertama) serta asetonitril : air (95:5 v/v) dengan asam format 0,1% dan amonia format 5 mM (kedua) ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 0,3 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	2500	(Fachi et al., 2020)

UPLC-MS	Rifampicin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril : air : dapar (ammonia asetat 10 g/L, asam asetat 35 mg/L, dan trikloro asetat anhidrat 2 mg/L) pada pH 3,5 (90:5:5 %v/v/v). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : gradien. ● Flow rate : 0,3 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	1500	(Vu et al., 2014)
UPLC-MS	Isoniazid	Darah kering (DBS)	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Fase gerak berbentuk gradient pelarut (A:B) 40:60 v/v selama 0,5 menit, diikuti gradien linier ke 20:80 v/v hingga 1,5 menit, dipertahankan hingga 2,0 menit dan kembali ke 40:60 v/v pada 2,2 menit. Pelarut A : (Asam format 0,3% dalam air). Pelarut B : (Asam format 0,3% dalam metanol). ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : Gradien. ● Flow rate : 0,3 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	250	(Lee et al., 2017)
UPLC-MS	Rifampisin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak dengan air : asetonitril (55:45% v/v) mengandung asam format 5%. ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Elusi : isokratik. ● Flow rate : 1 mL/menit. ● Pendeteksi : Spektrometer massa triple quadropole 	79	(Winchester et al., 2015)
UPLC-MS	Rifampisin	Plasma manusia	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : Penggunaan fase gerak asetonitril: air (75:25% v/v) yang keduanya mengandung asam format 0,1%. ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18) atau Oktasilana (C8). ● Elusi : isokratik. 	31,3	(Govender et al., 2018)

			<ul style="list-style-type: none"> ● Flow rate : 0,2 mL/menit. ● Pendeteksi : MS 	
UPLC-MS/MS	Streptomisin, Kanamisin, Klaritromisin, Sikloserin, Moxifloxacin, Levofloksasin, Linezolid, PAS, Prothionamide	Serum, darah	<ul style="list-style-type: none"> ● Mobile phase : LLOD campuran 10 mM ammonium format dan asetonitril. ● Kolom : Kolom oktadesil silika (C18). ● Flow rate : 200 mL/menit. 	Han.M., Jun. HS., et al. 2013 Streptomisin : 500 Kanamisin : 500 Klaritromisin : 25 Sikloserin : 500 Moxifloxacin : 500 Levofloksasin : 100 Linezolid : 50 PAS : 500 Prothionamide : 50

Tabel 2. Komparasi Metode Analisis Obat Tuberkulosis

Komparasi	HPLC	UPLC
Skala partikel	3 hingga 5 µm.	Kurang dari 2µm
Volume injeksi	5 µL	2 µL
Tekanan balik maksimum	300-400 bar	1000 bar
Dimensi instrumen	150 x 3,2 mm	50 x 2,1 mm
Temperatur kolom	30° C	65° C
Kecepatan analisis total	10 menit	1,5 menit
Laju aliran	3.0 ml/menit	0.6ml/menit

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *review* dapat disimpulkan bahwa metode yang paling banyak digunakan dalam analisis OAT sampel biologis plasma darah yaitu dengan metode HPLC dan UPLC menggunakan pendeteksi ultraviolet (UV) dan massa spektroskopi (MS). Kedua metode ini mempunyai kelebihan masing-masing. Kelebihan dari metode HPLC yaitu mempunyai waktu analisis relatif singkat, volume sampel yang digunakan sedikit, bisa menggunakan senyawa organik dan anorganik, dan kolom yang dapat digunakan kembali. Sedangkan keuntungan dari metode

UPLC yaitu UPLC lebih efisien daripada HPLC karena UPLC terjadi penurunan waktu yang lebih singkat daripada HPLC, jumlah sampel dan fase gerak yang dibutuhkan dan biaya lebih efisien. Selain itu juga metode UPLC terjadi peningkatan sensitivitas yang ditunjukkan dengan adanya penurunan nilai LOD dan LOQ dibandingkan dengan metode HPLC. Penggunaan fase gerak dalam menggunakan kedua metode ini juga harus diperhatikan dan disesuaikan dengan sampel yang dianalisis agar meminimalisir kesalahan atau kekeliruan pada saat pengujian. Sistem yang digunakan dalam kedua metode tersebut yaitu sistem gradien dan sistem isokratik.

