

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hiperlipidemia adalah penyebab utama aterosklerosis dan penyakit yang berkaitan dengan aterosklerosis, seperti penyakit jantung koroner, serebrovaskular iskemia dan pembuluh perifer (Mahley dan Bersot, 2003). Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyebab kematian nomor satu di dunia.

Gemfibrozil merupakan golongan fibrat yang saat ini banyak tersedia secara komersial dalam sediaan farmasi dan memiliki beberapa keunggulan umum dibandingkan obat lipid lainnya untuk pengobatan dislipidemia. Obat ini dapat menurunkan kolesterol total sebesar 10%, kolesterol LDL sebesar 11%, meningkatkan kadar kolesterol HDL sebesar 11% dan menurunkan trigliserida sebesar 35% (Mahley dan Bersot, 2003).

Gemfibrozil yang beredar di pasaran perlu dilakukan uji penetapan kadar untuk mengetahui mutu sediaan. Mutu sediaan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penyimpanan, cahaya dll. Metode yang selektif dan sensitif menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk menganalisis kadar gemfibrozil. Penelitian tentang metode penetapan tablet Gemfibrozil dalam plasma manusia secara KCKT telah dilakukan oleh Rao *et al* (2012) menggunakan eluen buffer kalium dihidrogen fosfat 10 mM (pH 4.0 + 0.1) dan asetonitril dalam perbandingan 95: 5 v/v pada fase terbalik dengan kolom X-Terra C₁₈ (4,6 mm Internal Diameter X 150 mm panjang, 5 μ

ukuran partikel) gemfibrozil memiliki gugus kromofor yang dapat dideteksi oleh detektor UV sehingga diperoleh hasil resolusi yang baik menggunakan deteksi UV pada panjang gelombang 222 nm. Penelitian ini menghasilkan koefisien korelasi (r) 0,9989 dan akurasi dengan rentang perolehan kembali 91,5-103,1 %.

Kadenatsi *et al.*, (1995) melakukan penentuan gemfibrozil oleh KCKT dalam studi farmakokinetik dengan fase diam kolom C₁₈ dan fase gerak campuran asetonitril:asam fosfat (50:50 v/v) menggunakan detektor UV 276 nm. Penelitian ini menghasilkan koefisien korelasi (r) 0,998.

Penelitian tentang pengembangan metode analisis baru dan validasi untuk estimasi gemfibrozil dalam sediaan kapsul oleh KCKT dengan fase diam Agilent Zorbax C₈ (150×4.6mm, 5μ), dengan fase gerak yang mengandung Solvent-A: buffer fosfat menyesuaikan pH-3,0 dengan asam ortofosfat Solvent-B: Metanol laju alir adalah 1,5 mL/menit dan eluen dipantau pada 276 nm. Penelitian ini menghasilkan *recovery* 99,5 % (Sushma *et al.*,2013). Namun penelitian validasi gemfibrozil dalam sediaan kapsul masih jarang dilakukan, oleh karena itu perlu dikembangkan.

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi penetapan kadar gemfibrozil secara KCKT menggunakan fase diam C₁₈ dan fase gerak buffer kalium dihidrogen fosfat 10 mM:asetonitril dengan perbandingan 30:70 v/v dan mengaplikasikannya dalam sediaan kapsul.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah penetapan kadar kapsul gemfibrozil menggunakan KCKT dengan fase diam C₁₈ dan fase gerak hasil optimasi buffer kalium dihidrogen fosfat 10 mM:asetonitril dengan perbandingan 30:70 v/v dapat dilakukan?
2. Apakah metode validasi memenuhi persyaratan akurasi, presisi, linieritas, selektivitas dan sensitivitas?
3. Apakah metode yang sudah divalidasi tersebut dapat diaplikasikan pada penetapan kadar gemfibrozil dalam sediaan kapsul?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Melakukan penetapan kadar kapsul gemfibrozil menggunakan KCKT dengan fase diam C₁₈ dan fase gerak hasil optimasi buffer kalium dihidrogen fosfat 10 mM:asetonitril dengan perbandingan 30:70 v/v.
2. Mengetahui apakah metode validasi memenuhi persyaratan akurasi, presisi, linieritas, selektivitas dan sensitivitas.
3. Mengaplikasikan metode yang sudah divalidasi pada penetapan kadar gemfibrozil dalam sediaan kapsul.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan informasi penetapan kadar gemfibrozil menggunakan KCKT yang telah divalidasi dan dapat

diaplikasikan ke dalam sediaan kapsul dan memberikan informasi tentang kesesuaian kadar obat dalam sediaan kapsul.

