

**ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DALAM SEDIAAN KAPLET
HERBAL SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

Skripsi
Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi

Disusun oleh:
Durotun Nakiyah
1004015073



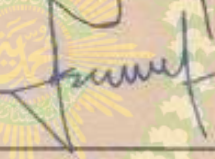



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2016

Skripsi dengan Judul

**ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DALAM SEDIAAN KAPLET
HERBAL SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Durotun Nakiyah, NIM 1004015073

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua Wakil Dekan I Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.		<u>31-1-2017</u>
Penguji I Almawati Situmorang, M.Farm., Apt.		<u>13/12/2016</u>
Penguji II Rini Prastiwi M.Si., Apt.		<u>19/1/2017</u>
Pembimbing I Supandi, M.Si., Apt.		<u>19/1/2017</u>
Pembimbing II Hariyanti M.Si., Apt.		<u>20/1/2017</u>
Mengetahui: Ketua Program Studi Kori Yati, M.Farm., Apt.		<u>31/1/2017</u>

Dinyatakan lulus pada tanggal: **19 November 2016**

ABSTRAK

ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DALAM SEDIAAN KAPLET HERBAL SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Durotun Nakiyah
1004015073

Andrografolid merupakan suatu diterpen lakton yang merupakan kandungan utama dari tanaman sambiloto. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metode analisa Andrografolid dalam sediaan kaplet herbal secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Analisis dilakukan dengan kolom RP₁₈ (250 x 4,6 mm, 5 μ m), fase gerak Metanol-Air (50:50) v/v, kecepatan alir 1,0 ml/menit pada panjang gelombang 223 nm dengan detektor PDA. Hasil uji parameter validasi berupa uji kesesuaian sistem perolehan %RSD untuk Andrografolid Hari-1 0,090%, Hari-2 0,466%. Uji spesifitas untuk nilai % interfensi plasebo/ pelarut dalam sampel kaplet herbal adalah 0.00%. Uji linearitas dengan nilai r 0,9998. Perlakuan uji presisi sistem pada baku diperoleh %RSD 0,090% dan pada sampel 0,658%. Presisi antara baku %RSD 0,466% dan sampel %RSD 0,120%. Nilai LOD 4,48 ppm dan nilai LOQ 11,37 ppm. Hasil uji Rogudness %RSD 1,29%. Andrografolid pada sediaan kaplet herbal dapat ditetapkan kadarnya menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Kata kunci: Andrografolid, Validasi, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul : “ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DALAM SEDIAAN KAPLET HERBAL SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI”.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada program studi Farmasi FFS UHAMKA, Jakarta.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta.
2. Ibu Kori Yati, M.Farm., Apt, selaku Ketua Program Studi FFS UHAMKA.
3. Bapak Supandi, M.Si., Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberi bimbingan dan nasihat-nasihat.
4. Ibu Hariyanti, M.Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang memberikan arahan dan bimbingan dalam penelitian ini.
5. Ayah dan Ibu tercinta atas doa dan dorongan semangatnya kepada penulis, baik moril maupun materi, serta kepada adik-adik tercinta, yang banyak memberikan dukungan kepada penulis.
6. Para Dosen FFS Uhamka atas ilmu dan bimbingannya selama penulis belajar di universitas ini.
7. Teman-teman angkatan '10 yang tidak dapat disebutkan satu persatu, serta sahabat-sahabatku, yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan dan dorongan semangatnya.
8. Pimpinan dan seluruh staf kesekretarian yang telah membantu segala administrasi yang berkaitan dengan skripsi ini dan telah banyak membantu dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan

Jakarta, Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB II A. Landasan Teori	4
1. Andrografolid.....	4
2. Sambiloto	5
3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	6
4. Validasi	8
B. Kerangka Berpikir	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	12
A. Tempat dan Waktu Penelitian	12
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	12
C. Pola Penelitian.....	12
D. Prosedur Penelitian.....	12
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
A. Optimasi Metode Analisis.....	18
B. Penurunan Standar dan Uji Kesesuaian Sistem	19
C. Validasi Metode Analisa	20
D. Penetapan Kadar Andrografolid dalam Kaplet Herbal	25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	27
A. Simpulan	27
B. Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel I. Optimasi Kondisi Kromatografi	13
Tabel 2. Komposisi Zat dalam Kaplet.....	14
Tabel 3. Bobot Penimbangan Linearitas	14
Tabel 4. Bobot Penimbangan Akurasi	15
Tabel 5. Hasil Uji Optimasi Laju Alir.....	19
Tabel 6. Hasil Uji Kessesuaian Sistem	20
Tabel 7. Hasil Uji Spesifisitas Plasebo Kaplet Herbal	20
Tabel 8. Hasil Uji Linearitas dan Rentang Andrografolid	21
Tabel 9. Hasil Uji LOD dan LOQ Andrografolid	22
Tabel 10. Hasil Uji Akurasi Andrografolid.....	22
Tabel 11. Hasil Uji Presisi Sistem Baku Andrografolid	23
Tabel 12. Hasil Uji Presisi Sampel Andrografolid	23
Tabel 13. Hasil Uji Presisi Antara Baku Andrografolid	24
Tabel 14. Hasil Uji Presisi Antara Sampel Andrografolid	24
Tabel 15. Hasil Uji Kekuatan (<i>Rogudness</i>) Andrografolid	25
Tabel 16. Kadar Andrografolid dalam Kaplet Herbal	25