REFERENSI

- Akash, M. S. H., & Rehman, K. (2019). Essentials of pharmaceutical analysis. In *Essentials of Pharmaceutical Analysis*. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7>
- Annissa. S., Musfiroh. I., Indriati. L. (2020). Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC : Artikel Review. *Farmaka*. Vol 17(3).
- Aprilia, F. R., Ayuliansari, Y., Putri, T., Azis, M. Y., Camelina, W. D., & Putra, M. R. (2018). Analisis Kandungan Kafein Dalam Kopi Tradisional Gayo Dan Kopi Lombok Menggunakan Hplc Dan Spektrofotometri Uv/Vis. *BIOTIKA Jurnal Ilmiah Biologi*, 16(2), 40. <https://doi.org/10.24198/bjib.v16i-2.19829>
- Arbianto, A. D., Rahayu, M. D., Kusumaningrum, S., Azhar, R., & Jannah, R. (2020). Pengembangan dan Validasi Metode High Performance Chromatography (HPLC) untuk Analisis Sodium Seftriakson. *Pertemuan Dan Presentasi Ilmiah Standardisasi, 2019*, 91–98. <https://doi.org/10.31153/ppis.2019.10>
- Aviana, F., Jati, S. P., & Budiyantri, R. T. (2021). Systematic Review Pelaksanaan Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis Pada Pasien Tuberculosis Resistan Obat. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Undip)*, 9(2), 215-222.
- Baietto, L., Calcagno, A., Motta, I., Baruffi, K., Poretti, V., di Perri, G., Bonora, S., & D'Avolio, A. (2015). A UPLC-MS-MS method for the simultaneous quantification of first-line antituberculars in plasma and in PBMCs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(9), 2572–2575. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv148>
- Bozorg, B. D., Goodarzi, A., Fahimi, F., Tabarsi, P., Shamsavari, N., Kobarfard, F., & Dastan, F. (2019). Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampin in human plasma by high-performance liquid chromatography and uv detection. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(4), 1735–1741. <https://doi.org/10.22037/ijpr.20-19.1100849>
- Budiarti A., Herdiyanti Y.N. (2018). Validasi Metode Penetapan Kadar Isoniazid Dan Vitamin B6 Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Serta Aplikasinya Dalam Sediaan Sirup Obat Tuberkulosis. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*.
- Chawla, G., & Ranjan, C. (2016). Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography. *Open Chemistry Journal*, 3(1), 1–16. <https://doi.org/10.2174/1874842201603-010001>
- Chemistry, P. (2015). *Ultra Perform ance Liquid Chrom atography (UPLC) - A Review*. 2(6).
- Dewi, N. M. A. R. (2019). Aplikasi Analisis Kimia Kuantitatif Untuk Pemantauan Kadar Obat (Theurapetic Drugs Monitoring). *Amina*, 1(1), 6–10. <https://doi.org/10.22373/amina.v1i1.8>
- Fachi, M. M., Vilhena, R. O., Boger, B., Domingos, E. L., dos Santos, J. M. M. F., Junkert, A. M., de Fátima Cobre, A., Momade, D. R. O., Beraldi-Magalhães, F., de Liz, M. V., Cordeiro-Santos, M., & Pontarolo, R. (2020). LC–QToF–MS method for quantification of ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in human plasma and its application. *Biomedical Chromatography*, 34(5). <https://doi.org/10.1002/bmc.4812>
- Gao, S., Wang, Z., Xie, X., You, C., Yang, Y., Xi, Y., & Chen, W. (2018). Rapid and sensitive method for simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs in human plasma by HPLC-MS/MS: Application to therapeutic drug monitoring. *Tuberculosis*, 109, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.tube.-2017.11.012>
- Goutal, S., Auvity, S., Legrand, T., Hauquier, F., Cisternino, S., Chapy, H., Saba, W., & Tournier, N. (2016). Validation of a simple HPLC-UV method for rifampicin determination in plasma: Application to the study of rifampicin arteriovenous concentration gradient. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 123, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jpba-2016.02.013>
- Govender, K., Adamson, J. H., & Owira, P. (2018). The development and validation of a LC-MS/MS method for the quantitation of metformin, rifampicin and isoniazid in rat plasma using HILIC chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1095, 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.07.041>

