

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA SARI PERASAN BUAH
BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) SECARA *HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY***



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH :
LARAS SETYA MAHARANI
NIM. 2162068**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2019**

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA SARI PERASAN BUAH
BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) SECARA *HIGH PERFORMANCE*
*LIQUID CHROMATOGRAPHY***

**ANALYSIS LEVEL OF QUERCETIN IN THE JUICE OF STRING BEAN (*Phaseolus
vulgaris* L.) IN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

**KARYA TULIS ILMIAH
DIAJUKAN SEBAGAI SYARAT UNTUK MENYELESAIKAN
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH :
LARAS SETYA MAHARANI
NIM. 2162068**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2019**

KARYA TULIS ILMIAH

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA SARI PERASAN BUAH BUNCIS
(*Phaseolus vulgaris* L.) SECARA *HIGH PERFORMANCE LIQUID*
*CHROMATOGRAPHY***

Disusun Oleh :
LARAS SETYA MAHARANI
2162068

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 21 Februari 2019

Tim Penguji :

Devina Ingrid A., S.Si., M.Si

(Ketua)

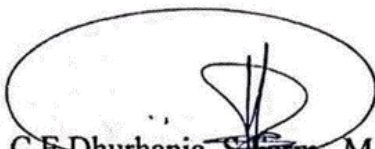
Tri Harningsih., M.Si

(Anggota)

C.E Dhurhania, S.Farm., M.Sc

(Anggota)

Menyetujui,
Pembimbing Utama



C.E Dhurhania, S.Farm., M.Sc



Mengetahui,
**Ketua Program Studi
DHI Farmasi**

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA SARI PERASAN BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) SECARA *HIGH PERFORMANCE* *LIQUID CHROMATOGRAPHY*

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar dilingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.



Laras Setya Maharani
NIM. 2162068

MOTTO

*“Orang-orang yang menabur dengan mencururkan air mata, akan menuai
dengan berseorak-sorai.”*

*“Orang yang berjalan maju dengan menangis sambil menabur benih, pasti pulang
dengan sorak-sorai sambil membawa berkas-berkasnya.” (Mazmur 126:5-6)*

*“Selagi kamu bisa dan masih ada kesempatan, maka lakukan tanggung jawabmu
semaksimal mungkin, jangan mengeluh dan tetaplah semangat”*

(Penulis)

PERSEMBAHAN

Kuolah kata, kubaca makna, kuikat dalam alinea, kubingkai dalam bab sejumlah lima, jadilah mahakarya, gelar kuterima, orangtua pun bahagia.

Puji Tuhan, akhirnya saya bisa menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan kepada orang-orang yang sangat kukasihi dan kusayangi:

1. Tuhan Yesus Kristus, Juruselamat dan Sahabat yang selalu setia. Bersyukur untuk kekuatan, sukacita, damai sejahtera, dan penghiburan yang selalu Yesus beri saat aku mulai putus asa.
2. Ibuku dan Bapakku tercinta, sebagai tanda bukti, hormat, sayang, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepadamu Ibu (Hendri Winarsih) dan Bapak (Sukatman). Terima kasih atas dukungan, doa, kasih sayang, cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan halaman persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat kalian berdua bahagia, aku selalu berharap keluarga kita tetap utuh dan tetap bahagia.
3. Adikku Dava untuk canda dan tawanya, untuk segala sesuatu yang selalu kita bagi. Terima kasih sudah menjaga Ibu dan Bapak selama aku sibuk sama penulisan KTI ini.
4. Ibu C.E Dhurhania, S.Farm., M.Sc selaku pembimbing dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Terima kasih atas waktu, perhatian, bimbingan, dan

nasehat yang Ibu berikan kepadaku dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

5. Sahabatku tercinta Niken Sukma Pratiwi dan Eka Safarini yang selalu memberikan support, waktu, dan perhatian selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Makasih ya untuk kebersamaan yang udah kita lalui hampir 6 tahun ini. Terima kasih sudah menjadi teman begadang di malam-malam yang sibuk. Terima kasih untuk setiap teguran, tawa, dan bahagia yang selalu dibagi bersama. Peluk dan cium dariku.
6. Tim HPLC (Mba Mita, Monica, Maharani, dan Hidayat) yang selalu menemani ketika praktek di laboratorium. Terima kasih atas setiap bantuan, nasehat, tangis, canda, dan tawa selama 2 bulan ini. Bakal kangen makan es buah ceria bareng, makan sepiring berdua, dan momen lainnya yang ga bakal bisa dilupain. Sukses selalu guys.
7. Kamu seseorang yang selalu menjadi tempatku berbagi keluh kesah. Terima kasih atas semangat, waktu, teguran, tangis, tawa, dan bantuan yang telah kau berikan. Seseorang yang selalu mengingatkan untuk tidak mudah menangis dan tetap semangat.
8. Bocah-bocah kayangan yang selalu menyemangati saya dan selalu membuat lelucon yang bahkan tidak pernah terpikirkan.
9. Mas Johan, Mas Petrus, Mbak Lulu, dan Mas Bowo selaku laboran di STIKES Nasional. Terima kasih sudah membantu selama penelitian.

