

Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Sirup Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Sofia ADELIMA¹, Asri DARMAWATI¹, SUDJARWO^{1,*}

¹ Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

^{*} Corresponding Author, Jl. Dharmawangsa Dalam Surabaya 60286, e-mail : sudjarwo0958@gmail.com

ABSTRAK

Kuersetin adalah salah satu senyawa flavonoid tanaman *Annona muricata* Linn. Tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk herbal. Dalam penelitian ini, sampel sirup dibuat dengan mencampurkan ekstrak daun *Annona muricata* L dengan larutan sukrosa. Penentuan konsentrasi kuersetin dalam sirup diperlukan untuk memastikan dosis dalam kisaran spesifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan densitometri kromatografi lapis tipis yang valid untuk penentuan kuersetin dalam sirup *Annona muricata* Linn. Validasi metode yang ditentukan parameter meliputi selektivitas, linieritas, presisi, dan akurasi. Campuran toluen: etil asetat: asam format (4: 3: 0,4) dipilih sebagai fase gerak. Hasil penelitian ini adalah sebagai berikut panjang gelombang maksimum kuersetin adalah 265 nm. Uji linieritas yang diperoleh dari fungsi regresi adalah $y = 9032x + 113,5$ dengan koefisien korelasi (r) dan V_{xo} masing-masing sebesar 0,9977 dan 0,76%. Akurasi adalah $(91,26 \pm 8,79)\%$ dan presisi 1,36%,; LOD dan LOQ masing-masing 0,0284 μg dan 0,0945 μg . Konsentrasi kuersetin dalam sirup adalah $(27,75 \pm 0,596) \text{ mg} / 10 \text{ ml}$.

Kata kunci: *Annona muricata* Linn; KLT-Densitometri; Kuersetin; Sirup

ABSTRACT

Quercetin is one of flavonoid compound of *Annona muricata* Linn plant. This plant is potential to develop to be herbal product. In this research, the syrup sample was made by mixing of *Annona muricata* L leaf extract with sucrose solution. Determination of quercetin concentration in syrup is necessary to assure the dose is in the range of specification. The aim of this study was to obtain a valid thin layer chromatography densitometry for determination quercetin in *Annona muricata* Linn syrup. The method validation that was determined parameters included selectivity, linearity, precision, and accuracy. A mixture of toluen:ethyl acetate:formic acid (4:3:0,4) was chosen as mobile phase. The result of this study were as follow quercetin maximum wavelength was 265 nm. Linearity test obtained from regresion function was $y = 9032x + 113,5$ with coefficient correlation (r) and V_{xo} were 0,9977 and 0,76 %, respectively. The accuracy was $(91,26 \pm 8,79) \%$ and precision 1,36 %; LOD and LOQ were 0,0284 μg and 0,0945 μg , respectively. Quercetin concentration in syrup was $(27,75 \pm 0,596) \text{ mg}/10 \text{ ml}$.

Key words: *Annona muricata* Linn; Quercetin; Syrup; TLC-Densitometry

PENDAHULUAN

Validasi metode analisis merupakan suatu proses yang ditetapkan melalui studi laboratorium guna menjamin karakteristik kinerja prosedur memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan untuk aplikasi yang dimaksudkan (USP 37, 2014). Parameter dalam validasi metode analisis meliputi akurasi, presisi, spesifitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, linearitas, rentang dan ketahanan (USP 37, 2014). Dengan melakukan validasi ini, diharapkan dapat memperoleh hasil pengukuran yang akurat, sensitif, spesifik dan reproduisibilitas (AOAC, 2002).

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam bidang kimia analisis, baik analisis kualitatif, kuantitatif, atau preparatif dalam bidang farmasi, lingkungan, industri, dan sebagainya (Gandjar dan Rohman, 2007). Keunggulan dari KLT adalah fleksibilitasnya untuk dapat mendeteksi hampir semua senyawa, bahkan beberapa senyawa anorganik. (Watson, 2009).

