



Validation of Drug Compound Analysis Methods in Biological Samples (Urine)

Validasi Metode Analisis Senyawa Obat Dalam Sampel Biologis (Urine)

Shinta Puspa Dwiyanti^{1*}, Diva Afiah Hanifa Irawan², Zuyyinna Alya Abbas³, Marsah Rahmawati Utami⁴, Lina Nurfadhila

¹Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang Jawa Barat, Indonesia.

*e-mail author: 2010631210034@student.unsika.ac.id

ABSTRACT

Urine is one of the selected specimens because the content of metabolites and drugs in urine is relatively high. In addition, the easiest and most stable sample to examine is a urine sample. The aim of this study was to determine a valid analytical method for analyzing drug compounds in biological samples of urine. The research method used was to conduct a literature study on several credible journals with journal criteria for the last 10 years regarding determining drug levels in human urine. The final results were obtained from five different analytes, namely Trimethoprim (TMP), ciprofloxacin, acetaminophen, methanol, and opiates which have been validated using several validation methods namely; HPLC with Photodiode Array Detector (PDA), HPLC with fluorescence detector, capillary electrophoresis with UV detector, spectrofluorometric, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), GC-FID, and Spectro photo densitometry using human samples urine, all have met the validation requirements. So, it can be concluded that the biological sample of human urine is quite accurate as the sample used in the analytical validation method.

Keywords: method validation, analysis, urine samples, biological samples.

ABSTRAK

Urin merupakan salah satu spesimen yang dipilih karena metabolit dan obat didalam urin keberadaannya relatif tinggi. Selain itu, sampel yang paling mudah dan stabil untuk pemeriksaan adalah sampel urin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui metode analisis yang valid untuk menganalisis senyawa obat dalam sampel biologis urin. Metode penelitian yang dilakukan yaitu studi literatur yang dilakukan pada beberapa jurnal yang kredibel dengan kriteria jurnal 10 tahun terakhir yang berkaitan dengan penentuan kadar senyawa obat urine manusia. Hasil yang telah diperoleh dari lima analit yang berbeda yaitu Trimethoprim (TMP), siprofloksasin, acetaminophen, methanol, opiate yang telah dilakukan uji validasi dengan beberapa metode validasi yaitu; KCKT dengan detektor KCKT dengan detektor Photodiode Array Detector (PDA), KCKT dengan detektor fluoresensi, elektroforesis kapiler dengan detector UV, spektrofotometri, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), GC-FID, dan spektrofotodensitometri dengan urine manusia yang digunakan sebagai sampelnya dan persyaratan validasi semuanya telah terpenuhi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa, sampel biologis urin manusia cukup akurat sebagai sampel yang digunakan dalam metode validasi analisis.

Kata kunci: validasi metode; analisis; sampel urine; sampel biologis.

PENDAHULUAN

Terdapat beberapa jenis obat-obatan yang keberadaannya di dalam tubuh dapat dianalisis dari cairan tubuh seperti darah, urin, dan rambut (Darmapatni et al., 2014). Urin merupakan salah satu spesimen yang dipilih karena metabolit dan obat didalam urin keberadaannya relatif tinggi. Selain itu, sampel yang paling mudah dan stabil untuk pemeriksaan adalah sampel urin (Grantica, 2020). Terdapat hal yang perlu diperhatikan pada sampel urin, yaitu saat penyimpanan sampel urin pada waktu pengiriman hingga sampai diterima di laboratorium dan juga pelaksanaan prosedur pemeriksaan urin di laboratorium. Hal ini sangat penting karena masing-masing obat mempunyai stabilitas yang berbeda-beda yang bisa mempengaruhi hasil analisis (Mahmudi et al., 2023).

