

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR RESIDU
ANTIBIOTIK *CIPROFLOXACIN* PADA AIR SUNGAI DENGAN *HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

(Skripsi)

Oleh

HAFIZ SADEWA UTAMA

NPM 2117011072



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

OPTIMASI DAN VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR RESIDU ANTIBIOTIK *CIPROFLOXACIN* PADA AIR SUNGAI DENGAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Oleh

HAFIZ SADEWA UTAMA

Pencemaran perairan oleh residu antibiotik menjadi isu lingkungan yang semakin mendapatkan perhatian, khususnya *ciprofloxacin* yang banyak digunakan dalam bidang medis dan peternakan. *Ciprofloxacin* termasuk dalam golongan fluoroquinolone yang bersifat persisten dan sukar terdegradasi secara alami, sehingga berpotensi terakumulasi di lingkungan perairan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi dan validasi metode analisis *ciprofloxacin* menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) pada sampel air sungai. Proses optimasi dilakukan terhadap parameter kromatografi seperti panjang gelombang deteksi yang diperoleh panjang gelombang 280nm, komposisi fase gerak asetonitril (ACN) 80 % : trietanolamin (TEA) 1% 15:85 (v/v), dan diperoleh laju alir 1 ml/menit untuk pemisahan puncak yang tajam dan simetris. Pada uji validasi metode menggunakan HPLC menunjukkan koefisien korelasi (R) sebesar 0,9964 mengindikasikan linearitas yang baik, Metode ini memiliki sensitivitas memadai dengan LoD sebesar 0,25 ppm dan LoQ sebesar 0,84 ppm. Nilai simpangan baku relatif (RSD) sebesar 0,78% menunjukkan tingkat presisi yang dapat diterima, sedangkan % recovery sebesar 98,90%, dan memiliki selektivitas yang baik berada dalam rentang waktu retensi *ciprofloxacin* pada larutan standar murni dan campuran hampir sama, yaitu masing-masing 2,567 dan 2,600 menit. Metode ini terbukti efektif untuk mendeteksi dan mengukur kadar residu *ciprofloxacin* pada air sungai, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu cara pemantauan kualitas lingkungan dan pengendalian pencemaran antibiotik di perairan.

Kata kunci: *Ciprofloxacin*, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), validasi metode, optimasi, air sungai

ABSTRACT

OPTIMIZATION AND VALIDATION OF A METHOD FOR DETERMINING CIPROFLOXACIN ANTIBIOTIC RESIDUE LEVELS IN RIVER WATER USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

By

HAFIZ SADEWA UTAMA

Water pollution caused by antibiotic residues has become an increasingly concerning environmental issue, particularly ciprofloxacin, which is widely used in the medical and livestock sectors. Ciprofloxacin belongs to the fluoroquinolone class, which is known for its persistence and resistance to natural degradation, making it prone to accumulation in aquatic environments. This study aims to optimize and validate an analytical method for detecting ciprofloxacin using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) in river water samples. Optimization was carried out on chromatographic parameters such as detection wavelength, mobile phase composition, and flow rate to achieve sharp and symmetrical peak separation. Method validation included tests for linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), accuracy (recovery), precision (%RSD), and selectivity in accordance with relevant guidelines. The validation results showed that the developed method met valid criteria, with a correlation coefficient (r) > 0.99, low LOD and LOQ values, as well as good accuracy and precision. This method proved to be effective for detecting and measuring ciprofloxacin residues in river water, making it a valuable tool for environmental quality monitoring and antibiotic pollution control in aquatic systems.

Keywords: Ciprofloxacin, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), method validation, optimization, river water

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR RESIDU
ANTIBIOTIK *CIPROFLOXACIN* PADA AIR SUNGAI DENGAN *HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

Oleh

Hafiz Sadewa Utama

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mecapat gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2025

Judul Skripsi : OPTIMASI DAN VALIDASI METODE
PENENTUAN KADAR RESIDU
ANTIBIOTIK CIPROFLOXACIN PADA AIR
SUNGAI DENGAN HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

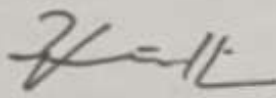
Nama Mahasiswa : Hafiz Sadewa Utama

Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011072

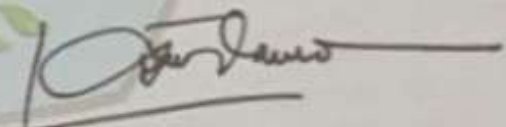
Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



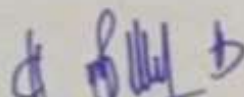


Rinawati, Ph.D.
NIP. 197104142000032001



Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.
NIP. 197007052005011003

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

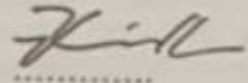


Prof. Dr. Rita Rilyanti, M.Si.
NIP. 197205302000032001

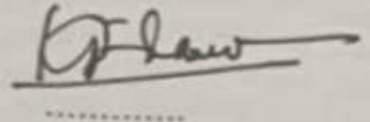
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

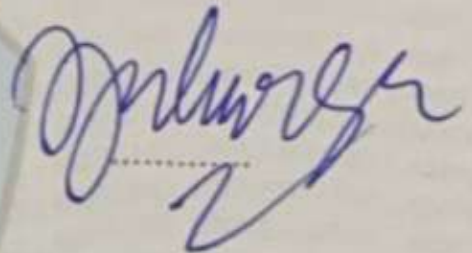
Ketua : Rinawati, S.Si., M.Si., Ph.D.



Sekretaris : Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.



Anggota : Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D.



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 07 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hafiz Sadewa Utama
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011072
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan ini sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul **“Optimasi Validasi Metode Penentuan Kadar Residu Antibiotik *Ciprofloxacin* Pada Air Sungai Dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”** adalah benar karya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Saya tidak keberatan jika data dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 25 Agustus 2025

Yang menyatakan



Hafiz Sadewa Utama

NPM. 2117011072

RIWAYAT HIDUP



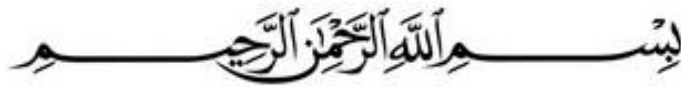
Penulis Bernama lengkap Hafiz Sadewa Utama, lahir di Bandar Lampung, 30 Maret 2001 dan merupakan anak terakhir dari tiga bersaudara, putra dari Bapak Es Wigit dan Ibu Suprihayati. Saat ini penulis bertempat tinggal di Jl. Delima, No.32, Kec. Kemiling, Kel. Beringin Raya, Kota Bandar Lampung, Lampung.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Dwi Tunggal Bandar Lampung pada tahun 2006 dan lulus pada Tahun 2007. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Beringin Raya, pada tahun 2007. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 14 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Kejuruan/Sekolah Menengah Teknik Industri (SMK-SMTI) Bandar Lampung jurusan Kimia Analis dan selesai pada tahun 2019. Pada tahun 2019 penulis terdaftar sebagai Staff Quality Control (QC) di PT. Golden Sari dan mengundurkan diri pada tahun 2021. Pada tahun 2021 Penulis melanjutkan pendidikan sebagai Mahasiswa Universitas Lampung, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berorganisasi mulai sebagai anggota Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) periode 2022. Pada 2022 penulis aktif di HIMAKI sebagai anggota bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi. Pada periode 2023 penulis aktif di HIMAKI sebagai ketua bidang

Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi. Penulis pernah mengikuti kegiatan sosial seperti Karya Wisata Ilmiah (KWI) BEM- FMIPA Unila pada 2021. Pada Bulan Juli sampai Agustus 2024, penulis melaksanakan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di PT Sumber IndahPerkasa Provinsi Lampung. Penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sukajaya Lempasing, Kabupaten Pesawaran pada bulan Januari sampai Februari 2023 selama 40 hari, serta menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi Kimia FMIPA Universitas Lampung yang diberi judul "**Optimasi Validasi Metode Penentuan Kadar Residu Antibiotik *Ciprofloxacin* Pada Air Sungai Dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**".

MOTTO



“Sesuatu yang kita usahakan dengan maksimal, semangat, penuh keyakinan dan diniatkan bermanfaat untuk orang lain niscaya Allah akan memberikan kelancaran dan kemudahan”

(Penulis)

“Bersyukurlah kepada Allah. Dan barangsiapa yang bersyukur (kepada Allah), maka sesungguhnya ia bersyukur untuk dirinya sendiri; dan barangsiapa yang tidak bersyukur, maka sesungguhnya Allah Maha Kaya lagi Maha Terpuji.”

(Q.S Luqman: 12)

"Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat."

(QS. Al-Mujadilah :11)

“Tidak ada kesulitan yang Allah berikan kecuali sesuai dengan kemampuan hamba-Nya”

(Q.S. Al-Baqarah:286)

“The noblest pleasure is the joy of understanding”

(Leonardo da Vinci)

PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan alhamdulillahirobbil'alamin puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang senantiasa diharapkan syafaatnya di hari akhir. Rasa syukur yang luar biasa ku persembahkan karya sederhanaaku sebagai wujud cinta, bakti, dan tanggung jawabku kepada

Orang tuaku Bapak Es Wigit dan Ibu Suprihayati, yang selalu memberikan cinta, kasih sayang, dukungan, doa, dan motivasi selama ini

Pembimbing penelitianku, Rinawati, Ph.D. dan Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc. dan semua dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membimbing, mendidik, memberikan banyak ilmu dan pengalamannya kepadaku

Seluruh rekan-rekan saudara-saudariku keluarga besar kimia 21 yang selalu berbagi kebahagiaan dan almamaterku yang kubanggakan, Universitas Lampung.

SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW yang selalu kita nantikan syafaat-Nya di Yaumil Akhir nanti. Aamiin ya rabbal alamin sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Validasi Metode Penentuan Kadar Residu Antibiotik *Ciprofloxacin* Pada Air Sungai Dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”.

