

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA ANDROGRAFOLID DARI
EKSTRAK SAMBILOTO DAN ISOLAT
ANDROGRAFOLID**

SKRIPSI

TIARA HIDDAYATU UMMAH

A242026



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN KHAZANAH
BANDUNG
2025**

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA ANDROGRAFOLID DARI
EKSTRAK SAMBILOTO DAN ISOLAT
ANDROGRAFOLID**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

TIARA HIDDAYATU UMMAH

A242026



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN KHAZANAH
BANDUNG
2025**

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA ANDROGRAFOLID DARI
EKSTRAK SAMBILOTO DAN ISOLAT ANDROGRAFOLID**

**TIARA HIDDAYATU UMMAH
A242026**

Oktober 2025

Disetujui oleh :

Pembimbing



Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si.

Pembimbing



Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si.

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

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua tercinta yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang, dan dukungan tanpa henti dalam setiap langkah hidup saya. Kepada dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran dan ketulusan membimbing serta mengarahkan saya selama proses penyusunan skripsi ini. Kepada pasangan saya yang selalu memberi semangat, motivasi, dan pengertian di saat suka maupun duka. Serta kepada sahabat-sahabat terbaik yang selalu setia mendampingi, menguatkan, dan menjadi sumber inspirasi. Terima kasih atas segala cinta, doa, dan dukungan yang telah diberikan.

ABSTRAK

Andrografolid merupakan senyawa bioaktif utama dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang digunakan sebagai marker dalam analisis fitokimia. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas metode Solid Phase Extraction (SPE) sebagai tahap preparasi andrografolid dari ekstrak sambiloto dan isolatnya menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Spektrofotometri UV-Visibel. Tahapan SPE meliputi pengkondisian, pemuatan sampel, pencucian, dan elusi dengan variasi pelarut *aqua pro injection*, buffer asetat, serta metanol 40%. Kondisi optimum diperoleh dengan pelarut pengkondisian metanol murni, pencucian *aqua pro injection* 1 mL, dan elusi metanol 1 mL. Analisis KCKT menunjukkan konsentrasi andrografolid tertinggi pada ekstrak sebesar 50,442 µg/mL, sedangkan spektrofotometri UV-Visibel sebesar 106,224 µg/mL pada kondisi yang sama. Sedangkan pada isolat, analisis KCKT menunjukkan konsentrasi andrografolid sebesar 39,227 µg/mL, sedangkan spektrofotometri UV-Visibel sebesar 61,105 µg/mL pada kondisi yang sama. Uji *t*-test menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kedua metode pada sampel ekstrak, namun tidak signifikan pada isolat. Hasil ini mengindikasikan bahwa KCKT memiliki selektivitas lebih tinggi terhadap matriks kompleks, sementara spektrofotometri memberikan hasil sebanding pada isolat. Dengan demikian, SPE efektif digunakan untuk preparasi dan pemurnian andrografolid dari ekstrak sambiloto dengan sistem *aqua pro injection*.

Kata kunci: andrografolid, sambiloto, *Solid Phase Extraction* (SPE), KCKT, Spektrofotometri UV-Visibel

ABSTRACT

*Andrographolide is the main bioactive compound of *Andrographis paniculata* Nees, which is used as a marker in phytochemical analysis. This study aims to evaluate the effectiveness of the Solid Phase Extraction (SPE) method as a preparative step for andrographolide from sambiloto extract and its isolate using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and UV-Visible Spectrophotometry. The SPE stages include conditioning, sample loading, washing, and elution with variations of aqua pro injection solvent, acetate buffer, and 40% methanol. Optimal conditions were obtained with pure methanol as the conditioning solvent, 1 mL of aqua pro injection for washing, and 1 mL of methanol for elution. HPLC analysis showed the highest concentration of andrographolide in the extract at 50.442 µg/mL, while UV-Visible spectrophotometry showed 106.224 µg/mL under the same conditions. Meanwhile, in the isolate, KCKT analysis showed an andrographolide concentration of 39.227 µg/mL, while UV-Visible spectrophotometry showed 61.105 µg/mL under the same conditions. The t-test showed a significant difference ($p < 0.05$) between the two methods in the extract sample, but not in the isolate. These results indicate that KCKT has higher selectivity toward complex matrices, while spectrophotometry provides comparable results in isolates. Thus, SPE is effective for the preparation and purification of andrographolide from sambiloto extract using the aqua pro injection system.*

Keywords : *andrographolide, sambiloto, Solid Phase Extraction (SPE), KCKT, UV-Visible Spectrophotometer*

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 “**Aplikasi *Solid Phase Extraction* (SPE) Untuk Pemurnian Senyawa Andrografolid Dari Ekstrak Sambiloto dan Isolat Andrografolid**”.

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 Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si. 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. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Yola Desnera Putri, M.Farm., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa, dukungan dan kasih sayang yang tiada henti,
7. Serta sahabat-sahabat yang selalu memberikan semangat dan bantuan selama penyusunan skripsi ini.