Metode analisis adalah metode yang dilakukan dengan tujuan untuk memberikan informasi terhadap suatu sampel, baik informasi secara kualitatif ataupun kuantitatif. Tujuan dari metode analisis kualitatif dilakukan yaitu untuk mengidentifikasi komponen dalam zat kimia agar data didapatkan seperti terbentuknya gas, warna, endapan maupun data non numerik lain. Sedangkan tujuan dari metode analisis kuantitatif yaitu agar kuantitas pada setiap komponen yang tersusun dari analit diketahui sehingga dapat menghasilkan data berupa numerik yang memiliki satuan tertentu yang akan melibatkan proses kimia yang umumnya menggunakan prinsip volumetri dan gravimetri, dan melibatkan proses fisika yang umumnya menggunakan prinsip interaksi energi dengan materi. Metode analisis yang umumnya digunakan adalah dengan bantuan instrumen yang digunakan sebagai alat pengukur (Hudaya et al., 2022).

Sebelum uji farmakodinamik praklinik obat dilakukan, maka suatu metode analisis obat dan metabolitnya dalam suatu sampel biologis harus terlebih dahulu divalidasi. Validasi metode analisis merupakan suatu langkah dalam proses yang digunakan untuk pembuktian bahwa metode analisis memiliki kinerja yang baik yaitu persyaratan yang telah ditetapkan telah dipenuhi dan sesuai penggunaan yang diinginkan. Menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukannya validasi metode tujuannya adalah untuk menjamin bahwa

metode analisis telah spesifik, akurat, *reproducible*, dan tahan terhadap kisaran analit yang akan dianalisis dan berasal dalam matriks biologis, seperti serum, atau urin, plasma dan darah yang dipercaya serta dapat dilakukan secara ulang untuk digunakan sesuai dengan yang diinginkan (Fatan et al., 2022).

Pada pembahasan literature review kali ini, beberapa metode analisis dapat digunakan dalam menentukan jumlah kadar senyawa obat dalam urine, yaitu KCKT dengan detektor Photodiode Array Detector (PDA), elektroforesis kapiler dengan detektor UV, KCKT dengan detektor fluoresens, Spektrofluorometri, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), GC-FID, dan Spektrofotodensitometri. penelitian ini dilakukan tujuannya adalah untuk mengetahui metode analisis yang valid untuk menganalisis senyawa obat dalam sampel biologis urin.

METODE PENELITIAN

Metode dalam penelitian ini menggunakan literature review dengan bahan acuan yaitu 5 jurnal yang berkaitan dengan kadar senyawa obat dalam sampel biologis (urine). Literature review adalah metode yang mana suatu topik yang sama dikaji dengan tujuan untuk menghasilkan suatu tulisan yang berkaitan dengan topik tersebut dari berbagai jurnal. Dalam artikel terdapat beberapa metode penentuan yang digunakan yaitu KCKT dengan detektor Photodiode Array Detector (PDA), elektroforesis kapiler dengan detektor UV, KCKT dengan detektor fluoresens, Spektrofluorometri, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), GC-FID, dan Spektrofotodensitometri.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil penelusuran literatur dari sumber data primer dan telah dilakukan seleksi atau penyaringan sehingga terdapat 5 jurnal yang digunakan sebagai referensi bahan acuan. Lima referensi tersebut memiliki metode yang berbeda-beda dalam analisis kadar senyawa obat dalam sampel biologis (urine), dapat dilihat pada Tabel 1.

Validasi metode analisis merupakan langkah dalam proses pembuktian yang menyatakan metode analisis yang digunakan sudah sesuai. Validasi metode dilakukan ketika suatu metode belum atau jarang digunakan

sebelumnya atau belum tercantum dalam kompendial (Harmita, 2004). Validasi metode digunakan untuk mengkonfirmasi suatu metode yang digunakan mendapatkan hasil yang konsisten sehingga dapat diandalkan walaupun dilakukan dengan cara yang berbeda (Sharma, 2018). Parameter yang penting dalam menetapkan kadar yaitu presisi, linearitas, akurasi, *Limit Of Detection* (LOD), dan *Limit Of Quantitation* (LOQ) (Handayani et al., 2018).

