



**OPTIMASI ELUEN DAN VALIDASI METODE ANALISIS PADA UJI
KADAR KUERSETIN TERHADAP EKSTRAK KERING DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* L.)**

SKRIPSI

**OCTARIA BULAN KUSUMA PUTRI
2010212019**

**UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" JAKARTA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA
2024**



**OPTIMASI ELUEN DAN VALIDASI METODE ANALISIS PADA UJI
KADAR KUERSETIN TERHADAP EKSTRAK KERING DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* L.)**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi**

**OCTARIA BULAN KUSUMA PUTRI
2010212019**

**UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" JAKARTA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA
2024**

PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya sendiri dan semua sumber yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Octaria Bulan Kusuma Putri

NIM : 2010212019

Tanggal : 07 Juni 2024

Bilamana dikemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan saya ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Jakarta, 07 Juni 2024

Yang menyatakan,



(Octaria Bulan Kusuma Putri)

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta,
saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Octaria Bulan Kusuma Putri

NIM : 2010212019

Fakultas : Kedokteran

Program Studi : Farmasi Program Sarjana

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memperikan kepada Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta Hak Bebas Royalti Non eksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Optimasi Eluen dan Validasi Metode Analisis pada Uji Kadar Kuersetin terhadap Ekstrak Kering Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti ini, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 07 Juni 2024

Yang menyatakan,



(Octaria Bulan Kusuma Putri)

PENGESAHAN

Skripsi diajukan oleh:

Nama : Octaria Bulan Kusuma Putri

NIM : 2010212019

Program Studi : Farmasi Program Sarjana

Judul Skripsi : Optimasi Eluen dan Validasi Metode Analisis pada Uji Kadar
Kuersetin terhadap Ekstrak Kering Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta

Rika Revina, S.Farm., M.Farm.

Ketua Penguji

Apt. Rika Rifkia, S.Far., M.Si.

Pembimbing Utama

Apt. Dhigna Luthfivani CP, S.Farm., M.Sc

Pembimbing Pendamping



Dr.dr. Ianing Fredrik Pasiak, M.Kes, M.Pd.I

Dekan Fakultas Kedokteran

Apt. Annisa Farida M., S.Farm., M.Sc

Koordinator Program Studi Farmasi
Program Sarjana

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal Ujian : 11 Juni 2024

OPTIMASI ELUEN DAN VALIDASI METODE ANALISIS PADA UJI KADAR KUERSETIN TERHADAP EKSTRAK KERING DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.)

Octaria Bulan Kusuma Putri

Abstrak

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki banyak manfaat gizi dan aktivitas farmakologis, terutama pada kandungan kuersetin yang terdapat dalam bagian daun tanaman kelor. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh perbandingan eluen yang optimal dari kombinasi metanol dengan aquabides pada proses uji kadar senyawa kuersetin dalam sampel ekstrak kering daun kelor. Selain itu, dilakukan validasi metode analisis terhadap metode uji untuk memastikan metode tersebut telah memenuhi persyaratan linearitas, presisi, akurasi, spesifisitas dan rentang atau kisaran. Metode penelitian ini dilakukan dengan melakukan variasi terhadap komposisi eluen : methanol, yaitu 60:40; 65:35; dan 70:30 menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil dari penelitian ini diperoleh perbandingan eluen yang optimal adalah metanol:aquabides (60:40) yang dinilai dari parameter waktu retensi (tR), faktor ikutan (As), luas area (uAu) dan faktor kapasitas (k). Kemudian, diperoleh nilai hasil validasi metode analisis yang telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan dalam ICH Q2 (R1) dengan nilai waktu retensi (tR) 2,25 menit; faktor ikutan (As) 0,83; luas puncak $28.764. \pm 159,7$; dan faktor kapasitas (k) $7,81 \pm 0,11$. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perbandingan eluen optimal terdapat pada perbandingan 60:40, metode yang digunakan telah memenuhi syarat validasi, serta ekstrak kering daun kelor yang diperoleh melalui proses ekstraksi *Heat-assisted Extraction* pada suhu 60°C dengan pelarut etanol 96% memiliki kadar kuersetin sebesar $(22,68 \pm 0,30)\%$.

Kata kunci: Daun kelor; Eluen; HPLC; Kuersetin; Validasi metode analisis.

