

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Ketokonazol merupakan suatu obat anti jamur turunan imidazol yang memiliki aktivitas antifungi yang efektif terhadap dermatofit, ragi, misalnya *trichophyton*, *epidermophyton*, *microsporum*, *candida albicans*. Ketokonazol krim diindikasikan untuk pengobatan topikal pada pengobatan infeksi dermatofit pada kulit, seperti *Tinea corporis*, *cruris*, dan *tinea*.

Krim ketokonazol merupakan krim yang sering digunakan di masyarakat dan memiliki kadar yang kecil. Namun penelitian validasi ketokonazol dalam sediaan krim masih jarang dilakukan, oleh karena itu perlu dikembangkan. Suatu metode yang selektif dan sensitif seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) diperlukan untuk menganalisis kadar ketokonazol.

Metode KCKT merupakan metode yang sering digunakan untuk penetapan kadar senyawa obat baik dalam bentuk sediaan maupun dalam sampel hayati. Hal ini karena KCKT merupakan metode yang memiliki sensitifitas tinggi. Selain itu, KCKT memberikan banyak keuntungan antara lain cepat, resolusinya baik, mudah melaksanakannya, detektor yang sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, kolom dapat digunakan kembali dan mudah mendapatkan perolehan kembali, serta ideal untuk molekul besar dan ion (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penetapan kadar ketokonazol dalam sediaan tablet dapat menggunakan metode KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak campuran air: asetonitril: buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan (51:45:4 v/v). Penelitian yang dilakukan mendapatkan hasil presisi dan akurasi yang baik (Jat., *et al*, 2012).

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi penetapan kadar ketokonazol secara KCKT menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak campuran air: asetonitril: buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan 46:50:4 v/v, 51:45:4 v/v, 56:40:4 v/v dan mengaplikasikannya dalam sediaan krim.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah validasi metode penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak hasil optimasi campuran air, asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan 46:50:4 v/v, 51:45:4 v/v, 56:40:4 v/v dapat dilakukan?
2. Apakah validasi metode penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT memenuhi persyaratan ketepatan, ketelitian, linieritas, selektivitas dan sensitivitas ?
3. Apakah metode yang sudah divalidasi pada penetapan kadar ketokonazol tersebut dapat diaplikasikan dalam sediaan krim?

C. Tujuan Penelitian

1. Melakukan validasi metode penetapan kadar krim ketokonazol menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak hasil optimasi campuran air: asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan 46:50:4 v/v, 51:45:4 v/v, 56:40:4 v/v.
2. Mengetahui apakah metode validasi penetapan kadar ketokonazol memenuhi persyaratan ketepatan, ketelitian, linieritas, selektivitas dan sensitivitas.
3. Mengaplikasikan metode yang sudah di validasi tersebut pada sediaan krim.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan informasi penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT yang dapat diaplikasikan ke dalam sediaan krim dan memberikan informasi tentang kesesuaian kadar ketokonazol dalam sediaan krim.

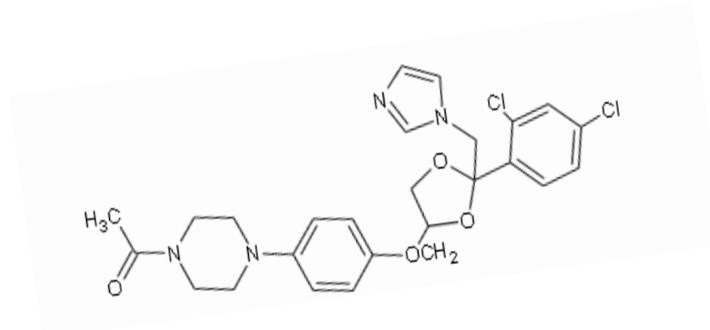
E. Tinjauan Pustaka

1. Ketokonazol

Ketokonazol sebagai agen antijamur sistemik. Ketokonazol praktis tidak larut dalam air, sedikit larut dalam asam kuat, larut dalam basa kuat. Ini adalah turunan imidazol dengan berat molekuler 531,44 (Martindale, 2009).

