



**PENETAPAN KADAR MANGIFERIN PADA EKSTRAK DAUN MANGGA
SPESIES KWENI (*Mangifera odorata* Griff.), PAKEL (*Mangifera foetida* Lour.)
DAN KOPYOR (*Mangifera indica* L.) DENGAN METODE KCKT**

SKRIPSI

Oleh

Hidayah Dwi Renggani

NIM 122210101047

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**PENETAPAN KADAR MANGIFERIN PADA EKSTRAK DAUN MANGGA
SPESIES KWENI (*Mangifera odorata* Griff.), PAKEL (*Mangifera foetida* Lour.)
DAN KOPYOR (*Mangifera indica* L.) DENGAN METODE KCKT**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Hidayah Dwi Renggani

NIM 122210101047

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Sriati dan Ayahanda Yahman tercinta yang telah memberikan do'a dan dukungan tanpa henti-hentinya;
2. Saudaraku Septiantoro Hudananta yang selalu memberikan motivasi, semangat dan nasehat;
3. Guru-guruku yang telah memberikan ilmu untuk mengarungi kehidupan ini;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTO

Akhirnya pada bulan Ramadhan tahun ketiga dari masa pengasingan di Gua Hira,
Allah SWT menganugrahkan rahmatNya kepada Nabi Muhammad SAW

(Buku Sirah Nabawiyah)

Man Jadda Wajada

Siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil

Man Shobaro Zafira

Siapa yang bersabar akan beruntung

Man Saara Ala Darbi Washala

Siapa yang ada di jalannya akan sampai tujuan

(Buku Trilogi Negeri 5 Menara)

Sesuatu yang tidak kita dapatkan bukan berarti kita tidak mampu mencapainya karena

Allah telah menentukan yang terbaik untuk kita capai

(HDR)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hidayah Dwi Renggani

NIM : 122210101047

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penetapan Kadar Mangiferin pada Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni (*Mangifera odorata* Griff.), Pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan Kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan Metode KCKT” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Mei 2016
Yang menyatakan,

Hidayah Dwi Renggani
NIM 122210101047

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR MANGIFERIN PADA EKSTRAK DAUN MANGGA
SPESIES KWENI (*Mangifera odorata* Griff.), PAKEL (*Mangifera foetida* Lour.)
DAN KOPYOR (*Mangifera indica* L.) DENGAN METODE KCKT**

Oleh

Hidayah Dwi Renggani

NIM 122210101047

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Yuni Retnaningtyas S.Si., M.Si., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

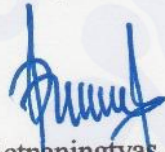
Skripsi berjudul “Penetapan Kadar Mangiferin pada Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni (*Mangifera odorata* Griff.), Pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan Kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan Metode KCKT” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 19 Mei 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

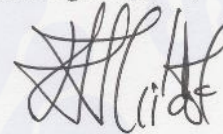
Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,



Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.
NIP.197806092005012004

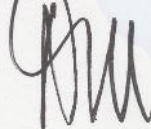
Pembimbing Anggota,



Nia Kristiningrum., S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP.198204062006042001

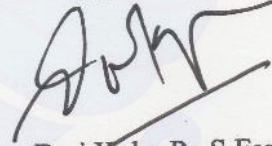
Tim Penguji:

Penguji I,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

Penguji II,

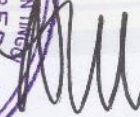


Dwi-Koko P., S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP.198504282009121004

Mengesahkan



Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Penetapan Kadar Mangiferin pada Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni (*Mangifera odorata* Griff.), Pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan Kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan Metode KCKT; Hidayah Dwi Renggani, 122210101047; 2016: 74 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tanaman mangga merupakan salah satu tanaman yang paling mudah ditemukan di wilayah Indonesia. Namun, tanaman mangga bukan termasuk tanaman asli Indonesia. Mangga yang berkembang di Indonesia diduga berasal dari India. Pemanfaatan mangga masih terbatas pada buahnya sedangkan daunnya belum dimanfaatkan sama sekali. Daun mangga mengandung berbagai senyawa kimia seperti fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan steroid. Salah satu senyawa fenolik yang ditemukan pada mangga adalah mangiferin. Jumlah senyawa kimia dalam suatu tumbuhan dipengaruhi oleh lokasi tumbuh, varietas, tingkat kematangan dan lain-lain. Daun mangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor dimana ketiga mangga ini mempunyai spesies yang berbeda dan diduga memiliki kandungan mangiferin yang berbeda. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor.

Penetapan kadar mangiferin dalam penelitian ini menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Kondisi analisis yang digunakan adalah kondisi analisis hasil optimasi yang didasarkan pada penelitian sebelumnya (Zhang *et al.*, 2012). Kondisi analisis yang optimum adalah sebagai berikut. Fase gerak metanol: aquabidest (31:69, v/v). Fase diam RPC-18. Laju alir 0,8 ml/menit. Panjang gelombang 258 nm. Volum penginjeksian 20 µl dan konsentrasi uji 10 ppm. Setelah dilakukan optimasi kondisi analisis maka dilakukan validasi metode analisis yang meliputi uji linieritas, uji batas deteksi dan kuantitasi, uji spesifisitas dan selektivitas, uji presisi dan

akurasi. Tahap selanjutnya adalah analisis sampel yang meliputi ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor yang dilakukan dengan menimbang sebanyak 5 mg masing-masing ekstrak kemudian dilarutkan dalam metanol 10 ml dan disaring dengan membran filter 0,45 μm .

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode yang digunakan dalam analisis penetapan kadar mangiferin adalah valid meliputi linier dengan koefisien korelasi (r) = 0,998, nilai V_{xo} (RSD) 3,545% dan nilai X_p 2,576 ppm. Peka dengan nilai batas deteksi 0,594 ppm dan nilai batas kuantitasi 1,980 ppm. Spesifik dan selektif. Presisi dengan nilai RSD repeatabilitas 0,766% dan nilai RSD presisi antara 1,528%. Akurat dengan nilai % *recovery* 100,53% \pm 1,9657%. Hasil analisis mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Mangiferin pada Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni (*Mangifera odorata* Griff.), Pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan Kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan Metode KCKT”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. ALLAH SWT. yang telah memberikan kami karunia kehidupan sehingga kami dapat menyelesaikan tulisan kami.
2. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Lidya Ameliana, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Yuni Retnaningtyas., S.Si., M.Si., Apt., dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. dan Bapak Dwi Koko P., S.Farm., M.Sc., Apt., selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Kedua orang tuaku Ibunda Sriati dan Ayahanda Yahman yang selama ini telah memberikan dorongan dan do'anya demi terselesaikannya karya tulis ini;
7. Saudaraku Septiantoro Hudananta yang selalu memberikan motivasi;
8. Laboran Laboratorium Kimia Analisis Bu Wayan dan Mbak Hanny yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;

9. Sahabat Novia Hilma dan Sahabat “Delapan” lainnya yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama ini;
10. Keluarga Besar Petruk Rolas FF UNEJ 2012 yang telah berjuang bersama dengan jargon “*Keep Spirit and Fighting*” untuk mewujudkan cita-cita;
11. Kawan seperjuangan *Project Mangiferin* dan Kawan *Chemistry* yang telah membantu dalam proses penyelesaian tugas akhir ini;
12. Seluruh Pengurus KARISMA Periode 2014-2015 yang telah membantu berjuang menjalankan roda kepemimpinan;
13. Kepengurusan KPUM 2015-2016 yang telah menyukseskan Pemilu Raya Fakultas Farmasi Universitas Jember;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Batasan Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Mangga Spesies	
Kweni, Pakel dan Kopyor	5
2.1.1 Mangga Spesies Kweni	5
2.1.2 Mangga Spesies Pakel	6
2.1.3 Mangga Spesies Kopyor.....	7

2.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Mangga	8
2.3 Tinjauan tentang Mangiferin.....	9
2.4 Tinjauan Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Mangiferin.....	10
2.5 Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	10
2.5.1 Deskripsi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	10
2.5.2 Cara Kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	12
2.5.3 Komponen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	12
2.5.4 Parameter Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	16
2.6 Validasi Metode Analisis	19
2.6.1 Linieritas dan Rentang.....	19
2.6.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	19
2.6.3 Selektivitas(Spesifisitas)	21
2.6.4 Presisi	21
2.6.5 Akurasi	22
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian.....	24
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.3 Populasi dan Sampel.....	24
3.3.1 Populasi	24
3.3.2 Sampel	24
3.4 Rancangan Penelitian	24
3.4.1 Rancangan Percobaan.....	24
3.4.2 Alur Penelitian.....	26
3.5 Alat dan Bahan.....	27
3.5.1 Alat.....	27
3.5.2 Bahan	27
3.6 Pengumpulan Sampel	27
3.7 Pembuatan Ekstrak Daun Mangga.....	27

3.8 Optimasi Kondisi Analisis	29
3.8.1 Optimasi Eluen.....	29
3.8.2 Optimasi Laju Alir	29
3.8.3 Optimasi Panjang Gelombang	29
3.8.4 Optimasi Konsentrasi Uji.....	30
3.9 Validasi Metode Analisis	30
3.9.1 Uji Linieritas	30
3.9.2 Uji Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)	31
3.9.3 Uji Selektivitas.....	31
3.9.4 Uji Presisi.....	32
3.9.5 Uji Akurasi.....	32
3.10 Penetapan Kadar Mangiferin dalam Sampel	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Optimasi Kondisi Analisis	34
4.1.1 Optimasi Eluen.....	34
4.1.2 Optimasi Laju Alir	35
4.1.3 Optimasi Panjang Gelombang	36
4.1.4 Optimasi Konsentrasi Uji.....	37
4.2 Validasi Metode Analisis	38
4.2.1 Linieritas	38
4.2.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	40
4.2.3 Selektivitas/Spesifisitas.....	42
4.2.4 Presisi	42
4.2.5 Akurasi.....	44
4.3 Penetapan Kadar Mangiferin dalam Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni, Pakel dan Kopyor	45
BAB 5. PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan	47