- Grégoire, M., Leroy, A. G., Bouquié, R., Malandain, D., Dailly, E., Boutoille, D., Renaud, C., Jolliet, P., Caillon, J., & Deslandes, G. (2016). Simultaneous determination of ceftaroline, daptomycin, linezolid and rifampicin concentrations in human plasma by on-line solid phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 118, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.008>
- Han M., Jun H.S., Lee H., dkk. (2013). Method For Simultaneous Analysis Of Nina Second-Line Anti-Tuberculosis Drug Using UPLC-MS/MS. *Journal Antimicrob Chemother.* doi:10.1093/jac/dkt154
- Hazarika, I. (2015). Therapeutic drug monitoring (TDM): an aspect of clinical pharmacology and pharmacy practice. *Research & Reviews: A Journal of Pharmacology*, 5(3), 27-34.
- Hee, K. H., Seo, J. J., & Lee, L. S. (2015). Development and validation of liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of first line tuberculosis drugs and metabolites in human plasma and its application in clinical study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 102, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.09.019>
- Hernández-González, O., Zarazúa, S., Veytia-Bucheli, J. I., González-Chávez, M. M., Rodríguez-Pinal, C. J., Medellín-Garibay, S. E., Uresti-Rivera, E. E., Pérez-Vázquez, F. J., Portales-Pérez, D. P., Romano-Moreno, S., & Milán-Segovia, R. del C. (2021). Quantification of pyrazinamide, isoniazid, acetyl-isoniazid, and rifampicin by a high-performance liquid chromatography method in human plasma from patients with tuberculosis. *Journal of Separation Science*, 44(2), 521–529. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000672>
- Ingle, A., Baheti, M., Wate, S., Bhusari, K., & Ingle, A. (2017). International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis Bio-analytical method validation and its 57 importance in Pharma research-A Review Article QR Code *Correspondence Info. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 04, 7. <https://doi.org/10.7439/ijapa>
- Jang, S. H., Yan, Z., & Lazor, J. A. (2016). Therapeutic drug monitoring: A patient management tool for precision medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 99(2), 148–150. <https://doi.org/10.1002/cpt.298>
- John. E., Lin.E., Zhao. Y., Zurlinden. E. (2002). A High-Pressure Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Method For The Determination Of Ethambutol in Human Plasma, Bronchoalveolar Lavage Fluid, and Alveolar Cells. *Journal of Chromatographic Science*. Vol 40.
- Jourdil, J. F., Tonini, J., & Stanke-Labesque, F. (2013). Simultaneous quantitation of azole antifungals, antibiotics, imatinib, and raltegravir in human plasma by two-dimensional high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 919–920, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.12.028>
- Ju, W., Peng, K., Yang, S., Sun, H., Sampson, M., & Wang, M. Z. (2014). A chiral HPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of warfarin enantiomers and its major hydroxylation metabolites of CYP2C9 and CYP3A4 in human plasma. *Austin journal of analytical and pharmaceutical chemistry*, 1(2).
- Kautsar, A. P., & Intani, T. A. (2016). Kepatuhan dan Efektivitas Terapi Obat Anti Tuberculosis (OAT) Kombinasi Dosis Tetap (KDT) dan Tunggal pada Penderita TB Paru Anak di Salah Satu Rumah Sakit di Kota Bandung. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 5(3), 215-224.
- Kemendes RI. (2023, April 11). *Indonesia Raih Rekor Capaian Deteksi TBC Tertinggi di Tahun 2022*. Retrieved from Kementerian Kesehatan Direktorat Promosi Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat: <https://promkes.kemkes.go.id/indonesia-raih-rekor-capaian-deteksi-tbc-tertinggi-di-tahun-2022>
- Kim, H. J., Seo, K. A., Kim, H. M., Jeong, E. S., Ghim, J. L., Lee, S. H., Lee, Y. M., Kim, D. H., & Shin, J. G. (2015). Simple and accurate quantitative analysis of 20 anti-tuberculosis drugs in human plasma using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of*

- Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 102, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.026>
- 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.
- Lee, K., Jun, S. H., Choi, M. S., Song, S. H., Park, J. S., Lee, J. H., Park, K. U., & Song, J. (2017). Application of the isoniazid assay in dried blood spots using the ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical Biochemistry*, 50(15), 882–885. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.04.010>
- Li, W., Peng, M., Long, M., Qiu, X., & Yang, L. (2014). Novel on-line column extraction apparatus coupled with binary peak focusing for high-performance liquid chromatography determination of rifampicin in human plasma: A strategy for therapeutic drug monitoring. *Journal of Separation Science*, 37(24), 3603–3609. <https://doi.org/10.1002/jssc.201400714>
- Louveau, B., Fernandez, C., Zahr, N., Sauvageon-Martre, H., Maslanka, P., Faure, P., Mourah, S., & Goldwirt, L. (2016). Determination of rifampicin in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet detection after automatized solid-liquid extraction. *Biomedical Chromatography*, 30(12), 2009–2015. <https://doi.org/10.1002/bmc.3778>
- Luyen T.L., Hung M.T., Tuan A.L., dkk. (2018). Simultaneous Determination of Pyrazinamide, Rifampicin, Ethambutol, Isoniazid and Acetyl Isoniazid in Human Plasma by LC-MS/MS Method. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 8(09).
- Panda, B. K., Bargaje, M., & Sathiyarayanan, L. (2020). A simple and reliable analytical method for simultaneous quantification of first line antitubercular drugs in human plasma by LCMS/MS. *Analytical Methods*, 12(31), 3909–3917. <https://doi.org/10.1039/d0ay00889c>
- Papamichael, K., Castele, N. Vande, Ferrante, M., Gils, A., & Cheifetz, A. S. (2017). Therapeutic Drug Monitoring during Induction of Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Inflammatory Bowel Disease: Defining a Therapeutic Drug Window. *Inflammatory Bowel Diseases*, 23(9), 1510–1515. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001231>
- Prawiranata H.P.I., Sugiastana N.B., dkk. Pengembangan Metode HPTLC-Spektrofotodensitometri Untuk Pemisahan Senyawa Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamida, dan Etambutol. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Rafflesia, U. (2014). Model penyebaran penyakit tuberkulosis (TBC). *Gradien*, 10(2), 983–986.
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., & Nurcahyo, B. (2018). Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 254–261.
- Rosydiati., Saleh K.E. (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*. Vol 1(2).
- Sarkar, S., & Ganguly, A. (2016). Current Overview of Anti-Tuberculosis Drugs: Metabolism and Toxicities. *Mycobacterial Diseases*, 6(2). <https://doi.org/10.4172/216-1-1068.1000209>
- Setiawan. J., Sari. A.N.M.P. (2022). Metode Analisis Rifampisin Dalam Plasma Darah. *Journal Transformation of Mandalika*. Vol 3(4).
- Sholihah, S., Putriana, N. A., & Pratiwi, R. (2021). Review Metode Analisis Warfarin dalam Plasma dengan Berbagai Instrumen. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2), 128-144.
- Soedarsono, S. (2021). Tuberculosis: Development of New Drugs and Treatment Regimens. *Jurnal Respirasi*, 7(1), 36. <https://doi.org/10.20473/jr.v7-i.1.2021.36-45>
- Sumarno, D., & Kusumaningtyas, D. I. (2018). Penentuan Limit Deteksi Dan Limit Kuantitasi Untuk Analisis Logam Timbal (Pb) Dalam Air Tawar Menggunakan. *Jurnal Balitbang KKP*, 16, 7–11.
- Tamargo, J., Le Heuzey, J. Y., & Mabo, P. (2015). Narrow therapeutic index drugs: A clinical pharmacological consideration to flecainide. *European Journal of Clinical Pharmacology*,