Penulis menyadari bahwa dalam proses pengerjaan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari kesulitan dan rintangan yang penulis hadapi. Namun itu semua bisa terlewati berkat rahmat dan ridho Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua yang saya cintai, Papa Es Wigit dan Mama Suprihayati untuk segala cinta, kasih sayang, dukungan yang telah diberikan selama ini serta segala perjuangan dan pengorbanan tiada henti sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Ibu Rinawati, Ph.D., selaku pembimbing satu dan kepala laboratorium kimia analitik yang telah sabar membimbing, memberi masukan serta saran dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc., selaku pembimbing dua yang telah membimbing, memberikan ilmu, motivasi dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D., selaku penguji dan pembahas yang telah memberikan, motivasi, semangat, kritik, saran, dan arahan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S., selaku dosen pembimbing akademik yang memberikan semangat dan arahan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
8. Bapak serta Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
10. Rekan kerja dan juga sahabatku selama penelitian Aranca, Rima, Aviana dan Amel terima kasih untuk selalu kebersamaan serta bantuan yang selama ini diberikan, semoga Allah SWT memberikan balasan kebaikan pula.
11. Kakak-kakak Antibiotik, Leman, Salwa dan Dian terima kasih untuk semua bantuan, dukungan, kesabaran, keikhlasan, dan pengalamannya.
12. Sahabat seperjuangan penulis selama menjalani proses pendidikan, Abdurrachman, Andra, Radit, Abi, Fildza, Khairi, Annur dan Govin dan yang lainnya yang selalu kebersamaan, saling memberikan dukungan, serta semangat dan motivasinya.
13. Sahabat perdiskusianku Akbar SMTI, Bung Andri, Bagas, Ajo, Bayu, Ucok, Akbar Rumah dan Ilham yang telah memberikan motivasi, semangat dan mengisi waktu penatku untuk menumbuhkan ide ide emas .
14. Sahabat dan partner usahaku Imam Handoyo yang telah memberikan banyak solusi serta saran-saran yang sangat efektif sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dan usaha dengan berjalan baik.

15. Teman-teman Kimia Angkatan 2021 serta Kimia Kelas B 2021 yang senantiasa memberikan informasi dan membantu penulis.
16. Kepada seseorang yang tak kalah penting kehadirannya, Nina Nurullita, telah berkontribusi banyak dalam penyelesaian skripsi ini, memberikan dukungan baik tenaga, waktu maupun materil. Terima kasih telah menjadi bagian hidup penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Sebagai penutup, penulis menyampaikan permohonan maaf apabila dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Penulis sangat berterima kasih atas segala dukungan, bimbingan, serta kebaikan yang telah diberikan, semoga Allah SWT membalas dengan pahala yang berlipat ganda. Penulis berharap karya ini dapat memberikan manfaat, khususnya bagi mahasiswa/i kimia serta para pembaca, dan menjadi bahan rujukan dalam penelitian berikutnya demi kemajuan ilmu pengetahuan di masa mendatang.

Wassalamualaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Bandar Lampung, 25 Agustus 2025
Penulis

Hafiz Sadewa Utama
NPM. 2117011072

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Air Sungai	5
2.2 Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i>	6
2.3 Dampak Residu Antibiotik.....	7
2.4 <i>Dispersive Solid Phase Extraction</i> (DSPE)	8
2.5 <i>Graphene Oxide</i> (GO).....	10
2.4. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	11
2.5. Parameter HPLC	12
2.5.1 Waktu Retensi	12
2.5.2 Faktor Retensi	13
2.5.3 Faktor Selektivitas.....	14
2.6 Validasi Metode.....	14
2.6.1 Linearitas.....	15
2.6.2 Presisi	16
2.6.3 Akurasi	18
2.6.4 Selektivitas	19
2.6.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi	20
III.METODE PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat.....	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.3 Prosedur Kerja.....	23
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	23
3.3.2 Pembuatan <i>Graphene Oxide</i> (GO) Menggunakan Metode Hummers Termodifikasi	23

3.3.3 Preparasi Sampel Dengan Metode Desorpsi.....	24
3.3.4 Optimasi Fase Gerak <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	24
3.3.5 Pengujian HPLC	25
3.3.6 Uji Validasi Metode.....	26
3.3.7 Penentuan Kadar Residu <i>Ciprofloxacin</i> Pada Air Sungai	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Lokasi Pengambilan Sampel.....	29
4.2 Pembuatan Graphene Oxide (GO) Menggunakan Metode <i>Hummers</i> Termodifikasi	30
4.3 Optimasi Fase Gerak <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	32
4.3.1 Optimasi Komposisi Fase Gerak.....	33
4.4 Validasi Metode.....	39
4.4.1 Linearitas.....	40
4.4.2 Presisi	41
4.4.3 Akurasi	43
4.4.4 Selektivitas	44
4.4.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi	46
4.4.6 Penentuan Kadar Residu Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i> pada Sampel	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Batas keberterimaan presisi berdasarkan persamaan Horwitz	17
2. Persyaratan presisi dan % <i>recovery</i>	19
3. Nilai parameter optimasi komposisi fase gerak	35
4. Nilai parameter optimasi laju alir.....	38
5. Hasil presisi <i>repeatability</i> pada sampel air sungai.....	41
6. Hasil presisi <i>reproducibility</i> pada sampel air sungai hari pertama	42
7. Hasil presisi <i>reproducibility</i> pada sampel air sungai hari kedua.....	42
8. Hasil presisi <i>reproducibility</i> pada sampel air sungai hari ketiga	43
9. Hasil pengukuran akurasi pada sampel air sungai	44
10. Penentuan persamaan regresi	61
11. Penentuan konsentrasi untuk presisi <i>repeatability</i>	63
12. Penentuan konsentrasi untuk presisi <i>reproducibility</i> hari ke-1	65
13. Penentuan konsentrasi untuk presisi <i>reproducibility</i> hari ke-2	67
14. Penentuan konsentrasi untuk presisi <i>reproducibility</i> hari ke-3	69
15. Penentuan persamaan regresi	75

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Struktur <i>ciprofloxacin</i>	7
2. Skema teknik <i>dispersive solid phase extraction</i>	9
3. Kromatogram <i>ciprofloxacin</i>	12
4. Posisi LoD, LoQ dan rata-rata sinyal.....	21
5. Diagram alir penelitian.....	28
6. Peta lokasi pengambilan sampel	29
7. <i>Graphene oxide</i>	32
8. Kromatogram asetonitril : trietanolamin (15 : 85).....	33
9. Kromatogram asetonitril : trietanolamin (10 : 90).	34
10. Kromatogram asetonitril : trietanolamin (5 : 95).....	34
11. Kromatogram laju alir 0,5 mL/menit	37
12. Kromatogram laju alir 1 mL/menit	37
13. Kromatogram laju alir 1.5 mL/menit	38
14. . Kurva kalibrasi standar <i>ciprofloxacin</i>	40
15. Kromatogram larutan standar <i>ciprofloxacin</i> murni.....	45
16. Kromatogram larutan standar <i>ciprofloxacin</i> campuran.....	46
17. Kurva kalibrasi larutan standar <i>ciprofloxacin</i>	62
18. Kurva kalibrasi presisi <i>repeatability</i>	63
19. Kurva kalibrasi presisi <i>reproducibility</i> hari ke-1	65
20. Kurva kalibrasi presisi <i>reproducibility</i> hari ke-2	67
21. Kurva kalibrasi presisi <i>reproducibility</i> hari ke-3	69
22. Kurva kalibrasi akurasi	71
23. Kurva standar untuk penentuan konsentrasi sampel	75

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air yang banyak menjadi perhatian terkait dengan pencemaran adalah air permukaan atau air sungai. Permasalahan air jika dilihat dari segi kuantitas dan kualitas sangat hangat dibicarakan, banyak sebab yang membuat menurunnya kualitas dan kuantitas air terutama pencemaran. Pencemaran air sungai dapat berasal dari dua sumber yaitu sumber tertentu dan tak tentu. Sumber tertentu merupakan sumber yang berasal dari limbah aktivitas industri dan limbah domestik terpadu. Sumber limbah tak tentu berasal dari sumber kegiatan permukiman, pertanian, dan transportasi. Pencemaran air sungai dapat berupa cemaran fisik, biologi, dan kimia (Santika, 2020). Air sungai memiliki kandungan antibiotik seperti antibiotik *ciprofloxacin*. Senyawa antibiotik yang berada di lingkungan dalam jangka waktu tertentu dan terus menerus dapat menyebabkan beberapa mikroorganisme patogen menjadi persisten dan bertahan di lingkungan karena sulit diurai secara alami (Kurniawan *and* Mariadi, 2019).

Meningkatnya penggunaan antibiotik bagi manusia dan hewan dapat menyebabkan timbulnya masalah baru yang serius, yaitu munculnya residu antibiotik di lingkungan perairan residu antibiotik tersebut lama-kelamaan akan meningkatkan resistensi bakteri (Alsughayer *et al.*, 2021). Peningkatan penggunaan antibiotik pada manusia dan hewan mengakibatkan akumulasi residu antibiotik di lingkungan perairan. Akumulasi ini memicu munculnya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Faleye *et al.*, 2018).

Jenis antibiotik yang sering terdeteksi diantaranya *ciprofloxacin* sebagai antibakteri spektrum luas merupakan salah satu antibiotik golongan *fluoroquinolone* yang paling sering terdeteksi dan menimbulkan ancaman serius terhadap ekosistem dan kesehatan manusia dengan menginduksi proliferasi resistensi obat bakteri (Li *et al.*, 2014). Munculnya resistensi bakteri dan tingginya insiden efek samping neurologis, dermatologis dan gastrointestinal akhirnya membatasi penggunaannya dalam praktik klinis. *Ciprofloxacin* adalah contoh *fluoroquinolone* generasi kedua. *Fluoroquinolone* generasi kedua efektif melawan penyakit *pseudomonas* spp., beberapa bakteri gram positif termasuk *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan beberapa patogen atipikal (Sharma *et al.*, 2017).

Analisis residu antibiotik banyak dikembangkan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) seperti yang telah dilakukan oleh (Nugraheni, 2015). HPLC bekerja berdasarkan prinsip pemisahan komponen-komponen dalam sampel berdasarkan interaksi antara komponen-komponen tersebut dengan fase diam dalam kolom. Sampel yang dilarutkan dalam fase gerak akan dialirkan melalui kolom bertekanan tinggi. Komponen-komponen dalam sampel akan berinteraksi dengan fase diam dan terelusi pada waktu yang berbeda, sehingga dapat dideteksi secara terpisah (Ghanjaoui *et al.*, 2020). HPLC merupakan metode yang sangat efektif untuk memisahkan dan memurnikan senyawa. Keunggulannya meliputi kecepatan analisis, kemudahan penggunaan, pengurangan limbah, sensitivitas tinggi, fleksibilitas detektor, resolusi baik dan kemampuan menjaga integritas sampel (Kurniawan dan Mariadi, 2019).

Penentuan kadar residu *ciprofloxacin* perlu dilakukan preparasi sampel yang tepat untuk meningkatkan kemampuan deteksi dan mencegah instrumen dari kerusakan. Salah satu teknik preparasi sampel yang umum digunakan menggunakan metode *Dispersive Solid Phase Extraction* (DSPE) karena keunggulannya yaitu kemudahan dalam penggunaannya, jumlah pelarut organik yang minim, dan waktu yang efisien. Pada teknik DSPE sorban padat menjadi bagian yang sangat penting untuk ekstraksi analit. Bahan adsorben yang paling sering digunakan

untuk pengolahan air limbah mayoritas berbentuk mesopori atau berukuran nano karena mampu menyerap zat dengan sangat baik dan bisa digunakan kembali. Salah satu adsorben yang digunakan untuk metode DSPE ini menggunakan *graphene oxide* (GO).

