

## PENGEMBANGAN METODE KLT VIDEO DENSITOMETRI UNTUK ANALISIS MIKONAZOL NITRAT DAN HIDROKORTISON ASETAT DALAM SEDIAAN KRIM

**Winasih Rachmawati, Salsabila Putri, Fauzan Zein Muttaqin\***

Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana

\*Email: fauzanzein@bku.ac.id

Received: 22/10/2025 Revised: 22/11/2025 Accepted: 23/11/2025 Published: 31/12/2025

### ABSTRAK

Infeksi jamur pada kulit dapat diatasi dengan sediaan krim yang mengandung mikonazol nitrat (MN) dan hidrokortison asetat (HA). Penetapan kadar kedua zat tersebut dapat dilakukan secara simultan menggunakan beberapa metode seperti KCKT, spektrofotometri UV dan FTIR, akan tetapi penggunaan metode KLT video densitometri belum pernah dilaporkan di literatur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan KLT video densitometri untuk analisis MN dan HA yang efektif dalam formulasi krim. Tahapan penelitian dimulai dari pembuatan larutan baku, optimasi sistem KLT, validasi metode analisis dan penetapan kadar MN dan HA pada sediaan krim. Sistem KLT terbaik untuk pemisahan yaitu menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak campuran n-heksan:kloroform:metanol (6:3:1). Bercak pada plat KLT divisualisasikan di bawah lampu UV254, kemudian direkam menggunakan kamera digital, dan dianalisis secara kuantitatif menggunakan software ImageJ untuk menghitung luas area. Hasil penelitian menunjukkan nilai faktor selektivitas ( $\alpha$ ) sebesar 1,52. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) untuk keduanya diatas 0,99. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi berturut-turut adalah 30,63 dan 102,10 bpj untuk MN, serta 12,12 dan 40,39 bpj untuk HA. Perolehan kembali sebesar  $100,84 \pm 1,25\%$  untuk MN dan  $100,27 \pm 0,89\%$  untuk HA, sedangkan nilai presisi (%SBR) untuk MN dan HA sebesar 0,647% dan 0,547%. Kadar MN dan HA dalam sediaan krim berturut-turut adalah  $100,41 \pm 0,27\%$  dan  $101,15 \pm 0,18\%$ . Metode KLT video densitometri dapat digunakan sebagai metode analisis alternatif yang sederhana, cepat dan andal dalam penetapan kadar zat aktif MN dan HA dalam sediaan krim kombinasi.

**Kata kunci :** Hidrokortison Asetat; ImageJ; KLT Video Densitometri; Mikonazol Nitrat

### ABSTRACT

*Cutaneous fungal infections are commonly treated with topical formulations containing miconazole nitrate (MN) and hydrocortisone acetate (HA) in various ratio. Although several analytical techniques, such as high-performance liquid chromatography (HPLC), UV spectrophotometry, and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), have been employed for the simultaneous quantification of these active ingredients, the application of video densitometry combined with thin-layer chromatography (TLC) has not been previously reported in the literature. This study aimed to develop an effective video densitometry TLC method for analyzing MN and HA in cream formulations. The research process included preparing standard solutions, optimizing the TLC system, evaluating the methods, and assaying MN and HA in the cream product. The optimal TLC system for separation was achieved using silica gel GF254 as the*

*stationary phase and a mobile phase composed of n-hexane:chloroform:methanol (6:3:1). Spots on the TLC plates were visualised under UV light at 254 nm, captured using a digital camera, and quantitatively analyzed using ImageJ software to calculate the spot areas. The results showed a selectivity factor ( $\alpha$ ) of 1.52. The correlation coefficients ( $r$ ) for both compounds exceeded 0.99. The limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) were 30.63 and 102.10  $\mu\text{g/mL}$  for MN and 12.12 and 40.39  $\mu\text{g/mL}$  for HA, respectively. The recovery rates were  $100.84 \pm 1.25\%$  for MN and  $100.27 \pm 0.89\%$  for HA, with precision (%RSD) values of 0.647% and 0.547%, respectively. The concentrations of MN and HA in the cream formulation were  $100.41 \pm 0.27\%$  and  $101.15 \pm 0.18\%$ , respectively. The TLC video densitometry method proved to be a simple, rapid, and reliable alternative analytical technique for determining the active ingredients MN and HA in combined cream formulations.*

**Keywords:** Hydrocortisone acetate; ImageJ; TLC Video Densitometry; Miconazole Nitrate

## PENDAHULUAN

Produk obat yang tersedia di pasaran biasanya terdiri dari campuran berbagai zat aktif dengan tujuan untuk meningkatkan ketersediaan hayati dan efektivitas dan terapi obat (Stielow *et al.*, 2023). Sediaan krim yang mengandung campuran zat aktif untuk mengatasi masalah topikal yaitu mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat yang digunakan untuk mengobati berbagai infeksi jamur, seperti kutu air dan ruam popok. Mikonazol dapat mengatasi infeksi jamur, sementara hidrokortison mengurangi peradangan dan rasa gatal yang ditimbulkan (Mijaljica *et al.*, 2022).

