

**PENGUJIAN PROFIL FARMAKOKINETIKA RUBRASANTON  
YANG DIISOLASI DARI KULIT BATANG ASAM KANDIS  
(*Garcinia cowa* Roxb) SETELAH PEMBERIAN  
SECARA ORAL PADA MENCIT**

**DISERTASI**

**MERI SUSANTI  
NIM: 1530412004**

**PROMOTOR : DR. AFRIZAL  
CO PROMOTOR : PROF. DR. APT, YAHDIANA HARAHAP  
CO PROMOTOR : PROF. DR. APT, DACHRIYANUS**



**PROGRAM STUDI S3 ILMU KIMIA  
PASCA SARJANA FAKULTAS MIPA  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG, 2019**

## ABSTRAK

Meri Susanti 1530412004

Di bawah bimbingan Dr. Afrizal, MS; Prof. Dr. Yahdiana Harahap, Apt dan  
Prof. Dr. Dachriyanus, Apt

Penelitian ini dititik beratkan pada pengujian profil farmakokinetika rubrasanton setelah pemberian secara oral pada mencit. Rubrasanton merupakan senyawa santon utama pada kulit batang asam kandis. Senyawa ini telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi menarik baik *in-vitro* maupun *in-vivo*. Untuk kepentingan penelitian ini, dilakukan reisolasi senyawa rubrasanton dari kulit batang asam kandis menggunakan metode kromatografi kolom dan kromatografi radial dengan silika gel sebagai fase diam dan pelarut organik dengan kepolaran dinaikkan (*step gradient polarity*) sebagai fase gerak. Pemastian senyawa hasil isolasi dilakukan secara Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan membandingkan pola kromatogram senyawa hasil isolasi dengan kromatogram senyawa rubrasanton pembanding. Untuk mendapatkan rubrasanton yang maksimal, pada penelitian ini juga dilakukan penentuan pelarut pengeksrak terbaik yang mampu menarik rubrasanton secara maksimum yaitu antara pelarut etil asetat dan diklorometana. Dari hasil pengujian kadar rubrasanton dalam ekstrak diklorometana dan etil asetat secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menggunakan kolom fase terbalik C-18 (250 x 4,6 mm) dan fase gerak metanol – 0,4 % asam formiat (88:12) dengan flowrate 1mL/menit didapat kadar rubrasanton dalam ekstrak DCM 40,099% dan ekstrak etil asetat 33,974 %. Dari pengujian ini terlihat bahwa DCM adalah pelarut pengeksrak terbaik untuk senyawa rubrasanton.

Menyadari sangat kecilnya kadar zat aktif yang dapat ditemukan dalam plasma, maka untuk penentuan profil farmkokinetika rubrasanton setelah pemberian pada mencit secara oral diperlukan metode analisis yang spesifik dan valid. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi telah dikembangkan dan divalidasi untuk penentuan rubrasanton dalam plasma. Sampel dipreparasi menggunakan metode pengendapan protein dengan penambahan asetonitril (3:1) terhadap sampel plasma dan  $\alpha$ -mangostin sebagai internal standar (IS). Pemisahan dilakukan menggunakan kolom C<sub>18</sub> (50 mm x 2,10mm x 1,7  $\mu$ m) dengan fase gerak asetonitril - 0,4% asam formiat (75:25, v/v). Waktu retensi rubrasanton pada kecepatan aliran 0,3 mL/menit yang dideteksi dengan UV pada panjang gelombang 243 nm adalah 3,293 menit. Pengujian linieritas rubrasanton dalam plasma diperoleh hubungan lurus antara konsentrasi dan luas puncak pada rentang konsentrasi 400,3 – 500,4 ng/mL ( $r \geq 0,99$ ). Metode ini terbukti valid untuk spesifisitas, selektifitas, recovery, akurasi dan presisi. Batas kuantitasi terendah (LLOQ) metode ini adalah 400,32 ng/mL. Pemanfaatan metode KCKT yang telah divalidasi ini dalam penentuan profil farmakokinetika rubrasanton setelah pemberian secara oral dengan dosis 750 mg/kgBB pada mencit memperlihatkan rubrasanton telah terlihat di plasma dari awal titik pengambilan darah (15 menit), ini memperlihatkan bahwa rubrasanton diserap secara cepat di saluran pencernaan. Penentuan parameter farmakokinetika dengan metode non-kompartemen menghasilkan nilai tetapan laju absorpsi ( $k_a$ ) = 0,505 jam<sup>-1</sup>, kadar plasma maximum dicapai antara 3-4 jam setelah pemberian secara oral ( $t_{max}$ ). Waktu paruh eliminasi ( $t_{1/2}$ ) = 6,93 jam dan tetapan laju eliminasi ( $k$ ) = 0,10 jam<sup>-1</sup>. Kadar rubrasanton dalam plasma (ketersediaan hayati) setelah pemberian secara oral adalah 23,90047  $\mu$ g.jam.mL<sup>-1</sup>. Penelitian ini memperlihatkan bioavabilitas yang rendah dari rubrasanton pada pemberian oral, rubrasanton diduga didistribusikan secara cepat ke jaringan setelah penyerapan sehingga eliminasinya dari tubuh terlihat lama. Diperlukan penelitian lanjutan untuk menjawab penyebab rendahnya ketersediaan hayati rubrasanton pada pemberian secara oral.

