

**PENENTUAN KADAR KUERSETIN BUNGA TELANG
(*Clitoria ternatea L.*) SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
BERDASARKAN PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI**

SKRIPSI

Oleh:

AKMAL ZAINUL AHYAR

066119231



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

**PENENTUAN KADAR KUERSETIN BUNGA TELANG
(*Clitoria ternatea L.*) SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
BERDASARKAN PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Farmasi Pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

Oleh:

AKMAL ZAINUL AHYAR

066119231



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Tugas Akhir : PENENTUAN KADAR KUERSETIN BUNGA
TELANG (*Clitoria ternatea L.*) SECARA
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
BERDASARKAN PERBEDAAN METODE
EKSTRAKSI**

**Nama : Akmal Zainur Ahyar
NPM : 066119231
Program Studi : Farmasi**

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan

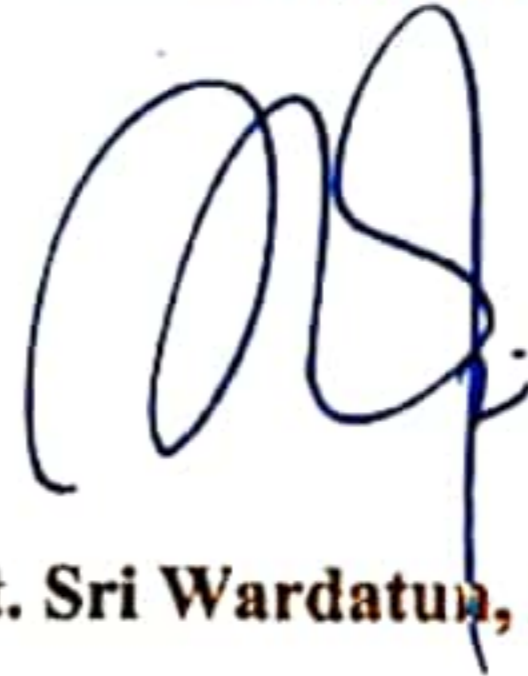
Bogor, Januari 2024

Pembimbing Pendamping



Dr. apt. Euis Nining, M.Si.

Pembimbing Utama



Dr. apt. Sri Wardatun, M.Farm.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapat gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Dengan pernyataan ini, saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Januari 2024

Materai

Akmal Zainul Ahyar

**PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Nama : Akmal Zainul Ahyar

NPM : 066119231

Judul : Penentuan Kadar Kuersetin Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L.*)
Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Berdasarkan Perbedaan
Metode Ekstraksi

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir di atas adalah benar benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam bentuk teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir dari tugas akhir ini. Dengan ini saya, melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Januari 2024

Materai

Akmal Zainul Ahyar

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kupersembahkan skripsi ini untuk orang-orang yang kusayangi.

Yang paling utama. Ibuku, Nani Sumarni dan Ayahku, Ajang Sutisna yang selalu mendo'akanku, dan selalu menasehatiku menjadi lebih baik.

Terima kasih Ibu. Terimah kasih Ayah.

Atas semua yang telah engkau berikan, semoga diberi kesehatan dan panjang umur agar dapat menemani langkah kecilku bersama adikku tercinta Fajri menuju kesuksesan.

Terima kasih untuk Ibu Dr. apt. Sri Wardatun, M.Farm. dan Dr. apt. Euis Nining, M.Si. yang telah sabar membimbing dan mengarahkan skripsi saya hingga saya dinyatakan lulus.

Terima kasih untuk dosen-dosen dan staf laboran farmasi, khususnya A Rafi dan A Gilang yang telah banyak membantu saya selama penelitian.

Terima kasih untuk teman-teman angkatan farmasi, khususnya Dzikri, Gege, Angga, Ivan, Doni, dan Ferdi yang telah banyak memberikan motivasi dan dukungan selama kuliah. Terima kasih banyak friends atas segala kebaikannya, semoga sehat selalu.

"Maybe the paths that you each shall tread are already laid before
your feet, though you do not see them"

(Galadriel)

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Akmal Zainul Ahyar, lahir di Cianjur pada tanggal 29 Oktober 2001. Merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari Bapak Ajang Sutisna dan Ibu Nani Sumarni. Penulis memulai pendidikan formalnya pada tahun 2007 di SDN Bojongsari 1 dan lulus pada tahun 2013. Kemudian penulis menyelesaikan pendidikan di SMPN 1 Sukaluyu tahun 2016, SMK Bunga Persada Cianjur tahun 2019. Pada tahun 2019 penulis melanjutkan pendidikan sarjana (S1) jurusan Farmasi, di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Selama perkuliahan penulis aktif mengikuti organisasi dan kepanitiaan di Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR). Penulis juga dipercaya menjadi asisten dosen praktikum untuk mata kuliah Fitokimia dan Farmakologi. Penulis dinyatakan lulus sebagai Sarjana Farmasi setelah melalui sidang komprehensif dan yudisium pada tanggal 25 Januari 2024.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan alhamdulillah serta memanjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah SWT karena rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “PENENTUAN KADAR KUERSETIN BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI BERDASARKAN PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1) pada Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan.

Penulis menyadari banyak pihak yang membantu dan berkontribusi dalam terselesaikannya skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. apt. Sri Wardatun, M.Farm. sebagai pembimbing utama dan Dr. apt. Euis Nining, M.Si. sebagai pembimbing pendamping yang telah banyak memberikan dukungan, waktu dan tenaga dalam penyusunan hasil penelitian ini.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
3. Segenap dosen dan staf Program Studi Farmasi yang telah membantu kelancaran perkuliahan dan penyelesaian hasil penelitian ini.
4. Kedua orangtua dan adik tercinta, yang telah memberi dukungan dan do'anya.
5. Seluruh teman-teman dan pihak lain yang sudah memberikan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak untuk perbaikan penulisan. Terakhir penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, khususnya bagi penulis dan umumnya untuk masyarakat.

Bogor, Januari 2024

Penulis

RINGKASAN

AKMAL ZAINUL AHYAR. 066119231. 2024. **Penentuan Kadar Kuersetin Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi.** Di bawah Bimbingan: Sri Wardatun dan Euis Nining.

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) telah diketahui mengandung kuersetin yang memiliki aktivitas farmakologis seperti antikanker, antiinflamasi, dan antiaging. Pada umumnya kuersetin diekstraksi menggunakan pelarut MeOH dengan maserasi, refluks atau UAE. Namun, beberapa penelitian menggunakan campuran air dengan alkohol untuk mengekstraksi kuersetin pada bunga telang. Maka, dianggap perlu untuk melakukan ekstraksi dengan metanol dan membandingkan antara metode maserasi dan UAE guna meningkatkan perolehan kadar kuersetin. Tujuan penelitian ini untuk menentukan kadar kuersetin dalam bunga telang dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) berdasarkan perbedaan metode ekstraksi maserasi dan UAE.

Tahapan penelitian meliputi pembuatan simplisia, ekstraksi, karakterisasi, dan penetapan kadar kuersetin. Ekstraksi menggunakan dua metode yaitu maserasi dan UAE. Metode ekstraksi maserasi dilakukan selama 96 jam pada suhu kamar. Metode UAE, dilakukan dengan kondisi sonikator (suhu 50 °C dengan waktu 30 menit). Penetapan kadar kuersetin menggunakan metode KCKT dengan kondisi: fase diam menggunakan kolom ODS-3; fase gerak campuran asam ortofosfat 0,1 % dan metanol, dengan perbandingan 36:64; laju alir 1,2 mL/menit; sedangkan detektor yang digunakan adalah PDA-UV.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar kuersetin ekstrak bunga telang dengan metode maserasi adalah $1,0669 \pm 0,0283$ mg/g dan dengan metode UAE adalah $1,3915 \pm 0,1789$ mg/g. Dengan hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar kuersetin. Namun, metode UAE dinilai lebih efisien dari segi waktu.

Kata kunci : Bunga telang, Kuersetin, KCKT, Maserasi, UAE

SUMMARY

AKMAL ZAINUL AHYAR. 066119231. 2024. **Determination of Quercetin Levels in Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea L.*) Using High Performance Liquid Chromatography Based on Different Extraction Methods.** Under the Guidance of: Sri Wardatun and Euis Nining.

Butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea L.*) are known to contain quercetin which has pharmacological activities such as anticancer, anti-inflammatory and antiaging. In general, quercetin is extracted using MeOH solvent by maceration, reflux or UAE. However, some studies use a mixture of water and alcohol to extract quercetin from butterfly pea flowers. Therefore, it was deemed necessary to carry out extraction with methanol and compare the maceration and UAE methods in order to increase the yield of quercetin levels. The aim of this research was to determine the quercetin content in butterfly pea flowers using the high performance liquid chromatography (HPLC) method based on the differences in maceration and UAE extraction methods.

The research stages include making simplicia, extraction, characterization and determining quercetin levels. Extraction uses two methods, namely maceration and UAE. The maceration extraction method was carried out for 96 hours at room temperature. UAE method, carried out under sonicator conditions (temperature 50 °C for 30 minutes). Determination of quercetin levels using the HPLC method with conditions: stationary phase using an ODS-3 column; the mobile phase was a mixture of 0,1 % orthophosphoric acid and methanol, with a ratio of 36:64; flow rate 1,2 mL/min; while the detector used is PDA-UV.

The results of this study showed that the quercetin content of butterfly pea flower extract using the maceration method was $1,0669 \pm 0,0283$ mg/g and using the UAE method was $1,3915 \pm 0,1789$ mg/g. The results of statistical tests show that there is no significant difference between different extraction methods on quercetin levels. However, the UAE method is considered more efficient in terms of time.

Keywords: Butterfly pea flower, Quercetin, HPLC, Maceration, UAE

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	ii
PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Telang (<i>Clitoria ternatea L.</i>).....	4
2.1.1 Deskripsi Tanaman Telang	4
2.1.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Bunga Telang	5
2.2 Ekstraksi.....	6
2.2.1 Maserasi	7
2.2.2 <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> (UAE).....	8
2.3 Kuersetin	9

2.4 Kromatografi Lapis Tipis.....	11
2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	12
2.5.1 Pengertian, Prinsip dan Cara Kerja	12
2.5.2 Instrumentasi Alat	13
2.5.3 Analisis Data	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan	17
3.3 Metode Penelitian	17
3.3.1 Pengumpulan Bahan Baku dan Determinasi Tanaman.....	18
3.3.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Bunga Telang.....	18
3.3.3 Karakterisasi Simplisia Bunga Telang.....	18
3.3.4 Pembuatan Ekstrak Bunga Telang	19
3.3.5 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
3.3.6 Identifikasi dan Penentuan Kadar Kuersetin dengan KCKT	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Determinasi Telang.....	24
4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Bunga Telang.....	24
4.3 Ekstraksi Bunga Telang	25
4.4 Karakterisasi Serbuk dan Ekstrak Bunga Telang.....	26
4.4.1 Penetapan Kadar Air	26
4.4.2 Penetapan Kadar Abu	27
4.5 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	27
4.6 Pengujian Kuersetin Ekstrak dengan KCKT	29
4.6.1 Pengukuran Panjang Gelombang dan Pemilihan Fase Gerak.....	29
4.6.2 Validasi Metode Penentuan Senyawa Kuersetin	32
4.6.3 Uji Kualitatif Kuersetin Ekstrak dengan KCKT	34

4.6.4 Hasil Penentuan Kadar Kuersetin Sampel.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Tanaman Telang (Marpaung, 2020).....	4
2. Struktur Kuersetin (Yang <i>et al.</i> , 2020).....	10
3. Biosintesis Kuersetin (Singh <i>et al.</i> , 2021).....	11
4. Sistem KCKT (Reuhs dan Rounds, 2010).	14
5. Serbuk Simplisia Bunga Telang.....	24
6. Ekstrak Kental Bunga Telang	26
7. Hasil Uji KLT di bawah sinar UV 254 nm	28
8. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin	30
9. Overlaid Kromatogram Standar Kuersetin, Ekstrak Maserasi dan Ekstrak UAE.....	35
10. Spektrum Serapan PDA-UV Kuersetin Pada Standar Kuersetin, Ekstrak Maserasi dan Ekstrak UAE	36

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Rendemen Ekstrak Bunga Telang.....	25
2. Hasil Kadar Air Simplisia dan Ekstrak Bunga Telang	26
3. Hasil Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Bunga Telang	27
4. Hasi Uji KLT	29
5. Profil Kromatogram	31
6. Hasil Validasi Metode.....	33
7. Hasil Uji Kadar Kuersetin Ekstrak.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Alur Penelitian	48
2. Surat Hasil Determinasi	49
3. Perhitungan Rendemen Serbuk Dan Ekstrak Bunga Telang.....	50
4. Hasil Uji Kadar Air Dan Kadar Abu.....	51
5. Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	54
6. Optimasi Fase Gerak Dan Uji Kualitatif.....	55
7. Data Validasi Metode.....	60
8. Data Kurva Kalibrasi Kuersetin	74
9. Hasil Uji Kadar Kuersetin Ekstrak Bunga Telang	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) semakin populer di Indonesia sebagai bunga yang menawarkan banyak manfaat. Umumnya bunga telang digunakan sebagai pewarna alami makanan dan minuman pada berbagai produk pangan lokal di Indonesia. Bunga telang sering digunakan sebagai pewarna makanan alami, seperti dalam nasi telang, pie telang, puding telang, dan bahkan sebagai minuman seperti teh telang. Bunga telang juga memiliki banyak manfaat sebagai obat tradisional (Zahara, 2022). Bunga telang selama ini juga telah banyak digunakan secara empiris di Indonesia sebagai bahan jamu. Khususnya teh telang yang dimanfaatkan sebagai pereda batuk, gejala alergi, dan asma (Singh *et al.*, 2018; Kusuma, 2019).

Ekstrak etanol bunga telang mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder. Raihan dan Dalimunthe (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol bunga telang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Sementara itu, Jeyaraj *et al.* (2020) menyatakan bahwa ekstrak metanol bunga telang telah teridentifikasi mengandung flavonol glikosida, di antaranya kaempferol, kuersetin dan mirisetin. Kuersetin merupakan salah satu golongan flavonoid yang paling umum sebagai metabolit sekunder pada tanaman dan merupakan senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75 % dari flavonoid. Dalam golongan flavonoid, kuersetin adalah salah satu zat aktif yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Bila vitamin C mempunyai nilai aktivitas antioksidan 1, maka kuersetin memiliki nilai aktivitas antioksidan 4,7 (Anggorowati *et al.*, 2016). Selain aktivitas antioksidan yang kuat, kuersetin juga memiliki aktivitas farmakologi seperti antikanker, antiinflamasi, antiobesitas, mencegah penyakit jantung koroner, mencegah penyakit asma dan paru-paru, neuroprotektif, pengobatan gangguan kulit, antiaging, dan mencegah komplikasi diabetes (Gupta *et al.*, 2016).

Kuersetin merupakan metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman dan umumnya ditemukan pada buah dan sayuran. Kuersetin bersifat polar dan mengandung gugus kromofor yang dapat dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis. Beberapa penelitian juga telah dilakukan untuk mengukur kadar kuersetin suatu tanaman dengan KCKT menggunakan fase diam C18 dengan fase gerak air:metanol. Miean dan Mohamed (2001), melaporkan bahwa kadar kuersetin pada ekstrak metanol-HCl bunga kol (*Brassica oleracea*) dengan metode refluks sebesar 0,219 mg/g. Isnaini *et al.* (2018) melaporkan kadar kuersetin pada ekstrak etanol 96 % bunga senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dengan metode maserasi sebesar 0,0943 mg/g, menggunakan fase gerak air:asetonitril. Alvarez *et al.* (2018) melaporkan bahwa kadar kuersetin pada ekstrak metanol-HCl varietas rosela putih (*Alma Blanca*) dengan metode refluks sebesar 1,022 mg/g. Sementara itu, Kazuma *et al.* (2003), melaporkan kadar kuersetin pada ekstrak metanol-HCl bunga telang sebesar 2,10 pmol/mg, menggunakan fase gerak asam trifluoroasetat:metanol. Kemudian Zakaria *et al.* (2018), melaporkan kadar kuersetin ekstrak air bunga telang dengan metode dekok sebesar 0,4028 mg/g, menggunakan fase gerak air:metanol:asetonitril. Selanjutnya Brilliantama *et al.* (2022) melaporkan kadar kuersetin ekstrak metanol-air bunga telang dengan metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE) sebesar 0,1742 mg/g, menggunakan fase gerak air:asetonitril.

Ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa metabolit, baik primer maupun sekunder, dari biomasa yang tidak dibutuhkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor, termasuk karakteristik bahan, stabilitas metabolit, rendemen, kualitas yang diharapkan, serta pertimbangan biaya dan waktu (Nugroho, 2017). Metode ekstraksi sangat berpengaruh terhadap penarikan senyawa aktif yang terdapat dalam suatu tanaman. Menurut penelitian Mehmood (2019), ekstraksi bunga telang menggunakan metode ultrasonik terbukti berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar total fenolik dan flavonoid. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kadar kuersetin yang terdeteksi pada bunga telang cukup kecil, dan pengembangan metode ekstraksi modern seperti

UAE ternyata efektif untuk meningkatkan perolehan kadar kuersetin dalam bunga telang. Sementara itu, beberapa penelitian menggunakan air atau campuran air:alkohol untuk mengekstraksi kuersetin. Sedangkan kuersetin sukar larut dalam air (Abraham dan Acree, 2014). Berdasarkan latar belakang di atas, penulis melakukan penentuan kadar kuersetin bunga telang secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan membandingkan dua metode ekstraksi yang berbeda, yaitu ekstraksi maserasi dan UAE, untuk menilai efisiensi (rendemen, kadar, biaya dan waktu) metode ekstraksi.

1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan kadar kuersetin dalam bunga telang dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) berdasarkan perbedaan metode ekstraksi (maserasi dan *ultrasonic-assisted extraction*).

1.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar kuersetin bunga telang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Telang (*Clitoria ternatea* L.)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Telang

Tanaman telang (*Clitoria ternatea* L.) termasuk dalam suku *Papilionaceae* atau *Fabaceae* (polong-polongan). Tanaman telang merupakan herba yang dapat tumbuh di pekarangan rumah, di perkebunan maupun di pinggir sawah. Termasuk tanaman yang tumbuh merambat ke arah kiri, sehingga membutuhkan penyangga. Tanaman ini dapat hidup pada ketinggian antara 1–1800 mdpl pada berbagai jenis tanah, termasuk pada tanah berpasir dan tanah merah dengan pH berkisar antara 5,5 – 8,9. Suhu yang optimal bagi pertumbuhannya berkisar antara 19-28 °C dengan rata-rata curah hujan 2000 mm/tahun (Zahara, 2022; Cook *et al.*, 2005). Tanaman ini tumbuh menyebar di berbagai belahan dunia beriklim tropis dan subtropis di benua Asia dan Pasifik, Amerika dan Karibia, Afrika, dan Australia (Gomez dan Kalamani, 2003). Gambar tanaman telang ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Telang (Marpaung, 2020).

Berdasarkan Budiasih (2017), taksonomi tanaman telang dikelompokkan ke dalam kingdom *Plantae* atau tanaman, divisi *Tracheophyta*, *Infrodivisi* *Angiospermae*, kelas *Mangnoliopsida*, ordo *Fabales*, familia *Fabacea*, genus *Clitoria* L, dan spesies *Clitoria ternatea*. Secara etimologi nama spesifik tanaman ini diduga berasal dari pulau Ternate di kepulauan Indonesia, karena merujuk pada

taksonomi Linnaeus, lokasi ditemukan tanaman menjadi penanda spesifik dari tanaman. Tanaman telang dikenal dengan sebutan bunga telang karena bagian yang paling menonjol dari tanaman ini adalah bunganya yang indah dan berwarna-warni. Oleh karena itu, orang lebih sering menyebut tanaman ini dengan sebutan "bunga telang" daripada hanya "telang" saja.

Telang merupakan tanaman monokotil yang memiliki bunga berwarna biru, putih, dan coklat. Bunga telang merupakan bunga berkelamin dua (*hermaphroditus*) dengan benang sari dan putik, sehingga dikenal sebagai bunga sempurna. Bunganya memiliki kelopak bulat telur yang berjumlah 2 dan berhadapan, dengan warna bagian dalam putih kekuningan dan bagian luar berwarna biru tua. Daun telang termasuk daun tidak lengkap karena tidak memiliki upih daun, hanya memiliki tangkai daun (*petiolus*) dan helai daun (*lamina*), berbentuk bulat telur dengan ujung dan pangkal membulat. Akar telang adalah akar tunggang berwarna putih kotor, meliputi leher akar (*Colum radisi*), batang akar (*Corpus radisi*), ujung akar (*Apeks radisi*), dan serabut akar (*Fibrila radicalis*). Biji telang berbentuk seperti ginjal, pada saat masih muda berwarna hijau, setelah tua bijinya berwarna hitam (Dalimartha, 2008).

2.1.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Bunga Telang

Komponen metabolit primer dalam bunga telang per berat kering adalah lemak sebanyak 32,9 %, karbohidrat sebanyak 29,3 %, dan serat kasar sebanyak 27,6 %. Sementara itu, protein terdapat dalam jumlah yang relatif kecil yaitu sebanyak 4,2 %. Komposisi asam lemak meliputi asam palmitat, stearat, oleat, linoleat, dan linolenat (Marpaung, 2020; Neda *et al.*, 2013; Hussain, 1998). Bunga telang juga memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder, di antaranya; senyawa flavonoid seperti kelas flavonol glikosida (kaempferol, kuersetin, dan mirisetin), kelas antosianin (delfinidin dan ternatin), kelas flavon (Skutellarin, baikalein, luteolin dan apigenin), kelas flavonol (epikatekin) (Kazuma *et al.*, 2003; Balaji *et al.*, 2016; Siti Azima *et al.*, 2017); senyawa tanin, senyawa alkaloid, senyawa saponin, dan senyawa terpenoid (triterpenoid, fitosterol, dan tokoferol) (Marpaung, 2020).

Bunga telang sering digunakan dalam pengobatan tradisional, di India ekstrak bunga telang telah digunakan sebagai bahan formulasi herbal untuk pengobatan berbagai gangguan neurologis dan untuk memperkuat kemampuan intelektual (Gollen *et al.*, 2018), di Myanmar campuran jus bunga telang dan susu digunakan untuk menyembuhkan sakit mata, dan di Indonesia khususnya masyarakat betawi memanfaatkan bunga ini untuk membersihkan kotoran pada mata bayi (Marpaung, 2020). Bunga telang juga digunakan sebagai suplemen untuk meringankan gejala berbagai penyakit termasuk demam, peradangan, dan nyeri. Sejauh ini, aktivitas farmakologis yang telah diteliti menunjukkan bahwa bunga telang memiliki aktivitas antidiabetes, penghambatan agregasi trombosit, relaksan otot polos (Mukherjee *et al.*, 2008), antihiperqlikemik, antihiperlipidemia, hepatoprotektor, antioksidan, anti-mikroba, dan potensi sebagai antikanker (Gollen *et al.*, 2018).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak larut menggunakan pelarut cair. Dengan mengetahui senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia, dapat memudahkan pemilihan pelarut yang sesuai untuk proses ekstraksi. Ekstrak merupakan produk berupa sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani sesuai dengan metode yang tepat (Depkes RI, 2000).

Prinsip proses ekstraksi dimulai dengan pecahnya jaringan atau dinding sel tanaman menggunakan perlakuan tertentu. Selanjutnya, senyawa target ditarik menggunakan pelarut organik yang sesuai, berdasarkan prinsip kesamaan atau perbedaan polaritas antara senyawa dan pelarut. Saat sampel tanaman bersentuhan dengan pelarut, terjadi proses yang berlangsung secara dinamis yang dapat dibagi menjadi tiga fase umum. Pertama, pelarut merusak dinding sel dan jaringan, kemudian masuk ke dalam sel. Selanjutnya, pelarut melarutkan senyawa-senyawa yang diinginkan. Akhirnya, pelarut yang mengandung senyawa metabolit terlarut dipisahkan dari bahan atau biomassa penghasilnya (Nugroho, 2017).

Ada beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan untuk tumbuhan obat, dan umumnya ekstraksi sering dibedakan dengan metode dingin (nontermal)

dan metode panas. Untuk metode ekstraksi dingin di antaranya maserasi, yaitu pengestrakan simplisia dengan pelarut pada suhu ruang dengan beberapa kali pengadukan; dan perkolasi, yaitu ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru (dialiri terus menerus). Untuk metode panas di antaranya refluks, soklet infus, dekok, dan digesti. Ekstraksi metode refluks dilakukan pada suhu titik didih pelarut yang digunakan dengan pendingin balik. Metode soklet melibatkan pelarut yang disirkulasikan dalam suatu sistem tertutup dengan pemanasan dan pendinginan berulang. Metode infus dan dekok melibatkan ekstraksi dengan cara merebus bahan dalam air mendidih (untuk infus 15-20 menit dan untuk dekok 30 menit). Metode digesti disebut juga maserasi kinetik (pengadukan kontinyu) pada temperatur lebih tinggi, umumnya dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Depkes, 2000).

Selain metode ekstraksi panas dan dingin, dikenal juga beberapa metode ekstraksi modern, seperti ekstraksi dengan ultrasonikasi, ekstraksi dengan pelarut bertekanan, *Supercritical Fluid Extraction*, dan *Counter-current Extraction*. Metode modern ini diciptakan untuk meningkatkan efisiensi dan kuantitas dari proses ekstraksi senyawa-senyawa bioaktif, karena metode konvensional seperti metode maserasi atau perkolasi memiliki beberapa kelemahan, seperti memerlukan waktu yang cukup lama dan tidak efisien. Dalam memilih metode ekstraksi, harus dipertimbangkan sifat fisik dan kimia dari bahan baku maupun metabolit sekunder dan jenis pelarut yang sesuai. Selain itu, faktor efisiensi juga harus dipertimbangkan (rendemen, waktu, dan biaya) (Handa *et al.*, 2008; Nugroho, 2017). Berikut uraian dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) yang digunakan pada penelitian ini.

2.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi di mana simplisia direndam dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan suhu kamar untuk jangka waktu tertentu (umumnya 3 hari) dengan beberapa kali pengadukan sampai bahan yang telah larut, campuran tersebut kemudian disaring (Handa *et al.*, 2008). Pada proses perendaman, dinding sel dan membran sel dari sampel tanaman akan pecah akibat perbedaan tekanan antara di dalam sel dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi

senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Novitasari dan Putri, 2016).

Metode maserasi kurang efektif dalam hal waktu dan hasil rendemen. Proses satu kali ekstraksi membutuhkan waktu antara 1 hingga 7 hari, tergantung pada simplisia yang diekstrak. Semakin keras struktur jaringan dan dinding sel pada simplisia, semakin lama waktu yang dibutuhkan. Metode ini juga memerlukan volume pelarut yang lebih banyak, dan ada risiko lebih besar untuk kehilangan senyawa metabolit selama proses, karena bisa menempel pada bahan, kertas saring, bejana, dan lain-lain. Selain itu, ada kemungkinan terjadi perubahan struktur kimia dari metabolit yang tidak stabil akibat durasi proses yang lama dan kontak dengan pelarut (Nugroho, 2017).

2.2.2 *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)*

Metode ini merupakan pengembangan dari metode maserasi, di mana proses pengadukan digantikan dengan pemberian gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik tersebut akan menghasilkan efek getaran dengan frekuensi yang kuat terhadap simplisia sehingga menimbulkan efek tekanan mekanis (gelembung kavitasi) pada sel dan jaringan. Dampak dari efek ini adalah terbukanya dinding sel dan terlarutnya senyawa metabolit pada pelarut (Nugroho, 2017). Ultrasonik menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman yang disebut erosi. Erosi ini juga dapat dikaitkan dengan ledakan gelembung kavitasi pada permukaan jaringan tanaman. Bagian yang terkikis memfasilitasi kontak pelarut, meningkatkan hasil ekstraksi (Petigny *et al.*, 2013).