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, Oktober 2025
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
KUTIPAN.....	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Sambiloto	4
2.1.1 Taksonomi Tanaman.....	4
2.1.4 Efek Farmakologi.....	5
2.1.5 Kandungan Kimia	6
2.2 Andrografolid.....	6
2.3 Analisis Andrografolid	7
2.4 <i>Solid Phase Extraction</i> (SPE)	9
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	10
2.6 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	10
2.5.1 Instrumen KCKT.....	11
2.7 Spektrofotometri UV-Visibel	13
2.7.1 Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis.....	14
BAB III TATA KERJA	16
3. 1 Alat.....	16
3.2 Bahan	16

3.3	Metode	16
3.3.1	Optimasi Sistem SPE	16
3.3.2	Kromatografi Lapis Tipis	16
3.3.3	KCKT	17
3.3.4	Spektrofotometer UV-Visibel.....	17
3.4	Analisis Data	18
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		19
4.1	Optimasi Sistem SPE	19
4.2	Penetapan Konsentrasi Andrografolid Dalam Ekstrak dan Isolat...	22
4.2.1	KCKT	22
4.2.2	Spektrofotometer UV-Visibel.....	25
4.5	Analisis Data	30
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA		32
5.1	Simpulan	32
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya.....	32
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN		37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Sistem KCKT Untuk Analisis Andrografolid	8
4.1 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	21
4.2 Konsentrasi dan Luas Area Standar Andrografolid Menggunakan KCKT	22
4.3 Hasil Konsentrasi Andrografolid KCKT	23
4.4 Konsentrasi dan Absorbansi Standar Andrografolid Menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel	27
4.5 Hasil Konsentrasi Andrografolid Spektrofotometer UV-Visibel	28
4.6 Hasil Analisis Data Menggunakan T-Test.....	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tumbuhan Sambiloto.....	4
2.2 Struktur Andrografolid	7
2.3 Prosedur Pemurnian Sampel Dengan SPE	9
2.4 Mekanisme Pemisahan dengan KLT	10
2.5 Diagram Skematik Alat KCKT.....	11
2.6 Diagram Alat Spektrofotometri UV-Visibel Double Beam	14
4.1 Kurva Kalibrasi KCKT.....	22
4.2 Panjang Gelombang Maksimum Andrografolid.....	26
4.3 Kurva Kalibrasi Spektrofotometer UV-Visibel.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 <i>Certificate Of Analysis</i> (Coa).....	37
2 Kromatografi Lapis Tipis (Klt).....	38
3 Perhitungan Konsentrasi Untuk Analisis Spektrofotometer Uv-Visibel ..	40
4 Hasil Pengujian Spektrofotometer Uv-Visibel	42
5 Hasil Pengujian Kckt	43
6 Hasil T-Test.....	49
7 Dokumentasi.....	50

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamad, J., Ameen, M. S. M., Anwer, E. T., Uthirapathy, S., & Porwal, O. (2019). Qualitative and Quantitative Standardization of *Andrographis paniculata* by TLC Technique and UV Method. *Advances in Medical, Dental and Health Sciences*, 2(3), 29–32. <https://doi.org/10.5530/amdhs.2019.3.9>
- Ahriani, A. , Zelviani, S. , Hernawati, H. , & Fitriyanti, F. (2021). Analisis nilai absorbansi untuk menentukan kadar flavonoid daun jarak merah (*Jatropha Gossypifolia* L.) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *JFT: Jurnal Fisika Dan Terapannya*, 8(2), 147–155.
- Andareto, O. (2015). *Apotik Herbal di Sekitar Anda: buku yang memuat jenis-jenis daun herbal, serta jenis penyakit apa saja yang dapat disembuhkannya* (R. D. Aryanti, Ed.). Pustaka Ilmu Semesta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. (2012). *Acuan_Sediaan_Herbal-Volume_7_Edisi_Pertama: Vol. Volume ke 7*.
- Badawy, M. E. I. , El-Nouby, M. A. M. , Kimani, P. K. , Lim, L. W. , & Rabea, E. (2022). A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. . *In Analytical Sciences*, 38(12).
- De P., Bunyaphatsara, N., & Lemmens, R. H. M. J. (1999). Plant resources of South-East Asia. *Backhuys Publ*, 12(1), 210–218.
- Dong, M. W. (2019). HPLC and UHPLC for Practicing Scientists. *John Wiley & Sons*.
- Dornelles, H. S., Motteran, F., Sakamoto, I. K., Adorno, M. A., & Varesche, M. B. (2020). HPLC Method Improvement For 4-Nonylphenol Determination In Anaerobic Reactors: Decreasing Solvent Consumption And Waste Generation. *Química Nova*, 43, 1048–1057.
- Fitriani, N., Kamalia, L., & Kamila. (2017). *Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Andrographis Paniculata dan Vernonia Amygdalina* (Vol. 7, Issue 2).
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. . Pustaka Pelajar.
- Hansen, S. H., & Pedersen-Bjergaard, S. (Eds.). (2015). Bioanalysis of pharmaceuticals: sample preparation, separation techniques and mass spectrometry. . *John Wiley & Sons*.