Secara tradisional daun sirsak (*Annona muricata* Linn) digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit (Baskar *et al.*, 2007). Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun sirsak menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid, minyak atsiri dan kumarin, dengan kadar flavonoid 4,86% dan senyawa kuersetin 0,0905% (Nurrahmani, 2012). Kadar flavonoid yang terdeteksi sebagai senyawa kuersetin dalam ekstrak daun sirsak adalah $9.96 \pm 1.53 \text{ mg/g}$ (Pieme *et al.* 2014). Kuersetin merupakan senyawa kelompok flavonoid terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75 % dari flavonoid (Waji dan Andis, 2009). Kuersetin memiliki efek terapeutik yang potensial untuk pencegahan dan pengobatan alergi, arthritis, kanker, jantung koroner, diabetes, gangguan mata, gout, neurodegeneratif dan masih banyak lagi (Lakhanpal and Rai, 2007).

Sirup adalah sediaan cair berupa larutan yang mengandung sakarosa, kadar sakarosa $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ tidak

kurang dari 64,0% dan tidak lebih dari 66,0% (FI III, 1979).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan metode KLT yang valid untuk penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup *Annona muricata* Linn. menggunakan parameter selektivitas/ spesifitas, akurasi, presisi dan linieritas serta menetapkan kadar kuersetin dalam sediaan sirup *Annona muricata* Linn.

METODE PENELITIAN

Timbangan analitik (O Haous Pioneer), bejana kromatografi 20x10x5 cm³ (CAMAG), Densitometer (Shimadzu Dual Wavelength Chromato Scanner CS 930), Lampu UV CAMAG, pipa kapiler 2 µl, plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ dan alat-alat gelas yang umum digunakan pada laboratorium kimia analisis.

Bahan

Standar kuersetin *pharmaceutical grade* (Sigma Aldrich), etanol 96% pa (Merck), aseton teknis, sukrosa *pharmaceutical grade* (Gulaku), aqua destilata, daun sirsak (*Annona muricata*, Linn) yang diperoleh dari perkebunan Purwodadi, Jawa Timur.

Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) diuji determinasi, dibersihkan, dikeringkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung, dan dipotong kecil-kecil lalu diblender hingga menjadi serbuk berwarna hijau kecoklatan dan ditimbang (Artini *et al*, 2012).

Penetapan Kadar Air Daun Sirsak

Menimbang secara saksama pada timbangan analitik satu sampai dua gram zat dalam wadah yang telah ditara. Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan timbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (Maserasi)

Masukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil berkali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara pengendapan, sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2008)

Pembuatan Sirup Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Formula Sediaan Sirup

Setiap 10 ml sirup menurut Farmakope

Indonesia (III) mengandung :

Ekstrak daun sirsak 2, 24 g

Sukrosa (65% b/v) 6,5 g

Aquadestilata sampai 10 ml

Ditimbang sukrosa sebanyak 6,5 g gerus sampai halus, dilarutkan dalam aquades kemudian ditambah ekstrak kental daun sirsak (*Annona muricata* L.) 2,24 g. Larutan diaduk sampai semua bahan larut dan homogen.

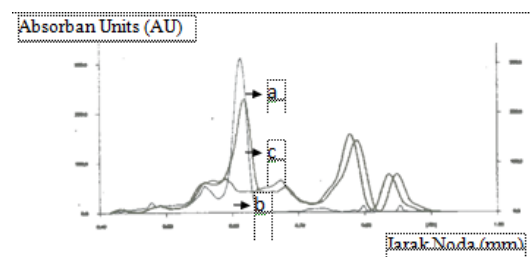
Kemudian ditambah aquades sampai volume 10,0 ml, aduk sampai homogen.

Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Dibuat larutan baku induk kuersetin dalam etanol 96% 1000 ppm. Dibuat larutan baku kerja kuersetin 100 ppm-700 ppm dalam pelarut etanol 96%.