10. Teman-Teman DIII Farmasi Reguler B angkatan tahun 2016, terima kasih atas semangat, dukungan, dan bantuannya. Maaf tidak bisa menyebutkan satu-satu, semangat terus guys, see you on top.
11. Adik-adik di bimbel yang selalu memberikan semangat. Walaupun hanya sebuah kata “Semangat miss...” dan “Jangan lupa tidur, miss...”, namun disaat penulisan Karya Tulis Ilmiah ini itu sangat memotivasi.

Keterbatasan waktu dan tempat membuat penulis tidak dapat menuliskan satu per satu semua pihak yang telah turut andil dalam proses pengerjaan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis hanya bisa berdoa semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu memberikan yang terbaik bagi kita semua. Tuhan Yesus Memberkati. Amin.

Surakarta, 21 Februari 2019

Penulis

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas segala kasih dan karuniaNya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyusun Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik. Penyusunan hasil Karya Tulis Ilmiah ini didasarkan pada penelitian yang berjudul **“Penetapan Kadar Kuersetin pada Sari Perasan Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris L.*) secara *High Performance Liquid Chromatography*”**. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program DIII Farmasi di STIKES Nasional.

Penulis menyadari bahwa mulai dari penelitian hingga penulisan hasil Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari semua pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini :

1. Hartono., M.Si, Apt selaku ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. Iwan Setiawan, M.Sc., Apt selaku ketua program studi DIII Farmasi di STIKES Nasional .
3. C.E Dhurhanian, S.Farm., M.Sc selaku pembimbing yang telah membimbing penulis hingga mampu menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Devina Ingrid A., M.Si dan Tri Harningsih., M.Si selaku tim penguji Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Indah Tri S, M.Pd selaku tim penguji proposal Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Ibu Puji selaku instruktur penelitian yang telah membimbing dan membantu selama proses penelitian untuk penyusunan Karya Tulis Ilmiah.

7. Laboran Laboratorium Kimia Instrumen yang telah membantu dalam proses penelitian Karya Tulis Ilmiah.
8. Seluruh staff pengajar dan karyawan STIKES Nasional Surakarta yang telah membantu penulis dalam proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah dan telah memberikan banyak pelajaran yang berharga bagi penulis.
9. Tim HPLC (Monica, Dayat, Maharani, dan Mbak Mita) yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian Karya Tulis Ilmiah.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penelitian ini. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik, saran, dan pendapat dari berbagai pihak guna penyempurnaan penelitian ini di masa datang. Akhir kata semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada semua pihak. Atas perhatiannya penulis ucapkan terima kasih.

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN SAMPUL..... | i |
| HALAMAN JUDUL..... | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN..... | iv |
| MOTTO..... | v |
| PERSEMBAHAN..... | vi |
| PRAKATA..... | viii |
| DAFTAR ISI..... | xi |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xv |
| INTISARI..... | xvi |
| ABSTRACT..... | xvii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah..... | 3 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| A. Tanaman Buah Buncis (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)..... | 4 |
| 1. Klasifikasi Tanaman Buah Buncis (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)..... | 4 |
| 2. Morfologi Tanaman..... | 5 |
| 3. Kandungan Kimia Buah Buncis..... | 6 |
| 4. Khasiat Buah Buncis..... | 6 |
| B. Flavonoid..... | 7 |
| 1. Definisi Flavonoid..... | 7 |
| 2. Jenis-jenis Flavonoid..... | 7 |
| C. Kuersetin..... | 9 |
| 1. Struktur dan Definisi Kuersetin..... | 9 |
| 2. Sifat Fisika dan Kimia Kuersetin..... | 9 |
| 3. Fungsi Kuersetin..... | 10 |
| 4. Sumber Kuersetin..... | 10 |
| 5. Mekanisme Kerja Kuersetin..... | 11 |
| D. Sentrifugasi..... | 12 |
| E. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)..... | 13 |
| 1. Definisi..... | 13 |
| 2. Prinsip Kerja HPLC..... | 13 |
| 3. Kelebihan dan Kekurangan Metode HPLC..... | 13 |
| 4. Komponen-komponen HPLC..... | 14 |
| 5. Fase Diam..... | 19 |
| 6. Fase Gerak..... | 20 |
| 7. Sistem Elusi HPLC..... | 21 |