- Hariana, A. (2013). Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. *Depok: Penebar Swadaya*, 39.
- Ischak, N. I., & Botutihe, D. N. (2018). Sambiloto, Ceplukan, Daun Salam (Antidiabetes). *Gorontalo: UNG Press Gorontalo*, 2–3.
- Kamilania, V., & Husni, P. (2023). Review artikel: metode analisis dalam pengujian kandungan pewarna merah K10 (Rhodamin B) pada kosmetik. *Journal Of Pharmaceutical and Sciences*, 1935–1940.
- Kementrian Pertanian, & Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. (2021). *Informasi Teknologi Tanaman Rempah Dan Obat*. www.balittro.litbang.pertanian.go.id
- Kumar, S., Dhanani, T., & Shah, S. (2014). Extraction of Three Bioactive Diterpenoids from *Andrographis paniculata*: Effect of the Extraction Techniques on Extract Composition and Quantification of Three Andrographolides Using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 52(9), 1043–1050. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt157>
- Kurniawati, A. (2016). *Validasi Metode Analisis Etil p-metoksisinamat dalam plasma secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*.
- Maiti, K. *et al.* (2010). Enhancing bioavailability and hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata*, a well-known medicinal food, through its herbosome. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 43–51.
- Masaenah, E., Elya, B., Setiawan, H., Fadhilah, Z., & Arianti, V. (2021). Quantification of andrographolide in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees, myricetin in *Syzygium cumini* (L.) Skeels, and Brazilin in *Caesalpinia sappan* L. by HPLC method. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1437–1444.
- Moein, M. M., El Beqqali, A., & Abdel-Rehim, M. (2017). Bioanalytical method development and validation: Critical concepts and strategies. *Journal of Chromatography B*, 1043, 3–11.
- Mudrikah, S., Hidayah, H., Amelia, T., & Helsen, H. (2024). Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(13), 377–386.
- Nugroho, A. E., Rais, I. R., Setiawan, I., Pratiwi, P. Y., Hadibarata, T., Tegar, M., & Pramono, S. (2014). 22-31. *17(1)*, 22.
- Plotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2016). Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. *TrAC - Trends In Analytical Chemistry*, 77, 23–43.

- Poole, C. F. (2003). *New trends in solid-phase extraction: Vol. 22 (6)*. Trends in Analytical Chemistry,.
- Purwati, A. I., Yunianto, P., & Supriyono, A. (2017). Validasi Metode RP-HPLC untuk Penentuan Kadar Andrografolid Sebagai Senyawa Penanda pada Campuran Ekstrak. *Chimica et Natura Acta*, 5(3), 101. <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n3.16056>
- Putri, A. I. (2024). *Modifikasi Senyawa Andrografolid Melalui Reaksi Eterifikasi Dengan Metil Iodida dan Pengujian Aktivitasnya Sebagai Antioksidan*.
- Qian, Z., Chen, J., Lei, Q., Li, D., Tan, G., Xie, J., & Li, W. (2024). Ultra-rapid determination of andrographolide and dehydroandrographolide in Andrographis Herba by solid phase extraction and liquid chromatography with mass spectrometry. *Acta Chromatographica*, 36(3), 279–285. <https://doi.org/10.1556/1326.2023.01156>
- Rahmatia, T. U. (2016). Metode SPE Sebagai Alternatif Terbaru Dalam Analisis dan Pemurnian Senyawa Obat. *Farmaka*, 14 (2), 151–170.
- Sabila, R., Megantara, S., & Saputri, F. A. (2020). Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid pada Gugus Hidroksil C-14. . *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)*., 7(2), 55–63.
- Salsabila, A. (2024). *Validasi Metode Analisis Isolat Andrografolid Dalam Sediaan Suspensi Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis*.
- Samanidou, V. (2018). *Solid Phase Extraction State of the Art and Future Perspectives molecules*. www.mdpi.com/journal/molecules
- Septiani, D. A., Hakim, A., Patech, L. R., Zulhalifah, Z., & Siswadi, S. (2021). Isolation and Identification of Andrographolide Compounds from the Leaves of Sambiloto Plant (Andrographis paniculata Ness). *Acta Chimica Asiana*, 4(1), 108–113. <https://doi.org/10.29303/aca.v4i1.65>
- Skoog, D. A. , Holler, F. J. , & Crouch, S. R. (2018). Principles of instrumental analysis seventh edition. *Cengage Learning*.
- Supriningrum, R. , Nurhasnawati, H., & dan Faisah, S. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (Chromolaena Odorata L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Al Ulum Sains Dan Teknologi*, 5(2).
- Syamsudin, D. W. (2013). Unjuk kerja spektrofotometer untuk analisa zat aktif ketoprofen. *Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta. Konversi.* , 2(2), 2252–7311.
- Yan, Y., Fang, L. H., & Du, G. H. (2018). Andrographolide . *Natural Small Molecule Drugs from Plants*, 357–362.

Yunita, E. (2021). Mekanisme Kerja Andrografolid Dari Sambiloto Sebagai Senyawa Antioksidan. *Herb-Medicine Journal*, 4 (1), 43–56.