

Studi Literatur Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Sofosbuvir dalam Sediaan Tablet Sofosbuvir

Risda Nurmaulida^{*}, Hilda Aprilia, Farendina Suarantika

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

risdarisdamaulida@gmail.com, hilda.apriliah@gmail.com, farensuarantika@gmail.com

Abstract. Sofosbuvir is a nucleotide analogue antiviral that is widely used in chronic hepatitis C therapy, often in combination with Ledipasvir. As the need for efficient, valid, and environmentally friendly analytical methods increases, this study aims to systematically review validated spectrophotometric and chromatographic methods for the analysis of this combination. A literature study was conducted using Google Scholar, ScienceDirect, and PubMed databases, with a total of 3837 articles. After selection based on inclusion and exclusion criteria, 8 relevant articles indexed by Scopus were obtained. The methods reviewed included derivative spectrophotometry (zero-crossing, ratio spectra, ratio difference), CZE, HPTLC, HPLC-DAD, and UPLC. HPLC-DAD showed the best R and RSD values with 0.999994 and 0.13, HPLC showed the best LOD and LOQ values with 0.094 and 0.314 µg/mL, and RP-HPLC showed the best %recovery value and linearity range with 99.92 ± 0.23 and 5.0-500 µg/mL. All methods were validated according to ICH guidelines.

Keywords: *Sofosbuvir, Spectrophotometry UV, HPLC-DAD, Analytical Method.*

Abstrak. Sofosbuvir merupakan antivirus nukleotida analog yang banyak digunakan dalam terapi Hepatitis C kronis, sering dikombinasikan dengan Ledipasvir. Seiring meningkatnya kebutuhan akan metode analisis yang efisien, valid, dan ramah lingkungan, penelitian ini bertujuan mengkaji secara sistematis metode spektrofotometri dan kromatografi yang telah divalidasi untuk analisis kombinasi ini. Studi literatur dilakukan menggunakan database *Google Scholar*, *ScienceDirect*, dan *PubMed*, dengan total 3837 artikel. Setelah diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, diperoleh 8 artikel relevan terindeks Scopus. Metode yang dikaji meliputi spektrofotometri turunan (*zero-crossing*, *ratio spectra*, *ratio difference*), CZE, HPTLC, HPLC-DAD, dan UPLC. HPLC-DAD menunjukkan nilai R dan RSD yang paling baik dengan nilai 0.999994 dan 0.13, HPLC menunjukkan nilai LOD dan LOQ yang paling baik dengan nilai 0.094 dan 0.314 µg/mL, serta RP-HPLC menunjukkan nilai %recovery dan rentang linearitas paling baik dengan nilai 99.92 ± 0.23 dan 5.0–500 µg/mL. Semua metode telah divalidasi sesuai dengan pedoman ICH.

Kata Kunci: *Sofosbuvir, Spektrofotometri UV, HPLC-DAD, Metode Analisis.*

A. Pendahuluan

Hepatitis C merupakan inflamasi pada hati yang disebabkan oleh virus hepatitis C. Virus hepatitis C dapat menyebabkan baik hepatitis akut ataupun kronis, dengan spektrum penyakit yang bervariasi mulai dari ringan hingga berat dan kronis, seperti sirosis dan kanker. Di dunia, sekitar 50 juta orang memiliki infeksi hepatitis C kronis dan sekitar 1 juta infeksi baru terjadi setiap tahun. World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa hepatitis virus merupakan penyakit menular yang menjadi tantangan kesehatan masyarakat utama pada dekade ini. WHO memperkirakan pada tahun 2022, 242.000 orang meninggal dunia akibat hepatitis C, sebagian besar akibat sirosis dan karsinoma sel hati (World Health Organization, 2024). Di Asia Tenggara, WHO memperkirakan terdapat sekitar 10,3 juta (8,0–17,8 juta) orang yang hidup dengan hepatitis C kronis. Di Indonesia, berdasarkan Risesdas 2013, virus hepatitis C, bersama dengan virus hepatitis B merupakan penyebab sebagian besar penyakit hepatitis, sirosis, dan kematian terkait penyakit hati (Kementerian Kesehatan RI, 2022).

