



SINTESIS DAN KARAKTERISASI MIPs (*Molecularly Imprinted Polymers*) DENGAN MONOMER ASAM AKRILAT UNTUK ISOLASI NARINGENIN DARI EKSTRAK DAGING BUAH JERUK NAMBANGAN (*Citrus maxima*)

SKRIPSI

Oleh

**Priskila Haryuningtyas Ngantung
212210101054**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
JEMBER
2025**



SINTESIS DAN KARAKTERISASI MIPs (*Molecularly Imprinted Polymers*) DENGAN MONOMER ASAM AKRILAT UNTUK ISOLASI NARINGENIN DARI EKSTRAK DAGING BUAH JERUK NAMBANGAN (*Citrus maxima*)

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada program studi S1 Farmasi

SKRIPSI

Oleh

**Priskila Haryuningtyas Ngantung
212210101054**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
JEMBER
2025**

PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan kasih dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Tanpa mengurangi rasa hormat, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan kasih dan berkat-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini hingga selesai;
2. Ibu Dr. apt. Yuni Retnanintyas, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, S.Farm., M.Farm., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan selama proses penyusunan skripsi ini;
3. Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan masukan yang membangun agar skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
4. Ibu apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberi dukungan serta motivasi dalam perjalanan akademik penulis;
5. Segenap dosen dan civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu dalam perjalanan akademik penulis;
6. Keluarga penulis, Bapak Hari Susana Ae Ngantung, Ibu Sri Wahjuni, dan Kakak Benaya Sriharja Kusuma Ngantung, yang telah memberikan dukungan dan doa yang tak pernah putus;

MOTTO

Sebab:

“Semua yang hidup adalah seperti rumput dan segala kemuliaannya seperti bunga rumput, rumput menjadi kering, dan bunga gugur, tetapi firman Tuhan tetap untuk selama-lamanya.” Inilah firman yang disampaikan Injil kepada kamu.”

(1 Petrus 1:24-25)

“Ketika kamu tidak bisa, Tuhan bisa”

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Priskila Haryuningtyas Ngantung

NIM : 212210101054

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: "*Sintesis dan Karakterisasi MIPs (Molecularly Imprinted Polymers) dengan Monomer Asam Akrilat untuk Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan (Citrus maxima)*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Mei 2025

Yang menyatakan,



Priskila Haryuningtyas Ngantung

NIM 212210101054

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul "*Sintesis dan Karakterisasi MIPs (Molecularly Imprinted Polymers) dengan Monomer Asam Akrilat untuk Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan (Citrus maxima)*" telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :

Hari : Rabu
Tanggal : 14 Mei 2025
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tanda Tangan

Pembimbing

1. Pembimbing Utama

Nama : Dr. apt. Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si.
NIP : 197806092005012004

(.....)

2. Pembimbing Anggota

Nama : Dr. apt. Ayik Rosita P. S.Farm., M.Farm.
NIP : 198102012006042001

(.....)

Penguji

1. Penguji Utama

Nama : apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm.
NIP : 198204062006042001

(.....)

2. Penguji Anggota

Nama : apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm.
NIP : 197604142002122001

(.....)



Prof. apt. An. Satia Nugraha, S.F., GDipSc., MSc-res., PhD.
NIP. 197807212003121001

ABSTRACT

Synthesis and Characterization of MIPs (Molecularly Imprinted Polymers) with Acrylic Acid Monomer for the Isolation of Naringenin from the Fruit Pulp Extract of Nambangan Pomelo (Citrus maxima). This study discusses the synthesis of molecularly imprinted polymers (MIP) and evaluates their ability to isolate naringenin from the pulp extract of Nambangan Pomelo (*Citrus maxima*). Naringenin MIP were synthesized using bulk polymerization with a non-covalent approach. The synthesis process employed naringenin as the template, acrylic acid as the functional monomer, ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as the cross-linker, benzoyl peroxide as the initiator, with acetonitrile and chloroform as porogens. MIP were prepared with varying molar ratio of functional monomer and cross-linker in order to identify the optimal formulation. Characterization of the MIP was carried out by fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscopy (SEM). SEM analysis revealed the formation of non-spherical cavities within the polymer. FTIR analysis of the MIP identified aromatic C–H and C=C stretching bands, indicating successful incorporation of naringenin molecules within the polymer matrix. Binding efficiency was evaluated via batch rebinding assays (BRA). The best formulation, MIP 1, with a molar ratio 1:4:83.3 (template:monomer:cross-linker), exhibited the highest binding capacity of 1.85 mg/g. Selectivity tests showed that the naringenin MIP was selective only for naringenin, with selectivity factors of 185 and 92,5 against hesperidin and rutin, respectively. Furthermore, MIP 1 showed good re-release performance, with a recovery value of $92.14\% \pm 1.53\%$. As a further application, MIP 1 was used to isolate naringenin from Nambangan pomelo pulp extract and achieved a separation efficiency of 85.62%. These results demonstrate that MIP technology holds great potential for the selective separation of compounds from complex matrices.

Keywords: *Molecularly Imprinted Polimers (MIP), naringenin, Citrus maxima, acrylic acid*

RINGKASAN

Sintesis dan Karakterisasi MIPs (*Molecularly Imprinted Polymers*) dengan Monomer Asam Akrilat untuk Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan (*Citrus maxima*): Priskila Haryuningtyas Ngantung; 212210101054; 2025; 82 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Naringenin (5,7,4-trihidroksiflavanon) termasuk ke dalam golongan flavonoid khususnya flavanon yang saat ini banyak diteliti karena potensinya sebagai antikanker, antiaterogenik, penyakit kardiovaskular, dan osteoporosis. Naringenin dapat ditemukan dalam buah-buahan *citrus* salah satunya jeruk Nambangan. Naringenin murni dapat diperoleh dengan menggunakan metode pemisahan yang selektif salah satunya *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP). MIP merupakan polimer sintesis yang memiliki situs pengenalan spesifik sehingga dapat mengikat senyawa target dengan struktur yang sama dengan *template*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi optimum MIP naringenin agar didapatkan polimer dengan rongga yang spesifik dapat mengikat dan melepaskan *template*.

MIP disintesis menggunakan naringenin sebagai *template*, asam akrilat sebagai monomer fungsional, EGDMA sebagai *cross-linker*, benzoil peroksida sebagai inisiator serta kloroform dan asetonitril sebagai porogen. Sintesis MIP dilakukan dengan beberapa variasi molar *template*:monomer fungsional:*cross-linker* untuk mengetahui komposisi optimum dari MIP naringenin. MIP disintesis pada suhu 60°C selama ± 2 jam dibantu pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. MIP yang telah terbentuk dikeringkan dengan oven suhu 60°C kemudian digerus dan diayak. MIP dapat diaplikasikan pada sampel jika *template* telah dihilangkan dari polimer dengan cara mencuci MIP menggunakan pelarut yang sesuai. Sintesis MIP juga disertai dengan sintesis *non-imprinted polymer* (NIP) dengan tahapan dan formula yang sama tanpa penambahan naringenin.

Polimer yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM untuk melihat ada tidaknya rongga yang terbentuk selama proses sintesis MIP.

Hasil analisis SEM, menunjukkan pada MIP setelah pencucian memiliki rongga dengan bentuk *non-spherical*. Polimer juga dianalisis menggunakan spektroskopi FT-IR untuk melihat jenis ikatan dan gugus fungsi yang terdapat pada MIP dan NIP. Hasil analisis menunjukkan pada MIP terdapat gugus C-O, O-H aromatis dan C=C aromatis yang menandakan bahwa selama proses sintesis naringenin dapat berikatan dengan polimer.

Untuk mengetahui kinerja dari MIP yang dihasilkan maka dilakukan serangkaian pengujian *batch rebinding assay* (BRA), selektivitas, dan *%recovery*. Berdasarkan *batch rebinding assay* (BRA) formula optimum MIP naringenin adalah formula 1 yang ditunjukkan dengan nilai kapasitas pengikatan MIP sebesar 1,85 mg/g. Pemilihan rasio yang tepat antara ketiga komponen penting karena dapat mempengaruhi sifat fisika dan kimia dari MIP yang menentukan bagaimana kinerja MIP dalam mengenali analit target dan memisahkan analit target pada suatu sampel.

Selektivitas menunjukkan kemampuan MIP untuk menangkap analit secara spesifik walaupun terdapat komponen lain dalam matriks sampel. Hasil menunjukkan MIP yang dihasilkan selektif terhadap naringenin yang ditunjukkan dengan besarnya nilai faktor selektivitas yaitu 185 terhadap hesperidin dan 92,50 terhadap rutin. Selanjutnya, untuk mengetahui kemampuan MIP dalam melepaskan kembali analit yang ditangkap dilakukan dengan pengujian *%recovery*. Hasil menunjukkan bahwa MIP naringenin memiliki kemampuan yang baik dalam melepaskan kembali naringenin dengan nilai rata-rata *%recovery* sebesar $92,14 \pm 1,53\%$.

MIP naringenin dalam memisahkan naringenin dari suatu sampel dapat diukur dengan membandingkan kromatogram. Kromatogram yang diperoleh dari ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum pencucian menunjukkan adanya puncak senyawa lain dengan intensitas yang tinggi. Namun, setelah dilakukan pencucian dengan MIP, puncak yang muncul pada kromatogram menjadi lebih kecil dan sederhana yang menandakan bahwa MIP dapat menyederhanakan matriks pada ekstrak. Selain itu, efisiensi pengikatan dan pelepasan MIP naringenin juga telah memberikan hasil yang baik sebesar 85,62%.

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan kasih dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Sintesis dan Karakterisasi MIPs (*Molecularly Imprinted Polymers*) dengan Monomer Asam Akrilat untuk Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan (*Citrus maxima*)”. Selama proses penyusunan skripsi ini, penulis telah menerima banyak bantuan, bimbingan, dan dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GDipSc.,MSc-res.,PhD., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Dr. apt. Yuni Retnanintyas, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, S.Farm., M.Farm., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan semangat selama proses penyusunan skripsi ini;
3. Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan saran, kritik, dan masukan yang membangun agar skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
4. Ibu apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberi dukungan serta motivasi dalam perjalanan akademik penulis;
5. Keluarga penulis yaitu, Bapak Hari Susana Ae Ngantung, Ibu Sri Wahjuni, Kakak Benaya Sriharja Kusuma Ngantung yang telah memberi dukungan baik material maupun non-material berupa semangat, kasih sayang, dan doa yang tak pernah putus untuk penulis;
6. Orang terkasih penulis yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan bantuan selama penulis menjalani perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
7. Ibu apt. Titin Nur Farida S.Farm., Ibu Hany Indah Kurniati, S.Si., Ibu Solihatus Sallama, A.Md., Ibu Indriasih, S.P., dan Ibu Widyantini, S.Tp. selaku teknisi

laboratorium Fakultas Farmasi yang telah membantu kelancaran penelitian penulis;

8. Rekan “MIP Gank” yaitu Vriska, Veli dan Dafena yang telah memberikan semangat, ilmu, serta menemani penulis selama penelitian sehingga penelitian ini dapat berlangsung dengan lancar;
9. Alumni Fakultas Farmasi yaitu kak Reza dan kak Yulia yang telah membantu dan mengajari peneliti dengan sabar sehingga penelitian ini dapat selesai dengan baik;
10. Rekan “Lulus Tepat/Sebelum Waktunya” yaitu Vriska, Shovi, dan Dafena yang telah menjadi teman seperjuangan penulis dari awal perkuliahan hingga saat ini;
11. Rekan “Resume SPO” yaitu Dzikra, Amanda, Nissa, Khofi, Mifta, Vriska, Dafena, Shovi, Anida, dan Aisyah yang telah berbagi ilmu kepada penulis selama perkuliahan berlangsung;
12. Rekan proyek “jeruk Nambangan” yaitu Hudzaifah, Nuril Velicia, Vriska, dan Dafena yang telah berjuang bersama dalam mendapatkan kadar naringenin dalam jeruk Nambangan;
13. Rekan penelitian di laboratorium Kimia Analisis Neysa, Fresty, Tasya, Nuril, Hudzaifah, Adel, Laras, dan Valentino yang telah memberikan tawa selama melakukan penelitian di laboratorium kimia analisis;
14. Rekan kelas A angkatan 2021 yang telah kebersamai penulis dari awal kuliah hingga saat ini.

Jember, 14 Mei 2025

Penulis

Priskila Haryuningtyas Ngantung

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
ABSTRACT	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN TEORI.....	5
2.1 Jeruk Nambangan.....	5
2.2 Naringenin.....	5
2.3 <i>Molecularly Imprinted Polymers (MIP)</i>	7
2.3.1 Polimerisasi ruah	7
2.3.2 Polimerisasi presipitasi.....	8
2.3.3 Polimerisasi emulsi.....	8
2.3.4 Surface imprinting.....	8
2.4 Komponen <i>Molecularly Imprinted Polymer (MIP)</i>	8
2.4.1 Molekul template.....	8
2.4.2 Monomer fungsional	9
2.4.3 Cross linker.....	9
2.4.4 Inisiator.....	10
2.4.5 Porogen.....	10
2.5 Karakterisasi <i>Molecularly Imprinted Polymers (MIP)</i>	10
2.5.1. <i>Fourier Transform Infrared (FT-IR)</i>	10
2.5.2. <i>Scanning Electron Microscope (SEM)</i>	11
2.6 Penilaian Kinerja <i>Molecularly Imprinted Polymers (MIP)</i>	11
2.6.1 <i>Batch Rebinding Assay (BRA)</i>	11

2.6.2	Selektivitas	11
2.6.3	%recovery.....	11
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN		12
3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	12
3.2	Definisi Operasional.....	12
3.3	Variabel Penelitian	12
3.3.1	Variabel bebas	12
3.3.2	Variabel terikat	12
3.3.3	Variabel kontrol.....	12
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.5	Alur Penelitian.....	13
3.6	Alat dan Bahan	14
3.6.1.	Alat	14
3.6.2.	Bahan.....	14
3.7	Prosedur Penelitian.....	14
3.7.1.	Optimasi Komposisi MIP	14
3.7.2.	Sintesis MIP	14
3.7.3.	Karakterisasi.....	15
3.7.4.	Optimasi Kondisi Pengujian.....	15
3.7.5.	Penilaian Kinerja MIP	17
3.7.6.	Ekstraksi Naringenin Dari Daging Buah Jeruk Nambangan... 18	
3.7.7.	Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah.....	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		12
4.1	Optimasi Komposisi MIP Naringenin.....	19
4.2	Sintesis MIP Naringenin	20
4.3	Pembahasan Terkait Karakterisasi MIP Dengan FTIR dan SEM.....	23
4.3.1	<i>Fourier Transform Infrared</i> (FT-IR).....	23
4.3.2	<i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	24
4.4	Optimasi Kondisi Pengujian <i>Batch Rebinding Assay</i> (BRA).....	25
4.4.1	Optimasi Waktu Inkubasi.....	25
4.4.2	Optimasi Suhu Inkubasi	26
4.4.3	Optimasi pH Inkubasi.....	27
4.4.4	Optimasi Konsentrasi Inkubasi	28
4.5	Penilaian Kinerja MIP Naringenin.....	29
4.5.1	<i>Batch Rebinding Assay</i> (BRA).....	29
4.5.2	Selektivitas	30
4.5.3	%recovery.....	32
4.6	Ekstraksi Daging Buah Jeruk Nambangan.....	32
4.7	Isolasi Naringenin Dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan.....	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		35
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA		36

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Variasi komposisi MIP naringenin	19
Tabel 4. 2 Data analisis FTIR MIP sebelum pencucian, MIP setelah pencucian, NIP, dan naringenin.....	23
Tabel 4. 3 Hasil selektivitas MIP naringenin terhadap hesperidin dan rutin	31
Tabel 4.4 Hasil penentuan <i>%recovery</i> MIP	32
Tabel 4.5 Hasil kapasitas pengikatan dan <i>%recovery</i> pada sampel.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1 Skema ilustrasi sintesis MIP naringenin secara komputasi.....	22
Gambar 4.2 Hasil FTIR NIP, MIP, dan naringenin	23
Gambar 4.3 Hasil SEM NIP dan MIP	25
Gambar 4.4 Grafik hubungan waktu inkubasi terhadap Q MIP.....	25
Gambar 4.5 Grafik hubungan suhu terhadap kapasitas pengikatan Q MIP	26
Gambar 4.6 Grafik pengaruh pH terhadap kapasitas pengikatan Q MIP.....	27
Gambar 4.7 Grafik pengaruh konsentrasi terhadap Q MIP.....	28
Gambar 4.8 Grafik hubungan waktu inkubasi terhadap nilai (Q) MIP.....	29
Gambar 4.9 Hasil kromatogram HPLC sampel ekstrak.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Komposisi <i>molecularly imprinted polymers</i> (MIP).....	41
Lampiran 3.2 Persamaan kapasitas pengikatan.....	41
Lampiran 3.3 Persamaan faktor selektivitas	41
Lampiran 3.4 Persamaan <i>%recovery</i>	41
Lampiran 4.1 Hasil determinasi tanaman.....	42
Lampiran 4.2 Hasil sintesis MIP naringenin dan NIP.....	43
Lampiran 4.3 Hasil karakterisasi MIP dan NIP dengan FTIR	43
Lampiran 4.4 Hasil karakterisasi MIP naringenin dengan SEM.....	44
Lampiran 4.5 Hasil penentuan kurva baku naringenin	45
Lampiran 4.6 Hasil optimasi waktu inkubasi.....	47
Lampiran 4.7 Hasil optimasi suhu inkubasi.....	51
Lampiran 4.8 Optimasi pH inkubasi	53
Lampiran 4.9 Hasil optimasi konsentrasi inkubasi	55
Lampiran 4.10 Hasil pengujian kinerja MIP dengan <i>batch rebinding assay</i>	57
Lampiran 4.11 Hasil pengujian kinerja MIP dengan selektivitas	62
Lampiran 4.12 Hasil pengujian kinerja MIP dengan <i>%recovery</i>	64
Lampiran 4.13 Hasil ekstraksi dan hidrolisis	66
Lampiran 4.14 Hasil isolasi naringenin dari ekstrak.....	66

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk ke dalam *megabiodiversity country* dengan keanekaragaman hayati yang terdiri atas 25.000 jenis tumbuhan salah satunya yaitu jeruk besar atau pamelo (Safiah dkk., 2024). Menurut Badan Pusat Statistik Indonesia (2023), pada tahun 2023 Indonesia dapat menghasilkan jeruk besar (pamelo) sebanyak 92.250 ton. Jeruk besar (pamelo) yang ada di Indonesia terdiri atas berbagai macam kultivar salah satunya adalah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*). Jeruk Nambangan termasuk dalam kultivar yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki rasa getir yang rendah, tidak memiliki biji dan mudah untuk dikupas (Dadang dan Susanto, 2018). Jeruk Nambangan merupakan jeruk besar (pamelo) yang berasal dari daerah Nambangan, Madiun (Dirjen Holtikultura., 2003).

Jeruk Nambangan mengandung berbagai senyawa kimia seperti flavonoid, fenol, karbohidrat, karotenoid, asam amino, terpenoid, saponin, glikosida dan alkaloid (Sapkota dkk., 2022). Senyawa yang paling banyak ditemukan dalam jeruk Nambangan adalah golongan flavonoid. Senyawa flavonoid yang dapat ditemukan dalam jeruk Nambangan yaitu neohesperin, luteolin, naringin, acacetin, hesperidin dan naringenin (Sapkota dkk., 2022). Naringenin (5,7,4-trihidroksiflavanon) termasuk ke dalam flavanon yang saat ini banyak diteliti karena memiliki potensi dalam pengobatan berbagai penyakit terutama sebagai antikanker. Naringenin diketahui juga memberikan manfaat dalam kondisi penyakit kardiovaskular dan osteoporosis (Patel dkk., 2018).

Caengprasath dkk (2013) melakukan penelitian untuk mengetahui kadar naringenin pada daging buah jeruk Bali. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa daging buah jeruk bali mengandung naringenin sebanyak $9,20 \pm 0,19$ mg/g ekstrak kering. Kandungan tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan naringenin yang terdapat pada *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium*, *Citrus paradisi*, dan *Citrus sinensis* yaitu sebesar 2,35 mg/100 gram; ekstrak kering kulit pisang sebesar 8,47 mg/100 gram; dan tomat sebesar 282 mg/kg (Madej dkk., 2022).

Naringenin murni dapat diperoleh menggunakan metode pemisahan yang selektif. *Solid Phase Extraction* (SPE) merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam isolasi senyawa karena mudah dan murah. Namun, metode ini kurang selektif karena sorben yang digunakan pada *solid phase extraction* (SPE) tidak dapat memisahkan senyawa dari suatu matriks yang kompleks secara selektif (Pardo dkk., 2012). Oleh karena itu, diperlukan metode lain yang dapat digunakan untuk memisahkan naringenin secara selektif yaitu *molecularly imprinted polymers* (MIP). *Molecularly imprinted polymers* (MIP) merupakan polimer sintesis yang dapat digunakan untuk memisahkan suatu senyawa karena memiliki rongga dengan situs pengenalan spesifik. Rongga yang terdapat pada MIP dapat mengikat senyawa target dengan struktur yang sama dengan *template*. MIP memiliki beberapa kelebihan yaitu memiliki selektivitas tinggi; dapat digunakan kembali; stabil dalam berbagai pelarut baik dalam suasana asam maupun basa (Fransiska dan Sianita, 2021).

Jahanbakhsh dkk (2022) melakukan penelitian untuk mengekstraksi katekin yang terdapat dalam teh hijau menggunakan metode *molecularly imprinted polymers* (MIPs). Pada penelitian ini MIPs berhasil disintesis menggunakan katekin sebagai *template*, asam akrilat sebagai monomer fungsional, *trimethylolpropane trimethacrylate* (TRIM) sebagai *cross-linker*, dan *2,2-azobisisobutyronitrile* sebagai inisiator. MIPs yang dihasilkan memiliki kapasitas pengikatan yang baik dengan selektivitas yang tinggi terhadap katekin ditunjukkan dengan nilai kapasitas pengikatan terhadap katekin lebih besar dibandingkan terhadap quersetin yaitu 440 mg/g dan 84 mg/g. Pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa MIPs berhasil memisahkan katekin dari ekstrak teh hijau ditunjukkan dengan nilai kapasitas pengikatan sebesar 14,07 mg/g (Jahanbakhsh dkk., 2022).

Molecularly imprinted polymers (MIP) dibuat dengan mencampurkan *template*, monomer fungsional, *cross-linker*, inisiator dan porogen (Bakhtiar dkk., 2019). *Template* akan membentuk kompleks dengan monomer fungsional kemudian dipolimerisasi oleh *cross-linker* sehingga menghasilkan matriks polimer dengan sisi ikatan yang selektif dan spesifik dengan molekul target (*template*).

