

SKRIPSI

PENGEMBANGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI UNTUK KONTROL KUALITAS EKSTRAK PELURUH BATU GINJAL

Literature Review



EVELYN CLARISSA FEBIANY

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2020**

Lembar Pengesahan

**PENGEMBANGAN METODE KROMATOGRAFI
LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI UNTUK
KONTROL KUALITAS EKSTRAK PELURUH
BATU GINJAL**
Literature Review

SKRIPSI

**Dibuat untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2020**

Oleh:

EVELYN CLARISSA FEBIANY

NIM: 051611133083

Skripsi ini disetujui pada tanggal 10 Agustus 2020 oleh

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta



Prof. Dr. rer. nat. apt. M. Yuwono, MS. Prof. Dr. apt. Noor Erma Nasution, MS.

NIP. 196005051986011003

NIP. 195211281980022001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Evelyn Clarissa Febiany

NIM : 051611133083

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa saya tidak melakukan tindakan/kegiatan plagiasi dalam menyusun Naskah Tugas Akhir/Skripsi dengan judul:

Pengembangan Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi untuk Kontrol Kualitas Ekstrak Peluruh Batu Ginjal - *Literature Review*

Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 8 Agustus 2020

Yang membuat pernyataan,



Evelyn Clarissa F

NIM. 051611133083

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Evelyn Clarissa Febiany

NIM : 051611133083

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

**Pengembangan Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi
untuk Kontrol Kualitas Ekstrak Peluruh Batu Ginjal - *Literature
Review***

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 8 Agustus 2020

Yang membuat pernyataan,



Evelyn Clarissa F

NIM. 051611133083

KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat dan kuasa-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul Pengembangan Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi untuk Kontrol Kualitas Ekstrak Peluruh Batu Ginjal - *Literature Review* sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya dengan baik. Banyak jatuh bangun yang terjadi selama pengerjaan skripsi ini, penulis menyadari setiap proses Tuhan izinkan terjadi dan perkenanan-Nya tidak pernah berhenti dalam hidup ini. Penulis menyadari bahwa harapan dan jalan keluar akan selalu ada untuk setiap masalah yang kita hadapi, seperti tertulis “*sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada pada-Ku mengenai kamu, demikianlah firman TUHAN, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepada mu hari depan yang penuh harapan*” - Yeremia 29:11.

Tersusunnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA. selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr. apt. Umi Athiyah MS. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan program pendidikan S1 di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. rer. nat. apt. Mochammad Yuwono, MS. selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. apt. Noor Erma Nasution, MS. selaku pembimbing serta atas kesabaran dan motivasi dalam membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis sangat bersyukur untuk kesempatan ini.

3. Drs. apt. Marcellino Rudyanto, MSi., Ph.D., selaku Ketua Departemen Kimia Farmasi yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan skripsi di Departemen Kimia Farmasi.
4. Dr. apt. Tri Widiandani, SSi., Sp. FRS, dan Drs. apt. Marcellino Rudyanto, MSi., Ph.D. selaku penguji atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
5. apt. I Nyoman Wijaya S.Si., Sp.FRS. selaku dosen wali yang selalu memberikan arahan selama menempuh program sarjana.
6. Bapak dan Ibu dosen pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas ilmu dan pengalaman yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa.
7. Staf Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas waktu dan bantuan yang telah diberikan selama penyelesaian penelitian skripsi maupun selama perkuliahan ini.
8. Kedua orang tua penulis, Hulman Siregar dan Juliana Sijabat serta kakak dan adik penulis yang senantiasa memberikan dukungan baik moral maupun materiil, kasih sayang dan doa kepada penulis selama ini, tanpa kalian penulis bukan apa-apa.
9. Sahabat penulis terutama Naufal H, Rini A, Athaya, Hieronimus, Muhtadi B, Enrico G, Aileen dan teman kos House of Kartini (Odilia, Irene, Rizqa dan Sara) yang telah menemani dari awal perkuliahan. Terima kasih untuk setiap perjuangan dan kenangan indahny, semoga sukses menyertai setiap perjalanan kalian.
10. Sahabat penulis yang selalu ada selama bertahun-tahun untuk penulis Amelia Nasyahta, Natalia Chiquita, Budiarti Yasmine, Virna Zulfia, Andreas Sardo dan Visco Viskano.
11. apt. Galang Desanto., S. Farm. yang selalu memberikan dukungan dan mendengarkan keluh kesah penulis. Segala doa yang baik adanya untuk mu dan mimpi mu.
12. Kak Airin Levina selaku kakak bimbing rohani Unit Kegiatan Kerohanian Kristen (UK3), Pengurus UK3 tahun 2019-2020 (Saras, Bima, Uli, Silvi, Rosita, Nathalia, Vincent, Belinda, Yuni, Luke, Kak John, Kak Angga, Kak Jason, Kak Triadi, Kak Joce Kak

Kristin, Kak Mercy, Kak Grace, Kak Anas) dan Persekutan Doa Pharma untuk kesempatan melayani, belajar Firman Tuhan, saling mendoakan serta bertumbuh bersama-sama dalam Kristus, penulis sangat bersyukur bisa mengenal kalian.

