

**TINJAUAN NARATIF: VALIDITAS METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF *ZERO*  
*CROSSING* DALAM ANALISIS MULTIKOMPONEN  
SENYAWA OBAT PADA SEDIAAN FARMASI**

**SKRIPSI**



Oleh :

**HAMDIASNOV ADI PUTRA**

**13613132**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
AGUSTUS 2020**

**TINJAUAN NARATIF: VALIDITAS METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF ZERO  
CROSSING DALAM ANALISIS MULTIKOMPONEN  
SENYAWA OBAT PADA SEDIAAN FARMASI  
SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh :

**HAMDIASNOV ADI PUTRA**

**13613132**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
AGUSTUS 2020**

SKRIPSI  
**TINJAUAN NARATIF : VALIDITAS METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF ZERO  
CROSSING DALAM ANALISIS MULTIKOMPONEN  
SENYAWA OBAT PADA SEDIAAN FARMASI**

Yang Diajukan Oleh :

**HAMDIASNOV ADI PUTRA**

**13613132**



Telah Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ari Wibowo'.

Ari Wibowo, S.Si., M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ardi Nugroho'.

Ardi Nugroho, S.Farm, M.Sc., Apt.

**SKRIPSI**  
**TINJAUAN NARATIF: VALIDITAS METODE**  
**SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF ZERO**  
**CROSSING DALAM ANALISIS MULTIKOMPONEN**  
**SENYAWA OBAT PADA SEDIAAN FARMASI**

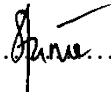



Oleh:

HAMDIASNOV ADI PUTRA

13613132

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia  
Penguji Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan  
Ilmu Pengatahuan Alam Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 14 Agustus 2020

Ketua Penguji	:	Sista Werdyani, S.Farm., M.Biotech, Apt.	(...  .....)
Anggota Penguji	:	Ari Wibowo, S.Farm., M.Sc., Apt.	(....  ....)
		Ardi Nugroho, S.Farm, M.Sc., Apt.	(...  ....)
		Dra. Suparmi, M.Si. Apt.	(...  .....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 14 Agustus 2020  
Penulis,



Hamdiasnov Adi Putra



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>PERNYATAAN</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>INTISARI</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>BAB II METODE</b> .....	5
<b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	6
3.1 Parameter Presisi, Akurasi, dan Linearitas .....	6
3.2 Parameter Spesifisitas .....	18
3.3 Parameter <i>Robustness</i> .....	18
3.4 Pemrosesan Sinyal .....	19
<b>BAB IV KESIMPULAN</b> .....	22
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	23



# **TINJAUAN NARATIF: VALIDITAS METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF *ZERO CROSSING* DALAM ANALISIS MULTIKOMPONEN SENYAWA OBAT PADA SEDIAAN FARMASI**

**Hamdiasnov Adi Putra**

**Program Studi Farmasi**

## **INTISARI**

Kemunculan teknik spektrofotometri derivatif merupakan suatu kemajuan yang membuat metode analisis spektrofotometri UV-VIs menjadi selektif dalam melakukan analisis multikomponen. Salah satu metode pengukuran spektrofotometri derivatif yang dapat digunakan pada spektrofotometri UV-Vis adalah metode *zero crossing*. Metode ini diklaim sebagai metode yang cepat, spesifik, akurat, dan presisi dalam melakukan analisis multikomponen. Analisis multikomponen sangat dibutuhkan dalam analisis senyawa obat karena senyawa obat yang terkandung dalam satu sediaan farmasi mayoritas tidak tunggal dan terdapat eksipien yang dapat mengganggu analisis. Tinjauan metode *zero crossing* secara spesifik belum banyak dilakukan. Tinjauan sebelumnya tidak menyentuh parameter validasi metode *zero crossing*. Tinjauan ini akan menggunakan data parameter validasi yang ada pada jurnal-jurnal yang telah dikumpulkan untuk memberikan gambaran validitas metode *zero crossing* dalam analisis multikomponen pada sediaan farmasi. Tinjauan ini juga akan memberikan gambaran umum tentang hal-hal yang berpengaruh pada metode *zero crossing*. Penulisan tinjauan naratif ini dilakukan dengan mengumpulkan jurnal-jurnal penelitian menggunakan mesin pencari *Google* dan *Google scholar* dengan menggunakan kata kunci seperti “*zero-crossing method journal*”, “*zero-crossing method pharmaceutical application journal*”, “*derivative spectrophotometry journal*”, “*zero-crossing method UV-vis journal*”, “*zero crossing uv-vis spectrophotometry review journal*”, dan membatasi pencarian pada 10 tahun terakhir. Menggunakan nilai keberterimaan parameter validasi ICH untuk memberikan gambaran validitas metode *zero crossing* dalam analisis multikomponen pada sediaan farmasi. Telaah yang telah dilakukan memberikan kesimpulan bahwa metode ini valid digunakan dalam analisis multikomponen senyawa obat pada sediaan farmasi.

**Kata kunci:** spektrofotometri UV-Vis derivatif, *zero crossing*, analisis multikomponen, validitas

# **NARRATIVE REVIEW: ZERO CROSSING DERIVATIVE UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY METHOD'S VALIDITY AS DRUG SUBSTANCE MULTICOMPONENT ANALYSIS ON PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM**

**Hamdiasnov Adi Putra**  
**Department of Pharmacy**

## **ABSTRACT**

*The emergence of derivative spectrophotometry method brought advance onto UV-Vis spectrophotometry. Derivative spectrophotometry method improves selectivity of UV-Vis spectrophotometry method in multicomponent analysis. Zero crossing is one kind of derivative spectrophotometry method. This method is claimed to be fast, specific, accurate, and precise in multicomponent analysis. Multicomponent Analysis is important to pharmaceutical world. Pharmaceutical analysis needs this method because active drug substance is rarely found as single component. The presence of excipients in pharmaceutical dosage form is also a reason why this method becomes important as excipients often cause hindrance in UV-Vis spectrophotometry method. Specified reviews of this method are rarely found. Previous reviews didn't touch method validation of this method. this review uses the method validation parameter to give picture of validity of zero crossing method when used in multicomponent analysis of drug substances on pharmaceutical dosage form. This review also aims to give big picture of zero crossing method. this review composing was done by collecting and reviewing research journals using Google and Google Scholar search engine for the last 10 years. Keywords used in collecting research journals are "zero-crossing method journal", "zero-crossing method pharmaceutical application journal", "derivative spectrophotometry journal", "zero-crossing method UV-vis journal", "zero crossing UV-Vis spectrophotometry review journal ". The aim of this review is to study validity of zero crossing derivative UV-Vis spectrophotometry method as drug substance multicomponent analysis on pharmaceutical dosage form. The other aim is to improve understanding about zero crossing method, specifically about parameters must be considered when using this method. this review concludes that this method valid in multicomponent analysis on pharmaceutical dosage form*

**Keywords:** *Derivative UV-Vis spectrophotometry method, zero crossing, multicomponent analysis, validity, pharmaceutical dosage form*



## BAB I PENDAHULUAN

Metode spektrofotometri UV-Vis telah dikenal sebagai metode yang mudah dalam pengerjaannya dan relatif luas penggunaannya jika dibandingkan metode spektroskopi lain. Kekurangan utama dari metode ini adalah tingkat selektivitasnya yang rendah karena adanya interferensi dari komponen lain yang ada dalam sampel. Interferensi ini menyebabkan kenaikan nilai absorbansi dari suatu komponen akibat adanya absorbansi komponen lain (*overlapping*). Beberapa cara dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini, seperti membandingkan absorbansi dengan blangko atau memisahkan senyawa yang ingin dianalisis secara kimiawi sebelum dianalisis menggunakan spektrofotometer. Kekurangan dari 2 cara yang telah disebutkan yaitu menyita waktu lebih banyak untuk proses *scan* blangko, dan membutuhkan reagen atau bahan kimia tambahan. Sebuah metode alternatif telah ditemukan untuk mengatasi masalah tersebut melalui pendekatan manipulasi sinyal yang dibaca detektor. Metode ini dikenal dengan metode spektrofotometri derivatif (1).