Setelah polimerisasi, molekul *template* dihilangkan dengan proses pencucian menggunakan pelarut yang sesuai sehingga menghasilkan polimer berongga yang secara selektif dan spesifik dapat menarik molekul target dari sampel (Sayland dan Denizli., 2019). Mekanisme MIP sama dengan prinsip “*lock and key*” pada antigen dan antinodi yang selektif mengikat molekul yang memiliki pola sama dengan molekul *template* (BelBruno, 2018).

Salah satu monomer fungsional yang dapat digunakan dalam sintesis MIP adalah asam akrilat (Gorbani dkk., 2017). Penggunaan asam akrilat sebagai monomer fungsional memiliki kelebihan yaitu mampu mengikat molekul *template* dengan baik karena dapat menghasilkan ikatan yang lebih kuat dengan molekul *template*. Hal tersebut dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh Babaeipour dan Jabbari (2024) dimana penelitian tersebut berhasil menunjukkan bahwa asam akrilat dapat menarik molekul asam dipikolinat dengan baik karena asam akrilat memiliki jumlah ikatan hidrogen dan energi pengikatan yang tinggi sehingga dapat menciptakan interaksi yang kuat antara monomer fungsional dan *template*.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk sintesis *Molecularly imprinted polymers* (MIP) dengan komposisi yang berbeda dengan penelitian sebelumnya serta melakukan karakterisasi kinerja dan melakukan pengujian terhadap kemampuan MIP dalam menarik naringenin yang terdapat dalam daging buah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*) secara selektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana komposisi optimum untuk sintesis *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP) naringenin dengan monomer fungsional asam akrilat?
2. Bagaimana karakteristik dari *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP) naringenin dengan monomer fungsional asam akrilat?
3. Bagaimana kinerja MIP hasil sintesis dalam memisahkan naringenin yang terdapat dalam daging buah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan komposisi optimum untuk sintesis *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP) naringenin dengan monomer fungsional asam akrilat.
2. Mengetahui karakterisasi MIP naringenin hasil sintesis dengan monomer fungsional asam akrilat.
3. Mengetahui kinerja MIP hasil sintesis dalam memisahkan naringenin yang terdapat dalam daging buah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi baru mengenai metode pemisahan menggunakan MIP untuk isolasi senyawa naringenin yang berasal dari tanaman.
2. Mendapatkan MIP yang mampu menarik naringenin dalam sampel daging buah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*).

BAB 2. TINJAUAN TEORI

2.1 Jeruk Nambangan

Klasifikasi tanaman jeruk Nambangan (*Citrus maxima*) menurut Vijaylakshmi dan Radha (2015):

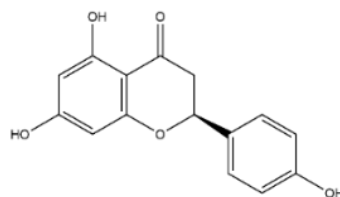


Gambar 2.1 Jeruk Nambangan (*Citrus maxima*)

Kingdom : Plantae
Divison : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Sapindales
Family : Rutaceae
Genus : Citrus
Species : *Citrus maxima*

Jeruk Nambangan (*Citrus maxima*) merupakan kultivar jeruk Bali yang berasal dari daerah Nambangan, Madiun. Jeruk Nambangan dapat ditanam pada daerah dengan ketinggian 1-700m di atas permukaan laut. Jeruk nambangan memiliki karakteristik dengan buah berbentuk bulat dan pendek; kulit buah halus; daging buah berwarna merah muda hingga merah; rasa daging buah yang manis dan sedikit asam; serta jumlah biji yang relatif sedikit (Dirjen Holtikultura, 2003; dan Naharsari, 2007).

2.2 Naringenin



Gambar 2.2 Struktur kimia naringenin

Naringenin merupakan bentuk aglikon dari naringin (*naringenin-7-rhamnoglucoside*) dan narirutin (*naringenin-7-glucoside*) (Madej dkk., 2022).

Naringenin (5,7,4-trihidroksiflavanon) termasuk ke dalam flavanon yang banyak ditemukan dalam buah-buahan *citrus* salah satunya yaitu jeruk Bali (Patel dkk., 2018 dan Madej dkk., 2022). Saat ini, naringenin banyak diteliti karena naringenin memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan dengan naringin. Gugus gula yang ada pada naringin dapat menurunkan aktivitas antioksidan karena kemampuan gugus aktif dalam menangkap radikal bebas berkurang (Shilpha dkk., 2023). Naringenin memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi salah satunya sebagai berikut:

2.2.1. Antioksidan

Aktivitas antioksidan naringenin yang diteliti oleh Patel dkk (2018) menunjukkan bahwa naringenin dapat menangkal radikal bebas yang ada di hati akibat arsenik serta menurunkan kadar arsenik dalam darah dan jaringan tikus wistar jantan (Patel dkk., 2018).

2.2.2. Antikanker

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Madej dkk (2022) menyebutkan bahwa naringenin memiliki aktivitas antikanker, antiproliferatif, dan antitumor yang terbukti dapat digunakan untuk kanker hati, kanker payudara, kanker prostat, melanoma, dan glioblastoma. Pada aktivitas antikanker naringenin dapat menghambat proses apoptosis pada jalur internal (mitokondria) dan eksternal (reseptor); proliferasi; serta angiogenesis (Madej dkk., 2022).

2.2.3. Antiinflamasi

Patel dkk (2018) melakukan penelitian antiinflamasi beberapa senyawa yang memiliki rasa pahit salah satunya yaitu naringenin. Aktivitas antiinflamasi dilakukan pada splenosid tikus dengan atau tanpa induksi lipopolisakarida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa naringenin memiliki aktivitas antiinflamasi paling kuat dibandingkan senyawa lainnya (Patel dkk., 2018)

2.3 *Molecularly Imprinted Polymers (MIP)*

Molecularly Imprinted Polymers (MIP) merupakan polimer sintesis dengan prinsip seperti “*key and lock*” pada sistem antigen dan antibodi. Oleh karena itu, MIP dapat mengenali molekul target secara spesifik karena polimer memiliki rongga dengan bentuk, struktur, ukuran serta sifat kimia fisika yang sama dengan molekul *template* (Bakhtiar dkk., 2019 dan BelBruno, 2018). Sifat pengenalan tersebut memungkinkan MIP dapat digunakan dalam metode pemisahan suatu senyawa (Bow dkk., 2021). MIP banyak dipilih dalam metode pemisahan karena memiliki selektivitas yang tinggi, mampu menangkap analit dengan jumlah besar, dapat memisahkan analit dari berbagai matriks sampel, sederhana, dan murah (Bakhtiar dkk., 2019).

Secara umum sintesis MIP diawali dengan melarutkan molekul *template*, monomer fungsional, *cross-linker*, dan inisiator ke dalam porogen. Pada tahap pra-polimerisasi, monomer fungsional akan berikatan dan mengelilingi *template* sehingga membentuk kompleks. Selanjutnya, pada tahap polimerisasi, kompleks akan dipadatkan oleh *cross-linker*. MIP hasil sintesis kemudian dicuci menggunakan pelarut yang sesuai untuk menghilangkan *template* sehingga menghasilkan matriks polimer dengan rongga yang ukuran dan bentuknya sesuai dengan molekul *template* (Wloch dan Datta, 2019). Sintesis *molecularly imprinted polymers (MIP)* disertai dengan sintesis kontrol yang disebut *nonimprinted polymers (NIP)*. Yang menjadi perbedaan antara MIP dan NIP yaitu pada saat sintesis NIP tidak terdapat penambahan *template* dengan tujuan untuk membandingkan spesifik atau tidaknya cetakan yang dihasilkan dari sintesis MIP (Ndunda, 2020).

Metode yang paling banyak digunakan dalam sintesis MIP adalah polimerisasi seperti polimerisasi ruah, polimerisasi presipitasi, polimerisasi emulsi dan *surface imprinting*.

2.3.1 Polimerisasi ruah

Tahapan sintesis MIP dengan metode polimerisasi ruah yaitu polimerisasi radikal bebas yang disertai penggerusan dan pengayakan. Pada prinsipnya sama seperti sintesis MIP pada umumnya yaitu dengan mencampurkan *template*,

monomer fungsional, *cross-linker*, inisiator dan porogen. Polimer yang telah terbentuk kemudian digerus dan diayak untuk mendapatkan ukuran yang seragam (Yang dan Shen, 2022).

2.3.2 Polimerisasi presipitasi

Polimerisasi presipitasi melibatkan monomer fungsional, *cross-linker* dan inisiator. Proses polimerisasi yang terjadi pada metode ini sama dengan polimerisasi pada umumnya. Namun, metode ini menggunakan porogen yang lebih banyak sehingga polimer yang terbentuk tidak akan larut dalam campuran melainkan akan menghasilkan endapan (Yang dan Shen, 2022).

2.3.3 Polimerisasi emulsi

Prinsip utama polimerisasi emulsi adalah monomer terdispersi dalam fase organik dan fase air dengan adanya surfaktan (Yang dan Shen, 2022)

2.3.4 *Surface imprinting*

Surface imprinting mengacu pada reaksi polimerisasi yang terjadi pada permukaan matriks fase padat. Selama polimerisasi, situs pengenalan didistribusikan pada lapisan luar atau permukaan substrat padat (Dong dkk., 2021).

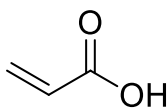
2.4 **Komponen *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP)**

2.4.1 Molekul *template*

Secara umum, molekul *template* harus memenuhi tiga persyaratan yaitu mengandung gugus fungsi yang dapat membentuk kompleks dengan monomer fungsional, tidak mencegah polimerisasi, dan stabil selama reaksi polimerisasi (Chen dkk., 2016). Molekul *template* yang digunakan pada penelitian ini adalah naringenin dengan struktur kimia seperti gambar 2.2. Naringenin memiliki bentuk padat dengan berat molekul sebesar 272,25 g/mol, titik leleh 251°C; dan logP 2,52. Naringenin larut dalam pelarut organik seperti etanol, metanol, asetonitril, eter, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamid (Cai dkk., 2023).

2.4.2 Monomer fungsional

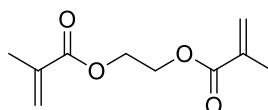
Monomer fungsional yang tepat adalah monomer fungsional yang dapat berinteraksi dengan molekul *template* untuk membentuk suatu kompleks. Dalam sintesis MIP, monomer fungsional yang digunakan akan menentukan struktur dan jumlah dari situs pengenalan MIP (Wloch dan Datta, 2019). Salah satu monomer fungsional yang dapat digunakan dalam sintesis MIP adalah asam akrilat. Asam akrilat ($C_3H_4O_2$) merupakan cairan tidak berwarna dengan bau tajam yang khas. Asam akrilat memiliki berat molekul sebesar 72,06 gram/mol; titik didih 286 °F; dan pH 3. Asam akrilat dapat larut dalam eter, benzena, etanol, kloroform, air, metanol, etilen glikol, dan asam asetat (NCBI, 2024).



Gambar 2.3 Struktur kimia asam akrilat

2.4.3 *Cross linker*

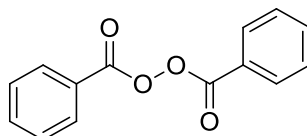
Dalam proses polimerisasi MIP, *cross-linker* berfungsi dalam mengendalikan morfologi atau bentuk jaringan polimer, menstabilkan tempat pengikatan atau rongga, dan memberikan stabilitas pada polimer. Jumlah dan jenis *cross-linker* yang dipilih dalam sintesis MIP dapat berpengaruh terhadap selektivitas dan kapasitas pengikatan MIP (Sajini dan Mathew, 2020). Salah satu *cross-linker* yang dapat digunakan adalah *ethylene glycol dimethacrylate* (EGDMA). EGDMA ($C_{10}H_{14}O_4$) memiliki berat molekul 198,22 gram/mol dengan massa jenis 1,051 g/mL. EGDMA sering digunakan karena mudah dipolimerisasi, mampu menghasilkan polimer yang stabil dan memiliki porositas yang baik (Amin dkk., 2018)



Gambar 2.4 Struktur kimia *ethylene glycol dimethacrylate*

2.4.4 Inisiator

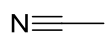
Inisiator merupakan senyawa yang memicu inisiasi rantai polimer dan mempercepat polimerisasi (Pratama dkk., 2020). *Benzoyl peroxide* (BPO) merupakan salah satu inisiator yang dapat digunakan dalam sintesis MIP. Benzoil peroksida dipilih karena memiliki harga yang murah dan mudah ditemukan. Selain itu, benzoil peroksida memiliki sifat yang reaktif dan stabil ketika bereaksi dengan monomer fungsional (Bow dkk., 2021).



Gambar 2.5 Struktur kimia benzoil peroksida

2.4.5 Porogen

Porogen yang dipilih dalam sintesis MIP didasarkan atas beberapa pertimbangan yaitu polaritas rendah; kelarutan dengan komponen lain; dan dapat menghasilkan MIP dengan pori-pori besar (Sajini dan Mathew, 2021). Dalam penelitian kali ini, asetonitril dan kloroform bertindak sebagai porogen. kloroform dan asetonitril dipilih sebagai pelarut karena kloroform dapat melarutkan benzoil peroksida, sedangkan asetonitril dapat melarutkan naringenin. Selain itu, kloroform dapat meningkatkan pembentukan ikatan hidrogen antara naringenin dengan asam akrilat melalui interaksi non-kovalen (Hasanah dkk., 2015).



Gambar 2.6 Struktur kimia asetonitril

2.5 Karakterisasi *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP)

2.5.1. *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Fourier transform infrared (FT-IR) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa, gugus fungsi, dan komposisi kimia pada suatu sampel tanpa merusak sampel. Unsur-unsur yang terbentuk pada MIP dan NIP akan terlihat melalui spektrum yang dihasilkan (Sari dkk., 2022)

2.5.2. *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Scanning electron microscope (SEM) merupakan jenis mikroskop yang dapat digunakan mengamati permukaan sampel dengan perbesaran yang sangat tinggi (Anwer dkk., 2018). Selain itu, SEM dapat menghasilkan gambar yang sangat presisi dari berbagai macam material (Mohammed dan Abdullah., 2018).

2.6 Penilaian Kinerja *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP)

2.6.1 *Batch Rebinding Assay* (BRA)

Batch Rebinding Assay dilakukan untuk mengetahui kemampuan atau kapasitas MIP dalam berikatan dengan molekul target. *Batch Rebinding Assay* dilakukan dengan membandingkan kemampuan pengikatan MIP dan NIP (Gorbani dkk., 2017).

2.6.2 Selektivitas

Selektivitas menunjukkan kemampuan MIP untuk menangkap analit secara cermat walaupun terdapat komponen lain dalam matriks sampel. Uji selektivitas dilakukan menggunakan senyawa yang memiliki struktur mirip dengan *template* (Barbani dkk., 2017).

2.6.3 *%recovery*

%recovery atau perolehan kembali merupakan parameter yang digunakan untuk menilai kemampuan MIP untuk melepaskan kembali analit yang ditangkap. *%recovery* dinilai berdasarkan analit yang dilepaskan dibandingkan dengan analit yang ditangkap. Hasil yang diharapkan adalah jumlah molekul target yang dilepaskan sama dengan molekul target yang ditarik (Maghfiroh dkk., 2022).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental laboratorium* (eksperimen laboratorium) untuk memperoleh MIP naringenin yang dapat memisahkan naringenin dari ekstrak daging buah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*).

3.2 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah

3.2.1 Daging buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeruk Nambangan (*Citrus maxima*).

3.2.2 Ekstrak etanol daging buah jeruk Nambangan merupakan ekstrak yang dibuat dengan metode refluks menggunakan perbandingan daging buah dan pelarut (1:2).

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu komposisi formula sintesis MIP naringenin.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu rendemen MIP naringenin; hasil karakterisasi MIP naringenin, dan hasil penilaian kinerja MIP naringenin.

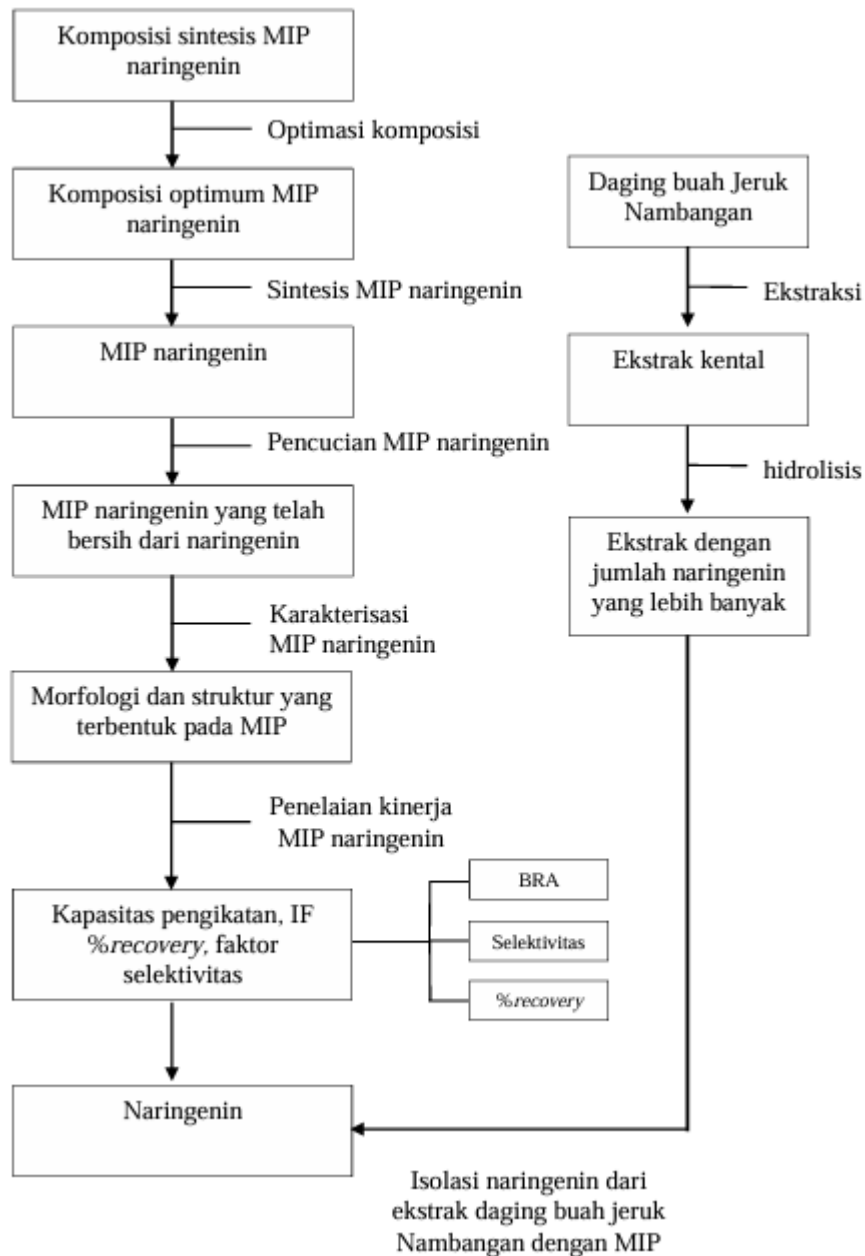
3.3.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu prosedur kerja sintesis MIP naringenin; optimasi kondisi pengujian *batch rebinding assay* (BRA); karakterisasi MIP naringenin; penilaian kinerja MIP naringenin; ekstraksi dan hidrolisis daging buah jeruk Nambangan; serta isolasi naringenin dari ekstrak daging buah jeruk Nambangan menggunakan MIP naringenin.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis, Laboratorium Farmasetika, serta Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2024-April 2025.

3.5 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah blender, alat-alat gelas laboratorium (IWAKI), penyaring *buchner*, timbangan analitik (Sartorius), *hotplate* dan *magnetic stirrer* (Thermo Scientific), termometer, vial, *ball filler*, *syringe filter nylon*, spuit, mikropipet 100-1000 μL , ayakan, oven (Memmert), lemari asam, lemari pendingin, refluks serta rotavapor. Sedangkan instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah instrument SEM (FEI Insoect-S50), *high performance liquid chromatography* (Shimadzu L201344) dan spektrofotometer FT-IR.

3.6.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar naringenin, hesperidin, rutin, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), asam akrilat, metanol pro analisis, etanol 70%, benzoil peroksida, kloroform, asetonitril, asam asetat glasial, *water for injection*, metanol, akuades, asam sulfat, kertas saring, kertas perkamen, gas nitrogen, aluminium foil dan jeruk Nambangan yang diperoleh dari Madiun.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1. Optimasi Komposisi MIP

Optimasi komposisi MIP dilakukan untuk mendapatkan komposisi optimum MIP yang terdiri atas naringenin sebagai *template*, asam akrilat sebagai monomer fungsional, EGDMA sebagai *cross-linker*, benzoil peroksida sebagai inisiator, serta asetonitril dan kloroform sebagai porogen.

3.7.2. Sintesis MIP

Naringenin, asam akrilat, EDGMA dilarutkan dalam asetonitril (larutan a) kemudian benzoil peroksida dilarutkan dalam kloroform (larutan b). Larutan a dan b dicampur dan *dipurging* dengan nitrogen selama 10 menit. MIP disintesis pada suhu 60°C selama ± 2 jam dibantu pengadukan dengan *magnetic stirrer* kecepatan 200 rpm. MIP yang telah terbentuk dikeringkan dengan oven suhu 60°C kemudian digerus dan diayak menggunakan ayakan (Chen dkk., 2024). *Template* pada MIP

dihilangkan dengan pencucian menggunakan larutan metanol:asam asetat (9:1) dan metanol kemudian diinkubasi selama 30 menit. Campuran disaring menggunakan penyaring buchner kemudian larutan pencuci dianalisis menggunakan HPLC. Pencucian dilakukan hingga tidak terdeteksi adanya naringenin pada MIP dan dilakukan untuk semua formula MIP yang terdapat pada lampiran 3.1. Sintesis *molecularly imprinted polymers* (MIP) disertai dengan sintesis kontrol yang disebut *nonimprinted polymers* (NIP) dengan prosedur dan formula yang sama dengan MIP tanpa penambahan molekul *template*.

3.7.3. Karakterisasi

a. *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Analisis FTIR *attenuated total reflectance* (ATR) dilakukan pada rentang *infrared* 3900-600 cm^{-1} . MIP dan NIP yang telah dihaluskan diletakkan dalam ATR *crystal* dan dipadatkan dengan *auto sampler presser*. Sampel disinari dengan sinar *infrared*, sinar *infrared* yang tidak diserap oleh sampel akan diteruskan kepada detektor untuk dianalisis (Chen dkk., 2024).

b. *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Analisis menggunakan SEM dilakukan untuk mengetahui morfologi dari MIP dan NIP. MIP dan NIP dianalisis dengan perbesaran hingga 30.000x. Proses ini dilakukan untuk semua formula MIP optimum baik sebelum maupun sesudah pencucian serta formula NIP yang sama dengan formula MIP optimum (Retnanintyas dkk., 2020).

