



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE ANALISIS
GLIPIZIDA DALAM *DRIED BLOOD SPOT* MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI UNTUK
KETAHANAN KESEHATAN NASIONAL**

ALIQBAL RAJIB ARJUNA NOHEA 320200201003

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

FAKULTAS FARMASI MILITER

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

BOGOR, 2024

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Aliqbal Rajib Arjuna Nohea
NIM : 320200201003
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Skripsi : Pengembangan dan Validasi Metode Analisis
Glipizida dalam *Dried Blood Spot*
Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
untuk Ketahanan Kesehatan Nasional

Dosen Pembimbing 2,

Dosen Pembimbing 1,


Prof. Dr. apt. Yandiana Harahap, M.S.
Pembina Utama IV/e
NIP. 196409121990032003
Tanggal: 26 Juni 2024


Okta Nursanti, S.Farm., M.S.Farm.
Penata Muda Tk I III/b
NIP. 199010032022032001
Tanggal: 29 Juni 2024

Mengetahui,

Kepala Program Studi
Sarjana Farmasi

Dekan
Fakultas Farmasi Militer


apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han.
Letnan Kolonel Kes
NRP. 527126
Tanggal: 25 Juni 2024


Prof. Dr. apt. Yandiana Harahap, M.S.
Pembina Utama IV/e
NIP. 196409121990032003
Tanggal: 26 Juni 2024

LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI

Nama : Aliqbal Rajib Arjuna Nohea
 NIM : 320200201003
 Program Studi : Sarjana Farmasi
 Fakultas : Farmasi Militer
 Judul Skripsi : Pengembangan dan Validasi Metode Analisis
 Glipizida dalam *Dried Blood Spot*
 Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
 untuk Ketahanan Kesehatan Nasional

No.	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing 1: Okta Nursanti, S.Farm., M.S.Farm. Penata Muda Tk. I III/b NIP.199010032022032001		29/7 2024
2.	Dosen Pembimbing 2: Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, M.S. Pembina Utama IV/e NIP. 196409121990032003		26/7 2024
3.	Ketua Sidang Skripsi: apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han. Letnan Kolonel Kes NRP. 527126		25/7 2024
4.	Dosen Penguji 2: Tesia Aisyah Rahmania, S.Si., M.Pharm.Sci. NIDN. 4704019401		25/7 2024
5.	Dosen Penguji 3: apt. Muhammad Ikhsan, M.Farm. NIDK. 8947370023		29/7 2024

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan Saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, Saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/ undang-undang yang berlaku.

Bogor, Juli 2024



Aliqbal Rajib Arjuna Nohea

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aliqbal Rajib Arjuna Nohea
NIM : 32020020100
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Jenis Karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Glipizida Dalam *Dried Blood Spot* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Ketahanan Kesehatan Nasional

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 27 Juni 2024
Yang menyatakan



Aliqbal Rajib Arjuna Nohea
NIM. 320200201003

KATA PENGANTAR

Kami berterima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul: "Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Glipizida dalam Dried Blood Spot Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Ketahanan Kesehatan Nasional".

Penulis menerima banyak dukungan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini, yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan RI. Terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Letnan Jenderal TNI Jonni Mahroza, S.I.P., M.A., M.Sc., CIQnR., CIQaR., Ph.D., selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
2. Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, MS, sebagai Dekan Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia, sekaligus sebagai Dosen Pembimbing 2 dan Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, arahan, serta dukungan sepanjang proses penelitian.
3. Kolonel Kes Drs. apt. Nur Abdul Goni, M.Si, sebagai Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia atas dukungan selama proses penyusunan skripsi.
4. Laksma TNI Dr. apt. Widyati, M.Clin Pharm, sebagai Wakil Dekan II Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia, yang memberikan arahan dan masukan selama proses penyusunan skripsi.
5. Letnan Kolonel Kes apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han. sebagai Kepala Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Militer UNHAN sekaligus sebagai Ketua Sidang Skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, saran, kritik dan masukan.

6. Okta Nursanti, S.Farm., M.S.Farm., sebagai Dosen Pembimbing 1 yang senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, arahan, serta dukungan sepanjang proses penelitian.
7. Diah Utami Wulandari S.Si., sebagai laboran lab Bioanalisis dan Bioekivalens Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, arahan, serta dukungan sepanjang proses penelitian.
8. Tesia Aisyah Rahmania, S.Si., M.Pharm.Sci., sebagai Dosen Penguji 2 yang telah meluangkan waktu serta memberikan ilmu, saran, kritik dan masukan.
9. apt. Muhammad Ikhsan, M.Farm., sebagai Dosen Penguji 3 atas keluargan waktu untuk memberikan masukan, saran, dan kritik.
10. Seluruh dosen dan staff program studi Farmasi Fakultas Farmasi Militer UNHAN atas segala bantuan serta dukungan.
11. Orang tua, keluarga, dan saudara yang selalu mendoakan, memberikan semangat, serta dukungan secara moral maupun materil.
12. Rekan sejawat Nara Ankasa khususnya rekan dari prodi Farmasi Militer Universitas Pertahanan yang senantiasa menemani, memberikan dukungan moral dan materil, serta penghiburan kepada penulis.
13. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu atas dukungan mereka selama penulis menyusun skripsi.