Optimasi dan validasi metode pada penentuan residu *ciprofloxacin* dengan HPLC perlu dilakukan untuk mengetahui metode yang dilakukan telah sesuai dan memberikan hasil atau data yang dapat dipercaya. Pada penelitian ini akan menggunakan variasi fase gerak fase gerak yang terdiri dari asetonitril (ACN) 80% : trietanolamin (TEA) 1% 15:85 (v/v) metode. Serta pada penelitian ini dilakukan optimasi terhadap komposisi fase gerak untuk mendapatkan pemisahan yang lebih baik dalam kondisi optimal. Melalui penelitian ini akan mengoptimalkan dan membuktikan keandalan metode HPLC dalam menganalisis kandungan antiibiotik *ciprofloxacin* pada air sungai. Untuk memastikan hasil yang akurat dan terpercaya, beberapa parameter seperti presisi, akurasi, linearitas, selektivitas, batas deteksi terendah (LoD), dan batas kuantifikasi terendah (LoQ) akan diuji.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melakukan optimasi komposisi fase gerak dan laju alir pada penentuan kadar antibiotik *ciprofloxacin* dengan HPLC.
2. Melakukan validasi metode penentuan kadar residu antibiotik *ciprofloxacin* menggunakan HPLC dengan parameter presisi, akurasi, linearitas, selektivitas, batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ).
3. Mengaplikasikan metode penentuan kadar residu antibiotik *ciprofloxacin* pada sampel air sungai menggunakan HPLC.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai optimasi HPLC dan metode analisis penentuan kadar residu antibiotik *ciprofloxacin* dengan HPLC yang telah tervalidasi serta mengetahui kadar residu antibiotik *ciprofloxacin* pada salah satu air sungai yang berada di Kota Bandar Lampung.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Sungai

Air merupakan kebutuhan primer yang digunakan bagi makhluk hidup. Kualitas air sungai dipengaruhi oleh kualitas pasokan air yang berasal dari daerah tangkapannya, sedangkan kualitas pasokan air dari daerah tangkapan berkaitan dengan aktivitas manusia yang ada di dalamnya (Wiwoho, 2005). Saat ini masalah utama yang dihadapi adalah air yang ada dipermukaan sering tercemar sehingga mengurangi kualitas air. Penurunan kualitas air akan menurunkan daya guna, hasil guna, produktivitas, daya dukung dan daya tampung dari sumber daya air yang pada akhirnya menurunkan kekayaan sumber daya alam. Air yang sesuai standar tertentu saat ini menjadi barang yang mahal, karena air sudah banyak tercemar oleh bermacam macam limbah dari kegiatan manusia sehingga secara kualitas sumber daya air telah mengalami penurunan (Hakimah *et al.*, 2019).

Air sungai adalah sumber kehidupan yang sangat penting bagi manusia dan makhluk hidup lainnya. Pencemaran air akibat limbah farmasi telah menjadi masalah global serius. Berbagai jenis obat-obatan, termasuk antibiotik, telah ditemukan mencemari sumber air di berbagai benua, dan mengancam kesehatan manusia (Beek *et al.*, 2016). Limbah antibiotik masuk ke dalam lingkungan melalui beragam cara seperti limbah yang berasal dari rumah sakit, industri farmasi, peternakan, serta ekskresi langsung dari manusia dan hewan (Johansson *et al.*, 2014).

2.2 Antibiotik *Ciprofloxacin*

Antibiotik merupakan senyawa organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat atau mematikan pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu proses-proses penting dalam sel bakteri (Tjaboali, 2015). Antibiotik atau antibakteri didapatkan dari sintesis suatu senyawa organik dan berasal dari mikroorganisme (Chusna dkk., 2018).

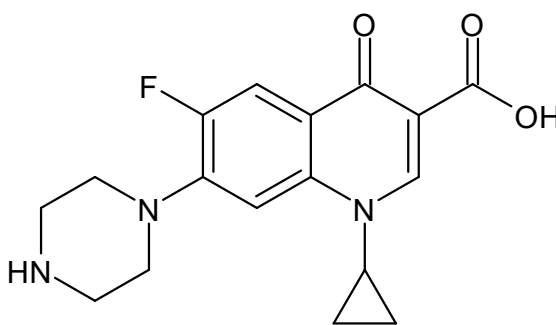
Antibiotik memiliki peran penting dalam bidang kesehatan dan peternakan. Selain digunakan untuk pengobatan infeksi bakteri pada manusia dan hewan, antibiotik juga berfungsi sebagai penambah pertumbuhan pada hewan ternak.

Pengelompokan antibiotik didasarkan pada struktur kimiawinya dan mekanisme kerjanya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, seperti yang telah diteliti oleh (Kaur and Kant, 2022).

Antibiotik dikelompokkan berdasarkan struktur kimia dan juga mekanisme kerjanya, salah satu antibiotik yang sering dipakai di Indonesia adalah *ciprofloxacin* (Thai *et al.*, 2023). *Ciprofloxacin* telah menarik perhatian sebagai antibiotik golongan fluoroquinolone yang banyak digunakan, dikenal karena kemanjurannya terhadap berbagai infeksi bakteri Gram-negatif seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Penyakit Salmonellaspp*, yang terkait dengan berbagai penyakit, termasuk gastroenteritis, infeksi saluran kemih, dan infeksi perut. *Ciprofloxacin* menunjukkan kemanjuran yang luar biasa terhadap bakteri Gram-positif (Rinawati *et al.*, 2024). *Ciprofloxacin* memiliki gugus amino (*piperazinil*) pada cincin heterosiklik dan juga memiliki dua konstanta disosiasi. *Ciprofloxacin* dilaporkan memiliki nilai pKa sebesar 5,76 (asam) dan 8,68 (basa). Mereka terdapat dalam bentuk *zwitter* ion dalam kondisi netral dan dalam bentuk kationik dalam kondisi asam (Gezahegn *et al.*, 2019).

Ciprofloxacin merupakan anggota golongan antibiotik *fluoroquinolone* yang telah berhasil digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi bakteri sejak tahun 1987 dan termasuk dalam daftar obat esensial Organisasi Kesehatan Dunia. *Ciprofloxacin* adalah antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat proses replikasi DNA bakteri. Prinsip kerja dari antibiotik berperan sebagai bakterisid

yaitu sebagai senyawa pembunuh bakteri yang dengan mekanisme mengikat enzim DNA gyrase. *Ciprofloxacin* memiliki rumus $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ dengan berat molekul sebesar 331,34 g/mol serta memiliki nama IUPAC *1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-quinoline 3-carboxylic acid* (Sharma *et al.*, 2010). *Ciprofloxacin* harus disimpan pada suhu 4 °C di tempat gelap untuk meminimalkan degradasi fotolitik, terutama dalam kondisi yang sedikit. *Ciprofloxacin* memiliki titik leleh pada suhu 313–315 °C, mudah larut dalam asam asetat, dan sedikit larut dalam air, metanol, etanol dan aseton (Rehman *et al.*, 2019). Struktur *ciprofloxacin* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur *ciprofloxacin*

2.3 Dampak Residu Antibiotik

Dampak berbahaya dari residu obat dan bahan kimia pada air terhadap kesehatan, yang berupa mutagen, karsinogenik, teratogenik, penurunan kinerja reproduksi, alergi obat, toksisitas akut atau keracunan pada manusia dan hewan (Jayalakshmi *et al.*, 2017). Produk farmasi memainkan peran penting dalam pengaturan homeostasis dan kesehatan hewan serta dapat meningkatkan kualitas hidup. Senyawa organik dan anorganik yang aktif secara farmasi telah digunakan untuk pengobatan dan penyembuhan berbagai penyakit. Penelitian melaporkan bahwa sejumlah besar kontaminan mikro telah ditemukan di lingkungan perairan selama 20 tahun terakhir (Daughton *et al.*, 2013). Pelepasan residu aktif biologis yang konsisten bahkan dalam jumlah kecil terutama antibiotik dalam ekosistem air dan tanah menjadi perhatian utama karena kontaminan mikro ini menyebabkan

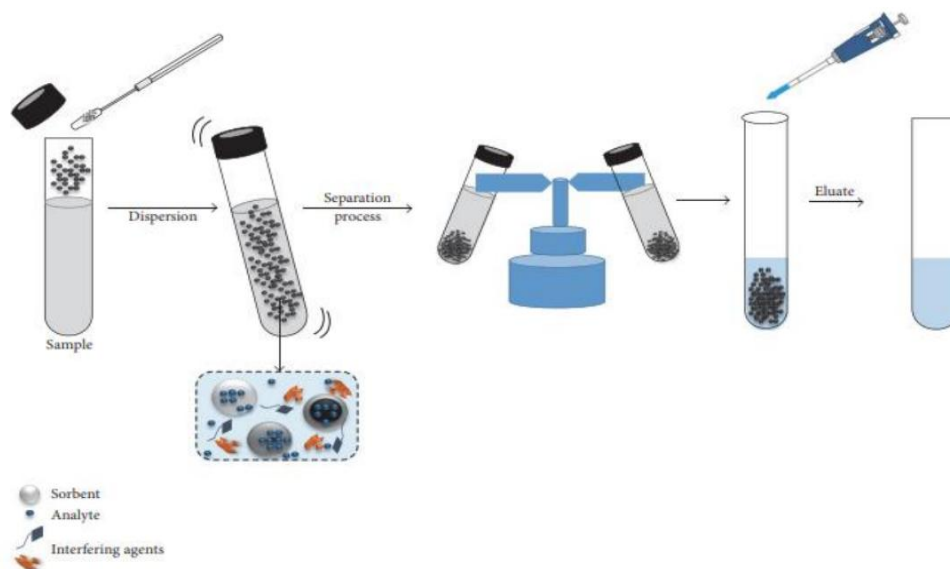
multiresistensi pada bakteri yang menimbulkan efek berbahaya bagi kesehatan pada akuakultur, manusia, pertanian dan ternak (Torres *et al.*, 2017).