3.7.4. Optimasi Kondisi Pengujian

a. Optimasi Waktu Inkubasi

50 mg MIP dan NIP ditimbang dan dimasukkan ke dalam vial. 10 mL larutan yang mengandung 50 mg/L naringenin dimasukkan ke vial. Campuran diinkubasi pada suhu ruang dengan variasi waktu inkubasi 15, 30, 45, 60, 75, dan 90 menit. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit (Chen dkk., 2024). Supernatan dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui

kapasitas pengikatan MIP dan NIP yang dapat dihitung dengan persamaan yang terdapat pada lampiran 3.2 (Retnaningtyas dkk., 2020)

b. Optimasi suhu

50 mg MIP ditimbang dan dimasukkan dalam vial. 10 mL larutan yang mengandung 50 mg/L naringenin dimasukkan ke vial. Campuran diinkubasi pada waktu inkubasi optimum dengan variasi suhu inkubasi 40°C, 50°C, dan 60°C. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit (Chen dkk., 2024). Supernatan dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kapasitas pengikatan MIP yang dapat dihitung dengan persamaan yang terdapat pada lampiran 3.2 (Retnaningtyas dkk., 2020)

c. Optimasi pH

50 mg MIP ditimbang dan dimasukkan dalam vial. 10 mL larutan yang mengandung 50 mg/L naringenin dimasukkan ke vial. Campuran diinkubasi selama waktu inkubasi optimum, suhu inkubasi optimum dengan variasi pH inkubasi 5, 7, dan 8. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit (Chen dkk., 2024). Supernatan dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kapasitas pengikatan MIP yang dapat dihitung dengan persamaan yang terdapat pada lampiran 3.2 (Retnaningtyas dkk., 2020)

d. Optimasi konsentrasi inkubasi

50 mg MIP ditimbang dan dimasukkan dalam vial. 10 mL larutan yang mengandung naringenin dimasukkan ke vial. Campuran diinkubasi selama waktu inkubasi optimum, suhu inkubasi optimum dan pH inkubasi optimum dengan variasi konsentrasi inkubasi 40, 45, 50, 55, dan 60 mg/L. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit (Chen dkk., 2024). Supernatan dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kapasitas pengikatan MIP yang dapat dihitung dengan persamaan yang terdapat pada lampiran 3.2 (Retnaningtyas dkk., 2020)

3.7.5. Penilaian Kinerja MIP

a. *Batch Rebinding Assay (BRA)*

50 mg MIP dan NIP ditimbang dan dimasukkan ke dalam vial. 10 ml larutan naringenin dengan konsentrasi inkubasi optimum dimasukkan ke dalam vial. Campuran diinkubasi dalam interval waktu 10, 20, 30, 40, dan 50 menit dengan suhu inkubasi dan pH inkubasi optimum. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan dianalisis dengan HPLC untuk mengetahui kapasitas pengikatan MIP dan NIP yang dapat dihitung dengan persamaan yang terdapat pada lampiran 3.2 (Retnaningtyas dkk., 2020). Pengujian ini dilakukan pada semua formula MIP dan satu formula NIP.

b. Selektivitas MIP terhadap naringenin

Selektivitas MIP dilakukan dengan menggunakan senyawa yang memiliki struktur mirip dengan naringenin yaitu rutin dan hesperidin. Sebanyak 50 mg MIP ditimbang dimasukkan ke dalam vial. 10 ml larutan naringenin, rutin dan hesperidin dengan konsentrasi inkubasi optimum dimasukkan ke dalam vial. Campuran diinkubasi selama waktu inkubasi, suhu inkubasi, dan pH inkubasi optimum. Campuran yang telah diinkubasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan dianalisis dengan HPLC untuk dianalisis kapasitas pengikatan MIP terhadap naringenin dan faktor selektivitas dengan persamaan pada lampiran 3.2 dan lampiran 3.3 (Retnaningtyas dkk., 2020).

c. *%recovery*

50 mg MIP dimasukkan ke dalam vial kemudian ditambahkan 10 ml larutan naringenin dengan konsentrasi inkubasi optimum. Campuran diinkubasi pada suhu inkubasi optimum, pH inkubasi optimum selama waktu inkubasi optimum. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit kemudian supernatan dianalisis dengan HPLC. Endapan MIP ditampung dan dicuci sebanyak dua kali menggunakan larutan pencuci metanol sebanyak 5 ml selama 45 menit. Setelah itu, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit.

Larutan pencuci dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kadar naringenin yang dilepaskan (Chen dkk., 2024).

3.7.6. Ekstraksi Naringenin Dari Daging Buah Jeruk Nambangan

100 gram daging buah jeruk Nambangan dihaluskan dan ditambahkan dengan 200 mL etanol 70% (1:2). Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks pada suhu 85°C selama ± 2 jam kemudian disaring dengan penyaring buchner dan dirotavapor pada suhu 50°C dengan kecepatan 100 rpm (Stabrauskiene dkk., 2022). Ekstrak cair dipekatkan kembali dengan oven suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan hidrolisis dengan melarutkan 3 gram ekstrak dengan metanol hingga ad 10 ml (3:1). Larutan kemudian dihidrolisis menggunakan asam sulfat dengan bantuan pemanasan pada suhu 60°C selama 2 jam (Zhang dkk., 2020).

3.7.7. Isolasi Naringenin dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan

50 mg MIP dimasukkan ke dalam *cartridge* kemudian ditambahkan dengan akuades hingga 10 ml untuk membasahi permukaan MIP dan air dialirkan keluar. 10 ml larutan ekstrak ditambahkan ke dalam MIP dan diinkubasi selama waktu inkubasi optimum kemudian larutan ekstrak dialirkan keluar dan ditampung (Retnaningtyas dkk., 2020). Setelah itu, dilakukan pencucian MIP sebanyak dua kali dengan menambahkan metanol sebanyak 5 ml. Larutan pencuci dialirkan keluar dan ditampung kemudian dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kadar naringenin yang dapat dihitung menggunakan persamaan pada lampiran 3.4 (Chen dkk., 2024).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Optimasi Komposisi MIP Naringenin

MIP dalam penelitian ini dibuat dalam beberapa formula. Hasil rendemen MIP naringenin pada formula yang berbeda ditampilkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rendemen MIP naringenin pada formula yang berbeda

	I	II	III	IV
Naringenin				
(mmol)	0,12	0,12	0,12	0,12
(mg)	36,72	36,72	36,72	36,72
Asam akrilat				
(mmol)	0,48	0,72	0,48	0,72
(mg)	34,59	51,88	34,59	51,88
EGDMA				
(mmol)	10	10	12	12
(mg)	1982,20	1982,20	2378,6	2378,6
Benzoil peroksida				
(%)	3,5	3,5	3,5	3,5
(mg)	2387,64	2387,64	2387,64	2387,64
Porogen (mL)	10	10	10	10
Jumlah rendemen (g)	14,57	13,59	17,64	17,78

Keberhasilan sintesis MIP dipengaruhi oleh jenis, sifat dan jumlah dari *template*, *cross-linker*, monomer fungsional, inisiator, serta porogen yang digunakan. Oleh karena itu, penting untuk menentukan jenis dan rasio komponen MIP yang tepat terutama *template*, monomer fungsional dan *cross-linker* (Pratama dkk., 2020). Menurut Chen dkk (2016) molekul *template* yang digunakan harus mengandung gugus fungsional yang dapat membentuk kompleks dengan monomer fungsional. Selain itu, *template* yang pilih harus stabil selama polimerisasi dan ketika digunakan tidak mencegah berlangsungnya polimerisasi. Pada struktur naringenin terdapat gugus hidroksil yang dapat menjadi gugus fungsional dari naringenin. Gugus hidroksil naringenin dapat berikatan dengan monomer fungsional untuk membentuk kompleks. Selain itu, naringenin juga stabil selama proses sintesis karena memiliki titik leleh 251°C (Cai dkk., 2023).

Monomer fungsional merupakan salah satu komponen MIP yang akan mempengaruhi keberhasilan sintesis MIP. Oleh karena itu, pemilihan monomer fungsional yang tepat penting agar ikatan antara *template* dan monomer fungsional dapat terbentuk serta menghasilkan kompleks yang stabil (Agar dkk., 2025). Suatu senyawa dapat digunakan sebagai monomer fungsional apabila pada strukturnya

memiliki gugus fungsional. Asam akrilat memiliki gugus karboksil yang dapat membentuk kompleks dengan gugus hidroksil pada molekul *template* melalui ikatan hidrogen melalui interaksi non-kovalen (Hasanah dkk., 2021). Asam akrilat dipilih sebagai monomer fungsional karena asam akrilat dapat berikatan kuat dengan *template* sehingga menarik molekul target secara efektif (Babaeipour dan Jabbari 2024).

Penambahan *cross-linker* dalam sintesis MIP dapat mempengaruhi morfologi dari MIP dan jumlah situs pengenalan yang dihasilkan. *Cross-linker* dapat membuat polimer menjadi kaku karena *cross-linker* akan membentuk matriks disekitar monomer fungsional dan *template* sehingga ketika molekul *template* dihilangkan, polimer tetap terhubung satu sama lain (Saloni dkk., 2011 dan Hasanah dkk., 2021). EGDMA merupakan *cross-linker* yang paling umum digunakan karena murah, mudah didapatkan dan memiliki efektivitas yang baik karena dapat membentuk jaringan polimer yang kaku, stabil, serta tidak mengganggu ikatan hidrogen antara asam akrilat dan *template* (Yang dkk., 2020 dan Agar dkk., 2025).

Benzoil peroksida merupakan salah satu inisiator yang dapat digunakan dalam sintesis MIP. Benzoil peroksida dipilih karena memiliki harga yang murah dan mudah ditemukan. Selain itu, benzoil peroksida memiliki sifat yang reaktif dan stabil ketika bereaksi dengan monomer fungsional (Bow dkk., 2021). Selanjutnya, untuk menyatukan semua komponen MIP maka diperlukan pelarut atau porogen. Pada penelitian kali ini, kloroform dan asetonitril dipilih sebagai pelarut karena kloroform dapat melarutkan benzoil peroksida, sedangkan asetonitril dapat melarutkan naringenin. Selain itu, pemilihan kloroform sebagai porogen karena dapat meningkatkan pembentukan ikatan hidrogen antara naringenin dengan asam akrilat melalui interaksi non-kovalen (Hasanah dkk., 2015).

4.2 Sintesis MIP Naringenin

Pada prosesnya, tahapan sintesis MIP naringenin terdiri atas tiga tahapan utama yaitu pra-polimerisasi, polimerisasi, dan penghilangan *template*. Tahap pra-polimerisasi dilakukan dengan melarutkan naringenin, asam akrilat, dan EGDMA

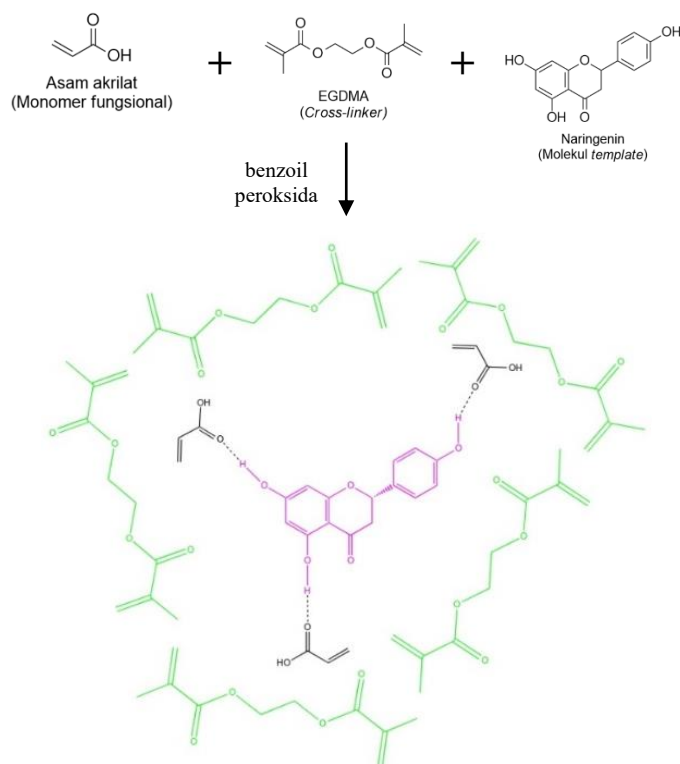
dengan asetonitril (larutan a). Selanjutnya, benzoil peroksida dilarutkan dengan kloroform (larutan b) dan dicampurkan dengan larutan a hingga homogen. Pada tahap pra-polimerisasi, naringenin dan asam akrilat akan berinteraksi secara non-kovalen melalui ikatan hidrogen. Interaksi non-kovalen ini akan menghasilkan MIP dengan interaksi pengikatan yang cepat, mudah, dan dapat melepaskan *template* dengan mudah (Hasanah dkk., 2021). Interaksi yang terjadi pada sintesis kali ini terdapat pada gugus -COOH dari asam akrilat dengan gugus -OH dari naringenin (Shafqat dkk., 2023). Tahap selanjutnya yaitu menghilangkan oksigen dari campuran dengan cara mengalirkan gas nitrogen selama 10 menit agar polimerisasi dapat berjalan dengan baik (Figueiredo dkk., 2016).

Tahap polimerisasi terjadi ketika campuran dipanaskan di atas penangas air pada suhu 60°C. Pada tahap polimerisasi, asam akrilat (monomer fungsional) dan EGDMA (*cross-linker*) akan membentuk matriks polimer dengan bantuan inisiator. Dengan penambahan EGDMA sebagai *cross-linker* diharapkan dapat menghasilkan polimer yang kaku dan stabil ketika *template* dihilangkan maupun saat digunakan kembali (Agar dkk., 2025). Tahap polimerisasi juga dibantu oleh benzoil peroksida (inisiator) yang dapat mengubah asam akrilat menjadi molekul radikal sehingga terjadi propagasi (perpanjangan rantai) dan terminasi (berhentinya polimerisasi). Polimerisasi dikatakan berhenti apabila terbentuk suatu padatan dengan warna putih tulang (Chrisnandari, 2018). Pada penelitian kali ini, MIP dapat terbentuk selama ± 1 jam. Gambaran sintesis MIP naringenin terdapat pada gambar 4.1.

Tahap terakhir yaitu pencucian MIP untuk menghilangkan *template* dari MIP sehingga terbentuk rongga pada MIP yang mampu mengenali analit target secara spesifik (Agar dkk., 2025). Molekul *template* dihilangkan dengan cara mencuci polimer dengan campuran larutan metanol:asam asetat (9:1) kemudian larutan pencuci dianalisis menggunakan HPLC. Pencucian dilakukan beberapa kali hingga tidak terdapat naringenin yang terdeteksi pada HPLC. Metanol dipilih sebagai larutan pencuci karena memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan *template* sehingga proses pencucian dapat berlangsung secara efisien (Sanagi dkk., 2013). Penambahan asam asetat bertujuan untuk

membantu pelepasan *template* menjadi lebih cepat karena asam asetat dapat membantu memutus ikatan antara *template* dengan monomer fungsional (Listiadi dan Sianita, 2021). Pada penelitian kali ini, dilakukan optimasi larutan pencuci yaitu menggunakan metanol dan campuran metanol:asam asetat (9:1). Hasil menunjukkan bahwa metanol:asam asetat (9:1) kurang efektif untuk menghilangkan *template* dari MIP karena kondisi asam dapat menurunkan kelarutan naringenin sehingga dapat menghambat pelepasan naringenin dari polimer (Chen dkk., 2021). Polimer yang telah bersih dari naringenin dikeringkan kembali pada suhu 60°C kemudian digerus dan diayak (Lampiran 4.2).

Berdasarkan prinsip kerja yang telah dilakukan, metode sintesis yang digunakan adalah metode polimerisasi ruah. Tahapan sintesis MIP dengan metode polimerisasi ruah yaitu polimerisasi yang disertai dengan penggerusan dan pengayakan (Yang dan Shen, 2022). Polimerisasi ruah merupakan polimerisasi yang paling umum digunakan karena sederhana, cepat, dan dapat menghasilkan MIP dengan kemurnian yang tinggi (Sajini dan Mathew, 2021).

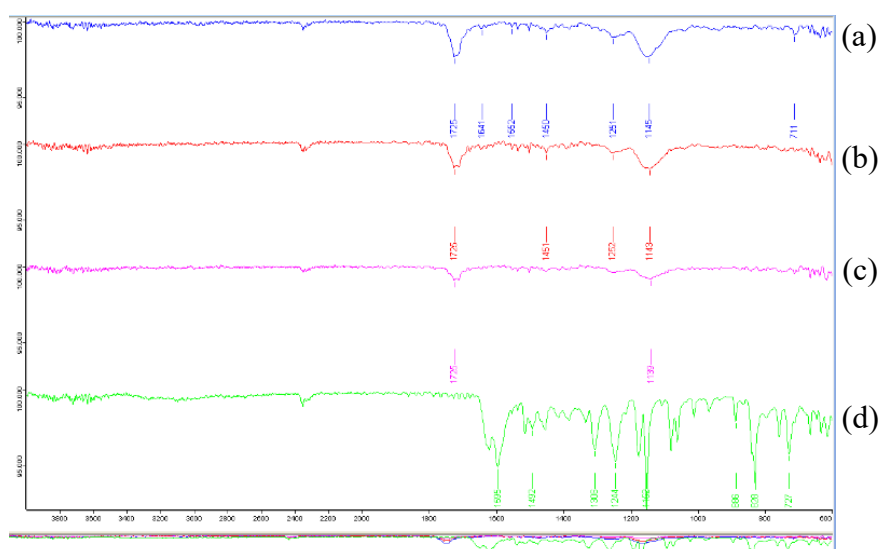


Gambar 4.1 Skema ilustrasi sintesis MIP naringenin secara komputasi dengan ChemBioDraw Ultra 12.0

4.3 Pembahasan Terkait Karakterisasi MIP Dengan FTIR dan SEM

4.3.1 *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Fourier transform infrared (FT-IR) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa, gugus fungsi, komposisi kimia pada suatu sampel tanpa merusak sampel (Sari dkk., 2022). FT-IR sering dipilih karena cepat, selektif, tidak membutuhkan pelarut, dan bersifat non-destruktif. Pada penelitian kali ini, FT-IR yang digunakan adalah FT-IR *attenuated total reflectance* (ATR). Metode ini tidak memerlukan preparasi sampel terlebih dahulu sehingga sampel tetap utuh dan dapat digunakan kembali untuk analisis lanjutan (Zapata dkk., 2021). Pada penelitian kali ini, dilakukan analisis MIP, NIP, dan naringenin menggunakan FTIR dan didapatkan hasil pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil FTIR NIP (a), MIP sebelum pencucian (b), MIP setelah pencucian (c), dan naringenin (d)

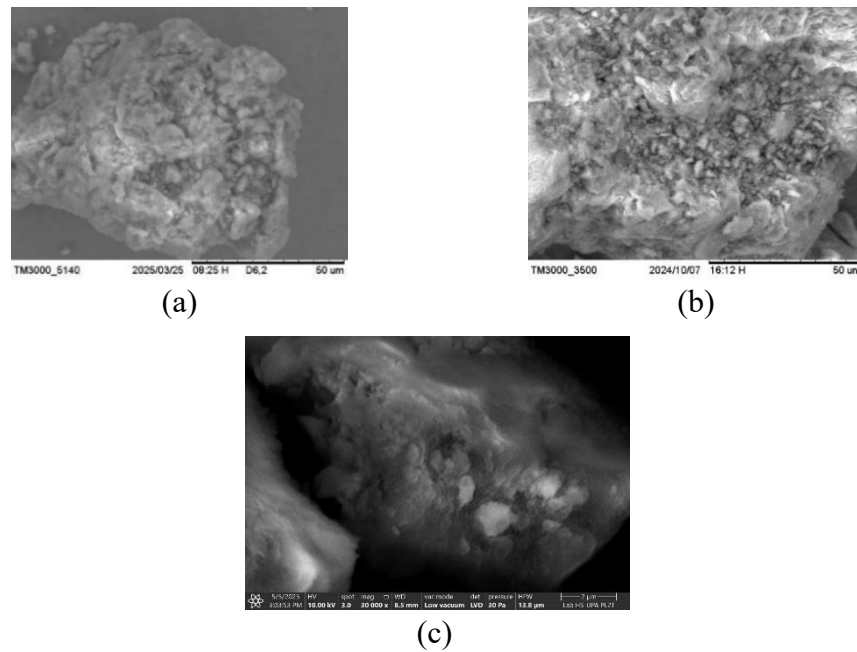
Tabel 4. 2 Data analisis FTIR MIP sebelum pencucian, MIP setelah pencucian, NIP, dan naringenin

	Gugus fungsi	Bilangan gelombang
MIP sebelum pencucian	C=O karboksilat	1725-1700
	C=C aromatis	1600 dan 1475
	C-O	1300-1000
	C-H aromatis	900-690
MIP setelah pencucian	C=O karboksilat	1725-1700
	C-O	1300-1000
NIP	C=O karboksilat	1725-1700
Naringenin	C=C aromatis	1600 dan 1475
	C-O	1300-1000
	C-H aromatis	900-690

Hasil analisis dengan FTIR pada gambar 4.2 menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 2350 cm^{-1} . Serapan tersebut muncul pada semua spektra yang menandakan adanya gugus CO_2 yang merupakan *noise* dalam spektra yang dihasilkan. Berdasarkan tabel 4.2 pada ketiga polimer menunjukkan adanya kemiripan spektra pada bilangan gelombang $1725\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus $\text{C}=\text{O}$ karboksilat dari gugus karboksilat pada asam akrilat. (Pavia dkk., 2009). Sedangkan, perbedaan ketiga polimer terdapat pada bilangan gelombang $1620\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$; $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$; dan $900\text{-}690\text{ cm}^{-1}$. Pada NIP tidak menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang tersebut yang menandakan tidak adanya naringenin pada polimer NIP. Kemudian pada MIP sebelum pencucian menunjukkan adanya serapan pada ketiga panjang gelombang tersebut. Hasil ini menunjukkan adanya ikatan antara naringenin dengan matriks polimer yang ditandai dengan adanya gugus $\text{C}=\text{C}$ aromatis, C-H aromatis, dan C-O dari naringenin. Serapan tersebut juga muncul pada MIP setelah pencucian yang dengan intensitas yang lebih kecil daripada MIP sebelum pencucian yang menandakan telah terlepasnya naringenin pada MIP setelah pencucian (Pavia dkk., 2009).