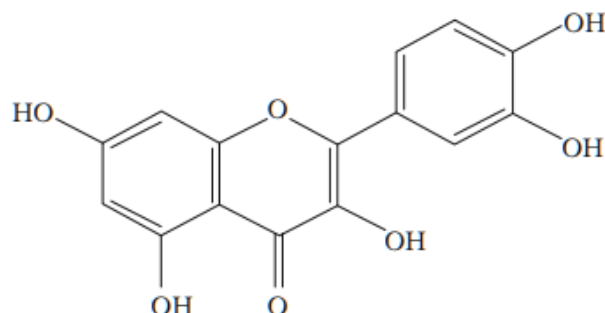
Ekstraksi ultrasonik tidak bekerja dengan satu mekanisme tetapi melalui mekanisme independen atau gabungan yang berbeda antara fragmentasi, erosi, kapilaritas, deteksturasi, dan sonoporasi. Fragmentasi kemungkinan besar disebabkan oleh pengurangan ukuran partikel yang terjadi selama penerapan ultrasonik. Fragmentasi dapat disebabkan oleh tumbukan antar partikel dan dari gelombang kejut yang tercipta dari pecahnya gelembung kavitasi dalam cairan. Kapilaritas mengacu pada peningkatan kedalaman dan kecepatan penetrasi cairan ke dalam kanal dan pori-pori di bawah beberapa kondisi sonikasi. Deteksturasi (kerusakan) dalam UAE, merupakan proses pengurangan atau perubahan tekstur

dalam suatu bahan karena gelombang ultrasonik. Sonoporasi terjadi karena adanya fenomena kavitasi yang terjadi akibat tekanan dan getaran gelombang ultrasonik pada cairan ekstraksi (Chemat *et al.*, 2016).

UAE melibatkan penggunaan gelombang ultrasonik dengan rentang frekuensi antara 20 kHz hingga 2000 kHz. Frekuensi ini bertujuan untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menciptakan fenomena kavitasi. Namun, salah satu kelemahan dari prosedur ini adalah efek merusak yang diketahui terjadi pada konstituen aktif tanaman obat akibat energi ultrasonik (frekuensi di atas 20 kHz). Hal ini disebabkan oleh pembentukan radikal bebas yang dapat mengakibatkan perubahan yang tidak diinginkan pada molekul obat. (Handa *et al.*, 2008).

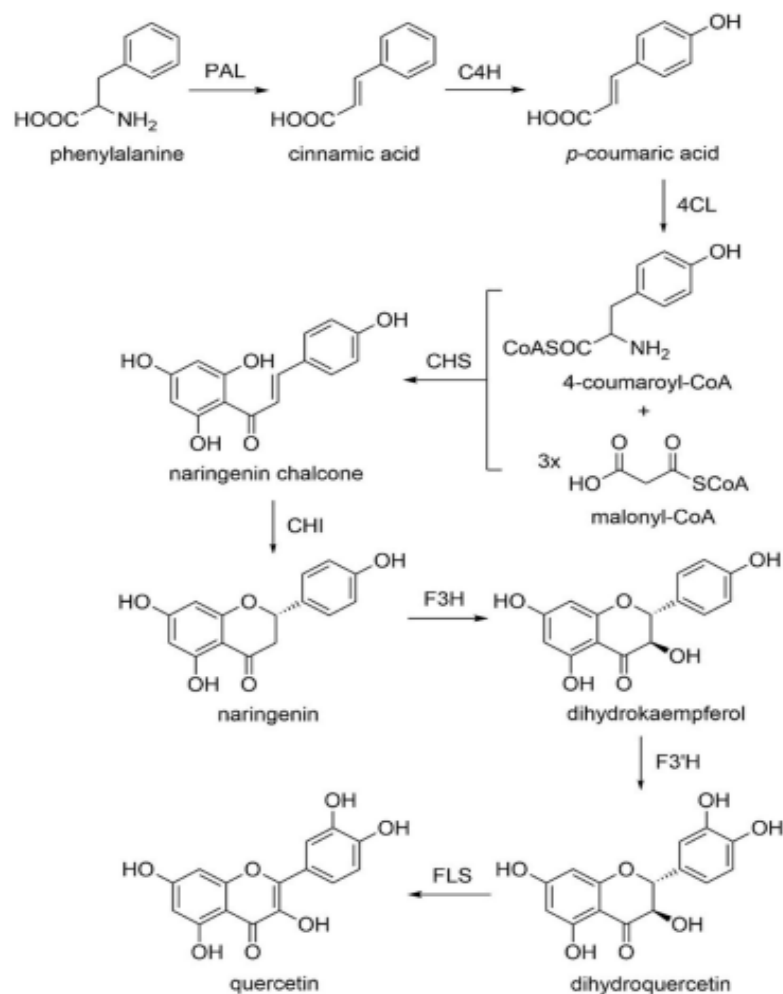
2.3 Kuersetin

Kuersetin adalah salah satu flavonoid penting yang termasuk dalam kelas flavonol dan terdistribusi secara luas pada buah dan sayuran. Secara umum, tumbuhan tidak hanya mengandung aglikon (kuersetin) tetapi juga berbagai jenis bentuk kuersetin terkonjugasi dengan glikosida serta metil eter. Kuersetin memiliki gugus ketokarbonil dalam molekulnya, dan atom oksigen pada karbon pertama bersifat basa dan dapat menghasilkan garam dengan kuat asam. Struktur molekulnya mengandung empat gugus aktif, yaitu, gugus dihidroksi antara cincin A, o-dihidroksi gugus B, cincin C pada C2, ikatan rangkap pada C3, dan 4-karbonil. Dengan adanya gugus hidroksil fenolik dan ikatan rangkap membuat kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Sifat antioksidan dan anti-inflamasinya terkait erat untuk pencegahan penyakit kardiovaskular dan kanker (Magar and Sohng, 2020; Yang *et al.*, 2020). Umumnya kuersetin diekstraksi menggunakan pelarut metanol, etanol, atau campurannya dengan air, asam asetat, asam hidroklorik dan larutan alkali. Selain itu, digunakan juga campuran aseton dan asetonitril dalam air (Dmitrienko *et al.*, 2012). Struktur kuersetin ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kuersetin (Yang *et al.*, 2020).

Biosintesis kuersetin terjadi melalui jalur metabolisme fenilpropanoid. Awalnya, asam sinamat disintesis dari fenilalanin; reaksi ini dikatalisis oleh enzim penting *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL). Enzim utama sinamat 4-hidroksilase (C4H) juga mengkatalisis reaksi oksidasi asam sinamat untuk menghasilkan asam p-kumarat. Asam p-kumarat yang disintesis dengan gugus karboksilat ini mengalami ligasi dengan CoA dan menghasilkan *4-coumaroyl-CoA*. Reaksi khusus ini dikatalisis dengan bantuan enzim p-kumarat: CoA ligase (4-CL). Enzim *chalcone synthase* (CHS) menghasilkan naringenin chalcone dari satu molekul *p-coumaroyl-CoA* dan tiga malonil-CoA untuk menghasilkan cincin A dan B penting dari kerangka flavonoid (yaitu, C6-C3-C6). Pembangunan cincin-C heterosiklik terjadi melalui *chalcone isomerase* (CHI), yang menghasilkan naringenin (flavanon), yang berfungsi sebagai senyawa perantara. Sementara itu, flavanon 3 β -hidroksilase (F3H) mengalami hidroksilasi naringenin dan mensintesis dihidrokaempferol. Demikian juga, flavonol 3'-hidroksilase mengalami reaksi hidroksilasi pada dihidrokaempferol untuk membangun dihidrokuersetin. Akhirnya, aksi enzim flavonol sintase pada dihidrokuersetin mengkatalisis senyawa kuersetin (Singh *et al.*, 2021). Jalur biosintesis kuersetin ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Biosintesis Kuersetin (Singh *et al.*, 2021).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam suatu campuran pada lempeng KLT yang berupa lapisan tipis silika gel atau selulosa pada plat aluminium. Pemisahan terjadi karena adanya perbedaan afinitas dan interaksi senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Spot yang muncul setelah dilakukan elusi dapat dianalisis kualitatif sehingga didapatkan nilai Rf (*retardation factor*) (Ihsan *et al.*, 2020). Nilai Rf yang dinilai baik berkisar antara 0,2–0,8 untuk deteksi UV dan 0,2–0,9 untuk deteksi visibel. Nilai Rf yang kurang dari 0,2 berarti belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase gerak dan fase diam sehingga bentuk noda kurang simetris. Sedangkan pada nilai Rf di atas 0,8 maka

spot analit dapat diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi lampu UV (Gandjar dan Rohman, 2007). KLT melibatkan adsorpsi yaitu penyerapan fisik zat terlarut menjadi partikel sorben (tidak larut), dan partisi yaitu pelarutan zat terlarut menjadi cairan stasioner pada sorben, karena keduanya memiliki jenis gaya yang sama, yaitu ikatan dipol-dipol terinduksi dan ikatan hidrogen (Santiago dan Strobel, 2013).

2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

2.5.1 Pengertian, Prinsip dan Cara Kerja

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau dikenal juga dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu dari beberapa metode kromatografi untuk pemisahan dan analisis campuran kimia. Dibandingkan dengan prosedur pemisahan lainnya, penerapan KCKT hampir dapat digunakan secara universal dengan presisi pengujian yang sangat baik (Snyder *et al.*, 2010). Prinsip dasar KCKT adalah proses adsorpsi dinamis di mana molekul dari zat yang diuji akan bergerak melalui kolom. Bahan dalam kolom (umumnya silika) akan berinteraksi dengan komponen sampel sehingga menghasilkan pemisahan. Lamanya waktu interaksi (*retention time*), dipengaruhi oleh kekuatan interaksi antara bahan kolom, eluen, dan komponen sampel (Angraini dan Desmaniar, 2020).

KCKT dilakukan dengan menginjeksi sejumlah kecil sampel cairan ke dalam aliran cairan yang bergerak (disebut fase gerak) yang melewati kolom yang dikemas dengan partikel fase diam. Pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya bergantung pada perbedaan derajat retensi (t_R) masing-masing komponen dalam kolom. Sejauh mana suatu komponen dipertahankan dalam kolom ditentukan oleh partisi antara fase gerak cair dan fase diam. KCKT partisi dipengaruhi oleh interaksi fase diam dan fase zat terlarut/gerak. Komponen-komponen ini dipisahkan satu sama lain oleh kolom yang melibatkan berbagai interaksi kimia dan/atau fisik antara molekulnya dan partikel kolom. Komponen-komponen yang terpisah ini dideteksi di pintu keluar tabung (kolom) ini oleh perangkat aliran (detektor) yang mengukur jumlahnya (Ali, 2022).

Berdasarkan sistem operasionalnya, KCKT dibedakan menjadi 2 yaitu sistem isokratik (berkelanjutan) dan gradien (berubah persatuan waktu). Sistem

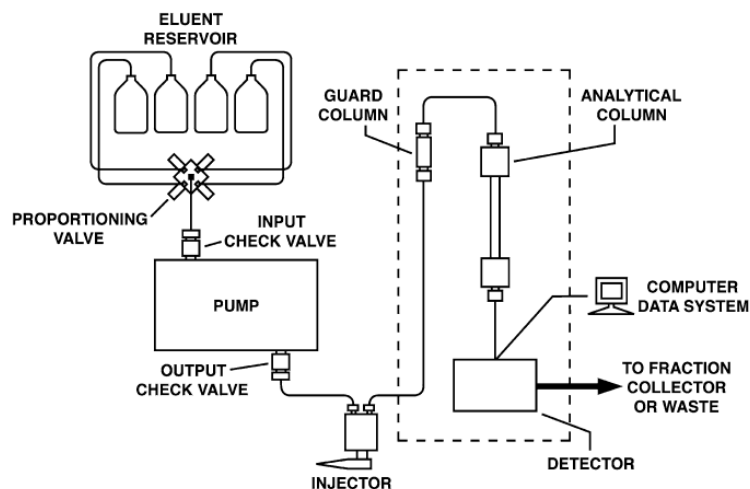
isokratik adalah sistem yang paling sederhana, karena dapat dilengkapi dengan satu pompa. Sehingga apabila akan menggunakan pelarut campuran, maka pelarut dicampurkan secara manual terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke reservoir (Murningsih, 2000).

Sistem elusi gradien digunakan untuk menangani sampel yang tidak cocok untuk elusi isokratik. Alasan paling umum untuk penggunaan elusi gradien adalah sampel yang rentang retensinya melebihi tujuan yang diinginkan untuk pemisahan isokratik ($1 \leq k \leq 10$), k yaitu jumlah komponen atau analit yang dipisahkan dari sampel. Ada sejumlah situasi lain yang mendukung atau memerlukan penggunaan elusi gradien, seperti sampel dengan berat molekul tinggi, pemisahan generik, pengembangan metode KCKT yang efisien, preparasi sampel, dan *peak tailing* (kesimetrisan) (Snyder, 2010).

Sampel dalam bentuk cair dapat dianalisis secara langsung, setelah pembersihan yang sesuai untuk menghilangkan bahan partikulat atau setelah ekstraksi yang sesuai untuk menghilangkan pengganggu matriks. Dalam KCKT, injeksi volume sampel yang tepat ke dalam kolom harus dilakukan secepat mungkin untuk menyebabkan gangguan minimum pada fase gerak yang alirannya harus stabil dari kolom ke detektor. Ini dilakukan oleh katup bertekanan tinggi khusus, baik manual atau bermotor, yang memiliki beberapa jalur aliran, yang terletak tepat sebelum kolom. Ini harus menjadi komponen presisi yang mampu menahan tekanan lebih besar dari 30.000 kPa (Ali, 2022).

2.5.2 Instrumentasi Alat

Komponen utama dari sistem KCKT adalah pompa, injektor, kolom, detektor, dan sistem data. Masing-masing dari komponen ini memiliki fungsi dan prinsip kerjanya sendiri, dimulai dari penginjeksian sampel hingga analisis kromatogram. Diagram skematik dari sistem dasar KCKT ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Sistem KCKT (Reuhs dan Rounds, 2010).

Dalam analisis dengan instrumen KCKT perlu mengatur komponen sistem yang sesuai (seperti kolom dan detector) dengan sampel yang dianalisis. Setelah pengaturan sistem selesai, maka analisis dapat dilaksanakan. Dimulai dari injeksi sampel oleh injektor. Injektor akan menempatkan sampel ke aliran fase gerak untuk dimasukkan ke dalam kolom. Hampir semua sistem KCKT menggunakan injektor katup, yang memisahkan pengantar sampel dari sistem eluen tekanan tinggi. Dengan injeksi pada katup di posisi *LOAD*, sampel dimuat secara eksternal, *loop* volume tetap menggunakan jarum suntik. Sedangkan eluen mengalir langsung dari pompa ke kolom pada tekanan tinggi. Saat katup diputar ke posisi *INJECT*, *loop* menjadi bagian dari aliran aliran eluen dan sampel dibawa ke kolom (Reuhs dan Rounds, 2010).

Setelah sampel diinjeksikan, pelarut yang mengandung sampel dihisap oleh pompa dan dialirkan ke dalam kolom KCKT. Pompa KCKT ini dapat mengirimkan fase gerak (eluen) melalui sistem, biasanya dengan laju alir 0,4-1 mL/menit, yang terkendali, akurat, dan tepat. Kebanyakan dari pompa yang saat ini digunakan dalam KCKT (>90 %) adalah pompa tipe piston bolak-balik (Reuhs dan Rounds, 2010). Kemudian pemisahan campuran analit dilakukan pada kolom. Kolom merupakan inti dari sistem KCKT. Hal ini, karena pada komponen ini pemisahan campuran analit terjadi dari interaksi antara analit, fase gerak dan fase diam pada permukaan yang luas, di mana analit yang memiliki kepolaran yang sama dengan

kolom akan tertahan dan perlahan larut oleh fase gerak yang dialirkan terus menerus. Kolom ini berupa tabung *stainless steel* yang diisi dengan partikel yang sangat kecil (1–5 μm) dari bahan berpori yang kaku. Bahan pengisi ini dipertahankan di dalam kolom dengan perlengkapan ujung khusus yang dilengkapi dengan frit berpori (disebut juga *porous discs*) yang menyambungkan aliran cairan (untuk mengirimkan fase gerak ke kolom). Kolom *stainless steel* memiliki ukuran pori pada tingkat 0,2-0,5 μm , yang memungkinkan fase gerak untuk melewatinya sementara partikel kecil dari pengisi tertahan di dalam kolom (Angraini dan Desmaniar, 2020; Kazakevich dan Lubrutto, 2007).

Komponen analit yang telah terpisah kemudian akan melewati detektor. Analit yang melewati detektor akan memberikan suatu sinyal dari perubahan konsentrasi sampel. Sinyal ini kemudian digunakan untuk menampilkan kromatogram, dan mengintegrasikan daerah puncak tiap analit (Reuhs dan Rounds, 2010). Umumnya terpasang spektroskopi UV yang mendeteksi senyawa tertentu. Banyak senyawa organik yang dapat menyerap sinar UV dari berbagai panjang gelombang. Jumlah cahaya diserap akan tergantung pada jumlah senyawa tertentu yang lewat melalui sinar UV pada saat itu (Malviya *et al.*, 2010).

Banyak analisis KCKT dilakukan dengan menggunakan detektor serapan UV-Vis, yang dapat mengukur serapan radiasi oleh senyawa yang mengandung kromofor. Tiga jenis utama detektor serapan UV-Visible adalah detektor panjang gelombang tetap (*fixed wavelength*), detektor panjang gelombang yang dapat diubah-ubah (*variable-wavelength*), dan spektrofotometer larik dioda (*diode array*). Seperti namanya, detektor paling sederhana beroperasi pada satu panjang gelombang tetap. Pemilihan panjang gelombang disediakan oleh monokromator, perangkat yang bertindak seperti prisma untuk membelokkan cahaya (Reuhs dan Rounds, 2010).

Detektor KCKT mengubah puncak sampel menjadi aliran x- (waktu) dan y- (intensitas) data, dan terkadang variabel z tambahan. *Output* detektor dicatat sebagai serangkaian puncak, masing-masing mewakili senyawa dalam campuran yang melewati detektor dan menyerap sinar UV. Area di bawah puncak sebanding dengan jumlah zat yang melewati detektor, dan area ini dapat dihitung secara

otomatis oleh komputer yang terhubung ke layar. Data-data dihasilkan dalam format analog atau digital yang kemudian dikirim ke sistem data untuk pengumpulan dan pencatatan. Sebagian besar sistem data dapat menerima *input* sinyal analog atau digital dan sebagian besar detektor memiliki *output* analog dan digital (Snyder *et al.*, 2010; Malviya *et al.*, 2010).

2.5.3 Analisis Data

Analisis data kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi (*t_R*) analit dalam sampel dengan standar referensi. Sedangkan untuk analisis kuantitatif, pengukuran konsentrasi sampel dilakukan dengan teknik kalibrasi. Kalibrasi adalah proses di mana respon detektor per satuan konsentrasi analit ditentukan. Dua teknik kalibrasi yang paling umum adalah standardisasi eksternal dan standardisasi internal. Pada standardisasi eksternal plot kalibrasi dapat dibuat secara manual dengan bantuan perangkat (misal *microsoft excel*). Metode standar eksternal mengasumsikan bahwa area puncak analit secara akurat mewakili konsentrasi analit dalam sampel asli. Data yang diplotkan pada kurva kalibrasi kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang tidak diketahui dengan rumus (Snyder, 2010):

$$\text{ng/mL analit} = \frac{\text{area analit}}{S'(\text{slope regresi linear kurva})}$$

Perbedaan utama antara standardisasi internal dan standardisasi eksternal adalah standar internal ditambahkan ke sampel dan kalibrator sebelum sampel dianalisis. Perhitungan konsentrasi analit didasarkan pada rasio luas untuk analit dan standar internal (Snyder, 2010). Standar internal menggunakan komponen yang memiliki struktur kimia yang sama dengan sampel atau standar analit, tetapi tidak ada dalam sampel yang sedang dianalisis. Jumlah internal standar yang ditambahkan pada sampel dan standar harus sama, dan senyawa ini harus terpisah dengan baik selama proses pemisahan. (Hidayat *et al.*, 2015).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga September 2023. Penelitian bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan mesh 40, Instrumen HPLC (Jasco[®]), Kolom (Inertsil[®]) ODS-3 (5 μm , 4,6 μm x 150 mm), Detektor UV-Vis (Jasco[®] UV-4075), Detektor *Photo-Diode Array* (PDA) (Jasco[®] MD-4010), mikropipet, *milipore* 0,45 μm , oven, *syringe filter* 0,22 μm , *Sonicator* (Branson[®]), timbangan analitik (And[®]), dan seperangkat peralatan gelas laboraratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang diperoleh dari Desa Ciapus, Kecamatan Ciomas, Kabupaten Bogor. Bahan kimia yang digunakan meliputi akuades, asam format, asam ortofosfat, etil asetat, kuersetin (Sigma-Aldrich, USA), kertas saring, metanol HPLC grade (Sigma-Aldrich), toluen, dan plat silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck KGaA, Germany).

3.3 Metode Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi 7 tahap utama, yaitu pengumpulan bahan baku dan determinasi tanaman; pembuatan simplisia; karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar air dan penetapan kadar abu; ekstraksi dengan metode maserasi dan UAE; identifikasi kuersetin dengan KLT; pengkondisian sistem KCKT yang diatur dengan kolom ODS, fase gerak asam ortofosfat 0,1 %:metanol (36:64), laju alir 1,2 mL/menit, dan detektor PDA-UV pada panjang gelombang 368 nm; validasi metode meliputi uji linearitas, akurasi

dan presisi; dan analisis sampel. Bagan alir disajikan pada Lampiran 1, sedangkan tahapan penelitian dijelaskan berikut ini

3.3.1 Pengumpulan Bahan Baku dan Determinasi Tanaman

Bahan baku penelitian yang digunakan adalah bunga telang yang diperoleh dari perkebunan warga Desa Ciapus, Kecamatan Ciomas, Kabupaten Bogor, dan dideterminasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor.

3.3.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Bunga Telang

Pembuatan simplisia mengacu pada penelitian Pertiwi *et al.*, (2022). Sebanyak 5 kg bunga telang segar disortasi basah untuk memilih bunga yang masih utuh dan menghilangkan benda asing, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan ditiriskan. Setelah dibersihkan, bunga dikeringkan dengan cara ditutupi kain berwarna hitam, agar terhindar dari paparan sinar matahari secara langsung, pengeringan dilakukan selama 3 hari. Setelah itu, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing atau bagian tanaman yang tidak diperlukan dan simplisia kering ditimbang. Kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan mesh 40, hingga diperoleh serbuk yang seragam. Hasilnya ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup. Persen rendemen dihitung menggunakan persamaan berikut

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot akhir simplisia (g)}}{\text{bobot sortasi basah (g)}} \times 100 \%$$

3.3.3 Karakterisasi Simplisia Bunga Telang

3.3.3.1 Penetapan Kadar Air Simplisia

Penentuan kadar air serbuk simplisia bunga telang dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri yang mengacu pada Kemenkes RI (2017). Sebanyak 2 gram sampel ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam cawan uap yang telah ditara. Cawan dikeringkan pada suhu 105 °C selama 5 jam, lalu ditimbang kembali. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25 %. Persen kadar air simplisia dihitung menggunakan persamaan berikut

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(\text{bobot sebelum dioven}) - (\text{bobot setelah konstan})}{\text{bobot simplisia}} \times 100 \%$$

3.3.3.2 Penetapan Kadar Abu Simplisia

Penentuan kadar abu serbuk simplisia bunga telang mengacu pada Kemenkes RI (2017). Serbuk simplisia bunga telang ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Kemudian krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang kembali sampai diperoleh bobot konstan yaitu selisihnya tidak lebih dari 0,25 %. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dipijarkan.

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{Krus isi abu} - \text{Krus kosong}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100 \%$$

3.3.4 Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

3.3.4.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi mengacu pada penelitian Laksmani *et al.* (2020), dengan modifikasi. Serbuk simplisia bunga telang sebanyak 50 gram direndam dengan metanol sebanyak 300 mL dalam bejana selama 48 jam, selanjutnya ekstrak disaring. Filtrat dipisahkan dan residu dilakukan re-ekstraksi dengan metanol sebanyak 200 mL. Ekstraksi dilakukan secara triplo. Semua filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 64 °C.

3.3.4.2 *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

Kondisi alat UAE mengacu pada penelitian Mehmood (2018) dan Brilliantama (2022), dengan modifikasi. Serbuk simplisia bunga telang sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan metanol sebanyak 300 mL. Campuran simplisia dan metanol diekstraksi berbantu ultrasonik dengan kondisi sonikator (suhu 50 °C, waktu 15 menit), kemudian ekstrak disaring. Filtrat dipisahkan dan residu dilakukan re-ekstraksi dengan metanol sebanyak 200 mL. Ekstraksi dilakukan secara triplo. Semua filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 64 °C.

3.3.5 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi kuersetin dengan KLT mengacu pada penelitian Doshi dan Une, (2015). Sistem KLT yang digunakan terdiri dari fase diam plat silika gel dan fase gerak toluena: etil asetat: asam format (5:4:0,2). Standar Kuersetin dan ekstrak dilarutkan dalam (10 mg/mL) metanol. Sampel disaring dan *chamber* dijenuhkan selama 30 menit. Standar kuersetin dan ekstrak ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada plat silika gel, hasil totolan dikeringkan dan dimasukkan ke dalam *chamber*. Setelah elusi selesai, plat dikeluarkan dan dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm. Dihitung nilai Rf.

3.3.6 Identifikasi dan Penentuan Kadar Kuersetin dengan KCKT

3.3.5.1 Pengkondisian Instrumen

Kondisi instrumen mengacu pada penelitian Husnia dan Budiarti, (2021) dengan modifikasi. Sistem KCKT menggunakan kolom ODS-3 dengan ukuran partikel 5 μ m dan dimensi 4,6 μ m x 150 mm. Fase gerak yang digunakan adalah campuran asam ortofosfat 0,1 % dan metanol, dengan perbandingan 36:64 secara berturut-turut. Laju alir yang diterapkan 1,2 mL per menit. Detektor yang digunakan adalah PDA-UV dengan panjang gelombang 368 nm.

3.3.5.2 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan baku kuersetin dibuat 500 ppm dengan menimbang secara seksama 25 mg kuersetin kemudian dilarutkan dalam labu ukur 50 mL menggunakan metanol hingga tanda batas. Kemudian larutan baku dibuat deret standar dengan variasi konsentrasi 5; 10; 20; 40; dan 80 ppm. Larutan baku dipipet sebanyak 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,8 mL menggunakan mikropipet diencerkan dengan metanol pada labu 5 mL. Deret standar disaring dengan *syringe filter* 0,22 μ m dan dimasukkan ke dalam vial lalu didegasifikasi selama 15 menit. Sebanyak 0,02 mL larutan standar diinjeksikan hingga didapatkan nilai koefisien regresi.

3.3.5.3 Validasi Metode

Parameter uji validasi metode yang dilakukan meliputi linearitas, akurasi dan presisi.

1. Uji Linearitas

Larutan seri baku kuersetin dibuat konsentrasi pada 5; 10; 20; 40; dan 80 ppm disuntikkan ke alat KCKT. Persamaan regresi terbaik dipilih dan juga digunakan untuk persamaan kurva baku dalam penentuan kadar kuersetin sampel. Parameter uji linieritas dilakukan replikasi tiga kali.

Kemudian, dari persamaan kurva kalibrasi kuersetin yang digunakan, kadar sebenarnya dari larutan seri disubstitusi ke dalam persamaan regresi linier sehingga diperoleh nilai $\hat{Y} = (Y \text{ topi})$. Simpangan baku residualnya ditentukan lalu dihitung nilai LOD dan LOQ.

2. Uji Akurasi dan Presisi

Uji akurasi dan presisi dilakukan menggunakan metode *spike*, dengan adisi standar kuersetin yang melibatkan tiga konsentrasi berbeda dari rendah (64 ppm), sedang (80 ppm), dan tinggi (96 ppm). Larutan *spike* dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak bunga telang dan dilarutkan pada labu 10 mL menggunakan metanol hingga tanda batas. Kemudian larutan ekstrak dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL secara triplo. Dipipet sebanyak 0,64 mL, 0,8 mL dan 0,96 mL dari larutan baku kuersetin 500 ppm dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur yang telah diisi 0,5 mL larutan ekstrak. Masing-masing labu ukur ditambah metanol hingga tanda batas. Larutan *spike* konsentrasi 64, 80, dan 96 ppm masing-masing disaring menggunakan *syringe filter* 0,22 μm kemudian disuntikkan sebanyak 20 μL ke alat KCKT pada kondisi optimum dan kromatogram larutan *spike* direkam. Replikasi dilakukan sebanyak 6 kali untuk masing-masing *spike*.

Larutan baku ekstrak dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, ditambah metanol hingga tanda batas. Larutan disaring menggunakan *syringe filter* 0,22 μm kemudian disuntikkan sebanyak 20 μL ke alat KCKT pada kondisi optimum dan kromatogram larutan ekstrak direkam. Luas area standar kuersetin dihitung dengan luas area masing-masing larutan *spike* dikurangi luas area larutan ekstrak. Selanjutnya luas area standar kuersetin dihitung persen perolehan kembalinya (% UPK) untuk uji akurasi, dan dihitung nilai persen RSD untuk uji presisi (Snyder *et al.*, 2010; Gandjar dan Rohman, 2007).