Sediaan obat yang beredar di pasaran harus memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan. Salah satu parameter mutu obat adalah kandungan zat aktif yang sesuai dengan sediaan etiket agar dapat memberikan efek farmakologis. Pengembangan metode analisis diperlukan untuk menghasilkan metode yang sesuai untuk menganalisis

sediaan kombinasi secara simultan dan melihat pengaruh terhadap variasi komposisi matriks, sehingga menghasilkan data analisis yang tetap akurat dan valid (Dey *et al.*, 2023).

Beberapa metode analisis yang tersedia untuk sediaan kombinasi mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat yaitu kromatografi gas (Ashour & Kattan, 2010), spektrofotometri UV (Abbas *et al.*, 2017; Abou-elkheir *et al.*, 2015), spektrofotometri infra merah (Khotimah *et al.*, 2020) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Rajput & Bhosale, 2014; Rehman *et al.*, 2017; Zanzwar *et al.*, 2024). Hingga saat ini, belum ditemukan publikasi yang membahas penggunaan metode KLT video densitometri untuk analisis kombinasi mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat. Metode KLT video densitometri memiliki berbagai keunggulan, seperti analisis secara simultan tanpa pemisahan secara terpisah, peralatan yang sederhana, biaya operasional yang relatif rendah, penggunaan pelarut dalam jumlah

kecil, tingkat selektivitas dan sensitivitas yang baik, serta kemampuannya untuk mengamati kromatogram secara visual (Rachmawati *et al.*, 2023; Ramadhani *et al.*, 2023). Berdasarkan latar belakang di atas, maka pada penelitian ini akan dikembangkan metode alternatif untuk analisis kombinasi mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat menggunakan KLT video densitometri.

Tujuan pada penelitian ini yaitu memperoleh sistem KLT yang digunakan untuk pemisahan mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat, melakukan validasi metode KLT video densitometri dalam analisis mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat pada sediaan krim, dan menetapkan kadar kedua zat tersebut dalam sediaan krim secara simultan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (Mettler Toledo), lempeng KLT silika gel 60 F254 (Merck), aplikator CAMAG<sup>®</sup> linomat 4, lampu UV 254, kamera mirrorless Sony Alpha tipe A5100, perangkat lunak ImageJ (versi 1.53h20), dan alat-alat gelas di laboratorium. Bahan yang digunakan adalah mikonazol nitrat (Gree Industry), hidrokortison asetat (Gree Industry), krim mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat, basis krim, metanol p.a

(Merck), kloroform p.a (Merck), dan n-heksan p.a (Merck).

### **Jalannya Penelitian**

#### **1. Penyiapan Larutan Induk**

Larutan induk mikonazol nitrat (MN) 1000 bpj dibuat dengan cara zat ditimbang sebanyak 50,0 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas. Larutan induk hidrokortison asetat (HA) 500 bpj dibuat dengan cara zat ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas.

#### **2. Orientasi Konsentrasi Terendah**

Dari masing-masing larutan induk dilakukan pengenceran mulai konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 bpj. Masing-masing larutan ditotolkan pada plat KLT menggunakan CAMAG<sup>®</sup> sebanyak 10  $\mu$ L tanpa dielusi, kemudian diamati di bawah sinar lampu UV254.

#### **3. Pembuatan Seri Larutan Baku Campuran**

Larutan baku campur (2:1) dibuat dengan cara ditimbang MN sebanyak 100,0 mg dan 50,0 mg HA kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas. Enam seri larutan baku diperoleh dengan mengencerkan larutan baku induk campuran

melalui cara dipipet sebanyak 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 mL secara berturut-turut ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan menggunakan metanol hingga mencapai tanda batas, sehingga diperoleh enam larutan baku MN dengan konsentrasi 400, 500, 600, 700, 800, dan 900 bpj. Sedangkan, konsentrasi HA yang diperoleh adalah 200, 250, 300, 350, 400, dan 450 bpj.

#### **4. Validasi Metode Analisis**

##### **4.1 Selektivitas**

Uji selektivitas dilakukan untuk mengetahui sistem KLT yang optimum untuk memisahkan MN dan HA dalam suatu campuran. Dalam pengujian ini digunakan tiga larutan, yaitu MN 1000 bpj, HA 500 bpj dan larutan baku campuran. Dibuat dengan cara memvariasikan fase gerak dari campuran pelarut etil asetat, metanol, amonia, n-heksan, dan kloroform. Bercak dipantau di bawah lampu UV254, kemudian dihitung nilai Rf dan bentuk dari bercak yang dihasilkan. Berdasarkan hasil optimasi pengembang, diketahui nilai Rf dari masing-masing senyawa. Parameter selektivitas (nilai  $\alpha$ ) dilakukan dengan membandingkan Rf MN dengan HA. Pemisahan yang baik antara dua senyawa yang dianalisis ditunjukkan dengan nilai  $\alpha$  lebih besar dari 1,0 (Kemenkes RI, 2020).

##### **4.2 Linieritas**

Larutan seri konsentrasi dari baku campuran MN dan HA ditotolkan pada plat KLT sebanyak 10  $\mu$ L kemudian dikembangkan di dalam chamber yang berisi pelarut pengembang hasil optimasi. Kemudian divisualisasi dibawah sinar lampu UV 254 nm, hasil bercak yang didapatkan direkam dengan kamera digital. Kamera yang digunakan untuk merekam dilengkapi dengan lensa 18-50 mm yang telah dioptimasi sensitivitas ISO pada 100, kecepatan rana pada 1/6, bukaan pada f/5.6 pada titik fokus 50 mm untuk menghasilkan intensitas yang konstan selama pengukuran (Muttaqin *et al.*, 2022).

