

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR
GLIBENKLAMID DALAM PLASMA DARAH MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI**



RUSWITA NOVITASARI

2443012227

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2016

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR
GLIBENKLAMID DALAM PLASMA DARAH MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI**

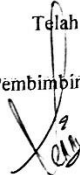
SKRIPSI

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

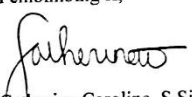
OLEH :
RUSWITA NOVITASARI
2443012227

Telah disetujui pada tanggal 24 Juni 2016 dan dinyatakan LULUS

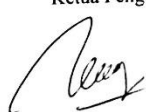
Pembimbing I,


Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt
NIK. 241.01.0520

Pembimbing II,


Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt
NIK. 241.00.0444

Mengetahui,
Ketua Penguji


Henry K. Setiawan, S.Si., M.Si., Apt
NIK. 241.97.0283

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengembangan Metode Penetapan Kadar Glibenklamid dalam Plasma Darah Manusia secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi** 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, 24 Juni 2016



Ruswita Novitasari

2443012227

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 hasil plagiarisme,
maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau
pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 24 Juni 2016



Ruswita
Ruswita Novitasari

2443012227

Pengembangan Metode Penetapan Kadar Glibenklamid dalam Plasma Darah Manusia Secara *in Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

*Ruswita Novitasari, * Senny Y. Esar, * Catherina Caroline

*Fakultas Farmasi, Unika Widya Mandala Surabaya

korespondensi: ruswita45@gmail.com

ABSTRAK

Glibenklamid merupakan salah satu obat diabetes melitus yang termasuk golongan sulfonilurea dan merupakan obat wajib uji bioekivalensi yang telah dicantumkan dalam Peraturan Kepala BPOM RI, maka perlu dilakukan pengembangan metode analisis untuk menentukan kadar glibenklamid dalam plasma darah manusia. Fase diam yang digunakan adalah RP-C 18 (10 μ m, 44 mm x 250 mm) dan fase gerak dapar fosfat 0,04 M pH 3,5 : asetonitril (46:54, v/v) dengan kecepatan alir 0,8 ml/menit dan diamati pada panjang gelombang 225 nm. Hasil uji selektifitas waktu retensi glibenklamid 13,6 menit. Hasil uji linieritas rentang konsentrasi 0,05 μ g/mL – 0,20 μ g/mL dengan koefisien korelasi 0,9924 yang menunjukkan adanya korelasi yang linier. Metode yang digunakan memiliki batas deteksi dan kuantitasi 9,267 ng/mL dan 30,889 ng/mL. Hasil uji akurasi dan presisi dengan konsentrasi 50% ; 75% dan 100% memperoleh persen perolehan kembali 83,79 % $\pm$ 0,24; 93,84 % $\pm$ 1,16 dan 83,98 % $\pm$ 0,86. Metode KCKT yang dikembangkan dengan fase diam RP- C18 (10 μ m, 4mm x 250mm) dan fase gerak dapar fosfat 0,04 M pH 3,5 : asetonitril (46:54, v/v) dengan kecepatan alir 0,8 ml/menit dapat dikembangkan untuk penetapan kadar glibenklamid dalam plasma darah manusia secara *in vitro*.

Kata kunci: Glibenklamid, Plasma, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

Development of High Performance Liquid Chromatography Assay Method for the Determination of Glibenclamide in Human Plasma *in Vitro*

ABSTRACT

Glibenclamide is one of sulphonyl urea antidiabetic drugs and it is a mandatory to done the bioequivalence test as it mentioned in BPOM RI Regulatory, therefore it is necessary to do the development on quantitative determination method of Glibenclamide in human plasma. RP- C18 (10 μ m, 4mm x 250mm) is used as the stationary phase and phosphate buffer 0.04 M pH 3.5 : acetonitril (46:54 v/v) as the mobile phase with flow rate 0.8 ml/second and the wavelength 225 nm. The selectivity result of glibenclamide time retention was 13.6 minutes. Linearity with concentration 0.05 μ g/mL – 0.20 μ g/mL and correlation coefficient 0.9924 shown a linear correlation. Limit detection and quantity of this method was 9.267 ng/mL and 30.889 ng/mL. Accuracy and precision with concentration 50%; 75%; and 100% have the number of yield at 83.79 % $\pm$ 0.24; 93.84 % $\pm$ 1.16 and 83.98 % $\pm$ 0.86. The result shows that the development of HPLC method can be developed for quantitative determination of Glibenclamide in human plasma (*in vitro*).