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Andrografolid	4
Gambar 2. Tanaman Sambiloto.....	5
Gambar 3. Bagan Alat KCKT	6
Gambar 4. Kurva Linearitas Andrografolid	21



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	31
Lampiran 2. Sertifikat Analisis Andrografolid Sigma	32
Lampiran 3. Sertifikat Analisis Ekstrak Andrographis	33
Lampiran 4. Spektrum Panjang Gelombang Maksimal Andrografolid	36
Lampiran 5. Kromatogram Andrografolid Fase Gerak (80:20)	37
Lampiran 6. Kromatogram Andrografolid Fase Gerak (65:35)	38
Lampiran 7. Kromatogram Andrografolid Fase Gerak (50:50) Flow 1,0 mL	39
Lampiran 8. Kromatogram Andrografolid Fase Gerak (50:50) Flow 1,5 mL	40
Lampiran 9. Kromatogram dan Data Hasil Uji Penurunan Standar	41
Lampiran 10. Kromatogram Uji kesesuaian Sistem Andrografolid	42
Lampiran 11. Kromatogram Plasebo Kaplet (Spesifisitas).....	44
Lampiran 12. Kromatogram Linieritas dan Perhitungan LOD dan LOQ	45
Lampiran 13. Kromatogram Akurasi dan Presisi Andrografolid.....	47
Lampiran 14. Kromatogram dan Data Hasil Kadar Sampel Kaplet Herbal	51



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan tradisional yang secara turun temurun telah digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Pengobatan tradisional dengan tanaman obat diharapkan dapat dimanfaatkan dalam pembangunan kesehatan masyarakat. Kemajuan pengetahuan dan teknologi modern tidak mampu menggeser peranan obat tradisional. Pengembangan obat tradisional diusahakan agar dapat sejalan dengan pengobatan modern.

Salah satu tanaman obat yang banyak dibutuhkan dalam industri obat tradisional dan banyak digunakan dimasyarakat adalah sambiloto (*Andrographis paniculata*). Sambiloto merupakan salah satu tanaman obat yang menjadi prioritas utama untuk dikembangkan di Indonesia dan dinyatakan sebagai bahan obat fitofarmaka yang aman (Nugroho *et al.*, 2000). Sambiloto telah ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) sebagai salah satu tanaman obat unggulan. Khasiatnya yang begitu banyak disebabkan sambiloto memiliki kandungan yang lengkap (Prapanza & Marianto, 2003).

Sambiloto mengandung diterpen lakton yang banyak manfaatnya bagi kesehatan. Ada beberapa komponen utama dari diterpen lakton pada sambiloto yang teridentifikasi pada daun yaitu andrografolid yang merupakan senyawa identitas (Depkes RI, 2008) , neoandrografolid, deoksi-andrografolid (Kumoro dan Hasan, 2006), deoksiandrografolid-19-β-D-Glukosa dan dehidrografolid (Patarpanich *et al.*, 2007). Selain komponen utama tersebut terdapat juga senyawa lain yaitu saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Kandungan kimia lain yang terdapat pada batang dan daun adalah lakton, panikulin, kalmegin, dan hablur kuning yang memiliki rasa pahit (Yusron dan Januwati, 2004).

Komponen bioaktif utama dalam tanaman sambiloto adalah andrografolid. Andrografolid merupakan senyawa diterpen lakton, mempunyai rumus molekul C₂₀H₃₀O₅ dan berat molekul 350,46. Andrografolid berupa kristal berwarna putih, mempunyai rasa sangat pahit, larut dalam metanol, etanol, aseton, etil asetat, asam asetat dan kloroform, namun sedikit larut dalam air (Qiang, 2007). Andrografolid