Metode spektrofotometri derivatif merupakan metode yang digunakan pada spektrofotometri infra merah, spektrofotometri UV-Vis, dan spektrofotometri fluoresensi. Metode ini memiliki implikasi luas pada analisis kuantitatif dan kualitatif, dapat memecahkan masalah untuk spektra yang tumpang tindih pada analisis multikomponen dengan menggunakan turunan pertama atau turunan yang lebih tinggi dari spektra yang diperoleh terhadap panjang gelombang. Mulai dipergunakan pada 1950-an, tetapi menjadi tidak praktis karena sulitnya memperoleh spektra turunan pada spektrofotometri UV-Visibel. Kesulitan ini teratasi pada tahun 1970-an dengan digunakannya mikrokomputer yang dapat memberikan spektra turunan yang spesifik, simpel, cepat, dan reproduisibel. Metode ini merupakan teknik pemrosesan sinyal yang didapat dari hasil *scan* spektrofotometer, di mana hasil *scan* tersebut diproses dengan algoritma Savitzky-Golay atau transformasi *wavelet* untuk mendapatkan spektra derivatif yang lebih halus tanpa mengubah tendensi sinyal yang didapat (2).

Tujuan utama dari metode derivatif adalah untuk membedakan dua atau lebih senyawa dalam campuran tanpa adanya pemisahan secara kimia sebelumnya. Ada beberapa metode spektrofotometri derivatif untuk menganalisa spektra derivatif di antaranya:

- a. Metode spektra derivatif *wavelet transform* (3)
- b. Metode spektra derivatif rasio (4)
- c. Metode spektra derivatif rasio *zero crossing* (5)
- d. Metode spektra derivatif rasio *double divisor* (6)
- e. Metode *zero crossing* (7)

Metode-metode ini telah meningkatkan spesifisitas dan selektifitas dari metode spektroskopi UV dan memiliki beberapa keuntungan dalam menganalisis senyawa tunggal, komponen-komponen dalam campuran, penentuan jejak (*traces*) dalam matriks, protein, dan asam amino, analisis lingkungan dan identifikasi komponen organik dalam senyawa anorganik. Keuntungan spesifik yang didapat melalui metode ini pada analisis spektra jika dibandingkan dengan spektra yang langsung didapat dari spektrofotometer adalah :

- a. Memperkuat resolusi
- b. Deteksi dan penguatan spektra minor atau lemah
- c. Eliminasi gangguan *background* dan matriks
- d. Spektra yang lebar dapat dibedakan dan dipisahkan
- e. Menambah sensitivitas dan spesifisitas pada analisis campuran
- f. Efisiensi pemisahan yang tinggi pada puncak yang tajam
- g. Penghematan waktu, reagen, dan tenaga kerja (8)

Namun demikian, metode-metode ini memiliki kelemahan walaupun merupakan metode yang sensitif. Beberapa kelemahannya adalah :

- a. Metode ini terbatas pada sistem tertentu saja dan memiliki keterbatasan dalam aplikasinya karena kurangnya reproduisibilitasnya.
- b. Metode ini juga bergantung dengan parameter instrumen, seperti kecepatan *scan* dan lebar celah. Kondisi instrumen yang merekam spektra orde nol memiliki pengaruh yang kuat pada bentuk dan intensitas dari spektra turunannya

c. Metode ini menjadi kurang akurat ketika mengukur spektra derivatif metode *zero crossing* pada panjang gelombang tertentu, di mana spektra derivatif memotong sumbu x. Metode ini digunakan dalam analisis multikomponen farmasi, bioanalisis, toksikologi forensik, analisis *trace* (9).

Metode *zero crossing* dan metode *peak to peak/peak to trough* merupakan metode pengukuran yang digunakan untuk menganalisis spektra derivatif. Metode *zero crossing* merupakan salah satu metode pengukuran yang paling sering digunakan untuk menganalisis spektra derivatif pada dunia kefarmasian(10). Metode ini sering digunakan karena lebih mudah digunakan dibandingkan metode-metode yang lain. Metode *zero crossing* dapat dideskripsikan secara sederhana sebagai suatu metode untuk menentukan  $\lambda$  analisis menggunakan titik-titik potong spektra derivatif dengan sumbu x atau  $\lambda$  *zero crossing* sebagai kandidatnya.

Kekurangan dari metode *zero crossing* terlihat ketika orde turunan spektra semakin besar, semakin banyak *noise* yang akan mengganggu penentuan titik-titik di mana spektra memotong sumbu x ( $\lambda$  *zero crossing*). Tidak ada jaminan menemukan  $\lambda$  *zero crossing* yang memenuhi persyaratan, di mana satu komponen memiliki nilai derivatif nol dan yang lain memiliki nilai tertentu pada turunan spektra pertama. Terkadang perlu derivatisasi ke orde yang lebih tinggi di mana *noise* akan meningkat dan mempersulit penentuan  $\lambda$  *zero crossing* pada spektra orde tersebut (11).

Beberapa tinjauan mengenai metode spektrofotometri derivatif untuk analisis multikomponen pada bidang farmasi 10 tahun terakhir telah dilakukan oleh Redasani VK *et al* pada tahun 2018(2), Atole DM *et al* pada tahun 2018 (10), Hayam MI *et al* pada tahun 2016(12), Kamal AH *et al* pada tahun 2016 (13), Ojeda CB *et al* pada tahun 2013(9). Tinjauan-tinjauan pada metode spektrofotometri derivatif yang telah disebutkan di atas masih belum menyentuh metode *zero crossing* secara khusus. Pembahasan *zero crossing* pada tinjauan-tinjauan yang telah disebutkan di atas dilakukan secara teoretis dan hanya mencantumkan  $\lambda$  *zero crossing* dan rentang linearitas dari jurnal-jurnal penelitian yang ditelaah. Parameter validasi metode belum disentuh dalam tinjauan-tinjauan yang telah disebutkan. Berbeda dengan tinjauan-tinjauan yang dilakukan sebelumnya. Penulis

menggunakan data parameter validasi metode dari jurnal yang telah dikumpulkan untuk menilai dan mengulas validitas metode *zero crossing*. Parameter validasi metode adalah parameter yang lebih baik untuk digunakan dalam menilai validitas metode ini dalam analisis multikomponen senyawa obat pada sediaan farmasi. Perkembangan metode dalam pemrosesan sinyal juga menjadi alasan untuk membuat tinjauan ini, dengan munculnya metode-metode baru yang digunakan dalam pemrosesan sinyal. Perkembangan ini salah satunya dapat dilihat pada tinjauan Dinç *et al* pada tahun 2018 yang meninjau penggunaan transformasi *wavelet* pada analisis farmasi dan menyatakan bahwa transformasi *wavelet* dapat digunakan pada analisis spektrofotometri UV-Vis (14). Hal ini tentunya membawa dampak pada validitas analisis spektrofotometri derivatif dan *zero crossing* dalam penggunaannya sebagai analisis multikomponen pada sediaan farmasi.