5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	52



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel	22
2.2 Persen <i>recovery</i> analit pada konsentrasi yang berbeda.....	23
4.1 Perbandingan parameter efisiensi kromatogram pada komposisi eluen yang berbeda	35
4.2 Perbandingan parameter efisiensi kromatogram standar pada laju alir yang berbeda	35
4.3 Perbandingan parameter efisiensi kromatogram sampel pada laju alir yang berbeda.....	36
4.4 Perbandingan nilai parameter efisiensi kromatogram pada konsentrasi analit yang berbeda.....	37
4.5 Kondisi optimum analisis mangiferin dengan KCKT	38
4.6 Hasil uji linieritas mangiferin	39
4.7 Hasil uji batas deteksi dan batas kuantitasi mangiferin	41
4.8 Hasil uji repeatabilitas mangiferin.....	43
4.9 Hasil uji presisi antara mangiferin.....	43
4.10 Hasil akurasi mangiferin.....	44
4.11 Kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies pakel	45
4.12 Kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kopyor....	46
4.13 Hasil analisis <i>ANOVA</i> kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun mangga spesies kweni.....	6
2.2 Daun mangga spesies pakel.....	7
2.3 Daun mangga spesies kopyor.....	8
2.4 Struktur mangiferin.....	9
2.5 Instrumentasi KCKT.....	11
2.6 Prinsip pemisahan KCKT.....	12
2.7 Pengukuran derajat asimetri puncak.....	18
3.1 Diagram alur penelitian analisis kuantitatif mangiferin dalam ekstrak daun mangga dengan metode KCKT.....	25
3.2 Diagram alur pembuatan ekstrak daun mangga.....	27
4.1 Spektra mangiferin pada panjang gelombang 200-600 nm.....	37
4.2 Kurva linieritas konsentrasi berbanding luas area mangiferin pada penentuan linieritas.....	39
4.3 Kurva linieritas konsentrasi berbanding luas area mangiferin pada penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi.....	41
4.4 Kromatogram ekstrak daun mangga spesies kweni.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Lembar identifikasi tanaman	52
B. Data optimasi eluen	53
C. Data optimasi laju alir.....	57
D. Hasil optimasi panjang gelombang.....	58
E. Data optimasi konsentrasi uji.....	59
F. Data dan perhitungan linieritas	60
G. Data dan perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi.....	61
H. Hasil uji selektivitas/spesifitas.....	63
I. Data dan perhitungan hasil pengujian presisi	64
J. Data dan perhitungan hasil pengujian akurasi	67
K. Penetapan kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies paku dan kopyor	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mangga merupakan salah satu tanaman yang paling mudah ditemukan di wilayah Indonesia. Walau begitu, mangga bukan termasuk tanaman asli Indonesia. Mangga yang berkembang di Indonesia diduga berasal dari India. Dari India mangga menyebar ke Semenanjung Malaysia dan sekitarnya. Penyebaran mangga hampir merata di seluruh Indonesia (Pracaya, 2005). Dalam hal produksi, Indonesia termasuk lima negara terbesar produksi mangga (FAO, 2004). Namun, saat ini pemanfaatan mangga masih terbatas pada buahnya sedangkan daunnya belum dimanfaatkan sama sekali.

Daun mangga mengandung berbagai senyawa kimia seperti fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan steroid (Nuryanto *et al.*, 2014). Salah satu senyawa fenol yang ditemukan pada mangga adalah mangiferin dan dapat ditemukan pada semua bagian tanaman mangga yakni buah (Luo *et al.*, 2012), batang (Morais *et al.*, 2012) dan daun (Jutiviboonsuk dan Sardsaengjun, 2010). Mangiferin merupakan senyawa fenolik yang memiliki banyak aktivitas farmakologi dan menjadi salah satu fitokimia yang sangat penting (Luo *et al.*, 2012). Mangiferin memiliki aktivitas antiinflamasi, immunomodulator, antitumor, antioksidan, antidiabetes, antialergi, antihiperlipidemia dan antikarsinogenik (Talamond *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2012). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa mangiferin dapat mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler (Mirza *et al.*, 2013).

Tanaman mangga termasuk dalam genus *Mangifera* yang terdiri dari 62 spesies (Pracaya, 2005). Jumlah senyawa kimia yang terkandung dalam daun mangga juga berbeda dipengaruhi oleh lokasi tumbuh, varietas, tingkat kematangan dan lain-lain (Luo *et al.*, 2012). Daun mangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor dimana ketiga mangga ini mempunyai spesies

yang berbeda dan diduga memiliki kandungan mangiferin yang berbeda. Ketiga tanaman tersebut juga mudah ditemukan. Banyaknya spesies daun mangga menunjukkan pentingnya penelitian tentang spesies yang mengandung kadar mangiferin tertinggi yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai obat tradisional.

Penetapan kadar mangiferin dapat dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (Jutiviboonsuk dan Sardsaengjun, 2010), metode kromatografi cair spektrometri massa (KC-MS) (Campa *et al.*, 2012), metode spektrofotodensitometri (Soetarno *et al.*, 1991) dan metode kromatografi cair kinerja tinggi (Kulkarni *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) karena metode ini mempunyai kelebihan yaitu mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali dan mudah melakukan *sample recovery* (Putra, 2005).

Untuk membuktikan bahwa parameter-parameter kinerja dalam penetapan kadar mangiferin menggunakan KCKT memberikan hasil yang akurat, spesifik, reproduisibel dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis maka perlu dilakukan validasi metode (Rohman, 2009). Pada penelitian ini, parameter validasi yang diuji meliputi linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi, selektivitas, presisi dan akurasi.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijabarkan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut.

1. Bagaimanakah kondisi optimum penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.)?
2. Apakah penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.) dengan metode KCKT dapat memberikan hasil analisis yang valid yaitu linier, peka, selektif, presis dan akurat?

3. Apakah ada perbedaan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.), pakel (*Mangifera foetida* Lour.), dan kopyor (*Mangifera indica* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab rumusan masalah yang ada, yaitu sebagai berikut.

1. Menentukan kondisi optimum penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.) dengan metode KCKT.
2. Menentukan validitas metode yang meliputi parameter kelinieritas, kepekaan, selektivitas, keseksamaan serta keakuratan penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.) dengan metode KCKT.
3. Menentukan perbedaan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.), pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan kopyor (*Mangifera indica* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut.

1. Memberikan data ilmiah kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.), pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan metode KCKT.
2. Memberikan informasi awal mengenai perbedaan kadar mangiferin yang ada pada daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.), pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan kopyor (*Mangifera indica* L.) dengan metode KCKT sehingga nantinya dapat dimanfaatkan sebagai antidiabetes alami.
3. Bagi peneliti dapat mengasah kreativitas dan keahlian dibidang analisis farmasi.

1.5 Batasan Penelitian

Adapun batasan dalam penelitian ini yaitu daun mangga spesies kopyor (*Mangifera indica* L.) yang digunakan berasal dari wilayah Desa Sidomlanean, Kecamatan Kedungpring, Kabupaten Lamongan sedangkan daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.) dan pakel (*Mangifera foetida* Lour.) yang digunakan berasal dari wilayah Desa Gambiran, Kecamatan Kalisat, Kabupaten Jember.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Mangga Spesies Kweni, Pakel dan Kopyor

2.1.1 Mangga Spesies Kweni

a. Klasifikasi

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2015), klasifikasi dari tanaman mangga spesies kweni adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anarcadiaceae
Genus	: <i>Mangifera</i>
Spesies	: <i>Mangifera odorata</i> Griff.

b. Morfologi

Pohon mangga spesies kweni tingginya bisa mencapai 20-30 m. Penyebarannya terdapat di dataran rendah sampai pada ketinggian 1.000 mdpl. Daunnya memiliki permukaan yang bergelombang, berujung runcing, dan bagian pangkalnya meruncing. Panjang daun 25 cm dan lebarnya 6 cm (Pracaya, 2005). Gambar daun mangga spesies kweni dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Bunga mangga spesies kweni termasuk bunga majemuk, berbentuk kerucut dengan panjang 35 cm. Warna bunga putih dengan bagian tengah berwarna ungu. Tangkai bunga (malai) berwarna hijau. Buah mangga spesies kweni berbentuk lonjong, ujung bulat, tidak berlekuk dan berparuh. Memiliki kulit tebal, permukaannya halus, berlilin, dengan bintik kelenjar hijau keputihan. Buah yang sudah masak pangkal buah serta ujungnya masih tetap hijau. Daging buah berwarna kuning, berair dan berserat

kasar. Aroma khas mangga spesies kweni sangat kuat. Rasanya manis dengan sedikit rasa terpentin (Pracaya, 2005).



