



## **PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA OBAT HERBAL YANG MENGANDUNG EKSTRAK TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*) MENGGUNAKAN KLT DENSITOMETRI**

**Asih Imulda Hari Purwani<sup>1\*</sup>, Krisna Kharisma Pertiwi<sup>2</sup>, Dwi Wahyuni<sup>3</sup>, & Rachma Nurhayati<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,&4</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Jalan K. H. Wachid Hasyim Nomor 65, Kediri, Jawa Timur 64114, Indonesia

\*Email: [asih.imulda@iik.ac.id](mailto:asih.imulda@iik.ac.id)

Submit: 02-04-2024; Revised: 06-06-2024; Accepted: 10-06-2024; Published: 30-06-2024

**ABSTRAK:** Kuersetin merupakan senyawa marker utama pada ekstrak *Sonchus arvensis*, yang menunjukkan aktivitas nefrolitiasis. Masing-masing ekstrak mengandung satu senyawa marker. Untuk kontrol kualitas obat herbal, metode kromatografi lapis tipis (KLT) telah dikembangkan dalam penelitian ini dengan menggunakan kuersetin sebagai marker fitokimia. Untuk menetapkan kadar kuersetin pada obat herbal. Penetapan kadar kuersetin dilakukan dengan cara menentukan komposisi fase gerak, panjang gelombang analisis, waktu penenuhan bejana, jarak elusi dan volume penotolan. Parameter yang diamati pada optimasi metode dan uji stabilitas yaitu area, faktor retardasi (Rf), bentuk puncak dan resolusi (Rs). Komposisi fase gerak terpilih yang menghasilkan pemisahan yang baik dan bentuk puncak yang simetris yaitu kloroform: metanol: diklorometana : asetonitril : asam format (6 : 2 : 2 : 0,05 : 0,05 v/v/v/v/v) dengan panjang gelombang 335 nm, waktu penenuhan bejana 30 menit, jarak elusi 8 cm, volume penotolan 10 µL dan Rf 0,48. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada faktor yang berpengaruh secara signifikan sehingga metode dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar kuersetin dalam obat herbal. Data penelitian menunjukkan bahwa kadar pada kuersetin 3,26%.

**Kata Kunci:** Kuersetin, KLT-Densitometri, Obat Herbal.

**ABSTRACT:** *Quercetin* are the main marker compounds in extracts of *Sonchus arvensis* which show nephrolithiasis activity. For quality control of herbal medicines, *Densitometric Thin Layer Chromatography (TLC)* method has been developed in this study using *quercetin* as phytochemical markers. Objective: Determination for *quercetin* in herbal medicines. Determination of *quercetin* by determining the composition of the mobile phase, the wavelength of the analysis, the saturation time, the elution distance and the volume of the spot. The parameters observed in the optimization method and stability test are area, retardation factor (Rf), peak shape and resolution (Rs). The composition of selected mobile phase which results good separation and symmetrical peak shape is chloroform: methanol: dichloromethane: acetonitrile: formic acid (6: 2: 2: 0.05: 0.05 v/v/v/v/v) with a wavelength of 335 nm, time of saturation is 30 minutes, elution distance is 8 cm, volume of spots is 10 µL and Rf 0.48. In this study, it was shown that there were no factors that had a significant effect so that the method could be applied for the determination of *quercetin* levels in herbal medicines. The research data showed that the range of levels on *quercetin* 3.26%.

**Keywords:** *Quercetin*, *Densitometric Thin Layer Chromatography*, *Herbal Medicines*.

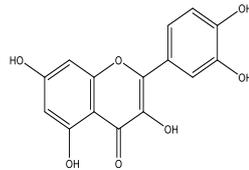
**How to Cite:** Purwani, A. I. H., Pertiwi, K. K., Wahyuni, D., & Nurhayati, R. (2024). Penetapan Kadar Kuersetin pada Obat Herbal yang Mengandung Ekstrak Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Menggunakan KLT Densitometri. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 1194-1201. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.11260>



*Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi* is Licensed Under a [CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