Dampak buruk residu antibiotik terhadap kesehatan manusia dan mikrobioma ketika antibiotik masuk ke dalam tubuh manusia, residunya dapat berinteraksi dengan mikrobiota manusia mencakup berbagai macam mikroorganisme yang hidup di dalam tubuh manusia. Kasus yang lebih buruk lagi adalah jika bakteri usus memperoleh resistensi antibiotik berkembang biak dengan kecepatan yang belum pernah terjadi sebelumnya, dan muncul menjadi bakteri super, sindrom yang disebabkan oleh strain yang resistan ini mengakibatkan kematian karena tidak dapat disembuhkan. Pada penelitian sampel air yang dikumpulkan dari sungai Pearl, sungai Hai, sungai Liao dan sungai Kuning di Cina mengandung sejumlah antibiotik *ciprofloxacin* (653 ng/g) (Bilal *et al.*, 2020). Studi lain telah menemukan bahwa polutan *ciprofloxacin* telah terdeteksi pada lingkungan perairan. Konsentrasi rata-rata global *ciprofloxacin* yang terdeteksi pada air limbah sebesar 10-103 ng/L atau sebesar 10^{-2} -1 ppb (Kovalakova *et al.*, 2020), sedangkan pada air permukaan berada dalam kisaran 10-100 ng/L, dengan konsentrasi tertinggi mencapai 2,5-6,5 mg/L (Rinawati *et al.*, 2024).

2.4 Dispersive Solid Phase Extraction (DSPE)

Dispersive Solid Phase Extraction (DSPE) adalah teknik ekstraksi yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan analit dari sampel dengan menggunakan fase padat yang terdispersi dalam larutan. Teknik ini yang cukup mudah dan efisien dengan sejumlah keunggulan, seperti kemudahan penggunaannya, jumlah pelarut organik yang minim, dan waktu yang efisien (Bruni *et al.*, 2023). DSPE bekerja dengan cara menambahkan adsorben ke dalam larutan sampel, yang kemudian terdispersi secara merata di dalam larutan. Proses ini memfasilitasi interaksi langsung antara adsorben dan analit, sehingga analit dapat terikat pada permukaan adsorben. Setelah dispersi selesai, adsorben yang telah mengikat analit dipisahkan dari larutan menggunakan metode mekanis, seperti sentrifugasi atau filtrasi, untuk memperoleh analit yang terkonsentrasi dan

terpisah dari matriks sampel. mekanisme teknik DSPE ditunjukkan pada Gambar 2 (Islas *et al.*, 2017).



Gambar 2. Skema teknik *dispersive solid phase extraction* (Islas *et al.*, 2017).

Penggunaan DSPE dalam analisis dan deteksi kontaminan, termasuk residu antibiotik cukup umum karena efisiensinya yang tinggi dan cepat. Bahan yang berbasis kandungan karbon dapat menjadi pilihan sebagai adsorben untuk menghilangkan antibiotik dari air yang tercemar (Chen *and* Ye, 2017). Salah satu adsorben yang dapat digunakan adalah karbon aktif. Penggunaan karbon aktif yang berasal dari bahan alami tidak hanya efektif tetapi juga ramah lingkungan, karena banyaknya limbah organik yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan adsorben berkualitas tinggi (Pal *et al.*, 2020). Pada dasarnya, DSPE membutuhkan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sejalan dengan matriks analit yang digunakan agar analit dapat terelusi dari adsorben. Kepolaran elusi analit dari adsorben ini sesuai dengan prinsip "*like dissolves like*", yang berarti senyawa non polar akan larut dalam pelarut polar, begitu pula sebaliknya (Ścigalski *and* Kosobucki, 2020).

2.5 Graphene Oxide (GO)

Graphene Oxide (GO) adalah struktur lapisan karbon dengan gugus fungsi =O, -OH, -O-, dan -COOH yang melekat pada kedua sisi lapisan serta tepi bidang sehingga menghasilkan campuran atom karbon yang berhibridisasi sp^2 dan sp^3 (Tohamy *et al.*, 2020). GO dan turunannya memiliki beberapa keunggulan berupa sifat listik, kimia, dan mekanik yang baik sehingga darapt diaplikasikan pada berbagai bidang. GO memiliki fleksibilitas, stabilitis kimia dan termal yang baik serta memiliki luas permukaan tinggi yang spesifik (Smith *et al.*, 2019). Gugus fungsi oksigen polar menyebabkan GO bersifat hidrofilik dan relatif polar (Ramesha *et al.*, 2011). Hal tersebut memungkinkan GO memiliki dispersibilitas yang sangat baik dalam banyak pelarut, terutama dalam air. Selain itu, gugus fungsi yang mengandung oksigen dapat menyediakan situs reaktif untuk modifikasi kimia atau fungsionalisasi GO (Razaq *et al.*, 2022). GO dapat digunakan sebagai adsorben untuk menyerap ion logam, pewarna, dan, dan polutan mikro organik melalui tarikan elektrostatik, ikatan hidrogen, interaksi π , dan gaya interaksi lainnya (Zhao *et al.*, 2021). Dalam beberapa studi yang telah dilakukan, GO dapat digunakan untuk menyerap *Norfloxacin* (Lebron *et al.*, 2020), *Methadone* (Gupta *et al.*, 2017), *Trimethoprim* dan *Isoniazid* (Salihia, *et al.*, 2021) dan antibiotik lainnya.

GO dapat disintesis dengan berbagai cara, seperti metode Brodie, Staudenmaier, Hummers, dan Hummers termodifikasi.

1. Metode Brodie

Benjamin Brodie mengolah grafit dalam campuran kalium klorat dan asam nitrat berasap pada suhu 60 °C kemudian dilakukan beberapa perlakuan oksidatif satu demi satu sehingga dihasilkan komposisi dengan formula. Produk yang dihasilkan larut dalam air murni, tetapi cenderung berflokulasi dalam lingkungan yang lebih asam. Sintesisnya tersebut juga membutuhkan waktu yang lama dan memicu pembentukan ClO_2 yang mudah meledak.

2. Metode Staudenmaier

Metode Staudenmaier berlangsung lebih cepat dibandingkan Broodie karena membantu proses oksidasi terjadi dalam satu langkah, sehingga meningkatkan

efisiensi proses. Penggunaan H_2SO_4 digunakan sebagai pengganti HNO_3 dalam proses oksidasi graphene. Namun, adanya penggunaan KClO_3 menyebabkan sintesis harus dalam kondisi suhu tinggi, sekitar 90°C selama 4 hari yang dapat menimbulkan risiko ledakan (Ikram *et al.*, 2020).

3. Metode Hummers

Metode Hummers merupakan metode yang lebih cepat dibandingkan dengan metode lainnya, di mana proses oksidasi dapat dilakukan dalam satu kali percobaan. Bahan KMnO_4 digunakan sebagai pengganti KClO_3 untuk mencegah terjadinya ledakan pada proses oksidasi. NaNO_3 digunakan sebagai pengganti HNO_3 yang bertujuan untuk mencegah terbentuknya kabut asam. Namun, gas beracun seperti NO_2 dan N_2O_4 dapat terbentuk pada proses sintesis (Zaaba *et al.*, 2017).

4. Metode Hummers Termodifikasi

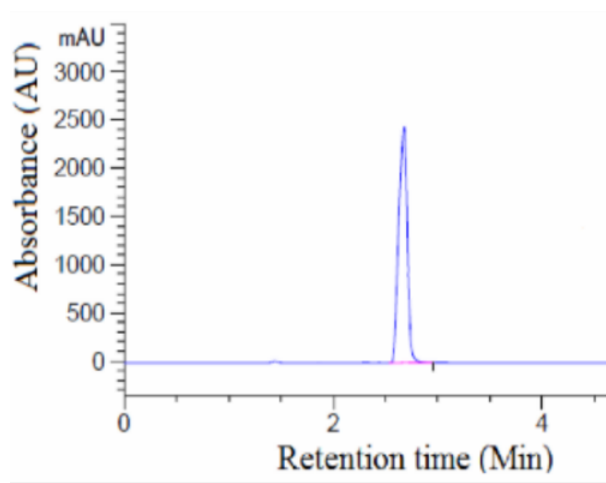
Metode Hummers Termodifikasi dilakukan dengan meningkatkan oksidan KMnO_4 , meniadakan penggunaan NaNO_3 , dan melakukan reaksi dalam campuran dari $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$. Dengan adanya modifikasi, produksi gas-gas beracun dapat dikurangi (Santamaria *et al.*, 2019).

2.4. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Chromatography merupakan metode pemisahan suatu campuran yang didasarkan pada perbedaan kecepatan perpindahan komponen-komponennya dalam media tertentu. Kata "*Chromatography*" berasal dari kata "*chroma*" yang berarti warna dan "*graphein*" yang berarti tulisan. Prinsip utama dari teknik ini adalah pemisahan komponen berdasarkan perbedaan sifat fisik antara fase diam dan fase gerak. Kromatografi dapat digunakan untuk keperluan analisis kualitatif maupun kuantitatif. Secara umum, semua jenis kromatografi terdiri atas dua fase, yakni fase diam dan fase gerak (Ardianingsih, 2009). HPLC adalah teknik analisis kimia yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur komponen dalam campuran larutan. Prinsip dasar HPLC melibatkan pemisahan senyawa berdasarkan interaksinya dengan fase diam dan fase gerak. Dengan memilih

kolom, komposisi fase bergerak, dan metode deteksi yang tepat secara cermat. Prinsip pemisahan pada HPLC, yaitu sampel akan melewati kolom atau fase diam kemudian analit yang memiliki interaksi terkuat dengan fase diam akan terelusi lebih lama, yang menunjukkan waktu retensi terlama (Siddique, 2023).

Ciprofloxacin dapat dideteksi oleh HPLC menggunakan elusi isokratik pada suhu 25 °C dengan kolom C18 (4,6 x 150 nm). Fase gerak terdiri asetonitril (ACN) 80% : trietanolamin (TEA) 1% 3:97 (v/v). Laju alirannya adalah 1,2 mL/menit dan volume injeksinya adalah 20 µl. Pengukuran UV dilakukan pada panjang gelombang 280 nm. Waktu retensi yang dihasilkan antara 2,480 menit untuk sampel. Metode tersebut memiliki rata-rata standar deviasi (RSD) sebesar 0,58% yang menandakan bahwa metode tersebut memiliki tingkat presisi yang tinggi. Metode tersebut juga memiliki *limit of detection* (LOD) dan *limit of quatification* (LOQ) sebesar 0,0008 µg/mL dan 0,0024 µg/mL (Elgendy *et al.*, 2023).



Gambar 3. Kromatogram *ciprofloxacin*.

2.5. Parameter HPLC

2.5.1 Waktu Retensi

Waktu retensi merujuk pada durasi perjalanan suatu zat dari titik injeksi hingga terdeteksi di ujung kolom kromatografi. Waktu ini sangat dipengaruhi oleh

interaksi antara zat dengan fase diam kolom. Setiap zat memiliki waktu retensi yang khas pada kondisi kromatografi tertentu. Namun, waktu retensi bukan parameter yang spesifik untuk identifikasi zat, karena dapat berubah jika kondisi kromatografi diubah. Waktu retensi yang ideal umumnya disarankan kurang dari 10 menit untuk efisiensi analisis (Depkes RI, 1995).

