

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis pada homeostasis glukosa yang ditandai dengan beberapa hal yaitu, meningkatnya kadar gula darah, kelainan kerja insulin, sekresi insulin dari pankreas yang abnormal dan meningkatnya produksi glukosa oleh hepar, akibatnya terjadi peningkatan konsentrasi gula dalam darah atau sering disebut dengan hiperglikemia (Fatimah, 2015). Diabetes melitus terdiri dari dua tipe yaitu diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Diabetes tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin sehingga menyebabkan gangguan metabolisme glukosa dalam tubuh. Diabetes tipe 2 disebabkan penggunaan insulin yang kurang efektif oleh tubuh (Pulungan & Herqutanto, 2009). Pada umumnya penderita diabetes melitus tipe 1 muncul pada usia < 40 tahun dan penderita diabetes melitus tipe dua muncul pada usia > 40 tahun (Anonim, 2005).

Pada tahun 2012 menurut *International Diabetes Federation* (IDF), prevalensi angka kejadian diabetes melitus di dunia sebanyak 371 juta jiwa, dimana penderita diabetes melitus tipe 2 sebanyak 95% dari populasi dunia dan diabetes melitus tipe 1 sebanyak 5% dari populasi dunia. Menurut laporan dari badan kesehatan dunia atau *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2000-2030 penderita diabetes melitus di Indonesia akan terus meningkat yaitu dari 8,426 juta jiwa hingga 21,257 juta jiwa. Dalam studinya tersebut dikatakan bahwa

Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dunia yang menderita penyakit diabetes melitus (WHO, 2013). Peningkatan penderita diabetes melitus tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, usia, obesitas, hipertensi, keturunan, pola makan dan gaya hidup (Fatimah, 2015).

Obat-obatan yang dapat digunakan untuk penyakit diabetes melitus antara lain insulin, glibenklamid, repaglinide, metformin, rosiglitazone, dan acarbose. Pemberian insulin dikhususkan untuk penderita diabetes tipe 1 dan obat-obatan seperti glibenklamid, repaglinide, metformin, rosiglitazone, dan acarbose diutamakan untuk penderita diabetes tipe 2. Glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea yang merupakan obat hipoglikemik oral sebagai obat pilihan (*drug of choice*) untuk penderita diabetes dewasa baru dengan berat badan normal dan tidak pernah mengalami ketosidosis sebelumnya. Glibenklamid memiliki efek hipoglikemik yang poten, dimetabolisme dalam hati, 25% metabolit disekresi melalui ginjal sebagian besar disekresi melalui empedu dan dikeluarkan bersama tinja. Glibenklamid efektif dengan pemberian dosis tunggal dan akan keluar dari serum setelah 36 jam (Anonim, 2005).

Glibenklamid merupakan obat wajib uji bioekivalensi yang telah dicantumkan dalam Peraturan Kepala BPOM RI Nomor HK.03.1.23.12.11.10217 tahun 2011 tentang obat wajib uji bioekivalensi. Tujuan klinis pengujian bioavailabilitas dan bioekivalensi suatu obat adalah untuk menentukan keamanan suatu obat selama penggunaannya terutama dalam penggunaan jangka waktu lama dan menjamin ketersediaan hayati obat (Shargel, 2005). Uji bioavailabilitas dan bioekivalensi dilakukan dengan uji secara *in vitro* dan *in vivo*. Hasil dari studi *in vitro* dan *in vivo* akan ditentukan

korelasinya yaitu dengan menetapkan suatu hubungan antara sifat biologis obat seperti efek farmakodinamika atau konsentrasi obat dalam plasma dengan sifat fisikokimia produk obat yang mengandung bahan aktif seperti laju pelarutan bahan aktif dalam obat (Shargel, 2005).

Modh *et al.*(2012), melakukan penentuan kadar glibenklamid dalam nanoemulsi menggunakan metode KCKT. Fase diam yang digunakan adalah Gemini 5 $\mu$  C18 110A 100  $\times$  4.60mm, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah asetonitril : air (70:30, v/v) di adjust pH 3,4 menggunakan asam sulfat. Hasil yang diperoleh menunjukkan waktu retensi glibenklamid adalah 3,2 menit dalam laju alir 1,0 ml/menit dengan pengamatan pada panjang gelombang 228 nm. Metode yang digunakan memiliki batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) masing-masing 0,2  $\mu$ g/ml dan 0,8  $\mu$ g/ml.

Tengli *et al.*(2013), melakukan penelitian analisis simultan sediaan tablet metformin hidroklorida, pioglitazone hidroksida dan glibenklamid menggunakan KCKT. Fase diam yang digunakan C18 25cm x 4,6 mm, dengan fase gerak asetonitril : air (60:40, v/v) yang di adjust pH 3,0 dengan 5% asam ortofosfat. Waktu retensi glibenklamid adalah 6,48 menit dalam laju alir 1,0 ml/menit, pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 230 nm. Metode yang digunakan memiliki LOD dan LOQ masing-masing 8,2 ng/ml dan 24,84 ng/ml.