| | |
|---|----|
| F. Uji Presisi | 21 |
| 1. Perhitungan Presisi | 22 |
| G. Uji Linearitas | 23 |
| H. Kerangka Pikir | 24 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | 25 |
| A. Desain Penelitian | 25 |
| B. Tempat dan Waktu Penelitian | 25 |
| C. Instrumen Penelitian..... | 25 |
| 1. Alat | 25 |
| 2. Bahan..... | 26 |
| D. Identifikasi Variabel Penelitian | 26 |
| 1. Variabel Terkendali | 26 |
| E. Definisi Operasional Variabel Penelitian | 26 |
| F. Alur Penelitian | 27 |
| 1. Kerangka Penelitian | 27 |
| 2. Cara Kerja Penelitian | 28 |
| G. Analisis Data | 32 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 33 |
| A. Preparasi Sampel | 33 |
| B. Pembuatan Larutan Baku Kuersetin..... | 34 |
| C. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum | 36 |
| D. Analisis Kualitatif | 39 |
| E. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin | 46 |
| F. Analisis Kuantitatif | 47 |
| G. Uji Presisi | 49 |
| H. Uji Linearitas | 50 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 51 |
| A. Kesimpulan | 51 |
| B. Saran | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA | 52 |
| LAMPIRAN | 56 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Buncis | 6 |
| Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Kuersetin | 10 |
| Tabel 3. Kriteria Uji Presisi | 22 |
| Tabel 4. Interpretasi Koefisien Korelasi Nilai r | 23 |
| Tabel 5. Panjang Gelombang Maksimum Baku Kuersetin | 37 |
| Tabel 6. Data Hasil Analisis Kualitatif | 42 |
| Tabel 7. Data TF 10% Larutan Baku Kerja dan Sampel..... | 45 |
| Tabel 8. Data Hasil Faktor Resolusi Sampel | 45 |
| Tabel 9. Data Kadar Kuersetin dalam Sampel dan Nilai %KV..... | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 1. Buah Buncis | 4 |
| Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid..... | 8 |
| Gambar 3. Struktur Kimia Kuersetin..... | 9 |
| Gambar 4. Diagram Sistem HPLC..... | 14 |
| Gambar 5. Struktur Kimia C18..... | 20 |
| Gambar 6. Kerangka Pikir..... | 24 |
| Gambar 7. Alur Penelitian..... | 27 |
| Gambar 8. Spektrum Serapan Kuersetin Konsentrasi 6 ppm..... | 38 |
| Gambar 9. Rantai Kromofor dan Gugus Auksokrom Senyawa Kuersetin | 41 |
| Gambar 10. Kromatogram Baku Kuersetin Konsentrasi 0,2 ppm | 43 |
| Gambar 11. Kromatogram Larutan Sampel Replikasi A..... | 43 |
| Gambar 12. Kromatogram Larutan Sampel Replikasi B | 44 |
| Gambar 13. Kromatogram Larutan Sampel Replikasi C | 44 |
| Gambar 14. Kurva Baku Kuersetin..... | 47 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Penimbangan Kuersetin dan Pembuatan Larutan Baku | 56 |
| Lampiran 2. Pembuatan Fase Gerak pada Sistem HPLC | 58 |
| Lampiran 3. Perhitungan Seri Kurva Baku Kuersetin..... | 59 |
| Lampiran 4. Data dan Perhitungan Kadar Kuersetin dalam Sampel | 61 |
| Lampiran 5. Gambar Alat dan Proses dalam Penelitian | 70 |

INTISARI

Buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) adalah salah satu jenis tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat dan mudah dijumpai di berbagai tempat. Buah buncis mengandung senyawa kuersetin yang telah terbukti memiliki khasiat dalam menurunkan kadar glukosa dalam darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kuersetin dalam sari perasan buah buncis secara *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan menggunakan sistem fase terbalik, fase diam kolom C18 (*Octadecyl xylane*), fase gerak metanol : asam fosfat 0,1% (65 : 35) dengan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Detektor diatur pada panjang gelombang UV 371,0 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam sari perasan buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) terindikasi positif mengandung kuersetin pada rentang waktu retensi baku 6,831 – 7,222 menit. Kadar kuersetin yang diperoleh yaitu 0,0341 mg% dalam sari perasan. Penelitian ini memenuhi uji presisi dan uji linearitas, karena pada rentang baku kuersetin 0,2 – 1,0 ppm menghasilkan koefisien variasi 4,707% dan koefisien korelasi sebesar 0,9976.