Infeksi akut virus hepatitis C (HCV) biasanya tidak memiliki gejala. Sekitar 30% (15-45%) dari orang yang terinfeksi, akan sembuh dengan sendirinya dalam waktu 6 bulan walaupun tanpa pengobatan. Sedangkan 70% (55-85%) sisanya akan berkembang menjadi infeksi hepatitis C kronis. Risiko terjadinya sirosis meningkat dari 15% menjadi 30% dalam kurun waktu 20 tahun pada orang dengan hepatitis C kronis. HCV merupakan virus yang ditularkan melalui darah dan kebanyakan infeksi terjadi melalui paparan darah seperti injeksi yang tidak aman, transfusi darah, penggunaan obat injeksi dan aktivitas seksual yang berisiko terjadinya transmisi melalui darah (World Health Organization, 2024).

Virus hepatitis C (VHC) merupakan virus RNA dari famili flaviviridae. Genom RNA VHC tersusun atas 9.600 basa nukleotida yang mengode polipeptida dari 3.010 hingga 3.033 asam amino, terdiri dari protein struktural (C, E1, dan E2) serta protein nonstruktural (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, dan NS5B) yang terletak di antara 5' NTR dan 3' NTR. Protein ini tersusun atas 191 asam amino pertama pada VHC, yang dikelompokkan menurut hidrofobisitasnya. Selain itu, protein ini berperan pula dalam transkripsi genetik, metabolisme lipid, apoptosis, dan berbagai jalur persinyalan (Ashfaq dkk., 2011).

Saat ini belum ada vaksin untuk hepatitis C, namun hepatitis C ini dapat diatasi dengan obat anti virus. Deteksi dan terapi dini pada hepatitis C dapat mencegah kerusakan hati lebih lanjut. Pada dasarnya, sistem imun manusia dapat mengatasi infeksi akut virus hepatitis C, sehingga tidak selalu membutuhkan terapi. Terapi biasanya dibutuhkan pada hepatitis C kronis. WHO menyatakan bahwa hanya 36% orang dengan hepatitis C yang terdiagnosis pada tahun 2015 hingga 2022, dan hanya sekitar 20% yang menerima terapi kuratif, dimana masih jauh di bawah target global. Tujuan dari terapi hepatitis C adalah untuk menyembuhkan penyakit dan mencegah kerusakan hati jangka panjang. Obat direct-acting antivirals (DAAs) dapat mengobati lebih dari 95% penderita infeksi hepatitis C. WHO merekomendasikan DAAs pan genotipik untuk dewasa, remaja, ataupun anak dengan hepatitis C kronis. Regimen terapi DAAs jangka pendek oral hanya memiliki sedikit efek samping. DAAs dapat mengobati sebagian besar penderita hepatitis C kronis dengan durasi terapi pendek, 12 hingga 24 minggu, tergantung dengan ada atau tidaknya sirosis hepatitis (World Health Organization, 2024).

Sofosbuvir merupakan direct-acting agent, yaitu agen yang dapat langsung menghalangi siklus hidup HCV dengan menekan replikasi virus. Regimen pengobatan dan durasi untuk sofosbuvir tergantung dari genotipe virus dan populasi pasien. Respon pengobatan bervariasi berdasarkan faktor pejamu dan virus. Sofosbuvir tidak bisa diberikan sebagai monoterapi, biasanya dikombinasikan dengan peginterferon alfa atau ribavirin. Sofosbuvir tidak direkomendasikan digunakan bersama karbamazepin, okskarbazepin, fenobarbital, fenitoin, rifabutin, rifapentin, atau tipranavir/ ritonavir karena dapat menurunkan konsentrasi sofosbuvir dan mengurangi efek terapeutiknya (Gilead, 2014).

