

**VALIDASI METODE DETEKSI DAN PENETAPAN KADAR  
METFORMIN HCl DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI  
EKSTRAK *Andrographis paniculata* DAN *Syzygium polyanthum*  
SECARA KCKT**



**IWANA PUTRI OKTAVIA**

**2443013280**

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

**VALIDASI METODE DETEKSI DAN PENETAPAN KADAR  
METFORMIN HCl DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI  
EKSTRAK *Andrographis paniculata* DAN *Syzygium polyanthum*  
SECARA KCKT**

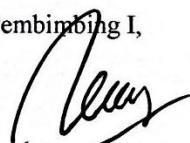
**SKRIPSI**

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

**OLEH:**  
**IWANA PUTRI OKTAVIA**  
**2443013280**

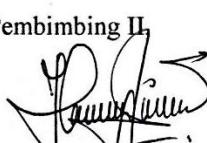
Telah disetujui pada tanggal 5 Juni 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,

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

NIK. 241.97.0283

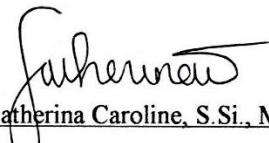
Pembimbing II,

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

NIK. 241.00.0437

Mengetahui,

Ketua Penguji

  
Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.00.0444

**LEMBAR PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Validasi Metode Deteksi dan Penetapan Kadar Metformin HCl 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, 5 juni 2017



Iwana Putri Oktavia

2443013280

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 sangsi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 5 Juni 2017



Iwana Putri Oktavia

2443013280

## **ABSTRAK**

### **VALIDASI METODE DETEKSI DAN PENETAPAN KADAR METFORMIN HCl DALAM TABLET HERBAL KOMBINASI EKSTRAK *Andrographis paniculata* DAN *Syzygium polyanthum* SECARA KCKT**

**Iwana Putri Oktavia  
2443013280**

Salah satu contoh sediaan obat tradisional diabetes yang 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. Berdasarkan penemuan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), bahan kimia obat (BKO) yang sering ditambahkan dalam obat tradisional diabetes adalah metformin HCl. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan metode yang valid untuk mendeteksi dan menetapkan kadar BKO metformin HCl dalam tablet herbal kombinasi ekstrak sambiloto dan salam dengan menggunakan KCKT fase balik kolom C18 (250 mm x 4 mm, 10  $\mu$ m) dan detektor *diode array*. Deteksi metformin HCl dilakukan pada panjang gelombang 235 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 dengan waktu retensi metformin HCl adalah 1,840 menit. Linieritas diamati pada konsentrasi 10,0-30,0  $\mu$ g/ml dengan koefisien korelasi 0,9997. Metode ini memiliki batas deteksi 2,0635  $\mu$ g/ml atau 2,579 mg metformin HCl / tablet herbal dan batas kuantitasi 6,8785  $\mu$ g/ml atau 8,598 mg / tablet herbal. Metode ini merupakan metode yang valid untuk mendeteksi dan menetapkan kadar BKO metformin HCl dalam tablet herbal kombinasi ekstrak sambiloto dan daun salam.

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

## ***ABSTRACT***

### **VALIDATION OF DETECTION METHOD AND ASSAY OF METFORMIN HCl IN HERBAL TABLET CONTAINING A COMBINATION OF *Andrographis paniculata* AND *Syzygium polyanthum* EXTRACTS BY HPLC**

**Iwana Putri Oktavia  
2443013280**

One of traditional medicines 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 isolated or synthetic chemicals. Based on BPOM discovery, medicinal chemicals which is often added in diabetes traditional medicine is metformin HCl. The aim of this study was to validate the method to detect and quantify metformin HCl 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 metformin HCl was carried out at 235 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 with retention time of metformin HCl was 1.840 minute. Linearity was observed in a concentration range of 10.0-30.0 µg/ml with correlation coefficient 0.9997. This method had limit of detection value 2.0635 µg/ml or 2.579 mg metformin HCl / tablet dosage form and the limit quantitation was 6.8785 µg/ml or 8.598 mg / tablet dosage form. This method is a valid method to detect and quantify metformin HCl in herbal tablet of sambiloto and salam extract combination.

