

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees telah digunakan sebagai obat tradisional di negara-negara Asia, terutama Tiongkok, India, Vietnam, Malaysia, dan Indonesia. *Andrographolide*, senyawa terpenoid utama dari ekstrak tanaman herba ini mengandung senyawa aktif dengan berbagai aktivitas biologis sebagai antitumor, antibakteri, antiinflamasi, dan aktivitas hipoglikemik, serta bertanggung jawab terhadap berbagai penyakit, termasuk flu, pilek, demam, diabetes, hipertensi, dan kanker. *Andrographolide* juga dilaporkan memiliki aktivitas antivirus dan menarik banyak perhatian karena potensi pengobatannya terhadap beberapa infeksi virus, termasuk SARS-CoV-2 (Adiguna *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Penggunaan *Andrographolide* dalam pengobatan herbal semakin diminati karena efek farmakologisnya yang luas, sehingga permintaan produk dengan formulasi berbasis *Andrographis paniculata* sangat meningkat dalam beberapa tahun terakhir (Li *et al.*, 2023 & Sharma *et al.*, 2024).

Kualitas produk herbal, seperti *Andrographis paniculata*, sering kali dipengaruhi oleh variabilitas kadar *Andrographolide*, yang dapat disebabkan oleh faktor lokasi, musim, kondisi lingkungan, dan waktu panen (Hossain *et al.*, 2014). Variasi ini dapat menimbulkan tantangan dalam penjaminan mutu dan efektivitas produk, khususnya dalam bentuk sediaan herbal yang dipasarkan secara luas. Metode analisis yang andal dan konsisten diperlukan untuk memastikan kandungan *Andrographolide* pada produk berbasis Sambiloto sesuai dengan standar, dalam konteks ini, Farmakope Herbal Indonesia telah menetapkan bahwa ekstrak kental *Andrographis paniculata* mengandung *Andrographolide* minimal 3,80% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017), sehingga metode analisis kuantitatif yang akurat sangat diperlukan untuk memenuhi standar tersebut.

Salah satu metode yang umum digunakan dalam kuantifikasi senyawa *Andrographolide* dalam sediaan herbal adalah spektrofotometri UV-Vis. Metode ini

dipilih karena kemudahan dalam pelaksanaannya, biaya yang lebih rendah, dan efisiensi dalam analisis sampel dengan waktu yang lebih singkat. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur jumlah absorbansi cahaya oleh senyawa dari ekstrak *Andrographis paniculata* pada panjang gelombang tertentu. Rentang panjang gelombang yang digunakan adalah antara 200 hingga 800 nm, karena sebagian besar senyawa tanaman biasanya berada di wilayah ini. Spektrum serapan UV-Vis yang terdeteksi dalam *Andrographis paniculata* ditemukan bahwa serapan yang diamati pada sekitar 227 nm menunjukkan adanya senyawa *Andrographolide* (Sajeeb *et al.*, 2015).

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengembangkan metode standar eksternal untuk kuantifikasi senyawa tanaman menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai contoh, penelitian yang dilakukan oleh Hairunisa *et al.*, (2019) dalam mendeteksi dan kuantifikasi *Andrographolide* menggunakan analisis spektrofotometri UV-vis standar eksternal. Validasi dilakukan dengan menentukan parameter seperti linearitas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ. Hasil yang diperoleh menunjukkan metode ini cocok untuk mendeteksi kandungan *Andrographolide* dalam sediaan nano herbal. Spektrofotometer UV-Vis memiliki potensi untuk digunakan dalam aplikasi industri farmasi, akan tetapi menurut penelitian oleh Suzery *et al.*, (2019) menunjukkan pendekatan standar eksternal memiliki keterbatasan terutama dalam matriks yang kompleks, karena pengaruh dari komponen lain dalam sampel yang menyerap pada panjang gelombang yang sama dapat memengaruhi hasil pengukuran. Mengatasi hal ini, De Oliveira *et al.*, (2010) menyarankan penggunaan standar internal, yang dapat meningkatkan akurasi hasil dengan menambahkan senyawa pembanding, seperti dibenzil eter, yang memiliki stabilitas dan ketepatan tinggi dalam lingkungan matriks kompleks. Hal ini karena sumber ketidakpastian berasal dari faktor koreksi bias yang signifikan dalam penggunaan metode standar eksternal. Pendekatan ini menunjukkan bahwa standarisasi internal mengoreksi faktor koreksi bias yang merupakan sumber ketidakpastian secara lebih efektif.

Metode HPLC fase terbalik (RP-HPLC) telah lama diakui sebagai teknik kuantitatif yang akurat dan terpercaya untuk analisis kuantitatif kandungan

Andrographolide dalam sampel tanaman dan standardisasi sediaan pasarnya. HPLC merupakan instrumentasi yang lebih unggul karena menggunakan prinsip pemisahan senyawa, sehingga memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi *Andrographolide* dengan hasil yang presisi. Meskipun memiliki keunggulan dalam hal akurasi, metode HPLC memiliki beberapa keterbatasan, seperti perlunya pendekatan *trial and error*, di mana parameter kromatografi divariasikan secara berurutan selama pengujian hingga diperoleh resolusi kromatografi terbaik. Pendekatan ini meningkatkan jumlah percobaan karena parameter-parameter ini mempengaruhi hasil pemisahan analit, yang tidak diidentifikasi berdasarkan pengetahuan dan pengalaman analis. Banyaknya jumlah percobaan akan memakan waktu terutama untuk memeriksa parameter operasi metode yang mungkin kurang relevan dengan hasil pemisahan. Parameter ini dapat berupa pemilihan fase gerak yang sangat beragam, komposisi fase gerak, dan temperatur kolom yang sesuai (Peraman *et al.*, 2015; Gaudin and Ferey, 2016; Parr and Schmidt, 2018; Sahu *et al.*, 2018).

