

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Gunawan (2014) yang mengidentifikasi glibenklamida pada jamu diabetes bentuk serbuk menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan bahan kimia obat glibenklamida dalam sampel jamu diabetes yang beredar di toko jamu di Medan. Hasilnya menunjukkan dari keempat sampel jamu yang digunakan, semuanya tidak mengandung glibenklamida. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bahwa jamu diabetes bentuk serbuk yang beredar memenuhi persyaratan.

Hal serupa dilakukan oleh Jayanti *et al.* (2015) yang melakukan uji kualitatif glibenklamida dalam sediaan jamu diabetes yang bertujuan untuk mengetahui adanya bahan kimia obat glibenklamida dalam jamu diabetes yang beredar di Bandung. Diperoleh hasil dari 10 sampel jamu diabetes yang diuji dengan menggunakan tiga kombinasi pelarut yang berbeda, terdapat dua sampel yang positif mengandung glibenklamida.

Sultana *et al.* (2013) mengidentifikasi glibenklamida dalam sediaan tablet dan plasma menggunakan KCKT fase terbalik. Fase diam yang digunakan berupa kolom C₁₈ yang berukuran 150 x 4,6 mm dan fase gerak yang digunakan adalah metanol dan air (80:20). Kecepatan alir yang digunakan adalah 0,90 mL/menit. Diperoleh regresi linear yang baik dengan nilai $r = 0,99$ serta pada LOD dan LOQ diperoleh nilai 0,0154 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,06 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh ICH *guidelines*. Berdasarkan dari penelitian tersebut, KCKT mampu mengidentifikasi glibenklamida dengan baik.

B. Landasan Teori

1. Jamu

Delima *et al.* (2012) menyatakan bahwa penggunaan obat tradisional masih sangat luas di Indonesia. Obat tradisional di Indonesia dibagi menjadi tiga yaitu jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT) dan fitofarmaka. Menurut Permenkes No. 003/Menkes/Per/I/2010 tentang saintifikasi jamu, definisi jamu adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik, atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.



Gambar 2.1 Logo Jamu (BPOM, 2004)

Menurut regulasi BPOM RI: Hk.00.5.4.2411 tahun 2004 jamu harus memenuhi persyaratan mutu antara lain:

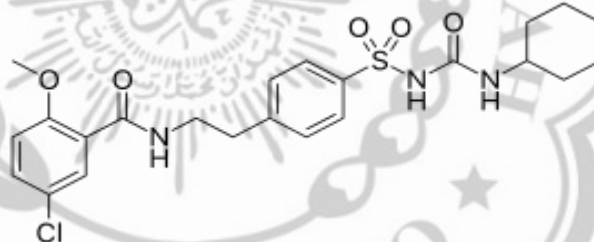
- a. Aman sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan
- b. Klaim khasiat dibuktikan berdasarkan data empiris
- c. Memenuhi persyaratan mutu yang berlaku

Obat bahan alam tidak hanya diproduksi oleh Industri Obat Tradisional (IOT) tetapi juga oleh Industri Kecil Obat Tradisional (IKOT). Setiap industri yang memproduksi obat bahan alam termasuk jamu mempunyai persyaratan yang sama yaitu aman digunakan, berkhasiat, dan memiliki mutu sesuai standar. Standardisasi yang harus dipenuhi adalah standar tentang keamanan dan mutu produk. Proses pembuatannya juga harus sesuai dengan ketentuan Cara Pembuatan Obat

yang Baik (CPOTB). CPOTB wajib digunakan oleh semua produsen obat tradisional (Badan POM, 2005)

Jamu masih menjadi pilihan dalam pengobatan di Indonesia. Hal itu disebabkan karena jamu memiliki banyak manfaat seperti harga yang relatif murah, dapat dijangkau setiap lapisan masyarakat, tersedia dan mudah didapat, kandungan kimia dalam formulasinya lebih ringan dibandingkan obat sintetis, dan dapat dikonsumsi sehari-hari. Namun, jamu juga memiliki kekurangan yaitu efek terapeutik yang tidak spontan, belum ada standarisasi yang baku terhadap jamu dalam segi keamanan produk dan kurangnya penelitian terkait penggunaan jamu yang tepat. Oleh karena itu, masyarakat harus memahami penggunaan jamu yang baik.