Semoga kebaikan dan bantuan yang diberikan oleh berbagai pihak mendapatkan balasan yang setimpal dari Tuhan Yang Maha Esa. Penulis menyadari bahwa hasil karya skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan dan ketidaksempurnaan. Besar harapan penulis agar skripsi ini bermanfaat serta dapat memberikan kontribusi yang berharga untuk pengembangan ilmu pertahanan, khususnya pada bidang kimia analisis.

Bogor, 27 Juli 2024

Aliqbal Rajib Arjuna Nohea

ABSTRAK

PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE ANALISIS GLIPIZIDA DALAM *DRIED BLOOD SPOT* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI UNTUK KETAHANAN KESEHATAN NASIONAL

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit kronis karena gangguan metabolik. je merupakan salah satu obat golongan sulfonilurea yang biasa diresepkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode analisis glipizida pada sampel *Dried Blood Spot* (DBS) dengan baku dalam glimepirida menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Ultra Violet (KCKT UV) untuk mendukung ketahanan kesehatan nasional. Metode ini melibatkan pengoptimalan berbagai parameter termasuk kondisi kromatografi, komposisi fase gerak, dan pengaturan deteksi untuk memastikan pengukuran glipizida dalam sampel DBS secara tepat, akurat, dan spesifik. Proses validasi mematuhi pedoman validasi metode bioanalitik standar, menilai parameter seperti kurva kalibrasi, akurasi, presisi, spesifisitas, sensitivitas, selektivitas, *Carry-Over*, stabilitas, perolehan kembali, dan integritas pengenduran. Hasilnya menunjukkan bahwa metode KCKT yang dioptimalkan memberikan data yang andal dan dapat direproduksi untuk kuantifikasi glipizida dalam sampel DBS. Fase gerak yang digunakan berupa campuran asetonitril – dapar Monopotasium fosfat (KH_2PO_4) 10 mM pH 5.0 (60:40, v/v). Laju alir yang digunakan sebesar 1,0 mL/menit, suhu kolom 40°C dan panjang gelombang 230 nm. Metode analisis ini dilakukan berdasarkan pedoman *US Food and Drug Administration* tahun 2018 dan *Europe Medicine Agency* tahun 2023. Nilai LLOQ 30 ng/mL dengan rentang konsentrasi linear pada 30 - 800 ng/mL, sehingga metode yang digunakan sudah memenuhi persyaratan.

Kata kunci: Diabetes melitus, Glipizida, Glimepirida, *Dried Blood Spot* (DBS), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Validasi

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD FOR ANALYSIS OF GLIPIZIDE IN DRIED BLOOD SPOT USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY FOR NATIONAL HEALTH SECURITY

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease due to metabolic disorders. Glipizide is one of the sulfonylurea drugs commonly prescribed. This study aims to develop and validate an analysis method for glipizide in Dried Blood Spot (DBS) samples with glimepiride as internal standard using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) to support national health resilience. The method involves optimizing various parameters including chromatographic conditions, mobile phase composition, and detection settings to ensure precise, accurate, and specific measurement of glipizide in DBS samples. Validation processes adhere to standard bioanalytical method validation guidelines, assessing parameters such as calibration curve, accuracy, precision, specificity, sensitivity, selectivity, Carry-Over, stability, recovery, and dilution integrity. Results indicate that the optimized HPLC method provides reliable and reproducible data for quantifying glipizide in DBS samples. The mobile phase used is a mixture of acetonitrile - 10 mM Monopotassium phosphate pH 5.0 (60:40, v/v), with a flow rate of 1.0 mL/min, column temperature of 40°C, and detection wavelength of 230 nm. The analytical method follows the guidelines of the US Food and Drug Administration 2018 and the European Medicines Agency 2023. The Lower Limit of Quantification (LLOQ) value is 30 ng/mL, with a linear concentration range from 30 to 800 ng/mL, so the method used meets the requirements.

Keywords: Diabetes mellitus, Glipizide, Glimepiride, Dried Blood Spot (DBS), High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Validation



DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Landasan Teori.....	5
2.1.1. Diabetes Melitus	5
2.1.2. Glipizida.....	7
2.1.3. Glimepirida.....	9
2.1.4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	11
2.1.5. <i>Dried Blood Spot</i>	19
2.1.6. Validasi Metode	20
2.1.7. Parameter Bioanalisis	21
2.3. Kerangka Berpikir.....	33
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	34