ELUENT OPTIMIZATION AND METHOD VALIDATION FOR QUANTIFICATION OF QUERCETIN IN MORINGA LEAF (*Moringa oleifera* L.) DRY EXTRACT

Octaria Bulan Kusuma Putri

Abstract

The Moringa plant (*Moringa oleifera* L.) has many nutritional benefits and pharmacological activities, especially due to the quercetin content found in its leaves. This research aimed to determine the optimal eluent ratio from a combination of methanol and aquabides for testing quercetin levels in dry Moringa leaf extract samples. Additionally, the analytical method was validated to ensure it met the requirements for linearity, precision, accuracy, specificity, and range. The research method involved varying the eluent composition of methanol at ratios of 60:40, 65:35, and 70:30 using a High Performances Liquid Chromatography (HPLC) instrument. The results showed that the optimal eluent ratio was methanol:aquabides (60:40), based on parameters such as retention time (tR), tailing factor (As), area (uAu), and capacity factor (k). The analytical method validation results met the requirements set out in ICH Q2 (R1), with a retention time (tR) value of 2.25 minutes, follow-up factor (As) of 0.83, peak area of 28,764 \pm 159.7, and capacity factor (k) of 7.81 \pm 0.11. Based on this research, it can be concluded that the optimal eluent ratio is 60:40, the method used has met the validation requirements, and the dry extract of Moringa leaves obtained through the Heat-assisted Extraction process at a temperature of 60°C with 96% ethanol solvent contains quercetin at (22.68 \pm 0.30) %.

Keywords: Eluent; HPLC; Moringa leaves; Quercetin; Validation method analysis.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas segala berkat, karunia, serta perlindungan-Nya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Judul yang dipilih dalam penelitian ini telah disepakati Bersama dosen pembimbing sejak bulan Juli 2023 adalah “Optimasi Eluen dan Validasi Metode Analisis Pada Uji Kadar Kuersetin terhadap Ekstrak Kering Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)” akhirnya dapat diselesaikan. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. dr. H. Taufiq Fredrik Pasiak, M.Kes, M.Pd.I selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta beserta jajarannya;
2. Ibu apt. Annisa Farida Muti, S.Farm, M.Sc selaku Kepala Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta beserta jajarannya;
3. Bapak apt. Imam Prabowo, S.Farm., M.Farm dan Ibu apt. Via Rifkia, S.Far., M.Si selaku Dosen Pembimbing utama dalam skripsi penulis telah mendedikasikan waktu dan materi kepada penulis mulai dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini;
4. Ibu apt Dhigna Luthfiyani, S.Farm., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah senantiasa membimbing dan memberikan ilmu dan arahan agar penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu
5. Ibu Rika Revina, S.Farm., M.Farm selaku Dosen penguji yang telah memberikan penilaian serta masukan untuk perbaikan skripsi in
6. Ibu apt. Eldiza Puji Rahmi, S.Farm., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik penulis yang telah mendampingi, mengarahkan serta memberikan semangat selama perjalanan 4 tahun kebelakang dalam perkuliahan;
7. Seluruh dosen, laboran dan staf akademik kemahasiswaan Program Studi Farmasi Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan

Nasional “Veteran” Jakarta yang telah membantu, memberikan ilmu dan motivasi baik selama perkuliahan maupun masa penyusunan skripsi ini;

8. Kedua orang tua terkasih, Sumurung Marulam Silitonga, S.E dan Ester Gunarti yang senantiasa memberikan semangat, dukungan dan motivasi yang membangun penulis untuk menyelesaikan tanggung jawab ini;
9. Saudari penulis terkasih, Blestaria Bintang Kusumapeteri, S.Pd, yang telah memotivasi agar dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu;
10. *Support system* penulis yang terkasih, saudara Naufal Brian Atmaja yang telah turut membantu dan memberikan *emotional support* kepada penulis;
11. Rekan-rekan seperjuangan penulis yang terkasih, Yolanda Sharon, Putu Ayu Amanda Giri, Rini Sarah, Dwi Putri, Harris Antonius, Ildham Dwi, Zahra Fikriya, Faqih Zuhdi, Nathasa Fabila, Sukma Rangga, Delphia Hermada.

Penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat dalam upaya pengembangan serta pemanfaatan tanaman sebagai bahan aktif obat-obatan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena adanya keterbatasan ilmu dan pengalaman yang dimiliki. Oleh karena itu, semua kritik dan saran yang bersifat membangun akan penulis terima dengan terbuka.