2.5.2 Faktor Retensi

Menunjukkan seberapa lama suatu zat dalam sampel tertahan di kolom dibandingkan dengan zat yang langsung lewat. Ini dihitung dengan membagi waktu yang dibutuhkan zat untuk keluar dari kolom dengan waktu yang dibutuhkan zat yang tidak tertahan sama sekali. Hubungan antara waktu retensi dan faktor retensi dapat dilihat pada Persamaan 1, yaitu semakin besar nilai t_R maka semakin besar juga nilai k' . Nilai k' yang disarankan yaitu $2 \leq k' \leq 10$ menit. Faktor retensi dapat dihitung dengan Persamaan 2, di mana V_R adalah retensi volume analit (mL), V_0 adalah retensi volume fase gerak (mL), t_R adalah waktu retensi dalam menit, dan t_0 adalah waktu retensi analit yang tidak tertahan dalam menit.

$$T_R = t_0 (1 + k') \quad (1)$$

$$K', \frac{V_R - V_0}{V_0} = \frac{t_R}{t_0} \quad (2)$$

Keterangan :

T_R = waktu retensi senyawa (menit).

t_0 = waktu retensi analit yang tidak tertahan dalam menit.

k' = faktor kapasitas.

K' = koefisien kapasitas.

V_0 = volume mati atau volume holdup (mL), yaitu volume fase gerak yang dibutuhkan untuk elusi. komponen yang tidak tertahan.

V_R = Volume retensi (mL), yaitu volume fase gerak yang diperlukan untuk mel elusi senyawa dari kolom.

Nilai k' merupakan parameter kunci dalam kromatografi yang menunjukkan kekuatan interaksi antara analit dengan fase stasioner. Jika nilai k' terlalu rendah, analit akan terelusi terlalu cepat, sehingga sulit untuk dipisahkan dari komponen lain dalam sampel. Akibatnya, puncak kromatogram akan tumpang tindih dan resolusi menjadi buruk. Sebaliknya, jika nilai k' terlalu tinggi, analit akan tertahan terlalu lama di dalam kolom, sehingga waktu analisis menjadi sangat panjang. Selain itu, risiko terjadinya tailing (puncak kromatogram yang menyeret) juga meningkat.

2.5.3 Faktor Selektivitas

Faktor selektivitas menggambarkan posisi relatif dua puncak komponen yang berdekatan yakni perbandingan waktu retensi komponen B dengan waktu retensi komponen A. Nilai faktor selektivitas (α) dapat dihitung dengan Persamaan 3.

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{t_{RB}}{t_{RA}} = \frac{t_{RB} - t_0}{t_{RA} - t_0} \quad (3)$$

Keterangan :

- α = Faktor selektivitas (selectivity factor), digunakan untuk menyatakan kemampuan sistem kromatografi dalam memisahkan dua komponen (A dan B). A, sehingga dapat dipisahkan dengan baik.
- k'_B = faktor kapasitas untuk komponen B.
- t_{RB} = waktu retensi komponen B.
- t_{RA} = waktu retensi komponen A.
- t_0 = waktu elusi komponen yang tidak tertahan dalam kolom.

2.6 Validasi Metode

Validasi metode merujuk pada proses untuk memastikan bahwa suatu metode atau teknik yang digunakan dalam penelitian, analisis, atau pengukuran adalah tepat, akurat dan sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai. Proses ini penting untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh dari metode tersebut dapat diandalkan

dan valid (Mirzaei *et al.*, 2018). Berbagai parameter yang digunakan untuk validasi metode meliputi linearitas, presisi, akurasi, selektivitas dan batas deteksi.

2.6.1 Linearitas

Linearitas menunjukkan bahwa hasil pengukuran atau respons sistematis terhadap konsentrasi atau jumlah suatu analit dapat digambarkan dengan persamaan garis lurus. Linearitas yang baik menandakan bahwa metode tersebut dapat diandalkan dalam berbagai rentang pengukuran (Mahmood *et al.*, 2019). Linearitas secara matematis dinyatakan sebagai persamaan garis linear seperti pada Persamaan 4 dengan a adalah intercept (Persamaan 5), b adalah slope (Persamaan 6) dan r adalah koefisien korelasi (Persamaan 7).

$$y = a + bx \quad (4)$$

$$a = \frac{\Sigma Y - b(\Sigma x)}{n} \quad (5)$$

$$b = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma)^2} \quad (6)$$

$$r = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{\sqrt{\{(n\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2\}\{n\Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2\}}} \quad (7)$$

Keterangan :

- y = respons instrumen (luas puncak kromatogram).
- x = konsentrasi analit (ppm).
- a = intersep, yaitu nilai y saat x = 0.
- b = slope (kemiringan garis), menunjukkan perubahan respons terhadap perubahan konsentrasi.
- r = koefisien korelasi, menunjukkan derajat kedekatan antara titik data terhadap garis regresi (nilai ideal mendekati ± 1).
- n = jumlah data.
- Σ = simbol jumlah.
- ΣXY = jumlah dari hasil perkalian antara nilai x dan y.

- $\sum X$ = jumlah seluruh nilai konsentrasi.
 $\sum Y$ = jumlah seluruh nilai respons.
 $\sum X^2$ = jumlah kuadrat dari nilai x.
 $\sum Y^2$ = Jumlah kuadrat dari nilai y.

Linearitas dapat ditentukan dari nilai koefisien korelasi (r). Nilai (r) yang mendekati 1 menggambarkan bahwa konsentrasi larutan standar sebanding dengan respon/intensitas hasil pengukuran. Menurut Eurachem dan AOAC, nilai koefisien korelasi (r) yang memenuhi persyaratan adalah sebesar $\geq 0,990$ (Eurachem, 2014) dan $\geq 0,9950$ (AOAC, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengukuran tersebut dapat diterima sebagai pembandingan atau acuan dalam pengukuran sampel.

2.6.2 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan sejauh mana hasil pengujian individu dari sampel sesuai satu sama lain, yang diukur melalui rata-rata sebaran hasil tersebut. Ini dilakukan dengan menerapkan prosedur analisis yang sama berulang kali pada sampel dari campuran yang homogen. Penentuan presisi dilakukan dengan menganalisis sebuah sampel melalui beberapa kali pengulangan. Selanjutnya, dihitung rata-rata (mean), simpangan baku (SD), dan persentase simpangan baku relatif (% RSD) dari hasil pengukuran tersebut (Riyanto, 2014). Pada Persamaan 8 dan 9, SD adalah simpangan baku, x_i adalah nilai luas puncak larutan ke-i, $\bar{x}$ adalah nilai arus puncak rata-rata, $n-1$ adalah derajat kebebasan (dengan n adalah banyaknya pengulangan), RSD adalah simpangan baku relatif dan x adalah konsentrasi rata-rata analit.

$$SD = \left[\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (9)$$

Keterangan :

SD = simpangan baku (SD).

% RSD = simpangan baku relatif.

$\bar{x}$ = nilai rata-rata dari seluruh pengamatan.

Penentuan presisi dapat dilakukan dengan cara yaitu dengan keterulangan (*repeatability*) dan ketertiruan (*reproducibility*). *Repeatability* adalah penentuan presisi yang dilakukan berulang dengan analisis yang sama pada kondisi yang relatif sama dan interval yang pendek (hari yang sama), sedangkan *reproducibility* adalah penentuan presisi yang dilakukan berulang pada analisis dan kondisi yang berbeda, misalnya interval yang panjang (hari yang berbeda).

Menurut aturan Horwitz (1995), metode presisi yang baik menunjukkan % RSD yang diperoleh lebih kecil dari nilai batas keberterimaan presisi berdasarkan persamaan Horwitz. % RSD Horwitz dapat dihitung menggunakan Persamaan 10, di mana C adalah rata-rata konsentrasi (fraksi konsentrasi). Tabel 1 di bawah dapat digunakan sebagai acuan batas keberterimaan presisi berdasarkan Persamaan Horwitz (10).

$$\text{Horwitz \% CV} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (10)$$

Tabel 1. Batas keberterimaan presisi berdasarkan persamaan Horwitz

Unit	Ketelitian Pengulangan (1/2%CVHorwitz)	Reproduksibilitas dalam laboratorium (2/3%CVHorwitz)	Reproduksibilitas antar laboratorium (%CVHorwitz)
100 %	1,0	1,3	2,0
10 %	1,4	1,9	2,88
1 %	2,0	2,7	4,0
0,1 %	2,8	3,8	5,7
100 ppm	4,0	5,3	8,0
10 ppm	5,7	7,5	11,3
1 ppm	8,0	10,7	16,0
100 ppb	11,3	15,1	22,6
10 ppb	16,0	21,3	32,0
1 ppb	22,6	30,2	45,3

Sumber : Horwitz (1995)

2.6.3 Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menggambarkan sejauh mana hasil analisis mendekati kadar analit yang sebenarnya. Akurasi biasanya dinyatakan sebagai persentase perolehan kembali % *recovery* analit. Penilaian akurasi dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu metode penambahan standar dan metode menggunakan Bahan *Certified Reference Material* (CRM) (Harmita, 2004).

Pada metode penambahan baku, sampel dianalisis terlebih dahulu kemudian sejumlah larutan standar ditambahkan ke dalam sampel tersebut, selanjutnya dihomogenkan dan dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar sebenarnya (AOAC, 2012). Perhitungan % *recovery* dari metode penambahan baku dapat ditetapkan dengan menggunakan Persamaan 11. Metode menggunakan CRM dapat dilakukan dengan membandingkan antara nilai rata-rata hasil pengukuran pengujian dengan nilai sebenarnya dari CRM yang dinyatakan dalam persentase. Perhitungan % *recovery* menggunakan CRM dapat ditetapkan dengan menggunakan Persamaan 11.

$$\% Recovery = \frac{C \text{ sampel spike} - C \text{ sampel}}{\text{Kadar yang ditambahkan}} \times 100\%$$

Atau (11)

$$\% Recovery = \frac{\text{Kadar yang diperoleh}}{\text{Kadar yang ditambahkan}} \times 100\%$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar

Tabel 2. Persyaratan presisi dan % *recovery*

Analit	Rasio Analit	Unit	RSD (%)	<i>Recovery</i> (%)
100	10	100 %	1,3	98-102
10	10	10 %	1,9	98-102
1	10	1 %	2,7	97-103
0,1	10	0,10 %	3,8	95-105
0,01	10	100 ppm	5,3	90-107
0,001	10	10 ppm	7,5	80-110
0,0001	10	1 ppm	11	80-110
0,00001	10	100 ppb	15	80-110
0,000001	10	10 ppb	21	60-115
0,0000001	10	1 ppb	30	40-120

Sumber : AOAC (2012)

Keterangan :

RSD : Simpangan baku relatif.