Keywords: Glibenclamide, Plasma, High Performance Liquid Chromatography.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul Pengembangan Metode Penetapan Kadar Glibenklamid dalam Plasma Darah Manusia Secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka rasa terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada:

1. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph. D sebagai Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
2. Martha Ervina, S. Si., M. Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. Senny Y. Esar., S.Si., M.Si., Apt. selaku Pembimbing I dan Catherina Caroline, S.Si., M.Si., Apt., selaku Pembimbing II atas kesabaran untuk meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan, petunjuk, nasehat dan saran-saran yang membangun untuk terselesaikannya skripsi ini.
4. Henry K. Setiawan S.Si., M.Si., Apt., dan Dra. Hj. Emi Sukarti, M.Si., Apt. sebagai Tim Penguji skripsi yang telah memberikan saran dan masukan berharga guna penyempurnaan skripsi ini.
5. Dra. Idajani Hadinoto, M.S., Apt. sebagai pembimbing akademik yang selalu memberikan nasehat.

6. Dosen-dosen dan staf pengajar yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas ilmu pengetahuan, keahlian dan pengalaman yang telah dibagi.
7. Laboran Mbak Tyas yang telah banyak membantu kelancaran proses penelitian, serta doa dan dukungannya.
8. Papah, mamah dan kakak yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi serta doa.
9. Teman seperjuanganku skripsi Marcel dan Hendri, terima kasih banyak atas pengorbanan waktu, tenaga dan materi yang tidak bisa diperhitungkan satu per-satu demi skripsi ini.
10. Sahabat dan teman-teman ku chatryne, Fenni, Stephanie, Agnes terimakasih sudah membantu dalam kelangsungan penulisan skripsi ini dan BPM 2015/2016 terimakasih buat dukungan, motivasi dan semangat yang selalu kalian berikan.
11. Teman-teman angkatan 2012; Sukses buat kita semua.

Skripsi ini jauh dari sempurna dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Oleh karenanya diharapkan saran dan kritik dari semua pihak agar naskah ini dapat lebih sempurna. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat luas pada umumnya dan bagi dunia kefarmasian pada khususnya.

Surabaya, Juni 2016

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix

BAB

1	PENDAHULUAN	1
1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah	5
1.3	Tujuan Penelitian	6
1.4	Hipotesis Penelitian	6
1.5	Manfaat Penelitian	6
2	TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1	Tinjauan tentang Bahan Aktif.....	7
2.2	Tinjauan tentang Cairan Biologis	7
2.3	Tinjauan tentang Pengendap Protein Plasma	10
2.4	Tinjauan tentang Kromatografi	11

2.5	Tinjauan tentang Pengembangan Metode	14
3	METODE PENELITIAN	20
3.1	Bahan	20
3.2	Alat	20
3.3	Metode Penelitian	21
3.4	Teknik Analisa Data	26
4	HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1	Uji Selektifitas	31
4.2	Uji Linieritas	32
4.3	Uji Batas Deteksi (LOD) dan Uji Batas Kuantifikasi (LOQ)	34
4.4	Uji Akurasi dan Presisi	35
4.5	Interpretasi Data	35
5	KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.5 Elemen Data yang Dibutuhkan untuk Validasi	
Metode Analisis	15
4.1 Tabel Hasil Uji Selektifitas untuk Pemisahan	
Glibenklamid dengan Matriks plasma	32
4.2 Tabel Hasil Perhitungan Linieritas	33
4.3 Tabel Hasil Uji Akurasi dan Presisi Campuran Matriks	
Plasma dan Glibenklamid	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambar Struktur Glibenklamid	7
4.1 Gambar Kurva Linieritas	33
4.2 Gambar Kurva LOD dan LOQ	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Contoh Perhitungan selektifitas, Gambar plasma Blanko dan Gambar Campuran Glibenklamid Dalam Plasma	45
2. Spektrum Glibenklamid	50
3. Hasil Uji Linieritas	51
4. Perhitungan Harga F	52
5. Tabel F	55
6. Perhitungan LOD dan LOQ	56
7. Contoh Perhitungan Akurasi dan Presisi	57
8. <i>Certificate Of Analysis</i>	58
9. Tabel r	59
10. Pengaruh pH dengan % Terionisasi Glibenklamid	60