Metode perhitungan luas area standar kuersetin didasarkan pada pengurangan luas area larutan ekstrak dari masing-masing larutan spike. Selanjutnya, perolehan kembalinya luas area standar kuersetin dihitung dalam bentuk persentase untuk mengevaluasi akurasi (% UPK), dan nilai *Relative Standard Deviation* (RSD) dihitung untuk mengevaluasi presisi metode, sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Snyder *et al.* (2010).

3.3.5.4 Penetapan Panjang Gelombang dan Pemilihan Fase Gerak

Larutan standar kuersetin dibuat 100 ppm dengan cara dipipet larutan baku kuersetin sebanyak 2 mL menggunakan mikropipet diencerkan metanol pada labu 10 mL. Larutan standar disaring dengan *syringe filter* 0,22 μm dan dimasukkan ke dalam vial, lalu didegasifikasi selama 15 menit. Sebanyak 0,02 mL larutan standar diinjeksikan dan dianalisis menggunakan sistem KCKT.

Pencarian panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan detektor PDA yang dianalisis berdasarkan pola serapan sampel. Selanjutnya dilakukan pemilihan fase gerak dengan komposisi campuran asam ortofosfat 0,1 % dan metanol (36:64, 41:59, dan 46:54). Sampel diinjeksikan dan dideteksi menggunakan detektor UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan laju alir 1,2 mL/menit, kromatogram yang terbentuk dianalisis berdasarkan nilai koefisiensi kolom.

3.3.5.5 Identifikasi dan Penentuan Kadar Kuersetin pada Sampel

1. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak bunga telang ditimbang 100 mg dan dilarutkan pada labu 10 mL menggunakan metanol hingga tanda batas. Larutan diultrasonikasi selama 15 menit. Larutan kemudian dipipet 2,5 mL dan diencerkan dengan metanol hingga 5 mL. Larutan disaring menggunakan *syringe filter* 0,22 μm dan dimasukkan ke dalam vial.

2. Uji Kualitatif

Larutan baku kuersetin dipipet 0,2 mL dan diencerkan dengan fase gerak pada labu 5 mL hingga tanda batas (20 ppm). Larutan disaring dengan *syringe filter* 0,22 μm . Kemudian larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan detektor PDA-UV. Diinjeksikan masing-masing larutan standar dan larutan ekstrak ke

dalam sistem KCKT. Kromatogram yang terbentuk direkam, waktu retensi (t_R) dan pola serapan UV ekstrak dengan standar kuersetin dibandingkan.

3. Uji Kuantitatif

Larutan sampel ekstrak didegasifikasi selama 15 menit, dan diinjeksikan 20 μL ke sistem KCKT dengan kondisi optimum. Kadar sampel ekstrak ditentukan dengan luas area kromatogram sampel dihitung pada persamaan regresi linear dari kurva baku kuersetin. Kromatogram deret standar kuersetin dibuat kurva antara konsentrasi larutan standar dengan luas area kromatogram yang diperoleh, sehingga dihasilkan persamaan regresi linier ($y = bx + a$). Konsentrasi sampel diperoleh dengan memasukkan luas area ekstrak sebagai nilai Y ke dalam persamaan (Rusli, *et al.*, 2020). Untuk mencari konsentrasi sampel maka persamaan regresi linier diubah menjadi:

$$x \text{ (ppm)} = \frac{y \text{ (luas area sampel)} - a \text{ (intercept)}}{b \text{ (slope)}}$$

Konsentrasi analit sampel (ppm) hasil perhitungan regresi selanjutnya dihitung kadarnya dengan rumus:

$$\text{Kadar (} \text{mg/g)} = \frac{\text{konsentrasi sampel (ppm)} \times \text{volume awal sampel (L)} \times \text{fp}}{\text{berat sampel (g)}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Telang

Bunga telang yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari perkebunan warga Desa Ciapus, Kecamatan Ciomas, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Desa Ciapus terletak pada ketinggian sekitar 222 meter di atas permukaan laut (mdpl), dengan suhu berkisar antara 20-30 °C. Determinasi tanaman dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor. Hasil determinasi tanaman telang menunjukkan bahwa tanaman tersebut merupakan telang dengan nama latin *Clitoria ternatea L.*, yang termasuk ke dalam suku *Fabaceae*. Hasil determinasi ditampilkan pada Lampiran 2.

4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Bunga Telang

Dari bunga telang segar sebanyak 5 kg, diperoleh simplisia kering sebanyak 1020,00 gram, yang kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan mesh 40. Serbuk halus yang diperoleh sebanyak 982,20 gram. Setelah dilakukan perhitungan, perolehan rendemen simplisia sebesar 20,40 % dan rendemen serbuk simplisia sebesar 19,64 %.



Gambar 5. Serbuk Simplisia Bunga Telang

Hasil rendemen serbuk simplisia memiliki nilai lebih besar dibanding penelitian sebelumnya oleh Pertiwi *et al.* (2022) rendemen serbuk simplisia bunga telang

dengan jenis dan cara pembuatan yang sama mendapatkan rendemen sebesar 12,00 %, namun lebih rendah dari penelitian Yumni *et al.* (2022) sebesar 25,50 % dengan pengeringan menggunakan oven. Hasil ini mungkin dipengaruhi oleh kondisi pemanenan, penyimpanan, kandungan awal senyawa, dan variabilitas alamiah. Serbuk simplisia bunga telang ditampilkan pada Gambar 5.

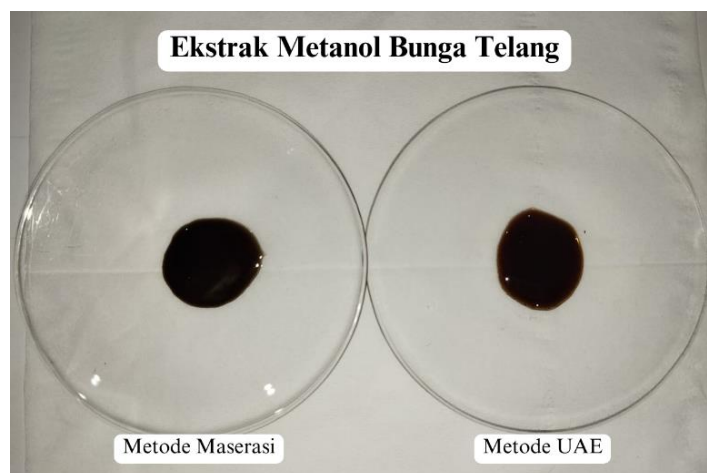
4.3 Ekstraksi Bunga Telang

Serbuk simplisia bunga telang diekstraksi dengan metode maserasi dan metode UAE. Hasil ekstraksi yang diperoleh ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Bunga Telang

Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Maserasi	14,00±0,2645	28,00±0,5291
UAE	10,63±0,3511	21,26±0,7023

Hasil rendemen ekstrak maserasi (14,00 g) lebih tinggi dibanding ekstrak dengan metode UAE (10,63 g). Rendemen UAE umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi. Namun, dalam beberapa penelitian, rendemen UAE terkadang lebih rendah dibandingkan dengan maserasi. Hal ini diduga karena faktor waktu ekstraksi yang dilakukan yaitu selama total 96 jam, jadi kemungkinan proses penarikan senyawa lebih maksimal dibandingkan dengan metode UAE. Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan nilai rendemen yang tinggi dan juga akan meningkatkan penetrasi pelarut dalam simplisia. Kelarutan senyawa dalam simplisia berjalan dengan perlahan sebanding dengan kenaikan waktu. Namun, setelah mencapai waktu optimal jumlah senyawa yang terambil dari simplisia akan mengalami penurunan (Hasnaeni, *et al.*, 2019; Yulianti *et al.*, 2014). Rendemen UAE yang lebih kecil juga dapat terjadi karena adanya senyawa organik yang terdekomposisi karena efek dari gelombang ultrasonik (Melecchi, *et al.*, 2006). Ekstrak kental bunga telang ditampilkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Ekstrak Kental Bunga Telang

4.4 Karakterisasi Serbuk dan Ekstrak Bunga Telang

4.4.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri secara triplo. Tujuan uji kadar air untuk memberikan batasan minimal besarnya kandungan air di dalam suatu bahan, seperti serbuk simplisia maupun ekstrak. Semakin tinggi kadar air suatu bahan, akan semakin besar kemungkinan kerusakannya dari aktivitas biologis internal (metabolisme) maupun mikroorganisme (Daud, *et al.*, 2019). Hasil pengujian kadar air bunga telang ditampilkan pada Tabel 2. dan perhitungan pada Lampiran 4.

Tabel 2. Hasil Kadar Air Simplisia dan Ekstrak Bunga Telang

Sampel	% Kadar Air	% Syarat
Simplisia	7,0783±0,7406	5–30 (Voigt, 1994)
Ekstrak Maserasi	1,5120±0,3642	
Ekstrak UAE	1,3264±0,2127	

Kadar air simplisia didapat sebesar 7,0783 %, untuk ekstrak maserasi dan UAE secara berturut-turut adalah 1,5120 % dan 1,3264 %. Hasil ini telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan untuk syarat mutu simplisia ≤ 10 % dan untuk ekstrak kental antara 5 - 30 % (Voigt, 1994). Persen kadar air pada ekstrak lebih rendah dari simplisia dikarenakan pada ekstrak dilakukan tahap evaporasi. Kandungan air

juga dipengaruhi oleh proses pembuatan, terutama proses pengeringan dan kondisi penyimpanan bahan.

4.4.2 Penetapan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan secara triplo. Tujuan dilakukannya uji kadar abu adalah untuk mengidentifikasi jumlah mineral internal dan eksternal yang terkandung dalam sampel, mulai dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak. Secara prinsip, uji ini melibatkan pemanasan bahan pada suhu tertentu di mana senyawa organik dan turunannya akan terdekomposisi dan menguap, sehingga hanya menyisakan unsur mineral dan senyawa anorganik (Depkes RI., 2000). Hasil pengujian kadar abu bunga telang ditampilkan pada Tabel 3. dan perhitungan pada Lampiran 4.

Tabel 3. Hasil Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Bunga Telang

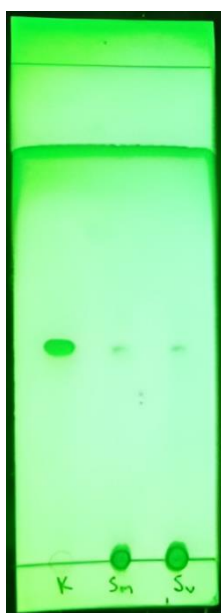
Sampel	% Kadar Abu	% Syarat
Simplisia	2,3599±0,4050	< 4,00
Ekstrak Maserasi	1,3065±0,1066	(Kemenkes RI,
Ekstrak UAE	1,2272±0,1800	2020)

Kadar abu simplisia didapat sebesar 2,3599 %, untuk ekstrak maserasi dan UAE secara berturut-turut adalah 1,3065 % dan 1,2272 %. Hasil pengujian ini memenuhi syarat karena memenuhi literatur kadar abu yaitu kurang dari 4,00 % (Kemenkes RI, 2020). Pada ekstrak dilakukan penyaringan yang mungkin menyebabkan kadar abu ekstrak lebih rendah dari simplisia. Kadar abu juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jenis tanaman, umur tanaman, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh, dan kandungan mineral dalam tanaman tersebut.

4.5 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebelum dilakukan pengujian kadar kuersetin dengan KCKT, lebih dulu dilakukan pengujian kualitatif kandungan kuersetin menggunakan KLT terhadap ekstrak bunga telang. Pengujian KLT dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ yang bersifat polar, sedangkan fase gerak (eluen) yang digunakan adalah toluena:etil asetat:asam format (5:4:0,2) yang memiliki kepolaran

bertingkat. Asam format memiliki indeks kepolaran 6 (sangat polar), karena memiliki gugus karboksilat (COOH). Etil asetat memiliki indeks polaritas 4,4 karena memiliki gugus ester (COOCH₃). Toluena memiliki indeks kepolaran 2,4 adalah senyawa hidrokarbon aromatik dan memiliki sedikit atau bahkan tidak ada gugus fungsional polar. Indeks polaritas gabungan dari fase gerak adalah 3,3478 yang cenderung semipolar. Kromatogram hasil uji KLT ditampilkan pada Gambar 7. sedangkan nilai Rf pada Tabel 4.



Gambar 7. Hasil Uji KLT di bawah sinar UV 254 nm

Keterangan: fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄; fase gerak toluena:etil asetat:asam format (5:4:0,2); K = Standar kuersetin, Sm = Sampel ekstrak maserasi, Su = Sampel ekstrak UAE.

Pemisahan senyawa didasarkan pada interaksi antara zat terlarut dan fase gerak untuk mendapatkan tempat pengikatan pada fase diam. Suatu senyawa akan bergerak ke atas atau tidak bergantung pada sifat fisik senyawa (struktur molekulnya, khususnya gugus fungsi). Pada proses ini, fase gerak akan mengangkut senyawa yang paling mudah larut ke bagian atas plat silika. Sementara itu, senyawa yang kurang larut dalam fase gerak dan memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap plat silika akan tetap tertinggal (Kumar *et al.*, 2013).

Tabel 4. Hasil Uji KLT

Sampel	Jarak Spot (cm)	Rf
Standar Kuersetin	4,5	0,53
Ekstrak Maserasi	4,4	0,52
Ekstrak UAE	4,4	0,52

Hasil uji KLT memberikan spot noda berwarna coklat pada plat ketika diamati di bawah sinar UV 254 nm. Standar kuersetin memiliki nilai Rf 0,53 dan sampel ekstrak maserasi dan UAE memiliki nilai Rf 0,52. Nilai Rf memberikan identifikasi awal tentang kesamaan antara standar dan sampel. Perbedaan nilai Rf antara standar kuersetin dan sampel ekstrak dianggap kecil maka dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung kuersetin. Berdasarkan Cai (2014), jika dua titik spot menempuh jarak yang sama atau mempunyai nilai Rf yang sama, maka dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa tersebut merupakan molekul yang sama.

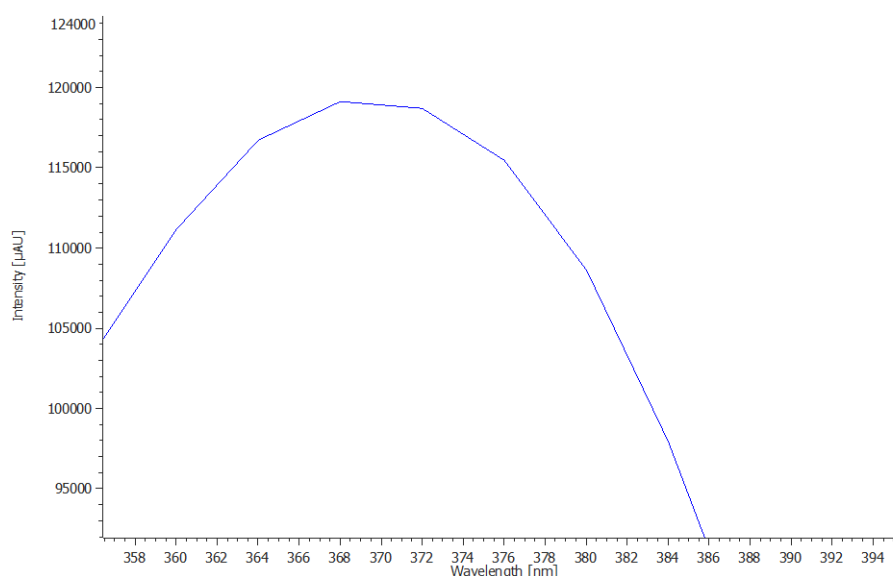
4.6 Pengujian Kuersetin Ekstrak dengan KCKT

Penentuan kadar kuersetin ekstrak bunga telang dilakukan dengan metode KCKT. Ekstrak tumbuhan mengandung berbagai campuran komponen fitokimia dengan berbagai polaritas, dan pemisahannya menjadi kesulitan utama dalam proses identifikasi dan karakterisasi senyawa. Oladimeji dan Valan (2020), menjelaskan bahwa analisis dengan KCKT memiliki proses yang fleksibel, stabil, dan umum digunakan untuk isolasi senyawa. KCKT sangat cocok untuk senyawa yang berat molekulnya tidak mudah menguap, tidak stabil secara termal, dan kuat.

4.6.1 Pengukuran Panjang Gelombang dan Pemilihan Fase Gerak

Sebelum dilakukan penentuan kadar kuersetin ekstrak bunga telang, sistem KCKT perlu dilakukan pengkondisian untuk membantu menciptakan kondisi analisis yang konsisten. Optimasi kondisi KCKT dilakukan mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rusli, *et al.* (2020), juga Husnia dan Budiarti, (2021). Kedua penelitian tersebut menggunakan KCKT sehingga dalam optimasi metode untuk penelitian ini dilakukan beberapa adaptasi, seperti laju alir, panjang gelombang maksimum dan fase gerak yang digunakan. Pengukuran panjang

gelombang maksimum kuersetin dilakukan menggunakan detektor *Photodiode-array* (PDA). Pengukuran ini dilakukan untuk mendapatkan panjang gelombang yang dapat mendeteksi kandungan kuersetin secara optimum, dan dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh 368 nm, tidak jauh berbeda dengan Husnia dan Budiarti (2021). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ditampilkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pemilihan fase gerak dilakukan untuk mendapatkan karakteristik pemisahan senyawa standar maupun sampel untuk mendapatkan sistem analisis yang optimal. Komposisi fase gerak yang digunakan adalah campuran asam ortofosfat 0,1 % dan metanol (36:64, 41:59, dan 46:54), dengan sistem KCKT fase terbalik menggunakan kolom ODS-3. Berdasarkan Rosydiati dan Saleh (2019), suatu campuran analit akan dipisahkan berdasarkan kepolarannya di dalam kolom dengan pengaruh fase gerak. Fase gerak melarutkan atau membawa suatu analit yang akan dipisahkan dari campuran sampel melewati kolom, sehingga memiliki rentang waktu retensi serta nilai selektivitas yang cukup memadai.

Menurut Snyder (2010) juga Rosydiati dan Saleh, (2019), syarat kromatogram yang baik, antara lain memiliki bentuk *peak* : simetri (mendekati 1),

resolusi: $\geq 1,5$, dan waktu retensi : < 10 menit. Optimasi fase gerak ditentukan berdasarkan analisis resolusi peak dan efisiensi kolom yang terdiri dari nilai NTP dan HETP. Kemampuan kolom untuk menghasilkan puncak kromatogram ditentukan oleh nilai N atau *Number of Theoretical Plates* (NTP). Snyder (2010), menjelaskan bahwa semakin besar nilai NTP, semakin sempit puncak kromatogramnya, dan semakin baik perpisahan. Sementara HETP (*Height Equivalent to a Theoretical Plate*) adalah parameter yang digunakan untuk mengukur efisiensi pemisahan dalam sistem KCKT yang menggambarkan seberapa baik suatu kromatografi mampu memisahkan komponen-komponen dalam sampel. Susanti dan Dachriyanus (2017), menjelaskan kolom KCKT yang efisien memiliki HETP yang berada dalam rentang 0,01–1,00 mm (semakin kecil semakin baik).

Tabel 5. Profil Kromatogram

	Eluen	tR (menit)	Rs	NTP	HETP (mm)	Symmetri factor
Standar Kuersetin		3,292	1,1467	735	0,2040	1,384
Sampel Ekstrak Maserasi	36-64	3,242	2,909	555	0,2702	1,959
Sampel Ekstrak UAE		3,275	2,825	612	0,2450	1,612
Standar Kuersetin		4,925	-	596	0,2516	1,714
Sampel Ekstrak UAE	41-59	4,625	-	611	0,2454	1,705
Standar Kuersetin		7,708	-	550	0,2727	1,896
Sampel Ekstrak UAE	46-54	7,242	-	818	0,1833	1,912
Syarat		<10	$>1,5$	>2000	0,01- 1,00	1

Berdasarkan Annissa *et al.* (2020), kromatogram yang baik dapat dilihat dari nilai resolusi, faktor simetri, dan waktu retensi. Komposisi eluen 36:64 memiliki nilai NTP yang paling tinggi dengan HETP yang memenuhi syarat dan memiliki nilai R_s (resolusi) yang baik. Sementara pada komposisi eluen 41:59 dan 46:54 tidak memiliki nilai R_s , yang mungkin menunjukkan bahwa pemisahan kurang optimal pada kondisi tertentu. Dalam analisis KCKT, tujuan utamanya adalah untuk mencapai pemisahan yang baik dan reproduksibel dari komponen dalam sampel. Penting juga untuk memeriksa faktor simetri mendekati 1 untuk memastikan bentuk puncak yang baik. Berdasarkan kondisi yang optimal untuk analisis senyawa kuersetin, dicapai pada perbandingan asam ortofosfat 0,1 % : metanol (36:64). Hasil elusi KCKT ditampilkan pada Lampiran 6.

4.6.2 Validasi Metode Penentuan Senyawa Kuersetin

a. Linearitas

Validasi metode dilakukan untuk penjaminan mutu analisis secara kuantitatif. Hal ini dilakukan karena metode analisis yang digunakan telah dimodifikasi dari metode asli. Penentuan kadar kuersetin dilakukan dengan kurva kalibrasi standar eksternal. Kurva kalibrasi diperoleh dengan pengukuran deret standar kuersetin konsentrasi 5; 10; 20; 40; dan 80 ppm. Berdasarkan hasil penetapan luas area larutan standar kuersetin pada 5 konsentrasi berbeda didapatkan persamaan regresi linear $y = 51288x + 21316$ dengan koefisien korelasi (R^2) 0,9998. Nilai R^2 ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier. Data kurva kalibrasi ditampilkan pada Lampiran 8.

b. LoD dan LoQ

Dalam analisis kuantitatif, ada nilai LOD dan LOQ yang dihitung dari regresi linear kurva baku kuersetin. Batas deteksi (LoD) merupakan parameter uji batas terkecil yang dimiliki oleh suatu alat/instrument untuk menganalisis kuersetin. Batas Kuantisasi (LoQ) adalah konsentrasi atau jumlah terendah dari kuersetin yang masih dapat ditentukan dan memenuhi kriteria akurasi dan presisi. Nilai LOD dan LOQ yang didapat berturut-turut adalah 1,5572 ppm dan 5,1906 ppm. Perhitungan LoD dan LoQ pada Lampiran 8.

Tabel 6. Hasil Validasi Metode

Konsentrasi (ppm)	RSD	% UPK	% Diff
64	1,0824	97,8143–100,716	-1,4031
			-0,5767
			-2,2019
			0,2103
			-1,2058
			0,7210
80	0,9840	97,9258–100,44	-0,6173
			-1,6159
			-0,3473
			0,0985
			0,4433
			-2,0885
96	0,9063	97,9898–100,182	-1,8314
			-2,0319
			-0,3942
			-1,7156
			-0,675
			0,1844
Syarat	$\leq 2,00$ (Snyder, 2010)	80-110 (AOAC, 2016)	$\leq 20,00$ (EMA, 2015)

c. Akurasi

Akurasi adalah ukuran ketepatan suatu metode analisis, atau kedekatan antara nilai yang sebenarnya dan nilai yang ditemukan dalam sampel. Akurasi diukur sebagai persentase analit yang diperoleh kembali melalui % UPK. Pada penelitian ini, persen perolehan kembali ditentukan dengan pengukuran larutan sampel yang telah diadisi dengan 3 konsentrasi standar kuersetin, yaitu 64 ppm sebagai adisi 80 %, 80 ppm sebagai adisi 100 %, dan 96 ppm sebagai adisi 120 %. Pengukuran dilakukan 6 kali replikasi. Penambahan konsentrasi kuersetin dalam tingkat rendah, sedang, dan tinggi pada rentang kurva kalibrasi digunakan untuk menguji keakuratan metode analisis pada berbagai tingkat konsentrasi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana metode analisis dapat memberikan hasil

yang akurat pada kadar yang berbeda. Hasil validasi metode analisis ditampilkan pada Tabel 6. hasil % UPK dari ketiga larutan adisi tersebut telah sesuai dengan syarat % UPK, yaitu 80-110 % (AOAC, 2016).

Penggunaan tiga konsentrasi berbeda dalam validasi metode dilakukan untuk memberikan gambaran yang lengkap tentang sejauh mana metode analisis dapat memberikan hasil yang akurat dan reproduksibel dalam berbagai tingkat konsentrasi. Pendekatan ini digunakan untuk mengevaluasi rentang dinamis, ketelitian, sensitivitas, dan kemampuan mendeteksi perubahan pada konsentrasi analit.

d. Presisi

Presisi didefinisikan sebagai kedekatan kesesuaian antara hasil pengujian individu dari analisis berulang terhadap sampel yang homogen. Presisi dilakukan untuk mengevaluasi respons instrumen terhadap suatu analit yang konsisten dari waktu ke waktu. Presisi diukur dengan menggunakan nilai simpangan baku relatif (RSD). Dapat dilihat pada Tabel 6. diperoleh nilai RSD yang telah memenuhi syarat untuk yaitu $\leq 2,00$ % (Snyder, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki ketelitian dan ketepatan yang baik.

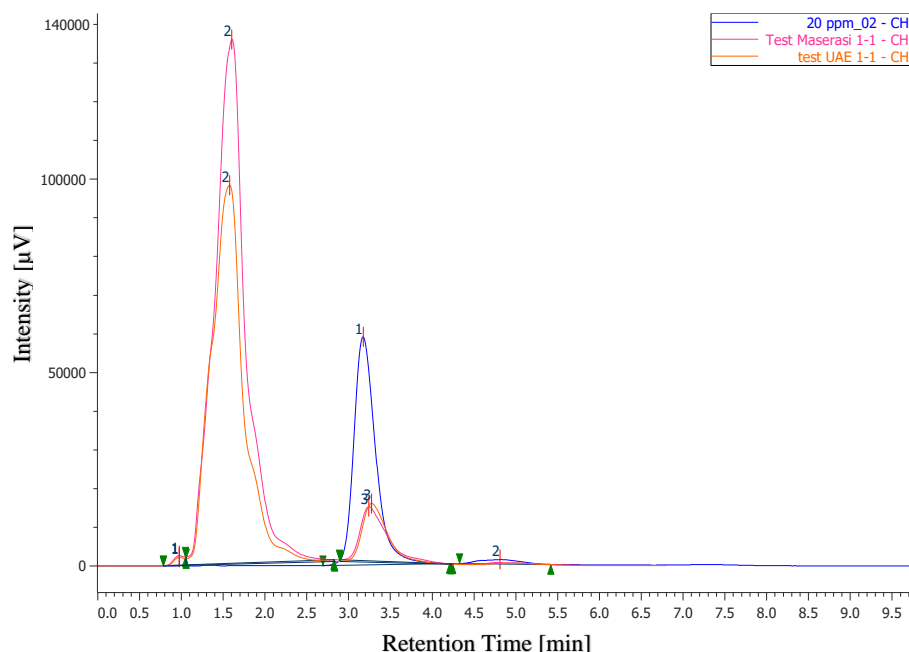
e. Persen *difference*

Persen *difference* menunjukkan perbedaan antara hasil pengukuran tiap ulangan dari metode analisis. Nilai ini sering digunakan untuk mengevaluasi sejauh mana metode tersebut memiliki ketidakpastian. Perbedaan nilai antara konsentrasi awal dan konsentrasi yang diukur selama analisis ulangan tidak boleh lebih besar dari 20,00 % rata-ratanya. Pada Tabel 6. diperoleh nilai % *difference* yang telah sesuai syarat *European Medicines Agency* (2015), tidak lebih dari 20,00 %

4.6.3 Uji Kualitatif Kuersetin Ekstrak dengan KCKT

Uji kualitatif dilakukan dengan membandingkan tR analit dari sampel dengan standar senyawa, dalam hal ini kuersetin. Pengukuran tR dimulai dari waktu injeksi hingga puncak kromatogram untuk analit. Jika semua kondisi kromatografi dijaga konstan (laju aliran, suhu, komposisi fase gerak, dll.), tR diharuskan konstan (Snyder, 2010). Hasil pengukuran tR dari standar kuersetin dengan fase gerak asam ortofosfat 0,1 % dan metanol (36:64) adalah 3,175 menit, pada ekstrak maserasi

terdapat suatu puncak dengan tR 3,242 menit dan pada ekstrak UAE dengan tR 3,275 menit. Kromatogram standar dan ekstrak ditampilkan pada Gambar 9. dan data kromatogram dapat dilihat pada Lampiran 6.