3.1. Metode dan Desain Penelitian	34
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	34
3.3. Alat dan Bahan Penelitian	35
3.3.1. Alat.....	35
3.3.2. Bahan Penelitian	35
3.4. Prosedur Penelitian.....	36
3.4.1. Pembuatan Larutan Stok Glipizida	36
3.4.2. Pembuatan Larutan Glipizida untuk kontrol kualitas	36
3.4.3. Pembuatan Larutan Glimepirida sebagai baku dalam	36
3.4.4. Kondisi Kromatografi.....	36
3.4.5. Optimasi Kondisi	37
3.4.6. Uji Kesesuaian Sistem	37
3.4.7. Optimasi Metode Preparasi Sampel	38
3.4.8. Validasi Metode Analisis	38
3.5. Analisis Data Penelitian	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
4.1. Hasil dan Pembahasan	46
4.1.1. Optimasi Kondisi Analisis.....	46
4.1.2. Uji Kesesuaian Sistem	47
4.1.3. Validasi Metode Analisis.....	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
5.1. Kesimpulan	61
5.2. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur glipizida	9
Gambar 2.2 Struktur glimepirida.....	10
Gambar 2. 3 Instrumen KCKT	12
Gambar 2.4 Kerangka Berpikir	33



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu	25
Tabel 3.1 Jadwal Penelitian.....	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Uji Kesesuaian Sistem (UKS)	68
Lampiran 2	Optimasi Metode – Komposisi Fase Gerak	68
Lampiran 3	Optimasi Metode – Volume Larutan Pengekstraksi	68
Lampiran 4	Optimasi Metode – Waktu Vorteks.....	69
Lampiran 5	Optimasi Metode – Waktu Sentrifugasi	69
Lampiran 6	Optimasi Metode – Waktu Sonikasi	69
Lampiran 7	Validasi Metode – LLOQ	70
Lampiran 8	Validasi Metode – Kurva Kalibrasi	70
Lampiran 9	Validasi Metode – Selektivitas	71
Lampiran 10	Validasi Metode – Akurasi dan Presisi <i>Within-Run</i> (Hari 1).....	71
Lampiran 11	Validasi Metode – Akurasi dan Presisi <i>Between-Run</i> Hari Ke-2 ..	72
Lampiran 12	Validasi Metode – Akurasi dan Presisi <i>Between-Run</i> Hari Ke-3 ..	73
Lampiran 13	Validasi Metode – Uji Perolehan Kembali.....	74
Lampiran 14	Validasi Metode – <i>Carry-Over</i>	74
Lampiran 15	Validasi Metode – Integritas Pengenceran.....	74
Lampiran 16	Validasi Metode – Stabilitas Larutan Stok	75
Lampiran 17	Validasi Metode – Stabilitas Jangka Pendek.....	75
Lampiran 18	Validasi Metode – Stabilitas Jangka Panjang.....	76
Lampiran 19	Validasi Metode – Stabilitas <i>Autosampler</i>	76
Lampiran 20	Kromatogram – Optimasi Komposisi Fase Gerak.....	77
Lampiran 21	Kromatogram – Optimasi Volume Pengekstrak.....	77
Lampiran 22	Kromatogram – Optimasi Waktu Vorteks.....	78
Lampiran 23	Kromatogram – Optimasi Waktu Sonikasi.....	79
Lampiran 24	Kromatogram – Optimasi Waktu Sentrifugasi.....	79
Lampiran 25	Kromatogram – Blanko	80
Lampiran 26	Kromatogram – Zero	80
Lampiran 27	Kromatogram – LLOQ	81
Lampiran 28	Kromatogram – QCL	81
Lampiran 29	Kromatogram – QCM	82
Lampiran 30	Kromatogram – QCH	83
Lampiran 31	Sertifikat Analisis Asetonitril.....	84
Lampiran 32	Sertifikat Analisis Glipizida.....	85
Lampiran 33	Sertifikat Analisis Glimepirida	86

DAFTAR SINGKATAN

The logo of Universitas Pertaahanan Republik Indonesia is a circular emblem. It features a blue outer ring with the text "UNIVERSITAS PERTAHANAN" at the top and "REPUBLIK INDONESIA" at the bottom, separated by two white dots. Inside the ring is a red and white horizontal striped field. Overlaid on this field is a white open book with a black pen resting on it. Above the book is a golden Garuda, the national symbol of Indonesia. A red ribbon banner at the bottom of the emblem contains the motto "PRADITYA - WIRATAMA - NAGARA BHAKTI" in white capital letters.

ATP	: <i>Adenosin Trifosfat</i>
DBS	: <i>Dried Blood Spot</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DMT1	: <i>Diabetes Melitus Tipe 1</i>
DMT2	: <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i>
EMA	: <i>European Medicine Agency</i>
FDA	: <i>Food and Drugs Adinistration</i>
IDDM	: <i>Insulin Dependent Diabetes Melitus</i>
KCKT	: <i>Kromatografi Cair Kinerja Tinggi</i>
KCKT-UV	: <i>Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Ultra Violet</i>
LLOQ	: <i>Lower Limit of Quantification</i>
LOD	: <i>Limit Of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit Of Quantification</i>
QC	: <i>Quality Control</i>
ULOQ	: <i>Upper Limit of Quntification</i>
USP	: <i>United States Pharmacopeia</i>
Hba1C	: <i>Hemoglobin A1C</i>