Uji presisi merupakan parameter yang menunjukkan kedekatan antara hasil uji pada suatu pengujian yang sama dan dilihat dari sebaran diantara nilai benar. Uji akurasi merupakan parameter yang ditunjukkan pada derajat kedekatan kadar analit yang sebenarnya dengan hasil analisis. Uji linearitas merupakan parameter yang menunjukkan bahwa metode analisis dalam memberikan respon melalui transformasi matematik yang berisi proporsional terhadap sampel dengan konsentrasi analit. (Harmita, 2004). *Limit Of Detection* (LOD) merupakan parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit sampel yang bisa dideteksi dan pemberian respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan *Limit Of Quantitation* (LOQ) merupakan parameter yang menunjukkan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara akurat dan presisi (Hidayati, 2014). Nilai ketelitian dinyatakan dalam %RSD (*Relative Standard Deviation*) dimana semakin kecil %RSD maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya (Mariana, E et al., 2018).

Berdasarkan hasil data yang diperoleh metode yang dapat digunakan dalam analisis sampel biologis urine manusia dapat dilakukan menggunakan berbagai metode seperti KCKT-PDA, Spektrofluorometri, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), GC-FID, Spectrophoto Densitometri. Penelitian yang dilakukan oleh (Notario, D., et al., 2023) dilakukan penelitian validasi metode senyawa obat Trimetoprim dalam sampel urine dan plasma manusia. Trimetoprim (TMP) merupakan antibiotik yang biasanya digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit infeksi dan biasanya dikombinasikan dengan kotrimoksazol (KTZ) (Castiglione, V et al., 2018). Dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode KCKT dimana dilakukan pemisahan dengan menggunakan kolom GIST® C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm) di suhu 35°C dan fase gerak dialiri oleh larutan asam asetat pH 2,5 :

asetonitril (87:13, v/v). Deteksi dilakukan menggunakan Photodiode Array Detector (PDA) dengan panjang gelombang 254 nm dan 243 nm agar dapat mendeteksi TMP dalam sampel plasma dan urin. Pada penelitian ini dilakukan validasi metode antara lain uji selektivitas, uji linearitas, uji akurasi, uji presisi, uji stabilitas dan LOD. Uji selektivitas dilakukan dengan cara membandingkan sampel QC dan kromatogram sampel blanko sehingga terdapat satu puncak pada saat waktu retensi TMP pada sampel blanko yang menandai bahwa sistem KCKT dapat memisahkan TMP dengan senyawa endogen. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan bahwa metode analisis telah memenuhi syarat validasi metode bioanalisis.

Pada uji linearitas dilakukan dengan menyuntikan larutan pada konsentrasi 5-60 mg/L. Kurva kalibrasi dibuat diantara respon area dengan konsentrasi. Hasil yang diperoleh dari uji linearitas berupa persamaan regresi sampel TMP yaitu $y = 2783,2x - 221,29$ pada urine dan $y = 3202,2x - 3472$ pada plasma. Hasil ini menunjukkan pada uji linearitas metode analisis yang digunakan telah memenuhi syarat validasi metode bioanalisis dengan nilai $R > 0,99$. Kemudian, pada uji akurasi presisi dilakukan pada empat sampel dengan tingkat konsentrasi yang berbeda yaitu 5-46 mg/L untuk TMP dalam urine dan 5-26 mg/L untuk TMP dalam plasma. Hasil yang diperoleh nilai %-error dan RSD tidak lebih dari 15% pada tingkat diatas LLOQ dan tidak melebihi dari 20% pada tingkat LLOQ yang artinya metode ini cukup presisi.