Validasi Metode Selektifitas

Uji selektifitas kuersetin dilakukan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*, Linn) dan sediaan sirup daun sirsak (*Annona muricata*, Linn). Untuk selektifitas kuersetin dalam ekstrak daun sirsak dilakukan dengan cara menimbang 300 mg ekstrak dilarutkan dalam 10,0 ml etanol pa., kemudian ditotolkan sebanyak 2 µl pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄. Untuk adisinya dilakukan dengan cara memipet 1,0 ml larutan ekstrak dan menambahkan 1,0 ml standar kuersetin 300 ppm, dimasukkan kedalam vial, ultrasonifikasi 5 menit dan diuapkan, setelah itu ditambahkan 1,0 ml etanol pa., kemudian ditotolkan sebanyak 2 µl pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄.



Gambar 1. Kromatogram : a. Adisi kuersetin ekstrak daun sirsak; b. Ekstrak daun sirsak dan c. Kuersetin standar. Fase Gerak Toluen : Etil Asetat : Asam Formiat (4 : 3 : 0,4)

Untuk selektifitas kuersetin dalam sediaan sirup sebanyak 1,0 mL sediaan sirup daun sirsak, 1,0 mL sediaan sirup daun sirsak yang diadisi dengan 1,0 ml standar kuersetin 300 ppm, larutan baku kuersetin 300 ppm, 1,0 mL blanko (sediaan sirup tanpa ekstrak), masing masing ditambahkan dengan etanol 96% sampai 10,0 ml, kocok homogen, ultrasonifikasi 5 menit. Kemudian dipipet 4,0 mL dan diuapkan, residu dilarutkan dengan 0,5 ml etanol 96%. Selanjutnya ditotolkan pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 2 µL. Kemudian dieluasi dengan fase gerak. Dilakukan pemilihan terhadap fase gerak yang digunakan dalam penetapan kadar kuersetin untuk memilih fase gerak yang dapat memisahkan kuersetin dari senyawa lain dengan baik. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Kloroform : Aseton : Asam Formiat (10 : 2 : 1) (Depkes RI, 2009)
- Toluen : Etil Asetat : Metanol (4 : 0,5 : 0,5) (Rohini *et al.*, 2011)
- Toluen : Etil Asetat : Asam Formiat (7 : 3 : 1) (Chandrappa, dkk., 2014).
- Toluen : Etil Asetat : Asam Formiat (5 : 4 : 1) (Hayun, 2010)

Setelah dieluasi dan dikeringkan, pelat diamati dibawah lampu UV. Noda yang dihasilkan dihitung nilai

Rf kemudian noda tersebut diukur dengan Densitometer, dilakukan pengamatan terhadap kromatogram untuk perhitungan nilai Rs.

Linieritas

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm ditotolkan sebanyak 2 µl pada pelat KLT silika gel 60 F254. Kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan fase uap, dieluasi dengan fase gerak terpilih sampai akhir garis tanda. Kemudian pelat diangkat dan dikeringkan. Noda yang dihasilkan diukur areanya pada panjang gelombang terpilih dengan densitometer, kemudian dibuat kurva baku hubungan antara konsentrasi (x) dengan area (y) maka dapat dihitung linieritas kuersetin dengan membuat kurva baku yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan serapan yang merupakan garis persamaan regresi $y = bx + a$. Dari persamaan dicari harga koefisien korelasi (r) dan V_{xo} .

LOD dan LOQ

Mengukur respon blanko sebanyak 10 kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko. Kemudian larutan baku kuersetin 5 ppm sampai 100 ppm ditotolkan masing masing sebanyak 2 µl pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak terpilih. Diamati area pada panjang gelombang terpilih menggunakan Densitometer dan dibuat kurva hubungan antara luas puncak dan konsentrasi larutan baku.

Presisi Instrumen

Digunakan baku kuersetin dengan konsentrasi 200 ppm. Ditotolkan sebanyak enam kali dengan jarak masing-masing totalan 1 cm pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 2 µl kemudian dieluasi dengan fase gerak terpilih. Diamati area panjang gelombang terpilih menggunakan densitometer.