Sofosbuvir secara kimia dikenal sebagai (S)-Isopropil 2-((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-fluoro-3-hidroksi-4-metiltetrahidrofur-2-il)metoksi) (fenoksi)fosforilamino) propanoat. Senyawa ini memiliki rumus molekul $C_{22}H_{29}FN_3O_9P$ dan berat molekul 529,45. Sofosbuvir berbentuk bubuk putih hingga putih kekuningan dengan kelarutan ≥ 2 mg/mL pada rentang pH 2-7,7 pada suhu 37°C. Koefisien partisi (log P) untuk Sofosbuvir adalah 1,62, dan nilai pKa-nya adalah 9,3. (EMA, 2014) Sofosbuvir merupakan inhibitor pan genotipik dari

HCV NS5B RNA-*dependent* RNA polimerase, yang penting untuk replikasi virus. Sofosbuvir adalah prodrug nukleotida yang mengalami aktivasi intraseluler untuk membentuk GS-461203 (trifosfat aktif, tidak terdeteksi dalam plasma), dan akhirnya metabolit tidak aktif yang dieliminasi melalui ginjal, yaitu GS-331007 (Gilead, 2014). Analog trifosfat uridin aktif secara farmakologi (GS-461203) dapat dimasukkan oleh HCV NS5B dan bertindak sebagai terminator rantai. Dalam uji biokimia, GS-461203 menghambat aktivitas polimerase dari NS5B rekombinan dari genotipe HCV 1b, 2a, 3a, dan 4a dengan nilai IC₅₀ berkisar antara 0,7 hingga 2,6 μ M. GS-461203 tidak menghambat polimerase DNA dan RNA manusia maupun polimerase RNA mitokondria (Haron et al., 2019).

Analisis farmasi memegang peranan penting dalam penjaminan mutu dan pengendalian kualitas bahan baku obat serta formulasi obat. Analisis farmasi adalah cabang khusus dari kimia analitik yang mencakup isolasi, identifikasi, dan penentuan jumlah relatif senyawa dalam suatu sampel. Bidang ini berkaitan dengan karakterisasi kimia suatu materi baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Metode analisis kimia secara umum meliputi analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan unsur atau zat dalam suatu bahan, sedangkan analisis kuantitatif digunakan untuk mengukur kadar dalam suatu bahan. Beberapa contoh metode analisis diantaranya yaitu spektrofotometri UV-Visibel dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

Dalam beberapa tahun terakhir, banyak teknik analitik telah dikembangkan. Instrumen analitik memiliki peran penting dalam produksi dan evaluasi produk baru serta perlindungan konsumen dan lingkungan. Instrumen ini menyediakan batas deteksi yang lebih rendah untuk memastikan keamanan makanan, obat-obatan, air, dan udara. Validasi metode analitik adalah proses yang dilakukan melalui studi laboratorium untuk memastikan bahwa karakteristik kinerja metode memenuhi persyaratan untuk aplikasi analitik yang dimaksudkan. Ada dua alasan penting untuk melakukan validasi pengujian dalam industri farmasi. Pertama adalah bahwa validasi pengujian merupakan bagian dari sistem pengendalian kualitas. Kedua, peraturan praktik manufaktur yang baik mengharuskan validasi pengujian (Mujawar et al., 2022).

Menurut ICH (*International Conference of Harmonization*) (Guy, 2014), parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis antara lain linearitas, spesifitas/selektivitas, batas deteksi, akurasi dan presisi. Linearitas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Sedangkan rentang metode pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linearitas yang dapat diterima. Selektivitas atau spesifisitas merupakan kemampuan suatu metode yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain dalam matriks sampel.

Selektivitas dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan metode terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan seperti produk degradasi, cemaran, senyawa asing, dan senyawa jenis lainnya yang kemudian dibandingkan dengan hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan yang ditambahkan tersebut. Batas deteksi (*limit of detection*/LOD) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD adalah batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit diatas atau dibawah nilai tertentu. Batas kuantitas (*limit of quantitation*/LOQ) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Akurasi adalah ukuran yang menunjukan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan.