4.3.2 Scanning Electron Microscope (SEM)

Analisis MIP dengan SEM bertujuan untuk mengamati morfologi bentuk dan ukuran dari polimer yang telah terbentuk (Shafqat dkk., 2023). Morfologi NIP dan MIP naringenin terdapat pada gambar 4.3. Pada NIP memperlihatkan morfologi permukaan yang tidak beraturan dan memiliki rongga dengan ukuran yang tidak seragam. Selanjutnya, MIP sebelum pencucian menunjukkan morfologi permukaan yang tidak beraturan dan tidak memiliki rongga karena masih terdapat naringenin (Vasconcelos dkk., 2023). Sedangkan, pada MIP setelah pencucian menunjukkan adanya rongga yang lebih besar yang mudah diakses dibandingkan dengan NIP. MIP setelah pencucian memiliki bentuk partikel dan rongga yang tidak bulat atau *non-spherical* dan tidak seragam. Hal tersebut disebabkan karena metode yang digunakan dalam sintesis kali ini adalah polimerisasi ruah (Amri dkk., 2024).

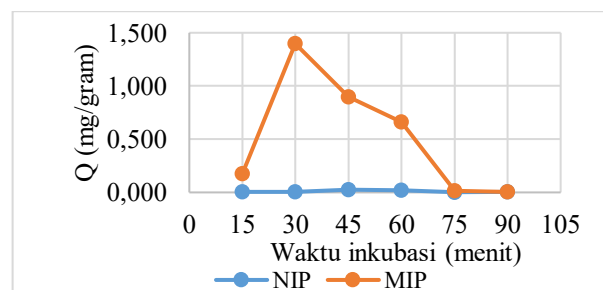


Gambar 4.3 Hasil SEM NIP (a), MIP sebelum pencucian (b), dan MIP setelah pencucian (c)

4.4 Optimasi Kondisi Pengujian *Batch Rebinding Assay* (BRA)

4.4.1 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi bertujuan untuk menentukan berapa lama waktu yang dibutuhkan MIP dalam mengikat analit secara optimum (Fauziah dkk., 2023). Waktu inkubasi optimum dipilih berdasarkan nilai kapasitas pengikatan (Q) MIP tertinggi. Pada penelitian kali ini, optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan 6 interval waktu yaitu 15, 30, 45, 60, 75, dan 90 menit. Pengaruh waktu inkubasi terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP ditunjukkan pada gambar 4.4.

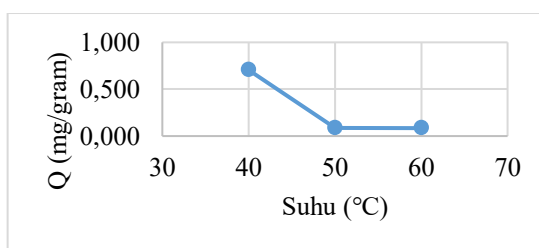


Gambar 4.4 Grafik hubungan waktu inkubasi terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP Hasil optimasi waktu inkubasi menunjukkan bahwa jumlah naringenin yang terikat akan meningkat seiring dengan bertambahnya waktu dengan kapasitas pengikatan

tertinggi dicapai pada menit ke-30 sebesar 1,39 mg/gram. Setelah mencapai titik maksimum, kapasitas pengikatan akan cenderung menurun karena MIP telah jenuh dan terjadi desorpsi naringenin (Fauziah dkk., 2023). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Fauziah dkk (2023), optimasi waktu inkubasi MIP di-(2-Ethylhexyl) phthalate (DEHP) menunjukkan hasil yang sama yaitu kapasitas pengikatan yang semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu dan akan menurun setelah mencapai titik maksimum. Optimasi waktu inkubasi juga dilakukan pada NIP sebagai kontrol dari MIP. Hasil optimasi waktu inkubasi pada NIP juga menunjukkan nilai kapasitas pengikatan (Q) yang lebih kecil dibandingkan dengan MIP serta tidak berbeda signifikan pada setiap interval waktu inkubasi. Kapasitas pengikatan NIP cenderung lebih konstan dan kecil karena NIP tidak memiliki situs pengenalan yang spesifik terhadap naringenin sehingga tidak dapat menarik naringenin dari suatu sampel (Shafqat dkk., 2023).

4.4.2 Optimasi Suhu Inkubasi

Optimasi suhu inkubasi dilakukan untuk menentukan suhu inkubasi terbaik yang diperlukan MIP untuk menarik analit secara optimum. Suhu optimum dipilih berdasarkan nilai kapasitas pengikatan (Q) MIP tertinggi. Pada penelitian kali ini, optimasi suhu inkubasi dilakukan pada 3 interval suhu yaitu 40, 50, dan 60°C yang dilakukan selama waktu inkubasi optimum. Pengaruh suhu terhadap kemampuan pengikatan (Q) MIP terdapat pada gambar 4.5.



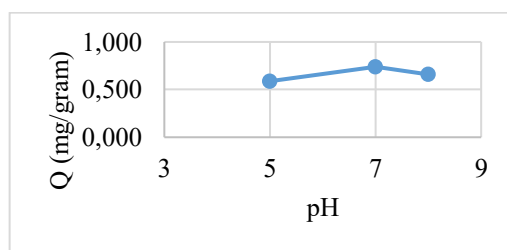
Gambar 4.5 Grafik hubungan suhu terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP

Berdasarkan hasil pada gambar 4.5 kapasitas pengikatan (Q) pada masing-masing suhu inkubasi sebesar 0,71; 0,08; dan 0,08 mg/g. Hasil ini menunjukkan bahwa suhu optimum untuk proses pengikatan adalah 40°C. Dalam penelitian Chen dkk (2024) pengujian kapasitas pengikatan MIP naringenin dilakukan dengan tiga

perbedaan suhu dengan hasil kapasitas pengikatan mencapai nilai tertinggi ketika berada di suhu rendah. Hal tersebut dapat terjadi karena suhu tinggi dapat meningkatkan mobilitas naringenin sehingga menghambat kemampuan MIP untuk menangkap molekul naringenin. Oleh karena itu, inkubasi dengan suhu rendah memiliki nilai kapasitas pengikatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan suhu tinggi (Chen dkk., 2024).

4.4.3 Optimasi pH Inkubasi

Optimasi pH inkubasi penting dilakukan untuk mengetahui sensitivitas MIP naringenin terhadap perubahan pH. Optimasi pH dilakukan pada kondisi asam hingga basa yaitu pH 5, 7, dan 8. Pengujian ini dilakukan selama waktu inkubasi optimum dan suhu inkubasi optimum. pH inkubasi optimum dipilih berdasarkan nilai kapasitas pengikatan (Q) MIP tertinggi. Pengaruh pH terhadap kemampuan pengikatan (Q) MIP dapat dilihat pada gambar 4.6.



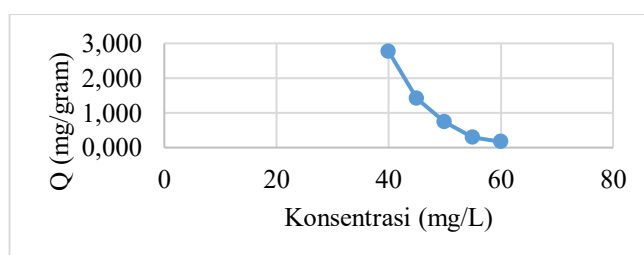
Gambar 4.6 Grafik pengaruh pH terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa pH 7 memiliki kapasitas pengikatan (Q) yang lebih besar dibandingkan dengan pH 5 dan 8. Hasil ini, menunjukkan bahwa pH 7 memberikan interaksi yang baik antara molekul target dengan situs pengenalan. pH asam memiliki konsentrasi H^+ yang tinggi sehingga menyebabkan adanya persaingan antara naringenin dan H^+ untuk masuk ke dalam situs pengenalan. Selain itu, tingginya konsentrasi H^+ dapat menurunkan ikatan hidrogen antara naringenin dan situs pengenalan. Sementara itu, pada pH 8 (basa) memiliki ion OH^- yang dapat berinteraksi dengan naringenin sehingga mempengaruhi kemampuan pengenalan situs terhadap analit (Shafqat dkk., 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Shafqat dkk (2023) menunjukkan bahwa pH optimum untuk inkubasi MIP metil merah adalah pH 7. Pada pH 7, memberikan hasil %recovery

yang paling besar diantara kondisi asam dan basa yaitu 99,51%. Hasil ini menandakan bahwa pada pH 7 tidak menyebabkan perubahan struktur baik pada metil merah maupun MIP sehingga kapasitas pengikatan menjadi maksimal dibandingkan dengan kondisi asam atau basa (Shafqat dkk., 2023).

4.4.4 Optimasi Konsentrasi Inkubasi

Konsentrasi analit yang dapat diikat oleh MIP ditentukan oleh jumlah situs pengikatan yang tersedia. Pengujian optimasi konsentrasi dilakukan untuk mengetahui kapasitas pengikatan MIP secara teoritis (Bakhtiar dkk., 2019). Pengaruh konsentrasi terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP dapat dilihat pada gambar 4.7.



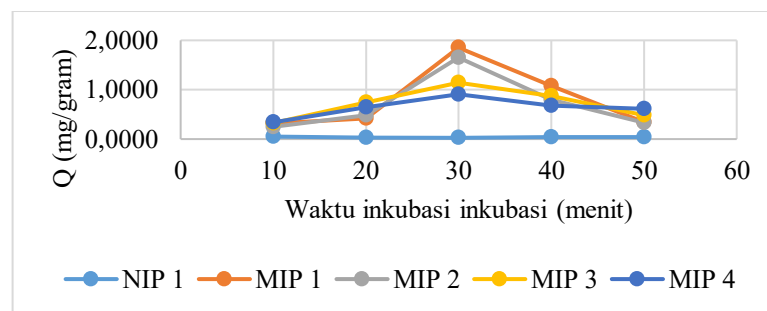
Gambar 4.7 Grafik pengaruh konsentrasi terhadap kapasitas pengikatan (Q) MIP Optimasi konsentrasi dilakukan pada 5 seri konsentrasi yaitu 40, 45, 50, 55, dan 60 mg/L. Dari beberapa konsentrasi tersebut, konsentrasi 40 mg/L memberikan nilai kapasitas pengikatan yang paling besar kemudian seiring dengan meningkatnya konsentrasi, nilai kapasitas pengikatan (Q) menjadi turun.

Pada konsentrasi yang rendah MIP menunjukkan kemampuan pengikatan dan selektivitas yang tinggi. Sebaliknya, semakin besar konsentrasi yang digunakan menyebabkan penumpukan molekul analit disekitar situs pengikatan karena keterbatasan situs pengikatan yang tersedia yang menyebabkan kemampuan pengikatan MIP menurun (Bakhtiar dkk., 2019). Shafqat dkk (2023) melakukan optimasi konsentrasi untuk MIP metil merah dengan rentang konsentrasi 10-30 $\mu\text{g/L}$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapasitas pengikatan akan mengalami peningkatan hingga mencapai tingkat konsentrasi metil merah optimum kemudian mengalami penurunan yang menandakan bahwa seluruh situs pengikatan yang tersedia pada polimer telah jenuh.

4.5 Penilaian Kinerja MIP Naringenin

4.5.1 Batch Rebinding Assay (BRA)

Batch rebinding assay (BRA) dilakukan untuk mengevaluasi efisiensi pengikatan MIP dan NIP terhadap naringenin (Roland dan Bhawani, 2016). Pengujian ini juga dapat digunakan untuk menentukan formula MIP yang paling selektif terhadap analit dari serangkaian sintesis dengan komposisi yang berbeda-beda (Shafqat dkk., 2023). *Batch rebinding assay* (BRA) dilakukan pada semua formula MIP dengan interval waktu inkubasi yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 menit pada suhu inkubasi 40°C serta pH inkubasi 7. Pengujian ini dilakukan juga pada NIP sebagai kontrol dari MIP. Dari pengujian BRA akan didapatkan hasil berupa kapasitas pengikatan (Q) MIP yang terdapat pada gambar 4.8



Gambar 4.8 Grafik hubungan waktu inkubasi terhadap nilai (Q) MIP

Berdasarkan grafik yang terdapat pada gambar 4.8 MIP 1 memiliki kapasitas pengikatan tertinggi sebesar 1,85 mg/g dengan nilai IF sebesar 92,50. Kapasitas pengikatan MIP menunjukkan banyaknya naringenin yang dapat ditangkap oleh MIP. Berdasarkan hasil tersebut, MIP 1 mampu menarik naringenin lebih banyak dibandingkan dengan formula 2, 3, dan 4. Kemudian, MIP 1 memiliki nilai IF >1,2 yang menandakan bahwa MIP memiliki kemampuan pengikatan yang lebih selektif dibandingkan NIP (Andriy dan Bottaro, 2014; Sullivan dkk.,2021).

Perbedaan kapasitas pengikatan setiap formula disebabkan oleh rasio komposisi komponen pembentuk MIP terutama rasio *template*, monomer fungsional dan *cross-linker*. Pemilihan rasio yang tepat antara ketiga komponen tersebut sangat penting karena berpengaruh terhadap sifat fisika dan kimia MIP. Sifat fisika dan kimia MIP inilah yang akan menentukan bagaimana kinerja MIP

dalam mengenali analit target dan memisahkan analit target pada suatu sampel. (Pratama dkk., 2020).

Pada penelitian kali ini, MIP 1 memiliki rasio monomer fungsional dan *cross-linker* yang lebih rendah dibandingkan formula 2, 3, dan 4. Formula MIP 1 memiliki perbandingan *template*:monomer fungsional: *cross-linker* sebesar 1:4:83,3 mmol. Pada umumnya jumlah monomer fungsional yang digunakan lebih banyak daripada *template* dengan rasio yang paling banyak digunakan adalah 4:1 (Wloch dan Datta, 2019). Jumlah monomer fungsional yang lebih tinggi diperlukan untuk menghasilkan MIP dengan kemampuan pengikatan yang lebih tinggi. Namun, apabila jumlah monomer fungsional terlalu banyak akan menyebabkan terbentuknya situs pengikatan yang tidak spesifik (Hasanah dkk., 2021). Demikian pula dengan jumlah *cross-linker*, jumlah *cross-linker* yang digunakan umumnya lebih banyak dibandingkan dengan monomer fungsional untuk menghasilkan pori yang ideal (Elugoke dkk., 2020). Semakin sedikit jumlah *cross-linker* yang digunakan maka akan menghasilkan MIP yang semakin tidak stabil. Namun, apabila jumlah *cross-linker* yang digunakan terlalu banyak maka dapat menurunkan kemampuan pengenalan spesifik dari MIP (Pratama dkk., 2020).

Pada penelitian kali ini, rasio molar monomer fungsional dan *cross-linker* yang digunakan pada formula optimum (formula 1) merupakan jumlah rasio molar yang terkecil jika dibandingkan dengan formula MIP 2, MIP 3, dan MIP 4. Shafqat dkk (2023) melakukan sintesis MIP metil merah dengan 3 variasi molar *template*:monomer fungsional:*cross-linker*. Dari ketiga formula tersebut, MIP metil merah formula 1 memberikan efisiensi pengikatan paling besar dibandingkan formula lainnya dimana pada formula ini rasio molar monomer fungsional dan *cross-linker* adalah rasio yang terkecil. Meskipun demikian, komposisi ini lebih kompatibel dibandingkan formula lain sehingga dapat menghasilkan lebih banyak situs pengikatan spesifik dibandingkan dengan formula lainnya.

4.5.2 Selektivitas

Selektivitas menunjukkan kemampuan MIP untuk menangkap analit secara spesifik walaupun terdapat komponen lain dalam matriks sampel. Uji selektivitas

dilakukan menggunakan senyawa yang memiliki struktur mirip dengan *template* (Barbani dkk., 2017). Selektivitas MIP naringenin dilakukan menggunakan senyawa flavonoid yang berada pada Jeruk Nambangan dan memiliki struktur mirip dengan naringenin yaitu rutin dan hesperidin. Kondisi pengujian atau inkubasi yang dilakukan sama seperti naringenin yaitu selama 30 menit pada suhu 40°C dengan konsentrasi 40 mg/L. Hasil selektivitas MIP naringenin terhadap senyawa hesperidin dan rutin terdapat pada tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil selektivitas MIP naringenin terhadap hesperidin dan rutin

Analit	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)	Faktor selektivitas (β)
Naringenin	2207005	6,424	1705607	6,163	40,30	31,04	9,26	1,85	-
Hesperidin	1401899	5,645	1399920	5,638	41,10	41,04	0,06	0,01	185
Rutin	1401443	4,193	1400986	5,012	40,50	40,40	0,10	0,02	92,50

Keterangan: Ci (konsentrasi teoritis standar), Cf (konsentrasi yang tidak terikat oleh MIP), Ci-Cf (konsentrasi yang terikat oleh MIP), Q (kapasitas pengikatan MIP), β (faktor selektivitas)

Berdasarkan hasil pada tabel 4.3 pengujian selektivitas dengan naringenin memiliki kapasitas pengikatan yang paling tinggi dibandingkan hesperidin dan rutin berturut-turut adalah 1,85; 0,01; dan 0,02 mg/g. Kemudian, kemampuan MIP dalam mengenali target juga dapat dilihat berdasarkan nilai faktor selektivitas (β) dengan membandingkan nilai kapasitas pengikatan (Q) naringenin dibanding kapasitas pengikatan (Q) hesperidin dan rutin (Lu dkk., 2013). MIP dikatakan selektif apabila memiliki nilai faktor selektivitas $>1,2$ (Sullivan dkk., 2021). Semakin tinggi nilai faktor selektivitas maka semakin selektif pula MIP dalam mengenali molekul target. Berdasarkan hasil yang terdapat pada tabel 4.3, MIP naringenin memiliki faktor selektivitas terhadap hesperidin dan rutin sebesar 185 dan 92,50. Hasil ini, menunjukkan bahwa MIP memiliki situs pengikatan yang spesifik terhadap naringenin sehingga dapat mengenali dan mengikat naringenin (Jahanbakhsh dkk., 2022).

Hesperidin memiliki struktur yang mirip dengan naringenin, tetapi hesperidin memiliki berat molekul yang lebih besar dibandingkan naringenin karena memiliki gugus glikosida. Selain itu, hesperidin hanya memiliki dua gugus

hidroksil. Begitu pula dengan rutin, meskipun rutin memiliki jumlah gugus hidroksil yang sama dengan naringenin tetapi pada rutin terdapat gugus glikosida sehingga memiliki berat molekul yang lebih besar dibandingkan naringenin. tiga gugus hidroksil. Selain itu, hasil ini juga menunjukkan bahwa MIP memiliki performa yang baik karena dapat membedakan naringenin, hesperidin, dan rutin meskipun ketiga senyawa tersebut memiliki struktur yang mirip (Shafqat dkk., 2023).

4.5.3 %recovery

%recovery atau perolehan kembali merupakan parameter yang digunakan untuk menilai kemampuan MIP untuk melepaskan kembali analit yang ditangkap (Maghfiroh dkk., 2022). %recovery dilakukan pada semua kondisi optimum dengan tiga kali replikasi. Hasil %recovery terdapat pada tabel 4.3.

Tabel 4.4 Hasil penentuan %recovery MIP

Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area konsentrasi terlepas	Waktu retensi (menit)	Ci (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Konsentrasi terlepas (mg/L)	%recovery
Replikasi 1									
2191878	6,318	1717970	6,124	469192	6,323	40,02	8,81	8,21	93,17
Replikasi 2									
2191878	6,318	1706272	6,027	465388	6,525	40,02	8,97	8,13	90,64
Replikasi 3									
2191878	6,318	1716437	5,921	462298	6,525	40,02	8,83	8,08	91,43
Rata-rata ± RSD								92,14 ± 1,53%	

%recovery didapatkan dari membandingkan analit yang terlepas kembali dibandingkan dengan analit yang terikat. Berdasarkan AOAC (2016) MIP memiliki kemampuan yang baik dalam melepaskan kembali analit target yang ditunjukkan ketika nilai rata-rata %recovery berada pada rentang 80-110% dan nilai CV \leq 6% (AOAC, 2016).

4.6 Ekstraksi Daging Buah Jeruk Nambangan

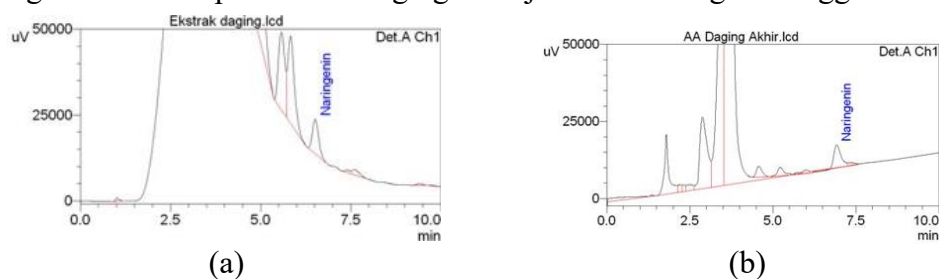
Naringenin merupakan bentuk aglikon dari naringin (*naringenin-7-rhamnoglucoside*) atau narirutin (*naringenin-7-glucoside*) yang dapat diperoleh melalui metode ekstraksi dan hidrolisis (Nandi dkk., 2021 dan Madej dkk., 2022). Stabrauskiene dkk (2022) melakukan ekstraksi naringenin menggunakan beberapa

metode dan pelarut, salah satunya metode refluks dengan pelarut etanol 70%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar naringenin tertinggi diperoleh menggunakan metode refluks dan pelarut etanol 70%. Pada penelitian kali ini, ekstrak daging buah jeruk Nambangan diperoleh menggunakan metode refluks dan pelarut etanol 70% dan didapatkan rendemen sebesar 31 gram (Stabrauskiene dkk., 2022).

Hidrolisis dilakukan untuk memisahkan gugus gula dari suatu senyawa organik sehingga didapatkan gugus non-gula atau yang biasa disebut sebagai aglikon (Nandi dkk., 2021). Dalam penelitian kali ini, digunakan metode hidrolisis asam dengan bantuan pemanasan. Hidrolisis asam dipilih karena metode tersebut sederhana, murah dan mudah dioperasikan dibandingkan metode lainnya (Zhang dkk., 2020). Hasil menunjukkan bahwa terjadi peningkatan yang awalnya kadar naringenin 0,06 mg/L menjadi 1,78 mg/L. Peningkatan tersebut dapat terjadi karena pada saat penambahan asam dan pemanasan terjadi pemutusan ikatan gugus rhamnoglukosida yang ada pada naringin yang menghasilkan produk akhir berupa naringenin, glukosa, dan rhamnosa (Zhang dkk., 2020).

4.7 Isolasi Naringenin Dari Ekstrak Daging Buah Jeruk Nambangan

Untuk memastikan kemampuan MIP 1 dalam memisahkan naringenin dari suatu sampel secara selektif, maka dilakukan pengujian menggunakan sampel ekstrak daging buah jeruk Nambangan. Gambar 4.10 menunjukkan hasil isolasi naringenin dari sampel ekstrak daging buah jeruk Nambangan menggunakan MIP.



