

**VALIDASI METODE ANALISIS ANDROGRAFOLID DALAM
MATRIKS SEDIAAN TABLET MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

SKRIPSI

**AKHMAD GINANJAR
A192002**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

**VALIDASI METODE ANALISIS ANDROGRAFOLID DALAM
MATRIKS SEDIAAN TABLET MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**AKHMAD GINANJAR
A192002**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

**VALIDASI METODE ANALISIS ANDROGRAFOLID DALAM
MATRIKS SEDIAAN TABLET MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

**AKHMAD GINANJAR
A192002**

Juni 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing



Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm.

Pembimbing



Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebutkan nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini kupersembahkan untuk kedua orang tua saya terutama Mamah tercinta almh. Karsinem yang selama masa hidupnya yang telah memberikan kasih sayang, bantuan, doa dan memberi semangat kepada saya. Dan Bapak Tumin Rianto terkasih selaku bapak yang tanpa lelah memberikan dukungan baik moril maupun non moril dan doa yang tiada henti disertai dengan kasih sayang yang luar biasa melimpah seumur hidup ini. Untuk kalian berdua terimakasih telah menjadi orang tua terbaik bagiku sepanjang masa.

ABSTRAK

Validasi metode analisis merupakan elemen penting dari kontrol kualitas, karena validasi memberikan jaminan bawah hasil pengukuran analisisnya akurat, spesifik, dapat reproduibel, dan toleran terhadap kisaran analit yang akan dianalisis. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan validasi metode analisis kadar andrografolid dalam sediaan tablet menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan menggunakan kolom C-18 (4,6 mm × 150 mm; 5 µm), fase gerak metanol : air (65:35), dengan kecepatan alir 1,0 mL/menit dan pada panjang gelombang 224 nm. Parameter validasi metode analisis yang ditentukan pada penelitian ini yaitu linieritas dan rentang, batas deteksi, batas kuantitas, akurasi, dan presisi. Hasil penelitian menunjukkan koefisien kolerasi yaitu 0,9999, rentang konsentrasi 10 ppm – 100 ppm, batas deteksi 2,52 ppm, batas kuantitasi 7,63 ppm, akurasi 100,60%, dan presisi 100,72%. Berdasarkan hasil penelitian, semua parameter validasi memenuhi persyaratan yang ditetapkan sehingga metode KCKT hasil penelitian ini dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar andrografolid dalam sediaan tablet.

Kata Kunci : Andrografolid, validasi metode analisis, KCKT

ABSTRACT

Method validation is an essential element of quality control, as it ensures that the results of the analytical measurements are accurate, specific, reproducible, and tolerant to the range of analytes to be analyzed. This research aimed to establish the validation of the analysis method for the determination of andrographolide content in tablet formulations using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a C-18 column (4.6 mm × 150 mm; 5 μm), mobile phase of methanol:water (65:35), flow rate of 1.0 mL/min, and detection wavelength of 224 nm. The method validation parameters determined in this study include linearity and range, detection limit, quantitation limit, accuracy, and precision. The research results showed a correlation coefficient of 0.9999, concentration range of 10 ppm to 100 ppm, detection limit of 2.52 ppm, quantitation limit of 7.63 ppm, accuracy of 100.60%, and precision of 100.72%. Based on the research findings, all validation parameters met the specified requirements, indicating that the HPLC method established in this study can be applied for the determination of andrographolide content in tablet formulations.

Keywords : andrographolide, validation of analysis methods, HPLC

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**Validasi Metode Analisis Andrografolid Dalam Matriks Sediaan Tablet Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**”.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm. dan Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si. atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Siti Uswatun Hasanah, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang tak ternilai selama penulis menempuh Pendidikan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Kedua orang tua saya almh. Mamah Karsinem dan Bapak Tumin Rianto yang selalu mendoakan, melimpahkan kasih sayang, dukungan, nasehat, serta kesabaran yang luar biasa dalam setiap langkah hidup penulis yang merupakan anugerah terbesar yang penulis miliki selama hidup ini. Penulis berharap dapat menjadi anak yang dapat dibanggakan,
7. Kaka saya Kartiwi Setiani, Kaka ipar saya Firman Ramdani, kedua Ponakan saya Ariqa Mulya Ramdani dan Arsaka Dzuhairi Ramdani yang selalu menyemangati dan menghibur dikala penulis menyelesaikan skripsi ini,
8. Angelia Noveka Wijoyo terimakasih telah menjadi sosok pendamping spesial dalam segala hal, yang selalu menemani dalam suka ataupun duka dalam penyelesaian skripsi ini. Terimakasih sudah hadir dan selalu menemani dalam hidup penulis,