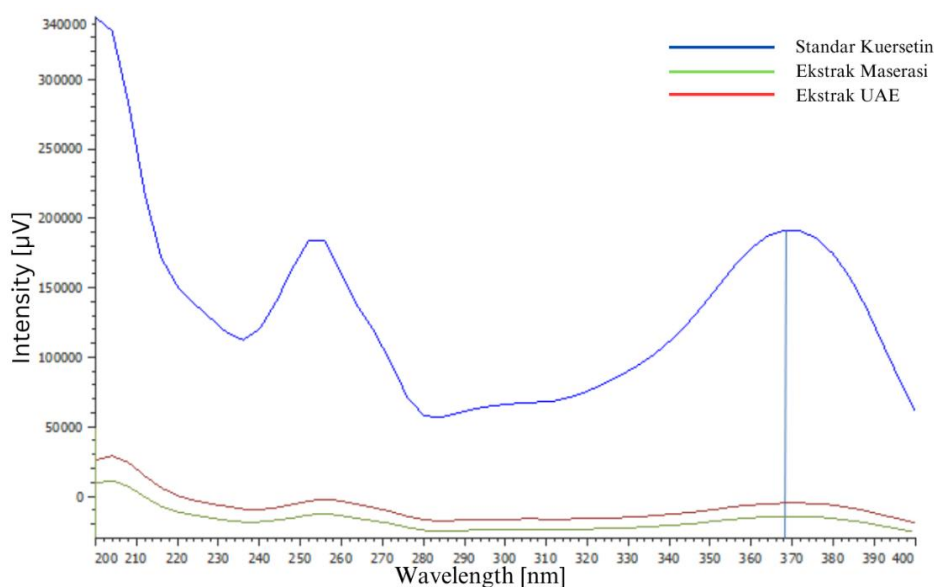


Gambar 9. Overlaid Kromatogram Standar Kuersetin, Ekstrak Maserasi, dan Ekstrak UAE

Analisis kualitatif KCKT dapat dilihat dari kekhasan waktu retensi suatu senyawa, namun tidak spesifik. Kromatogram ekstrak memiliki waktu retensi yang cukup sama dengan standar kuersetin, dengan perbedaan sebesar 0,1. Perbedaan waktu retensi sebesar 0,1 pada kromatogram antara ekstrak dan standar dalam analisis KCKT dapat mengindikasikan adanya komponen tambahan dalam sampel ekstrak yang tidak ada dalam standar. Perbedaan waktu retensi sebesar 0,1 umumnya dianggap sebagai perbedaan yang sangat kecil dalam analisis KCKT. Ini mungkin terjadi karena variasi dalam kondisi analisis dalam pengukuran waktu retensi. Dan dalam banyak kasus, perbedaan kecil ini tidak akan memengaruhi hasil analisis secara signifikan. Maka sampel ekstrak teridentifikasi mengandung senyawa kuersetin.

Analisis kualitatif juga dapat dilakukan dengan membandingkan pola serapan UV dari standar dan sampel. Pola serapan UV dari standar kuersetin,

ekstrak maserasi dan ekstrak UAE ditampilkan pada gambar 10, menunjukkan bahwa ekstrak maserasi dan UAE memiliki pola serapan yang sama dengan standar kuersetin. Adapun perbedaan ketinggian intensitas dikarenakan perbedaan konsentrasi antara standar kuersetin dengan ekstrak.



Gambar 10. Spektrum Serapan PDA-UV Kuersetin Pada Standar Kuersetin, Ekstrak Maserasi dan Ekstrak UAE

4.6.4 Hasil Penentuan Kadar Kuersetin Sampel

Penentuan kadar kuersetin ekstrak bunga telang dihitung dengan persamaan regresi linear $y = 51288x + 21316$ hasil kurva kalibrasi, dimana y adalah luas area *peak* kuersetin. Data kadar kuersetin ekstrak bunga telang ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Kadar Kuersetin Ekstrak

	Rerata Kadar	Total Rerata Kadar (mg/g)
Ekstrak Maserasi	1,0753	
	1,0287	1,0669±0,0283
	1,0966	
Ekstrak UAE	1,1398	
	1,5402	1,3915±0,1789
	1,4944	

Berdasarkan perhitungan dari persamaan regresi linear, hasil kadar kuersetin pada ekstrak bunga telang diperoleh sebesar $1,0669 \text{ mg/g}$ pada ekstrak hasil maserasi. Sementara pada ekstrak hasil UAE didapat kadar kueretin yang lebih tinggi, sebesar $1,3915 \text{ mg/g}$. Hal ini menggambarkan bahwa ekstraksi metode UAE lebih banyak melarutkan kuersetin dibanding maserasi, karena kadar kuersetin hasil ekstraksi dengan metode UAE sedikit lebih tinggi. Namun setelah diuji statistik dengan *One Way Anova* dan *Paired Sampel*, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar kuersetin.

Meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan dalam metode ekstraksi, jika dipertimbangkan dari segi efisiensi waktu, metode UAE memerlukan waktu total ekstraksi 30 menit untuk mendapatkan kadar kuersetin yang hampir sama dengan metode maserasi selama total 96 jam. Samaram *et al.* (2013), menyatakan bahwa metode UAE dapat mempersingkat waktu ekstraksi. Baihaqi *et al.* (2018), juga menjelaskan selama ekstraksi UAE, gelombang ultrasonik menyebabkan terjadinya peningkatan proses difusi antara bahan dan pelarut sehingga menyebabkan proses penarikan senyawa semakin cepat. Suhu pada ekstraksi UAE yang lebih tinggi juga meningkatkan kelarutan kuersetin dalam pelarut metanol.

Proses ekstraksi pada metode maserasi terjadi karena pecahnya dinding dan membran sel simplisia bunga telang oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga senyawa metabolit akan tertarik keluar dan terlarut dalam pelarut metanol. Dimana semakin lama waktu ekstraksi akan meningkatkan penetrasi pelarut, dan semakin banyak pelarut yang digunakan meningkatkan tekanan pada sel hingga senyawa metabolit terekstraksi maksimal. Sementara pada metode UAE yang menggunakan gelombang ultrasonik, paparan gelombang ultrasonik membantu terjadinya gelembung kavitasi yang menghasilkan tekanan mekanis yang dapat membantu pecahnya sel dan terlarutnya senyawa metabolit dalam pelarut. Namun, paparan gelombang ultrasonik dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan pada struktur zat terlarut dan mengurangi hasil ekstraksi. Kemungkinan inilah yang menyebabkan tidak terdapat perbedaan nyata antara metode UAE dengan metode maserasi. Jika gelombang ultrasonik tidak

dikontrol dengan baik, gelembung kavitasi yang terjadi juga dapat menyebabkan kerusakan yang tidak diinginkan pada struktur zat.

Hasil kadar kuersetin yang diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut metanol lebih besar dari yang didapat pada penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut lain. Zakaria *et al.* (2018), dengan pelarut air metode dekok sebesar 0,4028 mg/g dan Brilliantama *et al.* (2022) dengan pelarut metanol-air metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE) sebesar 0,1742 mg/g. Berdasarkan Harborne (1987), pelarut metanol dapat melarutkan senyawa golongan flavonoid glikosida maupun flavonoid dalam bentuk bebasnya, karenanya metanol absolut lebih banyak melarutkan senyawa kuersetin dan ekstrak yang dihasilkan juga lebih stabil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, metode ekstraksi maserasi menghasilkan kadar kuersetin sebesar $1,0669 \pm 0,0283$ mg/g dan metode UAE menghasilkan kadar kuersetin sebesar $1,3915 \pm 0,1789$ mg/g. Secara statistik disimpulkan bahwa metode ekstraksi tidak mempengaruhi hasil kadar kuersetin secara signifikan. Dalam penilaian efisiensi, metode ekstraksi dengan metode UAE dianggap lebih unggul dari metode maserasi, metode ini mampu menarik senyawa kuersetin dengan efisiensi tinggi.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, disarankan untuk mengoptimalkan kondisi UAE dalam ekstraksi kuersetin dari bunga telang dengan menggunakan pelarut yang berbeda. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi analisis kadar metabolit sekunder lainnya agar dapat memberikan informasi yang lebih lengkap mengenai senyawa-senyawa yang terkandung dalam bunga telang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, M. H., dan Acree, W. E. 2014. On the solubility of quercetin. *Journal of Molecular Liquids*, 197, 157–159.
- Ali, A. H. 2022. High-performance liquid chromatography (HPLC): A Review. *Annals of advances in chemistry*, 6(1), 010–020. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- Alvarez, D. V., Nava, A. D., Patricio, P. C., Alberto, F. P., Castro, E. H., dan González, M. S. 2018. Quercetin, kaempferol and apigenin in roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*). *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 5(1), 62–66.
- Anggorowati, D. A., Priandini, G., dan Thufail. 2016. Potensi daun alpukat (*Persea americana miller*) sebagai minuman teh herbal yang kaya antioksidan. *Jurnal Teknik Industri*, 6(1), 1–7. <https://ejournal.itn.ac.id/index.php/industri/article/view/912>.
- Angraini, N., dan Desmaniar, P. 2020. Optimasi penggunaan high performance liquid chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan praktikum bioteknologi kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 69–75.
- Annissa, S., Musfiroh, I., dan Indriati, L. (2020). Perbandingan metode analisis instrumen HPLC dan UHPLC : Article review. *Farmaka*, 17(3), 189–197. <https://doi.org/10.24198/jf.v17i3.21894.g12500>
- Anonim. 2015. *Guideline on Bioanalytical Method Validation*. European Medicine Agency, London.
- AOAC. 2016. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry Intrnational 20th Edition*. Arlington: AOAC Inc.
- Baihaqi, Budiastara, I. W., Yasni, S., dan Darmawati, E. 2018. Peningkatan Efektivitas Ekstraksi Oleoresin Pala Menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 6(3), p 249-254.
- Balaji, K. S., Shivaprakash, P., Preethi, S. D., Chandrashekara, K. T., Siddalingaiah, L., Rangappa, K. S., dan Jayarama, S. 2016. Angio suppressive effect of *Clitoria ternatea* flower extract is mediated by HIF-1 α and down regulation of VEGF in murine carcinoma model. *Medicinal Chemistry*, 6(7), 515–520. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000392>

- Briliantama, A., Oktaviani, N. M., Rahmawati, S., Setyaningsih, W., dan Palma, M. 2022. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) for simultaneous determination of individual phenolic compounds in 15 dried edible flowers. *Horticulturae*, 8(12), 1216. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121216>
- Budiasih, K. S. 2017. *Kajian potensi farmakologis bunga telang (Clitoria ternatea - seminar UNY*. Seminar Universitas Negeri Yogyakarta. Retrieved February 20, 2023, from http://seminar.uny.ac.id/semnaskimia/sites/seminar.uny.ac.id/semnaskimia/files/2017/C-7_Kun_Sri_Budiasih.pdf.
- Cai, L. 2014. Thin layer chromatography. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 8(1). <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0603s08>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., dan Abert-Vian, M. 2016. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications- a review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Cook, B., B. Pengelly, S. Brown, J. Donnelly, D. Eagles, M. Franco, B. Hanson, I. Mullen, M. Partridge, Peters, dan Schultze-Kraft. 2005. *Tropical forages*. CSIRO, DPI&F (QId), CIAT and ILRI. Brisbane.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Daud, A., Suriati, S., dan Nuzulyanti, N. 2019. Kajian Penerapan Faktor yang Mempengaruhi Akurasi Penentuan Kadar Air Metode Thermogravimetri. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 24(2). <https://doi.org/10.51978/jlpp.v24i2.79>
- [Depkes] Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Doshi, G. M., and Une, H. D. 2015. High performance thin layer chromatography and high performance liquid chromatography determination of quercetin from *Polyalthia longifolia* leaves. *Free Radicals and Antioxidants*, 5(2), 60-64. <https://doi.org/10.5530/fra.2015.2.3>
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gomez, S.M. dan Kalamani, K. 2003. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*): a nutritive multipurpose forage legume for the tropics – an overview. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 374-379.

- Gollen, B., Mehla, J., dan Gupta, P. 2018. *Clitoria ternatea* Linn: a herb with potential pharmacological activities: future prospects as therapeutic herbal medicine. *Journal Pharma Reports*, 3(1), 141.
- Gupta, A., Birhman, K., Raheja, I., Sharma, S. K., dan Kar, H. K. 2016. Quercetin: a wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(3), 248–252. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(15\)61024-6](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(15)61024-6)
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., dan Rakesh, D. D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science and High Technology.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hidayat, R., Pasaribu, S. P., dan Saleh, C. 2015. Penggunaan internal standar nitrobenzena untuk penentuan kuantitatif btex dalam kondensat gas alam dengan kromatografi gas. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(2), 89–96.
- Husnia, F., dan Budiarti, A. 2021. Pengembangan metode analisis kuersetin dalam ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum L.*) menggunakan kromatografi cair Kinerja Tinggi. *Media Farmasi*, 17(2), 108–115. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2209>
- Hussain, S. dan Devi, K.S. 1998. Fatty acids composition of three plant species: *Clitoria ternatea*, *Mandulea suberosa* and *Ruta chalapensis*. *Journal of the Oil Technologists Association of India*, 30(4), 162-164.
- Ihsan, B. R. P., Rahmani, P. A., dan Shalas, A. F. 2020. Validasi metode klt-densitometri untuk analisis kuersetin dalam ekstrak dan produk jamu yang mengandung daun jambu biji (*Psidium guajava L.*). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 45–51.
- Isnaini, Permatasari, N., Mintaroem, K., dan Widodo, M. A. 2018. Analysis of quercetin and Kaempferol levels in various phase of Flowers *Melastoma Malabathricum L.* *International Journal of Plant Biology*, 9(1), 6846. <https://doi.org/10.4081/pb.2018.6846>
- Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., dan Choo, W. S. 2020. Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6), 2054–2067. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04745-3>

- Kazakevich, Y., dan Lubritto, R. 2007. *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Kazuma, K., Noda, N., and Suzuki, M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 64(6), 1133-1139.
- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan RI. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
- Kusuma, A. D. 2019. Potensi teh bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai obat pengencer dahak herbal melalui uji mukositas. *Jurnal Sains, Teknologi, Sosial, Pendidikan, dan Bahasa*, 4(2), 65–73.
- Khoirunnisa, I., dan Sumiwi, S. A. 2019. Review artikel: peran flavonoid pada berbagai aktivitas farmakologi. *Farmaka*, 17(2), 131–142.
- Laksmiani, N.P., Widianara, I., Adnyani, K., dan Pawarrangan, A. 2020. Optimasi metode ekstraksi kuersetin dari daun kelor (*Moringa oleifera L.*). *Jurnal Kimia*. 14(1). <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2020.v14.i01.p04>
- Magar, R. T., dan Sohng, J. K. 2020. A review on structure, modifications and structure-activity relation of quercetin and its derivatives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 11–20. <https://doi.org/10.4014/jmb.1907.07003>
- Malviya, R., Bansal, V., Pal, O. P., and Sharma, P. 2010. High performance liquid chromatography: a short review. *Journal of Global Pharma Technology*, 2(5), 22–26.
- McClements, DJ. 1995. Advances in the application of ultrasonic in food analysis and processing. *Trends in Food, Science & Technology*. 6:293-299.
- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Yaqoob, S., Safdar, B., Nadeem, M., Munir, M., dan Wang, C. 2019. Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea L.*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.013>
- Miean, K. H., dan Mohamed, S. 2001. Flavonoid (*myricetin, quercetin, Kaempferol, luteolin, and apigenin*) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 3106–3112. <https://doi.org/10.1021/jf000892m>

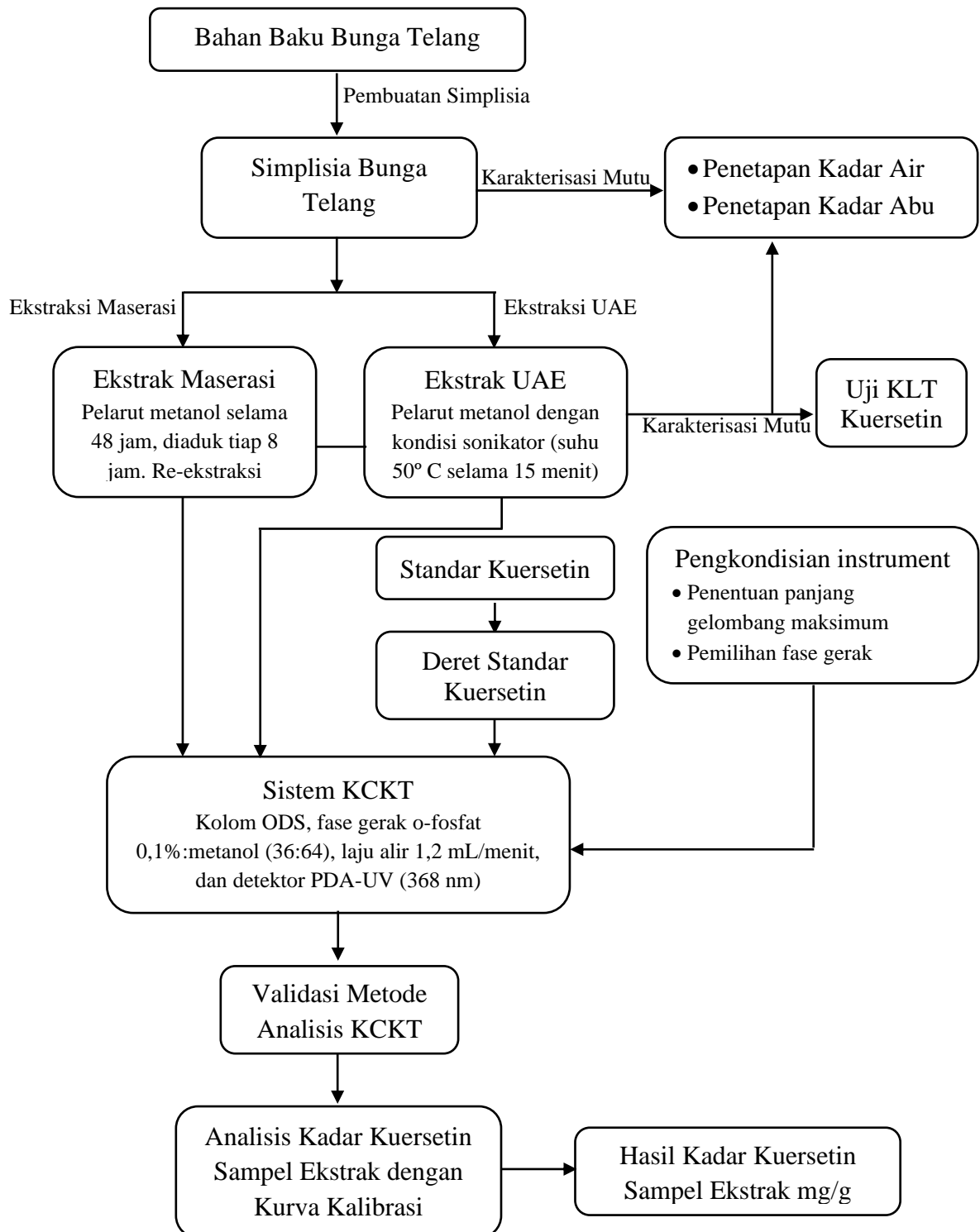
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., Kumar, N. S., dan Heinrich, M. 2008. The ayurvedic medicine *Clitoria ternatea*—from traditional use to scientific assessment. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.009>
- Murningsih, T., dan Chairul. 2000. Mengenal HPLC: peranannya dalam analisa dan proses isolasi bahan kimia alam. *Berita Biologi*, 5(2), 261–271. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v5i2.1161>
- Novitasari, A. E., dan Putri, D. Z. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*, 6(12), 10–14. <https://journal.unigres.ac.id/index.php/Sains/article/view/577/45>
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Oladimeji, A. V., and Valan, M. 2020. HPLC techniques for phytochemistry. *International Journal of Chemical Studies*, 8(6), 2590–2596. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i6ak.11174>
- Petigny, L., Périno-Issartier, S., Wajzman, J., dan Chemat, F. 2013. Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (*Peumus boldus* Mol.). *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5750–5764. <https://doi.org/10.3390/ijms14035750>
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., dan Puspitasari, R. 2022. Uji aktivitas dan formulasi sediaan liquid body wash dari ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai antibakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1), 53–66. <https://doi.org/10.55606/klinik.v1i1.257>
- Raihan, dan Dalimunthe, G. I. 2022. Uji sitotoksisitas ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Journal of Health and Medical Science*, 1(3), 187–202
- Reuhs, B. L., and Rounds, M. A. 2010. High-performance liquid chromatography. *Food Science Texts Series*, 1(28), 499–512
- Rosydiati, dan Saleh, E. K. 2019. Karakterisasi puncak kromatogram dalam high performance liquid chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis *indole acetic acid* (IAA). *Kandaga*, 1(2), 65 - 73. <https://doi.org/10.24198/kandaga.v1i2.25056>
- Rusli, Z., Herlina, N., Sari, B. L., dan Ulfa, S. H. 2020. Optimisasi metode microwave-assisted extraction terhadap kadar kuersetin dari limbah kulit

- bawang merah (*Allium cepa L.*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(2), 122–131. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i2.2154>
- Santiago, M., and Strobel, S. 2013. Thin layer chromatography. *Methods in Enzymology*, 533(24), 303–324
- Singh, P., Arif, Y., Bajguz, A., dan Hayat, S. 2021. The role of quercetin in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166(2), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>
- Siti Azima, A.M., Noriham, A. dan Manshoor, N. 2017. Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*, 38, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.018>
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., dan Dolan, J. W. 2010. *Introduction to modern liquid chromatography (3rd Ed)*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Styawan, A. A., dan Rohmanti, G. 2020. Determination of flavonoid levels of AlCl₃ methode in the extract of metanol flowers (*Clitoria ternatea L.*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 6(2), 134–141. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v6i2.3912>
- Susanti, M., dan Dachriyanus. 2017. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yang, D., Wang, T., Long, M., dan Li, P. 2020. Quercetin: its main pharmacological activity and potential application in clinical medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2020/8825387>
- Yumni, G. G., Sumantri, S., Nuraini, I., dan Nafis, I. J. 2022. Profil antioksidan dan kadar flavonoid total fraksi air dan etil asetat ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*). *Cendekia Eksakta*, 7(1), 12–17. <https://doi.org/10.31942/ce.v7i1.6547>
- Zahara, M. 2022. Ulasan singkat: deskripsi bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dan manfaatnya. *Jurnal Pendidikan Sains & Biologi*, 9(2), 719–728. <https://doi.org/10.33059/jj.v9i2.6509>

Zakaria, N. N. A., Okello, E. J., Howes, M., Birch-Machin, M. A., & Bowman, A. 2018. In vitro protective effects of an aqueous extract of *Clitoria ternatea L.* flower against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and UV-induced mtDNA damage in human keratinocytes. *Phytotherapy Research*, 32(6), 1064–1072. <https://doi.org/10.1002/ptr.6045>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi



BRIN
BADAN RISET
DAN INOVASI NASIONAL

DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA: +62811 1064 6760; Surel: dit-pki@brin.go.id

Laman: www.brin.go.id

Nomor : B-1723/Il.6.2/IR.01.02/7/2023
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

14 Juli 2023

Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Akmal Zainul Ahyar**
Universitas Pakuan

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut:

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Telang	<i>Clitoria ternatea</i> L.	Fabaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Pt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,
Badan Riset dan Inovasi Nasional

 TT ELEKTRONIK

Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSN, sehingga lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Serbuk dan Ekstrak Bunga Telang

1. Rendemen serbuk bunga telang

Bobot Sortasi Basah = 5000 g

Bobot Sortasi Kering = 1020 g

Bobot Serbuk Simplisia = 982,2 g

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen Simplisia} &= \frac{\text{Bobot sortasi kering}}{\text{Bobot sortasi basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{1020 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100 \% = 20,40 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen Serbuk} &= \frac{\text{Bobot akhir serbuk}}{\text{Bobot sortasi basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{982,2 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100 = 19,64 \% \end{aligned}$$

2. Rendemen ekstrak bunga telang

	Bobot simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rerata rendemen (%)
Ekstrak Maserasi 1	50	14,2	28,40	28,00±0,5291
Ekstrak Maserasi 2		13,7	27,40	
Ekstrak Maserasi 3		14,1	28,20	
Ekstrak UAE 1		11	22,00	21,26±0,7023
Ekstrak UAE 2		10,3	20,60	
Ekstrak UAE 3		10,6	21,20	

Contoh perhitungan % rendemen

- Maserasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100 \% \\ &= \frac{14,2 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% = 28,40 \% \end{aligned}$$

- Rata-rata % rendemen

$$\bar{x} = \frac{x_1+x_2+x_3}{\text{banyaknya data}} = \frac{28,4 \% + 27,4 \% + 28,2 \%}{3} = 28,00 \%$$

Lampiran 4. Hasil Uji Kadar Air dan Kadar Abu

1. Hasil Uji Kadar Air

	Cawan kosong (g)	Bobot sampel (g)	Cawan + sampel (g)	Cawan + sampel setelah dioven (g)	% Kadar Air	Rata-Rata	SD
Simplisia	53,6225	2,0363	55,6588	55,5221	6,7131	7,0783	0,7406
				55,5244			
				55,5198			
	54,8159	2,0087	56,8246	56,6922	6,5913		
				56,6898			
				56,694			
	50,0361	2,0074	52,0435	51,8843	7,9306		
				51,8824			
				51,8857			
Maserasi	43,7745	2,023	45,7975	45,7706	1,3297	1,512	0,3642
				45,7683			
				45,7699			
	48,9063	2,0917	50,998	50,9576	1,9314		
				50,9563			
				50,9599			
	50,1821	2,0315	52,2136	52,1877	1,2749		
				52,1892			
				52,1865			
UAE	50,1455	2,0229	52,1684	52,1366	1,572	1,3264	0,2127
				52,1372			
				52,1355			
	51,3321	2,0375	53,3696	53,3452	1,1975		
53,3435							

				53,3469	
	51,3328	2,0334	53,3662	53,3416	1,2097
				53,3397	
				53,3428	

2. Hasil Uji Kadar Abu

	Krus Kosong (g)	Bobot sampel (g)	Krus + sampel setelah ditanur (g)	% Kadar Abu	Rata-Rata	SD		
Simplisia	47,2658	2,015	47,3138	2,3821				
			47,3127					
			47,3156					
	46,8426	2,0374	46,8987	2,7535				
			46,8992				2,3599	0,405
			46,8962					
	42,087	2,0162	42,1262	1,9442				
			42,1247					
			42,1262					
Maserasi	38,1663	2,0145	38,1927	1,3104				
			38,1922					
			38,1947					
	40,5158	2,0126	40,5442	1,4111				
			40,5433				1,3065	0,1066
			40,5461					
	40,6547	2,0201	40,6789	1,1979				
			40,6791					
			40,6789					
UAE	41,6243	2,0205	41,6504	1,2917				

			41,6496			
			41,6501			
40,9023	2,196	40,9323	1,3661			
		40,9302		1,2272	0,18	
		40,9338				
40,6548	2,051	40,6758	1,0238			
		40,6739				
		40,6753				

3. Perhitungan Kadar Air

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(\text{bobot sebelum dioven}) - (\text{bobot setelah konstan})}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan kadar air

$$\text{Simplisia bunga telang x1} = \frac{(55,6588) - (55,5221)}{2,0363} \times 100\% = 6,7131 \%$$

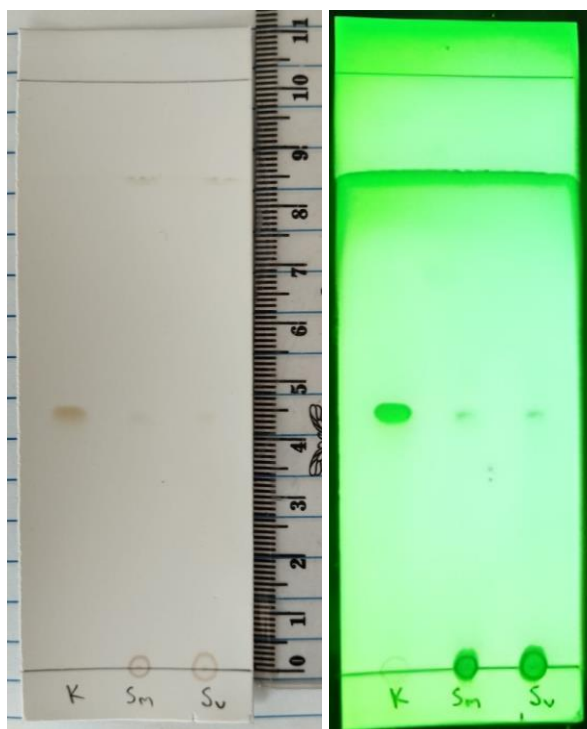
4. Perhitungan Kadar Abu

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{Krus isi abu} - \text{Krus kosong}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan kadar abu

$$\text{Simplisia bunga telang x1} = \frac{(47,3138) - (47,2658)}{2,015} \times 100\% = 2,3821 \%$$