Gambar 4.9 Hasil kromatogram HPLC ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum (a) dan sesudah pencucian dengan MIP (b)

Keberhasilan MIP dalam memisahkan naringenin dari suatu sampel dapat diukur dengan membandingkan kromatogram ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum dan sesudah pencucian dengan MIP. Pada kromatogram yang

terdapat pada gambar 4.10 terdapat puncak naringenin pada waktu retensi sekitar 6,939 menit dan 6,510 menit. Kromatogram gambar 4.10 (a) yang diperoleh dari ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum pemisahan menunjukkan adanya puncak senyawa lain dengan intensitas yang tinggi. Kemudian, setelah dilakukan pemisahan dengan MIP, kromatogram gambar 4.10 (b) masih menunjukkan adanya puncak senyawa lain. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sisa ekstrak yang menempel pada MIP larut pada saat proses pencucian. Namun, puncak tersebut menjadi lebih kecil dan sederhana yang menandakan bahwa MIP dapat menyederhanakan matriks pada ekstrak (Alipour dkk., 2021 dan Retnaningtyas dkk., 2020). Hal ini dibuktikan dengan nilai resolusi pada ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum pencucian lebih kecil dibandingkan resolusi ekstrak daging buah jeruk Nambangan setelah pencucian.

Alipour dkk (2021) menggunakan *molecularly imprinted polymer* (MIP) untuk menganalisis kandungan *rosmarinic acid* dari ekstrak air daun *Salvia officinalis*. Hasil menunjukkan bahwa pada kromatogram ekstrak murni terdapat puncak lain dengan intensitas yang cukup tinggi yang menandakan adanya senyawa lain. Namun, matriks tersebut menjadi lebih sederhana setelah dilakukan pemisahan ekstrak menggunakan MIP (Alipour dkk., 2021).

Tabel 4.5 Hasil penentuan nilai kapasitas pengikatan dan %*recovery* pada sampel

Area ekstrak	Waktu retensi (menit)	Area Cf	Waktu retensi (menit)	Area konsentrasi terlepas	Waktu retensi (menit)	Konsentrasi ekstrak (mg/L)	Konsentrasi terikat (mg/L)	Konsentrasi terlepas (mg/L)	Q (mg/g)
121710	6,510	33079	6,876	101036	6,921	1,78	1,60	1,37	0,32

Pada penelitian kali ini, MIP naringenin mampu memisahkan naringenin yang ditunjukkan dengan nilai kapasitas pengikatan MIP terhadap naringenin sebesar 0,32 mg/g. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jahanbakhsh dkk (2022) dimana MIP mampu memisahkan katekin dengan MIP yang ditunjukkan dengan nilai kapasitas pengikatan sebesar 14,07 mg/g (Jahanbakhsh dkk., 2022). Selain itu, %*recovery* MIP 1 naringenin sebesar 85,62%. Hasil ini telah menunjukkan hasil yang baik karena telah memenuhi syarat AOAC (2016) yaitu 80-110%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Komposisi optimum *Molecularly Imprinted Polymers* (MIP) naringenin dengan monomer asam akrilat adalah formula 1 dengan perbandingan molar *template:monomer fungsional:cross-linker* yaitu 1:4:83,3.
2. Hasil karakterisasi MIP dengan FTIR MIP menunjukkan adanya gugus C-H aromatis dan C=C aromatis yang menunjukkan adanya senyawa naringenin. Hasil analisis MIP dengan SEM menunjukkan adanya rongga dengan bentuk tidak bulat atau *non-spherical* pada MIP setelah pencucian.
3. Hasil pengujian *batch rebinding assay* (BRA) menunjukkan bahwa MIP 1 memiliki kemampuan yang paling baik dengan nilai kapasitas pengikatan (Q) 1,85 mg/g; faktor selektivitas (β) 185 dan 92,5; serta *%recovery* 92,130 \pm 1,536%. Selain itu, MIP naringenin juga menunjukkan kemampuan yang baik dalam memisahkan naringenin dari sampel ekstrak daging buah jeruk Nambangan yang ditunjukkan pada ekstrak daging buah jeruk Nambangan sesudah pencucian dengan memiliki kromatogram dengan puncak matriks yang lebih sederhana dibandingkan dengan kromatogram ekstrak daging buah jeruk Nambangan sebelum pencucian dan nilai *%recovery* sebesar 85,62%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan monomer fungsional lain selain asam akrilat untuk menghasilkan MIP yang memiliki kapasitas pengikatan naringenin yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak tanaman lain selain daging buah jeruk Nambangan untuk memperoleh naringenin dari tanaman lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode ekstraksi lain untuk memperoleh kandungan naringenin yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriy, O. G and C. S. Bottaro. 2014. Development of molecularly imprinted polymer in porous film format for binding of phenol and alkylphenols from water. *International Journal of Molecular Sciences*. 15:1338-1357.
- AOAC. 2016. Appendix F: *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*.
- Amin, S., S. Damayanti., and S. Ibrahim. 2018. Synthesis and characterization molecularly imprinted polymers for analysis dimethylamymine using acrylamide as monomer functional. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 8(2):76-84.
- Anwer, M., A. Kayser., S. Sarkar., et al. 2019. Scanning electron microscopy analysis of argon plasma treated jute fibre. *International Journal of Engineering and Applied Sciences*. 5(7):9-11.
- Alipour, S., P. A. Azar., S. W. Husain., and H. R. Rajabi. 2021. Synthesis, characterization and application of spherical and uniform molecularly imprinted polymeric nanobeads as efficient sorbent for selective extraction of rosmarinic acid from plant matrix. *Journal of Material Research and Technology*. 12:2298-2306.
- Amri., A. M., M. Y. Azis., and M. A. Zulfikar. 2024. Synthesis and characterization of magnetic molecularly imprinted polymers targeting capsaicin. *Jurnal Kimia Valensi*. 10(2):173-180.
- Agar, M., M. Laabei., H. S. Leese., and P. Estrela. 2025. Multi-template molecularly imprinted polymeric electrochemical biosensors. *Chemosensors*. 13(1):1-35.
- Barbani, N., E. Rosellini., M. Donati., et al. 2017. Molecularly imprinted polymers by phase inversion technique for the selective recognition of saccharides of biomedical interest in aqueous solutions. *Polymer International*. 66(6):900-907.
- BelBruno, J. J. 2018. Molecularly Imprinted Polymers. *Chemical reviews*. 119:94-119.
- Bakhtiar, S., S. A. Bhawani., and S. R. Shafqat. 2019. Synthesis and characterization of molecular imprinting polymer for the removal of 2-phenylphenol from spiked blood serum and river water. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 6(15):1-10.
- Bow, Y., A. Syakdani, I. Purnamasari., dkk. 2021. Uji kinerja sensor molecularly imprinted polymer (MIP) simazine secara potensiometri. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*. 5(2):145-154.
- Babaeipour, V., dan F. Jabbari. 2023. Pre-polymerization process simulation, synthesis and investigation the properties of dipicolinic acid molecularly imprinted polymers. *Polymer Bulletin*. 81:1495-1512.

- Badan Pusat Statistik. 2024. Produksi tanaman buah-buahan. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjIjMg==/produksi-tanaman-buah-buahan.html>. [Diakses pada 1 November 2024]
- Caengprasath, N., S. Ngamukote., K. Makynen., and S. Adisakwattana. 2013. The protective effects of pomelo extract (*Citrus grandis* L. Osbeck) against fructose-mediated protein oxidation and glycation. *EXCLI Journal*. 12:491-502.
- Chen, L., X. Wang., W. Lu., et al. 2016. Molecular imprinting: perspectives and applications. *Chemical Society Review*. 45(8):2137-2211.
- Chrisnandari, R. D. 2018. Sintesis dan karakterisasi molecularly imprinted polymer untuk kloramfenikol menggunakan polimerisasi fasa ruah. *Journal of Pharmacy and Science*. 3(1):40-46.
- Chen, M., R. Li., Y. Gao., et al. 2021. Encapsulation of hydrophobic and low-soluble polyphenols into nanoliposomes by pH-driven method: naringenin and naringin as model compounds. *Food*. 10, 963:1-15.
- Cai., J., H. Wen., H. Zhou., et al. 2023. Naringenin: A flavanone with anti-inflammatory and anti-infective properties. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 164,114990:-16.
- Chen, X., Y. Sheng., J. Che., et al. 2024. Integration of covalent organic frameworks and molecularly imprinted polymers for selective extraction of flavonoid naringenin from grapefruit (*Citrus × paradisi* Macf.) peels. *Food Chemistry*. 101107:1-10.
- Direktorat Jendral Holtikultura. 2003. *Budidaya Jeruk Besar (Citrus maxima L)*. Jakarta: Dirjen Holtikultura.
- Dadang, H dan S. Susanto. 2018. Perbandingan perkembangan kualitas buah tiga aksesi jeruk pamelos (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). *Bul.Agrohorti*. 6(2):206-212.
- Dong, C., H. Shi., Y. Han., et al. 2021. Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *European Polymer Journal*. 145,110231:1-25.
- Elugoke, S. E., A. S. Adekunle., O. E. Fayemi., et al. 2020. Molecularly imprinted polymers (MIPs) based electrochemical sensors for the determination of catecholamine neurotransmitters. *Electrochemical sciences advances*. 1, e2000026:1-43.
- Fransiska, E. A dan M. M. Sianita. 2021. Pengaruh suhu pada sintesis molecularly imprinted polymer (MIP) terhadap kemampuan adsorpsi kloramfenikol. *Journal of Chemistry*. 10(3):209-219.
- Fauziah, S., N. H. Soekamto., P. Taba., et al. 2023. Adsorption capacity, kinetics, and application of molecularly imprinted polymers di-(2-Ethylhexyl) phthalate as adsorbents in solid-phase extraction method. *Rasayan J. Chem*. 16(3):1749-1756.
- Gorbani, Y., H. Yilmaz., and H. Bsan. 2017. Spectrofluorimetric determination of atenolol from human urine using high-affinity molecularly imprinted solid-phase extraction sorbent. *Luminescence*. 32(8):1391-1397.

- Hasanah, A. N., R. E. Kartasasmita., dan S. Ibrahim. 2015. Sintesis sorbent ekstraksi fase padat dengan teknik molecular imprinting dengan monomer akrilamid dari serum darah. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(4):233-
- Hasanah, A. N., N. Safitri., A. Zulfa., et al. 2021. Factors affecting preparation of molecularly imprinted polymer and methods on finding template-monomer interaction as the key of selective properties of the materials. *Molecules*. 26,5621:1-22.
- Jahanbakhsh, A., M. Hosseini., M. Jahanshahi., et al. 2022. Extraction of catechin as a flavonoid compound via molecularly imprinted polymers. *International Journal of Engineering*. 35(5):988-995.
- Listiadi, E. O. F dan M. M. Sianita. 2021. Pengaruh variasi komposisi ekstraktn terhadap kemampuan adsorpsi kloramfenikol menggunakan molecularly imprinted polymer (MIP). *Journal of Chemistry*. 10(3):337-347.
- Lu, L., X. Yue., F. Lin., et al. 2013. *Template synthesized ultra-thin molecularly imprinted polymers membrane for selective preconcentration of dyes*. *Journal of Material Chemistry*. 3:10959-10968.
- Mohammed, A dan A. Abdullah. 2018. Scanning electron microscopy (SEM): a review. *Proceedings of 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics – HERVEX*. 1-9.
- Madej, A. D., J. Stecko., J. Sobieraj., et al. 2022. Review: naringenin and its derivatives-health-promoting phytobiotic against resistant bacteria and fungi in humans. *Antibiotics*. 11,1628:1-22.
- Maghfiroh, D. E. Monica., dan M. H. Afthoni. 2022. Pengembangan dan validasi metode spektrofotometri Uv-Vis metod derivative untuk analisis kafein dalam suplemen. *Jurnal Ilmial Sains & Teknologi*. 2(2).
- Naharsari, N. D. 2007. *Bercocok Tanam Jeruk*. Jakarta: Azka Press.
- Nandi, K., R. Ghosh., S. Mondal., et al. 2021. Source, isolation & impact of glycone and aglycone in human body. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 9(11):103-113.
- Ndunda, E. N. 2020. Molecularly imprinted polymers - a closer look at the control polymer used in determining the imprinting effect: a mini review. *Journal of Molecular Recognition*. 32(11):1-11.
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 6581, Acrylic acid. Retrieved Oktober 22, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acrylic-acid>.
- Pavia, D. L., Q. M. Lampman., G. S. Kriz., and J. R. Vyvyan. 2009. *Introduction To Spectroscopy Fourth Edition*. Brooks/Cole Cengage Learning: United State of America.
- Pardo, A., L. Mespouille., P. Dubois., et al. 2012. Targeted extraction of active compounds from natural products by molecularly imprinted polymers. *Central Journal of Chemistry*. 10(3):751-765.
- Patel, K., G. K. Singh., and D. K. Patel. 2018. A review on pharmacological and analytical aspects of naringenin. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 24:551-560.

- Pratama, K. F., M. E. R. Manik., D. Rahayu., et al. 2020. Effect of the molecularly imprinted polymer component ratio on analytical performance. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 68(11):1013–1024.
- Figueiredo, L., G. L. Erny., L. Santos., and A. Alves. 2016. Applications of molecularly imprinted polymers to the analysis and removal of personal care products: A review. *Talanta*. 146:754-765.
- Roland, R. M and S. A. Bhawani. 2016. Synthesis and characterization of molecular imprinting polymer microspheres of piperine: extraction of piperine from spiked urine. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 5671507:1-6.
- Retnaningtyas Y., G. Supriyanto., N. N. T. Puspaningsih., et al. 2020. A novel molecular imprinting polymer for the selective adsorption of D-arabitol form spiked urine. *Turkish Journal of Chemistry*. 44(5):1265-1277.
- Saloni, J., P. Lipkowski., S. S. R. Dasary., et al. 2011. Theoretical study of molecular interactions of TNT, acrylic acid, and ethylene glycol dimethacrylate e Elements of molecularly imprinted polymer modeling process. *Polymer*. 52(4):1206-1216.
- Sanagi., M. M., S. Salleh., W. A. W. Ibrahim., et al. 2013. Molecularly imprinted polymer solid-phase extraction for the analysis of organophosphorus pesticides in fruit samples. *Journal of Food Composition and Analysis*. 32(2):155-161.
- Sari, P. A. Y., E. Koriyanti., A. A. Bama., dkk. 2022. Sintesis dan analisis polimer berbasis molecularly imprinted polymer (MIP) nano melamin ($C_3H_6N_6$) sebagai material sensor. *Jurnal Penelitian Sains*. 24(3):1540159.
- Sayland, Y dan A. Denizli. 2019. Molecularly imprinted polymer-based microfluidic systems for point-of-care applications. *Micromachines*. 10,766:1-14.
- Sajini, T dan B. Mathew. 2021. A brief overview of molecularly imprinted polymers: highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting. *Talanta Open*. 4,100072:1-20.
- Sullivan, M. V., S. R. Dennison., J. M. Hayes., and S. M. Reddy. 2021. Evaluation of acrylamide-based molecularly imprinted polymer thin-sheets of spesific protein capture-a myoglobin model. *Biomedical Physics & Engineering Express*. 7,045025:1-12.
- Sapkota, B., H. P. Devkota., and P. Poudel. 2022. Review article Citrus maxima (Brum.) Merr. (Rutaceae): bioactive chemical constituents and pharmacological activities. *Evid Based Complement Alternat Med*. 8741669:1-16.
- Stabrauskiene, J., M. Marksa., L. Ivanauskas., and J. Bernatoiene. 2022. Optimization of naringin and naringenin extraction from *Citrus x paradisi* L. using hydrolysis and excipients as adsorbent. *Pharmaceutics*. 14, 890:1-15.
- Shafqat, S. R., S. A. Bhawani., S. Bakhtiar., et al. 2023. Template-assisted synthesis of molecularly imprinted polymers for the removal of methyl red from aqueous media. *BMC Chemistry*. 17(46):2-18.

- Safiah, S. Amni., D. S. P. S. Sembiring., dkk. 2024. Etnobotani tumbuhan obat masyarakat Gampong Mamplam Aceh Besar sebagai alternative pengganti obat kimia sintetik. *Edunomika*. 8(1):1-9.
- Vijaylakshmi, P and R. Radha. 2015. An overview: Citrus maxima. *The Journal of Phytopharmacology*. 4(5): 263–267.
- Vasconcelos, I., P. H. R. Silva., D. R. D. Dias., et al. 2020. Synthesis and characterization of a molecularly imprinted polymer (MIP) for solid-phase extraction of the antidiabetic gliclazide from human plasma. *Materials Sciences & Engineering*. 116:1-13.
- Włoch, M., & Datta, J. (2019). Synthesis and polymerisation techniques of molecularly imprinted polymers. *Comprehensive Analytical Chemistry*. 86:17-40.
- Yang, Y., and X. Shen. 2022. Preparation and application of molecularly imprinted polymers for flavonoids: review and perspective. *MDPI Molecules*. 27, 7355.
- Zhang, K., Z. Ding., W. Duan., et al. 2020. Optimized preparation process for naringenin and evaluation of its antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of Food Processing and Preservation*. 44:e14931.
- Zapata, F., A. L. Fernández., F. O. Ojeda., et al. 2021. Introducing ATR-FTIR spectroscopy through analysis of acetaminophen drugs: practical lessons for interdisciplinary and progressive learning for undergraduate student. *Journal of Chemical Education*. 98:2575-2686.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Komposisi *molecularly imprinted polymers* (MIP)

	I	II	III	IV
Naringenin				
(mmol)	0,12	0,12	0,12	0,12
(mg)	36,72	36,72	36,72	36,72
Asam akrilat				
(mmol)	0,48	0,72	0,48	0,72
(mg)	34,59	51,88	34,59	51,88
EGDMA				
(mmol)	10	10	12	12
(mg)	1982,20	1982,20	2378,6	2378,6
Benzoil peroksida				
(%)	3,5	3,5	3,5	3,5
(mg)	2387,64	2387,64	2387,64	2387,64
Porogen (mL)	10	10	10	10

Lampiran 3.2 Persamaan kapasitas pengikatan

$$Q = \frac{(C_i - C_f)V}{w}$$

Dimana:

C_i : Konsentrasi naringenin mula-mula

C_f : Konsentrasi naringenin bebas setelah inkubasi

V : volume larutan (L)

w : massa MIP dan NIP (gram)

Lampiran 3.3 Persamaan faktor selektivitas

$$\beta = \frac{Q \text{ senyawa target}}{Q \text{ senyawa lain}}$$

Lampiran 3.4 Persamaan %recovery

$$\%recovery = \frac{\text{Konsentrasi naringenin terlepas}}{\text{Konsentrasi naringenin terikat}} \times 100\%$$

Lampiran 4.1 Hasil determinasi tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 000.9.3/8118/102.20/2024
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Jeruk Nambangan**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : HUDZAIFAH / 212210101136
VRISKA SHINDY A. / 212210101061
VELICIA NATASYA / 212210101072
PRISKILA HARYUNINGTYAS N. / 212210101054
NURIL FITRI A.A. / 212210101030
DAFENA ALIEF N.V. / 212210101009
Fakultas : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman jeruk bali
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Rutales
 - Suku : Rutaceae
 - Marga : Citrus
 - Jenis : *Citrus maxima* (Burm.) Merr. "Nambangan"
 - Nama Daerah : Jeruk bali, jeruk besar, jeruk cikoneng, jeruk limau besar, jeruk limau makan, jeruk pamelu.
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-197b-208b- 219b-220b-224b-225b-227b-229a:Rutaceae-1a:Citrus-1a-2a:*C. maxima*.
2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi ± 3 m. Batang: Berkulit agak tebal, kulit bagian luar berwarna coklat kekuningan, bagian dalam berwarna kuning, cabang yang masih muda bersudut dan berwarna hijau, namun lama-lama menjadi berbentuk bulat dan berwarna hijau tua. Daun: Bulat telur dan berukuran besar, dengan bagian puncak atau ujung tumpul dan bagian tepi hampir rata, serta bagian dekat ujung agak berombak. Bunga: Majemuk, tersusun dalam malai yang keluar dari ketiak daun, bunga berbentuk bintang, diameter 1.5 - 2.5 cm, bunga berwarna putih, dan baunya harum. Buah: Berukuran besar dan berkulit tebal, berbentuk bulat atau bola, daging buah merah muda atau merah jambu, daging buah memiliki tekstur keras, rasa manis sampai sedikit asam, dan berbiji sedikit. Akar: Akar tunggang.
3. Bagian yang digunakan : Buah.
4. Penggunaan : Penelitian MIP dan penetapan kadar kandungan.
5. Daftar Pustaka
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

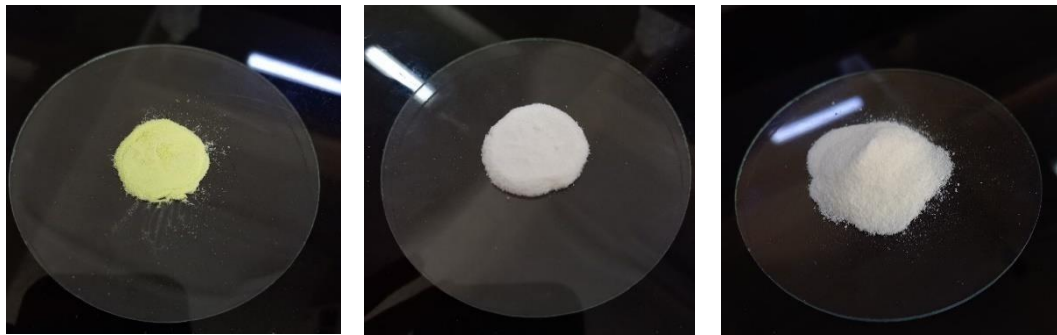
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 16 Desember 2024

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
KEMENTERIAN UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