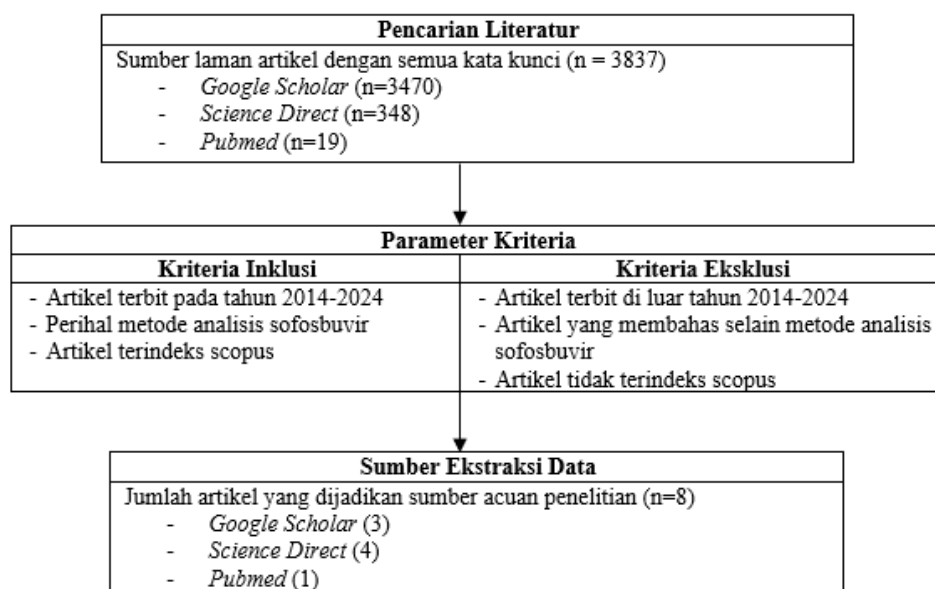
Sangat sedikit metode yang tersedia untuk penentuan sofosbuvir dalam tablet, analisis dosis kombinasi seperti sofosbuvir, ledipasvir, dan sofosbuvir, velpatasir dalam bentuk sediaan tablet. Tetapi tidak ada metode tersedia dalam literatur untuk estimasi sofosbuvir dan pengotornya dalam jumlah besar dan bentuk sediaan farmasi. Berdasarkan pendahuluan di atas, rumusan masalah dari studi literatur ini adalah metode validasi apa sajakah yang dapat digunakan untuk validasi sofosbuvir tablet serta metode validasi manakah yang paling baik untuk analisis tablet sofosbuvir. Tujuan dari studi literatur ini yaitu untuk mengetahui apa saja metode validasi sofosbuvir tablet serta metode analisis mana yang paling baik untuk sofosbuvir tablet yang memenuhi parameter spesifisitas, akurasi, presisi, linearitas, serta selektivitas berdasarkan *limit of detection* (LOD)/batas deteksi dan *limit of quantitation* (LOQ)/batas kuantitas. Manfaat dari studi literatur ini adalah untuk memberikan

informasi kepada peneliti mengenai metode validasi manakah yang paling baik untuk analisis sofosbuvir tablet.

B. Metode

Metode penelitian ini dilakukan secara *Systematic Literature Review* (SLR), yaitu dengan cara melakukan studi pustaka terhadap artikel-artikel ilmiah yang telah dipublikasi. Tahap-tahap yang dilakukan adalah *planning*(perencanaan), *searching*(pencarian), *filtering*(penyaringan), dan *extraction*(ekstraksi). Pertama-tama dilakukan proses perencanaan yaitu dengan menetapkan rumus masalah penelitian. Selanjutnya dilakukan proses pencarian artikel ilmiah pada laman-laman yang bereputasi seperti *Google Scholar*, *Science Direct*, dan *Pubmed* menggunakan kata kunci “Sofosbuvir AND ("analytical method" OR "method development" OR "validation" OR "HPLC" OR "UV" OR "spectrophotometry") AND ("tablet" OR "pharmaceutical dosage form")”.