2.6.4 Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan yang hanya dapat mengukur zat tertentu secara seksama dan cermat meskipun mungkin terdapat komponen lain dalam matriks sampel (Harmita, 2004). Selektivitas dapat ditentukan dari kromatogram pengukuran larutan standar yang memiliki puncak baik dengan tidak terbentuk tailing. Pada metode analisis yang melibatkan kromatografi, selektivitas ditentukan melalui waktu retensi. Pada metode HPLC, sistem yang dipakai harus bersifat selektif untuk zat yang ditentukan, artinya puncak zat-zat tersebut pada kromatogram harus terpisah dari zat lain, misalnya agar terjadi pemisahan yang baik terhadap zat yang strukturnya mirip, maka harga resolusinya sebaiknya lebih besar dari 1,5.

2.6.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Limit of Detection (LoD) atau limit deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan *Limit of Quantitation* (LoQ) atau limit kuantitasi adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat. Nilai LoD dan LoQ diperoleh berdasarkan pada standar deviasi (Mahmood *et al.*, 2019).

Batas deteksi dapat ditentukan melalui analisis blanko. Penentuan blanko dilakukan ketika hasil analisis blanko menunjukkan intensitas yang tidak sama dengan nol. Batas deteksi dinyatakan sebagai konsentrasi analit yang sama dengan nilai blanko sampel ditambah tiga standar deviasi, sementara batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit yang setara dengan nilai blanko sampel ditambah sepuluh standar deviasi. Ini dinyatakan dalam Persamaan 12 dan Persamaan 13, di mana $\bar{x}$ adalah konsentrasi rata-rata blanko dan SD adalah standar deviasi.

$$\text{LoD} = \bar{x} + 3 \text{ SD} \quad (12)$$

$$\text{LoQ} = \bar{x} + 10 \text{ SD} \quad (13)$$

Keterangan :

$\bar{x}$ = rata-rata dari hasil pengukuran blanko.

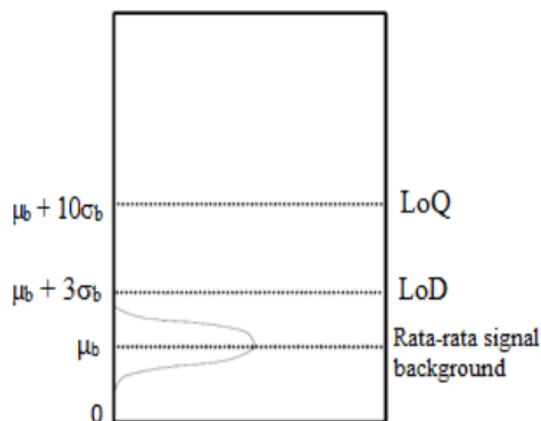
SD = standar deviasi.

LoD = *Limit of Detection*.

LoQ = *Limit of Quantification*.

Cara lainnya yaitu melalui penentuan rasio S/N (*signal to noise ratio*). Penentuan dengan menggunakan rasio S/N dilakukan dengan memperhatikan puncak ke puncak kebisingan yang berada di sekitar waktu retensi analit, lalu konsentrasi analit yang akan menghasilkan sinyal yang sama dengan nilai tertentu dapat diperkirakan (Riyanto, 2014). Kebisingan (*noise*) dapat diukur secara manual atau otomatis dari instrumen. Rasio S/N didapatkan dari pembagian antara konsentrasi

rata-rata dan SD (Utami, 2017). Nilai LoD yaitu nilai konsentrasi saat ratio S/N = 3, sedangkan nilai LoQ yaitu nilai konsentrasi saat rasio S/N = 10. Posisi LoD dan LoQ dalam kromatogram dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Posisi LoD, LoQ dan rata-rata sinyal

Batas deteksi juga dapat ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Respon instrumen y diasumsikan berhubungan linear dengan konsentrasi x standar untuk rentang konsentrasi yang terbatas. Hal ini dapat dinyatakan dengan persamaan regresi (Persamaan 4). Model ini digunakan untuk menghitung sensitivitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung sesuai Persamaan 14 dan Persamaan 15, di mana $S_{y/x}$ adalah simpangan baku fungsi regresi (Miller *and* Miller, 1991).

$$\text{LoD} = \frac{3S_{y/x}}{\text{Slope}} \quad (14)$$

$$\text{LoQ} = \frac{10S_{y/x}}{\text{Slope}} \quad (15)$$

Keterangan :

$S_{y/x}$ = simpangan baku residual dari regresi.

Slope = kemiringan dari kurva kalibrasi (b).

LoD = *Limit of Detection*.

LoQ = *Limit of Quantification*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2024 sampai April 2025 di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi FMIPA Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sistem *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Thermo Scientific Vanquish, dan kolom C18 (Hypersil ODS) 5 μ m, 4,6 mm x 250 mm. Alat lainnya yang digunakan adalah syringe HPLC, sonikator Branson 1510, magnetic stirrer, botol vial 2 mL 9 mm, neraca analitik, pH meter, centrifuge, tabung sentrifus, pipet tetes, labu ukur 25 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 100 mL, gelas beaker 25 mL, gelas beaker 50 mL, gelas beaker 100 mL, gelas beaker 500 mL, gelas beaker 100 mL, pipet volume 5 mL, pipet volume 25 mL dan spatula.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar *ciprofloxacin*, asetonitril 80%, metanol, asam asetat, trietanolamin (TEA) 1%, KMnO_4 , H_2O_2 30%, H_2SO_4 96%, akuades, Water One, water HPLC, HCl 0,5 M, HCl 5%, , BaCl_2 , penyaring Puradisc 25 NYL, membran filter Whatman 0,45 μ m Nylon, syringe filter Whatman 0,2 μ m PTFE, indikator universal, tisu, aluminium foil, kertas saring dan air sungai.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Pengambilan Sampel

Mengambil 1000 mL sampel air sungai yang berada dibawah 1 m dari atas permukaan air yang kemudian disimpan pada wadah plastik dengan suhu 4 °C dalam perjalanan ke laboratorium (Patrolecco *et al.*, 2018).

3.3.2 Pembuatan Graphene Oxide (GO) Menggunakan Metode Hummers Termodifikasi

Sebanyak 1 g grafit dicampurkan dengan larutan 23 mL H₂SO₄ 96% dalam gelas kimia 500 mL dengan pengadukan selama 30 menit menggunakan magnetik stirrer dalam wadah berisi es. Sebanyak 3 g KMnO₄ ditambahkan secara perlahan ke dalam campuran sambil dilakukan pengadukan dengan magnetik stirrer dengan suhu dipertahankan agar berada di bawah 10 °C. Kemudian, campuran diaduk pada suhu 35 °C selama 30 menit. Sebanyak 46 mL akuades ditambahkan secara perlahan hingga terjadi kenaikan suhu mencapai 98 °C, lalu didiamkan selama 15 menit. Setelah itu, 140 mL akuades ditambahkan ke dalam campuran, diikuti dengan penambahan 10 mL H₂O₂ 30% sambil diaduk dengan magnetik stirrer selama 10 menit. Suspensi yang terbentuk dicuci dengan HCl 5% untuk menghilangkan ion sulfat dan dilakukan uji dengan larutan barium klorida untuk memastikan bahwa ion sulfat telah hilang yang ditandai dengan tidak adanya endapan berwarna putih. Kemudian, cuci dengan akuades hingga pH 5, lalu disentrifugasi selama 10 menit. Padatan yang dihasilkan didispersikan dalam 450 mL akuades dan disonikasi selama 2 jam, lalu disaring dengan kertas saring. Padatan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60 °C selama 5 jam dalam oven (Sujiono *et al.*, 2020).

3.3.3 Preparasi Sampel dengan Metode Desorpsi

Sebanyak 20 mL larutan sampel ditambahkan kedalam 20 mg *graphene oxide*. Campuran yang dihasilkan dihomogenkan menggunakan stirrer 50 menit, lalu *graphene oxide* dipisahkan dari larutan dengan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama variasi waktu pada kondisi optimum. Larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring, endapan yang dihasilkan dielusi menggunakan pelarut asam asetat-metanol (2:8). Kemudian dilakukan penyaringan dan menghasilkan filtrat atau larutan sampel.

3.3.4 Optimasi Fase Gerak *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

3.3.4.1 Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak terdiri dari campuran ACN 80% : trietanolamin (TEA) 1% 15:85 (v/v) kemudian disonikasi selama 20 menit (Elgendy *et al.*, 2023).

3.3.4.2 Pembuatan Larutan Induk *Ciprofloxacin*

Larutan *ciprofloxacin* 500 ppm dengan menimbang 12,5 mg *ciprofloxacin*, dilarutkan dengan water grade *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam labu ukur 25ml hingga tanda tera.

3.3.4.3 Pembuatan Larutan Standar *Ciprofloxacin*

Larutan standar *ciprofloxacin* 50 ppm dibuat dengan memipet larutan *ciprofloxacin* 500 ppm sebanyak 2,5 mL ke dalam labu ukur 25 mL kemudian

ditambahkan fasa gerak hingga tanda tera lalu dihomogenkan, sedangkan larutan standar *ciprofloxacin*, 10;8;6;4;2 ppm dibuat dengan memipet larutan *ciprofloxacin*, 50 ppm sebanyak 5;4;3;2;1 mL ke dalam labu takar mL kemudian ditambahkan fasa gerak hingga tanda tera, lalu dihomogenkan.

3.3.4.4 Optimasi komposisi Fase Gerak

Optimasi ini dilakukan dengan variasi komposisi fase gerak terdiri dari campuran asetonitril (ACN) : TEA (v/v) yaitu 15:85 ; 10:90; dan :95:5. Kondisi optimum ditentukan dengan waktu retensi, bentuk peak, dan efisiensi kolom puncak kromatogram masing-masing komposisi fase gerak tersebut.

Ciprofloxacin, dapat dideteksi oleh HPLC menggunakan elusi isokratik pada suhu 25 °C dengan kolom C18 (4,6 x 250 mm). Fase gerak terdiri ACN 80% : TEA 1% 15:85 (v/v). Laju alirannya adalah 1 mL/menit dan volume injeksinya adalah 20 µl. Pengukuran UV dilakukan pada panjang gelombang 280 nm (Elgendy *et al.*, 2023).

3.3.4.5 Optimasi Laju Alir Fase Gerak

Optimasi ini dilakukan dengan variasi laju alir fase gerak dari 0,5 dan 1,5 mL/menit menggunakan komposisi fase gerak optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Kondisi optimum ditentukan dengan waktu retensi, bentuk peak, dan efisiensi kolom puncak kromatogram masing-masing laju alir fase gerak tersebut.