Kata kunci : Perasan, Buncis, *Kuersetin*, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

ABSTRACT

String beans (*Phaseolus vulgaris* L) is one of the types of plants that are widely used and easily found in various places. String beans contain compounds quercetin has proven efficacy in lowering glucose levels in the blood. The purpose of this research is to determine the levels of quercetin in the juice of string beans by reverse phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC), the stationary phase is C₁₈ column (Octadecyl xylane), mobile phase is methanol : 0,1 % phosphoric acid (65:35) with flow rate 1,0 mL/minute. The detector is set to a UV 371,0 nm. The results showed that the juice of string beans positive indication contains quercetin at the range retention time from 6,831 to 7,222 minutes. Levels Quercetin in the sample that is 0,0341 mg% in the juice. This study qualifies the test of precision and linearity, because in the range quercetin standart 0,2 – 1,0 ppm produces coefficient of variation of the sample is 4,707% and coefficient correlation is 0,9976.

Keywords : Juice, String beans, Quercetin, High performance Liquid Chromatography (HPLC)

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes Melitus merupakan penyakit sistemik atau sindroma metabolik yang selalu mengalami peningkatan tiap tahunnya di berbagai negara yang ada di dunia. Pada tahun 2015 di Asia Tenggara, terdapat ±415 juta orang dewasa yang teridentifikasi mengalami penyakit tersebut. Angka tersebut mengalami kenaikan 4 kali lipat dari tahun 1980-an dimana jumlah kasus Diabetes Melitus hanya sebanyak 108 juta orang dewasa. Pada tahun 2040 diperkirakan jumlah kasus Diabetes Melitus akan mengalami peningkatan menjadi 642 juta. Pada tahun 2015, Indonesia menempati posisi ketujuh di dunia untuk prevalensi penderita Diabetes Melitus tertinggi di dunia bersama dengan China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Meksiko dengan jumlah estimasi orang dengan Diabetes Melitus sebesar 10 juta. Bahkan penyakit Diabetes Melitus dengan komplikasi merupakan penyebab kematian tertinggi ketiga di Indonesia (IDF Atlas, 2015).

Pengaturan diet menjadi salah satu cara yang efektif untuk mencegah terjadinya kenaikan kadar glukosa dalam darah sehingga akan menekan peningkatan prevalensi Diabetes Melitus. Salah satunya dengan cara mengonsumsi makanan tinggi serat dan berindeks glikemik rendah. Bahan makanan yang merupakan sumber serat dan berindeks glikemik rendah, salah

satunya adalah buah buncis. Buah buncis merupakan jenis tanaman yang biasa dikonsumsi masyarakat. Buah buncis mendapat perhatian lebih sebagai makanan *Nutraceutical* karena kaya akan *Phytochemical* yang bermanfaat bagi kesehatan antara lain flavonoid, kuersetin, steroid, terpenoid, dan tripsin inhibitor. Buah buncis mampu merangsang sel β -pankreas untuk mensekresi insulin lebih banyak (*insulin secretor*) atau meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan perifer, dan menurunkan kadar glukosa darah puasa lebih cepat (Arisisa, 2011). Kuersetin dalam buah buncis juga berpotensi sebagai inhibitor transport glukosa oleh *Intestinal glucose transporter GLUT2* sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa didalam sel β -pankreas sehingga kadar glukosa darah turun (Dewi, dkk., 2016).

Hasil penelitian Mubarak (2002) membuktikan bahwa ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kontrol positif Glibenklamid 5 mg pada tikus galur *swiss webster* yang diinduksi alloxan, tetapi belum dapat menurunkan kadar glukosa darah hingga mencapai normal. Hasil penelitian Fitriani, N. E, dkk (2014) membuktikan bahwa kombinasi Glibenklamid dengan kuersetin dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah, karena terdapat perbedaan yang bermakna kadar glukosa darah pada tikus Diabetes Melitus tipe 2 sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil penelitian Putra (2013) membuktikan bahwa ekstrak etanol buncis 300 mg/KgBB memiliki potensi menurunkan kadar glukosa darah lebih besar dari kontrol negatif dan kontrol positif (Metformin) pada mencit yang diinduksi aloksan.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan teknik pemisahan yang dapat diterima secara luas untuk analisis maupun pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) memiliki kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, serta detektor yang sensitif dan selektif sehingga HPLC menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efektivitas yang tinggi sehingga cocok untuk analisis kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar kuersetin dalam sari perasan buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) secara *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

B. Rumusan Masalah

Berapakah kadar kuersetin pada sari perasan buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kuersetin yang terkandung dalam sari perasan buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L).

D. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi kadar kuersetin dalam sari perasan buah buncis yang memiliki khasiat untuk menurunkan kadar glukosa dalam darah.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis desain penelitian yang dilakukan termasuk dalam penelitian deskriptif. Kadar kuersetin dalam sari perasan buah buncis dipaparkan sebagai hasil penelitian.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan Oktober 2018 sampai Januari 2019.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : seperangkat alat HPLC (*Shimadzu, reservoir tray L20305033043 SL, SPD-20A L20135019788 AE, Pomp L20115017545 AE*), Kolom C₁₈ (VP-ODS 25 L x 4,6, 2082936), Kuvet (*Hellma Analytics, 100.600-QG, Light path 10 mm*), *Degassing* ultrasonikator (*Branson, 1510*), *Membran fillter Whatman* dengan ukuran pori 0,2 µm, Neraca analitik (*OHAUS, PA214*), Sentrifugasi (*Oregon LC-04S*), Millipore, Spektrofotometer UV-VIS

(*Shimadzu UV mini-1280, A12065402452 CD*), Juicer (*maspion*), Mikropipet (*Nesco 10 – 50 µl, YE171AA0164028*), selain itu digunakan pula alat-alat penunjang yang lazim digunakan dalam analisis HPLC.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : Buah buncis (*Phaseolus vulgaris L*), metanol HPLC grade (*Merck*), asam fosfat 0,1% *pro analysis* (*Merck*), metanol *pro analysis* (*Merck*), baku standar kuersetin *Pro analysis* (*Sigma*), dan akuabides (*Widatra*).

D. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah cara penyimpanan, karakteristik buah buncis, tempat asal bisa mempengaruhi kadar kuersetin dalam buah buncis, dan kemurnian pelarut namun bisa dikendalikan oleh peneliti.

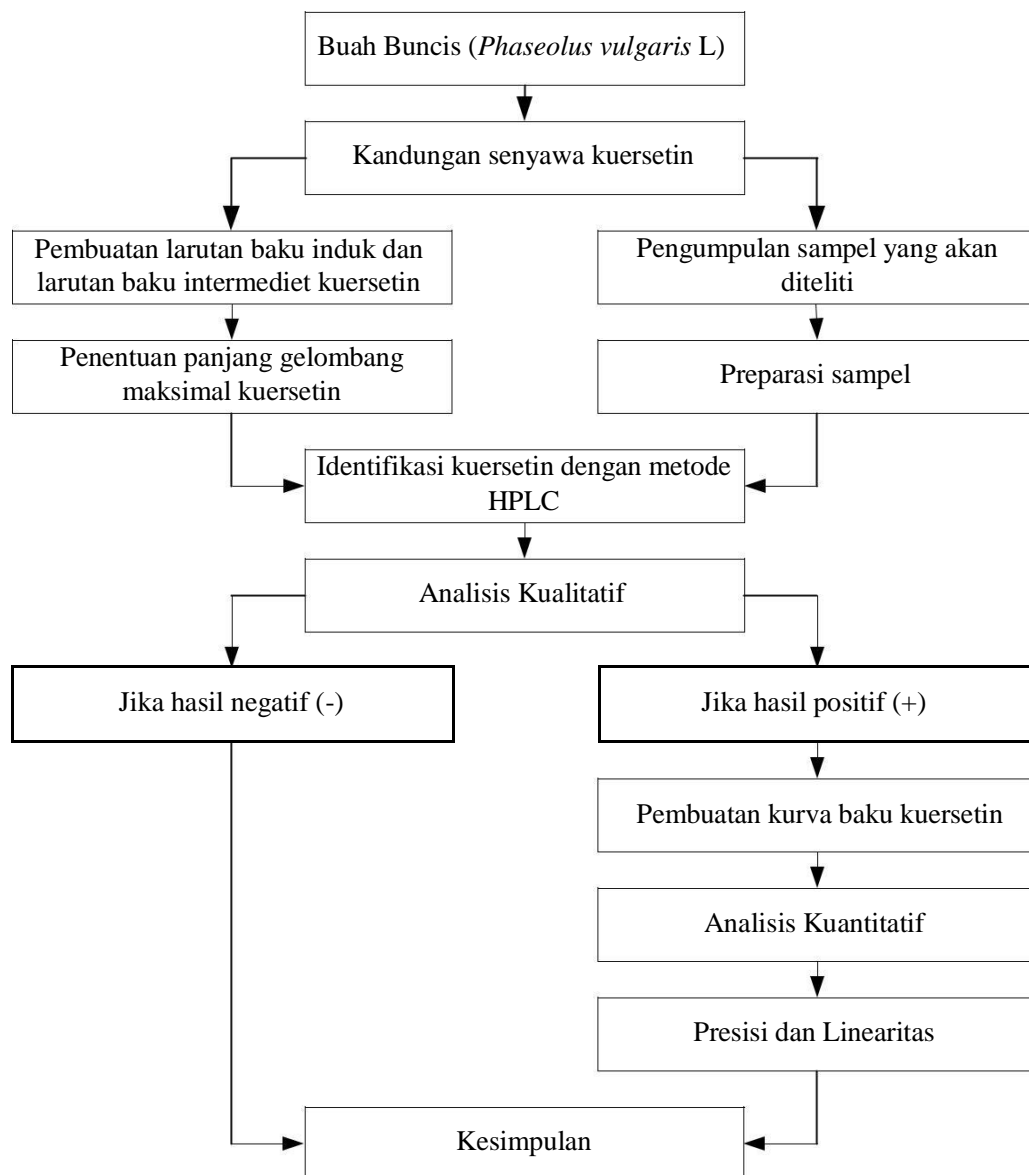
E. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Faktor yang bisa mempengaruhi kadar kuersetin dalam sari perasan buah buncis, yaitu cara penyimpanan buah buncis disimpan di kulkas agar buah buncis tidak cepat membusuk, buah buncis yang digunakan untuk penelitian ini berasal dari 3 petani di Tawangmangu. Karakteristik buah buncis yang digunakan berwarna hijau tua, dengan panjang $\pm 12 - 13$ cm. Kemurnian pelarut