Ketokonazol menghambat sitokrom P-450 pada lanosterol C-14 demethylase, yang bertanggung jawab untuk produksi ergosterol dan komponen yang diperlukan dalam jamur sintesis dinding sel, enzim ini berada

di jalur sterol biosintesis yang mengarah dari lanosterol ke ergosterol, dengan struktur kimia ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Ketokonazol (Anonim, 2014).

Nama kimia	Ketokonazolium
Rumus molekul	$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.
Pemerian	Serbuk hablur, putih, tidak berbau
Kelarutan	Ketokonazol praktis tidak larut dalam air, sedikit larut dalam asam kuat, larut dalam basa kuat
Efek samping	Mual, muntah, nyeri kepala, depresidan dapat menyebabkan gangguan hati bila digabung dengan obat-obatan lain.

2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

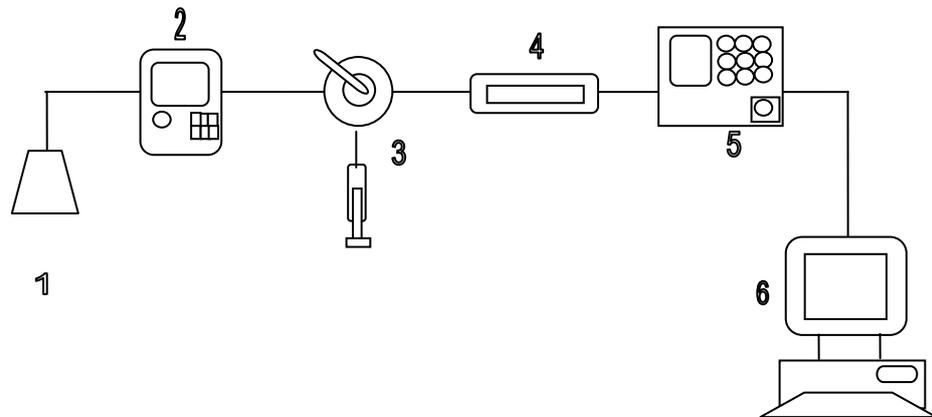
KCKT merupakan suatu sistem pemisahan menggunakan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa bertekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif dan kuantitatif, baik yang komponen tunggal maupun campuran (Anonim, 1995).

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik dan anorganik, senyawa biologis, analisis ketidakmurnian dan analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap (non volatil). KCKT juga sering digunakan untuk penetapan kadar senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan biologis, menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat dan lain-lain. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

Kelebihan metode KCKT adalah mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, resolusinya baik, kecepatan analisis dan kepekaannya tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, dapat digunakan bermacam-macam detektor, mudah melaksanakannya, kolom dapat digunakan kembali, mudah melakukan perolehan kembali, instrumennya memungkinkan untuk bekerja secara otomatis dan kuantitatif.

Keterbatasan metode KCKT adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrofotometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh. 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. Skema Komponen KCKT (Ardianingsih, 2009): a. *Eluent* (Wadah fase gerak) b. Pompa c. Injektor d. Kolom e. Detektor f. Pengolah data.

a. 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).

b. 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 2 pompa dalam KCKT yaitu pompa dengan tekanan konstan dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Injektor

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikan 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 kebunuhannya dikeluarkan ke pembuang. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan menggelontor sampel ke kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Kolom

Kolom merupakan bagian sangat terpenting 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).

e. 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 sensitifitas yang tinggi, terdapatnya gangguan yang rendah, dalam memperoleh respons 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-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia (Gandjar dan Rohman, 2007).

f. Pengolahan data

Hasil dari pemisahan kromatografi biasanya ditampilkan dalam bentuk kromatogram pada rekorder. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dapat diaplikasikan dalam penetapan kadar ketokonazol dalam sediaan tablet dengan menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak air, asetonitril, buffer fosfat pH 6,8. Metode yang dihasilkan cepat, spesifik dan akurat (Jat., *et al*, 2012).

3. Validasi

Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Karakteristik kinerja analitik yang digunakan dalam validasi metode diantaranya yaitu akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linieritas (Anonim, 2014).