Jakarta, 1 Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
PENGESAHAN	v
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Perumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.3.1 Tujuan Umum	3
I.3.2 Tujuan Khusus	4
I.4 Manfaat Penelitian	4
I.4.1 Manfaat bagi Peneliti.....	4
I.4.2 Manfaat bagi Universitas.....	4
I.4.3 Manfaat bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
II.1 Landasan Teori.....	6
II.1.1 Daun Kelor	6
II.1.2 Kuersetin.....	7
II.1.3 <i>High Pressure Liquid Chromatography</i> (HPLC)	9
II.1.4 Validasi Metode Analisis	15
II.2 Penelitian Terkait yang Pernah Dilakukan	20

II.3 Kerangka Teori	23
II.4 Kerangka Konseptual.....	24
II.4.1 Kerangka Konseptual	24
II.4.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	24
II.5 Hipotesis Penelitian	vc25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	26
III.1 Jenis Penelitian	26
III.2 Subjek Penelitian	26
III.3 Waktu dan Lokasi Penelitian	26
III.3.1 Waktu	26
III.3.2 Lokasi.....	26
III.4 Variabel Penelitian.....	26
III.5 Definisi Operasional	27
III.6 Instrumen Penelitian	29
III.6.1 Alat.....	29
III.6.2 Bahan.....	30
III.7 Prosedur Kerja	30
III.7.1 Pengkajian Etik Penelitian	30
III.7.2 Determinasi	30
III.7.3 Preparasi Sampel.....	30
III.7.4 Preparasi Fase Gerak.....	31
III.7.5 Preparasi Larutan Standar Kuersetin.....	31
III.7.6 Preparasi Larutan Uji Ekstrak Kering Daun Kelor	32
III.7.7 Kondisi Analisis	32
III.7.8 Optimasi Eluen.....	33
III.7.9 Penetapan Kadar Kuersetin	33
III.7.10 Prosedur Validasi Metode	33
III.8 Analisis Data.....	35
III.9 Alur Penelitian	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
IV.1 Hasil Penelitian.....	37
IV.1.1 Hasil Kaji Etik Penelitian	37

IV.1.2 Hasil Determinasi Tanaman.....	37
IV.1.3 Organoleptis Ekstrak Kering Daun Kelor.....	38
IV.1.4 Hasil Optimasi Eluen.....	38
IV.1.5 Hasil Validasi Metode Analisis.....	40
IV.1.6 Hasil Penetapan Kadar Kuersetin Ekstrak Kering Daun Kelor.....	45
IV.2 Pembahasan.....	46
IV.3 Keterbatasan Penelitian.....	55
BAB V PENUTUP.....	56
V.1 Kesimpulan.....	56
V.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	61
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Sifat fisikokimia kuersetin	8
Tabel 2 Aspek data uji validasi	16
Tabel 3 Penelitian terkait	20
Tabel 4 Definisi operasional	27
Tabel 5 Volume larutan baku kerja	31
Tabel 6 Hasil determinasi fisik tanaman kelor	37
Tabel 7 Organoleptis ekstrak kering daun kelor	38
Tabel 8 Hasil optimasi eluen	38
Tabel 9 Hasil penetapan linearitas	40
Tabel 10 Hasil penetapan presisi	41
Tabel 11 Hasil penetapan akurasi	42
Tabel 12 Hasil penetapan spesifisitas	44
Tabel 13 Hasil penetapan rentang	44
Tabel 14 Hasil penetapan kadar kuersetin dalam sampel	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Kelor	6
Gambar 2. Struktur kuersetin	7
Gambar 3. Contoh puncak kromatografi asimetris	11
Gambar 4. Perhitungan tailing factor	12
Gambar 5. Diagram sistem HPLC	13
Gambar 6. Kerangka Teori	23
Gambar 7. Kerangka Konsep	24
Gambar 8. Alur Penelitian.....	36
Gambar 9. Kurva kalibrasi uji linearitas	40
Gambar 10. Kromatogram larutan standar kuersetin	43
Gambar 11. Kromatogram larutan sampel	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat <i>Ethical Clearance</i>	60
Lampiran 2. Surat Determinasi Tanaman.....	61
Lampiran 3. Dokumentasi Proses Penyiapan Ekstrak Kering Daun Kelor.....	63
Lampiran 4. Dokumentasi Penyiapan Larutan Standar Kuersetin	69
Lampiran 5. Perhitungan Pengenceran Larutan Standar Kuersetin	72
Lampiran 6. Kromatogram Hasil Optimasi Eluen	74
Lampiran 7 Hasil Analisis Data Optimasi eluen	79
Lampiran 8. Kromatogram Hasil Uji Linearitas	81
Lampiran 9. Perhitungan %Recovery Pada Uji Akurasi	84
Lampiran 10. Kromatogram Hasil Uji Kadar Kuersetin pada Sampel	85
Lampiran 11. Perhitungan % Kadar Kuersetin dalam Sampel.....	90
Lampiran 12. CoA Metanol HPLC	91
Lampiran 13. CoA Kuersetin	92