banyak terdapat pada bagian daun dan batang. Kadar senyawa andrografolid di dalam daun sebesar 2,5-4,8% dari berat kering (Mishra *et al.*, 2007).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui khasiat Andrografolid dari ekstrak sambiloto dan dapat disimpulkan bahwa Andrografolid berkhasiat sebagai hepatoprotektif (Ulumiyah, 2014), antidiabetik (Nugroho *et al.*, 2012), anti malaria (Mishra, 2011), imunostimulan (Puri dkk., 1993), anti kanker (Sukardiman dkk, 2005), efek hipoglikemik (Borhanuddin dkk., 1994), pengobatan dan pencegahan flu (Caceres dkk, 1997). Semua bagian tanaman sambiloto dapat dimanfaatkan sebagai obat, bagian yang paling sering digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional adalah daun dan batangnya (Prapanza dan Marianto, 2003). Ramuan ini disajikan dengan cara direbus atau diseduh. Cara penggunaan ini dirasa kurang praktis, oleh karena itu dipasaran mulai beredar dalam bentuk sediaan kaplet.

Kaplet merupakan tablet bentuk kapsul yang berisi bahan obat yang biasanya dibuat dengan penambahan bahan tambahan farmasetika yang sesuai (Ansel, 1989). Kaplet herbal kombinasi adalah kaplet yang mengandung beberapa ekstrak dalam satu kaplet sehingga didapatkan khasiat yang lebih efektif dalam mengobati penyakit. kebanyakan sediaan obat herbal dibuat oleh produsen kecil dan menengah sehingga kualitas ekstrak belum distandarisasi. Sediaan herbal perlu dilakukan kontrol kualitas untuk menjaga dan mengarahkan agar kualitas produk dapat dipertahankan sesuai dengan standar mutu yang diinginkan (Kunle *et al.*, 2012).

Untuk mengetahui kualitas produk yang stabil maka dilakukan penetapan kadar bahan aktif dari sediaan. Penetapan kadar Sediaan farmasi yang mengandung dua atau lebih zat aktif dengan spektrofotometer ultraviolet umumnya memerlukan proses pemisahan terlebih dahulu misalnya dengan ekstraksi yang tentunya membutuhkan waktu yang cukup lama. Metode yang saat ini banyak digunakan adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dapat menganalisis berbagai sediaan multi komponen dengan hasil yang baik dalam kondisi analitik yang optimum.

Pada penelitian sebelumnya, hanya dilakukan penetapan kadar terhadap ekstrak herba sambiloto seperti pengujian validasi analisis kadar andrografolid

secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan eluasi gradien terhadap ekstrak herba sambiloto (Aryani, 2005), analisis andrografolid dalam sambiloto pada dua tahap yang berbeda dari siklus hidup tanaman dengan kromatografi cair kinerja tinggi (Meenu sharma *et al.*, 2011), induksi andrografolid sebagai bahan aktif dari sambiloto (Vidyalakshmi *et al.*, 2013), validasi penetapan kadar isolat andrografolid dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (Yandi dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, belum ada penelitian terhadap kadar Andrografolid dari sediaan kaplet herbal, oleh karena itu akan dilakukan pengujian dengan tujuan mendapatkan metode kromatografi cair kinerja tinggi yang memenuhi parameter validasi sehingga dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar andrografolid dalam kaplet herbal.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan dapat di rumuskan permasalahan yaitu Apakah kandungan andrografolid dalam sediaan kaplet herbal dapat ditetapkan kadarnya menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dan apakah metode tersebut dapat divalidasi sesuai syarat uji validasi ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui validitas metode analisa andrografolid dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi pada kaplet herbal sehingga didapatkan kandungan andrografolid yang sesuai.

D. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan memberikan informasi mengenai analisis andrografolid secara kromatografi cair kinerja tinggi dalam sediaan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ameh., Sunday., Obodozie., Obiageri., Inyang., Uford., Abubakar., Mujibata., Garba., Makaji., 2007. A Normative Study of Nigerian Grown “Maha Tita” (King of Bitters) *Andrographis paniculata* Nees, *Int.J.Drug Dev.&Res.* Vol 2(2): 291-299.
- AOAC, 2002. AOAC Guidelines for single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. P.1-38.
- Aryani, toetik. 2005. Pengujian Validasi Analisis Kadar Andrographolide Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan Eluasi Gradien Terhadap Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees). Surabaya II(73-76).
- Backer, A.C., & Van Den Brink, B.C.R. 1965. Flora of Java (Spermatophytes Only) Vol. II. N.V.P Noordhoff-Groningen : The Netherlands
- Calabrese, C., Berman, S.H., Babish, J.G., Ma, X., Shinto, L., Dorr, M., Wells, K., Wenner, C. A. dan Standish, L.J. 2000. A Phase I Trial of Andrographolide in HIV Positive Patients and Normal Volunteers. Bastyr University Research Institute, Bastyr University, Washington 98028, USA. *Phytother Res.* 14 (5): 333–338.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 121 dan 124.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi Lima. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 1167.
- Fujita Tetsuro, et al. 1984. *On the Diterpenoids of Andrographis Paniculata : X-Ray Crystallographic Analysis of Andrographolide and Structure Determination of New Diterpenoids*, *Journal Chem. Pharm. Bull.*, Vol 32, No. 6, hal : 2117-2152.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka pelajar.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. 1996. *Validation of Analytical Procedures: Methodology*. ICH Steering Committee.
- Kumoro AC and M Hasan 2006. Modelling of andrographolide extraction from *Andrographis paniculata* leaves in a soxhlet extractor. Proceedings of the 1st International Conference on Natural Resources Engineering & Technology. Putrajaya, Malaysia, 664-670.
- Kunle, O.F., Egharevba, H.O., and Ahmadu, P.O., 2012. *Standardization of herbal medicines –A review*. *International journal of biodiversity and conversation*. Vol.4(3); 101-112.