Lampiran 5. Uji Kromatografi Lapis Tipis



$$R_f = \frac{\text{Jarak spot (cm)}}{\text{Jarak eluen (cm)}}$$

$$R_f K = \frac{4,5 \text{ cm}}{8,4 \text{ cm}} = 0,53$$

$$R_f S_m = \frac{4,4 \text{ cm}}{8,4 \text{ cm}} = 0,52$$

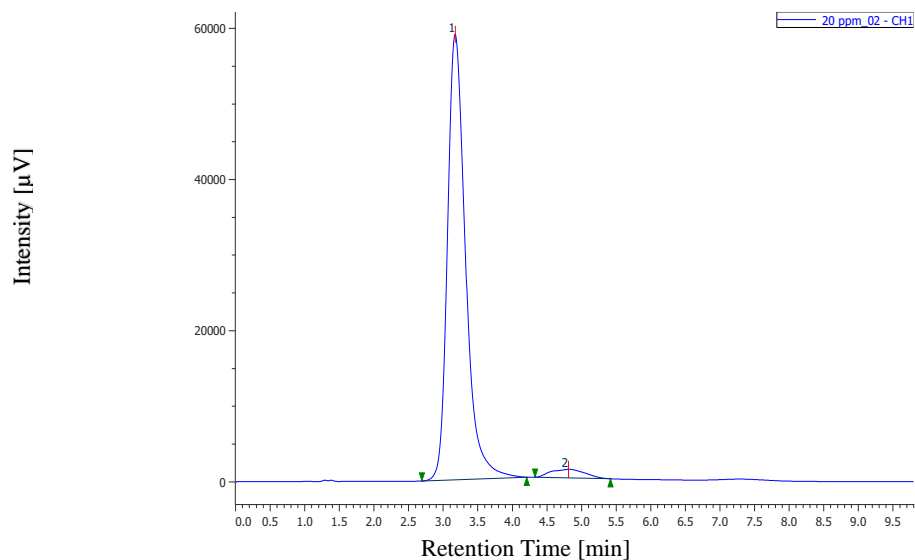
$$R_f S_u = \frac{4,4 \text{ cm}}{8,4 \text{ cm}} = 0,52$$

Kepolaran gabungan eluen (Toluena :etil asetat :asam format perbandingan 5:4:0,2)

	Indeks Kepolaran		Kepolaran gabungan
Toluena	2,4	$\frac{5}{9,2} \times 2,4 = 1,3043$	
Etil asetat	4,4	$\frac{4}{9,2} \times 4,4 = 1,9130$	3,3478
Asam format	6	$\frac{0,2}{9,2} \times 6 = 0,1304$	

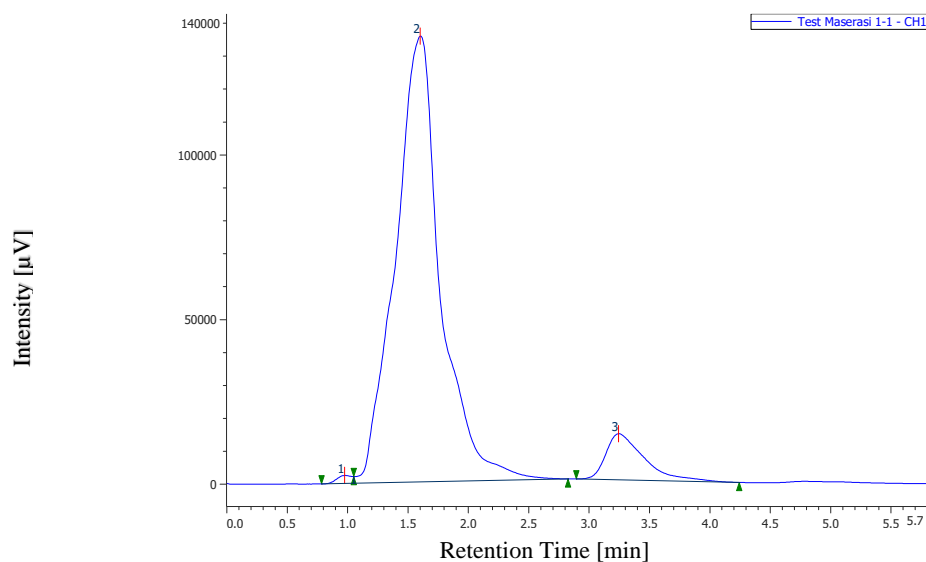
Lampiran 6. Optimasi Fase Gerak dan Uji Kualitatif

1. Perbandingan eluen air:metanol (36:64)



Kromatogram Standar Kuersetin

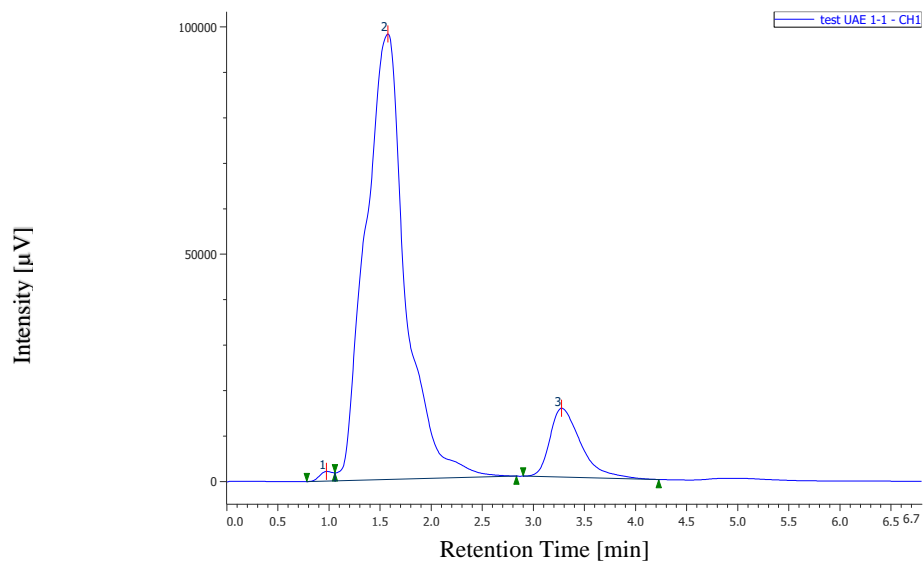
Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,175	1072981	58915	96,505	98,104	0,269	769	2,23	1,342
Unknown	4,808	38861	1139	3,495	1,896	0,595	362	-	1,082



Kromatogram Ekstrak Maserasi

Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	21400	2454	0,556	1,617	-	-	-	-
Unknown	1,6	3519284	135279	91,402	89,151	0,402	121	2,909	1,085

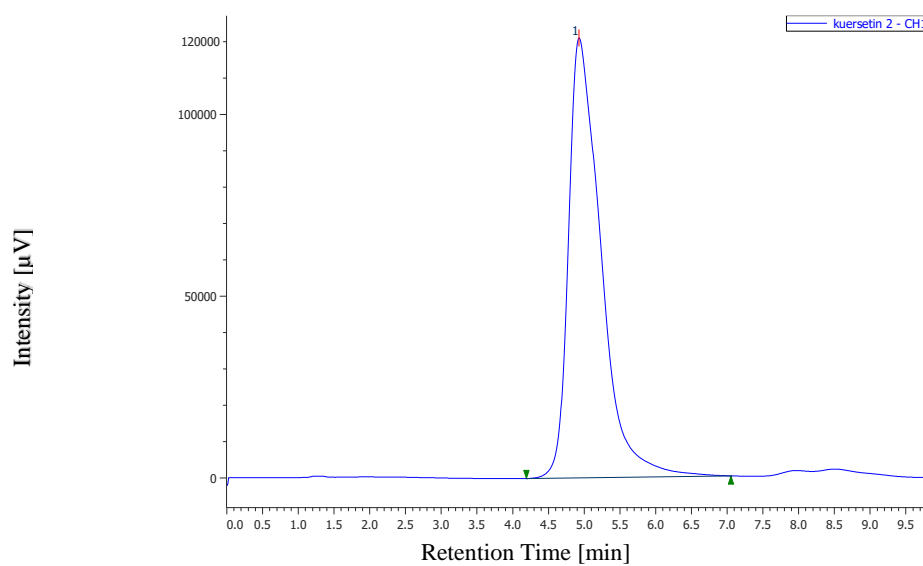
Kuersetin	3,242	309673	14009	8,043	9,232	0,334	555	-	1,959
-----------	-------	--------	-------	-------	-------	-------	-----	---	-------



Kromatogram Ekstrak UAE

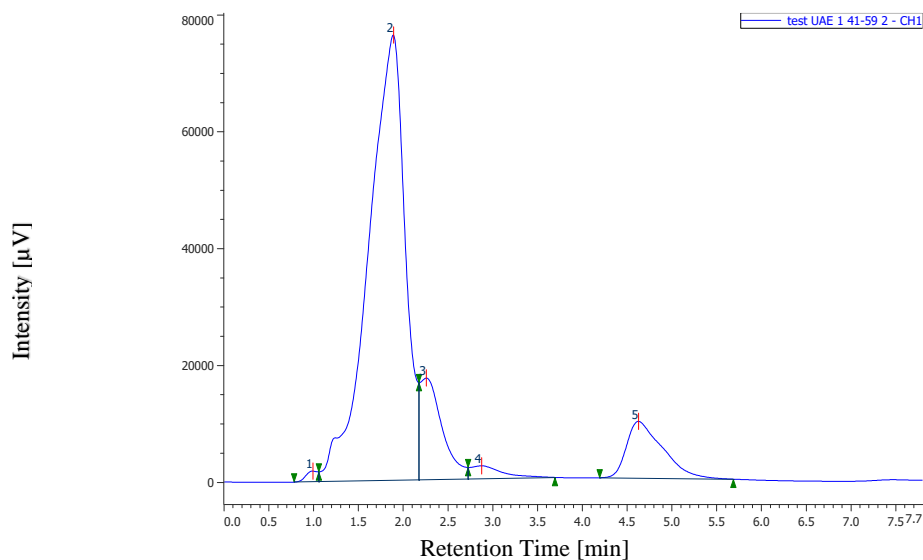
Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	19298	2116	0,647	1,837	-	-	-	-
Unknown	1,575	2645836	97907	88,658	84,997	0,398	87	2,825	1,129
Kuersetin	3,275	319175	15166	10,695	13,166	0,312	612	-	1,612

2. Perbandingan eluen air:metanol (41:59)



Kromatogram Standar Kuersetin

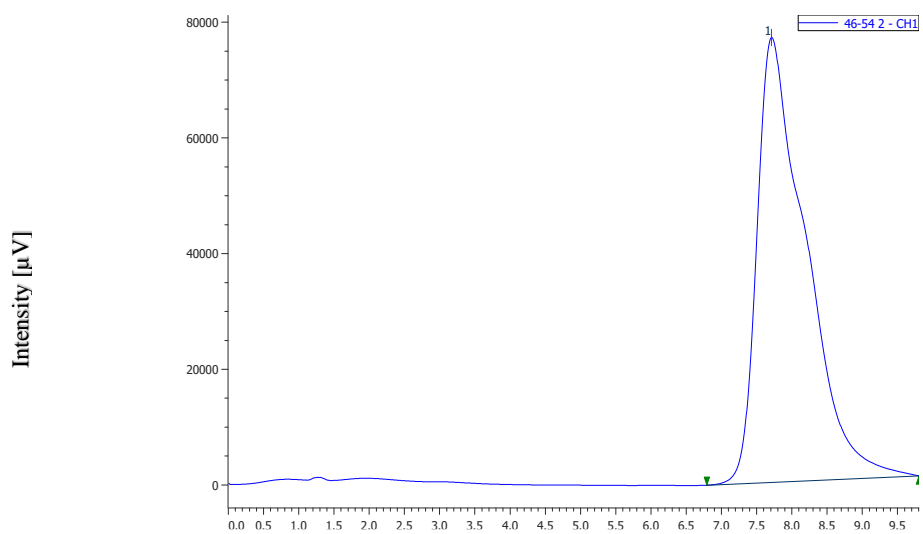
Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	4,925	3818883	120988	100	100	0,489	596	-	1,714



Kromatogram Ekstrak UAE

Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,992	16761	1823	0,599	1,699	-	-	-	-
Unknown	1,892	2149951	76146	76,891	70,958	0,429	107	-	-
Unknown	2,258	302361	17405	10,814	16,219	-	-	-	-
Unknown	2,875	54659	2214	1,955	2,063	-	-	-	-
Kuersetin	4,625	272378	9724	9,741	9,062	0,44	611	-	1,705

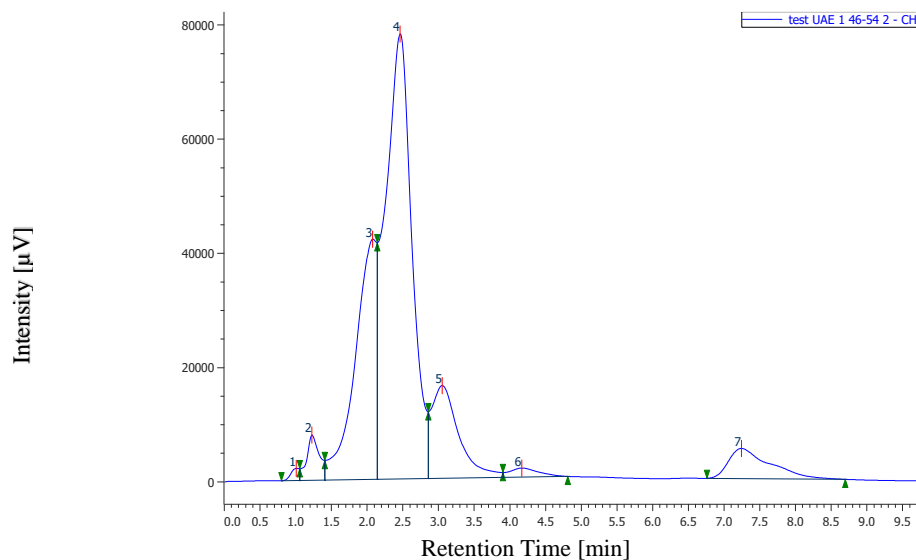
3. Perbandingan eluen air:metanol (46:54)



Retention Time [min]

Kromatogram Standar Kuersetin

Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	7,708	3710064	76862	100	100	0,774	550	-	1,896



Kromatogram Ekstrak UAE

Peak Name	tR (min)	Area	Height	Area %	Height %	Peak Width	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,008	17293	2112	0,47	1,38	-	-	-	-
Unknown	1,225	97936	7915	2,66	5,173	0,192	227	-	-
Unknown	2,075	864310	42025	23,478	27,467	-	-	-	-
Unknown	2,458	2014259	77852	54,714	50,883	-	-	-	-
Unknown	3,05	429833	16236	11,676	10,612	-	-	-	-
Unknown	4,167	45245	1590	1,229	1,039	-	-	-	-
Kuersetin	7,242	212541	5272	5,773	3,446	0,596	818	-	1,912

4. Perhitungan Pemilihan Fase Gerak

Eluen	Peak	tR (menit)	Rs	NTP	HETP (mm)	Symmetri factor
Standar Kuersetin	tR1	3,292	1,1467	735	0,2040	1,384
Sampel Ekstrak Maserasi	tR3	3,242	2,909	555	0,2702	1,959
Sampel Ekstrak UAE	tR2	3,275	2,825	612	0,2450	1,612

Standar Kuersetin		tR1	4,925	-	596	0,2516	1,714
Sampel Ekstrak UAE	41-59	tR5	4,625	-	611	0,2454	1,705
Standar Kuersetin		tR1	7,708	-	550	0,2727	1,896
Sampel Ekstrak UAE	46-54	tR7	7,242	-	818	0,1833	1,912

- HETP (*Height of Packing Equivalent to a Theoretical Plate*)

Syarat dalam rentang 0,01 – 1 mm. Panjang kolom (L) = 150 mm

$$\text{HETP} = \frac{L}{NTP}$$

Contoh perhitungan

- Air:metanol (36:64)

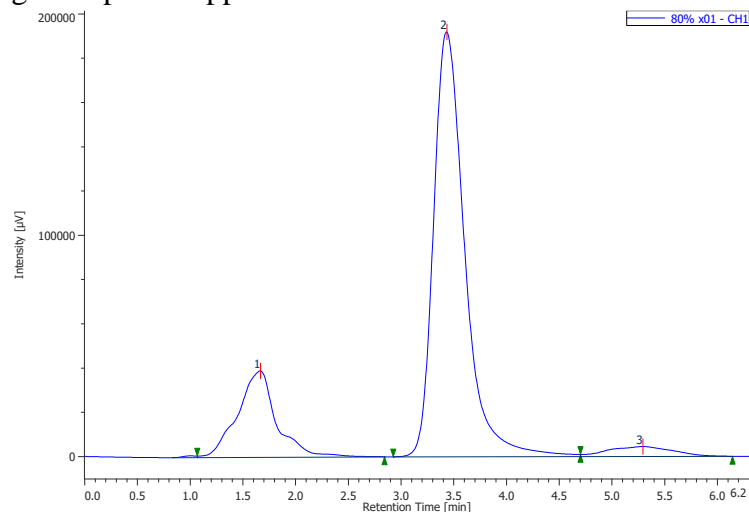
$$\text{HETP Standar} = \frac{150}{735} = 0,2040 \text{ mm}$$

$$\text{HETP Ekstrak Maserasi} = \frac{150}{555} = 0,2702 \text{ mm}$$

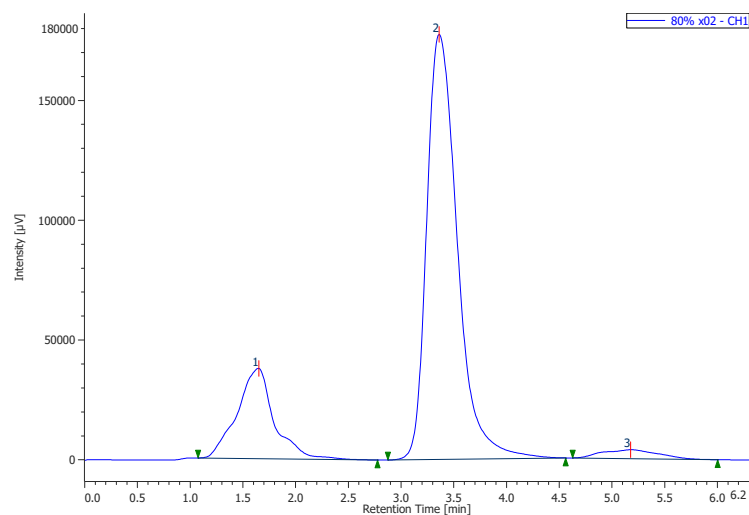
$$\text{HETP Ekstrak UAE} = \frac{150}{612} = 0,2450 \text{ mm}$$

Lampiran 7. Data Validasi Metode

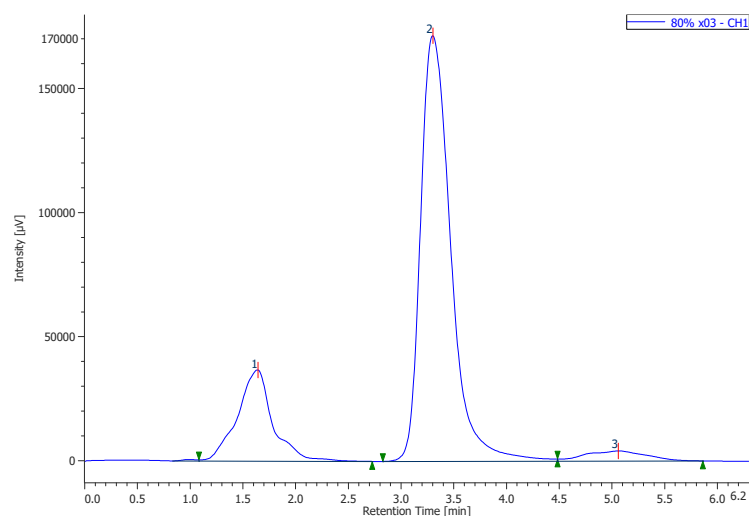
• Kromatogram Spike 64 ppm



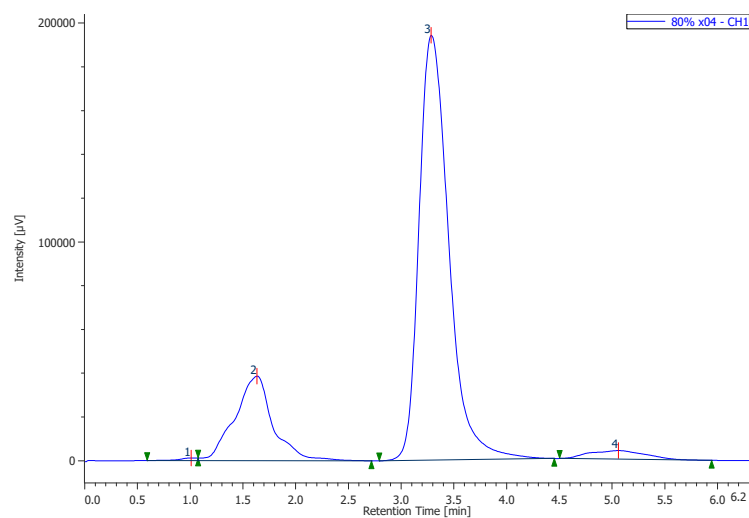
Peak Name	tR	Area	Height	Area%	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,667	999375	39035	19,473	16,59	143	3,309	1,012
Kuersetin	3,433	3342787	191813	76,824	81,518	718	2,159	1,405
Unknown	5,292	190042	4454	3,703	1,893	304	-	-



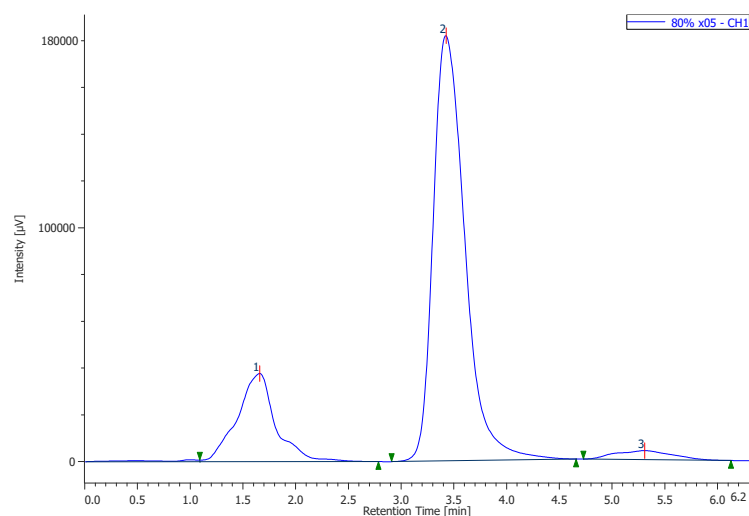
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	919625	37662	19,843	17,226	149	3,241	1,016
Kuersetin	3,358	3368317	177260	77,21	81,074	679	2,252	1,443
Unknown	5,175	136589	3717	2,947	1,7	353	-	1,11



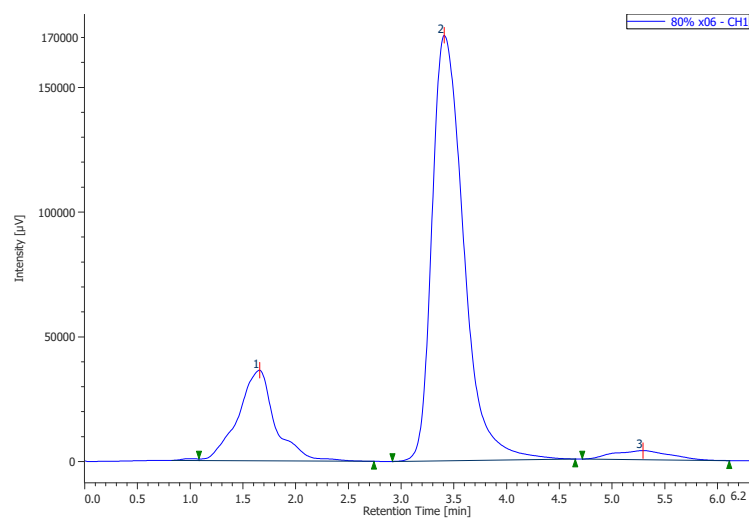
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,642	853112	36718	19,258	17,307	165	3,271	1,007
Kuersetin	3,3	3312605	171373	77,035	80,774	683	2,12	1,447
Unknown	5,058	164249	4071	3,708	1,919	305	-	-



Peak Name	tR	Area	Height	Area%	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,008	13950	1181	0,283	0,497	-	-	-
Unknown	1,633	967084	38633	19,616	16,25	137	3,122	1,01
Kuersetin	3,283	3394000	193986	77,158	81,597	687	2,22	1,409
Unknown	5,058	145079	3936	2,943	1,656	337	-	1,086

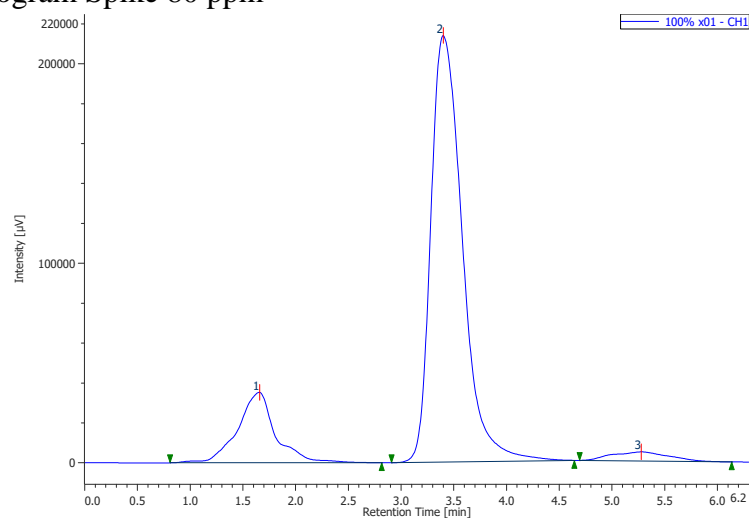


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,658	950841	37696	19,427	16,883	142	3,242	1,011
Kuersetin	3,425	3348278	181708	77,602	81,383	653	2,278	1,425
Unknown	5,308	145434	3871	2,971	1,734	358	-	1,092

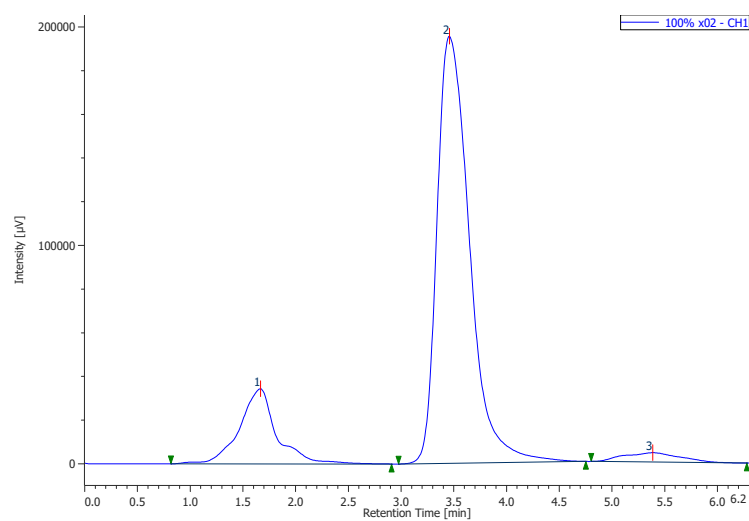


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,658	883903	36306	19,364	17,258	154	3,282	1,003
Kuersetin	3,408	3416034	170426	77,682	81,012	652	2,297	1,474
Unknown	5,292	134843	3639	2,954	1,73	364	-	1,086