## PENDAHULUAN

Tanaman herbal dan ekstraknya dapat dimanfaatkan dalam formulasi obat herbal untuk mencegah dan mengobati urolithiasis karena perannya dalam mengontrol proses kristalisasi batu ginjal (Gupta & Kanwar, 2018). Sejumlah penelitian dari berbagai negara telah melaporkan beberapa tanaman obat yang dapat digunakan sebagai terapi urolithiasis (Jannah & Safnowandi, 2018; Khan, 2014). Sejumlah tanaman seperti *Sonchus arvensis* secara empiris digunakan untuk mencegah atau menyembuhkan urolithiasis, sejumlah penelitian melaporkan beberapa tanaman tersebut mampu mencegah dan mengobati urolithiasis (Hossain & Rahman, 2015; Seal, 2016; Shruti & Kanwar, 2018). Tanaman ini telah dikembangkan menjadi formulasi obat herbal sebagai peluruh batu ginjal. Penelitian yang banyak dilakukan pada *Sonchus arvensis* adalah membuktikan efek nefrolitiasis (Kartini & Azminah, 2014; Mahmood dkk., 20). Efek nefrolitiasis disebabkan adanya senyawa kuersetin (Wardana, 2017). Penelitian Noer (2018) membuktikan bahwa senyawa tersebut berperan dalam mengontrol proses kristalisasi batu ginjal. Hossain & Ismail, (2016) juga membuktikan bahwa senyawa kuersetin dapat menghambat reabsorpsi elektrolit pada Lengkung Henle sehingga memiliki efek diuretik. Struktur kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Struktur Kuersetin.**

Dalam pengembangan obat herbal polifarmasi, pemilihan senyawa marker dan metode identifikasi/kuantifikasi senyawa marker memegang peranan penting dalam menjamin kontrol kualitas dari obat herbal (Skoog & Cruoch, 2017). Metode analisis yang secara umum digunakan untuk identifikasi senyawa marker adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Chua dkk., 2019; Li dkk., 2020). Penetapan kadar kuersetin menggunakan metode KLT pada ekstrak *Sonchus arvensis* juga telah dilaporkan oleh Lindawati & Ma'ruf (2020) menggunakan fase gerak asetonitril : isopropil alkohol : asam fosfat (30 : 15 : 55 v/v/v), akan tetapi resolusi puncak kuersetin dalam ekstrak rendah sehingga senyawa kuersetin belum memisah dengan sempurna. Tujuan dari penelitian ini untuk penetapan kadar kuersetin menggunakan metode KLT yang diharapkan memberikan hasil pemisahan yang baik sebagai tahap awal pengembangan metode untuk analisis kuersetin.

## METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan KLT Densitometri dengan komposisi fase gerak yaitu kloroform: metanol: diklorometana : asetonitril : asam format (6 : 2 : 2 : 0,05 : 0,05 v/v/v/v/v) dan fase diam plat silica gel GF 254. Bahan yang digunakan adalah ekstrak tempuyung, standart kuersetin, metanol, asetonitril dan asam format.



---

## Jenis Penelitian

Jenis penelitian deskriptif, yaitu untuk mengetahui kadar kuersetin dalam obat herbal yang mengandung ekstrak daun tempuyung menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. Ekstrak daun tempuyung yang diuji secara kualitatif dan kuantitatif.

## Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Analisis Obat di Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.

## Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah standart kuersetin, ekstrak daun tempuyung.

## Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun tempuyung.

## Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah *simple random sampling* karena pengambilan obat herbal yang mengandung ekstrak daun tempuyung dilakukan secara acak.

## Pembuatan Larutan Baku Induk Standar

Ditimbang 1,0 mg standar, dilarutkan 10 mL metanol dalam labu ukur. Baku induk ini selanjutnya dapat digunakan untuk membuat baku kerja 20 - 100 ppm melalui tahap pengenceran.

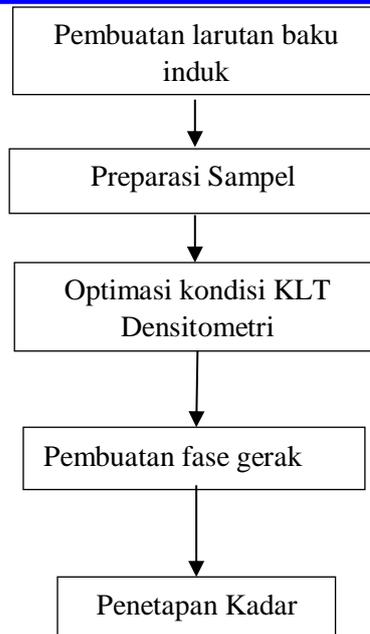
## Preparasi Sampel

Ditimbang 50 mg obat herbal dan dilarutkan 5 mL metanol dalam labu ukur. Larutan dipanaskan pada suhu 60 °C diatas *hotplate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 60 menit. Larutan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 4000 rpm untuk memisahkan supernatan dan endapannya.