9. Euis Siti Solehah yang telah memberi semangat, saran dan dukungan dikala sulit pada saat kuliah terutama pada semester awal,
10. Kepada seluruh rekan kerja di Pt. Kimia Farma plant Banjarn terutama Andrey Septian Permana atas dukungan dan kerjasamanya selama penulisan skripsi ini,
11. Serta sahabat-sahabat angkatan 2019 terutama Anis, Jonathan dan kelas reguler sore yang telah memberikan inspirasi, kegembiraan, dan segala warna nama emosi selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Kegunaan Penelitian.....	2
1.5. Waktu dan Tempat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Andrografolid.....	3
2.2 Validasi Metode Analisis	5
2.2.1 Akurasi	6
2.2.2 Presisi	7
2.2.3 Spesifitas	7
2.2.4 Linearitas.....	7
2.2.5 Batas Deteksi & Batas Kuantitasi	8
2.3 KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi).....	8
2.4 Instrumentasi KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi).....	9
2.4.1 Fase gerak pada KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)	10
2.4.2 Fase diam pada KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)	11
2.4.3 Injektor	11
2.4.4 Pompa.....	12
2.4.5 Kolom.....	13
2.4.6 Detektor.....	13
BAB III TATA KERJA	14
3.1. Alat.....	14
3.2. Bahan.....	14
3.3. Metode.....	14
3.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Andrografolid.....	14
3.3.2 Uji Kesesuaian Sistem KCKT	14
3.3.3 Spesifitas	15

3.3.4	Linearitas Dan Rentang.....	15
3.3.5	Presisi	15
3.3.6	Akurasi	16
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1.	Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Dari Andrografolid.....	18
4.2.	Uji Kesesuaian Sistem KCKT.....	18
4.3.	Validasi Metode	19
4.4.1	Spesifitas	19
4.4.2	Linearitas dan Rentang.....	20
4.4.3	Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi	22
4.4.4	Presisi	22
4.4.5	Akurasi	23
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	25
5.1.	Simpulan.....	25
5.2.	Alur Penelitian Selanjutnya.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN - LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kondisi sistem KCKT untuk analisis senyawa andrografolid.....	4
2.2 Data yang diperlukan untuk uji validasi	6
2.3 UV cutoff solvent yang digunakan sebagai fase gerak.....	11
3.1 Kriteria penerimaan uji kesesuaian sistem.....	14
3.2 Konsentrasi larutan standar untuk uji linearitas.....	15
3.3 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel.....	16
3.4 Konsentrasi larutan sampel.....	16
3.5 Persen <i>recovery</i> analit pada berbagai konsentrasi.....	17
4.1 Hasil uji kesesuaian sistem KCKT.....	19
4.2 Hasil pengukuran standar Andrografolid.....	21
4.3 Hasil pengujian presisi Andrografolid.....	23
4.4 Hasil penetapan akurasi Andrografolid.....	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Kimia Senyawa Andrografolid	3
2.2 Diagram sistem KCKT.....	10
2.3 Skema pompa piston resiprok tunggal.....	12
2.4 Skema pompa dual piston dengan pompa parallel.....	13
4.1 Hasil penentuan panjang gelombang maksimal andrografolid.....	18
4.2 Hasil pengukuran pelarut dan placebo	20
4.3 Kurva baku Andrografolid	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Formula.....	30
2. Kondisi Analisa Sampel.....	31
3. Hasil Pengukuran Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.....	33
4. Hasil Uji Kesesuaian Sistem.....	34
5. Hasil Pengukuran Spesifitas.....	36
6. Hasil Pengukuran Linearitas.....	38
7. Hasil Pengukuran Presisi.....	40
8. Hasil Pengukuran Akurasi.....	42
9. <i>Certificated Of Analisis</i> (Coa) Standar Andrografolid	44
10. <i>Certificated Of Analisis</i> (Coa) Isolat Andrografolid STFI.....	45

DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S. and Dong, M. W. Eds. (2005) '*Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC, Edisi Pertama*', Elsevier, Inc: United Kingdom.
- B. K. Sajeeb, Uttom Kumar, Shimul Halder and Sitesh C. Bachar (2015) '*Identification and Quantification of Andrographolide from Andrographis paniculata (Burm. f.) Wall. ex Nees by RP-HPLC Method and Standardization of its Market Preparations*', Bangladesh: Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Dhaka.
- Charde, MS. AS. *et al.* (2014) '*Method Development by Liquid Chromatography with Validation*', International Journal of Pharmaceutical Chemistry, 4(2), pp. 57 – 61.
- Chellampillai, B. & Pawar, A. P. (2011) '*Improved Bioavailability Of Orally Administered Andrographolide From Ph-Sensitive Nanoparticles*', European journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 35(3-4), 123-129.
- Chao, W. W. & Lin, B. F. (2010) '*Review Isolation and identification of bioactive compounds in Andrographis paniculate*', Chuanxinlian growth, 5(17).
- Darmawan, E. dan Mulyaningsih, S. (2011) '*Evaluation of Formulation of Antidiabetic Herbal Tablet From Andrographis Paniculata Ness Leaves*', Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Ermer, J. H. and Miller, McB. (2005) '*Method Validation in Pharmaceutical Analysis, A Guide To Best Practice*', Willey – Vch, Verlag GmbH and Co. KGaA: Weinheim.
- Gandjar, G. I. dan Rohman, A. (2007) '*Kimia Farmasi Analisis*', Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Gandjar, G. I. dan Rohman, A. (2014) '*Kimia Farmasi Analisis*', Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Gupta, V. Ajay, DKJ. NS. Gill, Kapil, G. (2012) '*Development and Validation of HPLC Method: A Review*', Int. Res. J. Pharm., 2(4), pp.17 – 25.
- Harmita. (2004) '*Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya*', Majalah Ilmu Kefarmasian
- Harvey, D. (2000) '*Modern Analytical Chemistry*', USA : The McGraw-Hill, Inc.
- Huber, L. (2007) '*Validation and Qualification in Analytical Laboratories*', Informa Healthcare, London, UK.
- Jain, Punit K. V. Ravichandran, Prateek K. Jain, Ram K. Agrawal. (2010) '*High-Performance Thin Layer Chromatography Method For Estimation Of Andrographolide In Herbal Extract And Polyherbal Formulations*', Journal of Saudi Chemical Society, 14, 383–389.
- Kar, A. (2005) '*Pharmaceutical Drug Analysis*', India : New Age Publication.
- Kazakevich, Y. and Lobrutto, R. (2007) '*HPLC for Pharmaceutical Scientist*',

- New Jersey John Wiley dan Sons, Inc., pp. 25 – 192.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2020) *'Farmakope Indonesia VI'*, Jakarta: Kemenkes RI.
- Kumoro, A.C., Hasan, M., (2007) *'Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Andrographolide from Andrographis paniculata: Effect of the Solvent Flow Rate, Pressure, and Temperature'*, China Journal of Chemical Engineering, Vol 15, 877-883.
- Miller, J. N., Miller, J. C. (2019) *'Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry'*, Pearson Education Limited.
- Nugroho, A. E. Rais, I. R. Setiawan, I. Pratiwi, P. Y. Hadibarata, T. Tegar, M. & Pramono S. (2014) *'Pancreatic effect of andrographolide isolated from Andrographis paniculate (Burm. f.) Nees'*, Pakistan Journal of Biological Sciences, 17(1), 22-31.
- Nugroho, A. E. Andrie, M. Warditiani, N. K. Siswanto, E. Pramono, S. & Lukitaningsih, E. (2012) *'Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Andrographi paniculate (Burm. f.) Nees and andrographolide in high-fructose-fat-fed rats'*, Indian journal of pharmacology, 44(3), 377-381.
- Prabowo, M. H. A. Wibowo, dan L. Fauziyah. (2012) *'Pengembangan dan validasi metode analisis rifampicin isoniazid-pirazinamid dalam fixed dose combination dengan metode kromatografi lapis tipis-densitometri'*, 9(2)
- Pubchem, 2023. Andrographolide | C₂₀H₃₀O₅ – Pubchem. (n.d.). Diakses dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Andrographolide>.
- Riyanto. (2014) *'Validasi dan Verifikasi Metode Uji'*, Yogyakarta: Deepublish.
- Rohman, A. (2009) *'Kromatografi Untuk Analisis Obat'*, Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Rohman, A. dkk. (2021) *'HPLC-FTIR Spectroscopy Combined With Multivariate Calibration For Analysis Of Andrographolide In Andrographis Paniculata Extract'*, Journal of Applied Pharmaceutical Science, Vol. 11(05), pp. 032-038.
- Royani Juwartina Ida, Dudi Hardianto dan Sri Wahyuni. (2014) *'Analisa Kandungan Andrographolide Pada Tanaman Sambiloto (Andrographis Paniculata) Dari 12 Lokasi Di Pulau Jawa'*, Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia, Vol. 1(1). 2442-2606
- Samy, Thwin and Gopalakrishnakone. (2007) *'Phytochemistry, pharmacology and clinical use of Andrographis paniculata'*, Natural Product Communications, 2(5), pp. 607 – 618
- Schoenmakers, P. (2018) *'Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation'*, Elsevier.
- Sermkaew, N. Ketjinda, W. Boonme, P. Phadoongsombut, N. & Wiwattanapatapee, R. (2013) *'Liquid And Solid Self-microemulsifying Drug Delivery Systems For Improving The Oral Bioavailability Of Andrographolide From A Crude Extract Of Andrographis Paniculata'*,