Validasi metode analisis adalah proses untuk menjamin bahwa prosedur uji yang dilakukan memenuhi standar yang dapat diterima dan sesuai dengan tujuan yang telah ditetapkan. Metode uji yang berbeda membutuhkan validasi yang berbeda pula (Lister, 2005). Tingkatan yang diuji dalam validasi diantaranya yaitu ketepatan, ketelitian, linieritas, limit deteksi dan limit kuantitas, dan sensitivitas.

a. Ketepatan (Akurasi)

Ketepatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*%recovery*) analit yang ditambahkan dan dapat ditentukan melalui dua cara yaitu metode simulasi (*spiked placebo recovery*) dan metode penambahan bahan baku (*standard addition method*) (Snyder dkk., 1997). Jika metode simulasi tidak dapat dilakukan maka akurasi dapat diukur dengan metode penambahan baku (Lister, 2005).

Dalam metode adisi, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel, dicampur dan dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Harmita, 2004).

$$\% \text{ Perolehankembali} = \frac{A - B}{C} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = konsentrasi sampel yang diperoleh setelah penambahan baku

B = konsentrasi sampel sebelum penambahan baku

C = konsentrasi baku yang ditambahkan

Persen perolehan kembali seharusnya tidak melebihi nilai presisi RSD. Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada Tabel I di bawah ini:

Tabel I. Perolehan Kembali yang diijinkan pada setiap Konsentrasi Analit pada Matriks (Harmita, 2004).

Analit pada matrik sampel (%)	Rata-rata yang diperoleh (%)
100	98-102
>10	98-102
>1	97-103
>0,1	95-105
0,01	90-107
0,001	90-107
0,0001 (1 ppm)	80-110
0,000.01 (100 ppb)	80-110
0,000.001 (10 ppb)	60-115
0,000.000.1 (1 ppb)	40-120

b. Ketelitian (Presisi)

Ketelitian dari suatu metode analisis adalah derajat kesesuaian diantara masing-masing hasil uji, jika prosedur analisis diterapkan berulang kali pada sejumlah cuplikan yang diambil dari sampel homogen. Presisi dinyatakan sebagai deviasi standar atau deviasi standar relatif (koefisien variasi). Presisi dapat diartikan pula sebagai derajat reproduibilitas atau keterulangan dari prosedur analisis (Harmita, 2004).

Pengujian presisi pada saat awal validasi metode seringkali hanya menggunakan 2 parameter yang pertama, yaitu keterulangan dan presisi antara. Presisi biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium. Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data.

Nilai RSD dirumuskan dengan:

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

Keterangan :

RSD = Standar deviasi relatif

SD = Standar deviasi

\bar{X} = Kadar rata-rata sampel

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

c. Linieritas

Linieritas suatu metode analisis adalah kemampuan untuk menunjukkan bahwa nilai hasil uji langsung atau setelah diolah secara matematika, proporsional dengan konsentrasi analit dalam sampel dalam batas rentang konsentrasi tertentu. Rentang suatu metode analisis adalah interval antara batas konsentrasi tertinggi dan konsentrasi terendah analit masih menggunakan ketelitian, ketepatan dan linieritas (Rohman dan Gandjar, 2007).

Data linearitas devaluasi menggunakan metode statistik, yang paling umum digunakan adalah persamaan garis regresi antara respon detektor (sumbu-y) *versus* konsentrasi sampel (sumbu-x). Dalam suatu metode analisis, kriteria nilai r yang didapat harus lebih besar dari 0,99 (Miller dan Miller, 2005).

Linieritas biasanya dinyatakan dalam istilah variasi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematika data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linieritas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis

terhadap konsentrasi analit. 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).

d. Selektivitas

Selektivitas adalah kemampuan metode untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks. Penentuan spesifisitas metode dapat diperoleh dengan 2 jalan, yang pertama (dan yang paling diharapkan) adalah dengan melakukan optimasi sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa yang dituju ≥ 2). Cara yang kedua untuk memperoleh spesifisitas adalah dengan menggunakan detektor selektif, terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersamaan (Gandjar dan Rohman, 2007).