R. R. R. JULIANTI, M.M.
Pembina Tk. I
NIP. 19710711 200012 2 002

Lampiran 4.2 Hasil sintesis MIP naringenin dan NIP



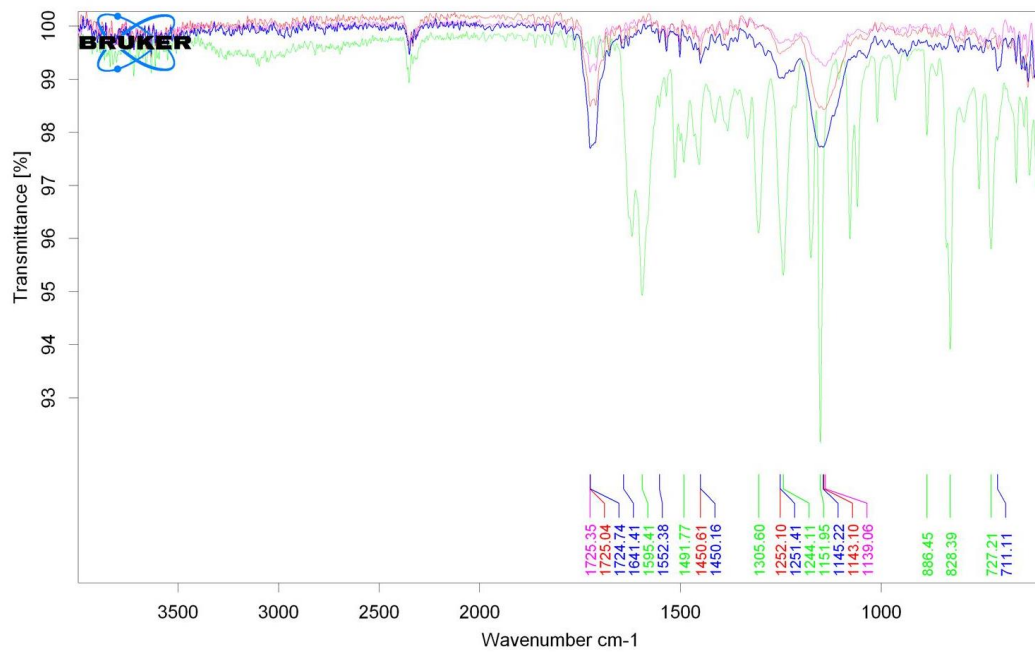
(a)

(b)

(c)

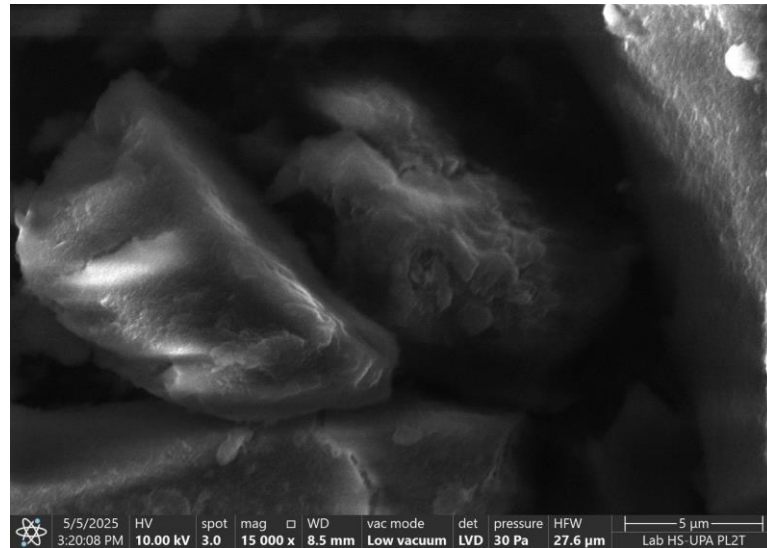
Hasil sintesis MIP sebelum pencucian (a), MIP setelah pencucian (b), dan NIP (a)

Lampiran 4.3 Hasil karakterisasi MIP dan NIP dengan FTIR

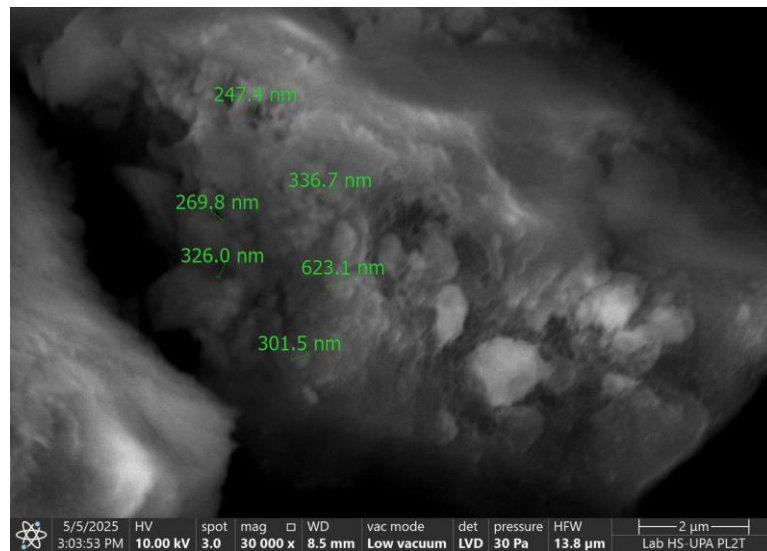


D:\FARMASI\MIP 2025\FIX] AS AKRILAT\MIP_AA A_SEBELUM LEACHING_SCAN ULANG 210425.0	MIP_AA A_SEBELUM LEACHING_SC	4/21/2025
D:\FARMASI\MIP 2025\FIX] AS AKRILAT\MIP_AA A_SETELAH LEACHING_SCAN ULANG 210425.0	MIP_AA A_SETELAH LEACHING_SC	4/21/2025
D:\FARMASI\MIP 2025\FIX] AS AKRILAT\NIP_AA A_SCAN ULANG 4.1	NIP_AA A_SCAN ULANG 4	Instrument type and / or accessory
D:\FARMASI\MIP 2025\FIX] AS AKRILAT\PURE NARINGENIN_SCAN ULANG 210425.0	PURE NARINGENIN_SCAN ULANG 210425	4/21/2025

Lampiran 4.4 Hasil karakterisasi MIP naringenin dengan SEM



(a)



(b)

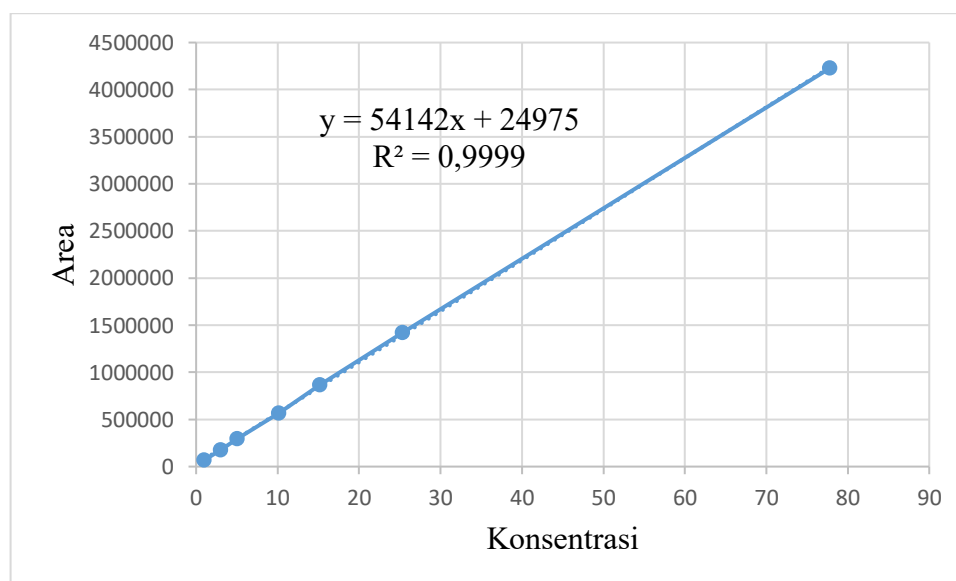
Hasil karakterisasi MIP setelah pencucian menggunakan SEM perbesaran
15.000x(a) dan 30.000x (b)

Lampiran 4.5 Hasil penentuan kurva baku naringenin dengan metode HPLC

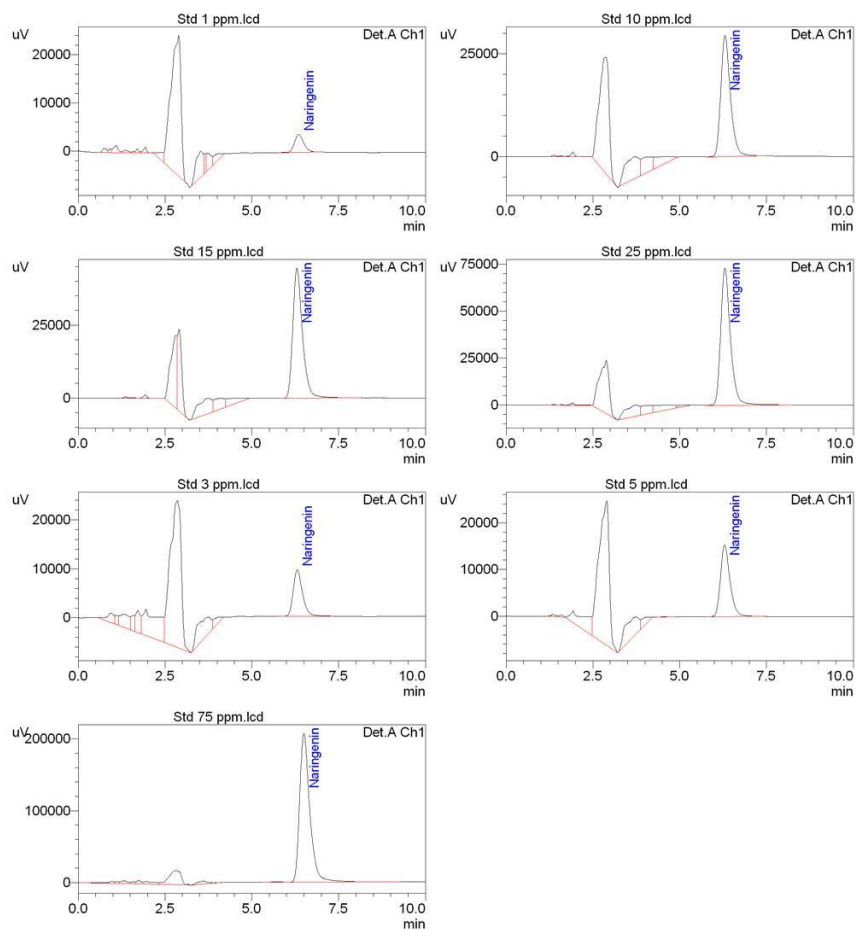
1. Data luas area larutan standar naringenin

Konsentrasi (mg/L)	Konsentrasi teoritis (mg/L)	Area	Waktu retensi (menit)
1	1,0136	69619	6,348
3	3,0408	178244	6,305
5	5,068	293724	6,291
10	10,136	568455	6,302
15	15,204	868064	6,296
25	25,34	1419045	6,298
75	77,8	4227805	6,495

2. Kurva kalibrasi konsentrasi vs luas area naringenin



3. Kromatogram kurva baku naringenin



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
Std 1 ppm.lcd	6.348	69619	1,000	0.000	mg/L	2748.182	90.969
Std 10 ppm.lcd	6.302	568455	10,000	0.000	mg/L	2595.472	96.322
Std 15 ppm.lcd	6.296	868064	15,000	0.000	mg/L	2608.085	95.856
Std 25 ppm.lcd	6.298	1419045	25,000	0.000	mg/L	2626.948	95.167
Std 3 ppm.lcd	6.305	178244	3,000	0.000	mg/L	2753.722	90.786
Std 5 ppm.lcd	6.291	293724	5,000	0.000	mg/L	2644.634	94.531
Std 75 ppm.lcd	6.495	4227805	1,000	0.936	mg/L	2622.638	95.324
Average	6.334	1089279		0.936		2657.097	94.136
%RSD	1.164	133.993		0.000		2.481	2.438
Maximum	6.495	4227805		0.936		2753.722	96.322
Minimum	6.291	69619		0.936		2595.472	90.786
Standard Deviation	0.074	1459559		0.000		65.935	2.295

Tailing Factor	Resolution	k'
1.245	0.000	7.586
1.305	0.000	3.629
1.341	0.000	3.610
1.332	0.000	3.637
1.300	0.000	5.839
1.311	3.577	3.652
1.394	1.317	54.674
1.318	2.447	11.804
3.434	65.304	160.683
1.394	3.577	54.674
1.245	1.317	3.610
0.045	1.598	18.967

Lampiran 4.6 Hasil optimasi waktu inkubasi

1. Optimasi waktu inkubasi

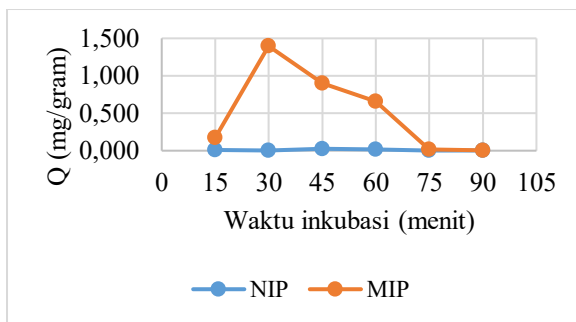
a. MIP

Waktu inkubasi (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area Ci	Waktu retensi Cf (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
15	2724023	6,393	2771531	6,559	50,73	49,85	0,88	0,18
30	2393298	6,384	2771531	6,559	50,73	43,74	6,99	1,39
45	2528835	6,401	2771531	6,559	50,73	46,25	4,48	0,89
60	2592963	6,432	2771531	6,559	50,73	47,43	3,29	0,66
75	2767643	6,498	2771531	6,559	50,73	50,66	0,07	0,01
90	2770330	6,534	2771531	6,559	50,73	50,71	0,02	0,004

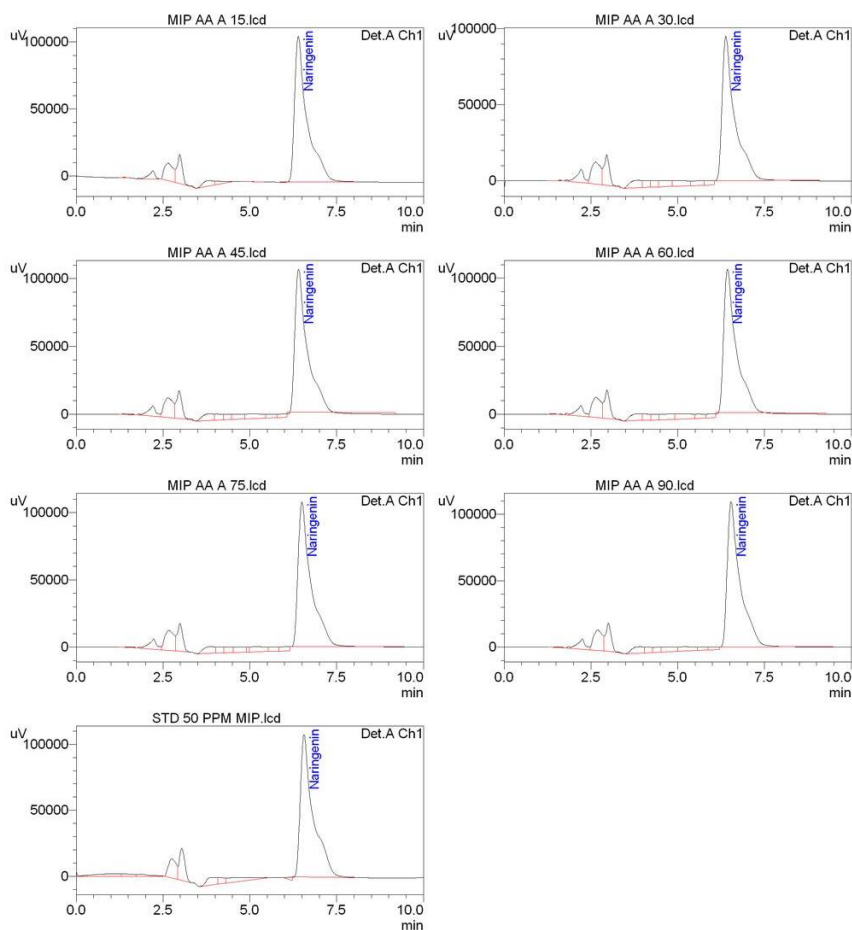
b. NIP

Waktu inkubasi (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
15	2753586	6,290	2755254	6,289	50,43	50,39	0,031	0,01
30	2753728	6,311	2755254	6,289	50,43	50,40	0,029	0,01
45	2748377	6,312	2755254	6,289	50,43	50,30	0,127	0,03
60	2750397	6,330	2755254	6,289	50,43	50,34	0,090	0,02
75	2754748	6,335	2755254	6,289	50,43	50,42	0,009	0,00
90	2754305	6,333	2755254	6,289	50,43	50,41	0,018	0,00

2. Grafik hubungan waktu inkubasi dengan nilai kapasitas pengikatan MIP



3. Kromatogram optimasi waktu inkubasi MIP



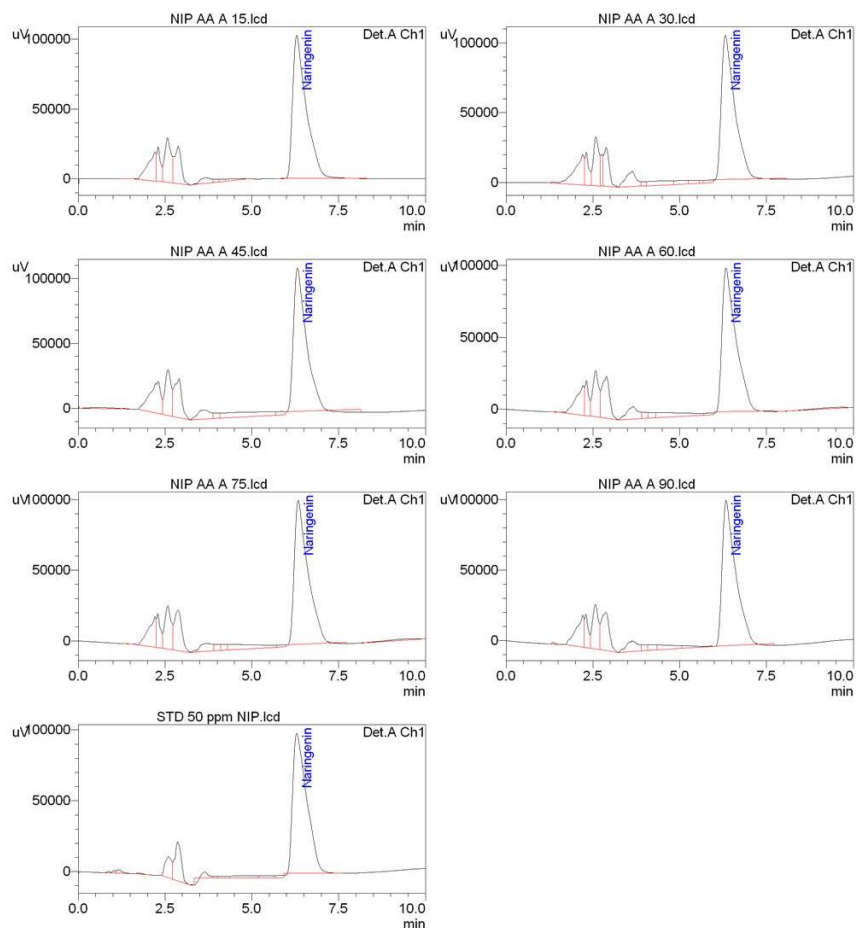
<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
MIP AA A 15.lcd	6.393	2724023	--	0.000	mg/L	2514.959	99.405
MIP AA A 30.lcd	6.384	2393298	--	0.000	mg/L	2381.256	104.987
MIP AA A 45.lcd	6.401	2528835	--	0.000	mg/L	2361.381	105.870
MIP AA A 60.lcd	6.432	2592962	--	0.000	mg/L	2202.925	113.485
MIP AA A 75.lcd	6.498	2767643	--	0.000	mg/L	2229.839	112.116
MIP AA A 90.lcd	6.534	2770330	--	0.000	mg/L	2216.743	112.778
STD 50 PPM MIP.lcd	6.559	2771531	--	0.000	mg/L	2607.592	95.874
Average	6.457	2649803		0.000		2359.242	106.359
%RSD	1.115	5.606		0.000		6.655	6.486
Maximum	6.559	2771531		0.000		2607.592	113.485
Minimum	6.384	2393298		0.000		2202.925	95.874
Standard Deviation	0.072	148548		0.000		157.004	6.899

Tailing Factor	Resolution	k'
2.462	0.000	3.660
2.442	0.170	3.637
2.419	0.186	3.593
2.319	0.166	3.604
2.344	0.172	3.632
2.315	0.215	3.599
2.366	0.000	5.139
2.381	0.182	3.838
2.512	10.869	14.964
2.462	0.215	5.139
2.315	0.166	3.593
0.060	0.020	0.574

4. Kromatogram optimasi waktu inkubasi NIP



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
NIP AA A 15.lcd	6.290	2753586	--	0.000	mg/L	1359.222	183.929
NIP AA A 30.lcd	6.311	2753728	--	0.000	mg/L	1233.807	202.625
NIP AA A 45.lcd	6.312	2748377	--	0.000	mg/L	1255.578	199.112
NIP AA A 60.lcd	6.330	2750397	--	0.000	mg/L	1036.170	241.273
NIP AA A 75.lcd	6.335	2754748	--	0.000	mg/L	1012.651	246.877
NIP AA A 90.lcd	6.333	2754305	--	0.000	mg/L	1075.473	232.456
STD 50 ppm NIP.lcd	6.289	2755254	--	0.000	mg/L	1098.072	227.672
Average	6.314	2752914		0.000		1152.996	219.135
%RSD	0.308	0.092		0.000		11.306	10.900
Maximum	6.335	2755254		0.000		1359.222	246.877
Minimum	6.289	2748377		0.000		1012.651	183.929
Standard Deviation	0.019	2543		0.000		130.355	23.885

Tailing Factor	Resolution	k'
2.053	0.598	3.628
2.037	0.270	3.663
2.004	0.190	9.909
2.123	0.302	3.683
2.076	0.261	3.712
2.065	0.545	3.696
1.995	0.000	6.264
2.050	0.361	4.937
2.142	46.577	48.529
2.123	0.598	9.909
1.995	0.190	3.628
0.044	0.168	2.396

5. Contoh perhitungan

a. Perhitungan C_i (konsentrasi standar naringenin)

Persamaan regresi $y = 54142x + 24975$ dengan y adalah nilai area dan x adalah nilai konsentrasi; luas area puncak yang diperoleh 2771531

$$y = 54142x + 24975$$

$$2771531 = 54142x + 24975$$

$$x = \frac{2771531 - 24975}{54142}$$

$$x = 50,73 \text{ ppm}$$

$$C_i = 50,73 \text{ ppm}$$

b. Perhitungan C_f (konsentrasi naringenin yang tidak terikat)

Persamaan regresi $y = 54142x + 24975$ dengan y adalah nilai area dan x adalah nilai konsentrasi; luas area puncak yang diperoleh 2393298

$$y = 54142x + 24975$$

$$2393298 = 54142x + 24975$$

$$x = \frac{2393298 - 24975}{54142}$$

$$x = 43,74 \text{ ppm}$$

$$C_f = 43,74 \text{ ppm}$$

c. Perhitungan $C_i - C_f$ (konsentrasi naringenin yang terikat)

konsentrasi awal naringenin yaitu 50,73 ppm, maka:

$$\begin{aligned} \text{Naringenin yang terikat} &= C_i - C_f \\ &= 50,73 \text{ ppm} - 43,74 \text{ ppm} \\ &= 6,99 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

d. Perhitungan kapasitas pengikatan (Q)