Gambar 2.1 Daun mangga spesies kweni (Sumber: Dokumentasi pribadi)

2.1.2 Mangga Spesies Pakel

a. Klasifikasi

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2015), klasifikasi dari tanaman mangga spesies pakel adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Subdivisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Sapindales
Famili : Anarcadiaceae
Genus : *Mangifera*
Spesies : *Mangifera foetida* Lour.

b. Morfologi

Mangga spesies pakel disebut juga bacang. Pohonnya bisa tumbuh setinggi 20-25 m. Mahkota pohon berdiameter 10 m dan berdaun lebat. Daunnya tunggal, ujung daun runcing, pangkal juga meruncing memiliki permukaan bergelombang dan

mengkilat. Panjang daun sekitar 42 cm dan lebar 17 cm. Gambar 2.2 menunjukkan daun mangga spesies pakel.



Gambar 2.2 Daun mangga spesies pakel (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Bunga mangga spesies pakel berupa bunga majemuk berbentuk kerucut, panjang sekitar 35 cm. Warna bunga putih dengan bagian tengah berwarna ungu kemerahan. Buahnya berbentuk bulat, lonjong sedikit. Panjangnya 12-15 cm. Kulit buah berwarna hijau kelabu dengan permukaan bercak-bercak coklat dengan banyak getah. Daging buah berserat kasar. Rasa asam sedikit manis, sedikit rasa terpentin, bau keras ciri khas (Pracaya, 2005).

2.1.3 Mangga Spesies Kopyor

a. Klasifikasi

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2015), klasifikasi dari tanaman mangga spesies kopyor adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales

Famili : Anarcadiaceae
Genus : *Mangifera*
Spesies : *Mangifera indica* L. 'Kopyor'

b. Morfologi

Tinggi pohon mangga spesies kopyor bisa mencapai 10-40 m. Bentuk daunnya lonjong, ujung daun runcing, bagian pangkal meruncing. Panjang daun sekitar 19 cm, lebar sekitar 5 cm. Gambar 2.3 menunjukkan daun mangga spesies kopyor. Bunga majemuk, berbentuk seperti kerucut. Panjang tandan bunga sekitar 24 cm. Warna bunga kuning sedikit keunguan, tangkai hijau sedikit keunguan. Bentuk buahnya tidak bulat mulus (sedikit mengembung), daging buah berserat kasar, berair banyak, berserat halus dan rasanya manis (Pracaya, 2005).



Gambar 2.3 Daun mangga spesies kopyor (Sumber: Dokumentasi pribadi)

2.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Mangga

Daun mangga memiliki banyak kandungan kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, steroid, triterpenoid, polifenol, monoterpen dan seskuiterpen (Syah *et al.*, 2015). Salah satu senyawa fenol yang ditemukan pada daun mangga adalah mangiferin.

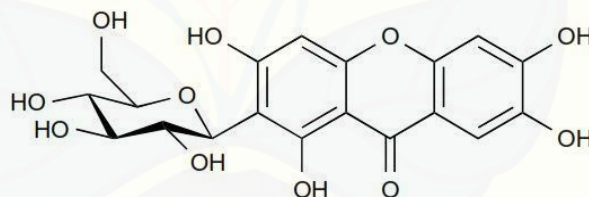
Daun mangga secara tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti leukorea, disentri, bonkritis, gangguan tenggorokan, optalmia, asma, laksatif, diuretik dan afrodisiak (Singh *et al.*, 2009). Hasil penelitian yang dilakukan

oleh Syah *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangga berpotensi sebagai antidiabetes. Daun mangga juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (Nuryanto *et al.*, 2014).

2.3 Tinjauan Tentang Mangiferin

Mangiferin merupakan senyawa golongan xanton yaitu *xanthone C-glucosyl*. Mangiferin memiliki cincin aromatik terkondensasi yang berikatan dengan glukosa melalui ikatan C-C. Struktur mangiferin, *2-C-β-D-glucopyranosyl-1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone*, ditemukan oleh Iseda pada tahun 1957 (Talamond *et al.*, 2008).

Struktur mangiferin memenuhi persyaratan aturan Lipinski sebagai kandidat obat yaitu memiliki berat molekul kurang dari 500, nilai log P=2,73, ikatan donor hidrogennya kurang dari 5 dan ikatan hidrogen aseptor kurang dari sepuluh. Selain itu mangiferin juga memiliki bioavailabilitas yang tinggi pada pemberian obat secara per oral (Mirza *et. al.*, 2013). Struktur mangiferin dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur mangiferin (Sumber: Mirza *et al.*, 2013)

Mangiferin merupakan produk alam yang memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti antioksidan, analgesik, antidiabetes, anti inflamasi, antitumor, antimikroba dan peningkat stamina atau daya tahan tubuh (Jutiviboonsuk dan Sardsaengjun, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Morais *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa mangiferin memiliki aktivitas yang dapat menghambat waktu transit pada saluran grastointestinal. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa mangiferin dapat mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler (Mirza *et al.*, 2013).

2.4 Tinjauan Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Mangiferin

Penelitian yang telah dilakukan oleh Luo *et al.* (2012) yaitu analisis dan penetapan kadar mangiferin pada ekstrak buah mangga menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Penelitian ini menggunakan sistem elusi gradien dengan fase gerak yang terdiri dari dua campuran pelarut yaitu 2% asam asetat (A) dan asetonitril: 0,5% asam asetat (1:1, v/v) (B). Detektor yang digunakan adalah *photodiode-array* (PDA).

Penelitian lain dalam penetapan kadar mangiferin pada daun mangga dilakukan oleh Jutiviboonsuk dan Sardsaengjun (2010) dimana penetapan kadar mangiferin dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. Pada penelitian tersebut dilakukan dengan optimasi ekstraksi untuk mendapatkan kandungan mangiferin tertinggi. Metode ekstraksi optimum yang dipilih yakni menggunakan pelarut metanol dengan kondisi analisis menggunakan fase gerak etil asetat: aquades: metanol: asam format (8:1:1:2). Penelitian penetapan kadar mangiferin juga dilakukan pada daun kopi menggunakan metode KCKT dengan menggunakan sistem elusi gradien dengan fase gerak yang terdiri dari dua campuran pelarut yaitu pelarut A (air dan asam asetat, 98:2, v/v) dan pelarut B (air, metanol, dan asam asetat, 5:90:5, v/v/v).

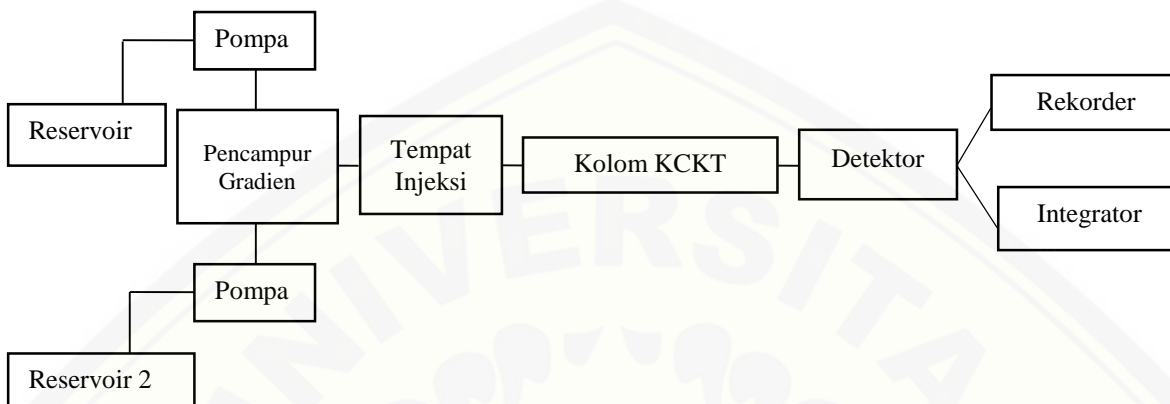
2.5 Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

2.5.1 Deskripsi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai analit secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

KCKT atau disebut juga *High Performance Liquid Chromatography* merupakan suatu metode pemisahan canggih dalam analisis farmasi yang dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar. Titik beratnya adalah untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap dan tidak stabil suhu tinggi, yang tidak

bisa dianalisis dengan kromatografi gas (Epshtein, 2004). Instrumentasi dari KCKT dapat dilihat pada Gambar 2.5.



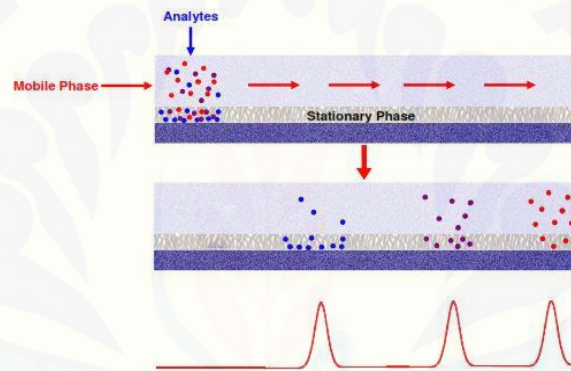
Gambar 2.5 Instrumentasi KCKT (Sumber: Putra, 2005)

Menurut (Putra, 2005), kelebihan KCKT dibandingkan dengan metode lain, antara lain :

- a. Mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran
- b. Resolusinya baik
- c. Mudah melaksanakannya
- d. Kecepatan analisis dan kepekaannya tinggi
- e. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi/ kerusakan bahan yang dianalisis
- f. Dapat digunakan bermacam-macam detektor
- g. Kolom dapat digunakan kembali
- h. Mudah melakukan *recovery* cuplikan
- i. Tekniknya tidak begitu tergantung pada keahlian operator dan reproduibilitasnya lebih baik
- j. Instrumennya memungkinkan untuk bekerja secara otomatis dan kuantitatif.

