

**VALIDASI METODE IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR  
GLIBENKLAMID DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI  
EKSTRAK *ANDROGRAPHIS PANICULATA* DAN *SYZYGIUM  
POLYANTHUM* SECARA KCKT**



**VINI SIANE TANAEM**

**2443013256**

**PROGRAM STUDI S1  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA  
2017**

**VALIDASI METODE IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR  
GLIBENKLAMID DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI  
EKSTRAK *ANDROGRAPHIS PANICULATA* DAN *SYZYGIUM  
POLYANTHUM* SECARA KCKT**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan  
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1  
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

**OLEH:**  
**VINI SIANE TANAEM**  
**2443013256**

Telah disetujui pada tanggal 10 Januari 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Henry K. Setiawan, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.97.0283

Pembimbing II,



Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.

NIK. 241.00.0437

Mengetahui,  
Kema Penguji



Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.01.0520

**LEMBAR PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Validasi Metode Identifikasi dan Penetapan Kadar Glibenklamid dalam Tablet Herbal Kombinasi Ekstrak *Andrographis paniculata* dan *Syzygium polyanthum* secara KCKT** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 10 Januari 2017



Vini Siane Tanaem

2443013256

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 10 Januari 2017



Vini Siane Tanaem

2443013256

## ABSTRAK

### VALIDASI METODE IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR GLIBENKLAMID DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI EKSTRAK *ANDROGRAPHIS PANICULATA* DAN *SYZYGIIUM POLYANTHUM* SECARA KCKT

Vini Siane Tanaem  
2443013256

Salah satu obat tradisional diabetes yang telah terbukti secara klinis dapat menurunkan kadar gula darah adalah tablet herbal kombinasi ekstrak *Andrographis paniculata* (sambiloto) dan *Syzygium polyanthum* (salam). Obat tradisional dilarang mengandung bahan kimia hasil isolasi atau sintetik yang berkhasiat obat. Berdasarkan penemuan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), bahan kimia obat (BKO) yang sering ditambahkan dalam obat tradisional diabetes adalah glibenklamid. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan metode yang valid untuk mengidentifikasi dan menetapkan kadar BKO glibenklamid dalam tablet herbal kombinasi ekstrak sambiloto dan salam dengan menggunakan KCKT fase balik kolom C18 (250 mm x 4 mm, 10 µm) dan detektor *diode array*. Deteksi glibenklamid dilakukan pada panjang gelombang 230 nm dan kecepatan alir 1,0 ml/menit. Fase gerak terpilih adalah campuran asetonitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 0,05 M 60:40 v/v (pH diatur dengan asam fosfat) dengan waktu retensi glibenklamid adalah 6,55 menit. Linieritas diamati pada konsentrasi 1,0-9,0 µg/ml dengan nilai r 0,9992. Metode ini memiliki nilai LOD 0,118 µg/ml atau 0,118 mg glibenklamid / 700 mg tablet herbal dan LOQ 0,396 µg/ml atau 0,396 mg / 700 mg tablet herbal. Metode ini merupakan metode yang valid untuk mengidentifikasi dan menetapkan kadar BKO glibenklamid dalam tablet herbal kombinasi ekstrak sambiloto dan daun salam.

**Kata kunci:** Sambiloto, Salam, Glibenklamid, KCKT, validasi metode analisis.

## ABSTRACT

### VALIDATION OF IDENTIFICATION AND ASSAY OF GLIBENCLAMIDE IN HERBAL TABLET CONTAINING A COMBINATION OF *ANDROGRAPHIS PANICULATA* AND *SYZYGIUM POLYANTHUM* EXTRACTS BY HPLC