- 71(5), 549–567. <https://doi.org/10.1007/s00228-015-1832-0>
- Torowati, & Galuh, B. S. (2014). Penentuan nilai limit deteksi dan kuantisasi alat titrasi potensiometer untuk analisis uranium. *Jurnal Batan*, 13, 9–15. <http://jurnal.batan.go.id/index.php/pin/article/view/1371/1302>
- Tuzimski, T., & Petruczynik, A. (2020). Review of chromatographic methods coupled with modern detection techniques applied in the therapeutic drugs monitoring (TDM). *Molecules*, 25(17), 4026.
- Van Der Werf, M. J., Hollo, V., Ködmön, C., Dara, M., & Catchpole, M. (2017). Eligibility for shorter treatment of multidrug-resistant tuberculosis in the European Union. *European Respiratory Journal*, 49(3), 10–13. <https://doi.org/10.1183/13993003.01992-2016>
- Vidushi, Y., & Meenakshi, B. (2017). A Review On HPLC Method Development And Validation. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Chemistry*, 2(6), 166–178. <https://doi.org/10.26479/2017.0206.12>
- Vu, D. H., Koster, R. A., Bolhuis, M. S., Greijdanus, B., Altena, R. V., Nguyen, D. H., Brouwers, J. R. B. J., Uges, D. R. A., & Alffenaar, J. W. C. (2014). Simultaneous determination of rifampicin, clarithromycin and their metabolites in dried blood spots using LC-MS/MS. *Talanta*, 121, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.043>
- Wang, X., Zhang, H., Han, Y., Huo, L., Cao, Y., Xu, X., & Ai, L. (2020). Rapid and simultaneous determination of ten anti-tuberculosis drugs in human plasma by UPLC-MS/MS with applications in therapeutic drug monitoring. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1152. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122246>
- Wang, X., Zhang, H., Han, Y., Huo, L., Cao, Y., Xu, X., & Ai, L. (2020). Rapid and simultaneous determination of ten anti-tuberculosis drugs in human plasma by UPLC-MS/MS with applications in therapeutic drug monitoring. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1152. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122246>
- Wang, Z., Xie, C., Yeung, S., Wang, J., & Chow, M. S. S. (2019). Development of a simple and rapid HPLC-MS/MS method for quantification of streptomycin in mice and its application to plasma pharmacokinetic studies. *Biomedical Chromatography*, 33(2). <https://doi.org/10.1002/bmc.4408>
- WHO. (2022). Global Tuberculosis report 2022. <http://apps.who.int/bookorders>.
- Winchester, L. C., Podany, A. T., Baldwin, J. S., Robbins, B. L., & Fletcher, C. V. (2015). Determination of the rifamycin antibiotics rifabutin, rifampin, rifapentine and their major metabolites in human plasma via simultaneous extraction coupled with LC/MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 104, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.011>
- World Health Organization (WHO). (2016). WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis 2016. *WHO Library Cataloguing in Publication Data*, October, 1–64.
- Wu, L., Ye, Z., Liu, H., Guo, H., Lin, J., Zheng, L., Chu, N., & Liu, X. (2020). Rapid and highly sensitive quantification of the anti-tuberculosis agents isoniazid, ethambutol, pyrazinamide, rifampicin and rifabutin in human plasma by UPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 180. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113-076>
- Xing, Y., Yin, L., Le, X., Chen, J., Zhang, L., Li, Y., Lu, H., & Zhang, L. (2021). Simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs and one metabolite of isoniazid by liquid chromatography/tandem mass spectrometry in patients with human immunodeficiency virus tuberculosis coinfection. *Heliyon*, 7(7), e07532. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07532>
- Yantih, N., Harahap, Y., Sumaryono W., dkk. (2019). Selektivitas Pemisahan Isoniazid dan Asetilisoniazid dalam Plasma Manusia In-Vitro Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 17(2).
- Zhang, X., Wang, R., Xie, H., Jia, Z., Li, W., Zhang, J., & Wang, Y. (2015). Determination of rifampicin in rat plasma by modified large-volume direct injection RAM-HPLC and its application to a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, 29(3), 475–480. <https://doi.org/10.1002/bmc.3303>