2.5.2 Cara Kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan dimana analit atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan analit-analit tersebut melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan analit tersebut diatur oleh distribusi dalam fase gerak dan fase diam. Untuk mendapatkan hasil analisis yang baik, diperlukan penggabungan secara tepat dari kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom dan ukuran sampel (Rohman, 2009). Mekanisme pemisahan analit dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Prinsip pemisahan KCKT (Sumber: Koerner, 2013)

2.5.3 Komponen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

a. Fase Gerak

Fase gerak dalam KCKT adalah berupa zat cair dan disebut juga dengan eluen atau pelarut. Fase gerak di dalam KCKT selain berfungsi sebagai pembawa komponen-komponen campuran menuju detektor, fase gerak dapat berinteraksi dengan solut-solut. Fase gerak merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan proses pemisahan (Hendayana, 2006). Sebelum digunakan, fase gerak harus dihilangkan gasnya terlebih dahulu (*degassing*) untuk menghindari berkumpulnya gas dengan komponen lain pada pompa dan detektor. Fase gerak juga harus disaring untuk menghindari partikel-partikel kecil yang dapat terkumpul dalam kolom atau tabung yang sempit sehingga

mengakibatkan kekosongan pada kolom atau tabung tersebut (Gandjar dan Rohman, 2011).

Zat cair yang akan digunakan sebagai fase gerak harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain:

- 1) Zat cair harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk sampel yang akan dianalisis
- 2) Zat cair harus murni sekali untuk menghindarkan masuknya kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram
- 3) Zat cair harus jernih sekali untuk menghindarkan penyumbatan pada kolom
- 4) Zat cair harus mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun
- 5) Zat cair tidak kental, umumnya tidak melebihi 0,5 cP (centi Poise)
- 6) Sesuai dengan detektor yang berfungsi untuk mendeteksi analit yang keluar dari kolom analitik (Hendayana, 2006).

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Fase normal (fase diam lebih polar dari pada fase gerak) kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut dan untuk fase terbalik (fase diam kurang polar dari pada fase gerak) kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar dan Rohman, 2011).

b. Kolom

Kolom adalah jantung kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

- 1) Kolom analitik: diameter dalam 2-6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Untuk kemasan *pellicular*, panjang yang digunakan adalah 50-100 cm. Untuk kemasan poros mikropartikel, 10-30 cm. Dewasa ini ada yang 5 cm.

- 2) Kolom preparatif: umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 -100 cm.

Kolom umumnya dibuat dari *stainless steel* dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi, terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi. Pengepakan kolom tergantung pada model KCKT yang digunakan *Liquid Solid Chromatography (LSC)*, *Liquid Liquid Chromatography (LLC)*, *Ion Exchange Chromatography (IEC)* ataupun *Exclusion Chromatography (EC)* (Putra, 2005).

- c. Pompa

Untuk menggerakkan fase gerak melalui kolom diperlukan pompa. Pompa harus mampu menghasilkan tekanan 6000 Psi pada kecepatan alir 0,1–10 ml/menit. Pompa ada 2 jenis yaitu pompa volume konstan dan pompa tekanan konstan. Pompa terbuat dari bahan yang *inert* terhadap semua pelarut. Bahan yang umum digunakan adalah gelas baja antikarat dan teflon. Aliran pelarut dari pompa harus tanpa denyut untuk menghindari hasil yang menyimpang pada detektor.

- d. Injektor

Cuplikan harus dimasukkan ke dalam pangkal kolom (kepala kolom), diusahakan agar sesedikit mungkin terjadi gangguan pada kemasan kolom.

Ada tiga tipe injektor, yaitu:

- 1) Hentikan aliran/*stop flow*

Aliran dihentikan, injeksi dilakukan pada kinerja atmosfer, sistem tertutup dan aliran dilanjutkan lagi. Teknik ini bisa digunakan karena difusi di dalam aliran kecil dan resolusi tidak dipengaruhi.

- 2) Septum

Injektor ini langsung ke aliran fase gerak, umumnya sama dengan yang digunakan pada kromatografi gas. Injektor ini dapat digunakan pada kinerja sampai 60-70 atmosfer. Tetapi septum ini tidak tahan dengan semua pelarut-pelarut kromatografi cair. Disamping itu, partikel kecil dari septum yang terkoyak (akibat jarum injektor) dapat menyebabkan penyumbatan.

3) Katup putaran (*loop valve*)

Tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar dari 10 µl dan dilakukan dengan cara otomatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi *LOAD*, sampel diisi ke dalam loop pada kinerja atmosfer, bila *VALVE* difungsikan, maka sampel akan masuk ke dalam kolom.

e. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa dan golongan detektor yang spesifik seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia.

1) Detektor Spektrofotometri UV-Vis

Detektor jenis ini merupakan detektor yang paling banyak digunakan dan sangat berguna untuk analisis di bidang farmasi karena kebanyakan senyawa obat mempunyai struktur yang dapat menyerap sinar UV-Vis. Sel detektor biasanya berupa tabung dengan diameter 1 mm dan panjang celah optiknya 10 mm, serta diatur sedemikian rupa sehingga mampu menghilangkan pengaruh indeks bias yang dapat mengubah absorbansi terukur (Watson, 2009).

Detektor spektrofotometri UV-Vis dapat berupa detektor dengan panjang gelombang tetap serta detektor dengan panjang gelombang yang bervariasi. Detektor dengan panjang gelombang yang bervariasi lebih berguna dibanding detektor dengan panjang gelombang yang tetap karena seorang analis dapat memilih panjang gelombang yang memberikan sensitivitas tinggi (Watson, 2009).

2) Detektor Fluoresensi

Fluoresensi merupakan fenomena luminensi yang terjadi ketika suatu senyawa menyerap sinar UV atau visibel lalu mengemisikannya pada panjang gelombang yang lebih besar. Tidak semua senyawa obat mempunyai fluoresen sehingga detektor fluoresensi ini sangat spesifik. Kelemahan detektor ini terkait dengan rentang

linieritasnya yang sempit yakni antara 10-100, sementara keunggulan dari detektor ini yaitu lebih sensitif dan selektif (Watson, 2009).

3) Detektor *photodiode-array* (PDA)

Detektor PDA merupakan detektor UV-Vis dengan berbagai keistimewaan. Detektor ini mampu memberikan kumpulan kromatogram secara simultan pada panjang gelombang yang berbeda dalam sekali proses (*single run*) (Watson, 2009).

4) Detektor Indeks Bias

Detektor indeks bias merupakan detektor yang bersifat universal yang mampu memberikan respon pada setiap zat terlarut. Detektor ini akan merespon setiap perbedaan indeks bias antara analit (zat terlarut) dengan pelarutnya (fase gerak). Kelemahan yang utama dari detektor ini adalah bahwa indeks bias dipengaruhi oleh suhu, oleh karena itu suhu fase gerak, kolom dan detektor harus dikendalikan secara seksama (Watson, 2009).

5) Detektor Elektrokimia

Detektor elektrokimia yang paling banyak digunakan yaitu detektor konduktivitas dan detektor amperometri. Fase gerak yang digunakan harus mengandung elektrolit pendukung sehingga fase geraknya harus bersifat polar. Keuntungan detektor ini yaitu terkait dengan kepekaannya yang tinggi, sementara kelemahannya yaitu detektor ini membutuhkan keterampilan dan latihan yang cukup untuk mengoperasikannya supaya didapatkan garis dasar (*baseline*) yang stabil (Watson, 2009).

2.5.4 Parameter Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Parameter baik atau tidaknya suatu kromatografi didasarkan pada beberapa faktor, antara lain waktu retensi, faktor kapasitas, efisiensi kolom, dan resolusi.

a. Efisiensi kolom

Salah satu karakteristik sistem kromatografi yang paling penting adalah efisiensi atau jumlah lempeng teoritis (N). Ukuran efisiensi kolom adalah jumlah lempeng (*plate number*, N) yang didasarkan pada konsep lempeng teoritis pada destilasi. Bilangan

lempeng (N) yang tinggi disyaratkan untuk pemisahan yang baik yang nilainya sebanding dengan semakin panjangnya kolom (L) dan semakin kecilnya nilai HETP. Istilah HETP/ *High Equivalent of Theoretical Plate* merupakan tinggi ekivalen lempeng teoritis, yang mana merupakan panjang kolom yang dibutuhkan untuk menghasilkan satu lempeng teoritis. Kolom yang baik akan mempunyai bilangan lempeng yang tinggi, dan karenanya kolom yang baik mempunyai nilai H yang rendah. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin tinggi bilangan lempeng teoritis. Kondisi optimum diperoleh dengan melihat hubungan antara tinggi lempeng teoritis dan kecepatan alir (Gandjar dan Rohman, 2011).

b. Resolusi (daya pisah)

Kolom yang lebih efisien akan mempunyai resolusi yang baik. Tingkat pemisahan komponen dalam suatu campuran dengan metode kromatografi direfleksikan dalam kromatogram yang dihasilkan. Untuk hasil pemisahan yang baik, puncak-puncak dalam kromatogram harus terpisah secara sempurna dari puncak lainnya dengan sedikit tumpang tindih atau tidak tumpang tindih. Resolusi didefinisikan sebagai perbedaan antara waktu retensi 2 puncak yang saling berdekatan ($\Delta t_R = \Delta t_{R2} - \Delta t_{R1}$) dibagi dengan rata-rata lebar puncak $(W1 + W2)/ 2$ atau bisa digambarkan dengan rumus:

$$R_s = \frac{2\Delta t_R}{(W1+W2)} \quad (2.1)$$

R_s = Resolusi

$2\Delta t_R$ = Perbedaan waktu retensi dua puncak

$W1$ = Lebar Puncak 1

$W2$ = Lebar Puncak 2

Persyaratan nilai resolusi yang baik harus mendekati atau lebih dari 1,5 karena akan memberikan pemisahan puncak yang baik (Gandjar dan Rohman, 2011).

c. Faktor Asimetri

Suatu situasi yang menunjukkan kinerja kromatografi yang kurang baik adalah ketika ditemukan suatu puncak yang mengalami pengekoran (*tailing*) sehingga

menyebabkan puncak tidak setangkup atau tidak simetri. Kromatogram yang memberikan harga $TF=1$ menunjukkan bahwa kromatogram tersebut bersifat setangkup atau simetris. Harga $TF>1$ menunjukkan bahwa kromatogram mengalami pengekoran (*tailing*). Semakin besar TF maka kolom yang dipakai semakin kurang efisien. Dengan demikian harga TF dapat digunakan untuk melihat efisiensi kolom kromatogram (Gandjar dan Rohman, 2011).