Pada uji stabilitas TMP dilakukan dengan pengujian jangka pendek, jangka menengah, *freeze-thaw*, dan *autosampler*. Diperoleh hasil nilai persen tersisa berada pada rentang nilai 85-115%, maka TMP menunjukkan stabil. Selanjutnya, pada uji LOD dilakukan menggunakan sampel pada konsentrasi analit yang telah ditetapkan dan diencerkan hingga konsentrasi dapat dideteksi. Hasil yang diperoleh konsentrasi yang bisa dideteksi oleh KCKT pada urine yaitu 0,7 mg/L dan pada plasma yaitu 3,6 mg/L dan diperoleh dan sampel pada plasma sebesar 13,02% sehingga nilai %RSD ini telah memenuhi persyaratan yaitu 80-100% (Yuwono et al., 1999).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Cahyani, 2022) sampel yang digunakan yaitu senyawa obat siprofloksasin dalam sampel urine manusia. Siprofloksasin adalah antibiotik yang

termasuk dalam golongan fluorokuinolon yang biasanya digunakan secara luas dalam mengatasi infeksi yang spektrum aktivitasnya luas (Petri, 2006). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri dikarenakan metode ini pengerjaannya cukup sederhana, lebih cepat pelaksanaannya, murah, dan mempunyai sensitivitas yang tinggi untuk kadar rendah pada sampel. Pada metode spektrofotometri diperoleh lem dan leks masing-masing pada 445 nm dan 279 nm. Untuk validasi metode dilakukan dengan melihat parameter uji linieritas, uji akurasi, uji presisi, LOD dan LOQ.

Uji linieritas pada penelitian ini diperoleh persamaan $y = 0,6878x + 2,8332$ dengan nilai $R = 0,9994$, metode ini dapat dinyatakan linear karena nilai $R > 0,99$ (Yuwono et al., 1999). Uji akurasi diperoleh nilai persen *recovery* yaitu $92,81 \pm 15,16\%$ yang menandakan bahwa metode ini dikatakan akurat karena berada pada rentang yang disyaratkan pada literatur yaitu 80-100% untuk sampel biologis (Yuwono et al., 1999). Selanjutnya, uji presisi diperoleh nilai KV yaitu $0,0199 \pm 0,0184\%$ maka metode ini dapat dikatakan presisi dimana nilai KV tidak lebih dari 10% (Yuwono et al., 1999). Kemudian pada uji LOD diperoleh hasil 0,0721 µg/ml dan hasil dari uji LOQ yaitu 0,2402 µg/ml, dimana hasil tersebut telah memenuhi persyaratan yaitu 80-100% (Yuwono et al., 1999).

Penelitian yang dilakukan oleh (Dermapatni, K., et al., 2014) sampel yang digunakan adalah parasetamol dalam urin manusia. Obat parasetamol memiliki efek terapi analgesik dan antipiretik. Karena GC-MS memiliki waktu pemrosesan yang lebih singkat dan dapat mendeteksi kadar obat pada konsentrasi rendah, seperti kurang dari 1 µg/L, GC-MS dipilih untuk penelitian ini. Dalam penelitian ini, dosis terapeutik tablet parasetamol diberikan dan sampel urin diambil pada berbagai waktu sesudahnya. Hasil analisis dari penelitian ini menunjukkan bahwa *acetaminophen* diperoleh sebagai hasil dari derivatisasi menggunakan BSTFA yang mengandung TCMS 1% yang menyebabkan penggantian gugus trimethylsilyl ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). Ekstraksi sampel urin dilakukan dengan menggunakan kolom SPE dan eluen etil asetat.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Mariana, E., et al., 2018), penelitian ini memanfaatkan metabol pada sampel urin manusia. Metanol merupakan jenis alkohol yang sering