Akurasi

Menimbang 300,0 mg ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*, Linn), kemudian ditambahkan etanol pa kedalam labu ukur 10,0 ml hingga tepat tanda. Memipet larutan ekstrak tersebut masing-masing 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml kemudian dicampurkan dengan 1,0 ml satu seri kuersetin dengan berat meningkat 80-120% dari target yaitu 243,36 µg; 304,2 µg; 365,04 µg yang telah dilarutkan dalam etanol pa. Ultrasonifikasi 5 menit, kemudian diuapkan. Residu dilarutkan dengan 1,0 ml etanol pa. Larutan tersebut kemudian ditotolkan pada lempeng plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 2 µl, kemudian dieluasi dengan fase gerak terpilih. Diukur areanya pada panjang gelombang terpilih. Dihitung % perolehan kembali berdasarkan kurva baku.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Simplisia

Dari 2100 gram daun basah diperoleh 650 gram daun kering. Kemudian dimaserasi dengan menggunakan aseton 6,5 liter dan diremaserasi lagi dengan jumlah pelarut yang sama dan kemudian di rotarivapor dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 53,7 gram.

Penetapan Kadar Air Daun Sirsak

Kadar air dalam simplisia daun sebesar 13,59% . Sedangkan kadar air dalam ekstrak daun sebesar 8,38%.

Selektifitas

Hasil uji selektifitas tercantum pada tabel 1 berikut

Tabel 1. Nilai Rf dan Rs Kuersetin

Komposisi Fase Gerak	Rf		Ekstrak	
	A	B	Rs 1	Rs 2
Kloroform: Aseton: As. Formiat (10:2:1)	-	-	-	-
Toluen: etil asetat: metanol (4:0,5:0,5)	0,10	0,09	0,57	1,57
Toluen: etil asetat: asam formiat (7:3:1)	0,35	0,35	0,75	1,33
Toluen: etil asetat: asam formiat (5:4:1)	0,54	0,53	1,00	1,33
Toluen: etil asetat: asam formiat (4:3:0,4)	0,44	0,44	2,30	1,60

Keterangan A: Kuersetin Standar

B: Ekstrak

Linieritas

Hasil uji linieritas kuersetin menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar kuersetin dengan area yang terbaca pada densitometer (koefisien korelasi sebesar 0,9977). Persamaan regresi $y = 9032x + 113,5$ dengan $V_{xo} = 0,76 \%$.

LOD dan LOQ

Dari hasil perhitungan didapatkan nilai batas deteksi 0,0284 µg dan batas kuantifikasi 0,0945 µg.

Presisi Instrumen

Larutan standar kuersetin 0,4272 µg/2µl ditotolkan sebanyak enam kali pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 2 µl kemudian dieluasi dengan fase gerak terpilih. Selanjutnya diamati area pada panjang gelombang terpilih menggunakan Densitometer. Dari hasil presisi didapatkan nilai KV sebesar 1,36 %.

Akurasi

Hasil prosentase perolehan kembali berdasarkan cara adisi baku kuersetin dengan tiga macam kadar berbeda tercantum pada tabel 2.

Tabel 2. Akurasi

A	B	C	D	E
80%	1	243,36	210,13	86,35
	2	243,36	224,36	92,19
	3	243,36	196,35	80,68
100%	1	304,20	248,57	81,71
	2	304,20	285,53	93,86
	3	304,20	299,47	98,45
120%	1	365,04	376,25	103,07
	2	365,04	383,78	105,13

A	B	C	D	E
	3	365,04	353,72	96,90
	Rata-rata			93,15
	SD			8,79
	KV			9,44

Keterangan: A. Target konsentrasi

B. Replikasi

C. Berat kuersetin yang ditambahkan (μg)

D. Berat kuersetin yang diperoleh (μg)

E. Perolehan kembali (%;b/b)

Hasil penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun *Annona muricata* L. tercantum pada tabel 3.

Tabel 3. Penetapan Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun *Annona muricata* L.

Replikasi	Berat yang ditimbang (g)	Berat yang diperoleh (g)	Kadar (%;b/b)
1	0,3001	$3,486 \times 10^{-3}$	1,162
2	0,3001	$3,848 \times 10^{-3}$	1,282
3	0,3001	$4,258 \times 10^{-3}$	1,419
	Rata-rata		1,288
	SD		0,1286
	KV		9,98

Hasil penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup tercantum pada tabel 4.

Tabel 4. Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Sirup.