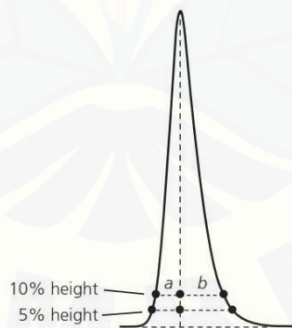
Ada dua cara yang digunakan untuk pengukuran derajat asimetri puncak, yakni faktor ikutan dan faktor asimetri. Faktor ikutan/*tailing factor* (Tf) seperti yang diterangkan dalam Farmakope Amerika Serikat (USP) Edisi Ketiga puluh dihitung dengan menggunakan lebar puncak pada ketinggian 5%, rumusnya dituliskan sebagai berikut:

$$Tf = \frac{a+b}{2a} \quad (2.2)$$

Tf = Faktor ikutan/*tailing factor*

a, b = Setengah lebar puncak pada ketinggian 5%

Dengan nilai a dan b merupakan setengah lebar puncak pada ketinggian 5% seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Pengukuran derajat asimetri puncak (Sumber: Dolan, 2003)

Sementara itu, faktor asimetri/*asymmetry factor* (As) dihitung dengan rumus berikut:

$$As = \frac{b}{a} \quad (2.3)$$

As = Faktor Asimetri

a,b = Setengah lebar setengah lebar puncak pada ketinggian 10%

Namun, nilai a dan b dalam perhitungan faktor asimetri merupakan setengah lebar puncak pada ketinggian 10%. Jika nilai a sama dengan b, maka faktor ikutan dan asimetri bernilai 1. Kondisi ini menunjukkan bentuk puncak yang simetris sempurna (Dolan, 2003).

2.6 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Menurut *United States Pharmacopeia* (USP), ada 8 langkah dalam validasi metode yakni presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantitasi, spesifisitas, linieritas dan rentang, ketangguhan (*ruggednes*), serta ketahanan (*robustness*).

2.6.1 Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Huber, 2007).

2.6.2 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantitasi. Batas deteksi merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit diatas atau dibawah nilai tertentu. Batas kuantitasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam

sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Rohman, 2009).

Batas deteksi menurut Harmita (2004), jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

$$Q = \frac{k \times S_b}{S_1} \quad (2.4)$$

- Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)
 K = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitasi
 S_b = Simpangan baku respon analitik dari blanko
 S₁ = Arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis y=a+bx)

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ($S_{y/x}$).

- a. Batas Deteksi (Q)

Karena k=3 atau 10 simpangan baku (S_b)= $S_{y/x}$, maks

$$Q = \frac{3 S_{y/x}}{S_1}$$

- b. Batas Kuantitasi (Q)

$$Q = \frac{10 S_{y/x}}{S_1}$$

(Huber, 2007).

2.6.3 Selektivitas (Spesifisitas)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Suatu metode dikatakan spesifik apabila mampu mengukur analit tanpa diganggu oleh komponen lain. Sedangkan metode dikatakan selektif apabila mampu mengukur analit dalam campuran berbagai komponen lain (kontaminan, hasil degradasi, dan matriks) (Huber, 2007). Pada metode analisis kromatografi, selektivitas ditentukan melalui perhitungan daya resolusinya (R_s). Resolusi analit dengan zat lain sebaiknya lebih dari 1,5. Bila resolusinya kecil ($<1,2$) perlu dilakukan optimalisasi lagi dari kondisi analisis atau kondisi kromatografi yang dilakukan (Harmita, 2004).

2.6.4 Presisi

Presisi atau keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Berdasarkan rekomendasi ICH (*The International Conference on the Harmonisation*), keseksamaan dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda yaitu keterulangan (*repeatability*), keseksamaan antara (*intermediet precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*).

- a. Keterulangan adalah ketepatan pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatan, tempat, maupun waktu.
- b. Keseksamaan antara yaitu ketepatan pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatan, tempat maupun waktu.
- c. Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Pada pengujian kromatografi cair kinerja tinggi, nilai RSD antara 1-2% biasanya dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah banyak, sedangkan untuk senyawa-senyawa dengan kadar yang sedikit, RSD berkisar antara 5-

15% (Rohman, 2009). Kriteria penerimaan koefisien variasi pada uji presisi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada sampel

Analit pada matrik sampel (%)	Unit	RSD (%)
100	100%	1,3
≥ 10	10%	2,8
≥ 1	1%	2,7
$\geq 0,01$	0,1%	3,7
0,01	100 ppm	5,3
0,001	10 ppm	7,3
0,000.1	1 ppm	11
0,000.01	100 ppb	15
0,000.001	10 ppb	21
0,000.000.1	1 ppb	30

Sumber : Huber (2007).

2.6.5 Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Akurasi dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Akurasi hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Akurasi yang tinggi dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas

sesuai prosedur (Harmita, 2004). Rentang % *recovery* yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Persen *recovery* analit pada konsentrasi yang berbeda

Analit pada matrik sampel (%)	Unit	Rata-rata yang diperoleh (%)
100	100%	98-102
≥ 10	10%	98-102
≥ 1	1%	97-103
$\geq 0,01$	0,1%	95-105
0,01	100 ppm	90-107
0,001	10 ppm	80-110
0,000.1	1 ppm	80-110
0,000.01	100 ppb	80-110
0,000.001	10 ppb	60-115
0,000.000.1	1 ppb	40-120

Sumber : Huber (2007).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *True Experimental Laboratories* yang merupakan penelitian yang dilakukan di laboratorium.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi, Universitas Jember mulai bulan November tahun 2015.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Pohon mangga yang tumbuh di wilayah Desa Gambiran, Kecamatan Kalisat, Kabupaten Jember dan Desa Sidomlangean, Kecamatan Kedungpring, Kabupaten Lamongan.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangga spesies kweni (*Mangifera odorata* Griff.), pakel (*Mangifera foetida* Lour.) dan kopyor (*Mangifera indica* L.).

3.4 Rancangan Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan

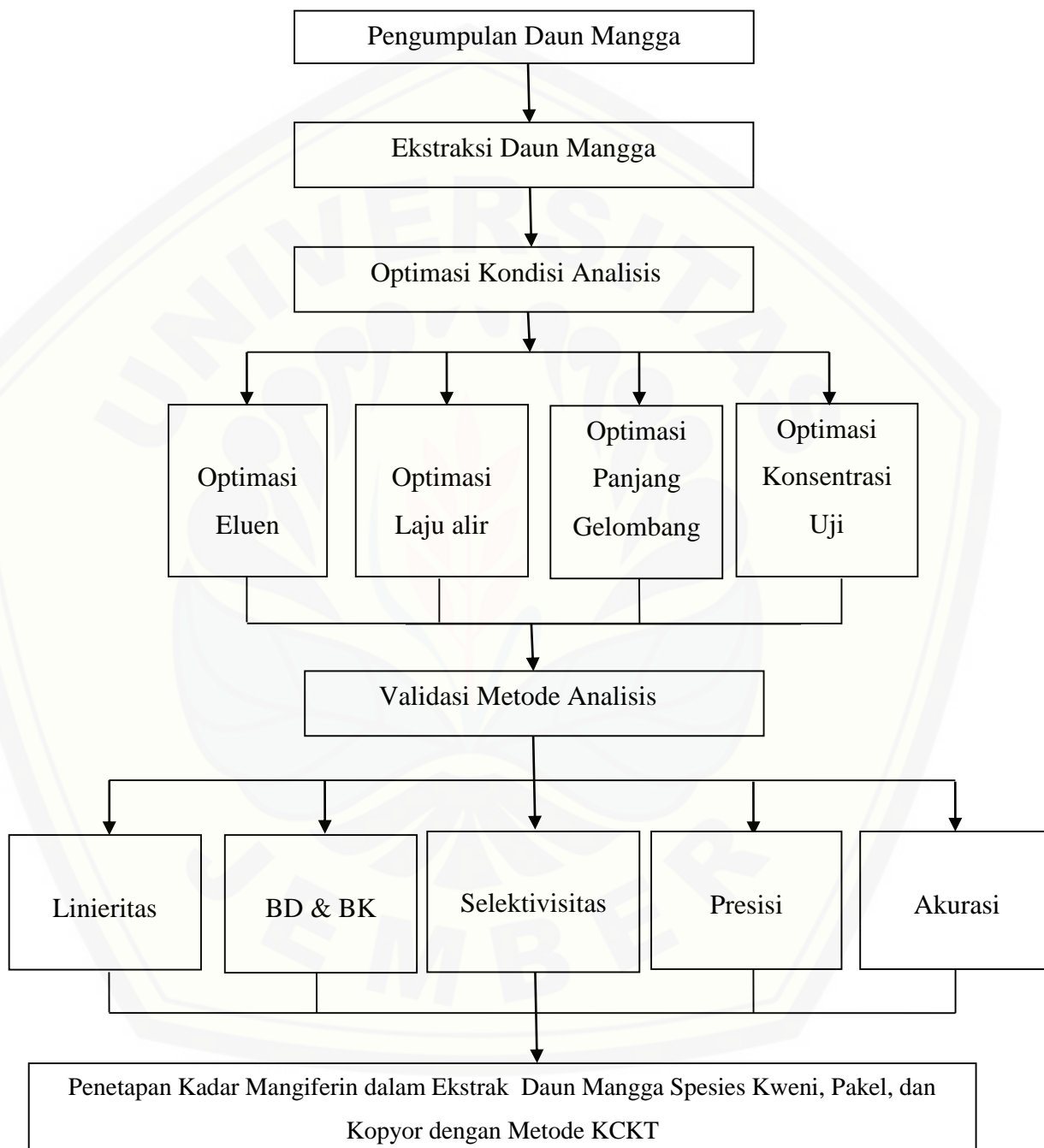
Pada penelitian ini dilakukan validasi metode dan penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor menggunakan metode KCKT. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu tahap pertama dilakukan optimasi kondisi analisis untuk memperoleh kondisi optimum untuk analisis.