E. Tinjauan Pustaka

A. Gemfibrozil

Gemfibrozil adalah agen pengatur lipid dan diduga meningkatkan lipolisis lipoprotein trigliserida melalui lipase lipoprotein. Lipolisis intraseluler dalam jaringan adipose menurun. Terdapat suatu penurunan kadar LDL dalam plasma, sebagian terjadi karena penurunan sekresi oleh hati. Struktur kimia gemfibrozil dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Gemfibrozil (Depkes RI, 1995)

Gemfibrozil memiliki Rumus empiris yaitu $C_{15}H_{22}O_3$ dan berat molekulnya adalah 250,35. Nama lain atau nama kimianya adalah 5-(2,5-dimethylphenoxy)-2,2-dimethylpentanoic acid. Pemerian hablur padat serupa lilin, putih, melebur pada suhu antara $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $61\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zat ini praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol, methanol, asetonitril dan dalam kloroform (Depkes RI, 1995).

Efek samping gemfibrozil adalah gangguan saluran cerna, gangguan ruam kulit, dermatitis, pruritus, urtikaria, impotensi, sakit kepala, pusing, pandangan kabur, angiodema, edema larings, fibrilasi atrium, pankreatitis, miastenia, miopati, rabdomiolisis dan mialgia (Depkes RI, 2010).

B. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu di antaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam absorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion.

Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi di antara dua fase, satu diantaranya diam (fase diam), yang lainnya bergerak (fase gerak). Fase gerak membawa zat terlarut melalui media, hingga terpisah dari zat terlarut lainnya, yang teresolusi lebih awal atau lebih akhir. Umumnya zat terlarut dibawa melewati media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen. Fase diam dapat bertindak sebagai zat penjerap, seperti halnya penjerap alumina yang diaktifkan, silika gel, resin penukaran ion, atau dapat bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak. Dalam proses terakhir ini suatu lapisan cairan pada suatu penyangga yang inert berfungsi sebagai fase diam. Partisi merupakan mekanisme pemisahan yang utama dalam kromatografi gas-cair, kromatografi kertas dan kolom yang disebut kromatografi cair-cair. Dalam praktek, seringkali pemisahan disebabkan oleh suatu kombinasi efek absorpsi dan partisi. Kebanyakan fase diam pada KCKT berupa silika yang dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi, atau polimer-polimer stiren dan

divinil benzen. Oktadesil silika (ODS atau C₁₈) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Oktil atau rantai alkil yang lebih pendek lagi lebih sesuai untuk solut yang polar. Solut-solut yang polar, terutama yang bersifat basa, akan memberikan puncak yang mengekor (*tailing peak*) pada penggunaan fase diam silika fase terikat (Gandjar dan Rohman, 2007).

KCKT merupakan suatu sistem pemisahan menggunakan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa bertekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif dan kuantitatif, baik yang komponen tunggal maupun campuran (Gandjar dan Rohman, 2007).

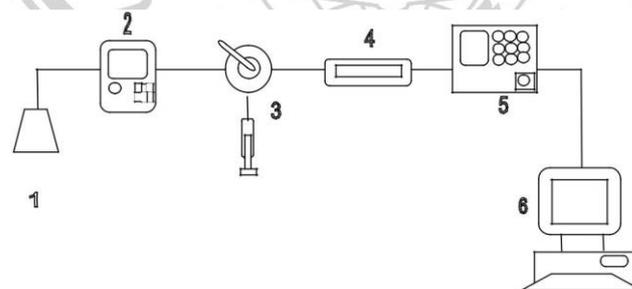
Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik dan anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap (*non volatil*). KCKT juga sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat dan protein-protein dalam cairan biologis, menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat dan lain-lain (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kelebihan metode KCKT antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, mudah pelaksanaannya, dapat dihindari terjadinya dekomposisi atau

kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali dan mudah melakukan perolehan kembali (Putra, 2004).

Kekurangan metode KCKT yaitu sulit untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrofotometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2007).

Instrumental KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan suatu komputer atau integrator atau perekam (Gandjar dan Rohman, 2007). Skema KCKT dapat dilihat pada gambar 2 :



Gambar 2. Sistem Komponen KCKT 1. Eluent (Wadah Fase Gerak), 2. Pompa, 3. Injektor, 4. Kolom, 5. Detektor, 6. Pengolah data (Ardianingsih, 2009).

1. Eluent (Wadah fase gerak)

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan

berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis. Pada saat membuat pelarut untuk fase gerak, maka sangat dianjurkan untuk menggunakan pelarut, buffer dan reagen dengan kemurnian yang sangat tinggi. Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil (Gandjar dan Rohman, 2007).

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel (Johnson dan Stevenson, 1991).

Fase gerak yang baik harus memiliki sifat sebagai berikut yaitu murni, tidak bereaksi dengan kolom, sesuai dengan detektor, selektif terhadap komponen, dapat melarutkan cuplikan, mempunyai viskositas yang rendah, memungkinkan memperoleh kembali cuplikan dengan mudah, harganya wajar, dapat memisahkan zat dengan baik (Lestari, 2008).

