

**PROFIL BIOAVAILABILITAS ISOLAT ANDROGRAFOLID
PADA PLASMA DARAH HEPARIN KELINCI MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

**VIRANTY JAFRI
A223005**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2024**

**PROFIL BIOAVAILABILITAS ISOLAT ANDROGRAFOLID
PADA PLASMA DARAH HEPARIN KELINCI MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**VIRANTY JAFRI
A223005**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2024**

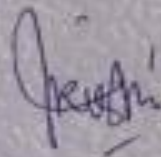
**PROFIL BIOAVAILABILITAS ISOLAT ANDROGRAFOLID
PADA PLASMA DARAH HEPARIN KELINCI MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

**VIRANTY JAFRI
A 223 005**

Juli 2024

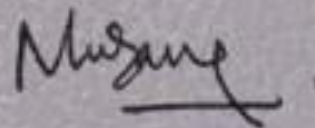
Disetujui oleh :

Pembimbing



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

Pembimbing



Dr. apt. Mulyana, M.Kes

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

Dalam kesederhanaan kata, Skripsi ini dipersembahkan untuk diri saya sendiri yang telah berjuang dan bertahan hingga saat ini serta kedua orang tua saya yaitu Ayahanda Jefriman dan Ibu Rossi Adinartis, yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, motivasi dan juga selalu mendoakan setiap saat.

ABSTRAK

Isolat andrografolid merupakan senyawa bahan alam yang dapat dijadikan salah satu terapi antidiabetes pada pasien diabetes melitus tipe 2. Profil bioavailabilitas diperlukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan suatu obat agar dapat memberikan efek terapi dan seberapa banyak obat tersebut dapat terserap oleh tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil bioavailabilitas isolat andrografolid pada plasma darah heparin kelinci menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan uji kelinci ras *New Zealand* berjenis kelamin jantan, interval waktu pengambilan darah pada waktu 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; dan 6 jam serta kondisi kromatografi cair kinerja tinggi yang digunakan yaitu fase gerak metanol:air (65:35) dengan kolom eclipse plus C18 (dimensi 4,6 x 150 mm). Pengolahan data farmakokinetik menggunakan PK solver *microsoft excel* 2019. Hasil penelitian profil bioavailabilitas meliputi parameter $C_{p_{maks}}$ sebesar 8,2426 $\mu\text{g/mL}$, t_{maks} sebesar 1,4060 jam, $AUC_{(0-\infty)}$ sebesar 37,7692 $\mu\text{g.jam/mL}$ dan $t_{1/2}$ sebesar 1,9636 jam. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan metode yang digunakan memiliki tingkat akurasi yang baik untuk mengukur kadar isolat andrografolid pada plasma darah heparin kelinci serta hasil profil bioavailabilitas yang diperoleh kurang ideal karena memiliki waktu paruh yang cukup pendek untuk terapi antidiabetes oral.

Kata Kunci : Isolat Andrografolid, Plasma Darah Heparin, KCKT, Bioavailabilitas

ABSTRACT

Andrographolide isolate is a natural compound that can be used as an antidiabetic therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. A Bioavailability profile is needed to determine the onset of time and the level of the drug in the circulation system. This study aims to determine the bioavailability profile of andrographolide isolate in rabbit heparin blood plasma using high performance liquid chromatography. This study was conducted using male New Zealand rabbit, the time interval for blood collection at 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 4; and 6 hours and the high-performance liquid chromatography conditions used were methanol:water (65:35) mobile phase with eclipse plus C18 column (dimensions 4.6 x 150 mm). The pharmacokinetic data processing using PK solver microsoft excel 2019 software. The results of the bioavailability profile study include the parameters C_{pmax} at 8.2426 $\mu\text{g/mL}$, t_{max} at 1.4060 hours, $AUC(0-\infty)$ at 37.7692 $\mu\text{g.h/mL}$ and $t_{1/2}$ at 1.9636 hours respectively. Based on the study, the method used has a good level of accuracy in measuring the levels of andrographolide isolate in rabbit heparin plasma and the bioavailability profile result obtained are less than ideal because it has a fairly short half-life for oral antidiabetic therapy.

Keywords: *Andrographolide Isolate, Heparinized Blood Plasma, HPLC, Bioavailability*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillahirabbilalamin, puji dan syukur atas kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, karena atas rahmat, ridho dan karunia-Nya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**Profil Bioavailabilitas Isolat Andrografolid Pada Plasma Darah Heparin Kelinci Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**”, dengan dosen pembimbing Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm dan Dr. apt. Mulyana, M.Kes.

Skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan dan nasehat dari berbagai pihak selama penyusunan skripsi ini. Oleh sebab itu dalam kesempatan ini, ingin menyampaikan banyak terima kasih yang kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. apt. Diki Prayugo Wibowo, S.Si., M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
4. Dr. Syarif Hamdani, 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.

Dalam penyusunan skripsi ini, masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati berharap masukan berupa kritik dan saran untuk perbaikan di masa yang akan datang dan memberikan manfaat bagi pembaca.

Bandung, Juli 2024
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
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.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f) Ness)	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Sambiloto.....	4
2.1.2 Morfologi Sambiloto.....	4
2.1.3 Kandungan Kimia	5
2.2 Andrografolid.....	5
2.3 Heparin Sebagai Antikoagulan	6
2.4 Plasma	7
2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	8
2.6 Analisis Andrografolid Menggunakan KCKT.....	9
2.7 Diabetes Melitus.....	9
2.7.1 Definisi Diabetes Melitus.....	9
2.7.2 Klasifikasi Diabetes Melitus	9
2.7.3 Penatalaksanaan Diabetes Melitus	10
2.8 Bioavailabilitas.....	11
2.9 Model Farmakokinetik.....	12
2.10 Parameter Farmakokinetik	12
BAB III TATA KERJA	14
3.1 Alat.....	14
3.2 Bahan	14

3.3 . Metode Penelitian	14
3.3.1 Pembuatan Suspensi Andrografolid.....	14
3.3.2 Pemberian isolat Andrografolid Pada Kelinci.....	14
3.3.3 Penentuan Waktu Pengambilan Sampel Darah pada Kelinci	15
3.3.4 Penentuan Panjang Gelombang.....	15
3.3.5 Kondisi KCKT	15
3.3.6 Pembuatan Larutan Induk Andrografolid	15
3.3.7 Preparasi Sampel.....	15
3.3.8 Analisis Kadar Isolat Andrografolid pada Plasma Heparin	16
3.3.9 Profil Bioavailabilitas.....	16
3.3.10 Pengendalian Mutu.....	16
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	17
4.1 Persiapan Sampel Isolat Andrografolid Pada Plasma Heparin Kelinci	17
4.1.1 Pemberian Isolat Andrografolid Pada Kelinci	17
4.1.2 Penentuan Waktu Pengambilan Sampel Darah Pada Kelinci	17
4.1.3 Preparasi Sampel.....	18
4.2 Analisis Kadar Isolat Andrografolid Pada Plasma Heparin Kelinci	18
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang	18
4.2.2 Pembuatan Larutan Induk Andrografolid	19
4.2.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi	19
4.2.4 Hasil Kadar Isolat Andrografolid Pada Plasma Heparin Kelinci.....	20
4.3 Profil Bioavailabilitas	22
4.4 Pengendalian Mutu	26
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	29
5.1 Simpulan	29
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Luas Area Andrografolid dalam Plasma Heparin Kelinci	20
4.2 Hasil Perhitungan Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Plasma	21
4.3 Data Parameter Farmakokinetik.....	22
4.4 Luas Area Kurva Baku pada Proses Pengendalian Mutu.....	27
4.5 Hasil pengujian perolehan kembali dengan 3 kali pengulangan	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f) Ness.....	4
2.2 Struktur Kimia Andrografolid.....	5
2.3 Struktur Heparin	6
3.1 Pengambilan Darah Pada Kelinci.....	15
4.1 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Andrografolid	19
4.2 Kurva Kalibrasi Andrografolid Dalam Plasma Heparin Kelinci	20
4.3 Grafik Kadar Isolat Andrografolid	23
4.4 Kromatogram Pada Proses Pengendalian Mutu	26
4.5 Grafik Kurva Baku Pada Proses Pengendalian Mutu	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Ethical Clearence</i>	35
2. <i>Certificate of Analysis Andrographolide</i>	36
3. Perhitungan Pemberian Isolat Andrografolid.....	37
4. Penentuan Panjang Gelombang	39
5. Hasil Perhitungan Pengenceran Larutan Andrografolid	40
6. Hasil Kromatogram	41
7. Kurva Kalibrasi Andrografolid dalam Plasma Heparin Kelinci	43
8. Kadar Isolat Andrografolid dalam Sampel Plasma Heparin Kelinci	44
9. Parameter Farmakokinetik	45
10. Hasil Pengolahan Data pada PK Solver <i>Microsoft Excel 2019</i>	47
11. Pengendalian Mutu	48
12. Dokumentasi	49