3.3.5 Pengujian HPLC

Ciprofloxacin, dapat dianalisis menggunakan HPLC dengan metode elusi isokratik pada suhu 25 °C menggunakan kolom C18 berukuran 4,6 x 250 mm.

Fase gerak yang digunakan terdiri dari campuran 80% asetonitril (ACN) dan trietanolamin (TEA) 1% 15:85 (v/v). Laju alir yang diterapkan sebesar 1 mL/menit dan volume injeksi sampel sebesar 20 μ L. Deteksi dilakukan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 280 nm (Elgendy *et al.*, 2023).

3.3.6 Uji Validasi Metode

Setelah ditentukan kondisi optimum HPLC, selanjutnya dilakukan uji validasi metode dengan parameter yaitu linearitas, presisi, akurasi, selektivitas, batas deteksi dan batas kuantifikasi.

a. Linearitas

Penentuan linearitas dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi larutan standar *ciprofloxacin*, secara linear dengan minimal 5 konsentrasi standar, dengan variasi konsentrasi 2 - 10 ppm (International Conference on Harmonization, 2014). Parameter linearitas dapat dihitung dengan melihat nilai koefisien korelasi (r) berdasarkan Persamaan 7 dan melalui pengukuran residual plot menggunakan larutan standar *ciprofloxacin*.

b. Presisi

1) *Repeatability*

Sebanyak 0,25 mL larutan standar *ciprofloxacin* 500 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan larutan sampel hingga tanda batas. Pengukuran presisi *repeatability* dilakukan menggunakan HPLC dengan 3 kali replikasi pada hari yang sama dan kemudian ditentukan nilai % RSD berdasarkan Persamaan 10 (Eurachem, 2014).

2) *Reproducibility*

Sebanyak 0,25 larutan standar *ciprofloxacin* 500 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan larutan sampel hingga tanda batas. Selanjutnya dilakukan pengulangan 3 kali replikasi. Pengukuran presisi *reproducibility* menggunakan HPLC dilakukan pengulangan 3 kali pada hari yang berbeda (Eurachem, 2014).

c. Akurasi

Sebanyak 0,25 mL larutan standar *ciprofloxacin* 500 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan larutan sampel hingga tanda batas. Selanjutnya dilakukan pengulangan 3 kali replikasi dan ditentukan % *recovery* dengan menggunakan Persamaan 11 (International Conference on Harmonization, 2014).

d. Selektivitas

Penentuan selektivitas dilakukan dengan membuat larutan standar *ciprofloxacin* murni dan larutan standar *ciprofloxacin* campuran. Kemudian selektivitas ditentukan berdasarkan kesamaan waktu retensi antara larutan standar *ciprofloxacin* murni dan larutan standar campuran (Eurachem, 2014).

e. Batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ)

Penentuan LoD dan LoQ untuk sampel dapat dilakukan dengan menggunakan kurva kalibrasi dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm (International Conference on Harmonization, 2014).

3.3.7 Penentuan Kadar Residu *Ciprofloxacin* Pada Air Sungai

Penentuan dilakukan dengan menggunakan sampel air sungai yang telah dipreparasi dan menggunakan metode HPLC yang telah divalidasi. Kadar residu *ciprofloxacin* kemudian dapat ditentukan menggunakan Persamaan 16, di mana y adalah luas puncak analit. Konsentrasi analit yang diukur dari persamaan regresi (ppm), a adalah intersep, dan b adalah slope.

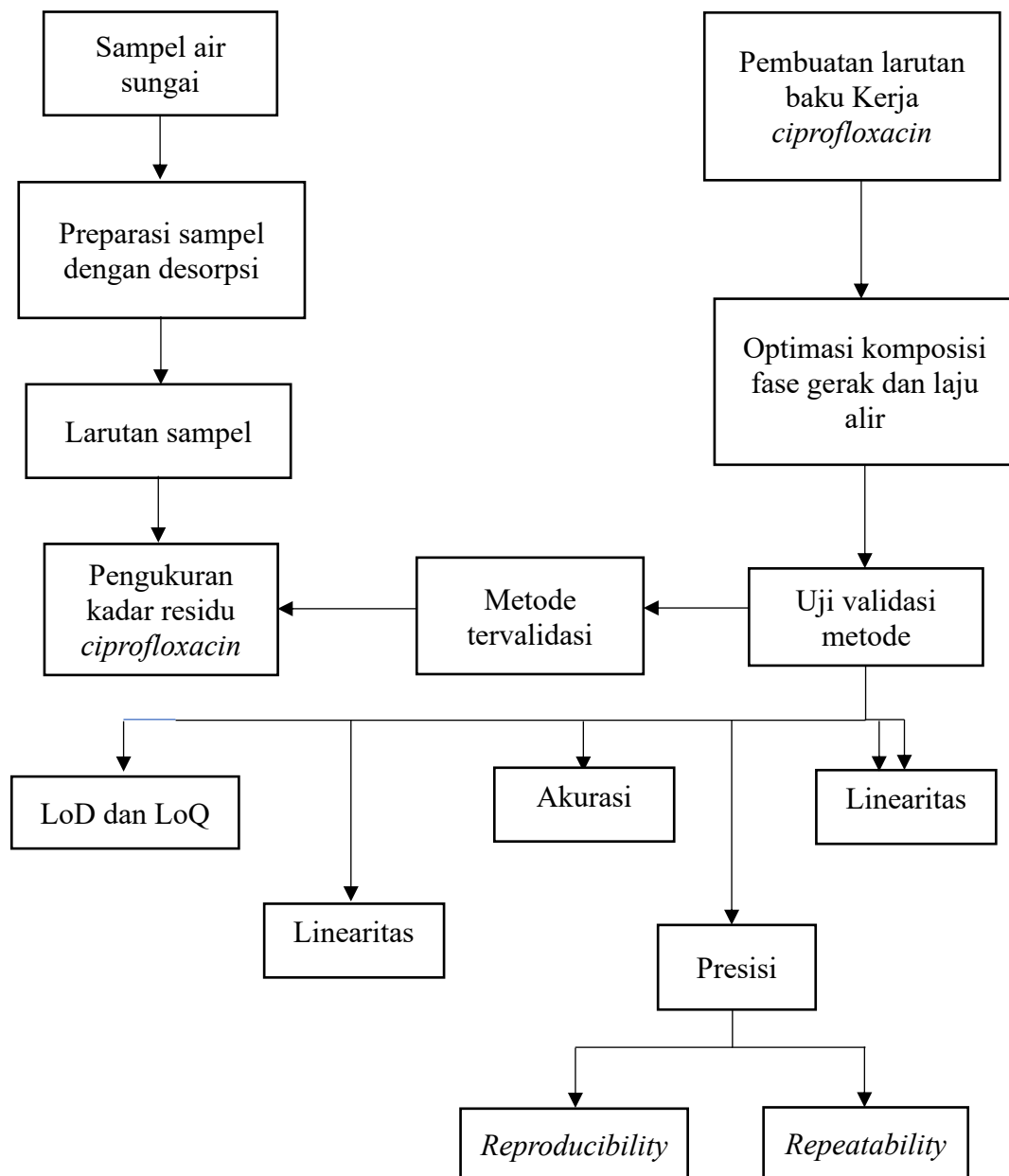
$$\text{Konsentrasi sampel} = \frac{y-a}{b} \quad (16)$$

Keterangan :

- y = Nilai luas puncak kromatogram.
 a = Intersep.

- b = Slope atau kemiringan garis regresi, menunjukkan sensitivitas atau perubahan respons terhadap perubahan konsentrasi.
- Konsentrasi sampel = Nilai konsentrasi yang dihitung dari respons instrumen menggunakan persamaan regresi linier.

Diagram alir pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Penentuan kadar antibiotik *ciprofloxacin* dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) optimal pada panjang gelombang 280 nm, dan komposisi fase gerak 15 : 85 (asetonitril : trietanolamin) dengan laju alir 1 mL/menit.
2. Parameter linearitas menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9964; presisi *repeatability* menghasilkan nilai %RSD sebesar 0,78% dan presisi *reproducibility* menghasilkan nilai %RSD sebesar 1,03%; 1,40% dan 0,61%; akurasi menunjukkan nilai perolehan kembali (%*recovery*) sebesar 98,90%; selektivitas menunjukkan waktu retensi yang sama antara larutan standar murni *ciprofloxacin* dan larutan standar *ciprofloxacin* campuran; batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ) diperoleh sebesar 0,25 ppm dan 0,84 ppm.
3. Hasil pengukuran kadar residu antibiotik *ciprofloxacin* pada sampel air sungai di JL. M.K. Baginda Gunung Sulah, Kecamatan Way Halim, Kota Bandar Lampung yaitu 0,65 ppm.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penentuan kadar antibiotik *ciprofloxacin* terhadap lingkungan perairan lainnya atau pada komoditas ikan air yang berada diperairain sungai dengan *high performance liquid cromatography* (HPLC). Selain itu, disarankan melakukan verifikasi terlebih dahulu terhadap metode analisis sebelum digunakan pada laboratorium pengujian secara rutin untuk meningkatkan nilai keabsahan dari metode analisis.

DAFTAR PUSTAKA

- Alhumaidi B., Alabbas., and Sherif A., Abdel, G. 2023. Stability-Indicating Quantification of Ciprofloxacin in the Presence of Its Main Photo-Degradation Product by CZE and UPLC: A Comparative Study. *Journal Separations*. 10(5): 391.
- Alsughayer, A., Elassar, A. Z. A., Hasan, A. A., and Al-Sagheer, F. 2021. Antibiotic resistance and drug modification: Synthesis, Characterization and Bioactivity of Newly Modified Potent Ciprofloxacin Derivatives. *Bioorganic Chemistry*. 10(2): 102-108.
- Ardianingsih, R. 2009. Penggunaan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam Proses Analisa Deteksi Ion. *Berita Dirgantara*, 10(4), 101–104.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2012. *Guidelines for Standard Method Performance Requirements Appendix*.
- Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., and Küster, A. 2016. Pharmaceuticals in the Environment-Global Occurrences and Perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4): 823–835.
- Bilal, M., Mehmood, S., Rasheed, T., and Iqbal, H. M. N. 2020. Antibiotics Traces in the Aquatic Environment: Persistence and Adverse Environmental Impact. *In Current Opinion in Environmental Science and Health*. 7(13): 68–74.
- Daughton, C. G. and Ruhoy, I. S. 2013. Lower-Dose Rescribing: Minimizing “Side 321 Effects” of Pharmaceuticals on Society and the Environment. *Science of the Total 322 Environment*. 26(10): 324-337.
- Echalke, S., Heuer, H., Siemens, J., Amelung, W., and Smalla, K. 2014. Fate and Impact of Veterinary Antibiotics on the Soil. *Trends in Microbiology*. 22(9): 536-545.
- Elgendy, K., Zaky, M., Eldin, T., and Fadel, S. 2023. Rapid HPLC Determination of Ciprofloxacin, Ofloxacin, and Marbofloxacin Alone or in A Mixture. *Results in Chemistry*. 5, 100749.