## Pembuatan Fase Gerak

Pembuatan fase gerak dibuat dalam beberapa macam komposisi fase gerak, menentukan panjang gelombang maksimum untuk pengamatan noda, optimasi waktu penjuanan bejana selama 15-90 menit, optimasi jarak eluasi pada panjang 7-9 cm dan optimasi volume penotolan sebanyak 6-20 µl pada plat KLT. Parameter yang diamati dalam pemilihan kondisi optimal adalah faktor retardasi (Rf), bentuk puncak dan resolusi (Rs) terbaik. Rs dihitung menggunakan rumus matematika sebagai berikut:

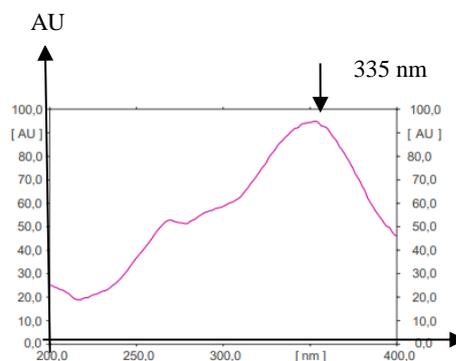
$$Rs = \frac{2 (\max Rf1 - \max Rf2)}{(\text{end } Rf1 - \text{start } Rf1) + (\text{end } Rf2 - \text{start } Rf2)}$$



**Gambar 2. Alur Penelitian.**

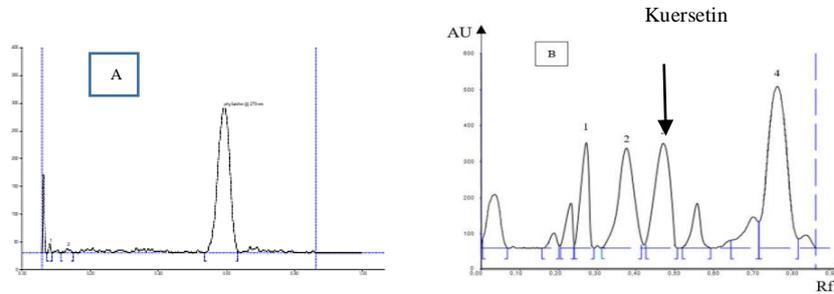
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan penentuan komposisi fase gerak, waktu penjuanan bejana, dan panjang gelombang analisis. Komposisi fase gerak terbaik untuk analisis adalah fase gerak yang mampu memisahkan kuersetin dengan senyawa pengganggu atau senyawa lain dalam ekstrak (Parisa dkk., 2023). Pengukuran panjang gelombang analisis dilakukan dengan membaca plat KLT yang telah dielusi dengan fase gerak terpilih menggunakan detektor UV-Vis dalam instrumen KLT-Densitometri pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Penentuan panjang gelombang analisis terpilih diamati dari peak yang memberikan nilai area yang terbesar pada spektra kuersetin. Dari spektra kuersetin pada Gambar 3 diperoleh panjang gelombang kuersetin yang terbaca oleh instrument yaitu 335 nm.



**Gambar 3. Panjang gelombang senyawa kuersetin menggunakan fase kloroform: metanol : diklorometana : asetonitril : asam format (6 : 2 : 2 : 0,05 : 0,05 v/v/v/v).**

Pemisahan terbaik yang menghasilkan puncak simetris dari formulasi polih herbal dicapai dalam kondisi isokratik menggunakan komposisi fase gerak kloroform : metanol : diklorometana : asetonitril : asam format (6 : 2 : 2 : 0,05 : 0,05 v/v/v/v/v) pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Hasil kromatogram standar kuersetin (a) dan sampel obat herbal (b) menggunakan fase kloroform: metanol: diklorometana : asetonitril : asam format (6 : 2 : 2 : 0,05 : 0,05 v/v/v/v/v).

Hasil analisis area pada peak dalam sampel yang diadisi dengan standar kuersetin pada Tabel 1. Waktu penjuanan bejana yang optimal pada penelitian ini yaitu minimal 30 menit karena area dan Rf stabil setelah 30 menit. Setelah semua parameter metode terpenuhi, maka metode dapat diaplikasikan untuk menentukan kadar kuersetin dalam sampel kapsul yang mengandung ekstrak *Sonchus arvensis*. Kadar kuersetin dalam sampel kapsul dapat dihitung dengan memasukan area ke dalam persamaan regresi untuk mendapatkan konsentrasi kuersetin sehingga dapat diperoleh kadar kuersetin dalam sampel. Penetapan kadar dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan diperoleh kadar rata - rata kuersetin sebesar 3,26% dengan nilai koefisien variasi 1,09%. Dari hasil kromatogram standar kuersetin dan sampel obat herbal sebagai berikut: Hasil penetapan kadar kuersetin dalam sampel tertera pada Tabel 2. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar rata-rata kuersetin sebesar 3,26% dengan nilai koefisien variasi 1,09%.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran area kuersetin.