Kemudian dilakukan tahap penyaringan artikel ilmiah untuk menentukan artikel ilmiah mana saja yang akan digunakan menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yaitu artikel ilmiah yang terbit pada tahun 2014-2024; perihal metode analisis sofosbuvir; dan terindeks scopus. Kriteria eksklusinya yaitu artikel ilmiah yang terbit di luar rentang tahun 2014-2024; bukan merupakan metode analisis sofosbuvir; dan tidak terindeks scopus. Barulah kemudian pada tahap terakhir dilakukan tahap *extraction* yaitu ekstraksi data dari artikel-artikel ilmiah yang sudah dipilih. Tahap-tahap yang dilakukan dapat dituangkan ke dalam diagram alir sebagai berikut



Gambar 1. Diagram Alir Metode Penelitian

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pencarian literatur dalam penelitian ini dilakukan dengan mengakses tiga sumber utama, yaitu *Google Scholar*, *Science Direct*, dan *Pubmed* dengan menggunakan kata kunci “Sofosbuvir AND ("analytical method" OR "method development" OR "validation" OR "HPLC" OR "UV" OR "spectrophotometry") AND ("tablet" OR "pharmaceutical dosage form")”, diperoleh total artikel ilmiah sebanyak 3837, dengan rincian 3470 artikel ilmiah dari laman *Google Scholar*, 348 artikel ilmiah dari laman *Science Direct*, dan 19 artikel ilmiah dari laman *Pubmed*. Kemudian dari total artikel ilmiah yang ditemukan, dilakukan penyaringan menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yang digunakan mencakup artikel ilmiah yang terbit antara tahun 2014 hingga 2024, yang membahas metode analisis Sofosbuvir, serta artikel ilmiah yang terindeks dalam Scopus.

Sebaliknya, kriteria eksklusi mencakup artikel ilmiah yang terbit di luar rentang tahun yang ditentukan, artikel ilmiah yang membahas selain metode analisis Sofosbuvir, serta artikel ilmiah yang

tidak terindeks dalam Scopus. Hasil dari proses penyaringan ini menghasilkan 8 artikel ilmiah yang memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai sumber acuan penelitian, yang berasal dari *Google Scholar* (3 artikel ilmiah), *Science Direct* (4 artikel ilmiah), dan *Pubmed* (1 artikel ilmiah).

Beberapa metode analisis yang paling sering ditemukan ketika melakukan pencarian artikel ilmiah antara lain HPLC dan spektrofotometri UV. HPLC banyak digunakan karena dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif, serta kelebihan lainnya yaitu dapat menghasilkan pemisahan dengan baik serta proses analisis yang berlangsung cepat. Spektrofotometri UV merupakan spektrofotometri yang paling populer digunakan karena kemudahannya serta dapat digunakan baik untuk sampel berwarna maupun tidak berwarna.

Berdasarkan dari hasil penelusuran dan ekstraksi data dari 8 artikel ilmiah yang telah diperoleh yang terdapat pada tabel 1, validasi metode analisis yang paling baik berdasarkan nilai koefisien korelasi(R) yaitu terdapat pada artikel ilmiah no 1 (Baker et al., 2018) dengan nilai $R > 0.999994$ yaitu metode HPLC-DAD. Nilai koefisien korelasi(R) merupakan parameter validasi metode analisis yang menunjukkan linearitas.

Nilai R yang mendekati 1 artinya menunjukkan bahwa metode HPLC-DAD linearitasnya sangat baik, atau hasil pengujiannya berbanding lurus dengan konsentrasi sehingga dapat dikatakan metode HPLC-DAD sangat akurat. Hal ini dapat disebabkan karena metode HPLC-DAD memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi dari DAD-nya. DAD(diode array detector) merupakan detektor UV-Vis multi-wavelength yang mampu memberikan spektrum UV lengkap dari puncak eluata yang terdeteksi pada saat bersamaan(Dong & Wysocki, 2019). Sehingga identifikasi puncak menjadi lebih akurat karena tidak hanya mengandalkan waktu retensi tetapi juga karakter spectral.