Selanjutnya hasil bercak disimpan sebagai file .jpeg kemudian dianalisis kromatogramnya menggunakan perangkat lunak ImageJ sehingga dapat diperoleh nilai AUC. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplotkan antara AUC dengan konsentrasi larutan baku. Dari kurva kalibrasi tersebut diperoleh persamaan regresi linier untuk MN dan HA. Uji linieritas ditentukan oleh nilai koefisien korelasi (r) mendekati nilai 1 dan nilai koefisien variasi fungsi ( $V_{x0}$ ) di bawah 2,0% (Elder, 2024; Rachmawati, 2024).

##### **4.3 Sensitivitas**

Parameter yang diukur dalam uji sensitivitas yaitu batas deteksi (BD dan batas kuantisasi (BK). Nilai BD dan BK dapat

ditentukan secara statistik dengan mengaplikasikan garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran sesuai dengan nilai b pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sementara simpangan baku respons dapat ditentukan berdasarkan simpangan baku residual dari garis regresi atau simpangan baku intersep y pada garis regresi residual ( $Sy/x$ ) (Rachmawati, 2024).

$$BD = \frac{3 \times Sy/x}{b} \quad BK = \frac{10 \times Sy/x}{b}$$

#### 4.4 Akurasi

Pengujian akurasi dilakukan dengan menggunakan basis krim yang ditambahkan bahan aktif MN dan HA dengan tiga level konsentrasi yaitu 80%, 100%, dan 120% dari komposisi yang tertera di etiket. Setelah campuran homogen, sampel ditimbang secara akurat sebanyak tiga kali, masing-masing seberat kurang lebih 0,3 g, kemudian disonikasi dan dilarutkan dengan metanol hingga 10,0 mL. Larutan disaring kemudian ditotolkan pada plat KLT sebanyak 10  $\mu$ L. Plat disimpan dalam chamber yang telah berisi fase gerak yang sebelumnya telah dijenuhkan, setelah plat KLT mencapai batas pengembang plat diangkat dan dikeringkan. Kemudian visualisasi dilakukan dengan pengambilan gambar menggunakan kamera. Bercak dianalisis dengan ImageJ sehingga diperoleh kromatogram beserta nilai AUC (*Area Under Curve*). Dari nilai tersebut dapat

dihitung nilai % perolehan kembali dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{perolehan kembali} = \frac{(c_{\text{total}} - c_{\text{sebenarnya}})}{(c_{\text{yang ditambahkan}})} \times 100\%$$

#### 4.5 Presisi

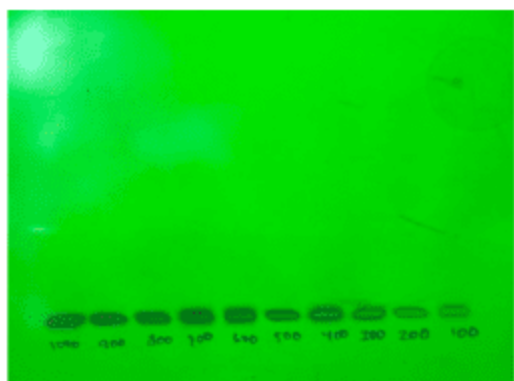
Uji presisi atau kesesamaan menggunakan sampel simulasi 100% kemudian dihitung simpangan baku relatif (SD) dan koefisien variasi (KV). Larutan sampel simulasi 100% diuji sebanyak enam kali sesuai prosedur 6.3. Prosedur ini dilakukan pada tiga hari yang berbeda untuk menentukan presisi antara atau intermediate precision. Nilai AUC yang diperoleh kemudian dihitung simpangan baku (SD) lalu dimasukkan ke dalam persamaan untuk memperoleh nilai simpangan baku relatif (RSD). Nilai RSD yang diperoleh harus kurang dari 2 % untuk mendapatkan presisi yang baik (Merone *et al.*, 2020; Yuangsoi *et al.*, 2008).

### 5 Penetapan Kadar Sampel

Sampel krim ditimbang seksama sebanyak 0,3 g dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian disonikasi dan larutkan dalam 10,0 mL pelarut metanol, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 10  $\mu$ L larutan sampel ditotolkan pada plat KLT yang kemudian proses pengembangan dilakukan dalam chamber yang telah dijenuhkan diisi fase gerak. Setelah dielusi ambil gambar pada lempeng. Gambar yang

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan orientasi konsentrasi terendah dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari MN dan HA yang masih dapat terlihat spotnya. Dari hasil pengamatan, diperoleh konsentrasi yang masih dapat terdeteksi di bawah lampu UV 254 yaitu 400 bpj untuk MN dan 200 bpj untuk HA. Konsentrasi ini akan menjadi patokan dalam pembuatan kurva kalibrasi.