dapat dikendalikan dengan menggunakan pelarut yang memiliki *grade pro analysis*.

F. Alur Penelitian

1. Kerangka Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

2. Cara Kerja Penelitian

a. Penyiapan Larutan Baku

1) Larutan Baku Induk

Sebanyak 10,0 mg baku standar kuersetin dilarutkan ke dalam labu ukur 10,0 ml hingga tanda dengan metanol *pro analysis* supaya diperoleh larutan induk 1000 ppm.

2) Larutan Baku Intermediet

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1,0 ml dilarutkan dalam labu ukur 10,0 ml hingga tanda dengan metanol *pro analysis* supaya diperoleh larutan baku intermediet 100 ppm.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Siapkan larutan baku kerja kuersetin 6, 8, dan 10 ppm dengan cara dipipet sejumlah 0,6; 0,8; dan 1,0 ml dari larutan baku intermediet kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan diencerkan dengan metanol *pro analysis* sampai tanda. Kemudian siapkan larutan blanko dari larutan metanol *pro analysis*. Larutan yang dibuat diukur dengan serapan pada λ 250 – 500 nm pada spektrofotometri UV-VIS, amati kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi lalu tentukan panjang gelombang maksimal kuersetin dengan Spektrofotometri UV-VIS (Sanghavi, 2014).

c. Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku kerja yang terdiri dari 5 seri konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 ppm dibuat dari larutan baku intermediet yang dipipet 200, 400, 600, 800, dan 1000 μL dengan mikropipet, diencerkan dalam labu ukur 10,0 ml dengan metanol *pro analysis* hingga tanda. Larutan baku kuersetin masing-masing disaring dengan menggunakan *membran filter Whatman* 0,2 μm lalu *didegassing* selama 15 menit. Masing-masing larutan diinjeksikan 20 μL dalam sistem HPLC. Pada kromatogram diperoleh *Area Under Curve* (AUC) baku kuersetin untuk masing-masing konsentrasi. Luas area ini kemudian diplotkan terhadap konsentrasi kuersetin untuk memperoleh regresi linear dengan persamaan $y = bx + a$.

d. Pengaturan sistem HPLC

Sistem HPLC dioperasikan dengan menggunakan fase diam kolom C_{18} (*Octadecyl xylane*), fase gerak Metanol HPLC *grade* – Asam Fosfat 0,1% (65 : 35) dengan elusi isokratik, dan kecepatan alir sebesar 1,0 mL/menit. Detektor diatur pada panjang gelombang UV 371,0 nm. (Sanghavi, 2014).

e. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif kuersetin dilakukan dengan menggunakan larutan baku kerja 0,2 ppm dan larutan sampel replikasi A, B, dan C. Larutan baku kerja dan tiap replikasi larutan sampel disaring menggunakan *membran filter Whatman* 0,2 μm , lalu *didegassing* selama 15 menit. Masing-masing larutan diinjeksikan 20 μL dalam sistem HPLC. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi (t_R) sampel dengan waktu retensi (t_R) senyawa baku kuersetin. Analisis kualitatif dikatakan baik jika waktu retensi sampel konsisten atau relatif sama dengan waktu retensi baku kuersetin.

f. Penyiapan Larutan Sampel

1) Penyiapan Sampel Buah Buncis

Buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) disortasi dahulu yang sesuai dengan karakteristik buah buncis yang digunakan untuk penelitian, kemudian dicuci sampai bersih. Buah buncis yang telah dicuci ditimbang sebesar 500,0 gram untuk tiap replikasi sampel, kemudian disari untuk diperoleh sari perasan buah buncis untuk tiap replikasi sampel. Sari perasan buah buncis dari masing-masing replikasi sampel kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Filtrat sari perasan buah buncis kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

g. Analisis Kuantitatif

Sari perasan buah buncis yang sudah disentrifugasi dipipet sebanyak 8,0 mL, kemudian diencerkan dalam labu ukur 10,0 mL dengan metanol *pro analysis* hingga tanda untuk tiap sampel. Kemudian tiap sampel disaring dengan menggunakan *membran filter Whatman* 0,2 μm , lalu *didegassing* selama 15 menit. Masing-masing replikasi larutan sampel diinjeksikan 20 μL dalam sistem HPLC sebanyak 3 kali pengulangan untuk tiap replikasi sampel. Analisis kuantitatif diasumsikan bahwa AUC berkorelasi dengan konsentrasi yang menghasilkan puncak, sehingga dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear $y = bx + a$ (Sanghavi, 2014).

h. Uji Presisi dan Uji Linearitas

1) Uji Presisi

Uji presisi dilakukan dengan menggunakan data kadar dari larutan sampel replikasi A, B, dan C sari perasan buah buncis yang sudah diperoleh, kemudian dihitung %KV-nya. Uji dinyatakan presisi jika menghasilkan %KV sebesar 20% atau kurang (APVMA, 2004).

2) Uji Linearitas

Uji linearitas diperoleh dengan kurva kalibrasi pengukuran AUC kromatogram larutan baku kuersetin pada konsentrasi 0,2 - 1,0 ppm menggunakan sistem HPLC yang telah ditentukan sebelumnya. Setelah itu dibuat kurva kalibrasi dengan membandingkan AUC kromatogram (sumbu Y) terhadap konsentrasi larutan baku kuersetin (sumbu x), kemudian dihitung persamaan garis regresi dan koefisien korelasinya. Uji linearitas dikatakan baik atau hubungan linear jika koefisien korelasi r pada analisis regresi linear $y = bx + a$ yaitu $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis (Harmita, 2004).

G. Analisis Data

Kadar kuersetin dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang merupakan korelasi antara konsentrasi dengan nilai AUC (*Area Under Curve*) yang diperoleh dari larutan sampel replikasi A, B, dan C. Nilai AUC pada kromatogram sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear sebagai y dan nilai x dapat dihitung sebagai kadar kuersetin. Uji dinyatakan baik jika memenuhi syarat uji presisi dan uji linearitas.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan, sebagai berikut :