## BAB II

### METODE

Penulisan *review* naratif ini dilakukan dengan mengumpulkan jurnal-jurnal penelitian menggunakan mesin pencari *Google* dan *Google scholar* dengan menggunakan kata kunci seperti “ *zero-crossing method journal*”, “*zero crossing method pharmaceutical application journal*”, “*derivative spectrophotometry journal*”, “*zero crossing method UV-Vis journal*”, “*zero crossing UV-Vis spectrophotometry review journal*” sebagai bahan. Jumlah jurnal yang digunakan sebanyak 30-40 jurnal. Kriteria inklusi yang digunakan adalah :

- a. Publikasi 10 tahun terakhir dalam bentuk *original research* dan *review*
- b. Metode spektra derivatif UV-Vis *zero crossing* menjadi pembahasan utama atau bagian yang diteliti
- c. Senyawa obat dan diteliti dalam bentuk sediaan farmasi

Sedangkan kriteria eksklusinya adalah:

- a. Metode tidak dicantumkan secara lengkap
- b. Jurnal tidak mencantumkan  $\lambda$  *zero crossing* yang digunakan pada penelitian
- c. Tidak melakukan validasi pada lebih dari 1 parameter selain *robustness*
- d. Jurnal dengan meta data yang rusak

## BAB III

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Peninjauan validitas metode *zero crossing* dalam analisis multikomponen pada sediaan farmasi akan dilakukan dengan meninjau parameter validasi metode pada jurnal-jurnal yang telah dikumpulkan. Parameter akan dibandingkan dengan syarat keberterimaan dari ICH (presisi :  $RSD \leq 2\%$ , akurasi:  $recovery = 80-110\%$ , linearitas :  $r$  mendekati 1, pernyataan spesifik dan *robust* dari hasil penelitian). Parameter spesifitas tidak memiliki standar nilai, pembuktian dapat dilakukan dengan berbagai metode yang dapat menunjukkan bahwa metode yang divalidasi spesifik. Parameter *robustness* ditunjukkan dengan ada atau tidaknya pengaruh signifikan melalui analisis statistik dan pernyataan dari jurnal.

#### 3.1 Parameter Presisi, Akurasi, dan Linearitas

Akurasi adalah kedekatan hasil yang diperoleh dari metode dengan nilai yang sebenarnya atau diakui sebagai nilai yang sebenarnya (15). Akurasi yang baik menandakan bahwa metode yang divalidasi dapat mengukur secara tepat nilai kadar analit yang dianalisis. Parameter Presisi dari sebuah metode mengekspresikan kedekatan hasil dari beberapa pengukuran pada suatu sampel yang homogen pada kondisi yang telah ditentukan (15). Parameter-parameter ini sangat penting dilakukan karena berkaitan dengan seberapa tepat metode bisa mengukur dengan nilai yang sebenarnya dan seberapa yakin kita dapat menyatakan suatu nilai kadar analit yang kita ukur dengan metode tersebut. Dalam dunia kefarmasian ini sangat diperlukan karena tidak hanya berkaitan dengan kontrol kualitas, tetapi juga dalam keberhasilan terapi nantinya.

Penggunaan metode ini untuk menganalisis sediaan farmasi yang memiliki 3 komponen bisa dilihat dalam beberapa jurnal. Ismayuni *et al* pada tahun 2019 menggunakan metode ini untuk menganalisis parasetamol, asetosal, dan kafein. Dalam studi tersebut Ismayuni *et al* menderivatiasi spektra hingga spektra derivatif orde 3 digunakan untuk menentukan  $\lambda$  *zero crossing* dan mendapatkan nilai parameter validasi yang baik (16). Patel N menggunakan metode ini pada analisis pregabalin, metilkobalamin, dan asam alfa lipoat dan menggunakan spektra orde 1

untuk menentukan  $\lambda$  zero crossing (17). Sianipar *et al* menyatakan bahwa metode zero crossing jarang digunakan untuk menganalisis sampel dengan 3 senyawa di dalamnya. Pada studi tersebut metode zero crossing digunakan untuk menganalisis parasetamol, propipenazon, dan kafein. Melakukan derivatisasi hingga orde 3 untuk mendapatkan  $\lambda$  zero crossing. Pada turunan orde 3 noise mulai bertambah, namun hasil studi masih menyimpulkan metode ini cepat, akurat, presisi, murah, dan aman untuk lingkungan (19). Studi serupa menggunakan spektra derivatif orde 1 dilakukan oleh Rawal *et al* pada campuran asebrofilin, montelukast, dan levocetirizin (18). Nilai parameter validasi dapat dilihat pada **Tabel 1**. Perbandingan dari studi-studi ini menunjukkan tidak ada korelasi langsung antara tingginya orde spektra derivatif yang digunakan untuk menganalisis campuran 3 senyawa. Ini terlihat pada studi Rawal *et al* yang menggunakan spektra derivatif orde 1 tetapi tetap mendapat parameter presisi yang baik sebagaimana studi-studi yang menggunakan spektra derivatif orde 3 untuk menentukan  $\lambda$  zero crossing. Metode zero crossing tetap memiliki parameter validasi yang baik ketika menganalisis campuran 3 senyawa. Telaah yang dilakukan menunjukkan bahwa metode ini masih presisi dan akurat ketika digunakan untuk menganalisis campuran 3 dan 4 senyawa obat. Walaupun menggunakan spektra orde tinggi yang memiliki noise yang tinggi metode ini masih dapat memberikan parameter validasi yang baik. Sayangnya tinjauan literatur saja tidak dapat menyimpulkan bahwa permasalahan metode ini pada spektra orde tinggi telah teratasi, tapi setidaknya sudah ada indikasi ke arah sana. Kemungkinan besar hal ini disebabkan oleh semakin berkembangnya teknologi instrumen dan metode manipulasi sinyal.

Patel, D.P. *et al* menggunakan turunan orde 1 untuk menganalisis campuran ibuprofen dan famotidin. Parameter validasi yang didapat juga masih memenuhi persyaratan ICH. Hal menarik yang ditampilkan pada penelitian ini adalah spektra orde 1 dari famotidin, puncak bermunculan menghasilkan banyak  $\lambda$  zero crossing, menyebabkan banyaknya titik yang harus diperiksa sebelum dijadikan  $\lambda$  analisis (22). Abo-Talib, N.F. *et al* Menggunakan turunan orde 3 untuk menentukan  $\lambda$  zero crossing pada analisis campuran sofosbuvir dan ledipasvir dalam tablet. Grafik turunan orde 3 yang ditampilkan pada bagian hasil memiliki noise yang rendah,

puncak spektra terlihat jelas sehingga memudahkan dalam penentuan  $\lambda$  zero crossing. Hasil akhirnya parameter validasinya masih dalam nilai keberterimaan yang disyaratkan oleh ICH (23).

Parameter linearitas dari jurnal-jurnal yang ditelaah menunjukkan metode ini memiliki linearitas yang sangat baik. Nilai linearitas tertinggi yang didapat dari telaah jurnal yaitu 0.9999 dan yang paling rendah adalah 0.993. Nilai linearitas yang mendekati nilai 1 menggambarkan adanya korelasi linear antara data absorbansi dengan konsentrasi analit dalam sampel.

Nilai rentang akurasi dari jurnal-jurnal yang dikumpulkan berada dalam rentang 80 – 110 % yang masih dalam rentang keberterimaan akurasi menurut ICH. Parameter presisi metode ini juga baik yaitu di bawah 2% (14). Parameter validasi akurasi dan presisi yang ditemukan sesuai dengan pernyataan beberapa jurnal yang mengatakan metode ini akurat dan presisi untuk analisis senyawa tunggal dan multikomponen.