900 800 700 600 500 400 300 200

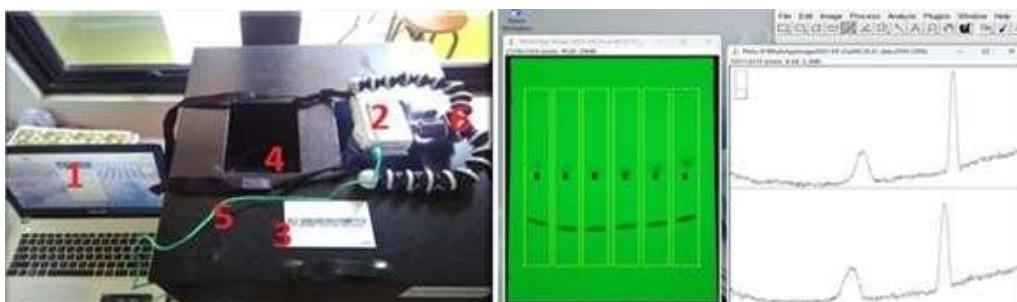
(b) Mikonazol nitrat

**Gambar 1.** Orientasi konsentrasi terendah hidrokortison asetat dan mikonazol nitrat yang masih dapat terdeteksi di bawah lampu UV254

## 2. Perekaman Bercak dan Visualisasi ImageJ

Plat KLT yang sudah dielusi menggunakan pengembang, divisualisasi dilakukan di bawah sinar lampu UV254 untuk melihat bercak MN dan HA yang telah terpisah. Setelah memperoleh bercak kemudian dilakukan perekaman bercak menggunakan kamera mirroless dengan *color management* yang sudah diatur sebelumnya, seperti ISO 100 yang digunakan untuk menentukan tingkat sensitivitas

terhadap cahaya, semakin tinggi nilai ISO maka sensor akan semakin peka terhadap cahaya meskipun akan ada resiko meningkatkan noise, shutter 1/6 digunakan untuk mengatur berapa lama cahaya mengenai sensor yang dinyatakan dalam satuan detik, aperture atau nilai F 5,6 digunakan untuk mengatur banyak sedikitnya cahaya yang masuk ke dalam lensa, dan lensa zoom 50 mm memberikan sudut pandang sempit (Muttaqin *et al.*, 2022).



**Gambar 2.** Perangkat alat KLT Video Densitometri dan visualisasi di ImageJ (1) Laptop, (2) Kamera (3) Tempat lampu UV (4) Tempat kamera (5) Kabel koneksi (6) Gorila tripod

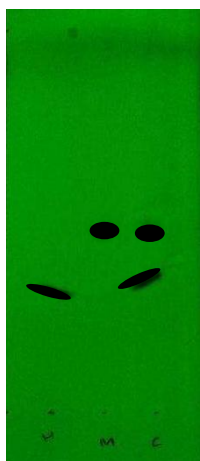
## 3. Validasi Metode Analisis

### 3.1 Selektivitas

Fase gerak yang terpilih untuk pemisahan mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat adalah n-heksana: kloroform: metanol (6:3:1) dengan nilai  $R_f$  yang didapat secara berturut-turut adalah 0,50 untuk MN dan 0,32 untuk HA. Nilai  $R_f$  dari kedua senyawa ini berada pada rentang 0,2-0,8 (S. Kumar *et al.*, 2013; Munthe *et al.*,

2020). Suatu metode pemisahan kromatografi dikatakan memenuhi syarat selektivitas apabila nilai faktor selektivitas ( $\alpha$ ) atau retensi relative yang diperoleh lebih dari 1,5 yang berarti terdapat perbedaan kemampuan fase gerak dalam memisahkan dua komponen yang berbeda (Kemenkes RI, 2020). Nilai  $\alpha$  diperoleh pada penelitian ini yaitu  $0,50/0,32 = 1,56$ , hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa memiliki interaksi

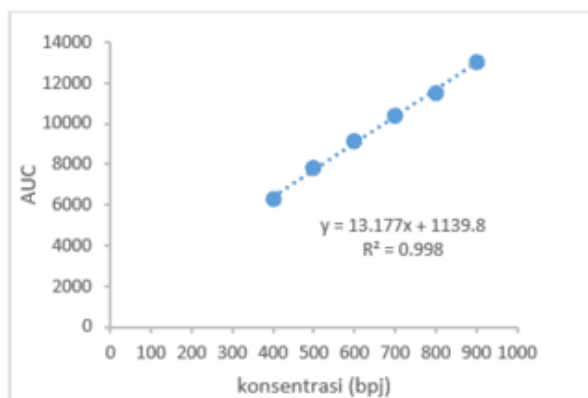
yang berbeda terhadap fase diam dan fase gerak, sehingga pemisahan dapat terjadi secara efektif. Oleh karena itu, metode kromatografi ini memenuhi syarat uji selektivitas dalam penetapan kadar MN dan HA.