Kemudian dilakukan validasi metode analisis dengan variabel analisa meliputi linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi (BD dan BK), selektivitas, presisi, dan akurasi. Setelah metode valid, dilakukan penetapan kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor.



3.4.2 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat dibawah ini



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian analisis kuantitatif mangiferin dalam ekstrak daun mangga dengan metode KCKT

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah KCKT Shimadzu Prominance Kolom RPC-18 Chibar® 250-4,6 (detektor UV-Vis), oven, timbangan analitik Sartorius, blender, *hot plate*, *beaker glass* 1000 ml dan 100 ml (Pyrex), erlenmeyer 250 ml (Pyrex), pipet mikro, pipet volume, bola pipet, gelas ukur 100 ml dan 50 ml (Pyrex), *rotary evaporator*, cawan porselen, gelas ekstrak, batang pengaduk, spatula, corong buchner, vial, *ultrasonic cleaner* dan *solvent filter*.

3.5.2 Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar mangiferin (Sigma-Aldrich), metanol p.a (Sigma-Aldrich), metanol teknis, asam fosfat teknis, aquabidest (WIDA WI™ Unicap), membran filter 0,45 µm dan sampel ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan mangga spesies kopyor.

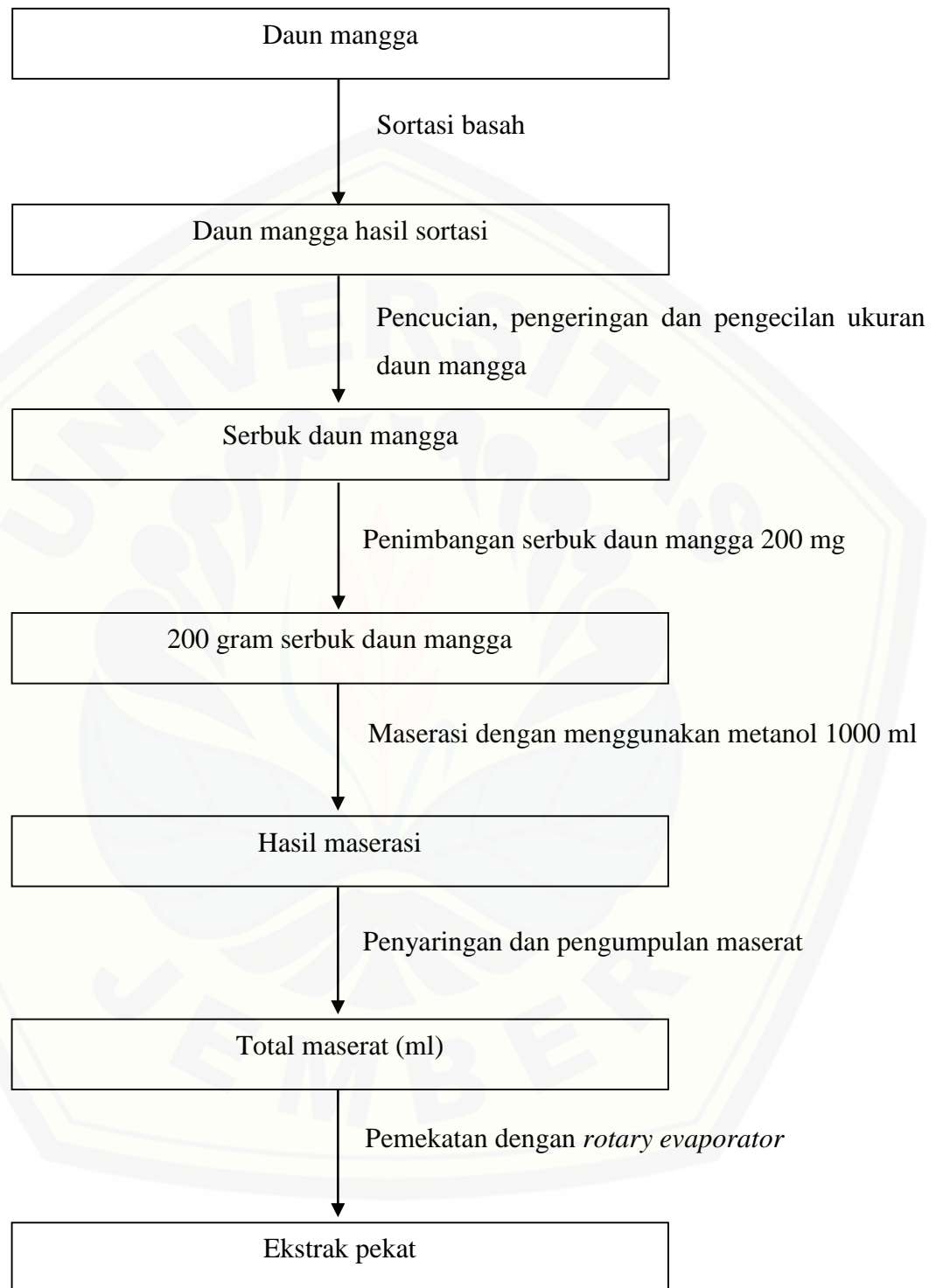
3.6 Pengumpulan Sampel

Peneliti mengambil sampel daun mangga di dua wilayah yaitu Desa Sidomlangan, Kecamatan Kedungpring, Kabupaten Lamongan dan Desa Gambiran, Kecamatan Kalisat, Kabupaten Jember.

Pengumpulan sampel dilakukan berdasarkan tujuan peneliti yaitu untuk melakukan validasi metode dan menetapkan kadar mangiferin pada daun mangga spesies kweni, pakel dan kopyor.

3.7 Pembuatan Ekstrak Daun Mangga

Proses ekstraksi daun mangga dilakukan dengan cara maserasi seperti yang terlihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Diagram alur pembuatan ekstrak daun mangga (WHO, 1998).

3.8 Optimasi Kondisi Analisis

Kondisi analisis yang perlu dioptimasi pada metode ini meliputi optimasi fase gerak/eluen, laju alir, panjang gelombang, dan konsentrasi uji analit.

3.8.1 Optimasi Eluen

Eluen yang digunakan untuk optimasi eluen didasarkan pada penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu dengan komposisi sebagai berikut.

- a. Metanol : larutan asam fosfat 0,1% (31/69 v/v) (Zhang *et al.*, 2012).
- b. Metanol : larutan asam fosfat 0,1% (69/31 v/v)
- c. Metanol : larutan asam fosfat 0,1% (20/80 v/v)
- d. Metanol : larutan asam fosfat 0,1% (40/60 v/v)

Pemilihan eluen yang paling optimum didasarkan pada parameter efisiensi meliputi nilai N (*Theoretical Plate Number*) yang paling besar, nilai H (*Height Equivalent A Theoretical Plate*) yang terkecil, nilai Rt (*Retention time*) yang singkat, nilai resolusi >1,5 dan menghasilkan kromatogram dengan satu puncak yang simetris.

3.8.2 Optimasi Laju Alir

Optimasi laju alir dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar pada laju alir 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml. Laju alir yang paling optimum didasarkan pada parameter efisiensi kromatogram meliputi nilai N (*Theoretical Plate Number*) yang paling besar, nilai H (*Height Equivalent A Theoretical Plate*) yang terkecil, nilai Rt (*Retention time*) yang singkat, nilai resolusi >1,5 dan menghasilkan kromatogram dengan satu puncak yang simetris.

3.8.3 Optimasi Panjang Gelombang

Optimasi panjang gelombang dilakukan dengan *scanning* larutan standar pada spektrofotometri UV-Vis. Penilaian panjang gelombang maksimal dilakukan pada absorbansi panjang gelombang antara 200-600 nm. Penilaian panjang gelombang

optimum dipilih berdasarkan pada panjang gelombang yang memiliki intensitas absorbansi yang paling tinggi.