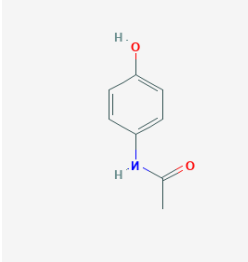
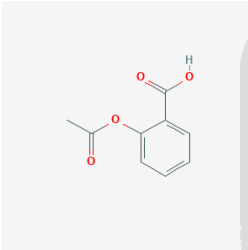

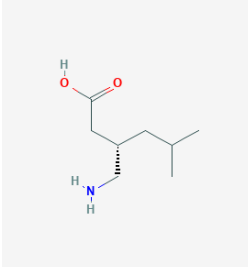


**Tabel 1.** Parameter linearitas, spesifisitas, presisi, dan akurasi metode *zero crossing* dalam analisis berbagai senyawa obat (dalam pelarut yang sesuai)

No	Senyawa	r	Spesifisitas	$\lambda$ zero crossing (nm)	Presisi(%RSD)	Akurasi(% recovery)	Tahun	Referensi	
1.	Parasetamol	0,9996	spesifik	267,6	0,7389	100,19	2019	16	
	Asetosal	0,9954		236,2	1,0071	105,78			
	Kafein	0,9963		235,8	0,9283	107,74			
2.	Pregabalin	0,9950	spesifik	436,24	<u>Intraday</u> 1,3138	<u>Interday</u> 1,6401	98 – 102	2016	17
	Metilkobalamin	0,9956		338,00	1,3923	1,6159			
	Asam alfa-lipoid	0,9961		307,03	1,4620	1,4992			
3.	Asebrofilin	0,9994	spesifik	275,15	<u>Intraday</u> 0,6	<u>Interday</u> 0,9	99,47	2016	18
	Montelukas	0,9982		296,26	1,0	1,1	99,94		
	Levocetirizin	0,9990		246,61	0,9	1,98	99,97		
4.	Parasetamol	0,9960	spesifik	239,4	1,82	99,67	2018	19	
	Propipenazon	0,9950		249,6	1,42	101,11			
	Kafein	0,9999		245,6	0,80	101,3			
5.	Guaifenesin	0,997	spesifik	270,2	0,2087	93,94	2015	20	
	Salbutamol	0,993		246,2	0,995	95,96			
6.	Domperidon	0,9993	spesifik	253,2	0,54	96,8-100,8	2010	21	
	Rabeprazol	0,9995		266,4	1,01	98,1-101,6			
7.	Ibuprofen	0,9972	spesifik	285	0,32-1,49	99,05-100,71	2012	22	
	Famotidin	0,9981		263,6	0,71-1,50	99,05-100,71			
8.	Sofosbuvir	0,9999	spesifik	281	<u>Intraday</u> 0,57	<u>Interday</u> 0,76	100,19	2017	23
	Ledipasvir	0,9992		333	1,79	1,88	100,75		

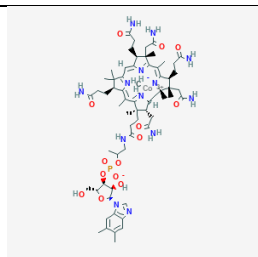
No	Senyawa	r	Spesifisitas	$\lambda$ zero crossing (nm)	Presisi(%RSD)	Akurasi(% recovery)			Tahun	Referensi
9.	Teofilin Gliserilguaikoat	0,9941 0,9941	spesifik	262 243	1,090; 1,385; 1,903 1,090;1,385;1,903	<u>80%</u> 117,879 116,336	<u>100%</u> 118,353 116,336	<u>120%</u> 112,913 116,336	2019	24
10.	Salbutamol Sulfat Ketotifen Fumarat	0,9998 0,9998	spesifik	257 278	1,30 0,23	98,82–101,19 98,82–101,19			2013	25
11.	Amlodipin Perindopril	0,9973 0,9961	spesifik	369 304	<u>Intraday</u> 1,19;0,30; 0,19 <u>Interday:</u> 1,17;0,30;0,28 1,58;0,45; 0,19	<u>80%</u> 99,26 98,37	<u>100%</u> 99,45 99,13	<u>120%</u> 99,59 99,51	2014	26
12.	Rosuvastatin Amlodipin	0,9997 0,9999	spesifik	253 229	1,07;1,01;1,42 0,74;1,98;1,01	<u>80%</u> 100,41 100,15	<u>100%</u> 100,62 98,77	<u>120%</u> 101,00 99,73	2020	27
13.	Teneliglipin HBr hidrat Metformin HCl	0,9987 0,9995	spesifik	237 246	1,11 1,16	<u>50%</u> 99,84 99,52	<u>100%</u> 99,84 99,71	<u>150%</u> 99,88 99,88	2016	28
14.	Ciprofibrat	0,999	spesifik	245	1,44	100,57			2012	29
15.	Apremilas	0,9994	spesifik	300	0,0109	<u>80%</u> 99,00	<u>100%</u> 97,33	<u>120%</u> 98,45	2019	30

**Tabel 2** Struktur,  $\lambda$  maksimum, dan Absorptivitas molar

No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)		
			<u>Metanol</u>	<u>0,1M HCl</u>	<u>0,1M NaOH</u>
1.	Parasetamol/Asetaminofen		<u>Metanol</u> 247 nm: 12850	<u>0,1M HCl</u> 240 nm: 9710	<u>0,1M NaOH</u> 255 nm: 10740
2.	Asetosal/Aspirin		<u>Metanol</u> 276 nm: 1170 226 nm: 8790	<u>Air</u> 269 nm: 670	<u>0,1M NaOH</u> 276 nm: 1190 227 nm: 8650
3.	Kafein		<u>Metanol</u> 273 nm: 9220	<u>Air</u> 273 nm: 10000	<u>0,1M HCl</u> 270 nm: 9610 <u>0,1M NaOH</u> 273 nm: 9900
4.	Pregabalin				

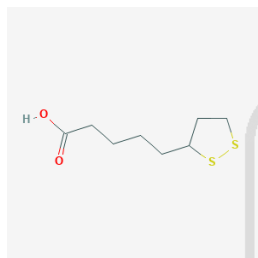
No Nama Senyawa Struktur (31)  $\epsilon$  (L/mol/cm) untuk tiap  $\lambda$  maks (32)

5. Metilkobalamin



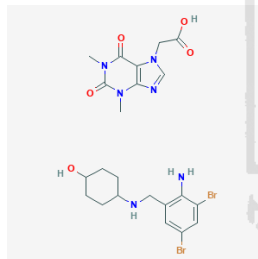
-

6. Asam Alfa lipoid



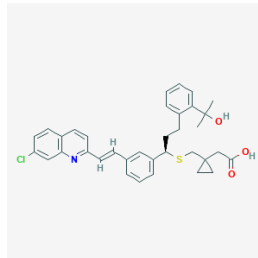
-

7. Asebrofilin

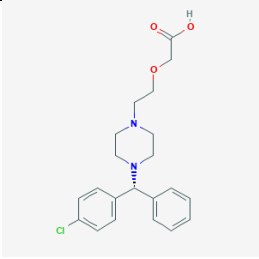
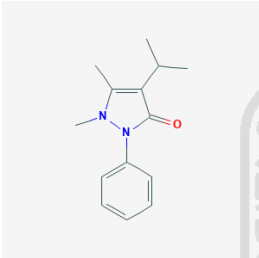
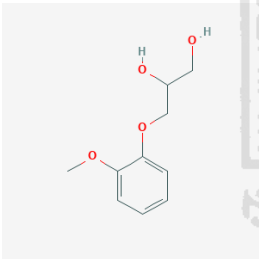
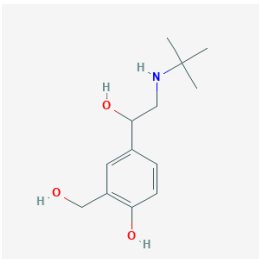