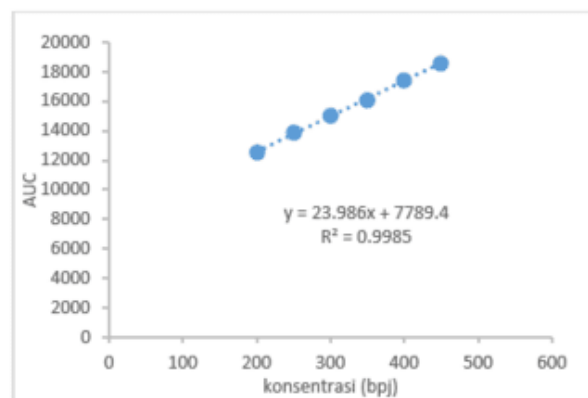
**Gambar 3.** Hasil pemisahan menggunakan pengembang n-heksan:kloroform:metanol (6:3:1), H: Hidrokortison; M: Mikonazol; C: Campuran

### 3.2 Linieritas

Linearitas diperoleh dengan cara membuat kurva kalibrasi mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat. Parameter linieritas suatu metode dikatakan baik apabila koefisien korelasinya ( $r$ ) di atas 0,99 dan  $V_x0$  di bawah 2,0%. Uji ini menggunakan enam larutan yang mengandung dua analit yang masing-masing berada pada rentang konsentrasi 400-900 bpj untuk MN dan rentang 200-450 bpj untuk HA.



(a) Kurva kalibrasi mikonazol nitrat



(b) Kurva kalibrasi hidrokortison asetat

**Gambar 4.** Kurva kalibrasi mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat

### 3.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK) merupakan parameter penting dalam validasi metode analisis yang

menggambarkan sensitivitas metode terhadap analit yang diuji. Berdasarkan hasil perhitungan secara statistik menggunakan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ) dari garis



regresi (Rachmawati, 2024), diperoleh nilai BD 30,63 bpj untuk senyawa MN dan 12,12 bpj untuk HA. Nilai BD ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut metode KLT videodensitometri ini masih mampu mendeteksi keberadaan analit dalam sampel. BD menandakan batas terkecil analit masih dapat dibedakan dari noise atau sinyal latar belakang. Sedangkan nilai BK menunjukkan kemampuan metode untuk mengukur analit secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima (Barnett *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ) dari garis regresi, diperoleh nilai BK sebesar 102,10 bpj untuk MN dan 40,39 bpj untuk HA. Hal ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan mampu menentukan kadar analit secara andal dimulai dari konsentrasi tersebut di atas. Jika dibandingkan antara kedua senyawa, nilai BD dan BK senyawa HA lebih rendah daripada MN, yang mengindikasikan bahwa metode analisis lebih sensitif terhadap HA. Dengan demikian, pada konsentrasi rendah, HA masih dapat terdeteksi dan dikuantifikasi dengan lebih baik dibanding MN. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain perbedaan karakteristik kimia analit (misalnya struktur, polaritas, dan respon instrumen), serta efisiensi proses ekstraksi atau preparasi

sampel (N. Kumar *et al.*, 2019; Muttaqin *et al.*, 2022).

### 3.4 Akurasi

Akurasi merupakan salah satu parameter penting dalam validasi metode analisis yang menggambarkan kedekatan hasil pengukuran terhadap nilai sebenarnya. Menurut pedoman *International Council for Harmonisation* (Elder, 2024), pengujian akurasi direkomendasikan menggunakan sembilan kali penetapan kadar pada tiga tingkat konsentrasi berbeda (misalnya 80%, 100%, dan 120%) dengan tiga kali replikasi untuk setiap level. Hasil pengujian tersebut kemudian dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali (% recovery) (Elder, 2024). Hasil pengujian menunjukkan bahwa persentase perolehan kembali untuk MN adalah  $100,84 \pm 1,25\%$ , sedangkan untuk HA adalah  $100,27 \pm 0,89\%$ . Nilai perolehan kembali yang mendekati 100% menunjukkan bahwa seluruh prosedur analisis (mulai dari tahap preparasi, penambahan standar, hingga pengukuran) telah dilakukan secara konsisten dan bebas dari kehilangan analit yang signifikan. (Lal *et al.*, 2019; Rachmawati, 2024).

Kesesuaian hasil akurasi ini membuktikan bahwa metode analisis yang dikembangkan mampu mengukur kadar MN dan HA secara tepat, bahkan dalam matriks semi padat seperti sediaan krim, yang

umumnya lebih kompleks karena kemungkinan adanya interaksi antara komponen dasar krim dengan zat aktif. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa

metode analisis ini memenuhi persyaratan akurasi menurut kriteria ICH serta layak diterapkan untuk analisis kadar kedua zat aktif dalam sediaan farmasi (Elder, 2024).

**Tabel 1.** Akurasi mikonazol nitrat

| Konsentrasi | AUC       | Cs (bpj) | Massa hitung analit (mg) | Massa analit teoritis (mg) | % perolehan kembali | Rata-rata    |
|-------------|-----------|----------|--------------------------|----------------------------|---------------------|--------------|
| 80%         | 7495,903  | 482,36   | 4,82                     | 4,8                        | 100,49              | 100,84±1,25% |
|             | 7368,643  | 472,71   | 4,73                     | 4,8                        | 98,48               |              |
|             | 7474,539  | 480,74   | 4,81                     | 4,8                        | 100,15              |              |
| 100%        | 9060,217  | 601,08   | 6,01                     | 6                          | 100,18              |              |
|             | 9117,279  | 605,41   | 6,05                     | 6                          | 100,90              |              |
|             | 9155,155  | 608,28   | 6,08                     | 6                          | 101,38              |              |
| 120%        | 10876,894 | 738,95   | 7,39                     | 7,2                        | 102,63              |              |
|             | 10855,295 | 737,31   | 7,37                     | 7,2                        | 102,40              |              |
|             | 10714,532 | 726,62   | 7,27                     | 7,2                        | 100,92              |              |