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, R., Sulaiman, S. A. And Mohamed, M. (2005) 'Andrographis Paniculata Pada Pasien Tipe 2 Dengan Diabetes Mellitus', 12(1), Pp. 13–19.
- Alagga, A. A., Pellegrini, M. V., & Gupta, V. (2024). Drug absorption. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Amin, Astuti, Harizal, Asti, V.A., Fadli, H., Artati., Ngia, M., & Bambang, S. (2023). 'Kimia Farmasi Analisis'.
- BPOM, R. (2022). 'Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 11 Tahun 2022 Tentang Tata Laksana Uji Bioekivalensi'. Bpom Ri, 1–16.
- BPOM, R. (2021). 'Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 18 Tahun 2021 Tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praktikum Obat Tradisional' Jakarta: BPOM RI.
- Brake, M. A., Ivanciu, L., Maroney, S. A., Martinez, N. D., Mast, A. E., & Westrick, R. J. (2019). 'Assessing blood clotting and coagulation factors in mice'. *Current protocols in mouse biology*, 9(2), e61.
- Chabib, L. dan Pradana, D. A. (2016). 'Studi Bioavailabilitas Snedds Gamavuton-0 Sebagai Anti Arthritis Rematoid Pada Tikus Wistar Jantan'.
- Chairani, A. C. M. dan Saptarini, N. M. (2016). 'Aktivitas Anti Inflamasi dan Bioavaibilitas Andrografolid pada Hewan Uji'. *Farmaka*, 14(2), 18-27.
- Dhurat, R. and Sukesh, M. (2014). 'Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective', *Journal of Cutaneous*.
- Fahira, S. M., Dwi Ananto, A. dan Hajrin, W. (2021) 'Analisis Kandungan Hidrokuinon dalam Krim Pemutih yang Beredar di Beberapa Pasar Kota Mataram dengan Spektrofotometri Ultraviolet-Visible', *SPIN Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(1), pp. 75–84.
- Grogan, S and Preuss (2023) 'Pharmacokinetics' *journal*.
- Hakim, L. (2011). 'Farmakokinetik'. Bursa Ilmu. Yogyakarta

- Hita, I. P. G. A. P., Putu, Y. B. S., Gusti, S., Gusti, N., Agung, W. W. P. (2022) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees terhadap *Propionibacterium acnes*', *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 11(1), pp. 115–126.
- Hasdiana, U. (2018) 'Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics' *Analytical Biochemistry*.
- Hermawan, D dan Cacu, A. O. A. (2022). 'Optimasi metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk analisis obat ofloxacin'. In *Prosiding Seminar Nasional LPPM Unsoed* (Vol. 11, No. 1).
- Inayah, S. N., Tanuwidjaja, S., Rahayu, D., & Kusuma, W. N. (2023). 'Pengaruh Waktu Sentrifugasi Serum Terhadap Kadar Kolesterol'. *Jurnal Analis Kimia*, 7(01).
- Irwanda, I. (2023). 'Validasi Metode Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness) Dalam Sampel Plasma Secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Ultraviolet. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. *Skripsi*
- Keen, P. 1971. "Effect of Binding to Plasma Proteins on the Distribution, Activity and Elimination of Drugs." *Concepts in Biochemical Pharmacology*, 213–33.
- Krisyanti, B. F. E. (2009). 'Penentuan Parameter Bioavailabilitas Andrografolida Dan Kurkumin Dari Campuran Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Dan Rimpang Kunyit Dalam Serum Kelinci Menggunakan Hplc (Doctoral Dissertation, Universitas Airlangga).
- Lestari, S. W. (2014). 'Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren dalam Plasma Darah secara *In Vitro* menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)'.
'
- Lestari, Zulkarnain dan Sijid, S. A. (2021) 'Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan', *journal.uin-alauddin*.
- Massanyi, M., Kohut, L., Argente, M. J., Halo, M., Kovacik, A., Kovacikova, E & Massanyi, P. (2020). The effect of different sample collection methods on rabbit blood parameters. *Saudi journal of biological sciences*.