- European Journal of Pharmaceutical Sciences, 50(3), 459-466.
- Sharma Meenu, Aakanksha Sharma And Sandeep Tyagi. (2012) '*Quantitative Hplc Analysis Of Andrographolide In Andrographis Paniculata At Two Different Stages Of Life Cycle Of Plant*', India: Department of Chemistry, Graphic Era University.
- Snyder, L., Kirkland, J. Dolan, J. (2010) '*Introduction to Modern Liquid Chromatography, Edisi Ketiga*', Canada : John Wiley dan Sons.
- Subramanian, R. M. Z. Asmawi, dan A. Sadikun. (2008) '*In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of andrographis paniculata extract and andrographolide*', Acta Biochimica Polonica, 55(2):391–398.
- Tan, M.C.S. Oyong, G.G. Shen, C.C., Ragasa, C.Y. (2016). '*Chemical constituents of Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees*', International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 8: 1398-1402.
- United States Pharmacopeia (USP). (2018) '*General Chapter <1225>: Validation of Compendial Procedures*'.
- Villadieu-Percheron, E. et al. (2019) '*Quantitative Determination of Andrographolide and Related Compounds in Andrographis paniculate Extracts and Biological Evaluation of Their Anti-Inflammatory Activity*', Foods, 8, 683.
- Vijaykumar, K. et al. (2007) '*Estimation of Andrographolide in Andrographis paniculate Herb, Extracts and Dosage forms*', International Journal of Applied Science and Engineering, 1: 27-39
- Widjajakusuma, E.C. et al. (2018). '*Phytochemical screening and preliminary clinicals trials of the aqueous extract mixture of Andrographis paniculata (Burm. f.) Wall. Ex Nees and Syzygium polyanthum (Wight.) Walp leaves in metformin treated patients with type 2 diabetes*', Phytomedicine, 55, pp. 137 – 147.
- Wiji, Hernani, Mudzakir, A., Zakiyah, Fatimah, S., Siswaningsih. (2010) '*Penuntun Praktikum Kimia Analitik Instrumen*', Bandung : Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Willard, H. H., et al. (2017). '*Instrumental Methods of Analysis*', Cengage Learning.
- Yandi, S. Agung, E. N. Ronny, M. & Endang, L. (2015) '*Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Menggunakan HPLC*', Jurnal Sains Farmasi & Klinis, 2(1), 8-14.
- Yang Minghua, Junsong Wang, Lingyi Kong. (2012) '*Quantitative Analysis Of Four Major Diterpenoids In Andrographis Paniculate By ¹H NMR And Its Application For Quality Control Of Commercial Preparations*', Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 70, 87–93.
- Yuwono, M. Indrayanto, G. (2005) '*Validation of Chromatographic Method of*

Analysis, Profile of Drug Substances, Excipients, and Related Methodologi’,
Vol. 32, pp. 243 – 259.

Zhang, X.F., and B.K. Tan. (2000) ‘*Anti-diabetic property of ethanolic extract of Andrographis panic streptozotocin-diabetic rats*’, *Acta Pharmacol Sin*, 21, pp. 1157 – 1164.