- Eurachem, G. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. *Laboratory of the Government Chemists*. London.
- Faleye, A. C., Adegoke, A. A., Ramluckan, K., Bux, F., and Stenström, T. A. 2018. Antibiotic Residue in the Aquatic Environment: Status in Africa. *In Open Chemistry*. 2(16): 890–903.
- Gezahegn, T., Tegegne, B., Zewge, F., and Chandravanshi, B. S. 2019. Salting-Out Assisted Liquid-Liquid Extraction For The Determination Of Ciprofloxacin Residues In Water Samples By High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector. *BMC Chemistry*. 13(3): 1–10.
- Ghanjaoui, A., Ghanjaoui, M. E., Mandil, A., Ait, A., Mou, S., and Slimani, R. 2020. High Performance Liquid Chromatography Quality Control International Journal of Advanced Chemistry High performance liquid Chromatography Quality Control. *In International Journal of Advanced Chemistry*. 12(3). 45-60.
- Gupta, V. K., Agarwal, S., Asif, M., Fakhri, A., and Sadeghi, N. 2017. Application of Response Surface Methodology to Optimize The Adsorption Performance of A Magnetic Graphene Oxide Nanocomposite Adsorbent for Removal of Methadone from The Environment. *Journal of Colloid and Interface Science*. 497: 193–200.
- Hakimah, N., Satria, G. D., Pawestri, W., dan Indarjulianto, S. 2019. Validasi Metode Analisis Tetrasiklin pada Ikan Nila (*Oreochromis* sp.) Menggunakan Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Journal Sain Veteriner*. 37(2): 213.
- Ikram, R., Jan, B. M., and Ahmad, W. 2020. An Overview of Industrial Scalable Production of Graphene Oxide and Analytical Approaches for Synthesis and Characterization. *Journal of Materials Research and Technology*. 9(5): 11587–11610.
- International Conference on Harmonization (ICH). 2014. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Somatek Inc. USA.
- Jayalakshmi, K., Paramasivam, M., Sasikala, M., and Sumithra, A. 2017. Review on Antibiotic Residues in Animal Products and its Impact on Environments and Human Health. ~ 1446 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studie*. 5(3): 1446–1451.
- Jernberg, C., Lfmark, S., Edlund, C., and Jansson, K. 2010. Long-Term Impact of Veterinary Antibiotics on Soil. *Microbiology*, 16(11), 316–323.

- Johansson, C. H., Janmar, L., and Backhaus, T. 2014. Toxicity of Ciprofloxacin and Sulfamethoxazole to Marine Periphytic Algae and Bacteria. *Aquatic Toxicology*. 5(9): 248–258.
- Kaur, K., and Kant, C. 2022. Recent Development in the Sustainable Remediation of Antibiotics : A review. *Total Environment Research Themes*, 100008.
- Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., Marsalek, B., Feng, M., and Sharma, V. K. 2020. Occurrence and Toxicity of Antibiotics in the Aquatic Environment. *Chemosphere*, 251(126351).
- Kurniawan, I., dan Mariadi, P. D. 2019. Analisis Potensi Cemaran Sisa Penggunaan Antibiotik di Perairan Umum (Studi Kasus : Badan Sungai Musi Kota Palembang). *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 16(2): 110.
- Lebron, Y. A. R., Moreira, V. R., Drumond, G. P., Gomes, G. C. F., Da-Silva, M. M., Bernardes, R. D. O., Jacob, R. S., Viana, M. M., De-Vasconcelos, C. K. B., and Santos, L. V. D. S. 2020. Statistical Physics Modeling and Optimization of Norfloxacin Adsorption onto Graphene Oxide. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 606: 125534.
- Li, H., Zhang, D., Han, X., and Xing, B. 2014. Adsorption of Antibiotic Ciprofloxacin on Carbon Nanotubes: PH Dependence and Thermodynamics. *Chemosphere*. 9(5): 150–155.
- Mahmood, A. R., Al-Haideri, H. H., and Hassan, F. M. 2019. Detection of Antibiotics in Drinking Water Treatment Plants in Baghdad City, Iraq. *Advances in Public Health*.
- Siddique, I. 2023. High-Performance Liquid Chromatography: Comprehensive Techniques and Cutting-Edge Innovations. *In European Journal of Advances in Engineering and Technology*. 20(2): 110-115.
- Mehmood, T. 2011. Arsip Praktik Farmasi Pengembangan dan Validasi Metode HPLC-UV untuk Analisis *Ciprofloxacin* dalam Serum dan Humor akuatik. *In Jurnal Ilmiah Terapan*. 3(5): 55-61.
- Mirzaei, R., Yunesian, M., Nasser, S., Gholami, M., Jalilzadeh, E., Shoeibi, S., and Mesdaghinia, A. 2018. Occurrence and Fate of Most Prescribed Antibiotics in Different Water Environments of Tehran, Iran. *Science of the Total Environment*. 6(20): 446–459.
- Nugraheni, B. 2015, A. A. Validasi Metode Analisis *Ciorofloxacin* menggunakan *High Performance Liquid Chromatography*. *Berita Farmasi*. 14(2): 123–130.

- Patrolecco, L., Rauseo, J., Ademollo, N., Grenni, P., Cardoni, M., Levantesi, C., Luprano, M. L., and Caracciolo, A. B. 2018. Persistence of the Antibiotic Sulfamethoxazole in River Water Alone or in the Co-Presence of Ciprofloxacin. *Science of the Total Environment*. 6(4): 1438–1446.
- Ramesha, G. K., Kumara, V. A., Muralidhara, H. B., and Sampath, S. 2011. Graphene and Graphene Oxide as Effective Adsorbents Toward Anionic and Cationic Dyes. *Journal of Colloid and Interface Science*. 361(1): 270–277.
- Razaq, A., Bibi, F., Zheng, X., Papadakis, R., Jafri, S. H. M., and Li, H. 2022. Review on Graphene-, Graphene Oxide-, Reduced Graphene Oxide-Based Flexible Composites: *From Fabrication to Applications Materials*. 15(3): 1012.
- Rehman, A., Patrick, W. M., and Lamont, I. L. 2019. Mechanisms of Ciprofloxacin Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa*: New Approaches to an old Problem. In *Journal of Medical Microbiology*. 6(8): 1–10. *Microbiology Society*.
- Rinawati, Buhani, Widiarti, Isro, A., Fitrianiingsih, E., Rahmawati, A., Kiswandono, A. A., and Nitti, F. 2024. Enhancing Ciprofloxacin Removal: Unveiling the Potential of Graphene Oxide Synthesised from Cassava Peels through Box-Behnken Design Optimisation. *J. Sustain. Dev. Energy Water Environ System*, 12(4): 1120516.
- Rinawati, Rahmawati, A., Muthia, D. R., Imelda, M. D., Latief, F. H., Mohamad, S., and Kiswandono, A. A. 2024. Removal of Ceftriaxone and Ciprofloxacin Antibiotics from Aqueous Solutions Using Graphene Oxide Derived From Corn Cob. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 10(2): 573–588.
- Riyanto. 2014. Validasi dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi (Edisi 1). *Deepublish*. Yogyakarta.
- Sani, A. A., Ali, S. A., Mmuo, C. C., Abdulraheem, R. O., Abdulkareem, S. S., Alemika, E. T., Sani, M. A., and Ilyas, M., 2011. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method Development and Validation Indicating Assay for Ciprofloxacin Hydrochloride. *Journal Of Applied Pharmaceutical Science*. 1(8): 239–243.
- Santika, Y. E. 2020. Kajian Pencemaran Air Analisis Status Mutu Air dengan Metode Indeks Pencemaran Berdasarkan Parameter Fisika-Kimia di Sungai Beji, Desa Pondok, Kecamatan Karanganom, Kabupaten Klaten.
- Sharma, D., Patel, R. P., Zaidi, S. T. R., Sarker, M. M. R., Lean, Q. Y., and Ming, L. C. 2017. Interplay of the Quality of Ciprofloxacin and Antibiotic Resistance in Developing Countries. In *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 8.

- Santamaria, P., Barojas, E. G., González, E. Q., Mora, E. S., and RJuárezuiz, J. D. S. 2019. Safer Modified Hummers' Method for The Synthesis of Graphene Oxide with High Quality and High Yield. *Materials Research Express*. 6(125631): 10.
- Santos, L. H. M. L. M., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Matos, C., Pena, A., Barceló, D., and Montenegro, M. C. B. S. M. 2013. Contribution of hospital Effluents to the Load of Pharmaceuticals in Urban Wastewaters: Identification of Ecologically Relevant Pharmaceuticals. *Science of The Total Environment*. 7(13): 302– 316.
- Smith, A. T., La-Chance, A. M., Zeng, S., Liu, B., and Sun, L. 2019. Synthesis, Properties, and Applications of Graphene Oxide/Reduced Graphene Oxide and Their Nanocomposites. *Nano Materials Science*. 1(1): 31–47.
- Tjaboali, H. 2015. Validasi Metode Untuk Penetapan Kadar *Ciprofloxacin* Dalam Sediaan Tablet Dengan Nama Dagang Dan Generik Secara. *Pharmacon*. 4(4): 21-28.
- Tohamy, H.-A. S., Anis, B., Youssef, M. A., Abdallah, A. E. M., El-Sakhawy, M., and Kamel, S. 2020. Preparation of Eco-Friendly Graphene Oxide from Agricultural Wastes for Water Treatment. *Desalination and Water Treatment*. 191: 250–262.
- Torres, N. H., Pupo, M. M., Ferreira, L. F. R., Maranhão, L. A., Pinheiro, J. H. P., Vilca, F. Z., and Tornisiello, V. L. 2017. Spatial and seasonal analysis of antimicrobials and toxicity tests with *Daphnia magna*, on the sub-basin of Piracicaba river, SP, Brazil. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5(6): 6070-6076.
- Wang, P., Yuan, T., Hu, J., and Tan, Y. 2011. Determination of Cephalosporin Antibiotics in Water Samples by Optimised Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography With Ultraviolet Detector. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 91(1).
- Zaaba, N. I., Foo, K. L., Hashim, U., Tan, S. J., Liu, W. W., and Voon, C. H. 2017. Synthesis of Graphene Oxide using Modified Hummers Method: Solvent Influence. *Procedia Engineering*. 184: 469–477.
- Zhao, Y., Liu, Y., Zhang, X., and Liao, W. 2021. Environmental Transformation of Graphene Oxide in The Aquatic Environment. *Chemosphere*. 262(127885): 1–15.