Replikasi	Kadar kuersetin (mg)
1	27,13
2	27,79
3	28,32
Rata-rata	27,75
SD	0,596
KV	2,15

Dalam penelitian ini, pengambilan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan sebanyak satu kali yaitu pada tanggal 22 Februari 2015 dari Kebun Raya Purwodadi. Dari hasil simplisia yang diperoleh tersebut dilakukan penetapan kadar air simplisia yaitu sebesar 13,5891%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan bahan menjadi rusak ketika disimpan karena adanya pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim penyebab kerusakan. Batas kadar air minimal dimana mikroba masih dapat tumbuh adalah 14-15% (Hidayati, 2007).

Tahap selanjutnya adalah dilakukan maserasi. Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah aseton, karena senyawa kuersetin mudah larut dalam aseton (Lide, 2005) dengan perbandingan satu bagian serbuk kering simplisia dan 10 bagian pelarut (Depkes RI, 2008). Sesuai dengan Depkes RI (2008) daun sebanyak 650 gram dimaserasi dengan pelarut aseton sebanyak 6,5 liter selama 3 hari. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan (Koirewoa, dkk., 2012). dengan cara yang sama dan

digabungkan dengan hasil maserasi sebelumnya. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi tersebut dipekatkan menggunakan rotarivapor hingga diperoleh ekstrak kental 53,7189 gram. Kadar air ekstrak sebesar 8,3786 %. Batas kadar air minimal dimana mikroba masih dapat tumbuh adalah 14-15% (Hidayati, 2007), sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak masih terlindung dari pertumbuhan mikroba.

Hasil uji selektifitas pemilihan fase gerak menunjukkan bahwa fase gerak toluen:etil asetat:asam formiat (4:3:0,4), merupakan fase gerak yang memberikan pemisahan kuersetin terbaik dengan derajat resolusi sebesar 2,0 dan 1,6 dengan Rf kuersetin standar 0,44 dan Rf sediaan sirup 0,44 telah memenuhi kriteria Rs yang baik yaitu $\geq 1,5$ (Gandjar dan Rohman, 2008). Sedangkan pada penelitian lain Hayun (2009) derajat keterpisahannya 0,92 dengan Rf 0,67 dalam fase gerak toluen:etil asetat:asam formiat (5:4:1).

Pada penelitian ini didapat bahwa analit memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 265 nm sedangkan menurut Merk Index (2009) panjang gelombang maksimum kuersetin pada 258 nm. Perbedaan panjang gelombang kurang dari 10 nm masih dianggap sama, sehingga digunakan panjang gelombang 265 nm sebagai panjang gelombang terpilih pada penelitian ini.

Dari uji linieritas diperoleh persamaan regresi $y = 9032x + 113,5$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9977 dan $V_{xo} = 0,76$ %. Dimana nilai r hitung lebih besar dari r tabel yaitu 0,878 untuk $n = 5$. Sedangkan persamaan regresi untuk kuersetin dari peneliti lain diperoleh $y = 3647,4x + 554,94$ dengan $r = 0,9993$ (Hayun, 2009). Dikarenakan kandungan kuersetin didalam daun sirsak (*Annona muricata*, Linn) jumlahnya sedikit sehingga perlu dilakukan perhitungan *quantitation limit* (LOQ) dan *detection limit* (LOD). Pada penelitian ini diperoleh limit deteksi dan kuantitasi kuersetin diperoleh 0,0284 μg dan 0,0945 μg . Sedangkan untuk limit deteksi dan kuantitasi kuersetin diperoleh 0,036 μg dan 0,119 μg (Hayun, 2009). Perbedaan data batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) diatas membuktikan bahwa ketelitian analisis yang digunakan dalam penelitian lebih teliti dibandingkan pada penelitian Hayun (2009).

Uji akurasi dilakukan dengan metode adisi baku, karena tidak dapat membuat matrik sampel yang berasal dari bahan alam berupa suatu senyawa endogen yang tidak dapat diketahui dan tidak dapat dibuat sendiri (Harmita, 2004). Metode adisi dilakukan dengan cara menambahkan kuersetin standar sejumlah 80%, 100%, dan 120% ke dalam larutan ekstrak yang volumenya semakin meningkat. Hasil akurasi didapat rata-rata dari prosen perolehan kembali (%*recovery*) sebesar $93,15\% \pm 9,44\%$. Uji akurasi untuk senyawa kuersetin dari peneliti lain Hayun (2009) sebesar $96,16 \pm 0,94\%$.