Vini Siane Tanaem  
2443013256

One of traditional medicine for diabetes which had been proven clinically can decrease blood sugar level is mixture of *Andrographis paniculata* (sambiloto) and *Syzygium polyanthum* (salam) extract in tablet dosage form. Traditional medicine is prohibited from containing isolation or synthetic chemicals. Based on BPOM discovery, medicinal chemicals which is oftenly added in diabetes traditional medicine is glibenclamide. The aim of this study was to validate the method to identify and quantity glibenclamide in herbal tablet of sambiloto and salam extract combination, using RP-HPLC C18 column (250 mm x 4 mm, 10 µm) and diode array detector. The detection of glibenclamide was carried out at 230 nm and at flow rate 1.0 ml/min. Mobile phase used was mixture of acetonitrile : sodium phosphate buffer pH 2.5 0.05 M 60:40 v/v (pH of buffer was adjusted by phosphate acid) with retention time of glibenclamide was 6.55 minute. Linearity was observed in a concentration range of 1.0-9.0 µg/ml with r value 0.9992. This method had LOD value 0.118 µg/ml or 0.118 mg glibenclamide / 700 mg of tablet dosage form and LOQ value 0.396 µg/ml or 0.396 mg / 700 mg of tablet dosage form. This method is a valid method to identify and quantity glibenclamide in herbal tablet of sambiloto and salam extract combination.

**Keywords:** Sambiloto, Salam, Glibenclamide, HPLC, analytical method validation.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga skripsi dengan judul **Validasi Metode Identifikasi dan Penetapan Kadar Glibenklamid dalam Tablet Herbal Kombinasi Ekstrak *Andrographis paniculata* dan *Syzygium polyanthum* Secara KCKT** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Bapak Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., Apt. selaku Pembimbing I dan Ibu Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing II yang telah menyediakan waktu dalam memberikan pengarahan dan masukan dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt. selaku Penguji I dan Ibu Dra. Emi Sukarti, M.Si., Apt. selaku Penguji II yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan dalam skripsi ini.
3. Bapak Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Ibu Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
5. Ibu Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt. selaku Dosen Wali yang telah membantu dan membimbing selama menjalankan perkuliahan.

6. Mbak Tyas dan Mbak Evy selaku laboran di laboratorium Bioanalisis yang telah membantu dalam menyiapkan alat dan fasilitas demi terlaksananya penelitian ini.
7. Seluruh dosen dan staf pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan ilmu dan pendidikan selama proses perkuliahan hingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan.
8. Orang tua tercinta, Bapa Johanis Tanaem dan Mama Oktoviana Elisabeth Dendomesa, Kakak Elsa Juvanti Tanaem dan Esti Renatalia Tanaem, serta semua keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan selama menjalani proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
9. Teman kelompok skripsi, Iwana Putri Oktavia, yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabat dan teman-teman, Dwi Rahma, Angelina Ajeng, Desi Setyowati, Ester Novella, Sherly Thung, Novita Indriani, Anna Amelia, Nathalia Maribunga, Yuni Tungga, Putu Krisnayanti, Made Uthari, Ade Letelay, Dewi Wulandari, Dwi Augustina, Sondha Tabita, Lailatun Ni'mah, Hardinata, Chandra Setyawan, Risto Manek, teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2013 (Fartigas) dan keluarga BPM Fakultas Farmasi yang telah memberikan dukungan dan semangat selama menjalani proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.



Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, Januari 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	6
1.3. Tujuan Penelitian .....	6
1.4. Hipotesis Penelitian.....	7
1.5. Manfaat Penelitian .....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Tinjauan tentang Diabetes Melitus.....	8
2.2. Tinjauan tentang Obat Diabetes Melitus .....	9
2.3. Tinjauan tentang Glibenklamid .....	11
2.3.1. Sifat Fisika Kimia Glibenklamid .....	11
2.3.2. Mekanisme Kerja Glibenklamid .....	12
2.3.3. Farmakokinetik Glibenklamid .....	12
2.3.4. Efek Samping Glibenklamid .....	12
2.4. Tinjauan tentang Ekstrak.....	13
2.5. Tinjauan tentang Daun Salam .....	14
2.5.1. Klasifikasi Daun Salam.....	14
2.5.2. Kandungan Kimia Daun Salam.....	15