13. Teman-teman Opium 2016 khususnya kelas B 2016 atas kebersamaan dan keceriaan yang telah diberikan selama 4 tahun ini.
14. Teman-teman seperjuangan skripsi (Adel, Alfin, Hefni, Ferri, Ilman, Andri) dan teman-teman skripsi KF lainnya. Kalian luar biasa!

Masih banyak orang-orang yang berperan untuk memberikan bantuan dan dukungan bagi penulis yang tidak dapat penulis tuliskan, terima kasih sudah mengambil peran masing-masing dalam hidup penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini membutuhkan saran dan kritik yang membangun agar dapat tersusun lebih baik lagi. Penulis berharap skripsi ini dapat membawa manfaat bagi pembaca terutama dalam dunia industri dan teknologi kefarmasian.

Penulis

RINGKASAN

Pengembangan Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi untuk Kontrol Kualitas Ekstrak Peluruh Batu Ginjal - *Literature Review*

Evelyn Clarissa

Urolithiasis adalah proses terbentuknya batu (kalkuli) pada traktus urinarius dengan prevalensi yang terus meningkat di sebagian besar negara-negara Asia selama beberapa dekade terakhir. Sejumlah tanaman seperti *Plantago major* (daun sendok), *Orthosiphon stamineus* (kumis kucing), *Sonchus arvensis* (tempuyung) dan *Sericocalyx crispus* (kejibeling) secara empiris digunakan di beberapa negara untuk menyembuhkan atau mencegah terjadinya urolithiasis. Berdasarkan aktivitas yang dimiliki, ekstrak tanaman-tanaman ini sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal.

Dalam pengembangan obat herbal dibutuhkan penetapan sidik jari kimiawi (*chemical fingerprint*) atau *chemoprofile* untuk mengevaluasi berbagai kelompok fitokonstituen yang ada didalamnya. Pengembangan metode marker dalam pengembangan obat herbal memegang peranan penting dalam penjaminan kualitas, keamanan dan khasiat obat herbal karena marker dapat digunakan untuk mengevaluasi mulai dari penanaman sampai proses produksi. Marker yang dapat digunakan dalam kontrol kualitas obat herbal adalah *active principle* dan marker aktif.

Chemoprofiling dan analisis marker digunakan untuk standarisasi formulasi obat herbal. *Chemical fingerprint* yang dihasilkan bertujuan untuk menganalisis komponen dan memonitor variasi antar bets. *Chemical fingerprint* dapat dihasilkan dengan menggunakan metode kromatografi

yang menghasilkan kromatogram *fingerprint*. Kromatogram *fingerprint* dari obat herbal adalah pola kromatogram yang dihasilkan dari senyawa – senyawa pada ekstrak tanaman. Kromatogram *fingerprint* dapat dihasilkan dengan menggunakan instrumen seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Kromatografi Gas (KG) (Yongyu *et al.*, 2011).

KLT adalah metode kromatografi yang mudah dipindahkan dan fleksibel untuk pemisahan, KLT dapat digunakan sebagai skrining awal untuk evaluasi semikuantitatif. Lapisan KLTKT lebih tipis jika dibandingkan dengan KLT dan mengandung sorbent dengan ukuran partikel yang lebih kecil dan seragam, hal ini membuat KLTKT memiliki separasi yang lebih cepat dan efisien, zona difusi berkurang, limit deteksi menjadi lebih rendah dan solvent yang digunakan lebih sedikit jika dibandingkan dengan KLT (Sherma dan Fried, 2003). KLTKT juga bersifat otomatis dibandingkan dengan KLT dan mempunyai kapasitas sampel yang lebih tinggi dibandingkan dengan KLT, KCKT maupun KG (Sherma dan Fried, 2003) (Ramu dan Chittela, 2018). Berdasarkan dari penjelasan sebelumnya, maka diperlukan *literature review* untuk mengetahui senyawa marker yang sesuai untuk kontrol kualitas ekstrak tanaman (*Sonchus arvensis*, *Plantago major*, *Orthosiphon stamineus*, dan *Sericocalyx crispus*) dan untuk mengetahui metode kontrol kualitas ekstrak yang menghasilkan *chemical fingerprint* tanaman berdasarkan senyawa markernya menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT).

Jenis review yang dilakukan pada penelitian ini adalah *scoping review* dengan menggunakan *keyword* ; ‘*chemical marker*’ ‘*quality control*’ ‘*chromatogram fingerprint*’ ‘*HPTLC*’ ‘*Sonchus arvensis*’ ‘*Sericocalyx crispus*’ ‘*Orthosiphon stamineus*’ ‘*Plantago major*’ ‘*Urolithiasis*’ ‘*calcium oxalate/kidney stone*’ ‘*flavonoid activity*’. Database yang digunakan adalah *Google Scholar*, *Elsevier*, *PubMed* dan *Research Gate*. Jurnal yang direview

berjumlah 212 dan pustaka yang diekstraksi berjumlah 29 jurnal. Data yang diekstraksi berisi tentang ; kontrol kualitas obat herbal, pengobatan urolithiasis dengan fitoterapi, definisi dan jenis-jenis senyawa marker, pemilihan senyawa marker dari tumbuhan *Plantago major*, *Sonchus arvensis*, *Sericocalyx crispus*, *Orthosiphon stamineus* dan metode untuk mendapatkan kromatogram *fingerprint* menggunakan KLTKT dari keempat tanaman tersebut.