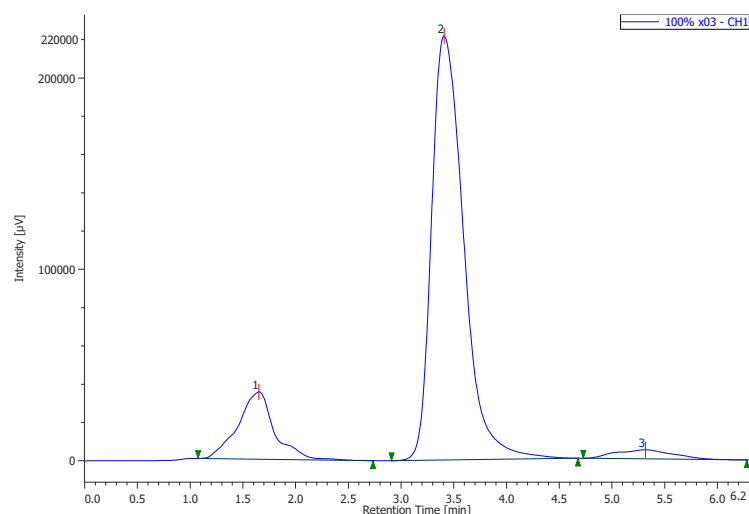
- Kromatogram Spike 80 ppm



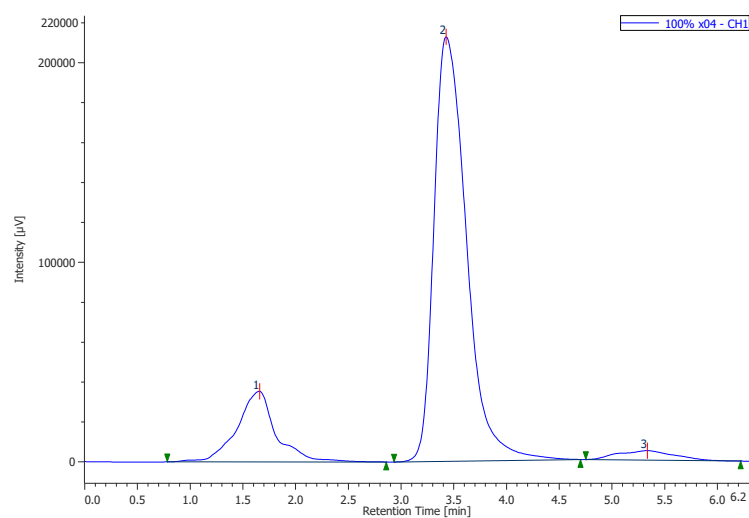
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,658	879953	35261	16,015	13,91	154	3,264	1,011
Kuersetin	3,4	4183956	213674	80,879	84,291	644	2,275	1,448
Unknown	5,275	170646	4561	3,106	1,799	357	-	1,095



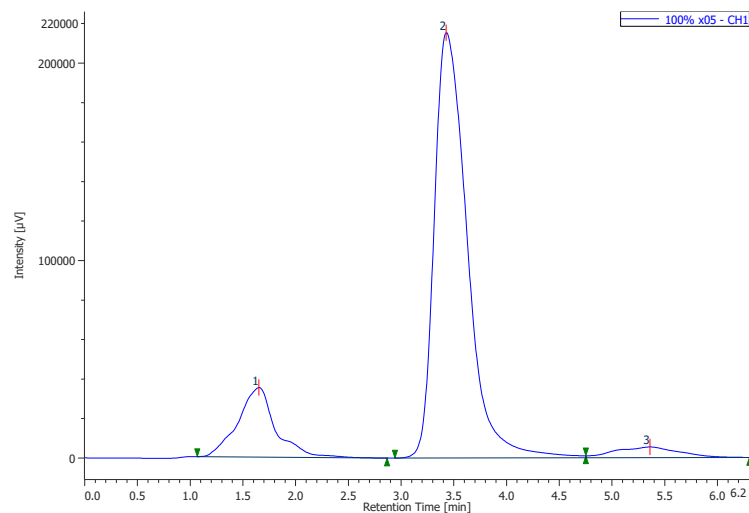
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,667	844835	34414	16,285	14,699	164	3,355	1,026
Kuersetin	3,458	4141865	195420	80,611	83,466	631	2,316	1,512
Unknown	5,383	161015	4298	3,104	1,836	372	-	1,109



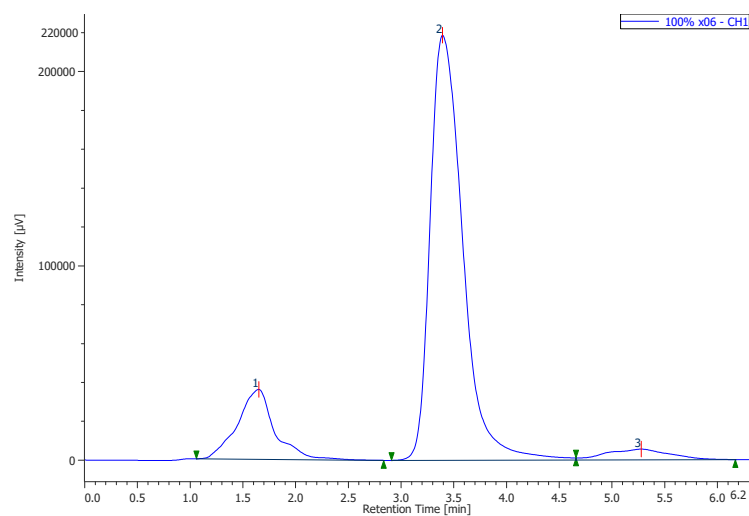
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	843307	35128	14,756	13,436	151	3,256	1,01
Kuersetin	3,408	4190802	221523	82,078	84,729	622	2,295	1,453
Unknown	5,317	180956	4797	3,166	1,835	360	-	1,095



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,658	909481	35439	16,164	14,025	146	3,219	1,009
Kuersetin	3,425	4211771	212506	80,72	84,099	615	2,315	1,518
Unknown	5,333	175290	4742	3,115	1,877	376	-	1,096

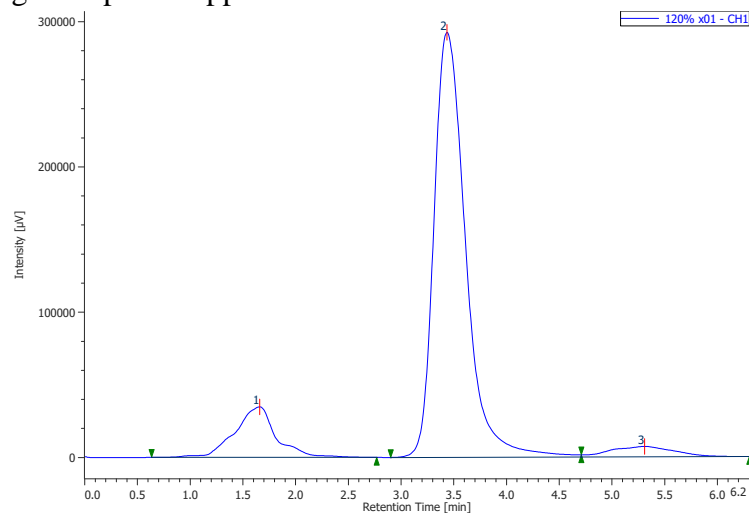


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	874549	35207	15,167	13,761	147	3,235	1,047
Kuersetin	3,425	4226237	215252	80,923	84,131	609	2,226	1,563
Unknown	5,358	225491	5394	3,911	2,108	326	-	-

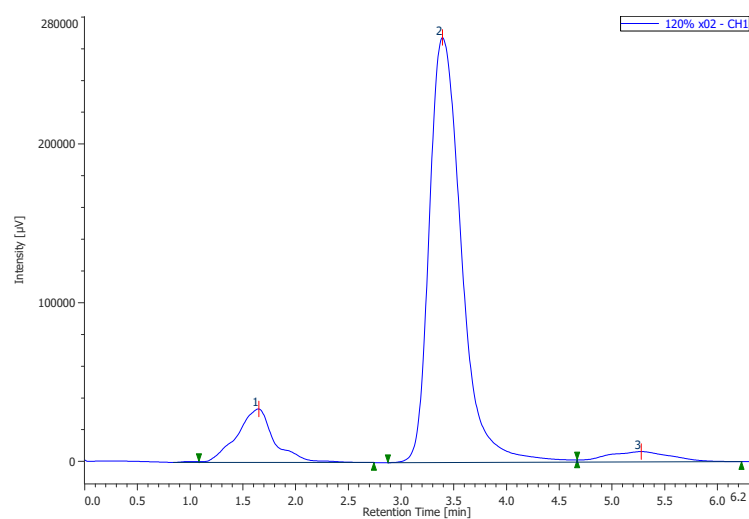


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	879460	35939	15,175	13,825	149	3,204	1,025
Kuersetin	3,392	4128040	218520	80,893	84,062	610	2,187	1,505
Unknown	5,275	227828	5493	3,931	2,113	321	-	-

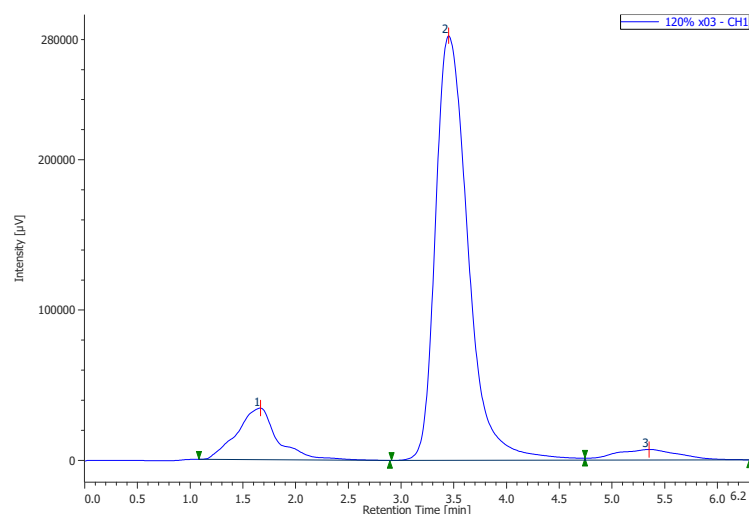
- Kromatogram Spike 96 ppm



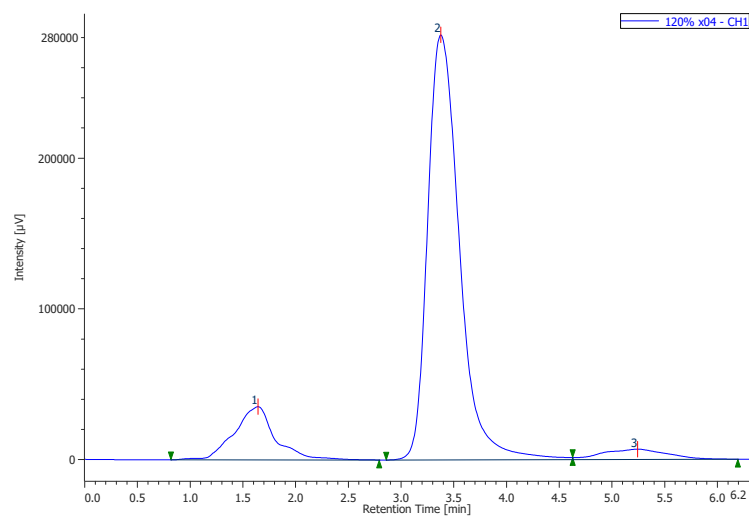
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,658	949306	34848	12,931	10,425	124	3,175	0,988
Kuersetin	3,433	4940510	292267	82,961	87,43	682	2,2	1,409
Unknown	5,308	301601	7170	4,108	2,145	322	-	-



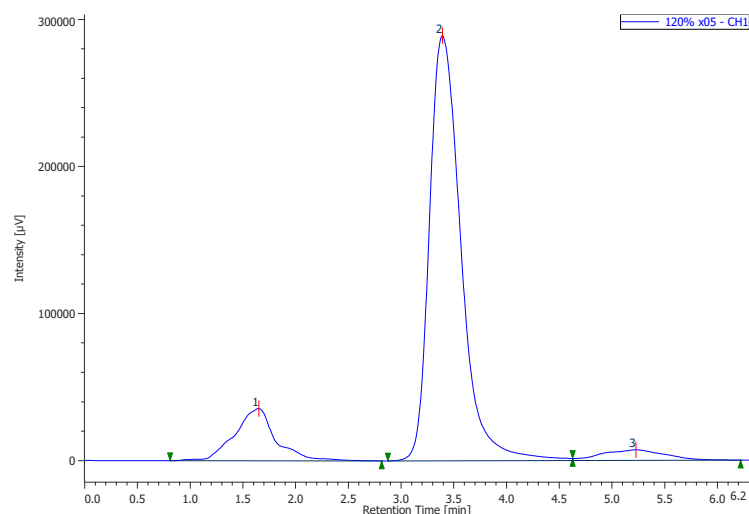
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	829919	33695	12,28	10,947	146	3,226	1,01
Kuersetin	3,392	4929344	267596	83,606	86,935	640	2,161	1,412
Unknown	5,275	278067	6522	4,114	2,119	303	-	-



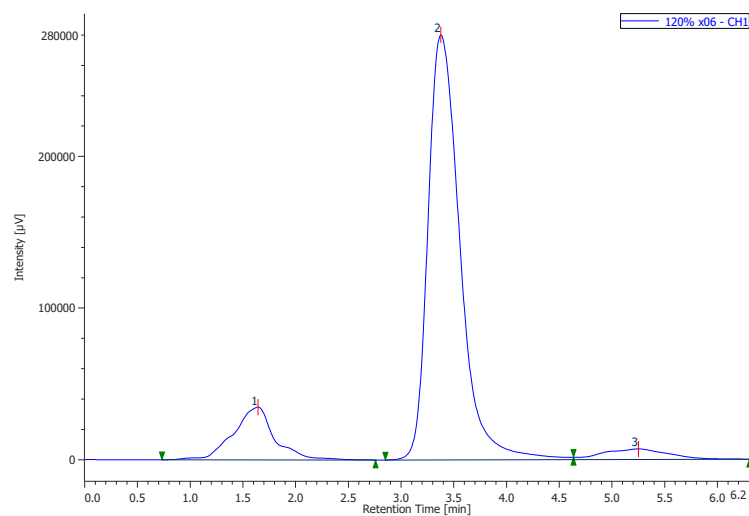
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,667	923702	34452	12,721	10,642	128	3,153	1,072
Kuersetin	3,45	5006357	282287	83,27	87,194	641	2,209	1,42
Unknown	5,35	291116	7006	4,009	2,164	329	-	-



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,642	951866	35273	13,343	10,89	122	3,085	1,053
Kuersetin	3,375	4944789	281821	82,63	87,009	643	2,168	1,399
Unknown	5,242	287294	6805	4,027	2,101	308	-	-

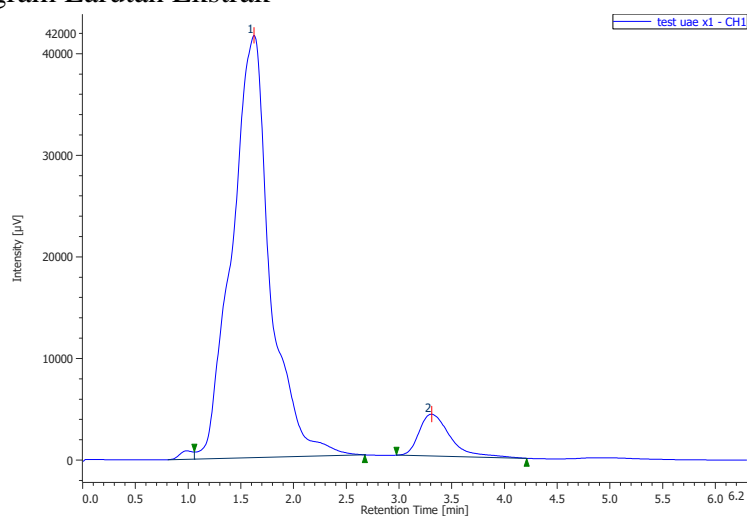


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,65	963079	35498	13,273	10,709	124	3,119	1,035
Kuersetin	3,392	4995900	288823	82,636	87,132	661	2,167	1,398
Unknown	5,225	296802	7156	4,091	2,159	320	-	-

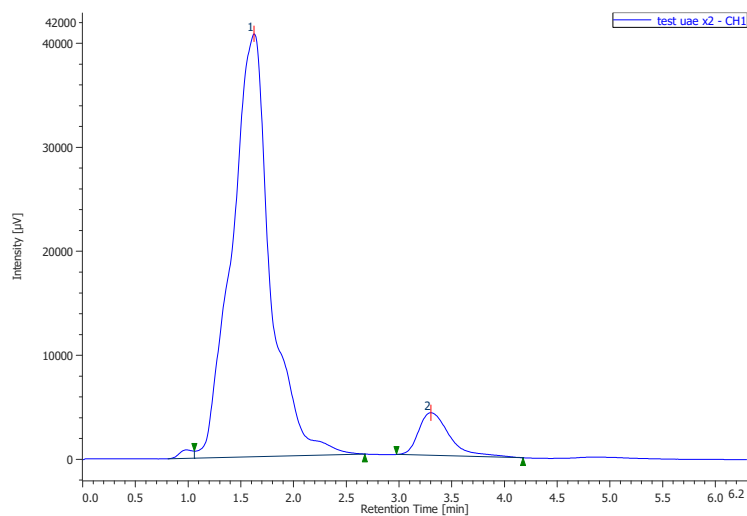


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,642	939056	34780	13,177	10,808	122	3,078	0,996
Kuersetin	3,375	5042738	280062	82,688	87,032	637	2,182	1,434
Unknown	5,25	294649	6949	4,135	2,159	312	-	-

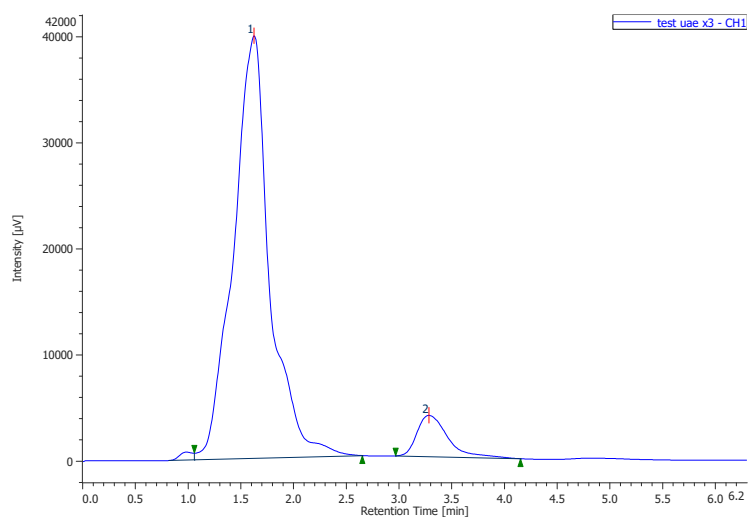
- Kromatogram Larutan Ekstrak



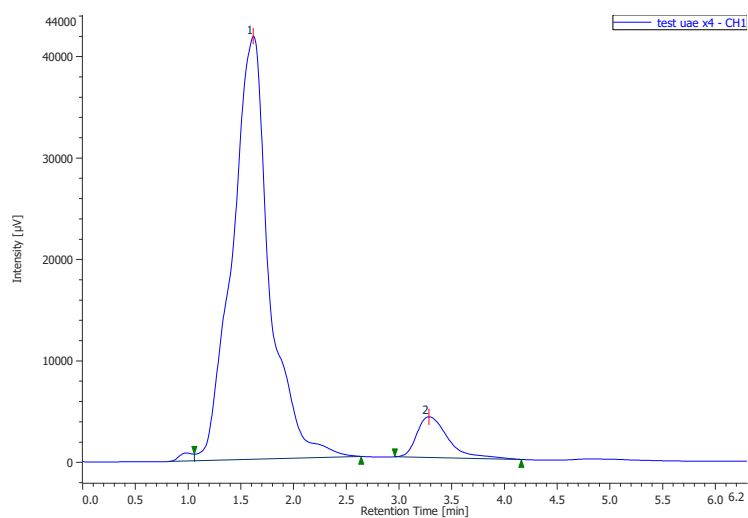
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,625	1041443	41534	92,474	90,983	134	3,148	1,037
Kuersetin	3,308	84762	4116	7,526	9,017	669	-	1,695



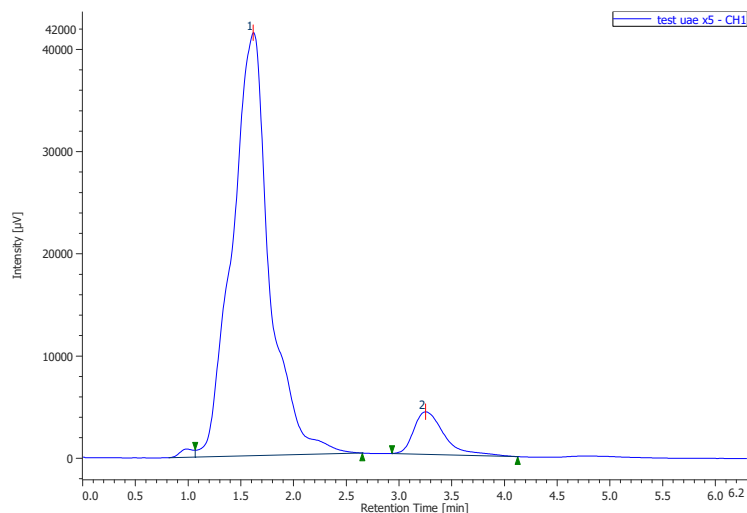
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,625	1027301	40636	92,494	90,829	133	3,142	1,033
Kuersetin	3,3	83363	4103	7,506	9,171	682	-	1,711



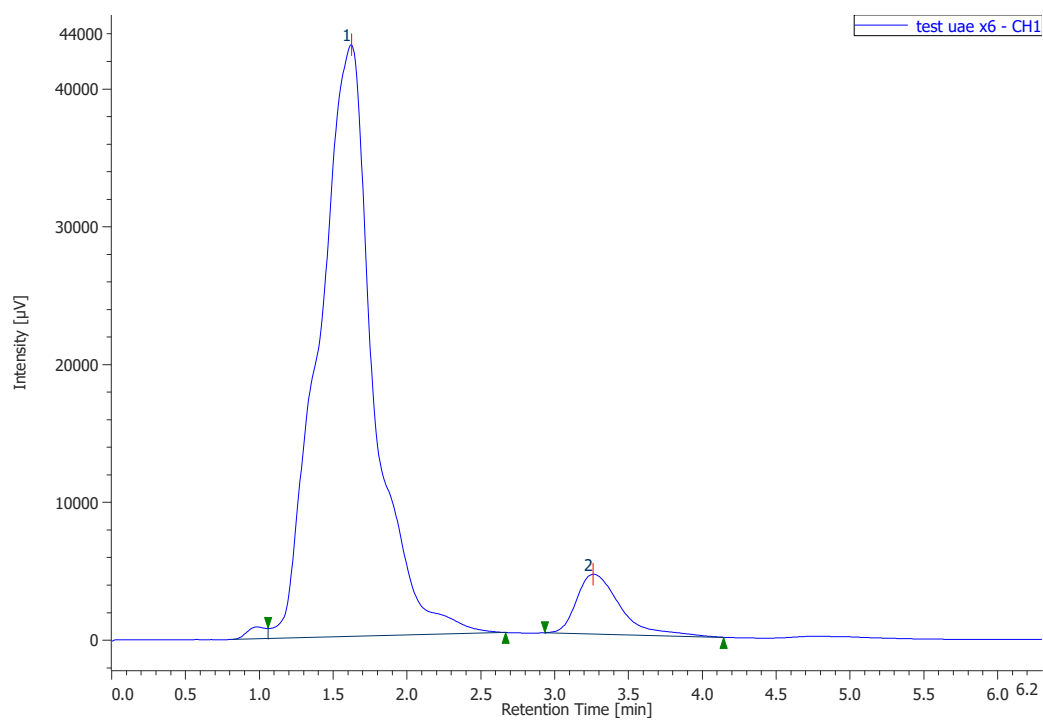
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,625	953402	39813	92,294	91,097	152	3,214	1,033
Kuersetin	3,283	80605	3891	7,706	8,903	668	-	1,766



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,617	1018516	41679	92,431	91,208	143	3,164	1,047
Kuersetin	3,283	83404	4018	7,569	8,792	650	-	1,782



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,617	1014712	41360	92,37	90,864	138	3,124	1,055
Kuersetin	3,25	83822	4159	7,63	9,136	681	-	1,779



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	1,625	1095068	42910	92,499	90,821	126	3,012	1,029
Kuersetin	3,258	88797	4337	7,501	9,179	658	-	1,775

- Data Validasi Metode

Konsentrasi (ppm)	Luas Area (Spike)	Luas Area Ekstrak	Luas Area Standar	C terukur	Rerata C Terukur	SD	RSD	% Difference	% Recovery
64	3342787	84762	3258025	63,1086	63,5281	0,6876	1,0824	-1,4031	98,6072
	3368317	83363	3284954	63,6336				-0,5767	99,4276
	3312605	80605	3232000	62,6011				-2,2019	97,8143
	3394000	83404	3310596	64,1336				0,21034	100,209
	3348278	83822	3264456	63,2339				-1,2058	98,8031
	3416034	88797	3327237	64,4580				0,72107	100,716
80	4183956	84762	4099194	79,5095	79,4534	0,7818	0,9840	-0,6173	99,3869
	4141865	83363	4058502	78,7161				-1,6159	98,3952
	4190802	80605	4110197	79,7240				-0,3473	99,6551
	4211771	83404	4128367	80,0783				0,09859	100,098
	4226237	83822	4142415	80,3522				0,44333	100,44
	4128040	88797	4039243	78,3406				-2,0885	97,9258
96	4940510	84762	4855748	94,2606	94,9768	0,8608	0,9063	-1,8314	98,1882
	4929344	83363	4845981	94,0702				-2,0319	97,9898
	5006357	80605	4925752	95,6255				-0,3942	99,61
	4944789	83404	4861385	94,3705				-1,7156	98,3027
	4995900	83822	4912078	95,3589				-0,675	99,3322
	5042738	88797	4953941	96,1751				0,18445	100,182

Keterangan : C = Konsentrasi

Luas Area Standar = Luas Area Spike – Luas Area Ekstrak

Contoh perhitungan

Luas area standar 64 ppm x1 = 3342787 – 84762 = 3258025

$$C \text{ terukur (ppm)} = \frac{y \text{ (luas area standar)} - a \text{ (intercept)}}{b \text{ (slope)}}$$

Contoh perhitungan

$$C \text{ terukur konsentrasi 64 ppm} = \frac{3258025 - 21315,875}{51287,92016} = 63,1086 \text{ ppm}$$

$$\text{Standar Deviasi (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Contoh perhitungan nilai SD 64 ppm

Selisih dari C x1 = 63,10860559 - 63,52819107 = -0,419585481

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (-0,4195)^2 + (0,1054)^2 + (-0,927)^2 + (0,6054)^2 + (-0,2941)^2 + (0,9298)^2}{6-1}}$$

SD = 0,687653107

$$RSD = \frac{SD}{\text{rerata}} \times 100$$

Contoh perhitungan nilai RSD 64 ppm

$$RSD \text{ 64 ppm} = \frac{0,6876}{63,5281} \times 100 = 1,0824$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C \text{ terukur}}{\text{konsentrasi}} \times 100$$

Contoh perhitungan nilai % Recovery 64 ppm

$$\% \text{ Rec 64 ppm x1} = \frac{63,1086 \text{ ppm}}{64 \text{ ppm}} \times 100 = 98,6071 \%$$

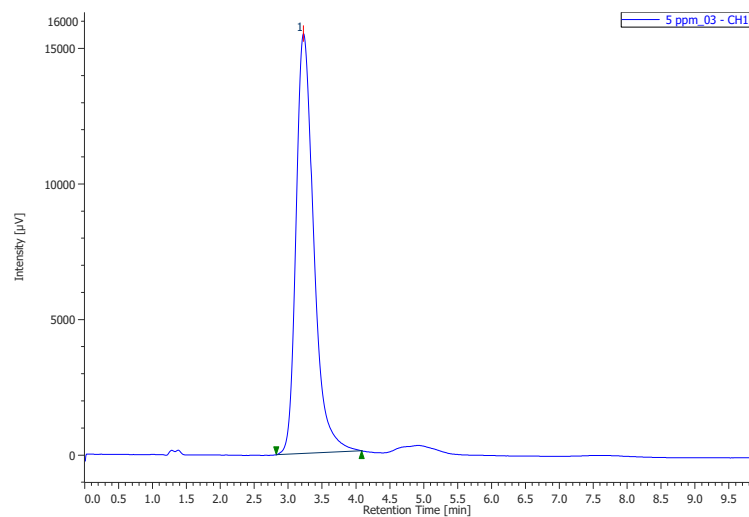
$$\% \text{ Difference} = \frac{C \text{ terukur} - \text{konsentrasi}}{\text{rerata } C \text{ terukur}} \times 100$$