Konsentrasi (ppm)	Area
5,31	11183,9
10,21	12298,4
15,65	13484,7
20,18	14893,3
25,24	16234,4
30,34	17293,2

**Tabel 2.** Penetapan kadar kuersetin dalam sampel.

Penimbangan (mg)	Kadar sampel (mg)	% kadar sampel	Rata-rata	SD	KV
1003,6	32,4	3,23	3,26	0,04	1,09
1002,7	32,6	3,25			
1002,3	33,2	3,31			

Kuersetin merupakan senyawa marker pada ekstrak *Sonchus arvensis* yang menunjukkan aktifitas nefrolitiasis. Tanaman ini telah banyak digunakan untuk



pengobatan. Pengembangan metode analisis diawali dengan optimasi kondisi KLT yang meliputi penentuan komposisi fase gerak, waktu penjuanan bejana, dan panjang gelombang analisis. Penjuanan bejana dengan sempurna diperlukan agar proses elusi dan pemisahan dapat berjalan dengan baik (Fauziah dkk., 2023). Dari hasil optimasi diperoleh waktu penjuanan bejana dapat mempengaruhi Rf. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dezeeuw (2021) yang menunjukkan ketidakstabilan Rf suatu senyawa setelah dielusi pada bejana yang tidak dilakukan penjuanan. Waktu penjuanan bejana yang optimal pada penelitian ini yaitu minimal 60 menit karena Rf stabil setelah 60 menit. Komposisi fase gerak terbaik untuk analisis adalah fase gerak yang mampu memisahkan kuersetin dengan senyawa pengganggu atau senyawa lain dalam ekstrak. Parameter yang diamati dalam penentuan komposisi fase gerak yaitu resolusi (Rs) dan reterdasi faktor (Rf) (Arsul dkk., 2021). Pada panjang gelombang 335 nm, area puncak kuersetin yang dihasilkan juga tinggi dan puncak pengganggu tidak banyak terdeteksi. Sehingga panjang gelombang 335 nm dipilih sebagai panjang gelombang analisis pada penelitian ini. Menurut Indrayanto (2022) panjang gelombang maksimum diperoleh dari nilai serapan yang tertinggi pada penelitian. Waktu penjuanan bejana yang optimal pada penelitian ini yaitu minimal 30 menit karena area dan Rf stabil setelah 30 menit.

Dari hasil uji didapat nilai Rf kuersetin adalah 0,24. Menurut penelitian Sari (2020) Ekstrak etanol 70 % pada ekstrak daun tempuyung dengan kromatografi lapis tipis fase gerak etil asetat: metanol (8:2) dari tiga fraksi tersebut fraksi air menunjukkan 1 bercak dan fraksi etil asetat menunjukkan 1 bercak yang berwacna coklat dilihat dalam lampu UV 254 nm dan berwarna biru pada lampu UV 366 dengan Rf 0,76. Untuk memastikan bahwa pada nilai Rf tersebut merupakan senyawa kuersetin maka dilakukan teknik adisi dengan cara menambahkan larutan standar pada larutan ekstrak. Adanya penambahan area kuersetin pada Rf 0,48 dari 7128,3 mAU menjadi 15228,3 mAU setelah dilakukan adisi standar membuktikan bahwa pada Rf tersebut merupakan senyawa kuersetin. Pemisahan antara puncak satu dengan yang lain dapat dilihat dari parameter Rs. Diperoleh nilai Rs yang sangat baik pada sampel yaitu > 1,5 sehingga menunjukkan pemisahan yang sangat baik. Pada penelitian ini diperoleh persamaan regresi kuersetin yaitu  $y = 249,41x + 9778,9$ . Penetapan kadar kuersetin dalam sampel kapsul dapat dihitung dengan memasukan area ke dalam persamaan regresi untuk mendapatkan konsentrasi kuersetin sehingga dapat diperoleh kadar kuersetin dalam sampel.