3.8.4 Optimasi Konsentrasi Uji

Optimasi konsentrasi uji dilakukan pemilihan konsentrasi yang didasarkan pada hasil optimasi yang menunjukkan perkiraan kandungan mangiferin pada daun kweni, kemudahan dalam preparasi sampel, dan berdasarkan kromatogram yang dihasilkan.

Prosedur Optimasi :

Membuat larutan standar mangiferin dengan melarutkan mangiferin dalam metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi yang akan dioptimasi. Sedangkan larutan sampel dibuat dengan cara menimbang sejumlah tertentu sampel kemudian dilarutkan dalam metanol p.a dengan di ultrasonik sehingga larutan mengandung mangiferin dengan konsentrasi sesuai dengan yang akan dioptimasi. Kemudian masing-masing larutan dimasukkan ke dalam vial dan disaring menggunakan kertas nilon.

Eluen dipreparasi dengan komposisi sesuai dengan hasil optimasi kemudian disaring dengan kertas nilon dengan corong Buchner. Setelah itu dilakukan injeksi pada KCKT dengan kondisi analisis hasil optimasi.

3.9 Validasi Metode Analisis

3.9.1 Uji Linieritas

Linieritas metode analisis ditentukan dengan membuat satu seri konsentrasi standar. Kisaran linieritas yang diuji tergantung pada tujuan metode analisis. Beberapa jurnal dan artikel analisis menyarankan untuk menggunakan 5-10 macam konsentrasi dengan kisaran setara dengan 80-120%, 10-200%, atau 50-150% dari konsentrasi uji yang diharapkan dari analit (Indrayanto dan Yuwono, 2003).

Pada penelitian ini, konsentrasi yang digunakan adalah kisaran 10-200% dari hasil optimasi konsentrasi uji yaitu konsentrasi 4,775 ppm, 7,704 ppm, 9,550 ppm, 14,33 ppm dan 19,10 ppm. Berdasarkan konsentrasi larutan standar tersebut maka dibuat dua larutan induk mangiferin yaitu 256,8 ppm dan 95,50 ppm.

Preparasi larutan standar induk 1 dilakukan dengan menimbang 1,284 mg standar mangiferin, lalu dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh larutan 256,8 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh larutan standar mangiferin 7,704 ppm. Preparasi larutan standar induk 2 dilakukan dengan menimbang 0,9550 mg standar mangiferin lalu dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh larutan 95,50 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 4,775 ppm, 9,550 ppm, 14,33 ppm, dan 19,10 ppm.

Tahap kedua dilakukan preparasi eluen hasil optimasi sebanyak 150 ml. Eluen kemudian disaring dengan penyaring solven KCKT menggunakan membran filter 0,45 μm . Selanjutnya, standar dianalisis dengan KCKT dengan kondisi analisis sesuai hasil optimasi. Menghitung nilai parameter linieritas dan rentang dari data hasil *scanning* dengan program validasi.

3.9.2 Uji Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Penentuan BD dan BK dilakukan dengan membuat larutan standar mangiferin dalam metanol dengan 5 tingkat konsentrasi dibawah konsentrasi linieritas. Peneliti membuat standar mangiferin dengan berbagai macam konsentrasi yaitu 1,070 ppm, 2,140 ppm, 3,057 ppm, 4,076 ppm, dan 5,350 ppm. Selanjutnya dilakukan preparasi eluen hasil optimasi sebanyak 150 ml dan disaring dengan penyaring solven KCKT menggunakan membran filter 0,45 μm . Kemudian, standar dianalisis dengan KCKT dengan kondisi analisis sesuai hasil optimasi. Menghitung nilai parameter batas deteksi dan kuantitasi dari data hasil *scanning* dengan program validasi.

3.9.3 Uji Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan dengan beberapa tahap. Tahap pertama dilakukan preparasi larutan standar mangiferin dalam metanol dengan menimbang standar mangiferin 1 mg, lalu dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya pengenceran dilakukan hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm. Tahap kedua adalah preparasi sampel. Preparasi sampel dilakukan sesuai

dengan hasil optimasi yang sebelumnya sudah dilakukan. Uji kespesifisikan tidak dapat menggunakan KCKT UV-Vis dikarenakan keterbatasan detector, sehingga uji kespesifisikan dilakukan dengan menggunakan KCKT Adept Cecil (detector UV-Vis + PDA) sesuai dengan kondisi analisis dengan melihat profil spectra standard an sampel kemudian dibanidngkan dengan melihat nilai kesesuaian spectra (*match factor*) untuk menialai parameter spesifisitas.

3.9.4 Uji Presisi

Parameter presisi yang dilakukan meliputi *repeatability* dan *intermediet precision*. Uji presisi dilakukan dengan menggunakan kurva baku yang diperoleh dari hasil uji linieritas. Kemudian dilakukan preparasi sampel untuk *repeatability* dengan menimbang 5,183 sampel ekstrak daun mangga spesies kweni (6x replikasi) dan dilarutkan dalam metanol 10 ml.

Tahap selanjutnya dilakukan preparasi eluen hasil optimasi sebanyak 200 ml. Eluen kemudian disaring dengan penyaring solven KCKT menggunakan membran filter 0,45 μm dan dianalisis dengan KCKT dengan kondisi analisis sesuai hasil optimasi. Menghitung nilai parameter kepresisian dari data hasil *scanning* dengan program validasi.

3.9.5 Uji Akurasi

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode penambahan standar atau pembanding (*standar addition method*). Penambahan standar ditentukan dengan menggunakan tiga macam konsentrasi antara 30%-60% kali dari kadar analit yang diperoleh dari hasil uji presisi (Indrayanto dan Yuwono, 2003).

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan kurva baku yang diperoleh dari hasil uji linieritas. Kemudian dilakukan preparasi sampel akurasi ekstrak daun mangga spesies kweni yang mengandung mangiferin dengan membuat sampel adisi 30%, 45%, dan 60%.

Tahap selanjutnya dilakukan preparasi eluen hasil optimasi sebanyak 200 ml. Eluen kemudian disaring dengan penyaring solven KCKT menggunakan membran filter 0,45 μ m dan dianalisis dengan KCKT dengan kondisi analisis sesuai hasil optimasi. Menghitung nilai parameter akurasi dari data hasil *scanning* dengan program validasi.

3.10 Penetapan Kadar Mangiferin Dalam Sampel

Tahap pertama penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan mangga spesies kopyor diawali dengan pembuatan kurva baku dengan rentang sesuai dengan linieritas. Selanjutnya larutan sampel dipreparasi dengan menimbang 5 mg sampel ekstrak daun mangga spesies kweni, pakel dan mangga spesies kopyor (replikasi 3 kali) kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan standar dan sampel disaring dengan kertas penyaring 0,45 μ m dan dimasukkan dalam vial.

Tahap kedua dilakukan preparasi eluen, dibuat eluen sebanyak 200 ml dengan komposisi sesuai hasil optimasi. Selanjutnya, sampel dan standar dianalisis dengan KCKT dengan kondisi analisis sesuai hasil optimasi. Kemudian menghitung nilai kadar %b/b mangiferin dalam sampel dan menganalisis menggunakan uji *ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan kadar mangiferin.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat ditulis beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Kondisi optimum metode KCKT untuk penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni yaitu
 - a. Fase gerak/eluen : Metanol:Asam Fosfat 0,1% (v/v)= 31:69
 - b. Fase diam : RPC-18 Chibar®250-4,6
 - c. Panjang gelombang : 258 nm
 - d. Panjang kolom : 250 mm
 - e. Laju alir : 0,8 ml/menit
 - f. Konsentrasi uji : 10 ppm
2. Metode analisis penetapan kadar mangiferin dalam ekstrak daun mangga spesies kweni dengan metode KCKT dapat memberikan hasil analisis yang valid meliputi linier, peka, spesifik, presis dan akurat.
3. Terdapat perbedaan bermakna kadar mangiferin pada ekstrak daun mangga spesies kweni, ekstrak daun mangga spesies pakel dan ekstrak daun mangga spesies kopyor dengan nilai signifikansi 0,000.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengembangan metode validasi yang lain seperti ketangguhan metode (*ruggedness*), kekuatan (*robustness*) maupun uji SST (*System Suitability Test*) agar metode ini dapat dilakukan kapanpun, dimanapun dan oleh siapapun.

DAFTAR PUSTAKA

- Campa, C., Mondolot, L., Rakotondravao, A., Bidel, L. P. R., Gargadennec, A., Couturon, E., Fisca, P. L., Rakotomalala, J. J., Jay-Allemand, C. dan Davis, A. P. 2012. A Survey of Mangiferin and Hydroxynynamic Acid Ester Accumulation in Coffee (*Coffea*) Leaves: Biological Implications and Uses. *Annals of Botany*. Vol. 110: 595-613.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dolan, J. W. 2003. Why Do Peaks Tail?. *LC GC North America*. Vol. 21 (7): 612-616.
- Epshtein, N. A. 2004. Validation of HPLC Techniques for Pharmaceutical Analysis. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. Vol. 38 (4): 212-228.
- Ermer, J. dan Miller, J., H. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis A Guide to Best Practice*. Weinheim: Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.
- FAO. 2004. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH2009000126> [15 Januari 2016].
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2011. *Analisis Kimia Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian Bulletin*. Vol. 1 (3): 117-135.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan, Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Huber, L. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories 2nd Edition*. New York: Informa Healthcare USA, Inc.
- Hussien, E. M. 2014. HPLC Method Validation for Modernization of The Tetracycline Hydrochloride Capsule USP Monograph. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. Vol. 52 (2): 239-244.