Pengukuran Q dilakukan dengan menggunakan larutan standar naringenin konsentrasi 50,73 mg/L sebanyak 10 ml, berat polimer MIP 0,05 g dengan perhitungan sebagai berikut:

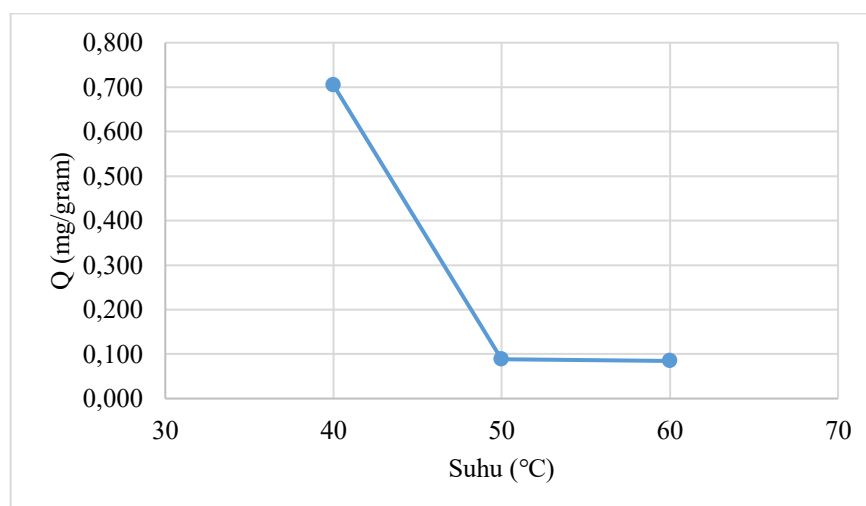
$$\begin{aligned} Q &= \frac{(C_i - C_f) V}{W} \\ &= \frac{(6,99 \text{ mg/L}) 0,01 \text{ L}}{0,05 \text{ gram}} \\ &= 1,39 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

Lampiran 4.7 Hasil optimasi suhu inkubasi

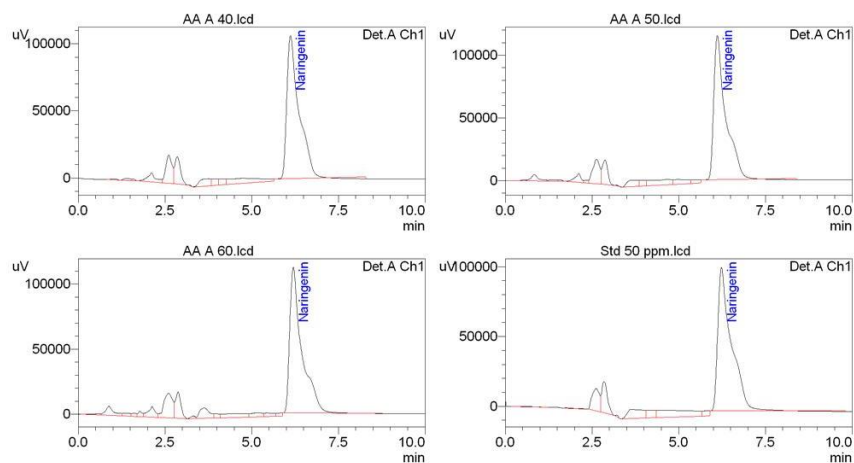
1. Hasil optimasi suhu inkubasi

Suhu (°C)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
40	2556036	6,119	2746785	6,232	50,27	46,75	3,52	0,71
50	2723015	6,114	2746785	6,232	50,27	49,83	0,44	0,08
60	2723901	6,199	2746785	6,232	50,27	49,85	0,42	0,08

2. Grafik hubungan suhu inkubasi terhadap kapasitas pengikatan MIP



3. Kromatogram optimasi suhu inkubasi



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
AA A 40.lcd	6.119	2556036	--	0.000	mg/L	2071.208	120.703
AA A 50.lcd	6.114	2723015	--	0.000	mg/L	2417.797	103.400
AA A 60.lcd	6.199	2723901	--	0.000	mg/L	2504.577	99.817
Std 50 ppm.lcd	6.232	2746785	--	0.000	mg/L	1974.722	126.600
Average	6.166	2687434		0.000		2242.076	112.630
%RSD	0.952	3.285		0.000		11.529	11.573
Maximum	6.232	2746785		0.000		2504.577	126.600
Minimum	6.114	2556036		0.000		1974.722	99.817
Standard Deviation	0.059	88287		0.000		258.495	13.034

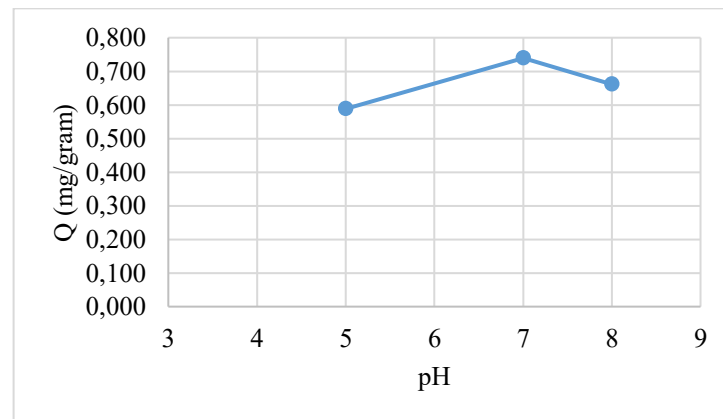
Tailing Factor	Resolution	k'
2.079	0.435	5.013
2.244	0.000	10.439
2.400	0.130	9.314
2.285	0.119	14.047
2.252	0.228	9.703
5.914	78.701	38.359
2.400	0.435	14.047
2.079	0.119	5.013
0.133	0.180	3.722

Lampiran 4.8 Optimasi pH inkubasi

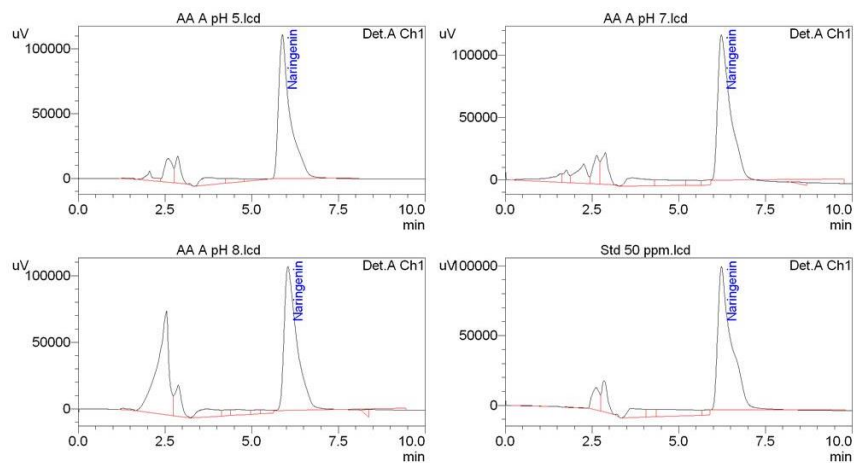
1. Hasil optimasi pH inkubasi

pH	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
5	2587520	5,883	2746785	6,232	50,27	47,33	2,94	0,59
7	2546643	6,228	2746785	6,232	50,27	46,58	3,70	0,74
8	2567767	6,043	2746785	6,232	50,27	46,97	3,31	0,66

2. Grafik hubungan pH inkubasi terhadap kapasitas pengikatan MIP



3. Kromatogram optimasi pH inkubasi



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
AA A pH 5.lcd	5.883	2587520	--	0.000	mg/L	2221.313	112.546
AA A pH 7.lcd	6.228	2546643	--	0.000	mg/L	1535.644	162.798
AA A pH 8.lcd	6.043	2567767	--	0.000	mg/L	1386.796	180.272
Std 50 ppm.lcd	6.232	2746785	--	0.000	mg/L	1974.722	126.600
Average	6.097	2612179		0.000		1779.619	145.554
%RSD	2.743	3.494		0.000		21.690	21.549
Maximum	6.232	2746785		0.000		2221.313	180.272
Minimum	5.883	2546643		0.000		1386.796	112.546
Standard Deviation	0.167	91277		0.000		386.002	31.366

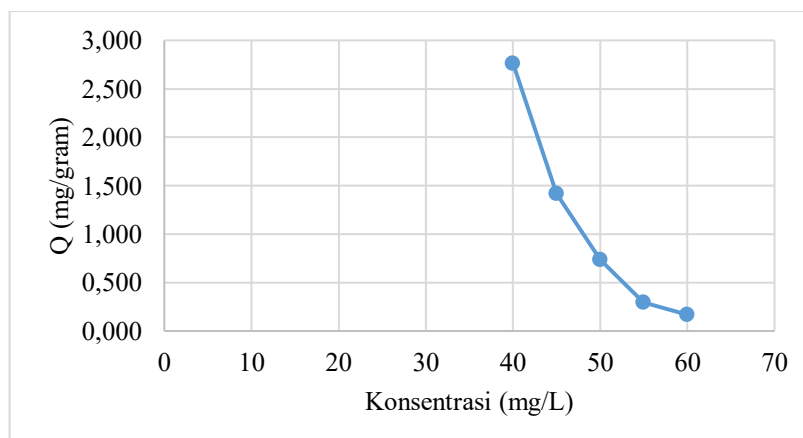
Tailing Factor	Resolution	k'
2.166	0.000	3.459
2.147	0.115	2.920
2.036	0.000	3.706
2.285	0.119	14.047
2.159	0.117	6.033
4.727	2.455	88.728
2.285	0.119	14.047
2.036	0.115	2.920
0.102	0.003	5.353

Lampiran 4.9 Hasil optimasi konsentrasi inkubasi

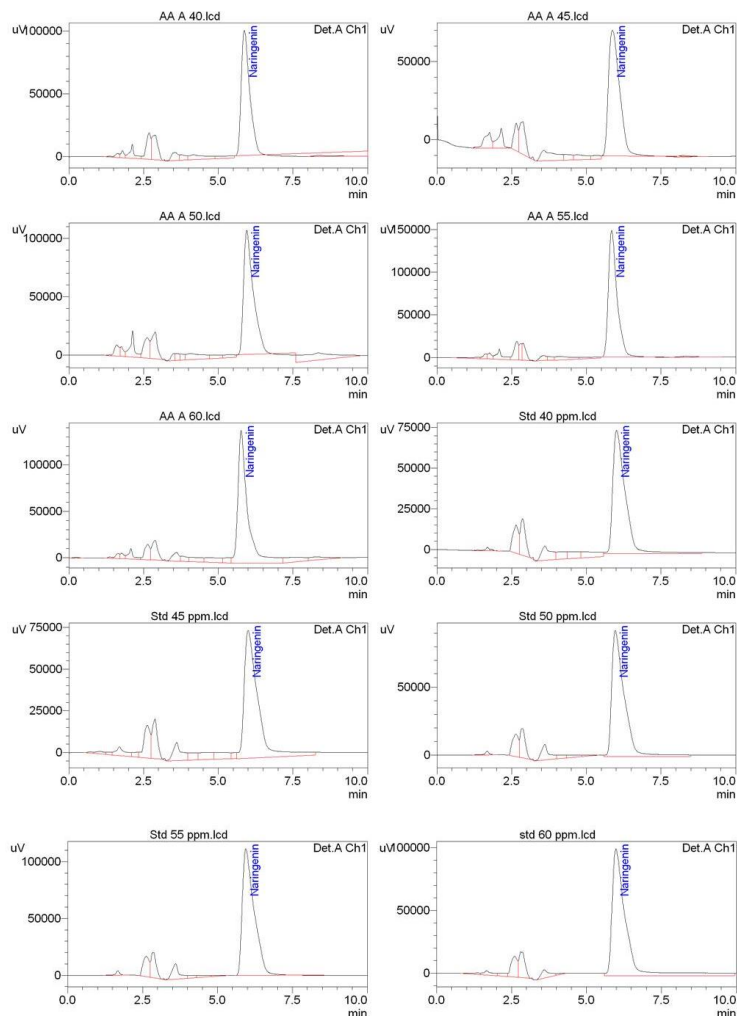
1. Hasil optimasi konsentrasi inkubasi

Konsentrasi (ppm)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
40	1455052	5,871	2203235	6,008	40,23	26,41	13,82	2,76
45	2087718	5,874	2472224	5,994	45,20	38,10	7,10	1,42
50	2546643	5,949	2745282	5,965	50,24	46,58	3,67	0,73
55	2966392	5,854	3045902	5,944	55,79	54,33	1,47	0,30
60	3283339	5,762	3283339	5,982	60,18	59,34	0,84	0,17

2. Grafik hubungan konsentrasi inkubasi terhadap kapasitas pengikatan MIP



3. Kromatogram optimasi konsentrasi inkubasi



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
AA A 40.lcd	5.871	1455052	--	0.000	mg/L	2117.406	118.069
AA A 45.lcd	5.874	2087718	--	0.000	mg/L	1146.106	218.130
AA A 50.lcd	5.949	2368020	--	0.000	mg/L	1639.052	152.527
AA A 55.lcd	5.845	2968392	--	0.000	mg/L	2172.122	115.095
AA A 60.lcd	5.762	3237707	--	0.000	mg/L	2163.220	115.568
Std 40 ppm.lcd	6.008	2203235	--	0.000	mg/L	1151.170	217.170
Std 45 ppm.lcd	5.994	2472224	--	0.000	mg/L	1053.642	237.272
Std 50 ppm.lcd	5.965	2745282	--	0.000	mg/L	1142.051	218.904
Std 55 ppm.lcd	5.944	3045902	--	0.000	mg/L	1143.222	218.680
std 60 ppm.lcd	5.982	3283339	--	0.000	mg/L	1180.123	211.842
Average	5.919	2586487		0.000		1480.811	182.326
%RSD	1.328	22.422		0.000		32.364	27.750
Maximum	6.008	3283339		0.000		2172.122	237.272
Minimum	5.762	1455052		0.000		1053.642	115.095
Standard Deviation	0.079	579931		0.000		482.492	50.596

Tailing Factor	Resolution	K'
1.591	0.227	3.356
1.559	0.308	2.347
1.886	0.223	3.391
1.567	0.353	4.995
1.961	0.000	22.900
1.841	0.000	3.436
1.903	0.000	7.540
2.003	0.000	3.377
1.969	0.000	3.379
1.939	0.000	3.417
1.822	0.278	5.814
9.781	22.785	106.147
2.003	0.353	22.900
1.559	0.223	2.347
0.178	0.063	6.171

Lampiran 4.10 Hasil pengujian kinerja MIP dengan *batch rebinding assay*

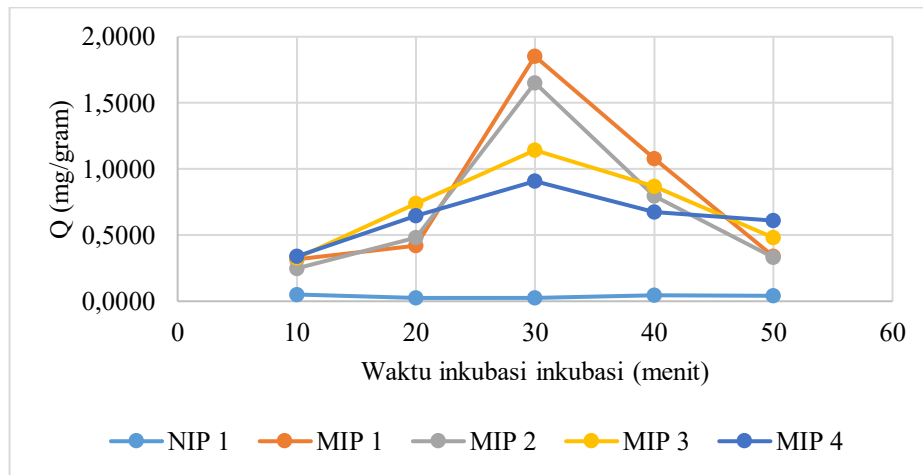
1. Hasil *batch rebinding assay* (BRA)

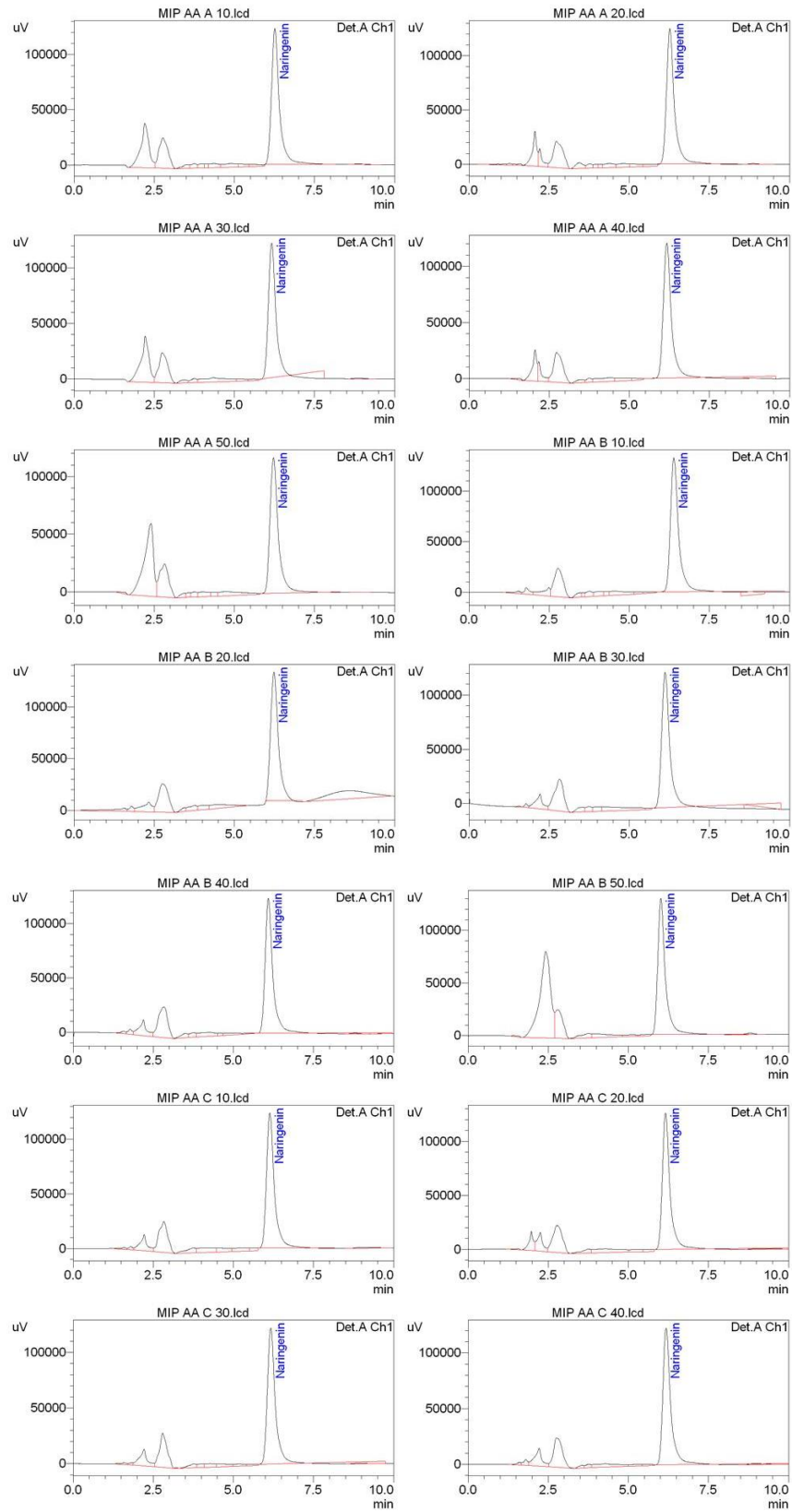
Formula	Waktu inkubasi (menit)	Waktu retensi Ci (menit)		Waktu retensi Cf (menit)		Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)
		Area Ci	Area Cf	Area Ci	Area Cf				
NIP 1	10	2207005	6,424	2193213	6,424	40,30	40,05	0,25	0,05
MIP 1	10	2207005	6,424	2121185	6,261	40,30	38,72	1,58	0,32
MIP 2	10	2207005	6,424	2139694	6,387	40,30	39,06	1,24	0,25
MIP 3	10	2207005	6,424	2118866	6,133	40,30	38,67	1,63	0,33
MIP 4	10	2207005	6,424	2115188	6,466	40,30	38,61	1,69	0,34
NIP 1	20	2207005	6,424	2199891	6,377	40,30	40,17	0,13	0,02
MIP 1	20	2207005	6,424	2093031	6,262	40,30	38,19	2,11	0,42
MIP 2	20	2207005	6,424	2076936	6,233	40,30	37,90	2,40	0,48
MIP 3	20	2207005	6,424	2006470	6,157	40,30	36,59	3,71	0,74
MIP 4	20	2207005	6,424	2032419	6,188	40,30	37,08	3,22	0,64
NIP 1	30	2207005	6,424	2200180	6,350	40,30	40,18	0,12	0,02
MIP 1	30	2207005	6,424	1705607	6,163	40,30	31,04	9,26	1,85
MIP 2	30	2207005	6,424	1759936	6,116	40,30	32,04	8,26	1,65
MIP 3	30	2207005	6,424	1897820	6,136	40,30	34,59	5,71	1,14
MIP 4	30	2207005	6,424	1961227	6,028	40,30	35,76	4,54	0,91
NIP 1	40	2207005	6,424	2194568	6,247	40,30	40,07	0,23	0,05
MIP 1	40	2207005	6,424	1914817	6,168	40,30	34,91	5,39	1,08
MIP 2	40	2207005	6,424	1991511	6,088	40,30	36,32	3,98	0,80
MIP 3	40	2207005	6,424	1972056	6,175	40,30	35,96	4,34	0,87
MIP 4	40	2207005	6,424	2024571	5,942	40,30	36,93	3,37	0,67
NIP 1	50	2207005	6,424	2195556	5,916	40,30	40,09	0,21	0,04
MIP 1	50	2207005	6,424	2114668	6,219	40,30	38,59	1,71	0,34
MIP 2	50	2207005	6,424	2117785	6,011	40,30	38,65	1,65	0,33
MIP 3	50	2207005	6,424	2077031	6,096	40,30	37,90	2,40	0,48
MIP 4	50	2207005	6,424	2041582	5,926	40,30	37,25	3,05	0,61