2. Pompa

Syarat pompa untuk KCKT yaitu pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 mL/menit. Untuk tujuan preparatif, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 mL/menit. Tujuan penggunaan pompa untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis pompa dalam KCKT yaitu pompa dengan tekanan konstan dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan (Gandjar dan Rohman, 2007).

3. Injektor

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir dibawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel internal atau eksternal. Pada saat pengisian sampel, sampel digelontor melewati keluk sampel dan kelebihan dikeluarkan ke pembuang. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati

keluk sampel dan menggelontor sampel ke kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

4. Kolom

Kolom merupakan bagian sangat penting dari kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobor. Dalam prakteknya kolom mikrobor ini tidak setahan kolom konvensional dan kurang bermanfaat untuk analisis rutin (Gandjar dan Rohman, 2007).

5. Detektor

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan untuk menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Suatu detektor yang baik mempunyai sensitivitas yang tinggi, terdapatnya gangguan yang rendah, dalam memperoleh respon linier sangat luas, dan memberikan respon untuk semua tipe senyawa. Kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperatur sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh (Putra, 2007).

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor

spektrofotometri massa, dan golongan detektor spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV visibel, detektor fluoresensi dan elektrokimia (Gandjar dan Rohman, 2007).

6. Pengolah data

Hasil dari pemisahan kromatografi biasanya ditampilkan dalam bentuk kromatogram pada rekorder. Pengolahan data secara kualitatif ditampilkan sebagai waktu retensi sedangkan secara kuantitatif ditampilkan sebagai luas area.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dapat diaplikasikan pada penetapan kadar fenofibrat dalam tablet menggunakan fase diam C₁₈ fase gerak yang terdiri dari metanol 0.1 % dan asam fosfat (60:40 v/v) pada laju alir 2 mL/menit, dan suhu oven kolom ditetapkan pada 50 °C. Detektor UV waktu diprogram di 302 nm dan 289 nm (Salama *et al.*, 2011).

C. Validasi

Validasi merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu pada prosedur yang dipakai untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Dalam proses validasi, parameter-parameter untuk kerja metode ditentukan menggunakan peralatan yang memenuhi spesifikasi, bekerja dengan baik dan terkalibrasi secara memadai (Harmita, 2004).

Pengujian yang dilakukan dalam validasi diantaranya yakni akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas dan selektivitas :

1. Akurasi

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V tahun 2014 Akurasi dihitung sebagai persentase perolehan kembali (*recovery*) dari penetapan sejumlah analit yang ditambahkan dan diketahui jumlahnya kedalam sampel, atau sebagai selisih antara hasil rata-rata dengan hasil benar yang diterima bersama batas kepercayaan.

$$\text{Perolehan kembali (\%)} = \frac{a-b}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

- A = Konsentrasi sampel setelah penambahan bahan baku.**
- B = Konsentrasi sampel sebelum penambahan bahan baku**
- C = Konsentrasi bahan baku yang ditambahkan**

Batas penerimaan perolehan kembali adalah 80-120% (Gandjar dan Rohman, 2007)

2. Presisi

Ketelitian suatu metode analisis adalah ukuran yang menunjukkan tingkat kesesuaian atau kedekatan setiap hasil analisis yang dilakukan berulang pada sampel yang homogen pada kondisi analisis yang sama (Depkes 2001). Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Nilai RSD dirumuskan dengan:

$$\text{RSD} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan :

SD : Standar Deviasi

\bar{x} : Kadar rata-rata sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pada pengujian KCKT, presisi yang baik jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi tidak lebih atau sama dengan 2% (Harmita, 2004).

3. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Dalam prakteknya, digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasi antar 50 – 150 % kadar analit dalam sampel. Sering ditemukan di dalam pustaka rentang konsentrasi yang digunakan antara 0-200 %. Jumlah sampel yang dianalisis sekurang-kurangnya delapan buah sampel blanko (Harmita, 2004).

Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $y = bx + a$. hubungan linier ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum(y_1 - \hat{y}_1)^2}{N-2}}$$

Dimana $\hat{y}_1 = a + bx$

$$S_{x_0} = \frac{S_y}{b}$$

S_{x_0} = standar deviasi dari fungsi

$$V_{x_0} = \frac{S_{x_0}}{x}$$

V_{x_0} = koefisien variasi dari fungsi (Harmita, 2004)

4. Selektivitas

Selektivitas atau spesifitas suatu metode merupakan kemampuan mengukur zat tertentu secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dinyatakan sebagai derajat penyimpangan metode yang dilakukan terhadap sampel mengandung bahan tambahan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, dan senyawa asing lainnya, dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan tambahan lainnya (Harmita, 2004).