- Notario, D. (2018) 'Pemodelan Farmakokinetika Berbasis Populasi dengan R: Model Dua Kompartemen Ekstravaskuler', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 4(1), pp. 26–35.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., dan Mursiti, S. (2017). 'Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga' *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), 91-96.
- Nugraheni, Nafi'ah and Anggoro (2016) 'Validasi Metode Analisis Dan Penurunan Kadar Infus Ciprofloksasin Yang Dipengaruhi Reaksi Oksidasi Menggunakan Hplc' Subm, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), pp. 218–223.
- Patil, R. and Jain, V. (2021). 'Andrographolide: A review of analytical methods'. *Journal of Chromatographic Science*, 59(2), 191-203.
- Pholphana., Nantanit., Nuchanart, R., Jittra, S., & Supachai, R. (2013) 'Changes in the contents of four active diterpenoids at different growth stages in *Andrographis paniculata* ', *Chinese Medicine (United Kingdom)*8(1), pp. 1-12.
- Pinthong, T., Bunyagidj, C., Mounhong, A., & Koysooko, R. (1991). 'HPLC determination of andrographolide, neoandrographolide and dehydroandrographolide in biological fluids. *Siriraj Hosp Gaz.* 1991;43(10): 763.
- Purwati, A. I., Yuniyanto, P., & Supriyono, A. (2017) 'Validasi Metode RP-HPLC untuk Penentuan Kadar Andrografolid Sebagai Senyawa Penanda pada Campuran Esktrak', *Chimica et Natura Acta*, 5(3), pp. 101-106
- Rahmasari, I. dan Wahyuni, E. S. (2019) 'Efektivitas Memordoca carantia (Pare) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah', *Infokes*, 9(1), pp. 57–64
- Ratnani, R. D., Hartati, I., dan Kurniasari, L. (2012). 'Potensi produksi andrographolide dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) melalui proses ekstraksi hidrotropi'. *Momentum*, 8(1), 6-10.
- Sabaruddin, R. (2016) 'Studi Bioavailabilitas Snedds Kurkumin Sebagai Anti Arthritis Rematoid Pada Tikus Galur Wistar Jantan', pp. 31–48.

- Sabila, R., Megantara, S., dan Saputri, F. A. (2020). 'Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid pada Gugus Hidroksil C-14'. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 7(2), 55-63.
- Sajeeb, B. K., Kumar, U., Halder, S., & Bachar, S. C. (2015). 'Identification and quantification of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees by RP-HPLC method and standardization of its market preparations'. *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 14(1), 71-8.
- Sari, Retno, M.L.L. Sugiarto, W. Amirah, and H. Yusuf. (2019). 'The Effect of Chitosan Type and Concentration on Physical Characteristics and Drug Release Behavior of Andrographolide-Chitosan Microparticles Prepared by Ionic Gelation – Freeze Drying'. *SSRN Electronic Journal*.
- Sebayang, R., Idawati, Y., & Sinaga, H. (2020) 'Analisis laktat dehidrogenase dalam serum darah menggunakan sentrifugasi', *Jurnal Keperawatan Silampari*, 4(1), pp. 274-280
- Shute, J. K (2023). 'Heparin, Low Molecular Weight Heparin, and Non-Anticoagulant Derivatives for the Treatment of Inflammatory Lung Disease'. *Pharmaceuticals* 16 (4).
- Siswanto, A., Fudholi, A., Nugroho, A. K., & Martono, S. (2017). Pemodelan Farmakokinetika Tablet Floating Aspirin Pada Kelinci Dengan Pksolver. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 166-173.
- Srimarwani, R. (2021). 'Penentuan Aktivitas Diuretik Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Semangka (*Citrulus Lanatus L.*) Dan Kulit Buah Melon (*Cucumis Melo L.*) Pada Tikus Putih Jantan'. *Journal Pharma Saintika*, 5(1), 20-26.
- Suarsana, I. N., Widyastuti, S., dan Priosoeryanto, B. P. (2012). 'Ketersediaan hayati isoflavon dalam plasma dan pengaruhnya terhadap nilai biokimia darah pada tikus hiperglikemia'. *Jurnal Veteriner*, 13(1), 86-91.
- Susanti, N. M. P., Warditiani, N. K., Dewi, K. A. S., & Oka, M. (2016). 'Aktivitas Antihiperlipidemia Andrografolid dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) secara In Silico'. *Jurnal Farmasi Udayana*, 5(2), 279792.

- Suo, X. B., Zhang, H., & Wang, Y. Q. (2007). 'HPLC determination of andrographolide in rat whole blood: study on the pharmacokinetics of andrographolide incorporated in liposomes and tablets'. *Biomedical Chromatography*, 21(7), 730-734.
- Turfus, S. *et al.* (2013). 'A comparison of the performance of quality controls prepared from spiked, fortified and authentic hair for ethyl glucuronide analysis'. *Forensic Science International*, 232(1-3), 60-66.
- Warditiani, N. K., Widjaja, I. N. K., dan Noviyanti, N. W. R. (2014). 'Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metode purifikasi dan kristalisasi'. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1), 279883.
- Yan, Y., Fang, L. H. and Du, G. H. (2018) 'Andrographolide', *Natural Small Molecule Drugs from Plants*, pp. 357-362. doi: 10.1007/978-981-10-8022-7_60.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., & Xie, S. (2010). 'PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel'. *Computer methods and programs in biomedicine*, 99(3), 306-314