Berdasarkan hasil *literature review*, senyawa marker yang sesuai untuk kontrol kualitas ekstrak yang memiliki aktivitas meluruhkan batu ginjal adalah sinensetin untuk kumis kucing, untuk daun sendok adalah aucubin, untuk tempuyung adalah kuersetin, untuk kejibeling adalah stigmasterol.

Identifikasi asam rosmarinat ($R_f=0.3$), 3-hydroxy-5,6,7,4-tetramethylflavone ($R_f=0.52$), eupatorin ($R_f=0.71$) dan sinensetin ($R_f=0.56$) secara simultan dari *Orthosiphon stamineus* dengan metode KLTKT dilakukan dengan menggunakan fase gerak toluen : etil asetat : asam format (3:7:0.1), fase diam Silica gel 60 F254 dengan penampak noda *Natural product poly ethylene glycol* (NPEG) kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 2-5 menit.

Identifikasi aucubin dari ekstrak *Plantago major* (R_f ; 0.71, 0.53, 0.39) dilakukan dengan fase gerak 1,4 dioxane: xylene: propan-2-ol:12.5% NH_3 (1:2:5:2) untuk mengidentifikasi aucubin. Fase diam yang digunakan Silica gel 60 F254 dengan penampak noda 5% asam sulfur dalam methanol.

Penelitian yang sudah ada mampu memisahkan senyawa – senyawa pada ekstrak *Sonchus arvensis* menggunakan KLTKT, namun pada penelitian yang dilakukan hanya mengidentifikasi senyawa lupeol bukan kuersetin. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform dan penampak noda yang digunakan adalah anisaldehyd-asam sulfat pekat yang disemprotkan.

Kuersetin adalah golongan flavonoid, fase gerak umum yang biasa digunakan untuk golongan flavonoid adalah etil asetat: asam format: asam asetat glasial: air (100:11:11:26).

Penelitian mengenai kromatogram sidik jari dari ekstrak *Sericocalyx crispus* menggunakan HPTLC belum dilakukan, namun penelitian yang dilakukan oleh Manjula *et al.*, dapat menghasilkan kromatogram *fingerprint* dan mengkuantifikasi stigmasterol dari senyawa-senyawa lainnya pada ekstrak *Costus igneus*. Kromatogram *fingerprint* dan kuantifikasi stigmasterol dilakukan dengan menggunakan plat *silica gel* GF 254 dengan fase gerak toluene:aseton:asam asetat (8.9:0.9:0.2 v/v/v) nilai Rf stigmasterol sekitar 0.58.

Kontrol kualitas ekstrak dapat dilakukan dengan menggunakan marker atau penanda. Dalam hal kontrol kualitas ekstrak senyawa marker yang paling penting dalam penentuan khasiat produk adalah marker *active principle* maupun marker aktif, maka dari itu perlu dikembangkan metode identifikasi/kuantifikasi untuk menentukan marker tersebut dalam ekstrak. Marker *active principle* merupakan senyawa marker yang paling ideal dalam kontrol kualitas ekstrak, namun *active principle* mayoritas tanaman herbal jarang ditemukan karena minimnya data. Hal inilah yang membuat penggunaan marker aktif dalam kontrol kualitas herbal dilakukan. Penentuan seperti ini, namun, tidak memberikan gambaran komplit dari produk herbal yang diproduksi kelak, hal ini dikarenakan beberapa senyawa biasanya bertanggung jawab terhadap efek terapi. Senyawa-senyawa ini mungkin bekerja secara sinergis dan hampir tidak bisa dipisahkan menjadi bagian yang aktif. Alasan lainnya adalah penentuan *chemical fingerprint* digunakan untuk menentukan kesamaan maupun perbedaan ekstrak yang dihasilkan antar batch, hal ini dilakukan untuk menjamin konsistensi produk. Oleh karena itu, selain penentuan senyawa marker aktif atau *active principle* kontrol kualitas ekstrak perlu juga menentukan *chemical fingerprint*.

Pemaparan yang dijelaskan pada *literature review* ini adalah untuk ekstrak tunggal, sehingga perlu dilakukan pengembangan metode untuk produk yang berupa campuran ekstrak keempat tumbuhan tersebut. Obat-obat tradisional banyak mengandung lebih dari satu tanaman ekstrak, hal inilah yang menjadi tantangan dalam kontrol kualitas obat herbal. Kondisi KLTKT yang dipaparkan dapat digunakan untuk orientasi metode di laboratorium.