**Tabel 2.** Akurasi hidrokortison asetat

| Konsentrasi | AUC       | Cs (bpj) | Massa hitung analit (mg) | Massa analit teoritis (mg) | % recovery | Rata-rata %recovery±SD |
|-------------|-----------|----------|--------------------------|----------------------------|------------|------------------------|
| 80%         | 13502,368 | 238,18   | 2,38                     | 2,4                        | 99,24      | 100,27±0,89%           |
|             | 13492,368 | 237,76   | 2,38                     | 2,4                        | 99,07      |                        |
|             | 13502,075 | 238,17   | 2,38                     | 2,4                        | 99,24      |                        |
| 100%        | 15042,104 | 302,37   | 3,02                     | 3                          | 100,79     |                        |
|             | 15030,298 | 301,88   | 3,02                     | 3                          | 100,63     |                        |
|             | 15038,489 | 302,22   | 3,02                     | 3                          | 100,74     |                        |
| 120%        | 16433,761 | 360,39   | 3,60                     | 3,6                        | 100,11     |                        |
|             | 16529,332 | 364,38   | 3,64                     | 3,6                        | 101,22     |                        |
|             | 16543,921 | 364,98   | 3,65                     | 3,6                        | 101,38     |                        |

### 3.5 Presisi

Presisi merupakan parameter validasi metode analisis yang menunjukkan tingkat keterulangan hasil analisis dalam kondisi yang sama biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku relatif (%SBR) yang dihitung dari hasil pengulangan analisis pada konsentrasi tertentu (Elder, 2024). Nilai

%SBR yang kecil menunjukkan bahwa variasi antar hasil pengukuran rendah, sehingga metode dianggap stabil dan andal. Pada penelitian ini, pengujian presisi dilakukan secara *intraday* menggunakan sampel simulasi pada konsentrasi 100%, dengan parameter pengukuran berupa area di bawah kurva (AUC) hasil kromatogram.

Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh nilai SBR untuk MN sebesar 0,65%, sedangkan untuk HA sebesar 0,55%. Nilai %RSD untuk kedua senyawa tersebut berada di bawah batas maksimum yang direkomendasikan, yaitu di bawah 2% untuk presisi *intraday* (Elder, 2024). Hal ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki tingkat keterulangan yang sangat baik. Nilai RSD yang rendah

menandakan bahwa faktor-faktor instrumental maupun operasional, seperti kestabilan instrumen, kehomogenan sampel, serta reproduktibilitas proses preparasi sampel, tidak memberikan variasi yang signifikan terhadap hasil analisis, sehingga metode ini dapat digunakan secara andal untuk penetapan kadar MN dan HA dalam sediaan krim.

**Tabel 3.** Presisi mikonazol nitrat

| Hari ke | replikasi | AUC      | Cs (bpj) | Massa hitung analit (mg) | SBR (%) |
|---------|-----------|----------|----------|--------------------------|---------|
| 1       | 1         | 9138,446 | 607,02   | 6,07                     | 0,65%   |
|         | 2         | 9157,054 | 608,43   | 6,08                     |         |
|         | 3         | 9102,365 | 604,28   | 6,04                     |         |
|         | 4         | 9188,876 | 610,84   | 6,11                     |         |
|         | 5         | 9128,076 | 606,23   | 6,06                     |         |
|         | 6         | 9138,549 | 607,02   | 6,07                     |         |
| 2       | 1         | 9057,322 | 600,86   | 6,01                     |         |
|         | 2         | 9047,279 | 600,10   | 6,00                     |         |
|         | 3         | 9068,076 | 601,68   | 6,02                     |         |
|         | 4         | 9049,321 | 600,25   | 6,00                     |         |
|         | 5         | 9045,541 | 599,97   | 6,00                     |         |
|         | 6         | 9049,321 | 600,25   | 6,00                     |         |
| 3       | 1         | 9149,321 | 607,84   | 6,08                     |         |
|         | 2         | 9189,311 | 610,88   | 6,11                     |         |
|         | 3         | 9110,723 | 604,91   | 6,05                     |         |
|         | 4         | 9185,521 | 610,59   | 6,11                     |         |
|         | 5         | 9145,311 | 607,54   | 6,08                     |         |
|         | 6         | 9136,354 | 606,86   | 6,07                     |         |