2. Glibenklamida



Gambar 2.2 Struktur glibenklamida (Depkes RI, 1995)

Glibenklamida memiliki nama lain 1-[4-[2-(5-kloro-2-metoksibenzamido)etil]benzenasulfonil]-3-sikloheksilurea. Glibenklamida memiliki rumus molekul $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ dengan berat molekul sebesar 494,0 gram/mol. Pemerian glibenklamida yaitu serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, praktis tidak larut dalam air dan dalam eter, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes RI, 1995)

Glibenklamida sering disebut dengan nama dagang *glyburide*. Glibenklamida merupakan obat golongan sulfonilurea generasi II yang

digunakan sebagai antidiabetik oral. Sulfonilurea generasi II umumnya berpotensi hipoglikemiknya hampir 100 kali lebih besar dari generasi I. Golongan obat ini memiliki waktu paruh yang pendek hanya sekitar 3-5 jam dan mengakibatkan efek hipoglikemik yang panjang (Suherman *et al.*, 2007).

Glibenklamida memiliki rantang dosis 5 mg sampai 20 mg perhari. Glibenklamida dapat menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Hal tersebut dapat dilihat dari mekanisme kerjanya yaitu dengan merangsang dan meningkatkan sekresi insulin di kelenjar pankreas (Akash *et al.*, 2013) sehingga lebih efektif digunakan pada penderita diabetes yang sel β pankreasnya masih berfungsi dengan baik (Binfar, 2005).

3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) juga biasa disebut sebagai *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada beberapa bidang, antara lain farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri makanan. Kegunaan umum dari KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa yang tidak menguap, penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun *zwitter ion*, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama, pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah seklumit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan memiliki kepekaan yang baik dalam analisis kualitatif maupun kuantitatif. KCKT paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat, zat aktif obat atau produk degradasi dalam sediaan farmasi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hampir semua jenis campuran solut dapat dipisahkan dengan KCKT. KCKT dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu kromatografi adsorpsi, partisi, pertukaran ion dan berdasarkan eksklusi ukuran. Pada kromatografi adsorpsi umumnya menggunakan fase normal dengan menggunakan fase diam berupa silika gel dan alumina. Di dalam silika gel dan alumina terdapat gugus hidroksi yang akan berinteraksi dengan solut. Pada kromatografi partisi umumnya menggunakan fase diam berupa silika yang telah dimodifikasi secara kimia contohnya adalah oktadesilsilan (ODS). Pada kromatografi penukar ion, menggunakan fase diam yang dapat menukar ion dengan suatu fase gerak, umumnya pemisahan ini dilakukan dengan menggunakan media air karena faktor ionisasinya. Pada kromatografi eksklusi ukuran umumnya menggunakan fase diam berupa silika atau polimer yang bersifat porus sehingga solut akan melewati porus tersebut. Pemisahan jenis ini dapat digunakan pada senyawa dengan berat molekul yang tinggi yaitu > 2000 dalton (Gandjar dan Rohman, 2007).

Macam-macam KCKT berdasarkan kepolaran dari fase gerak dan fase diam, yaitu:

1. Fase Normal

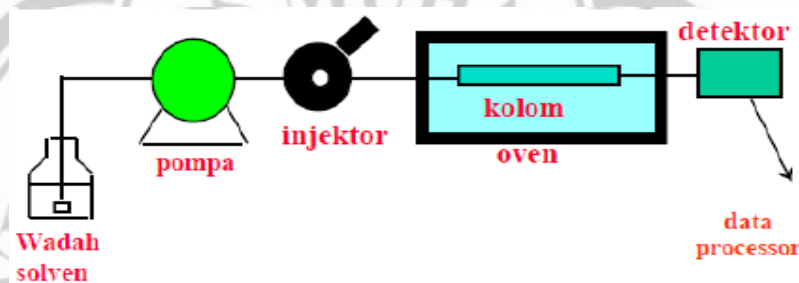
Pada fase normal menggunakan fase diam yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar. Senyawa polar akan tertahan lebih lama dalam fase diam dibandingkan dengan senyawa non polar. Sehingga senyawa non polar akan lebih mudah terbawa oleh fase gerak dan keluar lebih cepat. Fase diam yang digunakan umumnya mengandung gugus siano, diol atau amino.

2. Fase Terbalik

Pada fase terbalik menggunakan fase diam yang bersifat non polar dan fase gerak yang bersifat polar. Senyawa non polar akan tertahan lebih lama dalam fase diam dibandingkan dengan senyawa polar. Sehingga senyawa polar akan lebih mudah terbawa oleh fase

gerak dan keluar lebih cepat. Fase diam yang digunakan umumnya mengandung gugus n-oktil (C8) atau n-oktildesil (C18).