digunakan untuk produksi minuman anggur atau wine dikarenakan harganya yang terjangkau dan mudah didapatkan. Pada penelitian ini konsentrasi metanol ditentukan dengan menggunakan metode preparasi yang menggabungkan teknik ekstraksi dan distilasi dengan teknik pengukuran kromatografi gas. Parameter uji linieritas LoD, LoQ, akurasi dan presisi digunakan untuk memvalidasi metode. Eksperimen menggunakan sampel urin kontrol bebas metanol. Metode distilasi digunakan untuk menyiapkan sampel urin analisis kontrol. Berdasarkan hasil uji linieritas diperoleh hasil persamaan regresi linier $y = 825,29x + 31,682$ dengan nilai koefisien relasi sebesar 0,9996. Karena hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka luas yang dihasilkan juga semakin besar, maka respon yang diberikan pada penelitian ini yaitu memenuhi persyaratan. Menurut Handayani & Lestari (2012) dimana nilai koefisien relatif $> 0,9997$, menunjukkan bahwa alat yang digunakan memiliki respon yang baik. Hasil tes LoD dan LoQ didasarkan pada standar deviasi. Berdasarkan perhitungan, diperoleh nilai LoD sebesar 0,0743 persen dan nilai LoQ yang bersesuaian sebesar 0,2447 persen. Nilai LoD dan LoQ digunakan untuk menentukan daerah kerja dari suatu alat yang disajikan.

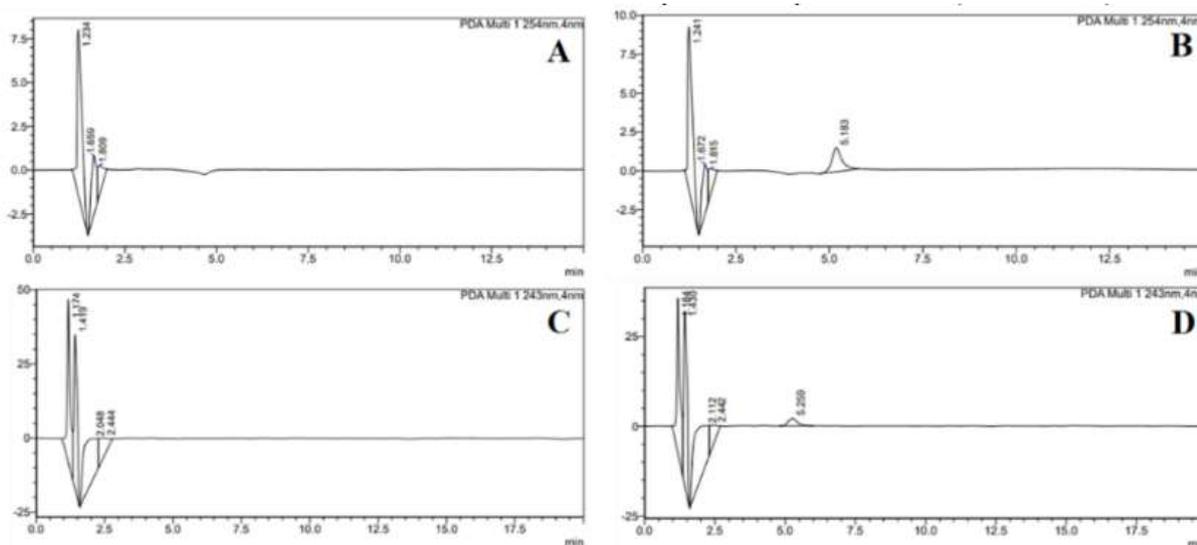
Penelitian oleh (Dewi, N., et al., 2019), penelitian ini menggunakan sampel obat opiat pada sampel urin manusia dengan menggunakan TLC-Spectrophotodensitometri. Opiat adalah senyawa alami dan semi-sintetik yang memiliki khasiat menghilangkan rasa sakit, menidurkan dan menimbulkan kegembiraan. Ekstraksi cair-cair, uji organoleptik sampel, uji skrining dengan teknik immunoassay, uji konfirmasi dan uji determinasi merupakan teknik yang digunakan dalam penelitian ini. Dari uji organoleptik diketahui bahwa urine yang digunakan memiliki volume 5 mL, berwarna kuning jernih dan memiliki pH 6. Untuk mereduksi senyawa-senyawa yang termasuk dalam uji skrining dilakukan uji konfirmasi dengan metode KLT minimal dua fase gerak yang berbeda, yang dalam pengujian ini digunakan TE dan TAE. Berdasarkan hasil pengujian kedua sistem fase gerak menunjukkan hasil positif senyawa morfin dengan kisaran TE 0,99618 dan TEA 0,99458 dan perhitungan menunjukkan bahwa nilai hRfc yang diperoleh dalam 8,5-19,5. Senyawa yang berada dalam rentang tersebut merupakan senyawa morfin dan hidromorfin. Sistem TE digunakan untuk