- Mishra SK, NS Sangwan and RS Sangwan. 2007. Phcog Rev.: Plant Review *Andrographis paniculata* (Kalmegh): A Review. Pharmacognosy Reviews. 1(2): 283-298.
- Nugroho YA, B Nuratmi dan W Wiratno. 2000. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Tumbuhan Obat Indonesia yang Aman. Prosiding Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia (Simposium Penelitian bahan Obat alami X). Sentra P3T Propinsi Jawa Timur. Surabaya. 150-157.
- Nugroho AE, M Andrie, NK Warditiani, E Lukitaningsih. 2012. Antidiabetic Antihyperlipidemic Effect of *Andrographis Paniculata* (Burm.f.) Nees and Andrographolide in High Fructose Fat Fed Rats. Indian Journal of Pharmacology, Vol. 44. No.3. pp 377 – 381.
- Panossian, A., Davtyan, T., Gukassyan, N., Gukasova, G., Mamikonyan, G., Garielian, E., Wikman, G. 2002. Effect of andrographolide and kang jang fixed combination of extract SHA-10 and extract SHE-3 on proliferation of human lymphocytes, production of cytokines and immune activation markers in the whole blood cells culture. *Phytomed.*, 9:598-605.
- Patarapanich C, S Laungcholatan, N Mahaverawat, C Chaichantipayuth and S Pummangura. HPLC determination of active diterpene lactones from *Andrographis paniculata* Nees planted in various seasons and regions in Thailand. *Thai J Pharm Sci.* 2007. 31: 91-99
- Puri A., Saxena R.P., Saxena K.C., Srivastava V., Tanden J.S. 1993. Immunostimulant Agent From *Andrographis Paniculata*. *J. Nat. Prod.* Jul 56 (7): p 995-999
- Prapanza, E. Dan Marianto, L.M. (2003). *Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit.* AgroMedia Pustaka. Hal: 3–9.
- Qiang, Z.Z, 2007, reactions and Computational studies of Andrographolid Analogues with Glutathione and biological Nucleophiles, Dissertation, City University of Hongkong.
- Shukla, B., Visen, P. K., Patnaik, G. K. dan Dhawan, B.N. (1992). Choleric Effect of Andrographolide in Rats and Guinea Pigs. *Planta Med.* 58 (2): 146–149.
- Srivasta, A., Misra, H., Verma, R.K., Gupta, M, M., 2004. Chemical fingerprinting of *Andrographis paniculata* using HPLC, KLTKT and Densitometry., *Phytochemical Analysis*, 15: 280-285
- Subramanian, R., Azmawi, M.Z., Sadikun, A., 2008, In Vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolid, *Acta Biochimica Polonia*, Vol. 55, 2, hal 391-398

- Sukardiman, A Rahman, Wiewied Ekasari, Sismindari. 2005. Induksi Apoptosis Senyawa Andrografolida dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan*. Hlm. 105 - 110
- Ulumiyah DU. 2013. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Kadar SGOT/SGPT Tikus Yang Diinduksi Paracetamol. Tesis. Universitas Jember. Jawa Timur: Hlm. 27
- US Pharmacopoeial Convention. 2014. *United States Pharmacopoeia 37 High Performance Liquid Chromatography*. US Pharmacopoeial Convention, Inc.
- Yandi Syukri, Agung Endro Nugroho, Ronny Martien, Endang Lukitaningsi. 2015. *Jurnal sains farmasi dan klinis*. IAI, Sumatera Barat. Hlm. 8-14
- Yusron M dan M Januwati (2004) Pengaruh kondisi agroekologi terhadap produksi dan mutu simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Prosiding Seminar Nasional XXVI Tumbuhan Obat Indonesia*, Padang, 7-8 September. 211-216.