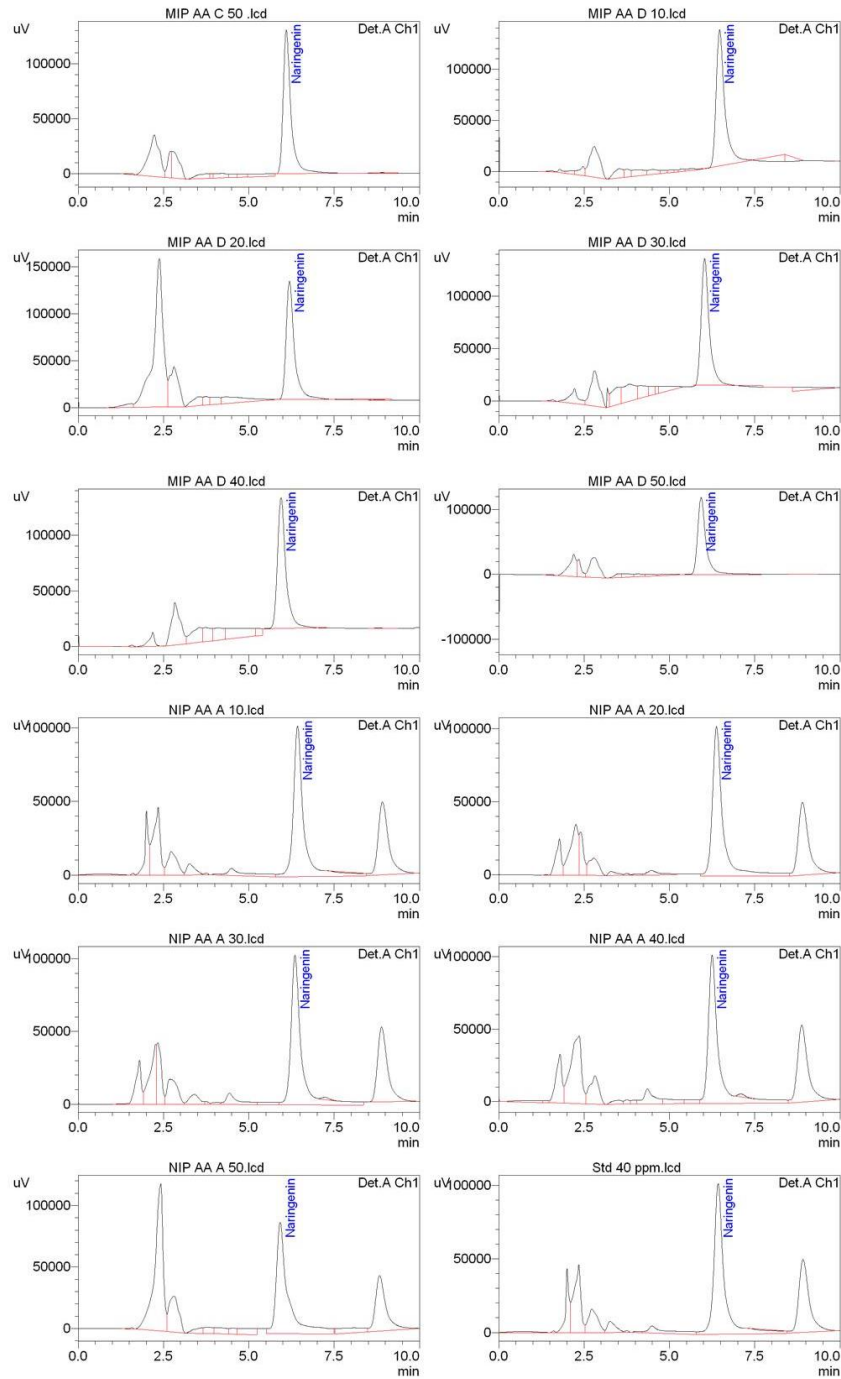
2. Perhitungan nilai *imprinting factor* (IF)

$$\begin{aligned} \text{IF} &= \frac{Q_{\text{MIP}}}{Q_{\text{NIP}}} \\ &= \frac{1,85 \text{ mg/g}}{0,02 \text{ mg/g}} \\ &= 92,50 \end{aligned}$$

3. Grafik hubungan waktu inkubasi dengan kapasitas pengikatan MIP



4. Kromatogram *batch rebinding assay* (BRA)



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
MIP AA A 10.lcd	6.261	2121185	--	0.000	mg/L	3701.510	67.540
MIP AA A 20.lcd	6.262	2093031	--	0.000	mg/L	3712.818	67.334
MIP AA A 30.lcd	6.163	1705607	--	0.000	mg/L	3573.201	69.965
MIP AA A 40.lcd	6.168	1914817	--	0.000	mg/L	3276.350	76.304
MIP AA A 50.lcd	6.219	2114668	--	0.000	mg/L	3227.036	77.470
MIP AA B 10.lcd	6.387	2139694	--	0.000	mg/L	3528.453	70.853
MIP AA B 20.lcd	6.233	2076936	--	0.000	mg/L	3304.065	75.664
MIP AA B 30.lcd	6.116	1759936	--	0.000	mg/L	3183.451	78.531
MIP AA B 40.lcd	6.088	1991511	--	0.000	mg/L	3615.067	69.155
MIP AA B 50.lcd	6.011	2117785	--	0.000	mg/L	3775.926	66.209
MIP AA C 10.lcd	6.133	2118866	--	0.000	mg/L	3458.165	72.293
MIP AA C 20.lcd	6.157	2006470	--	0.000	mg/L	3780.722	66.125
MIP AA C 30.lcd	6.163	1897820	--	0.000	mg/L	3418.953	73.122
MIP AA C 40.lcd	6.175	1972056	--	0.000	mg/L	3651.980	68.456
MIP AA C 50.lcd	6.096	2077031	--	0.000	mg/L	4174.196	59.892
MIP AA D 10.lcd	6.466	2115188	--	0.000	mg/L	3749.809	66.670

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
MIP AA D 20.lcd	6.188	2032419	--	0.000	mg/L	3797.878	65.826
MIP AA D 30.lcd	6.028	1961227	--	0.000	mg/L	3395.255	73.632
MIP AA D 40.lcd	5.942	2024571	--	0.000	mg/L	3246.823	76.998
MIP AA D 50.lcd	5.926	2041582	--	0.000	mg/L	3436.717	72.744
NIP AA A 10.lcd	6.424	2193213	--	0.000	mg/L	3388.932	73.770
NIP AA A 20.lcd	6.377	2199891	--	0.000	mg/L	3120.177	80.124
NIP AA A 30.lcd	6.350	2200180	--	0.000	mg/L	3251.001	76.899
NIP AA A 40.lcd	6.247	2194658	--	0.000	mg/L	3283.711	76.133
NIP AA A 50.lcd	5.916	2195556	--	0.000	mg/L	2841.066	87.995
Std 40 ppm.lcd	6.424	2207005	--	0.000	mg/L	3386.375	73.825
Average	6.189	2056650		0.000		3472.294	72.443
%RSD	2.498	6.375		0.000		8.006	8.036
Maximum	6.466	2207005		0.000		4174.196	87.995
Minimum	5.916	1705607		0.000		2841.066	59.892
Standard Deviation	0.155	131120		0.000		277.998	5.822

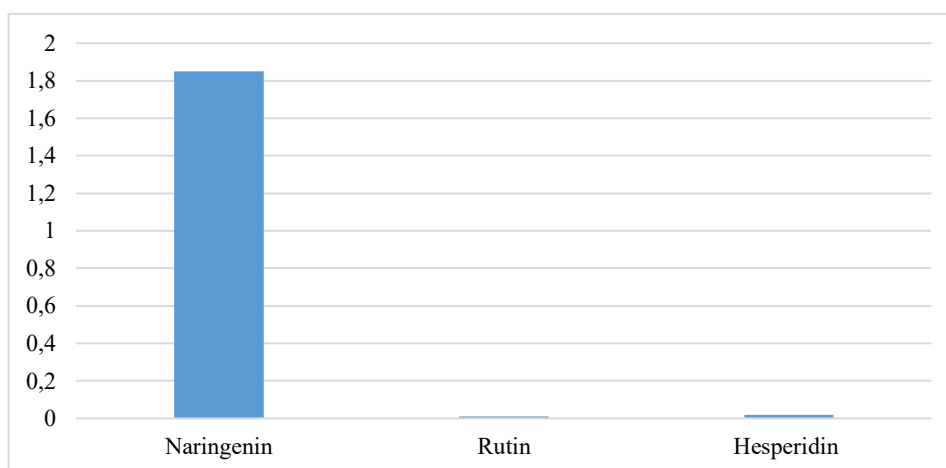
Tailing Factor	Resolution	k'
1.518	0.000	1.843
1.508	0.185	6.089
1.411	0.472	1.783
1.451	0.000	3.349
1.535	1.046	3.412
1.542	0.000	3.882
1.462	1.440	2.999
1.494	0.000	2.937
1.545	0.000	3.495
1.610	0.440	3.247
1.513	0.000	3.532
1.535	0.149	3.346
1.467	0.000	3.509
1.565	0.180	2.871
1.602	0.138	3.209
1.678	0.000	3.556
1.604	1.130	2.967
1.491	0.000	2.828
1.464	0.000	11.556
1.498	0.000	3.225
1.419	4.282	8.409
1.512	3.861	3.620
1.596	0.310	2.543
1.770	0.105	6.514
2.989	0.097	3.122
1.427	4.282	8.409
1.585	1.208	4.087
18.777	130.488	55.550
2.989	4.282	11.556
1.411	0.097	1.783
0.298	1.576	2.270

Lampiran 4.11 Hasil pengujian kinerja MIP dengan selektivitas

1. Hasil penilaian kinerja MIP dengan selektivitas

Analit	Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Ci (mg/L)	Cf (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Q (mg/g)	Faktor selektivitas (β)
Naringenin	2207005	6,424	1705607	6,163	40,30	31,04	9,26	1,85	-
Hesperidin	1401899	5,645	1399920	5,638	41,10	41,04	0,06	0,01	185
Rutin	1401443	4,193	1400986	5,012	40,50	40,40	0,10	0,02	92,50

2. Diagram perbandingan nilai kapasitas pengikatan MIP terhadap naringenin, hesperidin, dan rutin



3. Perhitungan faktor selektivitas

a. Faktor selektivitas MIP naringenin terhadap hesperidin

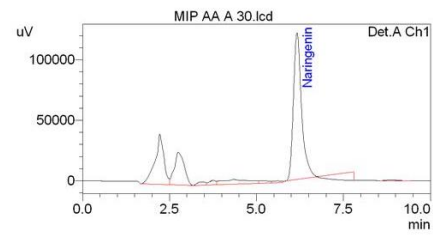
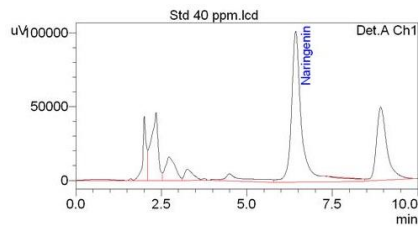
$$\begin{aligned}\beta &= \frac{Q \text{ naringenin}}{Q \text{ hesperidin}} \\ &= \frac{1,85 \text{ mg/g}}{0,01 \text{ mg/g}} \\ &= 185\end{aligned}$$

b. Faktor selektivitas MIP naringenin terhadap rutin

$$\begin{aligned}\beta &= \frac{Q \text{ naringenin}}{Q \text{ rutin}} \\ &= \frac{1,85 \text{ mg/g}}{0,02 \text{ mg/g}} \\ &= 92,50\end{aligned}$$

4. Kromatogram selektivitas

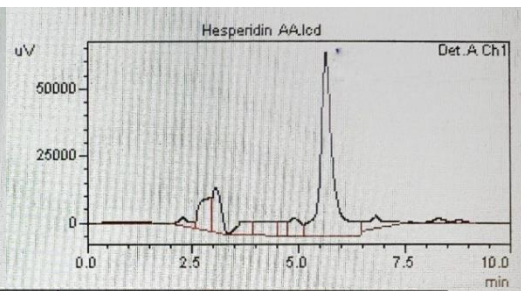
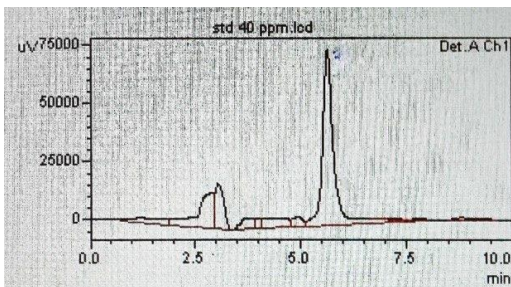
a. Naringenin



<< Detector A >>
ID#1 Compound Name: Naringenin

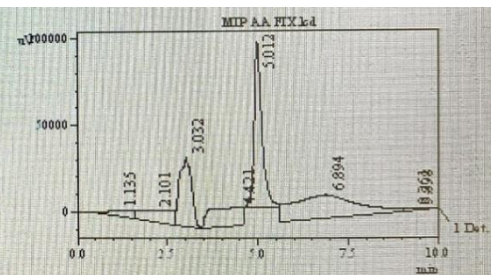
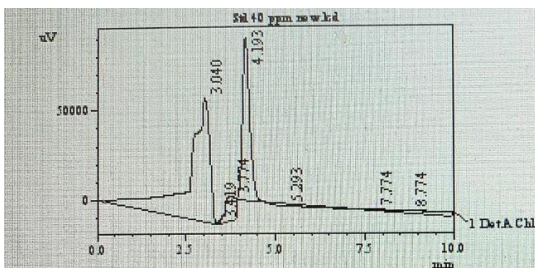
Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
MIP AA A 30.lcd	6.163	1705607	--	0.000	mg/L	3573.201	69.965
Std 40 ppm.lcd	6.424	2207005	--	0.000	mg/L	3386.375	73.825

b. Hesperidin



Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units
std 40 ppm.lcd	J Hesperidin 40 ppm	UNK-0002	5.645	1401899	--	0.000	mg/L
Hesperidin AA.lcd	MIP AA A	UNK-0004	5.638	1399920	--	0.000	mg/L
Average			5.639	1300410		0.000	
%RSD			0.065	8.925		0.000	
Maximum			5.645	1401899		0.000	
Minimum			5.637	1197372		0.000	
Standard Deviation			0.004	116068		0.000	

c. Rutin



Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.
Std 40 ppm.mw.lcd	Std rutin 40 ppm	TRNL-0002	4.195	1401443	--	0.000
MIP AA FIX.lcd	MIP AA A	TRNL-0007	5.012	1400564	--	0.000
Average			4.610	1273599		0.000
%RSD			10.210	137747		0.000
Maximum			5.024	1401443		0.000
Minimum			4.195	1107540		0.000
Standard Deviation			0.471	170113		0.000

Unit	Theoretical Plate#	HETP	Injection	Resolution	T
mg/L	2017.974	134.011	1.114	0.570	0.570
mg/L	2085.401	118.987	1.114	0.099	1.070

Lampiran 4.12 Hasil pengujian kinerja MIP dengan %recovery

1. Hasil %recovery

Area Ci	Waktu retensi Ci (menit)	Area Cf	Waktu retensi Cf (menit)	Area konsentrasi terlepas	Waktu retensi (menit)	Ci (mg/L)	Ci-Cf (mg/L)	Konsentrasi terlepas (mg/L)	%recovery
Replikasi 1									
2191878	6,318	1717970	6,124	469192	6,323	40,02	8,81	8,21	93,17
Replikasi 2									
2191878	6,318	1706272	6,027	465388	6,525	40,02	8,97	8,13	90,64
Replikasi 3									
2191878	6,318	1716437	5,921	462298	6,525	40,02	8,83	8,08	91,43
Rata-rata ± RSD								92,14 ± 1,53%	

2. Perhitungan %recovery

a. Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 \%recovery &= \frac{\text{konsentrasi naringenin terlepas}}{\text{konsentrasi naringenin terikat } (C_i - C_f)} \times 100\% \\
 &= \frac{8,21 \text{ mg/L}}{8,81 \text{ mg/L}} \times 100\% \\
 &= 93,17\%
 \end{aligned}$$

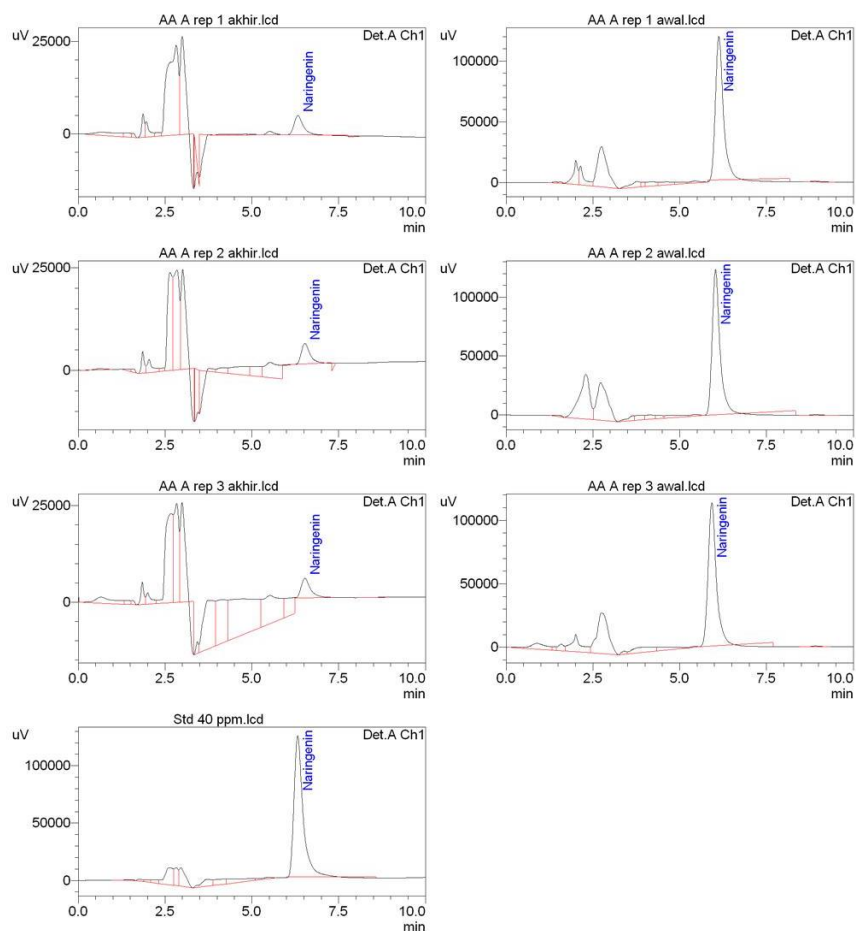
b. Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \%recovery &= \frac{\text{konsentrasi naringenin terlepas}}{\text{konsentrasi naringenin terikat } (C_i - C_f)} \times 100\% \\
 &= \frac{8,97 \text{ mg/L}}{8,13 \text{ mg/L}} \times 100\% \\
 &= 90,64\%
 \end{aligned}$$

c. Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \%recovery &= \frac{\text{konsentrasi naringenin terlepas}}{\text{konsentrasi naringenin terikat } (C_i - C_f)} \times 100\% \\
 &= \frac{8,83 \text{ mg/L}}{8,08 \text{ mg/L}} \times 100\% \\
 &= 91,43\%
 \end{aligned}$$

3. Kromatogram hasil %recovery



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#	HETP
AA A rep 1 akhir.lcd	6.323	469192	--	0.000	mg/L	918.502	272.182
AA A rep 1 awal.lcd	6.124	1717970	--	0.000	mg/L	3710.959	67.368
AA A rep 2 akhir.lcd	6.525	465388	--	0.000	mg/L	1182.426	211.430
AA A rep 2 awal.lcd	6.027	1706272	--	0.000	mg/L	3820.733	65.432
AA A rep 3 akhir.lcd	6.525	462298	--	0.000	mg/L	823.911	303.431
AA A rep 3 awal.lcd	5.921	1716437	--	0.000	mg/L	3247.281	76.987
Std 40 ppm.lcd	6.318	2191878	--	0.000	mg/L	3291.706	75.948
Average	6.252	1247062	--	0.000		2427.931	153.254
%RSD	3.780	60.164	--	0.000		56.788	68.933

Lampiran 4.13 Hasil ekstraksi dan hidrolisis daging buah jeruk Nambangan



(a)



(b)

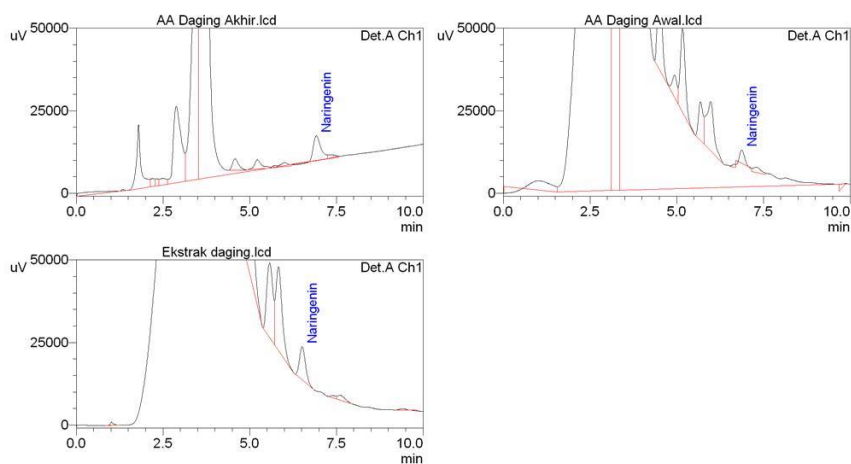
(a) Hasil ekstrak daging buah jeruk Nambangan (b) Hasil hidrolisis

Lampiran 4.14 Hasil isolasi naringenin dari daging buah jeruk Nambangan

10/31/2005 05:00:57 1 / 1

==== Shimadzu LCsolution Summary Report ====

<Summary Report>



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Naringenin

Title	Sample ID	Ret. Time	Area	Std. Conc.	Conc.	Units	Theoretical Plate#
AA Daging Akhir.lcd	UNK-0002	6.921	101036	--	0.000	mg/L	5160.088
AA Daging Awal.lcd	UNK-0010	6.876	33079	--	0.000	mg/L	11606.764
Ekstrak daging.lcd	UNK-0001	6.510	121710	--	0.000	mg/L	6145.358
Average		6.769	85275		0.000		7637.403
%RSD		3.325	54.377		0.000		45.469
Maximum		6.921	121710		0.000		11606.764
Minimum		6.510	33079		0.000		5160.088
Standard Deviation		0.225	46370		0.000		3472.687

HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
48.449	0.000	2.201	4.158
21.539	1.379	0.000	5.830
40.681	1.247	1.913	5.425
36.890	1.313	2.057	5.138
37.543	7.105	9.904	16.974
48.449	1.379	2.201	5.830
21.539	1.247	1.913	4.158
13.850	0.093	0.204	0.872