Contoh perhitungan nilai % Difference 64 ppm

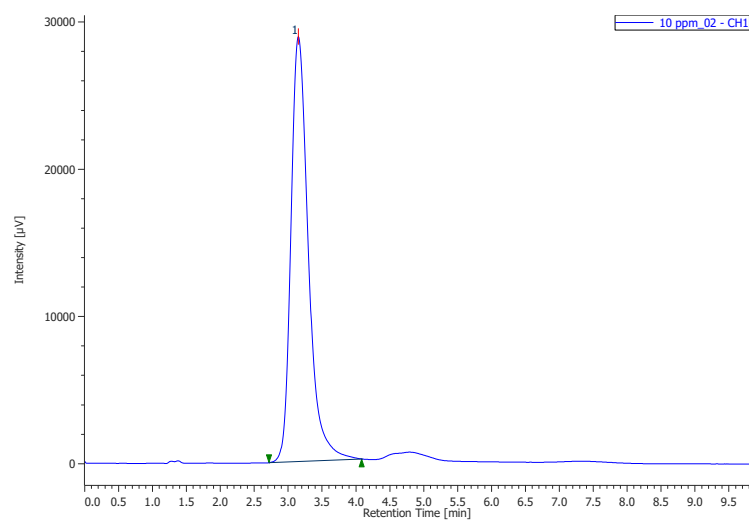
$$\% \text{ Diff 64 ppm x1} = \frac{63,1086 \text{ ppm} - 64 \text{ ppm}}{63,5281 \text{ ppm}} \times 100 = -1,4031 \%$$

Lampiran 8. Data Kurva Kalibrasi Kuersetin

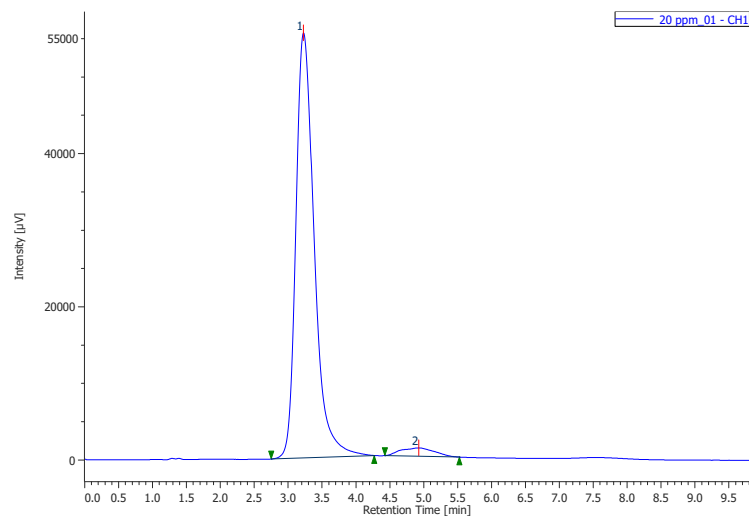
Kromatogram Larutan Deret



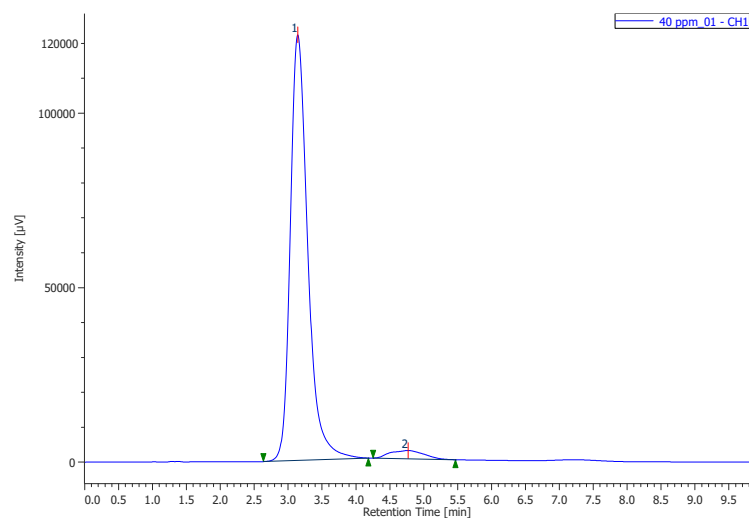
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,225	276524	15474	100	100	792	-	1,383



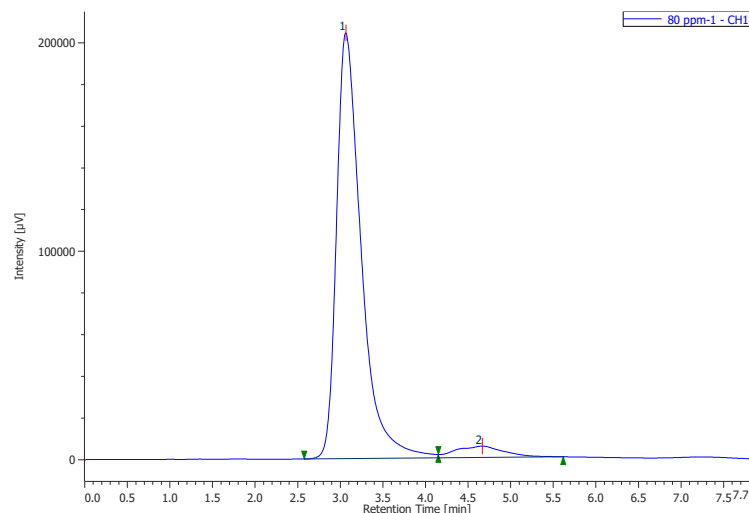
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,15	516970	28841	100	100	778	-	1,373



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,225	1042526	55448	96,508	98,059	738	2,273	1,394
Unknown	4,925	37723	1098	3,492	1,941	370	-	1,059



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,142	2112108	121861	96,41	98,088	770	2,225	1,341
Unknown	4,767	81634	2375	3,59	1,912	355	-	1,07



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Kuersetin	3,1	4108079	204217	94,994	97,388	603	2,021	1,596
Unknown	4,667	216497	5478	5,006	2,612	294	-	-

Data Perhitungan

Konsterasi (ppm)	Luas Area	y'	y-y'	(y-y') ²
5	276524	277755,4758	-1231,475806	1516532,662
10	516970	534195,0766	-17225,07661	296703264,3
20	1042526	1047074,278	-4548,278226	20686834,82
40	2112108	2072832,681	39275,31855	1542550647
80	4108079	4124349,488	-16270,4879	264728776,6
			Σ	2126186055

	Nilai
SLOPE (b)	51287,9201
INTERCEPT (a)	21315,875
R²	0,999782763
N-2	3
Sy	26621,9587
LOD	1,5572
LOQ	5,1906

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{n-2}}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{2126186055}{3}} = 26621,9587$$

$$S_{x_0} = \frac{S_y}{b}$$

$$= \frac{26621,9587}{51287,92016} = 0,519068791$$

$$V_{x_0} = \frac{S_{x_0}}{x}$$

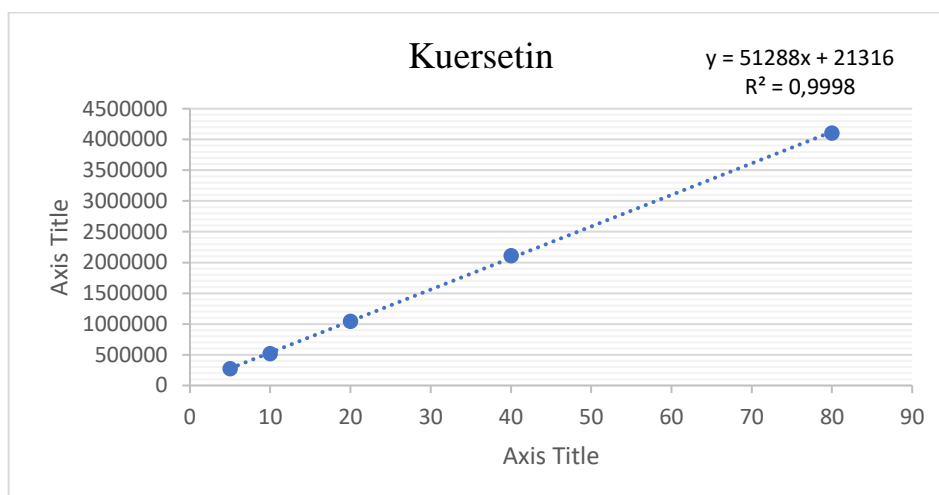
$$= \frac{0,519068791}{31} = 0,016744155$$

$$LOD = \frac{3 \times S_y}{b}$$

$$LOD = \frac{3 \times 26621,9587}{51287,92016} = 1,5572 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_y}{b}$$

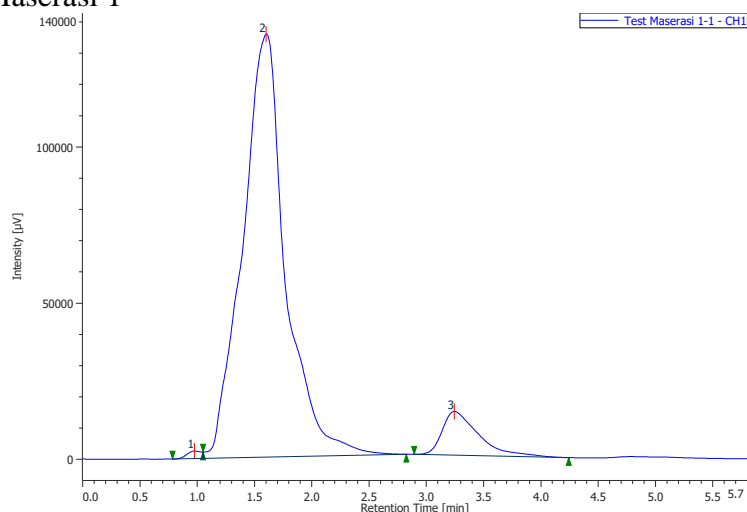
$$LOQ = \frac{10 \times 26621,9587}{51287,92016} = 5,1906 \text{ ppm}$$



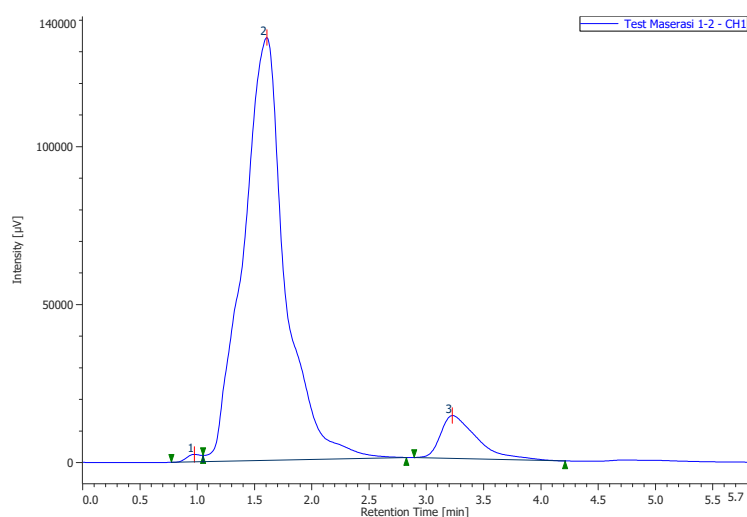
Lampiran 9. Hasil Uji Kadar Kuersetin Ekstrak Bunga Telang

Kromatogram

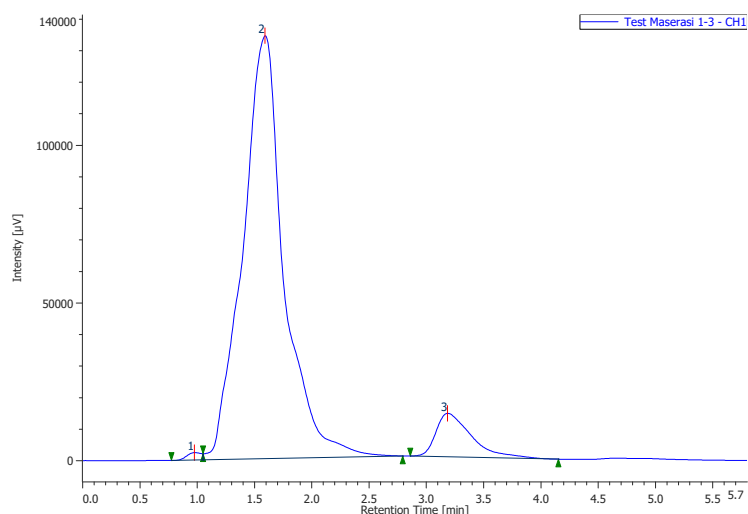
1. Ekstrak Maserasi 1



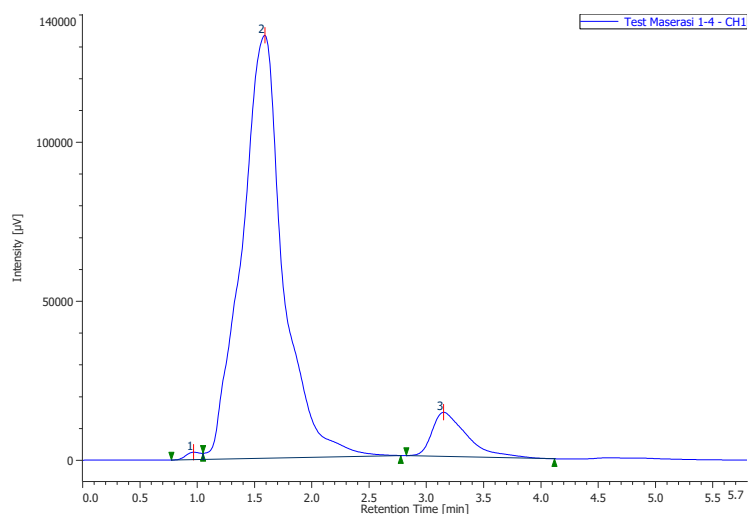
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	21400	2454	0,556	1,617	-	-	-
Unknown	1,6	3519284	135279	91,402	89,151	121	2,909	1,085
Kuersetin	3,242	309673	14009	8,043	9,232	555	-	1,959



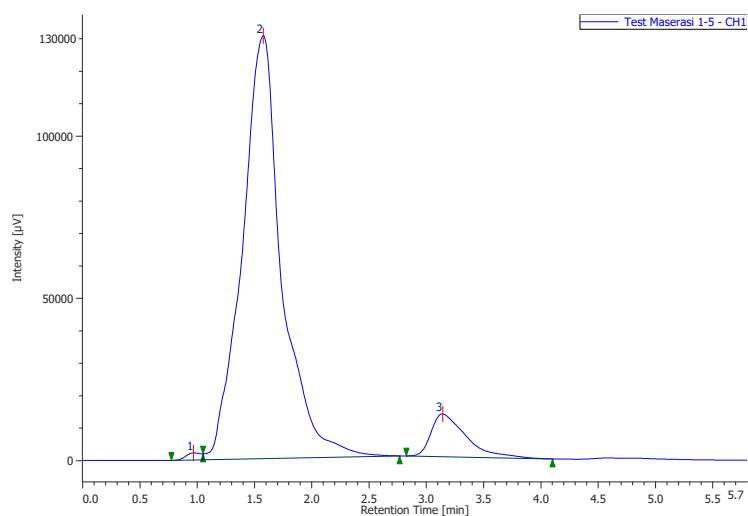
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	21013	2390	0,565	1,597	-	-	-
Unknown	1,608	3403476	133720	91,444	89,347	131	2,914	1,076
Kuersetin	3,225	297437	13554	7,991	9,056	549	-	1,982



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	20670	2359	0,565	1,571	-	-	-
Unknown	1,592	3341143	134004	91,319	89,24	132	2,916	1,087
Kuersetin	3,183	296960	13799	8,116	9,189	556	-	1,963

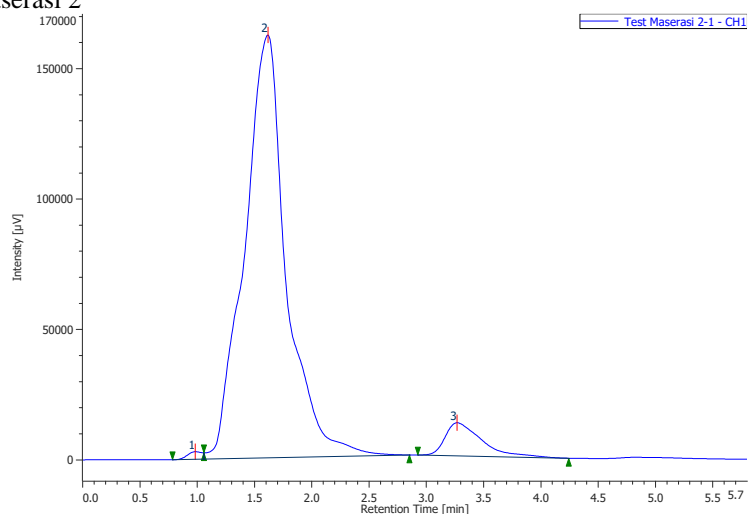


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,967	21403	2348	0,586	1,575	-	-	-
Unknown	1,592	3340287	132882	91,415	89,133	129	2,868	1,065
Kuersetin	3,15	292301	13852	8	9,292	568	-	1,958

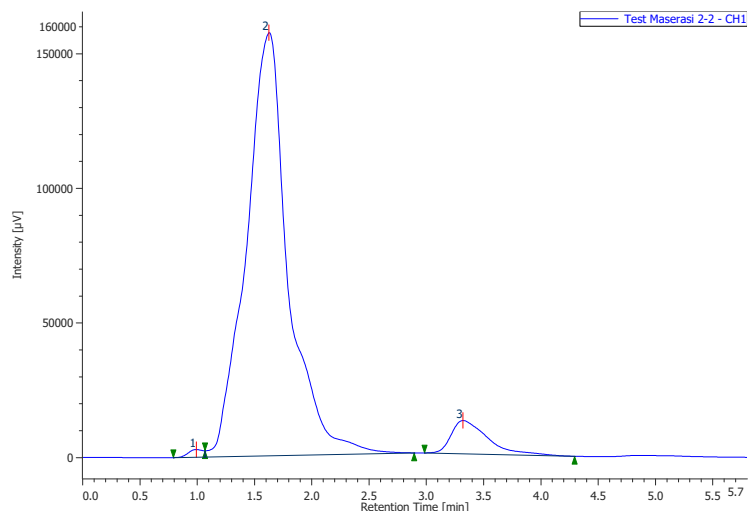


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,967	19741	2186	0,575	1,502	-	-	-
Unknown	1,575	3132252	130245	91,291	89,46	140	2,948	1,099
Kuersetin	3,142	289084	13158	8,134	9,038	555	-	1,974

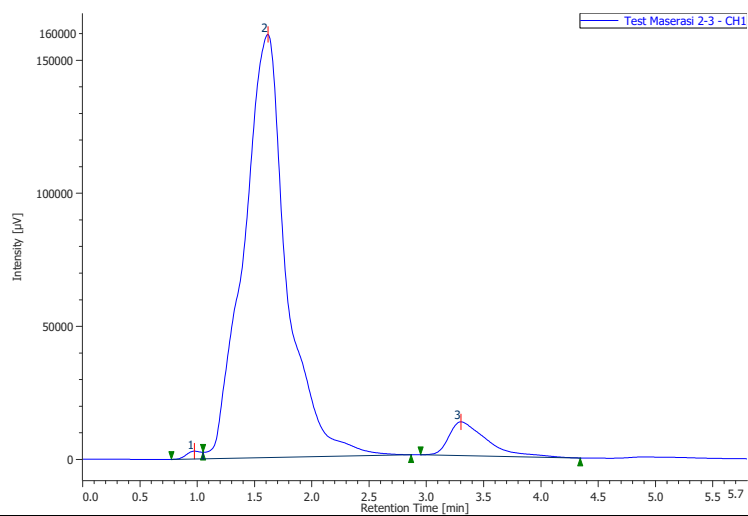
2. Ekstrak Maserasi 2



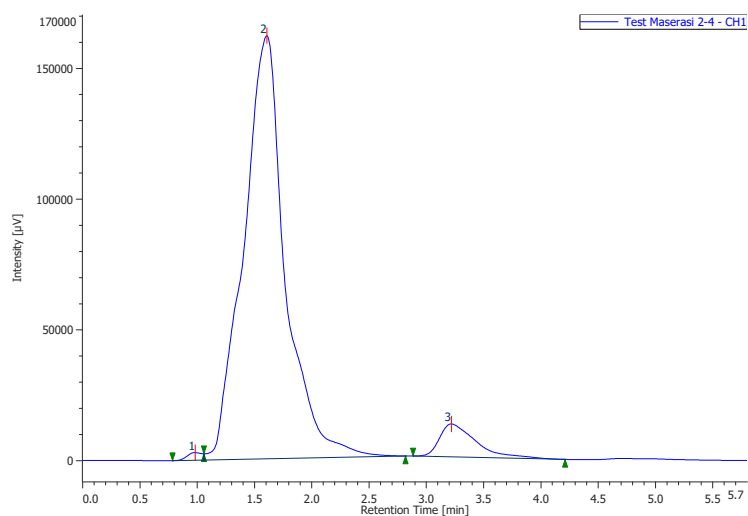
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	25989	2938	0,59	1,654	-	-	-
Unknown	1,617	4097989	161989	92,998	91,202	133	2,958	1,069
Kuersetin	3,267	282578	12689	6,413	7,144	548	-	2,021



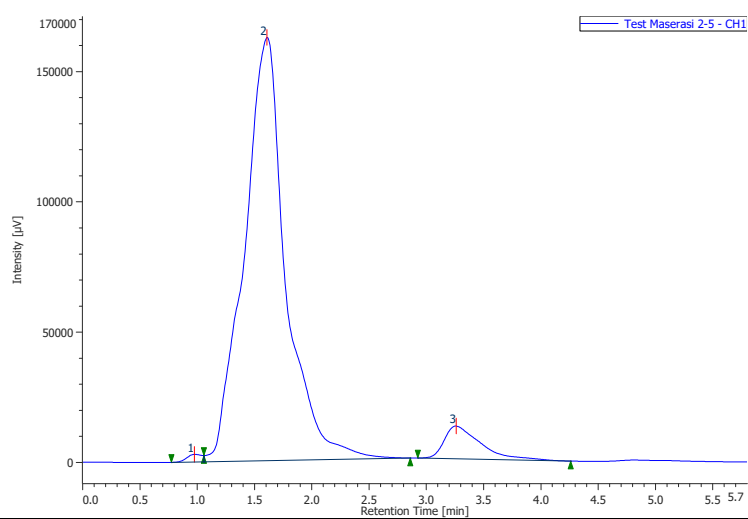
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,992	25243	2836	0,588	1,647	-	-	-
Unknown	1,625	3993374	157013	93,019	91,18	133	3,031	1,089
Kuersetin	3,317	284448	12353	6,393	7,173	568	-	2,041



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	25894	2930	0,582	1,68	-	-	-
Unknown	1,617	4136010	158840	92,883	91,05	125	2,934	1,073
Kuersetin	3,3	291022	12683	6,536	7,27	532	-	2,092

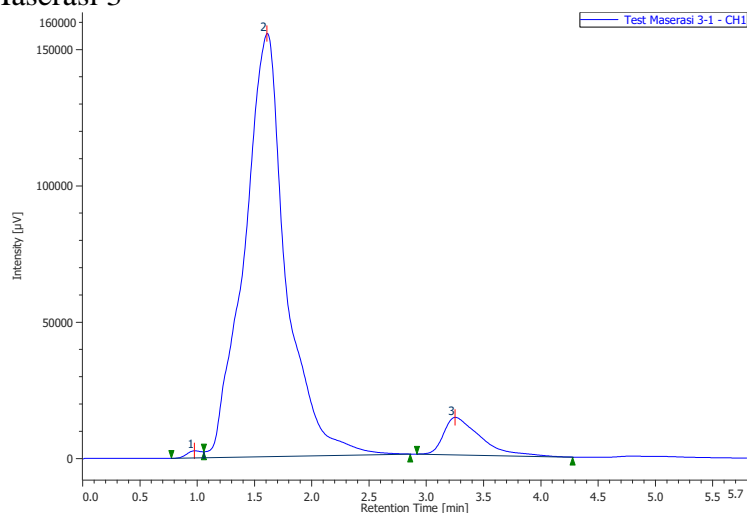


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	25778	2879	0,588	1,625	-	-	-
Unknown	1,608	4077505	161684	93,039	91,272	130	2,887	1,072
Kuersetin	3,217	289275	12583	6,372	7,103	540	-	2,042

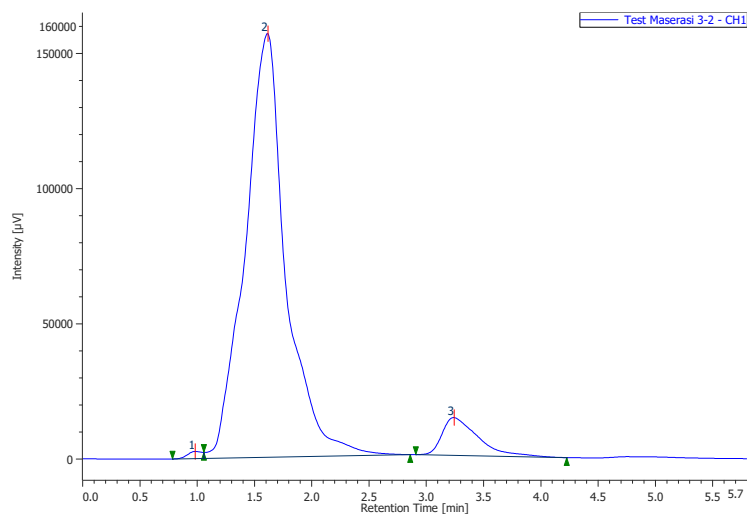


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	26577	2926	0,606	1,646	-	-	-
Unknown	1,608	4080830	162314	93,047	91,276	134	2,983	1,081
Kuersetin	3,258	278366	12588	6,347	7,078	553	-	2,059

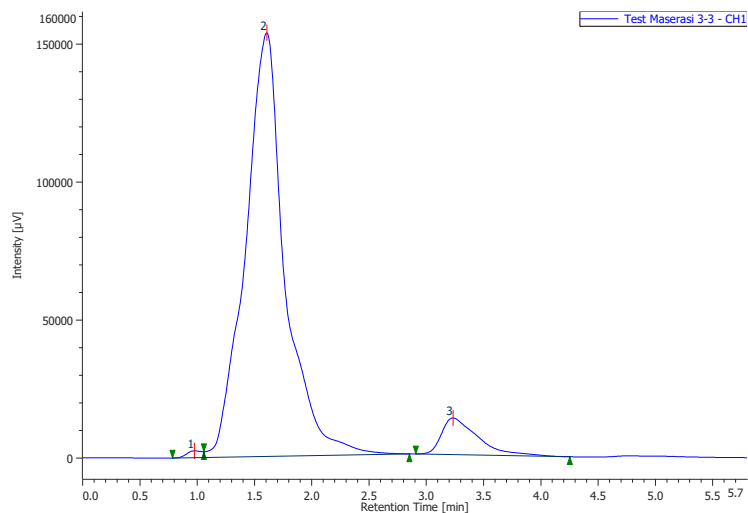
3. Ekstrak Maserasi 3



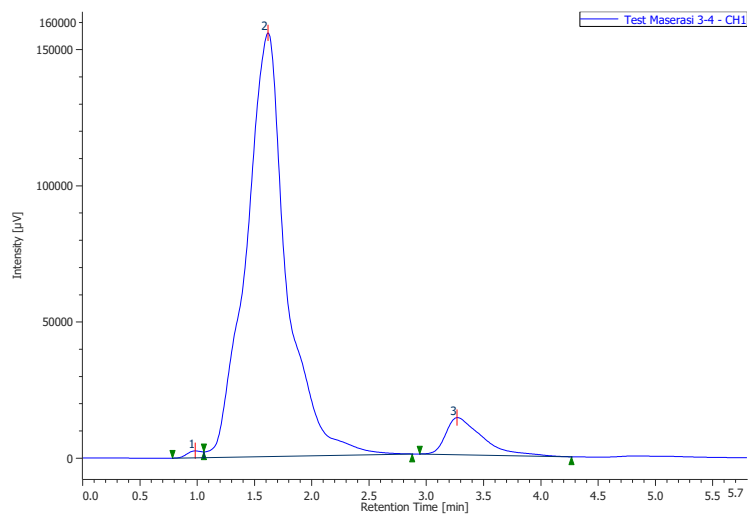
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	23774	2594	0,56	1,513	-	-	-
Unknown	1,608	3917830	155063	92,245	90,465	134	2,941	1,072
Kuersetin	3,25	305579	13750	7,195	8,022	533	-	2,07