**Tabel 4.** Presisi Hidrokortison Asetat

| Hari ke | replikasi | AUC       | Cs (bpj) | Massa hitung analit (mg) | SBR (%) |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------------------|---------|
| 1       | 1         | 15040,104 | 302,29   | 3,02                     | 0,55%   |
|         | 2         | 15082,343 | 304,05   | 3,04                     |         |
|         | 3         | 15098,112 | 304,71   | 3,05                     |         |
|         | 4         | 15050,921 | 302,74   | 3,03                     |         |
|         | 5         | 15079,002 | 303,91   | 3,04                     |         |
|         | 6         | 15060,104 | 303,12   | 3,03                     |         |
| 2       | 1         | 15069,768 | 303,53   | 3,04                     |         |
|         | 2         | 15060,104 | 303,12   | 3,03                     |         |

| Hari ke | replikasi | AUC       | Cs (bpj) | Massa hitung analit (mg) | SBR (%) |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------------------|---------|
|         | 3         | 15055,998 | 302,95   | 3,03                     |         |
|         | 4         | 15099,198 | 304,75   | 3,05                     |         |
|         | 5         | 15060,104 | 303,12   | 3,03                     |         |
|         | 6         | 15095,187 | 304,59   | 3,05                     |         |
| 3       | 1         | 14957,134 | 298,83   | 2,99                     |         |
|         | 2         | 15060,117 | 303,12   | 3,03                     |         |
|         | 3         | 14960,836 | 298,98   | 2,99                     |         |
|         | 4         | 15080,104 | 303,96   | 3,04                     |         |
|         | 5         | 15033,133 | 302,00   | 3,02                     |         |
|         | 6         | 15050,188 | 302,71   | 3,03                     |         |

#### 4. Penetapan Kadar

Setelah semua parameter validasi metode dinyatakan memenuhi persyaratan, maka metode ini dapat digunakan untuk menentukan penetapan kadar pada senyawa mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat

dalam sediaan. Sampel yang dipilih yakni sediaan krim campuran dengan bobot 5 g, mengandung mikonazol nitrat 2% dan hidrokortison asetat 1%. Berikut hasil penetapan kadar yang diperoleh.

**Tabel 5.** Penetapan kadar mikonazol nitrat

| replikasi | AUC      | Cs (bpj) | Faktor koreksi | Massa hitung analit (mg) | Massa analit teoritis (mg) | Kadar (%) | Rata-rata       |
|-----------|----------|----------|----------------|--------------------------|----------------------------|-----------|-----------------|
| 1         | 9159,311 | 608,60   | 0,99           | 6,09                     | 6,00                       | 100,59    | 100,41±<br>0,28 |
| 2         | 9119,356 | 605,57   | 0,99           | 6,06                     | 6,00                       | 100,09    |                 |
| 3         | 9155,521 | 608,31   | 0,99           | 6,08                     | 6,00                       | 100,54    |                 |

**Tabel 6.** Penetapan kadar hidrokortison asetat

| replikasi | AUC       | Cs (bpj) | Faktor koreksi | Massa hitung analit (mg) | Massa analit teoritis (mg) | Kadar (%) | Rata-rata       |
|-----------|-----------|----------|----------------|--------------------------|----------------------------|-----------|-----------------|
| 1         | 15089,104 | 304,33   | 1,00           | 3,04                     | 3,00                       | 101,17    | 101,15±<br>0,18 |
| 2         | 15073,133 | 303,67   | 1,00           | 3,04                     | 3,00                       | 100,95    |                 |
| 3         | 15099,188 | 304,75   | 1,00           | 3,05                     | 3,00                       | 101,31    |                 |

Berdasarkan Farmakope indonesia edisi VI dinyatakan bahwa persyaratan kadar mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat dalam sediaan krim tidak kurang dari 90,0%

dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes RI, 2020). Dari data yang diperoleh, maka dapat dikatakan bahwa kadar mikonazol nitrat dan

hidrokortison asetat dalam sampel memenuhi rentang kadar yang dipersyaratkan dalam monografi.

## KESIMPULAN

Metode KLT video densitometri terbukti efektif dan selektif dalam memisahkan serta menganalisis mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat dalam sediaan krim. Pemisahan optimal diperoleh dengan fase gerak n-heksana: kloroform: metanol (6:3:1) dan fase diam silika gel GF254. Hasil validasi metode menunjukkan bahwa parameter selektivitas, linearitas, sensitivitas dan uji perolehan Kembali. Penetapan kadar menunjukkan bahwa kadar mikonazol nitrat dan hidrokortison asetat dalam sediaan krim berada dalam rentang yang dipersyaratkan oleh Farmakope Indonesia, yaitu direntang 90–110%.

## DAFTAR PUSTAKA

Abbas, N., Arshad, M. S., Hussain, A., Irfan, M., Ahsan, M., Rasool, M. F., & Ur Rehman, M. H. (2017). Development and validation of a spectroscopic method for the simultaneous analysis of miconazole nitrate and hydrocortisone acetate in pharmaceutical dosage form. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(2), 413–420.

<https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i2.21>

Abou-elkheir, A., Saleh, H., El-henawee, M. M., & Ghareeb, B. (2015). Simultaneous Determination of Miconazole Nitrate and Hydrocortisone in Bulk Powder and Intopical Cream Using Four Chemometric Methods. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 5(1), 8–18. <https://doi.org/10.5155/eurjchem.3.4.421>

Ashour, S., & Kattan, N. (2010). Simultaneous determination of miconazole nitrate and metronidazole in different pharmaceutical dosage forms by gas chromatography and flame ionization detector (GC-FID). *International Journal of Biomedical Science*, 6(1), 13–18. <https://doi.org/10.59566/ijbs.2010.6013>

Barnett, K. L., Harrington, B., & Graul, T. W. (2023). Validation of liquid chromatographic methods. *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation: Volume 1, Third Edition*, 1(November), 821–843. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99968-7.00035-7>

Dey, S. K., Mondal, S., Killari, K. N., Israel, S., Kumar, G. V. S., & Mohiuddin, A.