**Keywords:** Sambiloto, Salam, Metformin HCl, 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 Deteksi dan Penetapan Kadar Metformin HCl 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.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya 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 Catherina Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku Penguji I dan Ibu Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt. selaku Penguji II yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan dalam skripsi ini.
3. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Ibu Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D. Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
5. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., 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, Ayah Mahrus dan Mama Eki Sulistyaningsih, S.Pd., Kakak Fafa Tarista, Adik Ghali Trinaldi, Devica Aqilah, Ailsa Julia Lavinia, serta semua keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan selama menjalani proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
9. Taufan Candra Aprillianto yang telah memberi semangat, dukungan, motivasi dan membantu saya selama awal penelitian berjalan.
10. Teman kelompok skripsi, Vini Siane Tanaem yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Sahabat dan teman-teman, Gerarda Sartika, Melita Nesiamer Daud, Fransiska Sherly Thung, Agnestasia Widia, K., Ni Made Riadika, Leoni Angela, Daeng Agus yang telah memberikan dukungan dan semangat selama menjalani proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
12. 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, 5 Juni 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.....	7
1.4. Hipotesis Penelitian .....	7
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1. Tinjauan tentang Diabetes Melitus.....	9
2.2. Tinjauan tentang Metformin HCl .....	10
2.2.1. Sifat Fisika Kimia Metformin HCl.....	10
2.2.2. Mekanisme Kerja Metformin HCl.....	11
2.2.3. Farmakokinetik metformin HCl .....	11
2.2.4. Efek Samping metformin HCl.....	11
2.3. Tinjauan tentang Daun Salam .....	12
2.3.1. Klasifikasi Daun Salam.....	12
2.3.2. Nama daerah Daun Salam.....	12
2.3.3. Morfologi tanaman Daun Salam .....	12
2.3.4. Ekologi dan penyebaran Daun Salam.....	13

	Halaman
2.3.5. Kandungan Kimia Daun Salam .....	13
2.3.6. Kegunaan Daun Salam.....	13
2.4. Tinjauan tentang Herba Sambiloto .....	14
2.4.1. Klasifikasi Herba Sambiloto .....	14
2.4.2. Nama daerah Herba Sambiloto.....	14
2.4.3. Morfologi tanaman Herba Sambiloto .....	15
2.4.4 Ekologi dan penyebaran Herba Sambiloto.....	15
2.4.5. Kandungan Kimia Herba Sambiloto.....	15
2.4.6. Kegunaan Herba Sambiloto .....	16
2.5. Tinjauan tentang Ekstrak .....	16
2.6. Formula tablet herbal .....	16
2.7. Tinjauan tentang Kromatografi .....	17
2.7.1. Instrumenasi KCKT.....	18
2.8. Validasi Metode Analisis .....	25
2.8.1.Ketepatan (akurasi) .....	25
2.8.2.Ketelitian (presisi).....	26
2.8.3.Spesifitas .....	27
2.8.4.Batas Deteksi ( <i>limit of detection</i> , LOD).....	27
2.8.5.Batas Kuantifikasi ( <i>limit of quantification</i> , LOQ).....	28
2.8.6.Linieritas.....	29
2.8.7.Kisaran ( <i>range</i> ) .....	29
2.8.8.Kekasaran ( <i>ruggedness</i> ) .....	30
2.9. Elemen - elemen data uji validasi .....	30
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....	32
3.1. Bahan dan Alat .....	32
3.1.1. Bahan .....	32