Hasil presisi dari alat adalah nilai koefisien variasi (KV) = 1,36%. Sedangkan pada penelitian Hayun (2009) didapat KV larutan kuersetin sebesar 1,25-1,76%.

Setelah proses validasi selesai, hal tersebut diaplikasikan untuk penetapan kadar kuersetin dalam

ekstrak kental daun sirsak. Kadar rata-rata dari ekstrak kental yang diperoleh sebesar 1,288 % (b/b) atau ($12,88 \pm 9,98$) mg/g. Sedangkan literatur lain menyebutkan bahwa kandungan flavonoid yang terdeteksi sebagai senyawa kuersetin dalam ekstrak daun sirsak sebesar 0,996 % (b/b) atau ($9,96 \pm 1,53$) mg/g (Pieme *et al*, 2014). Perbedaan kadar kuersetin yang berbeda jauh ini disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan tempat tumbuh, perlakuan selama masa tumbuh, dan waktu panen yang berbeda (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Kemudian dilakukan pembuatan sediaan sirup. Formula yang digunakan untuk membuat sediaan sirup adalah ekstrak kental daun sirsak 2,24 gram, sukrosa 6,5 g yang berfungsi sebagai pemanis (Rowe *et al.*, 2009). Hasil rata-rata penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup yaitu $27,75 \text{ mg} \pm 2,13\%$ dalam 10 mL

KESIMPULAN

Metode Kromatografi Lapis Tipis memenuhi persyaratan validasi metode dalam hal selektifitas, linieritas, akurasi, dan presisi pada penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup daun sirsak. Penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup *Annona muricata* Linn diperoleh kadar kuersetin rata-rata setiap dosisnya yaitu $27,75 \text{ mg}/10 \text{ ml} \pm 2,13 \%$. Pelarut aseton yang digunakan selama proses pembuatan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*, Linn.) perlu ditentukan lebih lanjut kadarnya sehingga terjamin kualitas dan keamanannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Baskar R., Rajeswari V., and Kumar T.S., (2007) In Vitro Antioxidant Studies In Leaves Of *Annona* Species. *Indian J Exp Biol*, 45, 480-5
- Departemen Kesehatan RI. (1979) Farmakope Indonesia Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2007) Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 323-377; 456-473
- Harmita (2004) Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 1, No.3, hal. 117-135
- Hayun, M.A., dan Putri, A.N.(2010) Analisis Kuersetin dan Kurkuminoid dalam Tablet yang Mengandung Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Secara KLT-Densitometri. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* ISSN 1412-2855 Vol.7, No.2.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2005) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology. Q2(R1). P. 1-17
- Lide, D.R. (2005). Handbook of Chemistry and Physics. Standford: CRC Press. Page 494.
- Nurrahmani, L.S. (2012) Pemeriksaan Parameter Mutu Ekstrak Etanol 70% Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dan Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase secara In Vitro. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta.
- Sembiring B.B. (2009). Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan cara Pengeringan Terhadap Mutu Ekstrak Kering. *Bul. Littro*. Vol. 20 No.2, 2009, 173-181.
- United States Pharmacopeial Convention. (2014) The United States Pharmacopeia 37 -National Formulary 32 (USP37-NF32). 37st Edition. Rockville USA: United States Pharmacopeial Convention Inc. 1225 p. 1-8
- Waji R.A. dan Sugrani A. (2009) Flavonoid (Quersetin). Makalah Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Hasanuddin: MIPA
- Watson D.G. (2009) Analisis Farmasi : Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi. Diterjemahkan oleh Winny R.S. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 367-384.
- Yuwono M. dan Indrayanto G. (2005) Validation of Chromatographic Methodes of Analysis. Profiles of Drug Substances, Excipient And Related Methodology. Vol.32 p.243-259.