Selektifitas metode dapat ditentukan melalui perhitungan daya resolusinya (R_s) dengan persamaan:

$$R_s = \frac{(R_{tB} - R_{tA})}{W_A + W_B}$$

Keterangan :

- R** : resolusi
- R_{tA}** : waktu retensi puncak pertama
- R_{tB}** : waktu retensi puncak kedua
- W_A** : lebar dasar puncak pertama
- W_B** : lebar dasar puncak kedua

Nilai resolusi digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan selektivitas metode analisis berdasarkan pemisahan antar puncak (*peak*) dengan nilai yang baik ≥ 2 (Snyder dkk., 1997).

5. Sensitivitas

Uji sensitivitas dinyatakan dengan uji batas deteksi (LOD/*limit of detection*) dan batas kuantifikasi (LOQ/*limit of quantification*). Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

Batas kuantitas (LOQ) menggambarkan jumlah minimal yang mampu dideteksi oleh metode analisa yang dapat dipertanggung jawabkan secara kuantitatif (Miller, 2000). Untuk menghitung LOD dapat menggunakan rumus sebagai berikut

$$Q = \frac{K \times S_b}{S_1}$$

Keterangan :

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitasi

S_b = simpangan baku respon analitik dari blangko

S₁ = arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a + bx$) (Harmita, 2004).

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ($S_{y/x}$) (Harmita, 2004).

a. Batas deteksi (LOD).

Karena $k = 3$ atau 10

Simpangan baku (S_b) = $S_{y/x}$, maka

$$Q = \frac{3 S_{y/x}}{S_1}$$

b. Batas kuantitasi (LOQ).

$$Q = \frac{10 S_{y/x}}{S_1}$$

Keterangan :

$S_{y/x}$ = simpangan baku respon analitik dari blanko

S_1 = arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a+bx$) (Harmita, 2004).

D. Kapsul

Kapsul adalah sediaan berupa serbuk yang diisikan dalam cangkang kapsul atau berupa sediaan cairan, setengah padat yang dibungkus dengan kapsul dasar. Kapsul keras adalah kapsul menggunakan cangkang kapsul, dibuat dari gelatin, dalam berbagai ukuran disesuaikan dengan serbuk obat yang akan diisikan. Cangkang kapsul umumnya berbentuk tabung berujung bulat, terdiri wadah dan tutup. Pada pembuatan kapsul agar diusahakan dalam ruangan berkelembaban lebih kurang 60% (Depkes RI, 1978).

F. Landasan Teori

Gemfibrozil memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus kromofor serta gugus OH sebagai gugus ausokrom sehingga obat ini dapat dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV.

Penelitian tentang metode penetapan tablet Gemfibrozil dalam plasma manusia secara KCKT telah dilakukan oleh Rao *et al* (2012) menggunakan eluen buffer kalium dihidrogen fosfat 10 mM (pH 4.0 + 0.1) dan asetonitril dalam perbandingan 95: 5 v/v pada fase terbalik dengan kolom X-Terra C₁₈ (4,6 mm Internal Diameter X 150 mm panjang, 5 μ ukuran partikel) hasil resolusi yang baik menggunakan deteksi UV pada panjang gelombang 222 nm. Penelitian ini menghasilkan koefisien korelasi (r) 0,9989 dan akurasi dengan rentang perolehan kembali 91,5-103,1 %.

Kadenatsi *et al.*, (1995) melakukan penentuan gemfibrozil oleh KCKT dalam studi farmakokinetik dengan fase diam kolom C₁₈ dan fase gerak campuran asetonitril:asam fosfat (50:50 v/v) menggunakan detektor UV 276 nm. Penelitian ini menghasilkan koefisien korelasi(r) 0,998.

Penelitian tentang pengembangan metode analisis baru dan validasi untuk estimasi gemfibrozil dalam sediaan kapsul oleh KCKT dengan fase diam Agilent Zorbax C₈ (150×4.6mm, 5 μ), dengan fase gerak yang mengandung Solvent-A: buffer fosfat menyesuaikan pH-3,0 dengan asam ortofosfat Solvent-B: Metanol laju alir adalah 1,5 mL/menit dan eluen dipantau pada 276 nm. Penelitian ini menghasilkan *recovery* 99,5 % (Sushma *et al.*, 2013)

G. Hipotesis

1. Penetapan kadar Gemfibrozil menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak campuran bufer kalium dihidrogen fosfat 10 mM:asetonitril dengan hasil optimasi 30:70 v/v dapat dilakukan.
2. Metode validasi menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak campuran bufer kalium dihidrogen fosfat 10 mM:asetonitril dengan hasil optimasi 30:70 v/v dapat memenuhi persyaratan akurasi, presisi, linearitas, sensitivitas dan selektivitas.
3. Metode yang sudah divalidasi pada penetapan Gemfibrozil dapat diaplikasikan pada penetapan kadar Gemfibrozil dalam sediaan kapsul.