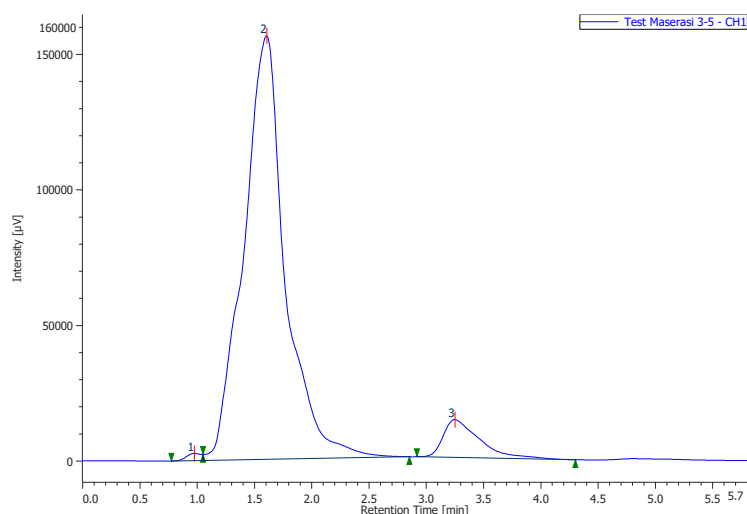
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	22964	2623	0,547	1,514	-	-	-
Unknown	1,617	3865876	156559	92,158	90,402	140	2,961	1,07
Kuersetin	3,242	305999	13999	7,295	8,083	549	-	1,973



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	22600	2474	0,566	1,462	-	-	-
Unknown	1,608	3680461	153463	92,107	90,674	148	3,001	1,079
Kuersetin	3,233	292802	13309	7,328	7,864	539	-	2,076

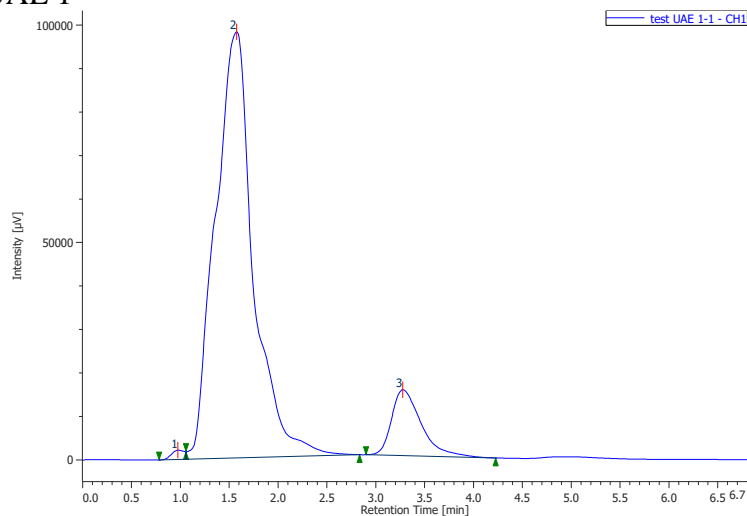


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	22800	2527	0,553	1,473	-	-	-
Unknown	1,617	3802725	155413	92,177	90,594	146	3,033	1,087
Kuersetin	3,267	299924	13609	7,27	7,933	554	-	2,103

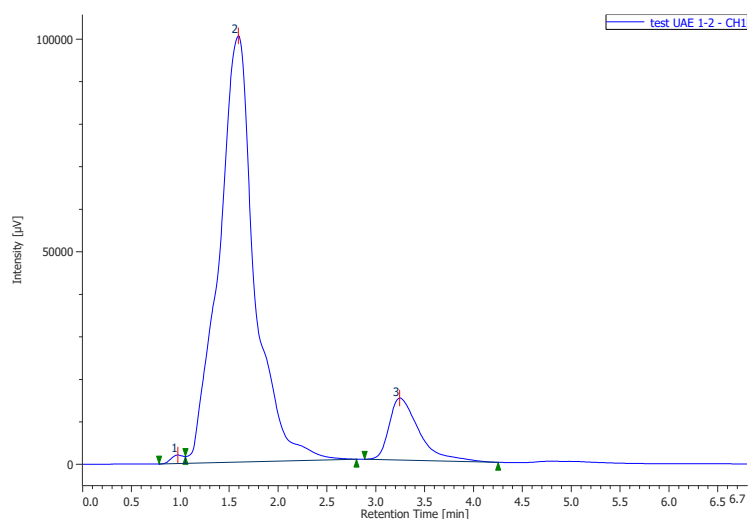


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	23322	2619	0,547	1,516	-	-	-
Unknown	1,608	3928468	156142	92,213	90,409	133	2,952	1,072
Kuersetin	3,25	308409	13946	7,239	8,075	543	-	2,053

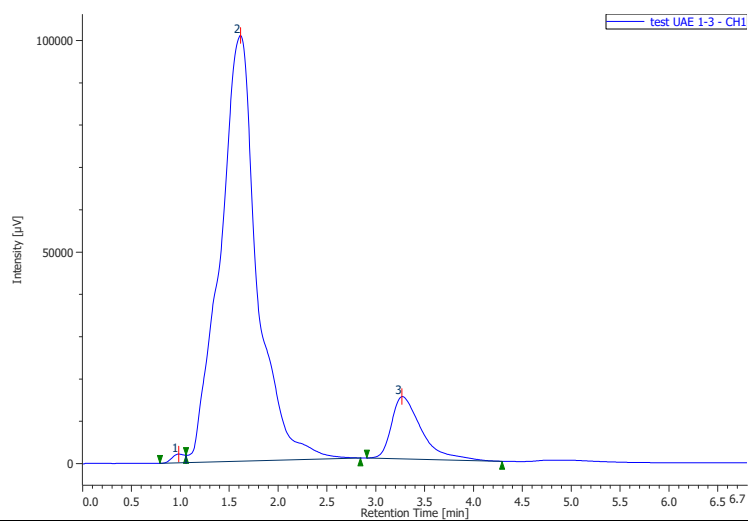
4. Ekstrak UAE 1



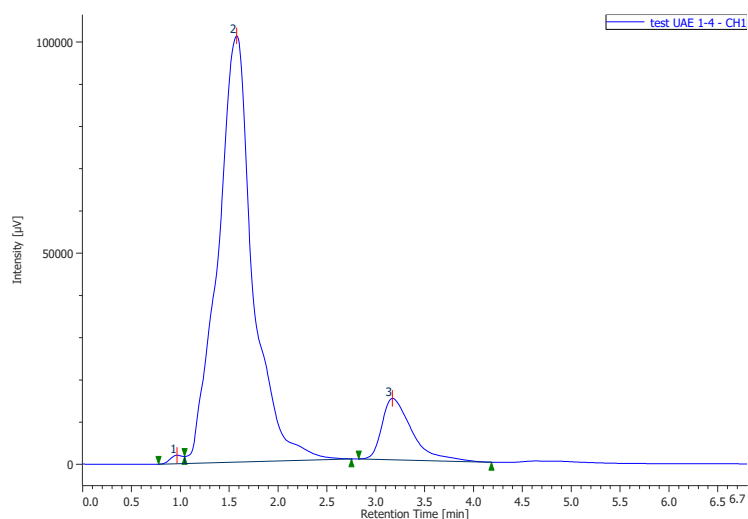
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	19298	2116	0,647	1,837	-	-	-
Unknown	1,575	2645836	97907	88,658	84,997	87	2,825	1,129
Kuersetin	3,275	319175	15166	10,695	13,166	612	-	1,612



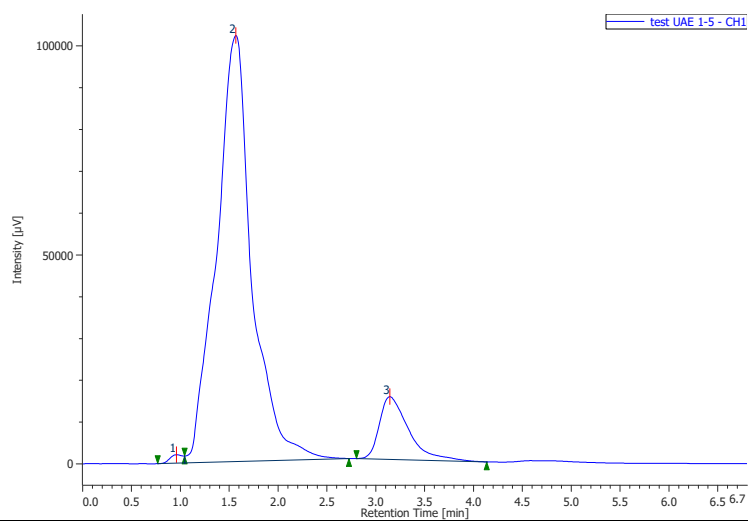
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	18123	2024	0,631	1,733	-	-	-
Unknown	1,592	2544710	100182	88,583	85,766	133	3,077	1,069
Kuersetin	3,242	309856	14603	10,786	12,502	612	-	1,874



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	18535	2082	0,623	1,775	-	-	-
Unknown	1,617	2644497	100523	88,844	85,671	126	3,008	1,055
Kuersetin	3,267	313521	14730	10,533	12,554	620	-	1,859

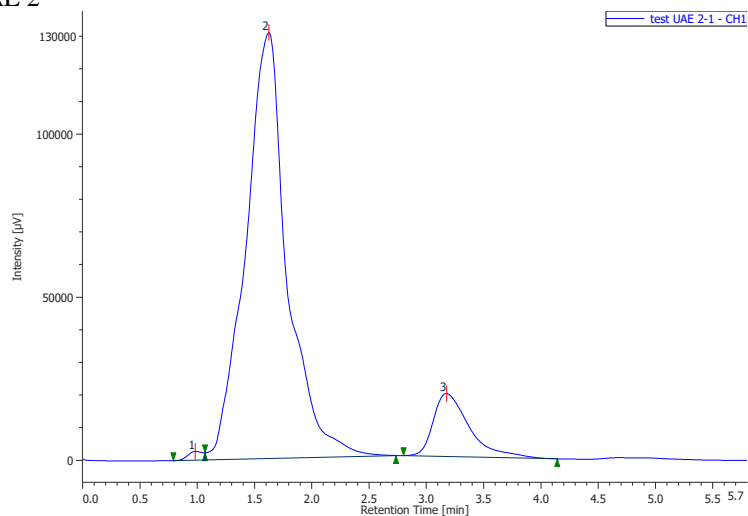


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,967	17690	1991	0,624	1,696	-	-	-
Unknown	1,575	2508685	100830	88,492	85,915	134	2,982	1,077
Kuersetin	3,167	313555	14539	10,884	12,389	579	-	1,904

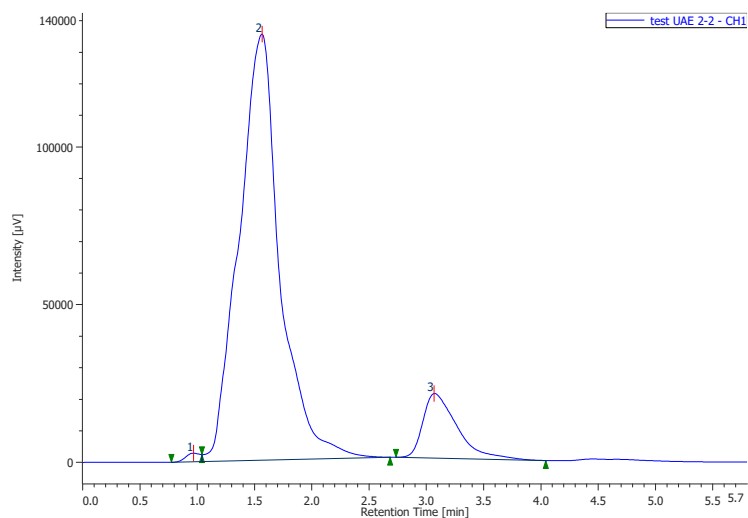


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,958	18499	2037	0,64	1,713	-	-	-
Unknown	1,567	2560876	101861	88,569	85,66	128	2,954	1,078
Kuersetin	3,142	312003	15014	10,791	12,626	594	-	1,849

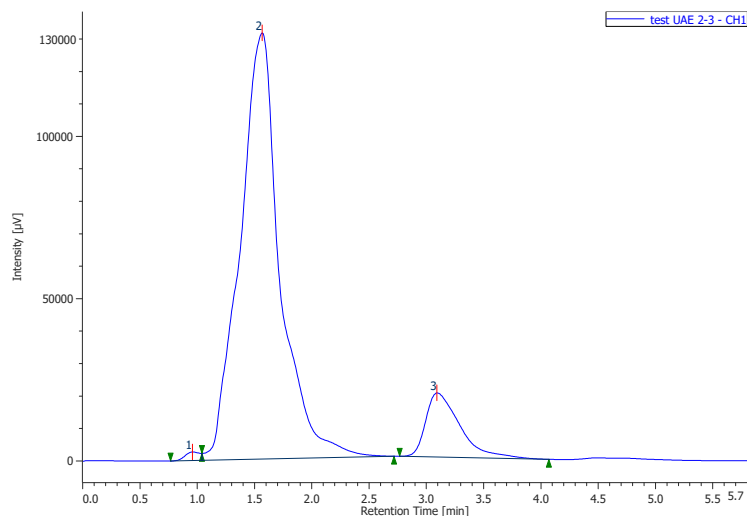
5. Ekstrak UAE 2



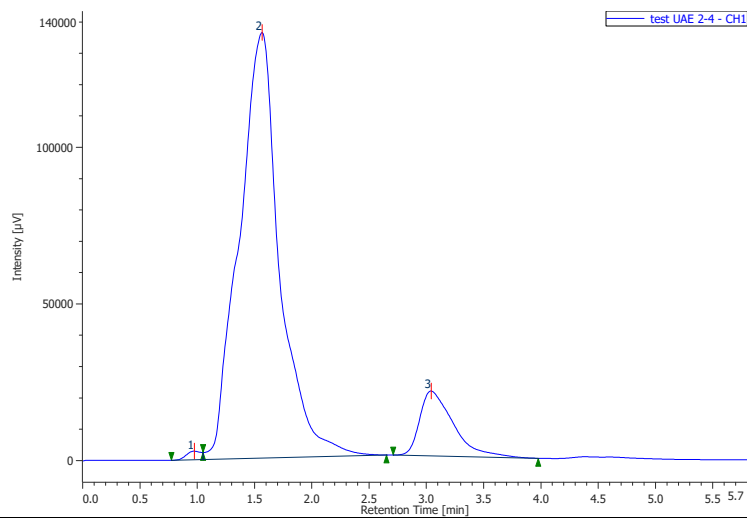
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	24302	2683	0,651	1,76	-	-	-
Unknown	1,625	3289370	130475	88,08	85,587	136	2,841	1,078
Kuersetin	3,175	420872	19290	11,27	12,653	558	-	1,806



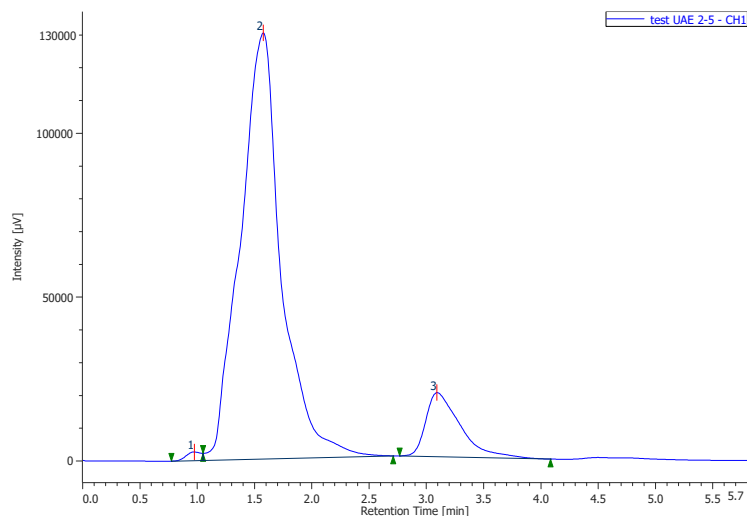
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,967	24198	2766	0,637	1,748	-	-	-
Unknown	1,567	3347097	134978	88,179	85,298	117	2,73	1,087
Kuersetin	3,097	424510	20500	11,184	12,954	548	-	1,917



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,958	23816	2641	0,658	1,719	-	-	-
Unknown	1,567	3183913	131213	88,028	85,416	135	2,877	1,093
Kuersetin	3,092	409198	19763	11,313	12,865	557	-	1,938

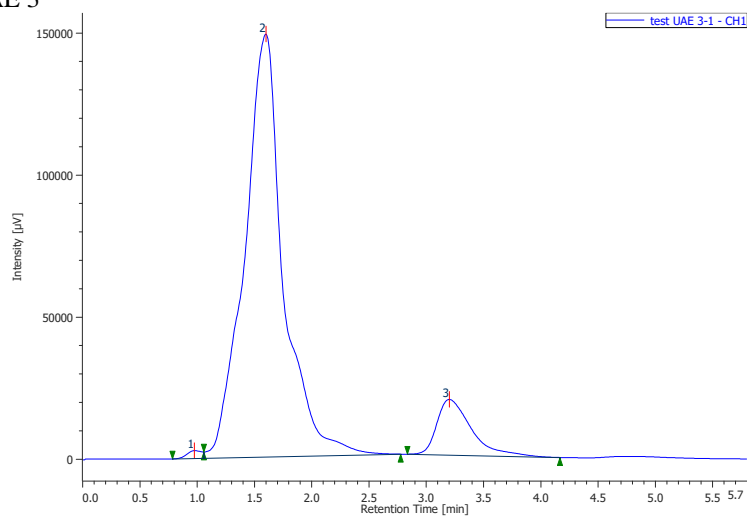


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	24446	2752	0,647	1,728	-	-	-
Unknown	1,567	3333273	135776	88,174	85,258	121	2,718	1,086
Kuersetin	3,092	419615	20726	11,179	13,014	548	-	1,855

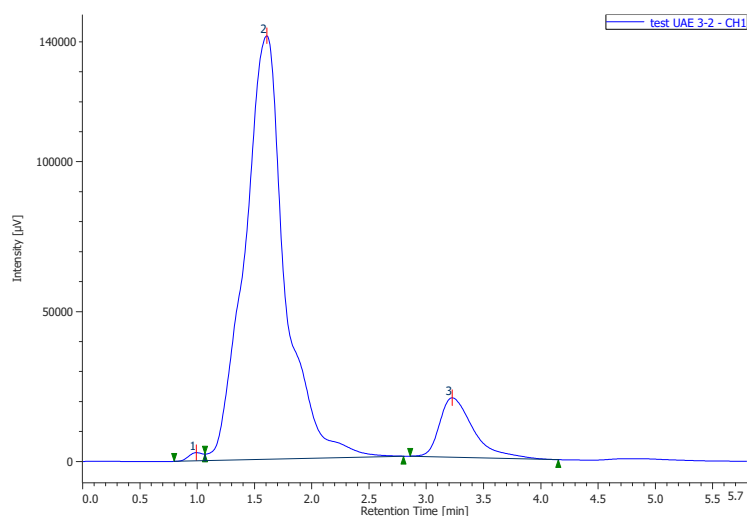


Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	23784	2632	0,65	1,731	-	-	-
Unknown	1,575	3226071	129925	88,212	85,422	124	2,78	1,104
Kuersetin	3,092	407314	19541	11,137	12,848	550	-	1,968

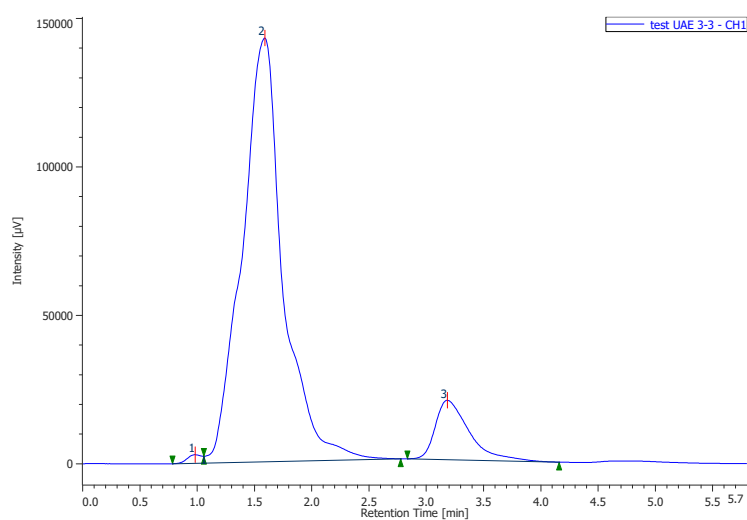
6. Ekstrak UAE 3



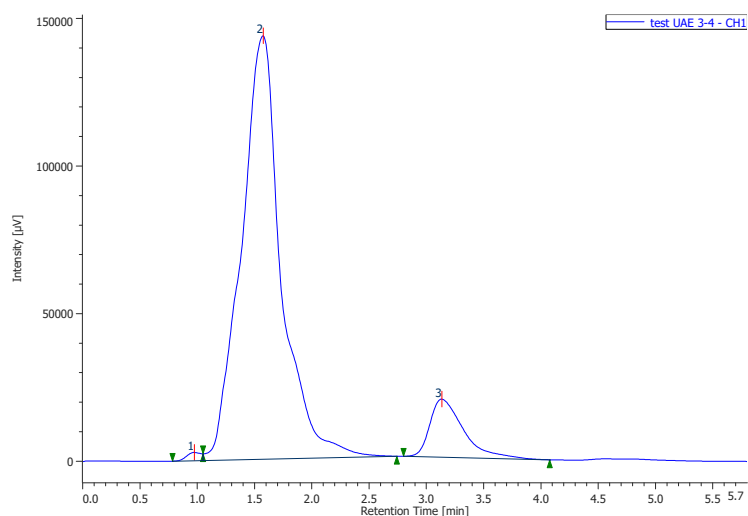
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	24680	2765	0,63	1,616	-	-	-
Unknown	1,6	3483458	148757	88,91	86,938	161	3,137	1,055
Kuersetin	3,2	409841	19586	10,461	11,447	609	-	1,816



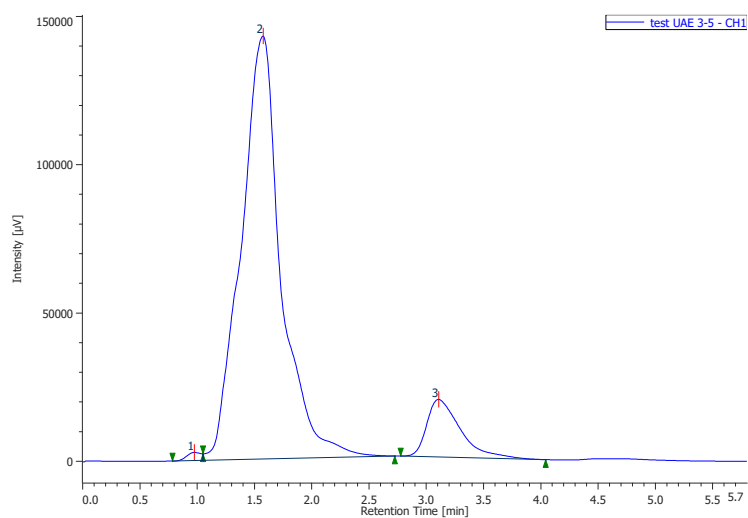
Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,992	23830	2767	0,613	1,69	-	-	-
Unknown	1,608	3454800	141194	88,942	86,225	142	3,099	1,076
Kuersetin	3,225	405682	19790	10,444	12,086	649	-	1,737



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,983	25277	2860	0,637	1,728	-	-	-
Unknown	1,592	3530285	142613	89	86,166	135	3,021	1,069
Kuersetin	3,183	411052	20036	10,363	12,106	627	-	1,823



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	24243	2788	0,622	1,681	-	-	-
Unknown	1,575	3470803	143359	89,118	86,456	136	2,987	1,084
Kuersetin	3,133	399578	19671	10,26	11,863	614	-	1,829



Peak Name	tR	Area	Height	Area %	Height %	NTP	Resolution	Symmetry Factor
Unknown	0,975	23881	2755	0,616	1,673	-	-	-
Unknown	1,575	3453900	142537	89,148	86,532	134	2,917	1,088
Kuersetin	3,108	396555	19429	10,235	11,795	593	-	1,818

Data Perhitungan

	Luas Area	C (ppm)	Kadar (<i>mg/g</i>)	Rerata Kadar
Ekstrak Maserasi 1	309673	5,6223	1,1244	1,0753
	297437	5,3837	1,0767	
	296960	5,3744	1,0748	
	292301	5,2836	1,0567	
	289084	5,2208	1,0441	
Ekstrak Maserasi 2	282578	5,0940	1,0188	1,0287
	284448	5,1304	1,0260	
	291022	5,2586	1,0517	
	289275	5,2246	1,0449	
	278366	5,0119	1,0023	
Ekstrak Maserasi 3	305579	5,5424	1,1084	1,0966
	305999	5,5506	1,1101	
	292802	5,2933	1,0586	
	299924	5,4322	1,0864	
	308409	5,5976	1,1195	
Ekstrak UAE 1	319175	5,8075	1,1615	1,1398
	309856	5,6258	1,1251	
	313521	5,6973	1,1394	
	313555	5,6980	1,1396	
	312003	5,6677	1,1335	
Ekstrak UAE 2	420872	7,7904	1,5580	1,5402
	424510	7,8613	1,5722	
	409198	7,5628	1,5125	
	419615	7,7659	1,5531	
	407314	7,5261	1,5052	
Ekstrak UAE 3	409841	7,5753	1,5150	1,4944
	405682	7,4942	1,4988	
	411052	7,5989	1,5197	
	399578	7,3752	1,4750	
	396555	7,3163	1,4632	

Perhitungan

$$x \text{ (ppm)} = \frac{y \text{ (luas area sampel)} - a \text{ (intercept)}}{b \text{ (slope)}}$$

$$\text{Kadar (} \text{mg/g)} = \frac{\text{konsentrasi sampel (ppm)} \times \text{volume awal sampel (L)} \times \text{fp}}{\text{berat sampel (mg)}}$$

Contoh perhitungan (Ekstrak Maserasi 1)

Ekstrak bunga telang ditimbang 100 mg dan dilarutkan pada labu 10 mL menggunakan metanol hingga tanda batas. Larutan diultrasonikasi selama 15 menit. Larutan kemudian dipipet 2,5 mL dan diencerkan dengan metanol hingga 5 mL.

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= 100 \text{ mg} \sim 0,1 \text{ gram} & \text{fp} &= \frac{5}{2,5} = 2 \\ \text{Volume} &= 10 \text{ mL} \sim 0,01 \text{ L} \end{aligned}$$

$$x \text{ (ppm)} = \frac{309673 - 21315,875}{51287,92016} = 5,6223 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar (mg/g)} = \frac{5,6223 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L} \times 2}{0,1 \text{ g}} = 1,1244 \text{ mg/g}$$

UJI ONE WAY ANOVA

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Maserasi	3	1.066867	.0347267	.0200495	.980601	1.153133	1.0287	1.0966
UAE	3	1.391467	.2191495	.1265260	.847069	1.935864	1.1398	1.5402
Total	6	1.229167	.2265006	.0924685	.991469	1.466864	1.0287	1.5402

Kadar Kuersetin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.158	1	.158	6.420	.064
Within Groups	.098	4	.025		
Total	.257	5			

Kriteria keputusan :

- Jika $\text{Sig} > \alpha$ (0,05) tidak terdapat perbedaan yang signifikan.
- Jika $\text{Sig} < \alpha$ (0,05) terdapat perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan :

Berdasarkan hasil dari *output* SPSS metode ekstraksi terhadap kadar kuersetin didapatkan nilai Signifikansi 0,064 maka diambil keputusan, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar kuersetin.

Paired Sampel T-test

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Ekstraksi Maserasi & Ekstraksi UAE	3	-.311	.798

Kriteria keputusan :

- Jika nilai Sig. $> (0,05)$ tidak terdapat hubungan antara kedua variabel.
- Jika nilai Sig. $< (0,05)$ terdapat antara kedua variabel.

Kesimpulan :

Diketahui bahwa nilai Sig. sebesar $0,798 > 0,05$, maka dapat disimpulkan tidak terdapat hubungan antara variable ekstraksi maserasi dan ekstraksi UAE.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Ekstraksi Maserasi - Ekstraksi UAE	-.3246000	.2323164	.1341280	-.9017060	.2525060	-2.420	2	.137

Kriteria keputusan :

- Jika nilai Sig. (2-tailed) $> (0,05)$ tidak terdapat perbedaan yang signifikan.
- Jika nilai Sig. (2-tailed) $< (0,05)$ terdapat perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan :

Diketahui bahwa nilai Sig. (2-tailed) sebesar $0,137 > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kadar kuersetin pada data ekstraksi maserasi dan UAE.