Berdasarkan dari nilai LOD dan LOQ, metode validasi yang paling baik terdapat pada artikel ilmiah no 7 (El-Yazbi, 2017) dengan nilai LOD 0.094 $\mu\text{g/mL}$ dan LOQ 0.314 $\mu\text{g/mL}$ yaitu metode HPLC. Nilai LOD menunjukkan konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi, sedangkan nilai LOQ menunjukkan konsentrasi analit terendah yang dapat diukur secara kuantitatif. Semakin kecil nilai LOD maka semakin sensitif metode tersebut sehingga dapat mendeteksi jumlah analit yang sangat kecil. Semakin kecil nilai LOQ maka metode tersebut dapat digunakan untuk pengukuran analit dalam jumlah yang sangat rendah dengan hasil yang valid. Artinya metode HPLC merupakan metode yang sangat sensitif. Hal ini dapat disebabkan karena HPLC mampu memisahkan senyawa dengan sangat baik sehingga respon sinyal tidak terganggu oleh senyawa lain dalam matriks sampel. HPLC juga memiliki detektor yang sangat sensitif. Selain itu pompa pada HPLC mampu mengalirkan fase gerak dengan volume dan tekanan yang sangat stabil sehingga menghasilkan baseline yang tenang dan minim.

Berdasarkan dari nilai RSD, metode validasi yang paling baik terdapat pada artikel ilmiah no 6 (Baker et al., 2017) dengan nilai RSD 0.13 yaitu metode HPLC-DAD. Nilai RSD digunakan untuk melihat presisi atau ketelitian dari metode analisis yang dilakukan. Nilai RSD yang lebih rendah menunjukkan presisi yang lebih baik. Sehingga metode yang paling presisi apabila diukur dari nilai RSD nya adalah metode HPLC-DAD pada artikel ilmiah no 6 (Baker et al., 2017). Hal ini dapat disebabkan karena kombinasi presisi sistem HPLC yang tinggi serta keunggulan dari detektor DAD. Sistem HPLC yang modern menggunakan autosampler dapat menyuntikkan sampel dalam volume

Tabel 1. Tabel Hasil Ekstraksi Data

No	Sumber	Metode	R	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	RSD	%recovery	Linearity range($\mu\text{g/mL}$)
1	(Baker et al, 2018)	Zero-Crossing	(-)	(-)	(-)	(-)	93.44 $\pm$ 1.24	6—60
		Ratio Spectra	0.9999	0.45	1.38	0.38	92.91 $\pm$ 0.94	(-)
		Ratio Difference	0.99996	0.41	1.24	1.26	93.68 $\pm$ 1.12	(-)
		HPTLC	0.9991	5.74	17.41	1.89	93.53 $\pm$ 0.99	20—150
		HPLC-DAD	0.999994	0.80	2.67	0.13	93.99 $\pm$ 1.06	4—400

No	Sumber	Metode	R	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	RSD	%recovery	Linearity range($\mu\text{g/mL}$)
2	(Mastanamma et al, 2017)	RP-HPLC	0.999	0.25	0.5	0.43; 0.32	98.18 $\pm$ 0.36	1—15
3	(El-Hamd et al, 2017)	Spektro UV	0.9989	1.6	4.8	0.37	(97.99 $\pm$ 0.32)- (99.69 $\pm$ 0.15)	5—100
4	(Hassouna & Mohamed, 2018)	RP-HPLC	0.9996	9.18	30.62	0.139	(99.92 $\pm$ 0.23)	5.0—500
		Spektro UV	0.9997	1.01	3.39	0.145	(100.06 $\pm$ 0.34)	5.0—50
		1DD	0.9999	0.150	0.454	<2.0	(-)	5.0—50
5	(Kamal et al, 2019)	Ratio Difference	0.99997	0.106	0.322	<2.0	(-)	5.0—50
		UPLC	0.9999	0.688	2.084	<2.0	(-)	5—20
6	(Baker et al, 2017)	HPLC-DAD	0.99999	0.12	0.40	0.15	99.63 $\pm$ 0.31	0.6—60
		HPLC	0.9996	0.094	0.314	1.25	100.25	0.500—100
		CZE	0.9995	0.100	0.334	0.77	101.32	0.500—200
7	(El-Yazbi, 2017)	HPTLC	0.9998	2.099	6.999	1.88	100.28	25.0—100
		Direct Spectro	0.9998	0.685	2.283	1.03	98.69	5.0—50
		Derivative Spectro	0.9997	0.566	1.888	0.89	99.92	5.0—50
8	(Ramzy & Abdelazim, 2022)	Spektro UV	0.9997	0.803	2.434	0.595; 0.801	100.26 $\pm$ 0.508	3—44