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

$$R_s = \frac{(R_{t_B} - R_{t_A})}{W_A + W_B}$$

Keterangan :

R_{t_A} = waktu retensi puncak pertama

R_{t_B} = waktu retensi puncak kedua

W_A = lebar dasar puncak pertama

W_B = lebar dasar puncak kedua (Harmita, 2004).

Nilai resolusi digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan selektifitas metode analisis berdasarkan pemisahan antar puncak (peak) dengan nilai yang baik ≥ 2 (Synder dkk., 1997). Literatur lain menyebutkan bahwa nilai $R_s \geq 1.5$ sudah menunjukkan pemisahan puncak yang baik (Sastrohamidjojo, 2002).

e. Sensitivitas

Uji sensitivitas dinyatakan dengan uji batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). 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 dipertanggungjawabkan secara kuantitatif (Miller, 2000).

Untuk menghitung LOD dapat menggunakan rumus sebagai berikut

$$Q = \frac{kxS_b}{S_1}$$

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 linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi slope (b pada persamaan garis $y = bx + a$).

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 (Sy/x) (Harmita, 2004).

a. Batas deteksi (Q)

Karena $k = 3$ atau 10

Simpangan baku (S_b) = Sy/x , maka

$$Q = \frac{3 Sy/x}{S_1}$$

b. Batas kuantitasi (Q)

$$Q = \frac{10 Sy/x}{S_1}$$

Keterangan :

Sy/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 $y= bx+a$).

4. Krim

Krim didefinisikan sebagai cairan kental atau emulsi setengah padat baik bertipe air dalam minyak atau minyak dalam air. Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian obat pada kulit (Ansel, 1989).

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi

mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika. Krim dapat digunakan untuk pemberian obat melalui vaginal.

Dalam aplikasinya sediaan semi padat dapat diuji validasi dengan metode KCKT menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa air: asetonitril: buffer fosfat pH 6,8 (51:45:4 v/v) (Jat., *et al*, 2012).

F. Landasan Teori

Penelitian yang dilakukan oleh Jat., *et al*, (2012) pada pengembangan dan validasi metode RP-HPLC estimasi ketokonazol dalam sediaan tablet. Pemisahan KCKT menggunakan deteksi UV 238 nm pada kondisi optimal menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa air, asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 (51:45:4 v/v) dengan laju alir dari 1,0 mL/menit. Metode yang digunakan spesifik, cepat, dan reproduksi.

Penelitian yang dilakukan oleh Venishetty., *et al*, (2011) pada penerapan validasi metode RP-HPLC untuk penentuan simultan docetaxel dan ketokonazol dalam sediaan salep menggunakan deteksi UV 230 nm, pada kondisi optimal menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa asetonitril dan 0,2% trietilamin pH 6,4 (48:52 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit. Metode yang diterapkan telah berhasil memenuhi persyaratan.

Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan di atas, maka akan dikembangkan metode analisis ketokonazol dalam sediaan krim menggunakan KCKT. Pengembangan metode meliputi optimasi panjang gelombang maksimum dan fase

gerak. Optimasi fase gerak meliputi pH, laju alir dan komposisi. Fase diam berupa C_{18} dan detektor yang digunakan adalah UV. Fase gerak terdiri dari air, asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 pada laju alir dari 1 mL/menit. Berdasarkan hasil optimasi ini diharapkan memperoleh metode KCKT untuk penetapan kadar ketokonazol yang tervalidasi.

G. Hipotesis

1. Validasi metode penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT C_{18} dan fase gerak hasil optimasi campuran air, asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan (46:50:4, 51:45:4, 56:45:4 v/v) dapat dilakukan.
2. Validasi metode penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak hasil optimasi campuran air, asetonitril dan buffer fosfat pH 6,8 dengan perbandingan (46:50:4, 51:45:4, 56:45:4 v/v) memenuhi persyaratan ketepatan, ketelitian, linieritas, selektivitas dan sensitivitas.
3. Validasi metode penetapan kadar ketokonazol menggunakan KCKT dapat diaplikasikan dalam sediaan krim.