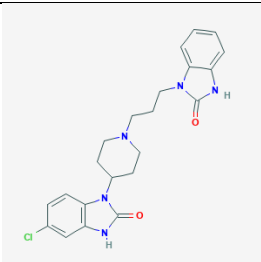
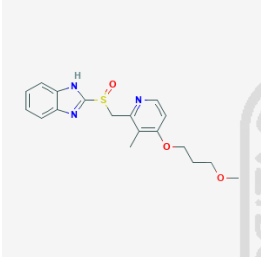
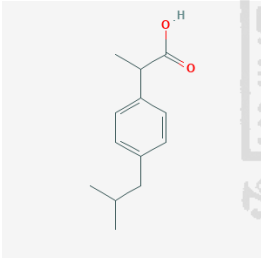
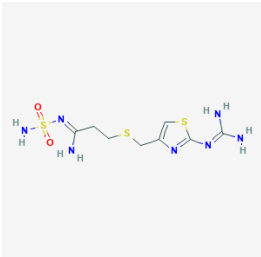
-

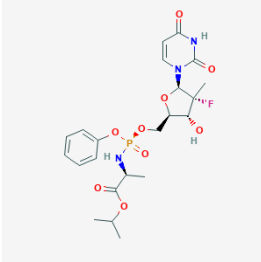
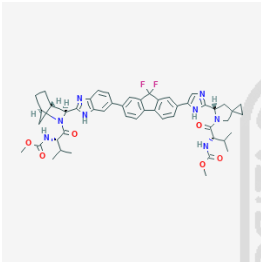
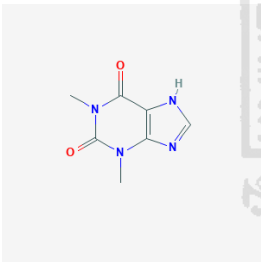
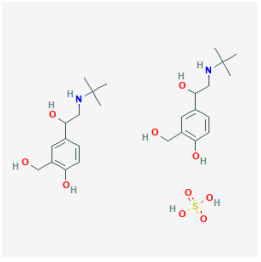
8. Montelukast

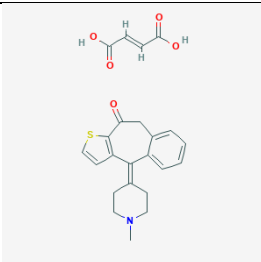
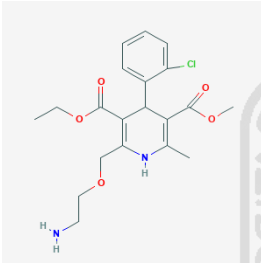
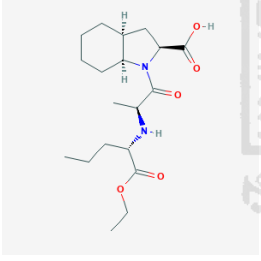
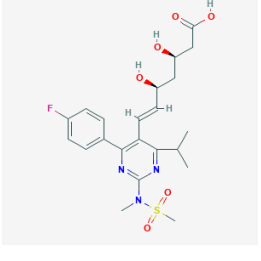


-

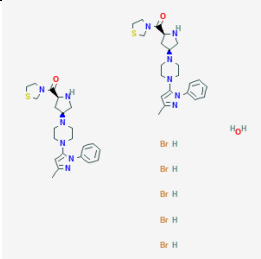
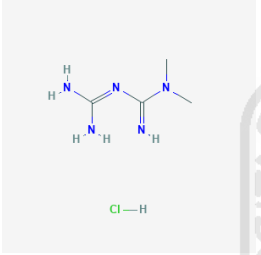
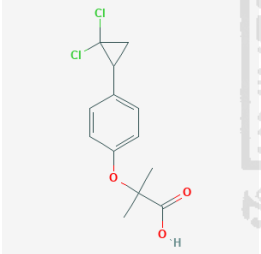
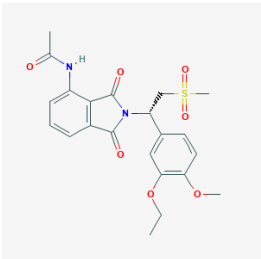
No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)			
9.	Levocetirizin		-			
10.	Propipenazon		<u>Metanol</u> 275 nm: 9670 246 nm: 9790	<u>0,1 M HCl</u> 240 nm: 9210	<u>0,1 M NaOH</u> 265 nm: 8980 245 nm: 8870	
11.	Guaifenesin/Gliserilguaikolat		<u>Metanol</u> 274 nm: 2420 222 nm: 7350	<u>0,1 M HCl</u> 273 nm: 2380 221 nm: 7330	<u>0,1 M NaOH</u> 272 nm: 2400	
12.	Salbutamol		<u>Metanol</u> 278 nm: 3930 227 nm: 16700	<u>Air</u> 276 nm: 23500 225 nm: 15700	<u>0,1M HCl</u> 276 nm: 3500 225 nm: 15700	<u>0,1M NaOH</u> 295 nm: 6330 245 nm: 24400

No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)		
13.	Domperidon		<u>Metanol</u> 287 nm: 12500 230 nm: 11500	<u>0,1M HCl</u> 284 nm: 12200 228 nm: 12500	<u>0,1M NaOH</u> 292nm: 13700 245 nm: 9400
14.	Rabeprazol		-	-	-
15.	Ibuprofen		<u>Metanol</u> 272 nm: 230 264 nm: 300 258 nm: 233		<u>0,1M NaOH</u> 272 nm: 320 264 nm: 380 258 nm: 310
16.	Famotidin		<u>Metanol</u> 287 nm: 15700	<u>0,1M HCl</u> 265 nm: 10400	<u>0,1M NaOH</u> 286 nm: 14850

No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)			
17.	Sofosbuvir		-	-	-	-
18.	Ledipasvir		-	-	-	-
19.	Teofilin		<u>Metanol</u> 269 nm: 9930	<u>0,1M HCl</u> 270 nm: 10660	<u>0,1M NaOH</u> 275 nm: 12530	
20.	Salbutamol Sulfat		<u>Metanol</u> 278 nm: 3930 227 nm: 16700	<u>Air</u> 276 nm: 23500 225 nm: 15700	<u>0,1M HCl</u> 276 nm: 3500 225 nm: 15700	<u>0,1M NaOH</u> 295 nm: 6330 245 nm: 24400

No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)			
21.	Ketotifen Fumarat		<u>Metanol</u> 297 nm: 13800	<u>Air</u> 301 nm: 14230	<u>0,1M HCl</u> 302 nm: 14400	<u>0,1M NaOH</u> 305 nm: 12680
22.	Amlodipin		<u>Metanol</u> 361 nm: 6770 238 nm: 19370	<u>Air</u> 360 nm: 6650 239 nm: 18080	<u>0,1M HCl</u> 360 nm: 6670 239 nm: 18080	<u>0,1M NaOH</u> 360 nm: 6360 239 nm: 17500
23.	Perindopril		-	-	-	-
24.	Rosuvastatin		-	-	-	-