Keterangan:CZE : *Capillary Zone Electrophoresis*1DD : *First derivative of ratio spectra method*UPLC : *Ultra Performance Liquid Chromatography*HPTLC : *High Performance Thin Layer Chromatography*HPLC-DAD : *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection*

Hampir identik yang mengakibatkan nilai RSD yang kecil. Detektor DAD dapat mendeteksi panjang multi-gelombang sekaligus yang memungkinkan pemilihan panjang gelombang paling optimal untuk yang konsisten dan reproduibel, sehingga volume injeksi yang stabil menyebabkan respon sinyal antar replikasi yang setiap senyawa. Dengan respon optik yang tajam dan minim noise, sinyal absorbansi menjadi lebih konsisten antar replikasi sehingga menghasilkan nilai RSD yang rendah.

Berdasarkan dari nilai %recovery, metode validasi yang paling baik terdapat pada artikel ilmiah no 4 (Hassouna & Mohamed, 2018) dengan nilai %recovery 99.92 $\pm$ 0.23 yaitu metode HPLC. Nilai %recovery menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan nilai yang sebenarnya. Nilai %recovery yang baik adalah yang paling mendekati 100% menunjukkan bahwa hasil analisis mendekati nilai yang sebenarnya, yang artinya hampir semua analit yang dianalisis terukur dan tidak hilang. HPLC memiliki resolusi yang tinggi sehingga mampu memisahkan analit dari zat pengganggu sehingga memungkinkan pengukuran yang murni tanpa adanya interferensi dari zat lain sehingga membuat akurasi meningkat dan nilai %recovery mendekati 100%.

Berdasarkan dari rentang linearitas, metode validasi yang paling baik juga terdapat pada artikel ilmiah no 4 (Hassouna & Mohamed, 2018) yaitu metode RP-HPLC dengan nilai rentang 5.0—500 $\mu\text{g/mL}$. Semakin luas rentang linearitasnya semakin baik karena semakin fleksibel untuk berbagai konsentrasi sampel tanpa perlu dilakukan pengenceran. Hal ini dapat disebabkan karena pada jurnal

ini RP-HPLC menggunakan fase diam C18 yang non-polar serta fase gerak KH_2PO_4 :asetonitril yang polar sehingga kombinasi dari fase diam dan fase gerak ini cocok untuk berbagai jenis analit dari yang agak polar hingga non-polar, memungkinkan deteksi linier dari konsentrasi sangat rendah hingga tinggi, tanpa efek kejenuhan atau kehilangan respon.

Secara keseluruhan, berbagai metode analisis telah berhasil dikembangkan dan divalidasi untuk analisis senyawa obat antivirus. Metode-metode ini umumnya memenuhi pedoman validasi ICH, menunjukkan linearitas, akurasi, presisi, sensitivitas, dan spesifisitas yang tinggi. Pilihan metode kembali lagi tergantung kepada kebutuhan spesifik analisis, termasuk kompleksitas matriks sampel, waktu yang tersedia, biaya, dan tingkat sensitivitas yang diperlukan. Banyak metode ini juga menekankan aspek ramah lingkungan dan ekonomis dalam pengembangannya.

D. Kesimpulan

Kesimpulan dari studi literatur ini yaitu beberapa validasi metode yang dapat dilakukan untuk analisis sofosbuvir tablet antara lain spektrofotometri UV, spektrofotometri 1DD, *zero-crossing*, *ratio spectra*, *ratio difference*, CZE, *direct spectro*, *derivative spectro*, HPLC, RP-HPLC, HPLC-DAD, HPTLC, dan UPLC.

Metode validasi yang paling baik berdasarkan nilai koefisien korelasi(R)-nya yaitu metode HPLC-DAD, berdasarkan nilai LOD dan LOQ-nya yaitu metode HPLC, berdasarkan nilai RSD-nya yaitu metode HPLC-DAD, serta berdasarkan nilai *%recovery*-nya yaitu metode RP-HPLC.

Beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu dapat dilakukan pengembangan metode untuk analisis multikomponen yang lebih kompleks, pengaplikasian pada sampel biologis, mengoptimalkan metode yang telah ada, pengembangan metode untuk metabolit obat, serta penerapan teknik *chemometrics* untuk analisis spektrofotometri yang lebih lanjut.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing Ibu apt. Hilda Aprilia, Ibu apt. Farendina, serta program studi Farmasi yang telah memfasilitasi penulis dalam melakukan penelitian ini. Dan tidak lupa penulis memberikan terimakasih kepada keluarga dan teman-teman yang telah memberikan dukungan serta doa kepada penulis selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Aptika Oktaviana Trisna Dewi. (2025). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR KAFEIN PADA SEDUHAN TEH HIJAU DENGAN VARIASI WAKTU SEDUH. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 8(1), 12–19. <https://doi.org/10.29313/jiff.v8i1.3962>
- Ashfaq, U. A., Javed, T., Rehman, S., Nawaz, Z., & Riazuddin, S. (2011). An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virology Journal*, 8. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-161>
- Baker, M. M., El-Kafrawy, D. S., Mahrous, M. S., & Belal, T. S. (2017). Validated stability-indicating HPLC-DAD method for determination of the recently approved hepatitis C antiviral agent daclatasvir. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 75(3), 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2016.12.005>
- Baker, M. M., El-Kafrawy, D. S., Mahrous, M. S., & Belal, T. S. (2018). Validated spectrophotometric and chromatographic methods for analysis of the recently approved hepatitis C antiviral combination ledipasvir and sofosbuvir. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 76(1), 16–31. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2017.07.005>
- Dong, M. W., & Wysocki, J. (2019). Ultraviolet Detectors: Perspectives, Principles, and Practices. *LC-GC North America*, 37(10).

- El-Yazbi, A. F. (2017). Comparative Validation of the Determination of Sofosbuvir in Pharmaceuticals by Several Inexpensive Ecofriendly Chromatographic, Electrophoretic, and Spectrophotometric Methods. *Journal of AOAC International*. <https://doi.org/10.5740/jaoacinct.16-0295>
- Gandana, M. V., Lestari, F., & Tri Laksono, B. (2025). The Immunostimulant Effect of Raspberry (*Rubus idaeus*) Fruit Ethanol Extract Through Carbon Clearance Index and Organ Index. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 8(1), 20–29. <https://doi.org/10.29313/jiff.v8i1.4820>
- Gilead Files For U.S. (2014). *Approval of Ledipasvir/Sofosbuvir Fixed-Dose Combination Tablet for Genotype 1 Hepatitis C*.
- Guy, R. C. (2014). International Conference on Harmonisation. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00861-7>
- Haron, M. H., Avula, B., Shi, Q., Li, X. C., Ashfaq, M. K., Bae, J. Y., Guan, S., Hinchee, M., Khan, I. A., & Khan, S. I. (2019). Quantitative determination and pharmacokinetic study of fusaricidin A in mice plasma and tissues using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.03.042>
- Hassouna, M. E. M., & Mohamed, M. A. (2018). UV-Spectrophotometric and Stability Indicating RP-HPLC Methods for the Determination of the Hepatitis C Virus Inhibitor Sofosbuvir in Tablet Dosage Form. *Analytical Chemistry Letters*, 8(2), 217–229. <https://doi.org/10.1080/22297928.2017.1410441>
- Kementerian Kesehatan RI. (2022). Rencana Aksi Program Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit Tahun 2020-2024. In *Rencana AKSI Program P2P* (Vol. 2022).
- Mujawar, T., Imran, Md., Bairagi, V., Mahajan, K., Pulate, C., & Ahmad, S. (2022). Development and validation for the simultaneous estimation of Sofosbuvir and Ledipasvir by UV spectrophotometer method in bulk and tablet dosage forms. *International Journal of Health Sciences*. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns6.11840>
- Rizky Hadyan, M. (n.d.). *Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona Muricata L.) yang Tumbuh di Daerah Cianjur Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. <https://journals.sangkuriangpublisher.com/pharmacomedic>
- World Health Organization. (2024). *Global hepatitis report 2024: action for access in low-and middle-income countries*.