melakukan uji determinasi dan hasilnya menunjukkan nilai r^2 atau 0,9762 dengan nilai LoD 493,238 dan nilai LoQ 1494,66 ng. Dengan tiga kali pengulangan diperoleh data kadar senyawa morfin

dengan konsentrasi rata-rata 19,39 g/mL, masih di bawah dosis letal morfin dalam urin, yaitu 50-200µg/mL.

Tabel 1. Hasil review artikel

No	Analit	Matriks	Metode	Sistem	Hasil
1	Trimetoprim (TMP)	Plasma dan Urine Manusia	KCKT dengan detektor Photodiode Array Detector (PDA)	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak = asam asetat pH 2,5 : asetonitril dengan perbandingan 87 : 13 v/v Laju Alir = 1,4 mL/menit Kolom = Shimpack GIST® C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm) Detektor = PDA pada panjang gelombang 254 nm 	Memenuhi persyaratan validasi metode bioanalisis.
2	Siprofloksasin	Urine Manusia	Spektrofluorometri	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak = metanol, dapar fosfat-sitrat Detektor = Spektrofluorometri dengan panjang gelombang 445 nm dan 279 nm 	Memenuhi persyaratan validasi metode bioanalisis.
3	Acetaminophen	Urine Manusia dan Rambut	Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak: metanol, etil asetat Detektor: GC-MS dengan Agilent 6890N kromatografi gas dilengkapi dengan Agilent 5973 detektor massa selektif. 	Memenuhi persyaratan validasi metode bioanalisis.
4	Metanol	Urine Manusia	GC-FID	<ul style="list-style-type: none"> Fase Diam: polietilenglikol, detektor ionisasi nyala (<i>Flame Ionization Detector</i>), gas pembawa helium dan <i>make-up</i> gas nitrogen (gas tambahan) Detektor: GC-FID dilakukan pada suhu injektor 250 C, suhu detektor 300 C, dengan split rasio 1:50 	Memenuhi persyaratan validasi metode bioanalisis
5	Opiat	Urine Manusia	Spektrofotodensitometri	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak TE (etil asetat, metanol, amonia) Fase gerak TAE (metanol) Detektor: Spektrofotodensitometri 	Memenuhi persyaratan validasi metode bioanalisis



Gambar 1. Kromatogram A: Blanko urin tanpa kandungan obat; B: TMP dalam urin; C: Blanko plasma tanpa kandungan obat; D :TMP dalam plasma

KESIMPULAN

Dari beberapa jurnal yang telah di review mengenai metode validasi senyawa kimia obat menggunakan sampel biologis yaitu urin manusia dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yaitu KCKT-PDA, Spektrofluorometri, Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS), GC-FID, Spektrofotodensitometri. Dari metode tersebut, seluruhnya diperoleh hasil telah memenuhi syarat parameter uji seperti presisi, linearitas, akurasi, *Limit Of Detection* (LOD), dan *Limit Of Quantitation* (LOQ). Hal ini menunjukkan bahwa, sampel biologis urin manusia cukup akurat sebagai sampel yang digunakan dalam metode validasi analisis.

Metode Gas Chromatography (GC) dapat dikatakan sebagai metode valid dalam analisis senyawa metanol, hal ini dikarenakan hasil validasi diperoleh presentasi *recovery* sebesar 95,56% dan nilai %RSD sebesar 2,03%. Metode GC ini adalah metode yang paling valid dibandingkan dengan metode ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat dikarenakan pada proses GC ini dilakukan dengan sistem distilasi tertutup sehingga dapat meminimalisir hilangnya metanol pada saat proses preparasi.