No	Nama Senyawa	Struktur (31)	$\epsilon$ (L/mol/cm) untuk tiap $\lambda$ maks (32)			
25.	Tenegliptin HBr hidrat		-			
26.	Metformin HCl		<u>Metanol</u> 236 nm: 15030	<u>Air</u> 232 nm: 13250	<u>0,1M NaOH</u> 232 nm: 13030	
27.	Ciprofibrat		<u>Metanol</u> 276 nm: 870 232 nm: 12750	<u>Air</u> 275 nm: 960 233 nm: 12900	<u>0,1M HCl</u> 273 nm: 740 230 nm: 12300	<u>0,1M NaOH</u> 275 nm: 1000 233 nm: 13400
28.	Apremilas		-			

### 3.2 Parameter Spesifisitas

Parameter spesifisitas mengekspresikan seberapa spesifik atau seberapa yakin metode bisa menganalisis senyawa yang menjadi target tanpa atau mengalami sedikit gangguan oleh senyawa-senyawa yang ada dalam campuran (15). Parameter ini penting dikaji karena obat sendiri biasanya terdiri dari 2 atau lebih senyawa aktif dalam satu sediaan sehingga membutuhkan metode yang spesifik. Selain itu sediaan farmasi juga tidak terdiri dari senyawa aktif saja tetapi juga mengandung eksipien yang dapat mengganggu analisis. Mengkaji parameter spesifisitas dari metode *zero crossing* UV-Vis memberikan gambaran bagaimana metode ini dapat menyelesaikan permasalahan yang telah disebutkan.

Penelitian Mondal *et al* menyatakan metode ini sangat spesifik dalam menganalisis apremilas dalam bentuk tablet (30). Khutle *et al* menerapkan metode *zero crossing* pada analisis sertralin dalam bentuk sediaan *Self Micro Emulsifying Drugs Delivery System* (SMEDDS). Hasil penelitiannya menyatakan bahwa metode ini spesifik meskipun dengan keberadaan komponen aditif dalam sediaan. Hal yang menarik dari hasil penelitian tersebut adalah parameter validasi akurasi dan presisi dari metode ini lebih baik daripada metode spektroskopi UV-Vis non-derivatif. Metode *zero crossing* memenuhi persyaratan ICH untuk kedua parameter tetapi metode non-derivatif tidak (33). Sutisna *et al* menerapkannya pada analisis guaifenesin dan salbutamol dalam bentuk sirup dan menyimpulkan metode ini spesifik (20). Moldovan *et al* menerapkan metode ini pada analisis krim hidrokuinon, asam kojic, asam glikolat, dan asam askorbat dan menyimpulkan metode ini spesifik (34). Hasil penelitian Mashru *et al* pada campuran fenilefrin klorida dan tropikamid dalam bentuk sediaan optalmik menyatakan metode ini spesifik, akurat, presisi, dan cepat (35). Berbagai penelitian analisis senyawa obat baik tunggal maupun multikomponen telah dilakukan. Beberapa telah disebutkan di atas. Kesimpulan yang bisa ditarik dari beberapa jurnal penelitian adalah metode ini spesifik.

### 3.3 Parameter Robustness

*Robustness* adalah ukuran kapasitas metode untuk memberikan hasil yang tidak berubah ketika parameter metode diubah atau divariasikan secara sengaja (15). Studi *robustness* dilakukan menggunakan tes Youden dan Steiner yang memvariasikan 7 faktor yang mungkin mempengaruhi hasil metode *zero crossing*. Sversut *et al* menemukan waktu sonikasi mempengaruhi hasil dari metode *zero crossing* dalam menganalisa campuran oksitetrasiklin dan piroksikam. Perubahan

konsentrasi pelarut, panjang gelombang, suhu, pH tidak mempengaruhi parameter validasi, kemungkinan besar penambahan waktu sonikasi menambah jumlah obat yang terlarut (36). Bonfilio *et al* menemukan bahwa parameter perubahan panjang gelombang dapat mempengaruhi hasil metode ini ketika divariasikan sebesar 2 nm (37). Sayangnya parameter *robustness* sangat kurang dilakukan di banyak penelitian. Secara umum metode ini dapat dikatakan sebagai metode yang *robust* dengan syarat optimasi yang baik.

**Tabel 3.** Parameter *Robustness* Metode *zero crossing* analisis berbagai senyawa obat

No	Senyawa	Parameter yang divariasikan	Kesimpulan	Tahun	Referensi
1	Oksitetrasiklin dan Natrium dikofenak	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Konsentrasi asetonitril</li> <li>2. <i>supplier</i> pelarut</li> <li>3. pH</li> <li>4. panjang gelombang</li> <li>5. waktu sonikasi</li> <li>6. filter <i>syringe</i> diganti nilon</li> <li>7. Suhu ruangan</li> </ol>	<i>robust</i>	2018	36
2	Glimepirid	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Konsentrasi NaOH</li> <li>2. Pabrik NaOH</li> <li>3. Waktu sonikasi</li> <li>4. Panjang gelombang</li> <li>5. Interval panjang gelombang</li> <li>6. Kecepatan <i>scan</i></li> <li>7. Kuvet</li> </ol>	<i>robust</i>	2011	37

### 3.4 Pemrosesan Sinyal

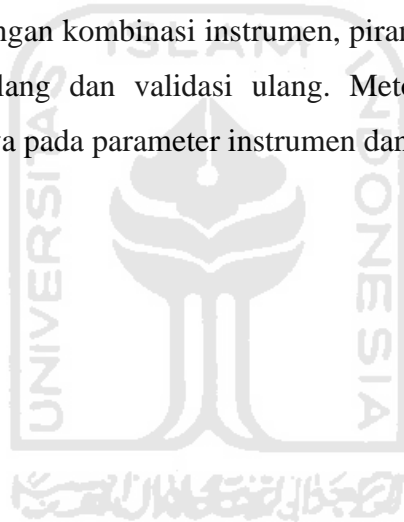
Pemrosesan sinyal memainkan peranan penting dalam metode spektra derivatif UV-Vis *zero crossing*. Semenjak ditemukan dan diterapkannya algoritma Savitzky-Golay pada tahun 1950-an, dimulailah perkembangan metode ini (1). hasil penerapannya bisa kita lihat pada parameter validasi yang baik pada jurnal-jurnal penelitian yang ditelaah. Apa dan bagaimana perannya dalam metode spektra derivatif UV-Vis *zero crossing* perlu kita ulas.

Metode pemrosesan sinyal metransformasi hasil *scan* spektrofotometer menjadi spektra derivatif yang lebih halus tanpa mendistorsi tendensi spektra. Spektra yang halus akan memberikan kemudahan dalam penentuan  $\lambda$  *zero crossing* sebagai cikal bakal  $\lambda$  analisis. Parameter yang digunakan dalam menilai baik atau tidaknya pemrosesan sinyal dalam mentransformasi spektra adalah nilai S/N (*Signal/Noise*) yaitu perbandingan antara sinyal dan *noise* dari spektra derivatif yang didapat, semakin tinggi nilai ini maka semakin baik pemrosesan sinyal yang dilakukan. Metode pemrosesan sinyal dilakukan dengan memilih teknik manipulasi sinyal yang tersedia. Pemrosesan sinyal yang banyak digunakan adalah algoritma Savitzky-Golay, transformasi fourier, dan transformasi *wavelet*. Transformasi *wavelet* terbagi 2 yaitu: Transformasi *wavelet* diskrit dan Transformasi *wavelet* kontinu. Darwish *et al* menyatakan metode *wavelet* kontinu lebih banyak digunakan untuk mengkalkulasi nilai derivatif dan *wavelet* diskrit biasanya digunakan untuk kompresi sinyal dan *denoising* (38). Elzanfaly *et al* menyatakan metode transformasi *wavelet* memiliki kemiripan dengan metode transformasi fourier tetapi memiliki keunggulan dari banyaknya fungsi yang bisa digunakan dalam memproses sinyal, sedangkan transformasi fourier hanya memiliki fungsi trigonometri untuk proses tersebut. Transformasi *wavelet* juga memberikan nilai S/N (*Signal/Noise*) yang tinggi, yang artinya tingkat *Noise* yang rendah dan sinyal yang lebih jelas. Transformasi *wavelet* menghasilkan penghalusan (*smoothing*) yang lebih baik, sehingga lebih memperjelas titik *zero crossing* (39). Algoritma Savitzky-Golay masih digemari untuk digunakan dalam analisis di bidang farmasi (2). Metode pemrosesan sinyal ini dapat juga digunakan untuk memproses sinyal spektra orde nol (spektra absorbansi).