## **SIMPULAN**

Kondisi optimal metode KLT-Densitometri yang dapat digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi kuersetin meliputi komposisi fase gerak kloroform : aseton : diklorometana : asetonitril : asam format (6:2:2:0,05:0,05 v/v/v/v/v), Panjang gelombang analisis 335 nm, sample load 10 µl dan waktu penjuanan bejana 30 menit. Penetapan kadar kuersetin sebesar 3,26% dengan nilai koefisien variasi 1,09%.



---

## SARAN

Metode KLT-Densitometri yang telah dikembangkan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk analisis rutin penetapan kadar kuersetin pada obat herbal yang mengandung *Sonchus arvensis* sebagai jaminan kestabilan ekstrak yang terkandung.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak yang telah membantu penelitian ini, mulai dari pengumpulan sampel hingga analisis data.

## DAFTAR RUJUKAN

- Arsul, V. A., Ganjiwale, R., & Yeole, D. (2021). Evaluation of Hepatoprotective Potential of Polyherbal Preparations in CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 4(5), 815–817. <https://doi.org/10.1155/2022/3169500>
- Chua, L., Chua, B., Figiel, A., Chong, C., Wojdylo, A., Szumny, A., Choong, T. (2019). Antioxidant activity, and volatile and phytosterol contents of *Strobilanthes crispus* dehydrated using conventional and vacuum microwave drying methods. *Chemico-Biological Interaction*, 124(7), 351-358. <https://doi.org/10.3390/molecules24071397>
- Dezeeuw, R. A. (2021). Reproducibility of Rf values in unsaturated chambers and related development techniques. *Journal of Chromatography*, A(33), 222–226. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)98641-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)98641-2)
- Fauziah, S., Melati, P., Mulyati, A.H., Rohaeti, E. 2023. Thin Layer Chromatography Fingerprint Analysis of Tempuyung (*Sonchus arvensis* L). *Jurnal Kimia Sains & Aplikasi*, vol. 26. <https://doi.org/10.14710/jksa.26.5.187-193>
- Gupta & Kanwar. (2018). Phyto-molecules for kidney stones treatment and management. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 07(04).
- Hossain, M. A., & Ismail, Z. (2016). Quantification and enrichment of sinensetin in the leaves of *Orthosiphon stamineus*. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S1338- S1341. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.02.016>
- Indrayanto, G. (2022). Validation of analytical methods. In *Profiles of drug substances, excipients, and related methodology* (37th ed., pp. 439–463). Elsevier Inc.
- Jannah, H., & Safnowandi, S. (2018). Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat di Kawasan Desa Batu Mekar Kecamatan Lingsar Kabupaten Lombok Barat. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 6(1), 1-15. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v6i1.938>
- Kartini & Azminah. (2014). Chromatographic fingerprinting and clustering of *Plantago major* L. from different areas in Indonesia. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 191–195.
- Khan, R. A. (2014). Evaluation of flavonoids and diverse antioxidant activities of *Sonchus arvensis*. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-126>
- Li, Yun., Shen, Yao., Yao, Chang-liang., Guo, De-an. (2020). Quality assessment



- of herbal medicines based on chemical fingerprints combined with chemometrics approach: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 185-189. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113215>
- Lindawati & Ma'ruf. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntunf*, vol 6 (1).
- Mahmood, S. A., See, T. L., Mahdi, A.K. (2022). Experimental Study of The Effect of Plantago Major leaves Extract on Contaminated Excisional Wound Healing in Rabbits. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*; 36; 31-39. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.134991.243>
- Noer, S. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia L.*). *Jurnal Ilmu MIPA*, vol 18.
- Parisa, N., kamaluddin, M. T., Saleh, M. I., Sinaga, E. 2023. Falvonoids as Antioxidants : A Review on Tempuyung Plant (*Sonchus arvensis*). *Journal of Medical and Chemical Science*. <https://doi.org/10.26655/JMCHEMSCI.2021.10.6>
- Sari, R.P. (2020). Penetapan Parameter Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*, vol.3, pp. 48-51.
- Seal, T. (2016). Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(2), 157-166. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60225>
- Shruti, G., & Kanwar, S. (2018). Phyto-molecules for kidney stones treatment and management. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 7.
- Skoog & Cruoch S. (2017). *Principles of Instrumental Analysis*, 6<sup>th</sup>ed, Thomson Brooks / Cole.
- United States Pharmacopeial Convention. (2018). *The United States Pharmacopoeia*. 41<sup>st</sup> Ed. USA: United States Pharmacopeial Convetion. pp. 6459-6462.
- Wardana, I. N. G. (2017). *Urolithiasis*. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.