1. Kadar kuersetin yang diperoleh yaitu 0,0341 mg% dalam sari perasan, serta penelitian ini dikatakan baik karena memenuhi uji presisi dan linearitas, karena koefisien variasi yang diperoleh sebesar 4,707% dan koefisien korelasi sebesar 0,9976.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan kuersetin dalam tumbuhan lainnya dan mungkin bisa menggunakan elusi gradien dalam sistem HPLC untuk menganalisis kandungan kuersetin.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinisa, F., 2011, Pengaruh Waktu Pemberian Buncis (*Phaseolus vulgaris*) Terhadap Kadar Gula Darah Postprandial, *Artikel Penelitian*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Agestia, R. dan Sugrani, A., 2009, Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin), *Makalah*, Program S2 Kimia Universitas Hasanudin, Makassar.
- APVMA, 2004. *Guidelines For The Validation Of Analytical Methods For Active Constituent, Agricultural And Veterinary Chemical product*, Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority, Australia.
- Backer, A., and Van Den Brink, B., 1965, *Flora of Java (Spermatophytes Only)* Volume I, N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.
- Baskoro, B. D., 2012, Studi Optimasi dan Metode Validasi Untuk Penentuan Melamin dan Asam Sianurat Dalam Sampel Susu Formula Dengan HPLC, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
- Budianto, E., 2009, Uji Penurunan Kadar Gula Darah Perasan Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Terhadap Kelinci Jantan yang dibebani Glukosa, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Denni, M., and Mammen, D., 2012, A Critical Evaluation On The Reliability of Two Aluminium Chloride Chelation Methods For Quantification Of Flavonoid, *Food Chemistry*, 135 (2012): 1365–1368.
- Departemen Kesehatan RI, 2014, *Farmakope Indonesia*, Edisi Kelima, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dewi, Y. E., Nugrahalia, M., dan Fauziah, I., 2016, Efek Bawang Bombay dalam Menurunkan Kadar Gula Darah pada Tikus Putih, *BioLink (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 2(2) : 125-131.
- Erlund, I., 2002, Chemicals Analysis and Pharmacokinetics of The Flavonoids Quercetin, Hesperetin, and Naringenin In Humans, *Ph.D. Dissertation*, University of Helsinki, Helsinki.

- Fitriani, N. E., Akhmad, S. A., dan Lestriana, W., 2014, Efek Kuersetin terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa pada Tikus Diabetes Melitus Tipe 2 yang Diinduksi Dengan Streptozotocin-Nicotinamide, *JKKI*, 6 (2): 104-111.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2010, *Kimia Farmasi Analisis*, 323–346, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian Universitas Indonesia*, 1(3): 117-135.
- <https://arycho.wordpress.com/2012/04/08/53/> diakses tanggal 08 Oktober 2018.
- http://www.ucdenver.edu/academics/colleges/pharmacy/currentstudents/OnCampusPharmDStudents/ExperientialProgram/Documents/nutr_monographs/Monograph-quercetin.pdf diakses tanggal 07 Oktober 2018
- International Diabetes Federation Atlas., 2015, *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*, Dunia IDF.
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Lee, H.S., 2000, *HPLC Analysis of Phenolic Compound. In : Nollet LMI* (ed). *Food Analysis by HPLC. 2nd Edition. Revised and Expanded.* Marcel Dekker, Inc, New York.
- Makasheva, N. E., Makashev, Y. A., Sharonov, B. P., Grachev, S. A., and Mironov V. E., 1976. The Kinetics of Complex Formation of Some Transition Metals in Quercetin and Morin. *Russian Chemical Bulletin*, 25: 885-886.
- McPollin, O., 2009, *HPLC for Pharmaceutical Analysis*, Mourn Training Service, UK.
- Miean, K.H., and Mohamed, S., 2001, Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants, *Journal Agric Food Chem*, 49(6): 3106-12.

- Mubarok, M., 2002, Efek Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan Galur Swiss Webster yang Diinduksi Aloksan, *Skripsi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Murningsih, T., dan Chairul., 2000, Mengenal HPLC : Peranannya dalam Analisa dan Proses Isolasi Bahan Kimia Alam, *Berita Biologi*, 5(2): 261-272.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., dan Hakim, A., 2016, Skinning Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1): 96-103.
- Putra, E. D. L., 2004., *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. FMIPA Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- Putra, A. P., 2013, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Aloksan, Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Jember.
- Putri, Y., 2017, Ekstrak Kuersetin Dari Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav) Menggunakan Pelarut Etanol, *Skripsi*, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Rachmawani, N., dan Oktarlina, R., 2017, Khasiat Pemberian Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Sebagai Alternatif Diabetes Melitus Tipe 2, *Majority*, 6(1): 71-76.
- Riyanto, 2014, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji : Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi* Cetakan Pertama, Deepublish., Yogyakarta.
- Riyanto, A., 2011, *Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan*, Cetakan Pertama, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Robinson. T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sanghavi, N., Bohasale, S.D., Malode, Y., 2014, RP-HPLC Method Development and Validation of Quercetin Isolated From The Plant *Tridax procumbens* L. *Journal of Scientific & Innovative Research*, 3(6): 594-597
- Shanti, 2010. *Proses Pemisahan Sentrifugal (Sentrifugasi)* (Online). <http://shantiang.wordpress.com>, diakses tanggal 8 Oktober 2018

Susanti, M., dan Dachriyanus., 2014, *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi Universitas Andalas, Padang.

Snyder, L. R., Kirkland, J. J., and Glajch, J. L., 1997, *Practical HPLC Method Development 2nd ed.* John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.