Keyword: KCKT, validasi, bioavailability

ABSTRACT

Meri Susanti 1530412004

Under the guidance of Dr. Afrizal, MS; Prof. Dr. Yahdiana Harahap, Apt and  
Prof. Dr. Dachriyanus, Apt

This research focused to investigate the pharmacokinetic profile of rubraxanthone after oral administration in mice. Rubraxanthone is the main xanthone compound in stem bark of "asam kandis". This compound has been reported to have interesting pharmacological activity both in-vitro and in-vivo. For the purposes of this research, rubraxanthone was isolated from stem bark of "asam kandis" using column chromatography and radial chromatography with silica gel as a stationary phase and step gradient polarity organic solvents as the mobile phase. Verification of the isolated compound was carried out by Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography by comparing the chromatogram pattern of the isolated compound with the standard rubraxanthone compound chromatogram. In this study also conducted the determination of the best solvent that is able to extract rubraxanthone to the maximum, namely; ethyl acetate and dichloromethane. The levels of rubraxanthone in dichloromethane and ethyl acetate extracts was determined by High Performance Liquid Chromatography using C<sub>18</sub> column (250 x 4.6 mm) and the mobile phase of methanol - 0.4% formic acid (88:12) with a flowrate of 1mL / minute obtained rubraxanthone in DCM and ethyl acetate extract was 40.099% and 33.974% respectively. From the result, it appears that DCM is the best solvent for rubraxanthone.

A sensitive method is required to quantify plasma concentration to assess pharmacokinetic profile. A simple, precise, selective and fast high performance liquid chromatograph (HPLC-UV) method has been developed and validated for the determination of rubraxanthone in human plasma in-vitro. Following a single protein precipitation step, chromatographic separation was achieved using a C<sub>18</sub> column (50mm×2.10mm, particle size 1.7µm) with a mobile phase consisting of acetonitril–0.4% formic acid (75:25, v/v). The isocratic flow was 0.3 ml/min with elution time for rubraxanthone was approximately 4 min and UV detection was at 243 nm. Calibration curves of rubraxanthone in plasma were linear in the concentration range of 200–6000 ng/ml ( $r^2 \geq 0.9997$ ). The selectivity, specificity, recovery, accuracy and precision were validated for determination of rubraxanthone in human plasma. The lower limits of quantitation of the method was 400.32 ng/mL. The validated method is a novel technique for sample preparation and quantitation, which was successfully applied to estimate the pharmacokinetic profile of rubraxanthone. Rubraxanthone after oral administration at a dose of 750 mg/kg BW in mice showed that it was absorbed rapidly in the digestive tract. The time to reach the maximum plasma concentration ( $T_{max}$ ) about 3-4 hours after oral administration. The elimination half-life ( $T_{1/2}$ ) of rubraxanthone was 6.93 hours. We observed the degree of exposure (i.e area under the curve) of rubraxanthone to be 23,90047 µg.hours.mL<sup>-1</sup>. This study showed that the bioavailability of rubraxanthone after oral administration was so low. So, further research is needed to address the cause of the low bioavailability of rubraxanthone.

Key word: HPLC, validated, bioavailability