Alternatif yang efisien, yaitu teknik spektroskopi Resonansi Magnet Inti (NMR), semakin banyak digunakan dalam analisis kuantitatif *Andrographolide*, khususnya metode ^1H -NMR. Metode ^1H -NMR memiliki keunggulan dalam hal kecepatan analisis dan sifat nondestruktifnya. ^1H -NMR menyediakan informasi terkait struktur senyawa dan intensitas sinyal yang proporsional dengan jumlah inti yang berkontribusi dalam analisis kuantitatif. Intensitas sinyal proton dari senyawa target dapat dihitung secara kuantitatif dengan membandingkannya terhadap standar internal yang ditambahkan, seperti dibenzil eter, sehingga tidak memerlukan referensi eksternal (Pauli *et al.*, 2012 & Schoenberger, 2012). Penelitian oleh Yang *et al.*, (2012) dengan standar internal 4-methoxy-6-methyl-2H-pyran-2-one ($\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$) berhasil dikembangkan untuk mendapatkan sinyal individu yang menawarkan opsi untuk menyelesaikan sinyal yang tumpang tindih untuk qHNMR. Penelitian lain oleh Sriramaneni *et al.*, (2019) menggunakan ^1H -NMR dan *tetramethylsilane* sebagai standar internal, hasilnya berkorelasi baik dengan yang ditentukan dengan metode HPLC. Kedua penelitian ini berhasil menunjukkan bahwa penggunaan ^1H -NMR dengan standar internal memungkinkan

untuk analisis kuantitatif senyawa *Andrographolide* tanpa perlu standar eksternal yang identik dan mahal.

Penelitian ini selanjutnya bertujuan mendukung perkembangan terbaru dalam penggunaan standar internal pada qNMR, seperti yang diuraikan oleh Choi *et al.*, (2021), yang menunjukkan potensi dibenzil eter sebagai standar internal untuk analisis kuantitatif yang belum pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Dibenzil eter dipilih sebagai standar internal karena sifatnya yang stabil, memiliki sinyal proton yang tajam dan tidak tumpang tindih dengan sinyal *Andrographolide*, kelarutan yang baik, dan ketersediaan komersial yang lebih luas, menjadikannya pilihan yang praktis dan murah untuk penelitian ini. Penelitian ini juga mengevaluasi kandungan *Andrographolide* pada sediaan herbal *Andrographis paniculata* menggunakan spektrofotometri UV-Vis berbasis standar eksternal dan internal (dibenzil eter sebagai standar internal). Hasil kuantifikasi dari metode ini kemudian dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari metode HPLC dan ^1H -NMR, untuk menilai efektivitas masing-masing metode. Pendekatan ini diharapkan dapat menyediakan metode kuantifikasi yang lebih praktis dan ekonomis, serta memberikan kontribusi dalam standardisasi produk herbal berbasis *Andrographis paniculata*, yang dapat mendukung industri herbal dalam memenuhi standar mutu nasional maupun internasional.

I.2. Rumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab beberapa permasalahan seperti:

- a. Bagaimana hasil kuantifikasi *Andrographolide* pada sediaan herbal *Andrographis paniculata* menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan pendekatan standar eksternal dan internal?
- b. Bagaimana perbandingan hasil kuantifikasi *Andrographolide* dalam sediaan herbal *Andrographis paniculata* antara metode spektrofotometri UV-Vis, HPLC, dan ^1H -NMR?
- c. Apakah dibenzil eter sebagai standar internal dalam metode ^1H -NMR efektif digunakan dalam kuantifikasi *Andrographolide* dan bagaimana perbandingannya dengan metode HPLC?

I.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tujuan, yaitu untuk:

- a. Menentukan kandungan senyawa *Andrographolide* dalam *Andrographis paniculata* (produk sediaan herbal) menggunakan metode UV-Vis, HPLC, dan $^1\text{H-NMR}$.
- b. Mengetahui perbandingan hasil kuantifikasi kandungan senyawa *Andrographolide* dalam produk sediaan herbal *Andrographis paniculata* menggunakan UV-Vis, HPLC, dan $^1\text{H-NMR}$ untuk mengevaluasi perbedaan hasil yang mungkin timbul di antara ketiga metode tersebut.
- c. Mengevaluasi efektivitas dibenzil eter sebagai standar internal dalam metode $^1\text{H-NMR}$ untuk analisis *Andrographolide* dalam sediaan herbal dibandingkan dengan hasil metode HPLC.

I.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai berikut:

- a. Bagi Industri Herbal, diharapkan dapat menyediakan metode analisis yang efisien dan akurat untuk kuantifikasi *Andrographolide* pada produk berbasis *Andrographis paniculata*, yang dapat diterapkan dalam standardisasi produk herbal dengan biaya yang lebih terjangkau.
- b. Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan, memberikan bukti empiris mengenai efektivitas dibenzil eter sebagai standar internal untuk kuantifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan $^1\text{H-NMR}$, yang dapat menjadi dasar untuk pengembangan metode baru dalam analisis senyawa aktif herbal.
- c. Bagi Konsumen, meningkatkan kepercayaan konsumen terhadap produk berbasis *Andrographis paniculata* dengan standar mutu yang lebih terjamin, sehingga produk-produk ini dapat digunakan dengan keyakinan akan kandungan bahan aktifnya yang sesuai.