	Halaman
2.5.3. Manfaat Daun Salam.....	15
2.6. Tinjauan tentang Herba Sambiloto.....	15
2.6.1. Klasifikasi Herba Sambiloto .....	15
2.6.2. Kandungan Kimia Herba Sambiloto .....	16
2.6.3. Manfaat Herba Sambiloto .....	17
2.7. Formula Tablet Herbal Ekstrak Sambiloto dan Daun Salam .....	17
2.8. Tinjauan tentang Kromatografi .....	17
2.9. Tinjauan tentang KCKT .....	18
2.9.1. Fase Gerak pada KCKT .....	19
2.9.2. Pempa pada KCKT .....	20
2.9.3. Kolom pada KCKT .....	20
2.9.4. Fase Diam pada KCKT .....	21
2.9.5. Detektor pada KCKT .....	22
2.10. Validasi Metode pada Analisis Kimia.....	23
2.10.1. Ketepatan (akurasi) .....	24
2.10.2. Ketelitian (presisi) .....	25
2.10.3. Spesifitas .....	25
2.10.4. Batas Deteksi ( <i>limit of detection</i> , LOD) .....	26
2.10.5. Batas Kuantifikasi ( <i>limit of quantification</i> , LOQ).....	26
2.10.6. Linieritas .....	27
2.10.7. Kisaran ( <i>range</i> ) .....	27
2.10.8. Kekasaran ( <i>ruggedness</i> ) .....	27
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1. Bahan dan Alat .....	29

	Halaman
3.1.1. Bahan .....	29
3.1.2. Alat .....	29
3.2. Rancangan Penelitian .....	29
3.3. Prosedur Penelitian.....	31
3.3.1. Penyiapan Fase Gerak.....	31
3.3.2. Larutan Baku Induk Glibenklamid dalam Metanol .....	32
3.3.3. Larutan Induk Matriks dalam Metanol .....	33
3.3.4. Larutan Campuran Glibenklamid dan Matriks.....	33
3.4. Validasi Metode Penetapan Kadar Glibenklamid dengan Metode KCKT .....	34
3.4.1. Selektivitas.....	34
3.4.2. Linieritas .....	35
3.4.3. Ketepatan (akurasi) dan Ketelitian (presisi).....	35
3.4.4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) .....	35
3.5. Teknik Analisis Data.....	36
3.5.1. Selektivitas.....	36
3.5.2. Linieritas .....	37
3.5.3. Ketepatan (akurasi) dan Ketelitian (presisi).....	38
3.5.4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) .....	38
3.5.5. Hipotesis Statistik .....	39
3.6. Skema Kerja.....	40
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>41</b>
4.1. Analisis Data .....	41

	Halaman
4.1.1. Uji Selektivitas.....	41
4.1.2. Uji Linieritas .....	46
4.1.3. Uji Akurasi dan Presisi .....	47
4.1.4. Uji LOD dan LOQ .....	49
4.2. Interpretasi Penelitian.....	50
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>57</b>
5.1. Kesimpulan .....	57
5.2. Saran.....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>58</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>62</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Perbandingan antara kolom KCKT konvensional dan mikrobor .....	21
2.2. Elemen-elemen data yang dibutuhkan untuk uji validasi ...	24
4.1. Hasil uji selektivitas untuk pemisahan glibenklamid dengan matriks tablet herbal kombinasi ekstrak sambiloto dan daun salam .....	41
4.2. Hasil uji linieritas dengan fase gerak asetronitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 0,05 M (60:40 v/v) pada panjang gelombang 230 nm .....	47
4.3. Hasil uji akurasi dan presisi campuran matriks tablet dan glibenklamid dengan fase gerak asetronitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 0,05 M (60:40 v/v) .....	48
4.4. Hasil uji LOD dan LOQ .....	49

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur kimia glibenklamid .....	11
2.2. Tanaman Salam .....	14
2.3. Tanaman Sambiloto .....	16
2.4. Sistem KCKT .....	19
3.1. Bagan skema kerja.....	40
4.1. Kromatogram glibenklamid tunggal .....	43
4.2. Kromatogram matriks tunggal .....	44
4.3. Kromatogram campuran glibenklamid dan matriks.....	45
4.4. Profil spektrum glibenklamid menggunakan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 0,05 M (60:40 v/v).....	46
4.5. Kurva linieritas .....	47
4.6. Kurva linieritas LOD dan LOQ .....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Indeks Kepolaran Fase Gerak.....	62
2. Perhitungan $R_s$ , $k'$ , $N$ , dan $TF$ .....	63
3. Perhitungan Akurasi dan Presisi .....	64
4. Perhitungan Harga $t$ .....	66
5. Tabel $t$ .....	68
6. Perhitungan LOD dan LOQ.....	69
7. Perhitungan Persen Ionisasi .....	70
8. Certificate of Analysis .....	71