Pemrosesan sinyal pada metode *zero crossing* dilakukan melalui piranti lunak yang ada pada instrumen. Beberapa parameter yang perlu diperhatikan dan dapat diatur melalui piranti lunak adalah *scaling factor* dan *smoothing factor*  $\Delta\lambda$ . Kedua parameter ini berhubungan dengan pemrosesan sinyal yang akan diterapkan pada spektra derivatif yang diperoleh. Optimasi *smoothing factor* dilakukan untuk mendapatkan spektra derivatif yang lebih halus tanpa mendistorsi tendensi spektra, sehingga  $\lambda$  *zero crossing*, di mana spektra memotong sumbu x akan terlihat lebih jelas. Optimasi *scaling factor* dilakukan untuk mendapatkan nilai turunan yang lebih tepat. Parameter lain yang dioptimasi pada jurnal-jurnal yang ditelaah adalah kecepatan *scan* dari spektrofotometer, lebar celah yang digunakan.

Penggunaan spektrofotometer UV-Vis *double beam* juga menjadi penting dalam penerapan metode spektrofotometri UV-Vis derivatif umumnya dan *zero crossing* khususnya. Penggunaan spektrofotometer jenis ini memudahkan dalam proses derivatif karena pada spektrofotometer jenis ini, parameter  $\Delta\lambda$  dapat diatur. Beberapa piranti lunak untuk menerapkan pemrosesan sinyal juga dapat digunakan pada metode *zero crossing*. Beberapa di antara piranti lunak yang dapat digunakan adalah Microsoft Excel (7,17), MatLab (6), dan piranti lunak bawaan dari spektrofotometer seperti UV Probe. Piranti lunak bawaan dari spektrofotometer (16-30) masih menjadi pilihan utama untuk digunakan, namun jika tidak ada beberapa piranti lunak lain masih dapat digunakan seperti yang telah disebutkan.

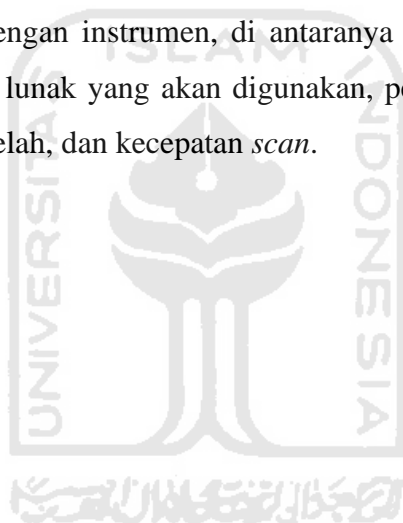
Optimasi metode *zero crossing* bertumpu pada parameter instrumen dan piranti lunak yang telah disebutkan. Sistem tertentu dengan kombinasi instrumen, piranti lunak tertentu untuk analit tertentu membutuhkan optimasi ulang dan validasi ulang. Metode *zero crossing* memiliki keterbatasan yaitu ketergantungannya pada parameter instrumen dan hanya dapat digunakan pada sistem tertentu.



## BAB IV

### KESIMPULAN

Metode *zero crossing* valid untuk digunakan dalam analisis multikomponen pada sediaan farmasi. Terlihat dari parameter validasi yang memenuhi nilai keberterimaan yang disyaratkan oleh ICH. Jurnal-jurnal yang ditelaah juga sudah menganalisis berbagai senyawa obat dalam berbagai bentuk sediaan farmasi. Penggunaan transformasi *wavelet* pada metode ini dapat memudahkan dalam penentuan  $\lambda$  *zero crossing* yang lebih tepat untuk spektra orde tinggi. Metode ini sangat bergantung pada optimasi parameter instrumen, dari segi kimia yang perlu diperhatikan adalah pemilihan pelarut yang tepat untuk analit. Hal-hal yang perlu dioptimasi dalam metode ini adalah parameter yang berkaitan dengan instrumen, di antaranya optimasi *scalling factor* dan *smoothing factor*, pemilihan piranti lunak yang akan digunakan, pemilihan metode pemrosesan sinyal yang akan diterapkan, lebar celah, dan kecepatan *scan*.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Karpinska, J. (2004): Basic principles and analytical application of derivative spectrophotometry, *Macro to Nano Spectroscopy 1st ed*, Croatia: InTech, 253-268
2. Redasani, V.K., Patel, P.R., Marathe, D.Y., Chaudhari, S.R., Shirkhedkar, A.A., Surana, S.J. (2018): A review on derivative uv-spectrophotometry analysis of drugs in pharmaceutical formulations and biological samples review, *J Chil Chem Soc* **63(3)**, 4126-4134.
3. Attia, K.A.M., Nassar, M.W.I., El-Zeiny, M.B., Serag, A. (2016): Zero order and signal processing spectrophotometric techniques applied for resolving interference of metronidazole with ciprofloxacin in their pharmaceutical dosage form, *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* **154**, 232–236.
4. Attimarad, M., Narayanswamy, V.K., Aldhubaib, B.E., Sreeharsha, N., Nair, A.B. (2019): Development of UV spectrophotometry methods for concurrent quantification of amlodipine and celecoxib by manipulation of ratio spectra in pure and pharmaceutical formulation, *Plos One*, 1–15.
5. Gülfen, M. (2020): Ratio - First Order Derivative - Zero Crossing UV-Visible Spectrophotometric Method for Analysis of Amoxicillin, Levofloxacin and Lansoprazole Mixture, *Pakistan J Anal Environ Chem* **21(1)**, 34–43.
6. Hajian, R., Soltaninezhad, A. (2014): The spectrophotometric multicomponent analysis of a ternary mixture of paracetamol, aspirin, and caffeine by the double divisor-ratio spectra derivative method, *J Spectrosc Volume* **2013**, 1-7.
7. M, K.N., A, P.H, Vijaya, C. (2014): Zero-Crossing First-order Derivative Spectroscopy Method for Analysis of Sertraline Hydrochloride in Novel Self Micro Emulsifying Drug Delivery System, *J Anal Pharm Chem.* **1(3)**, 1013.
8. Ankush, P., Shweta, S. (2016): Derivative UV-vis absorption spectra as an invigorated spectrophotometric method for spectral resolution and quantitative analysis: Theoretical aspects and analytical applications: A review. *Trends in Analytical Chemistry* **77**, 44–53
9. Rojas, F.S., Ojeda, C.B. (2013): Recent development in derivative ultraviolet / visible absorption spectrophotometry: 2009-2011 A Review, *Microchem. J.* **106**, 1–16.