- (2023). A Succinct Assessment of the Development, Validation, and Method Verification of Analytical Methods for Natural and Synthetic Therapeutic Molecules. *Journal of Drug and Alcohol Research*, 12(10). <https://doi.org/10.4303/JDAR/236266>
- Elder, D. (2024). Validation of analytical procedures – ICH Q2(R2). *European Pharmaceutical Review*, 29(1), 5.
- Kemenkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia* (6th ed.). Kementerian Kesehatan RI.
- Khotimah, K., Martono, S., Windarsih, A., Prihandiwati, E., & Rohman, A. (2020). Application of FTIR Spectroscopy Combined with Multivariate Calibrations for Analysis of Chloramphenicol and Hydrocortisone Acetate in Cream Samples. *Indonesian Journal of Pharmacy Indonesian J Pharm*, 32(3), 2021.
- Kumar, N., Kaur, K., Kumar, R., Biswal, S. S., Thakur, A., Sharma, P. K., Kaur, C., & Singh, G. (2019). Analytical method development and validation for the estimation of miconazole nitrate in bulk and marketed topical formulation. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(10), 4999–5003. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00866.7>
- Kumar, S., Jyotirmayee, K., & Sarangi, M. (2013). Thin layer chromatography: A tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1), 126–132.
- Lal, B., Kapoor, D., & Jaimini, M. (2019). A review on analytical method validation and its regulatory perspectives. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 9(4), 501–506.
- Merone, G. M., Tartaglia, A., Locatelli, M., D'Ovidio, C., Rosato, E., de Grazia, U., Santavenere, F., Rossi, S., & Savini, F. (2020). Analytical Chemistry in the 21st Century: Challenges, Solutions, and Future Perspectives of Complex Matrices Quantitative Analyses in Biological/Clinical Field. *Analytica*, 1(1), 44–59. <https://doi.org/10.3390/analytica1010006>
- Mijaljica, D., Spada, F., & Harrison, I. P. (2022). Emerging Trends in the Use of Topical Antifungal-Corticosteroid Combinations. *Journal of Fungi*, 8(8), 1–14. <https://doi.org/10.3390/jof8080812>
- Munthe, A., Sartika Daulay, A., & Fithri Pulungan, A. (2020). Penetapan Kadar

- Rhodamin B Pada Bumbu Tabur Dengan Metode KLT Dan KCKT. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 2025(2), 642–652. <https://doi.org/https://doi.org/10.36490/journal-jps.com>
- Muttaqin, F. Z., Emawati, E., & Elfira, H. W. (2022). Simultaneous Determination of Amoxicillin Trihydrate and Potassium Clavulanate Levels in Combination Drug Preparations Using Video-Densitometric Thin Layer Chromatography Method. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 7(1), 236. <https://doi.org/10.35629/7781-0701236242>
- Rachmawati, W. (2024). Validasi Metode Analisis. In Saida (Ed.), *Bunga Rampai Analisis Farmasi* (1st ed., pp. 99–108). PT MEDIA PUSTAKA INDO.
- Rachmawati, W., Pratiwi, E. R., & Yuliantini, A. (2023). TLC Video Densitometry Method for Determination of Thiamphenicol in Dry Syrup. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, SUPP* 5(2), 124–130.
- Rajput, S. J., & Bhosale, S. (2014). RP-HPLC method for simultaneous estimation of hydrocortisone acetate and miconazole nitrate in a cream formulation. *Inventi Rapid: Pharm Analysis & Quality Assurance*, 2014(3), 1–4. <https://www.researchgate.net/publication/280919832>
- Ramadhani, F. A., Kusumawati, I., Primaharinastiti, R., Rullyansyah, S., Sandhori, F. J., & Prasetyawan, H. R. (2023). Comparative Study of Densitometry and Videodensitometry for Quantitating the Active Pharmaceutical Ingredients Using Thin Layer Chromatography – Systematic Review. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 10(2), 141–150. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v10i22023.141-150>
- Rehman, M. H., Naureen, H., Abbas, N., & Khursheed, M. (2017). Development and validation of a method for the simultaneous analysis of miconazole nitrate and hydrocortisone acetate in pharmaceutical dosage form by ultraviolet spectroscopy. *Latin American Journal of Pharmacy*, 36(10), 2064–2070. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v16i2.2>
- Stielow, M., Witczyńska, A., Kubryń, N., Fijałkowski, Ł., Nowaczyk, J., & Nowaczyk, A. (2023). The

Bioavailability of Drugs—The Current State of Knowledge. *Molecules*, 28(24).

<https://doi.org/10.3390/molecules28248038>

Yuangsoi, B., Jintasataporn, O., Areechon, N., & Tabthipwon, P. (2008). Validated TLC-densitometric analysis for determination of carotenoids in fancy carp (*Cyprinus carpio*) serum and the application for pharmacokinetic parameter assessment. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(6), 693–700.

Zanwar, A. S., Sen, D. B., Vyas, P. H., Zanwar, S. B., Dash, D. K., & Sen, A. K. (2024). *Analytical HPLC Method for Determination*. 18(3), 848–854.