	Halaman
3.1.2. Alat .....	32
3.2. Rancangan Penelitian.....	33
3.3. Prosedur Penelitian .....	35
3.3.1. Penyiapan Fase Gerak.....	35
3.3.2. Penyiapan Larutan Uji Selektivitas .....	35
3.3.2.1. Larutan Baku Induk Metformin HCl dalam Metanol .....	35
3.3.2.2. Pengenceran Larutan Baku Induk Metformin HCl .....	35
3.3.2.3. Larutan Induk Matriks dalam Metanol.....	36
3.3.2.4. Pengenceran Larutan Induk Matriks .....	36
3.3.3. Penyiapan Larutan Uji LOD LOQ dan Linieritas Metformin HCl .....	36
3.3.4. Penyiapan Larutan Uji Akurasi Presisi.....	36
3.4. Validasi Metode deteksi dan penetapan kadar metformin HCl dengan metode KCKT.....	37
3.4.1. Selektivitas .....	37
3.4.2. Deteksi dan Penentukan Nilai Batas Deteksi Bahan Kimia Obat Metformin HCl dalam Sediaaan Tablet Herbal.....	37
3.4.3. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Metformin HCl.....	38
3.4.4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Matriks.....	38
3.4.5. Linieritas .....	38
3.4.6. Ketepatan (akurasi) dan Ketelitian (Presisi) .....	39
3.5. Teknik Analisis Data .....	39
3.5.1. Selektivitas .....	39

3.5.2. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	41
3.5.3. Linieritas .....	41
3.5.4. Ketepatan (akurasi) dan Ketelitian (presisi).....	42
3.5.5. Hipotesis Statistik .....	43
3.6. Skema Kerja .....	44
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
4.1. Analisis Data .....	45
4.1.1. Uji Selektivitas .....	45
4.1.2. Uji LOD dan LOQ Metformin HCl.....	51
4.1.3. Uji LOD dan LOQ Matriks .....	52
4.1.4. Uji Linieritas .....	54
4.1.5. Uji Akurasi dan Presisi .....	55
4.2. Interpretasi Penelitian .....	56
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>63</b>
5.1. Kesimpulan .....	63
5.2. Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>69</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
2.1. Elemen-elemen data yang dibutukan untuk uji validasi .....	31
4.1. Hasil uji selektivitas untuk pemisahan metformin HCl dengan matriks tablet .....	45
4.2. Hasil uji LOD dan LOQ metformin HCl .....	51
4.3. Hasil uji LOD dan Matriks.....	53
4.4. Hasil uji linieritas dengan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat pH 2,5(60:40 v/v) pada panjang gelombang 235 nm.....	54
4.5. Hasil uji akurasi dan presisi campuran matriks tablet dan metformin HCl dengan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 (60:40 v/v) .....	55

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
2.1. Struktur kimia metformin HCl .....	10
2.2. Tanaman Salam .....	12
2.3. Tanaman Sambiloto .....	14
2.4. Diagram blok sistem KCKT secara umum .....	18
3.1. Bagan skema kerja.....	44
4.1. Kromatogram metformin HCl tunggal pada 3 Fase Gerak Uji .....	47
4.2. Kromatogram matriks tunggal pada 3 Fase Gerak Uji .....	48
4.3. Kromatogram campuran metformin HCl dan matriks Pada 3 Fase Gerak Uji .....	49
4.4. Profil spektrum metformin HCl menggunakan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat (60:40 v/v) .....	50
4.5. Profil spektrum Matriks menggunakan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat (60:40 v/v) .....	50
4.6. Profil spektrum Campuran metformin HCl dan matriks menggunakan fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat (60:40 v/v) .....	50
4.7. Kurva linieritas LOD dan LOQ metformin HCl .....	52
4.8. Kurva linieritas LOD dan LOQ matriks .....	53
4.9. Kurva linieritas metformin HCl.....	55

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Indeks Kepolaran Fase Gerak .....	69
2. Perhitungan Rs, k', N, dan TF .....	70
3. Perhitungan LOD dan LOQ Metformin HCl .....	71
4. Perhitungan LOD dan LOQ Matriks .....	72
5. Perhitungan Akurasi dan Presisi.....	73
6. Perhitungan Harga t .....	75
7. Tabel t .....	77
8. Tabel r .....	78
9. Gambar spektrum pada fase gerak metanol : air (30:70 v/v) .....	79
10. Gambar spektrum pada fase gerak asetonitril : dapar natrium fosfat pH 2,5 (40:60 v/v) .....	80
11. <i>Certificate of Analysis</i> .....	81