Wang *et al* (2011) menyatakan bahwa KCKT memiliki komponen yang sistematis. Komponen KCKT secara umum yaitu reservoir untuk fase gerak, pompa, injektor, kolom, detektor, sistem pengolah data, termostat untuk kolom dan detektor (Kanstasubrata, 2004). Penjelasan mengenai beberapa komponen pokok dalam KCKT adalah sebagai berikut :



Gambar 2.3. Diagram Blok sistem KCKT
(Sumber : Putra, 2008)

1. Wadah Fase Gerak

Syarat dari wadah fase gerak yaitu lembam atau *inert*. Wadah ini umumnya dapat menampung satu hingga dua liter pelarut. Pada saat membuat pelarut sebagai fase gerak disarankan untuk memilih zat dengan derajat kemurnian yang tinggi dan diutamakan menggunakan zat dengan derajat HPLC *grade*. Adanya pengotor atau partikel yang kecil dapat mengganggu sistem kromatografi. Oleh sebab itu, fase gerak harus disaring sebelum digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

2. Pompa

Syarat pompa yang digunakan pada KCKT yaitu harus *inert* terhadap fase gerak. Umumnya bahan yang digunakan berupa gelas, baja, teflon dan batu nilam. Pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 mL/menit. Pompa pada

KCKT diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu pompa dengan tekanan konstan dan pompa dengan aliran konstan (Gandjar dan Rohman, 2007).

3. Alat penyuntikan sampel

Alat yang digunakan untuk menyuntikkan sampel biasanya berupa injeksi. Bahan yang digunakan umumnya terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel internal atau eksternal. Pada saat akan melakukan proses injeksi, katup dibuka sehingga fase gerak mampu mengalir melewati keluk sampel dan menuju kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

4. Kolom

Kolom pada KCKT disebut juga dengan fase diam. Fase diam yang digunakan biasanya berupa silika yang telah dimodifikasi, silika tanpa modifikasi, polimer sitren dan divinil benzen. Kolom yang digunakan menyesuaikan dengan sifat kepolaran fase gerak dan metode yang digunakan. Kolom yang digunakan pada KCKT umumnya memiliki panjang 5 – 25 cm dengan diameter bagian dalam sebesar 4,6 mm, ukuran partikel 5 μm dan mengandung 40.000 – 70.000 plat/meter (Skoog *et al.*, 2007).

5. Oven

Oven merupakan komponen untuk mengatur temperatur kolom. Pada beberapa pengujian tertentu menggunakan KCKT sistem terbalik, temperatur kolom berperan dalam menentukan waktu retensi dan mempengaruhi selektivitas. Temperatur yang digunakan dalam analisis umumnya berkisar antara 30-50 °C penggunaan suhu lebih dari 60 °C berpengaruh pada stabilitas analit dan masa kerja kolom (Ahuja dan Dong, 2005).

6. Detektor

Detektor pada KCKT digolongkan menjadi dua, yaitu detektor universal dan detektor spesifik. Detektor universal mampu mendeteksi zat secara umum, tidak spesifik, dan tidak selektif. Contoh detektor jenis ini adalah detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa. Sedangkan golongan detektor spesifik hanya mendeteksi zat secara spesifik dan selektif. Contoh detektor jenis ini adalah detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia (Gandjar dan Rohman, 2007).

4. Validasi Metode

Validasi merupakan suatu proses pembuktian bahwa suatu metode dapat memberikan hasil yang konsisten sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Menurut *United State Pharmacope* (USP), validasi metode bertujuan untuk mengetahui dan menjamin bahwa suatu metode analisis bersifat akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan terhadap rentang analit yang digunakan. Menurut Gandjar dan Rohman (2007), terdapat delapan proses validasi metode yaitu presisi, akurasi, batas deteksi (*Limit of Detection* atau LOD), batas kuantifikasi (*Limit of Quantitation* atau LOQ), spesifisitas, linearitas, kekasaran, dan ketahanan.

1. Akurasi

Akurasi atau ketepatan merupakan ketelitian suatu metode analisis dibuktikan dengan kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima. Pada pengujian senyawa obat, nilai akurasi diperoleh dari perbandingan antara hasil dan bahan baku pembanding. Akurasi dianjurkan dilakukan dengan tiga konsentrasi yang berbeda dan masing-masing direplikasi tiga kali.

2. Presisi

Presisi atau ketelitian merupakan nilai perulangan dari suatu metode analisis. Biasanya direpresentasikan sebagai simpangan baku relatif atau *Relative Standard Deviation* (RSD) dari beberapa sampel

yang signifikan secara statistik. Presisi mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif, koefisien variasi, dan kisaran kepercayaan.

3. *Limit of Detection* (LOD)

Limit of Detection (LOD) merupakan batas konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih bisa dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dihitung. LOD digunakan untuk mengetahui secara spesifik analit yang digunakan berada di atas atau di bawah nilai tertentu.