REFERENSI

- Cahyani, D.E. (2020). Validasi Metode Analisis Spektrofluorometri Untuk Penetapan Kadar Siprofloksasin Generik Dalam Sampel Urin Manusia. *Jurnal Widya Warta*. 1(1); 111-121.
- Castiglione V, Cavalier E, Gadisseur R. (2018). Clinical data on rare Sulfamethoxazole crystalluria assessed by Fourier transform infrared spectrophotometry. *Data Brief*. 21:2033-2036. doi:10.1016/j.dib.2018.11.006.
- Darmapatni, A. G. K., Bawa Putra, A., Ariati, N., & Suaniti, N. (2014). Analisis Kualitatif Senyawa Parasetamol (Acetaminophen) Pada Urin Dan Rambut Menggunakan Kromatografi Gas Â Spektrometri Massa (Gc-Ms). *Jurnal Kimia*, 8(2), 257–262.
- Dewi, N. P. D. K., Indayanti, N. W. I., Sanjaya, I. K. N., Dewi, A. A. I. K., & Laksmiani, N. P. L. (2019). Screening and Determination of Opiates in Human Urine Samples By Immunoassay and TLC Spectrophotodensitometry. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*, 9(2), 82-88.
- Fatan, F. A., Qothrunnada, G. R., Elsiana, I., Ulum, K., Anisya Kurnia, K., Widyatamaka, S. Q., & Paujiah, S. (2022). Metode Validasi Analisis Senyawa Kimia Obat dalam

- Sampel Biologis (Plasma Darah). *Jurnal Health Sains*, 3(5), 680–689. <https://doi.org/10.46799/jhs.v3i5.489>
- Grantica, P. T. (2020). Blind Test Screening and Determination of Benzodiazepine Using Strip Test and Tlc-Spectrophotodensitometry. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences (IJLFS)*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.24843/ijlfs.2020.v10.i01.p01>
- Handayani, C., Mushlih, M., & Lestari, J. (2018). Validasi Metode Analisa Kadar Logam Fe Pada Rambut Masyarakat di Sekitar Kawasan Industri Semen. *Jurnal Katalisator*, 3(1), 36–42.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1 (3): 117-135.
- Hidayati, E.N., Alauhdin, M., Prasetya, A.T. (2014). Perbandingan Metode Destruksi Pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 3(1); 36-41.
- Hudaya, I. R., Hasna, V. L., Valensia, R., Hermawan, K. A., Hartati, H., Hasanah, F. F., & Aida, F. (2022). Metode Validasi Analisis Metamfetamin Dalam Sampel Biologis. *Syntax Admiration*, 3(4).
- Mahmudi, I., Suaniti, N. M., & Diantariani, N. P. (2023). Optimization Of Temperature of Urine Sample Storage for the Analysis of Metamfetamine Content and Its Metabolits With Gc-Ms. *Jurnal Kimia*, 25. <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2023.v17.i01.p04>
- Mariana, E., Cahyono, E., Rahayu, E. F., & Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 277-284.
- Notario, D., Amelia, J., Della, G. (2023). Pengembangan dan Validasi Metode Bioanalisis Trimetoprim dalam Sampel Plasma dan Urin Manusia Simulasi Menggunakan KCKT-PDA. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 13(1); 41-49. doi.org/10.22435/jki.v13i1.6189.
- Petri, William A., Jr. (2006). Sulfonamide, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Quinolones, and Agents for Urinary Tracts Infections. In: Laurence L. Brunton (Eds.). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed. 11th. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Yuwono, M., Muhammad, M. Indrayanto, G., (1999). *HPLC*. Surabaya: Unit Layanan Konsultasi, Pengujian dan Kerjasama Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, hal. 49-57.