Ahmad *et al.*(2014), melakukan pengembangan validasi glibenklamid dan thymoquinon secara simultan dalam plasma tikus menggunakan metode KCKT. Fase diam yang digunakan C18 250 mm x 4,6 mm, dengan fase gerak metanol : asetonitril : buffer fosfat (50:20:30) yang di adjust pH 4,5 dengan asam ortofosfor. Waktu retensi glibenklamid adalah 22 menit dalam laju alir 1,5 ml/menit, pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 254 nm. Metode yang

digunakan memiliki LOD dan LOQ masing-masing 0,1 µg/ml dan 0,3 µg/ml.

Rashid *et al.* (2014), melakukan studi farmakokinetik metformin dan glibenklamid pada manusia normal menggunakan metode KCKT. Fase diam yang digunakan C18 250 mm x 4,6 mm, dengan fase gerak potassium hydrogen fosfat 0,040 M pH 3,5 : asetonitril (465:535). Waktu retensi glibenklamid 20 menit dalam laju alir 1,0 ml/menit, pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 230 nm. Dari metode yang digunakan didapatkan konsentrasi maksimal glibenklamid dalam plasma  $131,856 \pm 8,050$  ng/mL.

Penelitian glibenklamid dalam plasma darah manusia sudah pernah dilakukan oleh Yusuf and Hammami (2009), yaitu melakukan validasi glibenklamid dalam plasma manusia menggunakan metode KCKT. Fase diam yang digunakan C18 4,6 nm x 250nm dengan fase gerak ammonium fosfat pH 5,5 dan asetonitril (1:1, v/v). Glibenklamid dalam plasma didiamkan selama 24 jam dan 48 jam pada suhu kamar sebelum diekstraksi untuk melihat kestabilan glibenklamid dalam plasma. Setelah didiamkan selama 24 dan 48 jam plasma tersebut diekstraksi menggunakan larutan campuran diklorometana : heksana 1:1 (v/v) sebanyak 5 mL, lalu dikeringkan pada suhu kamar dengan mengalirkan nitrogen. Untuk pengamatan glibenklamid digunakan internal standart yaitu ketokonazol. Pada konsentrasi 0,03 µg/ml diperoleh % *recovery*  $97,9\% \pm 6,1$  dengan % KV 5,9 dalam laju alir 1,0 mL/menit dengan waktu retensi 19 menit, pengamatan pada panjang gelombang 235 nm dan 354 nm. Metode yang digunakan memiliki LOD dan LOQ masing-masing 0,01 µg/ml dan 0,60 µg/ml. Dari hasil penelitian tersebut dikatakan bahwa glibenklamid tetap stabil dalam plasma selama 24 jam.

Jika ditinjau dari penelitian Yusuf dan Hammami (2009), nampak bahwa waktu retensi glibenklamid cukup lama (19 menit) dan keterulangan kurang baik dilihat dari harga % KV adalah 5,9 %. Karenanya dalam penelitian ini dikembangkan metode valid agar waktu retensi kurang dari 19 menit dengan keterulangan yang lebih baik (kurang dari 5,9 %). Disisi lain juga dikembangkan metode ekstraksi dengan menggunakan pengendap protein campuran larutan asetonitril : metanol (2:1, v/v) yang lebih ramah lingkungan jika dibandingkan dengan diklorometana : heksana (1:1, v/v). Penguapan pelarut atau pengeringan residu di *waterbath* dengan asumsi bahwa glibenklamid tahan terhadap pemanasan (titik lebur glibenklamid 172<sup>0</sup>-174<sup>0</sup> C) (Sweetman,2009). Fase gerak yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah (1) asetonitril : air (60:40, v/v); (2) asetonitril : air (70:30, v/v); (3) dapar fosfat 0,04 M : asetonitril (46:54, v/v) masing-masing fase gerak di adjust pH 3,5 dengan asam fosfat. Diharapkan dari antara 3 fase gerak yang digunakan dapat memisahkan glibenklamid dari plasma darah manusia dan memberi hasil waktu retensi yang cepat serta memiliki nilai perolehan kembali dengan keterulangan yang baik.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah metode kromatografi cair kinerja tinggi yang dikembangkan dapat digunakan untuk penetapan kadar glibenklamid secara *in vitro* dalam plasma darah manusia.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Melakukan pengembangan metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk penetapan kadar glibenklamid secara *in vitro* dalam plasma darah manusia.

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

Metode kromatografi cair kinerja tinggi yang dikembangkan dapat digunakan sebagai metode penetapan kadar glibenklamid secara *in vitro* dalam plasma darah manusia.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk:

- Sebagai metode yang valid untuk metode penetapan kadar glibenklamid secara *in vitro* dalam plasma darah manusia secara kromatografi cair kinerja tinggi.
- Sebagai acuan untuk melakukan analisis obat dibidang farmakokinetik dalam penentuan bioavailabilitas dan bioekuivalensi obat.