4. *Limit of Quantitation* (LOQ)

Limit of Quantitation (LOQ) merupakan batas konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih bisa ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.

5. Spesifitas

Spesifitas merupakan uji untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam satuan sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks.

6. Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam kisaran tertentu. Linearitas digunakan untuk menunjukkan seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x).

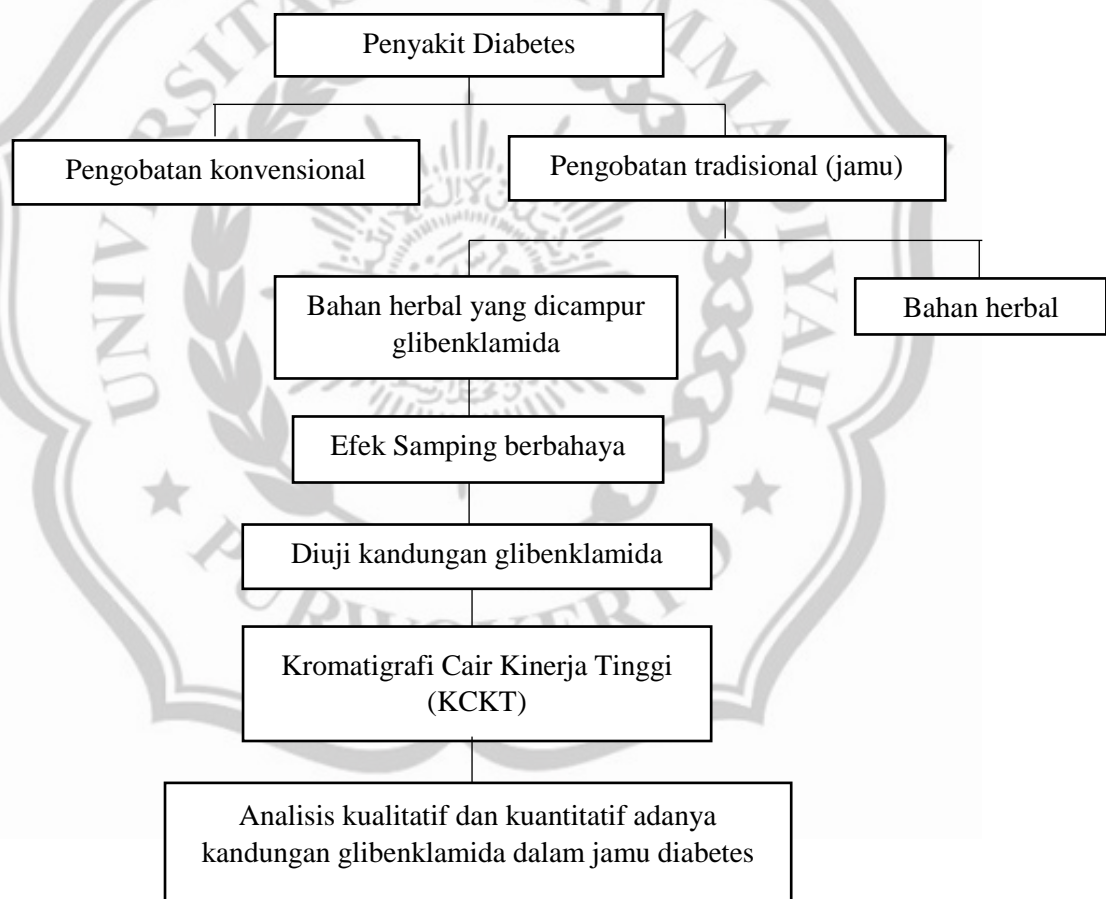
7. Kekasaran

Kekasaran merupakan tingkat reproduibilitas hasil yang diperoleh dibawah kondisi yang bermacam-macam yang diekspresikan sebagai persen dari *Relative Standard Deviation* (%RSD). Strategi untuk menilai kekasaran sangat variatif tergantung dari kompleksibilitas metode dan waktu untuk melakukan validasi.

8. Ketahanan

Ketahanan adalah kapasitas metode untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Ketahanan dievaluasi dengan melakukan beberapa variasi parameter seperti presentasi pelarut organik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya. Variasi parameter dilakukan secara sistematis kemudian mengukur pengaruhnya terhadap pemisahan.

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka konsep penelitian.

D. Hipotesis

1. KCKT mampu mendeteksi glibenklamida dalam jamu diabetes.
2. Beberapa sediaan jamu diabetes yang beredar di toko jamu di Purwokerto mengandung BKO glibenklamida.