10. Atole, D.M., Rajput, H.H. (2018): Ultraviolet spectroscopy and its pharmaceutical applications- A brief review. *Asian J Pharm Clin Res* **11(2)**, 59–66.
11. Fayez, Y.M., Elghobashy, M.R., Goda, Z.M., Shehata, M.A. (2016): Comparative study on four spectrophotometric methods manipulating ratio spectra for the simultaneous determination of binary mixture of diflucortolone valerate and isoconazole nitrate, *Bull Fac Pharm* **54**, 2-9
12. Hayam, M.I., Sarah, S.S. (2016): Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006–2016): a review, *Int J Pharm Pharm Sci* **8**, 40-56
13. Kamal, A.H. et al. (2016): A review on UV spectrophotometric methods for simultaneous multicomponent analysis, *Eur J Pharm Med Res* **3**(January), 60.
14. Dinç, E., Yazan, Z. (2018): Wavelet transform-based UV spectroscopy for pharmaceutical analysis. *Front Chem.* **6**(OCT), 1–12.
15. International Center of Harmonization. A. (1996) Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology **20857**(November), 301–827.
16. Ismayuni, Muchlisyam, Effendy De Lux Putra. (2019): Development and validation of ultraviolet spectrophotometric method for estimated mixture of paracetamol, acetosal and caffeine in tablet dosage form, *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)* Vol. **6 (2)**, 01-05.
17. Patel, N. (2016): Development and Validation of First Order Derivative Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Pregabalin, Methylcobalamin, and Alpha Lipoic Acid in Multicomponent Dosage Form, *IJPSR* Vol. **7(6)**, 2458-2464.
18. Mohini, M., Upadhyay, Y., Anghore, D., dan Rawal, R.K. (2016): Simultaneous Estimation of Acebophylline, Montelukast, and Levocetirizine Dihydrochloride In Marketed Formulation by UV-Spectroscopy, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Volume **5**, Issue **8**, 1274-1284s
19. Sianipar, A.Y., Muchlisyam, Sinaga, S.M. (2018): Application and validation of derivative spectrophotometric for determination levels of ternary mixtures of paracetamol, propyphenazone, and caffeine in tablet dosage form, *Asian J Pharm Clin Res* **11(1)**, 8–11.



20. Sutisna, E., Fauzia, F., Musfiroh, I., Suherman, S.E. (2015): Determination of Salbutamol and Guaifenesin in Mixture Using Zero-Crossing Wavelength Measurement, *IJPST* Volume **2**, Issue **2**, June, 45-58.
21. Patel A.H., Patel J.K., Patel K.N., Rajput G.C., Rajgor N.B. (2010): Development and Validation of Derivative Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Domperidone and Rabeprazole Sodium in Bulk and Dosage Forms, *International Journal on Pharmaceutical and Biological Research* Vol. **1(1)**, 1-5
22. Patel, D.P., Shah, R.R., Patel, A.P., Tank, P.K. (2012): Development and Validation of First Order Derivative UV-Spectroscopic Method for Estimation of Ibuprofen and Famotidine in Synthetic Mixture. *International Journal of Drug Development & Research* Vol. **5** Issue **2**, 272-277.
23. Abo-Talib, N.F., El-Ghobashy, M.R., Tammam, M.H. (2017): Spectrophotometric methods for simultaneous determination of sofosbuvir and ledipasvir (HARVONI tablet): Comparative study with two generic products, *JAOAC Int* **100(4)**, 976–984.
24. Suryana, S, Nurjanah, N.S., Permana, B., Prasetiawati, R., Lubis, N. (2019): Derivative Uv-Spectroscopic determination of theophylline, salbutamol sulfate and glycerylguaiacolate in syrup mixture, *J Phys Conf Ser* **1402(5)**.
25. Joshi, P.R., Parmar S.J., dan Patel, B.A. (2013): Spectrophotometric Simultaneous Determination of Salbutamol Sulfate dan Ketotifen Fumarate in Combined Tablet Dosage Form by First-Order Derivative Spectroscopy Method, *Int. J. Spectrosc*, 1–6
26. Ibrahim, F.A., Elmansi, H., El-Awady, M.I., El Abass, S.A. (2020): Investigation of micellar enhancement in simultaneous assay of rosuvastatin and amlodipine in their fixed-dose combined tablets, *Microchem J.* **158(April)**:105207.
27. Maczka, P., Gumieniczek, A., Galeza, J., Pietras, R. (2014): Zero crossing and ratio spectra derivative spectrophotometry for the dissolution tests of amlodipine and perindopril in their fixed dose formulations, *Curr Issues Pharm Med Sci.* **27(2)**, 113–117.
28. Sen, A., Hinsu, D., Sen, D., Zanwar, A., Maheshwari, R., Chdanrakar, V. (2016): Analytical method development dan validation for simultaneous estimation of Teneligliptin

- hydrobromide hydrate dan Metformin hydrochloride from its pharmaceutical dosage form by three different UV spectrophotometric methods, *J App Pharm Sci*, 157–165.
29. Jain, P.S., Jivani, H.N., dan Surana, S.J. (2012): Quantitative Determination of Ciprofibrate in Tablets by Derivative UV Spectroscopy dan RP-HPLC Method, *Indian J Pharm Sci.* **74(2)**, 168–171.
30. Mondal, S et al. (2019): Development dan validation of few UV Spectrophotometric methods for the determination of Apremilast in bulk form dan pharmaceutical dosage form, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics.* **9(2-s)**, 429-436
31. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. accessed August 2020
32. Dibbern, H.W. (2002): UV and IR spectra pharmaceutical substances (UV and IR) and pharmaceutical and cosmetic excipients (IR), Aulendorf (Germany) ECV, Editio-Cantor-Verl.; 130, 301, 372,579, 682, 753, 834, 844, 1004, 1386, 1484, 1550.
33. Khutle , M., A PH, Vijaya, C. (2014): “Zero-Crossing” First-order Derivative Spectroscopy Method for Analysis of Sertraline Hydrochloride in Novel Self Micro Emulsifying Drug Delivery System. **1(3)**, 1–7.
34. Moldovan, Z, Popa, D.E., David, I.G., Buleandra, M., Badea, I.A. (2017): A Derivative Spectrometric Method for Hydroquinone Determination in the Presence of Kojic Acid, Glycolic Acid, and Ascorbic Acid, *J Spectrosc.* **2017**, 1-9.
35. Sardana, S., Mashru, R.C. (2010): Simultaneous determination of phenylephrine hydrochloride and tropicamide in ophthalmic dosage form with three rapid derivative spectrophotometric methods. *J Chil Chem Soc.* **55(4)**, 515–518.
36. Sversut, R.A., Alcântara, I.C., Rosa, A.M., Baroni, A.C.M., Rodrigues, P.O., Singh, A.K., et al. (2017): Simultaneous determination of gatifloxacin and prednisolone acetate in ophthalmic formulation using first-order UV derivative spectroscopy, *Arab J Chem.* **10(5)**, 604–610.
37. Bonfilio, R., De Araújo, M.B., Salgado, H.R.N. (2011): Development and validation of an UV-derivative spectrophotometric method for determination of glimepiride in tablets, *J Braz Chem Soc.* **22(2)**, 292–299.

38. Darwish, H.W., Metwally, F.H., El Bayoumi, A. (2014): Application of continuous wavelet transform for derivative spectrophotometric determination of binary mixture in pharmaceutical dosage form, *Dig J Nanomater Biostructures*. **9(1)**,7–18.
39. Elzanfaly, E.S., Hassan, S.A., Salem, M.Y., El-Zeany, B.A. (2014): Continuous Wavelet Transform, a powerful alternative to Derivative Spectrophotometry in analysis of binary and ternary mixtures: A comparative study, *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc*. **151**, 945–955.