- ICH (*International Conference On Harmonisation*). 1995. *Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2(R1)*. European Union, Japan, USA: ICH Expert Working Group.
- ITIS report. 2015. *Mangifera foetida* Lour. <http://www.itis.gov> [serial online]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506473. [15 Desember 2015].
- ITIS report. 2015. *Mangifera indica* L. <http://www.itis.gov>. [serial online]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=28803. [15 Desember 2015].
- ITIS report. 2015. *Mangifera odorata* Griff. <http://www.itis.gov>. [serial online]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506474. [15 Desember 2015].
- Indrayanto, G. dan Yuwono, M. 2003. *Validation of TLC Analyses in Encyclopedia of Chromatography*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Jutiviboonsuk, A. dan Sardsaengjun, C. 2010. Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica*) Varieties. *IJPS*. Vol. 6 (3): 122-129.
- Koerner, J. P. 2013. *General Principles of HPLC Method Development*. http://www.fortunesci.com/download%20document/siminar2_56/General%20Principles%20of%20HPLC%20Method%20Development.pdf [12 Januari 2016].
- Kulkarni, V., M. dan Rathod, V., K. 2015. A Novel Method to Augment Extraction of Mangiferin by Application of Microwave on Three Phase Partitioning. *Biotechnology Reports*. Vol. 6: 8-12.
- Luo, F., Lv, Q., Zhao, Y., Hu, G., Huang, G., Zhang, J., Sun, C., Li, X., dan Chen, K. 2012. Quantification and Purification of Mangiferin from Chinese Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars and Its Protective Effect on Human Umbilical Vein Endothelial Cells Under H₂O₂-induced Stress. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 13: 11260-11274.
- Mirza, R. H., Chi, N., dan Chi, Y. 2013 Therapeutic Potential of The Natural Product Mangiferin in Metabolic Syndrome. *Journal of Nutritional Therapeutics*. Vol. 2: 74-79.
- Morais, T. C., Lopes, S. C., Carvalho, K. M. M. B., Arruda, B. R., Souza, F. T., Trevisan, M. T. S., Rao, V. S., dan Santos, F. A. 2012. High Performance Liquid

Chromatographic Method for The Determination of Mangiferin in Rat Plasma and Urine. *World Journal of Gastroentology*. Vol. 18 (25): 3207-3214.

Nuryanto, A. 2014. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* .L) terhadap *Escherechia coli* secara *in vitro*." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Pontianak: Program Sarjana Universitas Tanjungpura.

Pracaya. 2005. *Bertanam Mangga*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Putra, E. D. 2005. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/farmasi-effendy2.pdf>. [14 Januari 2016].

Rohman, A. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis*. Surabaya: Airlangga University.

Salomon, S., Sevilla, I., Betancourt, R., Romero, A., Nuevas-Paz, L., dan Acota-Esquivarosa, J. 2014. Extraction of Mangiferin from *Mangifera indica* L. Leaves using Microwave Assisted Technique. *Emir. J. Food Agric*. Vol. 26 (7): 616-622.

Singh, S. K., Sharma, V. K., Kumar, Y., Kumar, S. S., dan Sinha, S. K. 2009. Phytochemical and Pharmacological Investigations on Mangiferin. *Herba Polonica*. Vol. 55 (1): 127-139.

Stahl, Mark. 2003. *Peak Purity Analysis in HPLC and CE Using Diode-Array Technology*. Waldbronn: Agilent Technologies.

Soetarno, S., Soediro, I., dan Padmawinata, K. 1991. Isolasi dan Karakterisasi Mangiferin dari Daun Mangga Arumanis dan Perbandingan Kadarnya pada Daun Tujuh Kultivar *Mangifera Indica* L. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. Vol. 16: 126-135.

Sopyan, I., Maulana, R. S. dan Rahayu, D. 2011. *Validasi Metode Analisis Senyawa Cefotaxime dengan Standar Internal Cefadroxil secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. http://pustaka.unpad.ac.id/wp_content/uploads/2011/08/Validasi_Metode_Analisis_Senyawa_Cepotaxime.doc [1 Mei 2016].

Syah, M.I., Suwendar dan Mulqie, L. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L. "Arumanis") pada Mencit Swiss Webster Jantan dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral (Ttgo). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. Vol. 13: 297-103.

Snyder, L. R., J. J. Kirkland dan J. L. Glajch. 1997. *Practical HPLC Method Development*. 2nd Edition. New York: John Willey & Sons, Inc.

- Talamond, P., Mondolot, L., Gargadennec, A., Kochko, A., Hamon, S., Fruchies, A. dan Campa, C. 2008. First Report on Mangiferin (C-glucosyl-xanthone) Isolated from Leaves of a Wild Coffee Plant, *Coffea pseudozanguebariae* (Rubiaceae). *Acta Bot. Gallica*. Vol. 155 (4): 513-519.
- United States Pharmacopoeia. 1995. *Validation of Compendial Methods*.
- Watson, G. D. 2009. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh Winny R. Syarief. Jakarta: EGC.
- WHO. 1998. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*.
- Wulandari, L., Yuwono, M. dan Indrayanto, G. 2012. *Densitometric Determination of Mebhydrolin Napadisylate in Tablets*. *Journal of Planar Chromatography*. Vol 25 (1): 60-64.
- Zhang, X., Su, B., Li, J., Li, Y., Lu, D., Zhu, K., Pei, H., dan Zhao, M. 2012. Analysis by RP-HPLC of Mangiferin Component Correlation between Medicinal Loranthus and their Mango Host Trees. *Journal of Chromatographic Science*. 1-4.
- Zou, T. B., Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., dan Li, H. W. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules*. Vol. 19: 1411-1421.

Lampiran A. Lembar Identifikasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
 Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASINo. 234/UN25.1/2016^{TVA}

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Hidayah Dwi Renggani
 NIM : 122210101047
 Jur./Fak./PT : Fak Farmasi / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Mangifera foetida* Lour. {Syn. *Mangifera foetida* var. *sphaeroidea* Blume.; Family – Anacardiaceae ; Vernacular name – Bacang (Ind.); Limus (Sd.); Asem hambawang (Banj.); Pakel (Jw.)}
2. *Mangifera odorata* Griff. {Syn: *Mangifera foetida* var. *odorata* (Griff.) Pierre.; Family – Anacardiaceae ; Vernacular name – Bembem, kaweni (Sun.); kuweni / kweni (Sum., Kal., Jaw.)}
3. *Mangifera indica* L. 'Kopyor'. {Family – Anacardiaceae ; Vernacular name –; kopyor (Jaw.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 19 Januari 2016

Mengetahui,
 Pembantu Dekan I,

Ketua Laboratorium



Siswanto, M.Si
 NIP 196012161993021001

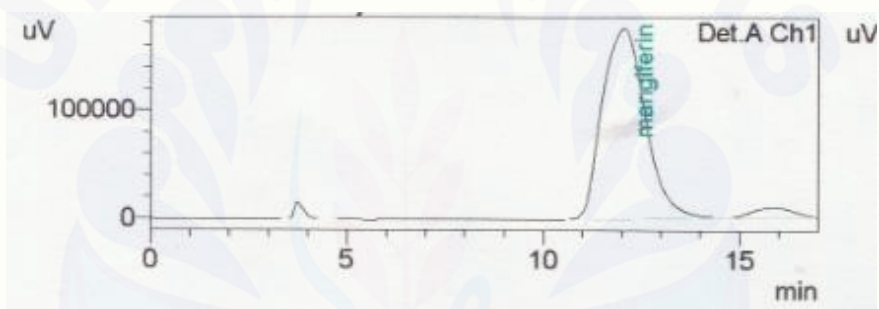
Dra. Dwi Setyati, M.Si
 NIP. 19640417199103200

Lampiran B. Data Optimasi Eluen

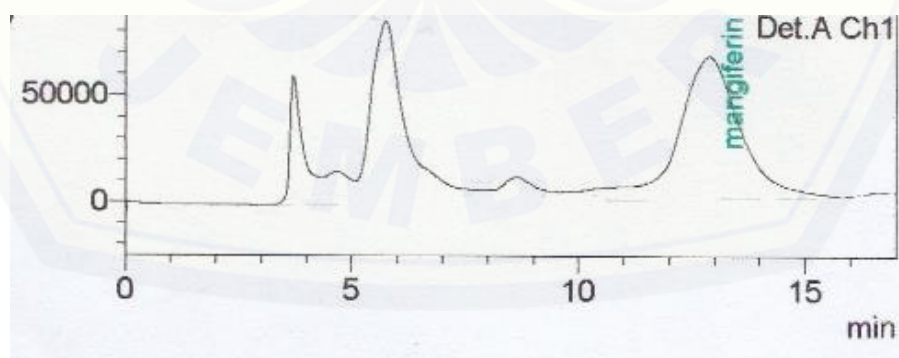
No	Komposisi Eluen	Parameter Penilaian			
		Rt	Rs	N	HETP
1	Met:AF (v/v)= 31:69	12,05	6,900	618,376	404,284
2	Met:AF (v/v)= 69:31	3,602	2,303	508,608	491,538
3	Met:AF (v/v)= 20:80	3,483	0,000	752,259	332,333
4	Met:AF (v/v)= 40:60	5,578	2,482	308,855	809,442

Met : Metanol

AF : Asam Fosfat 0,1%

B.1 Metanol:Asam Fosfat 0,1% (v/v)= 31:69**B.1.a Standar Mangiferin**

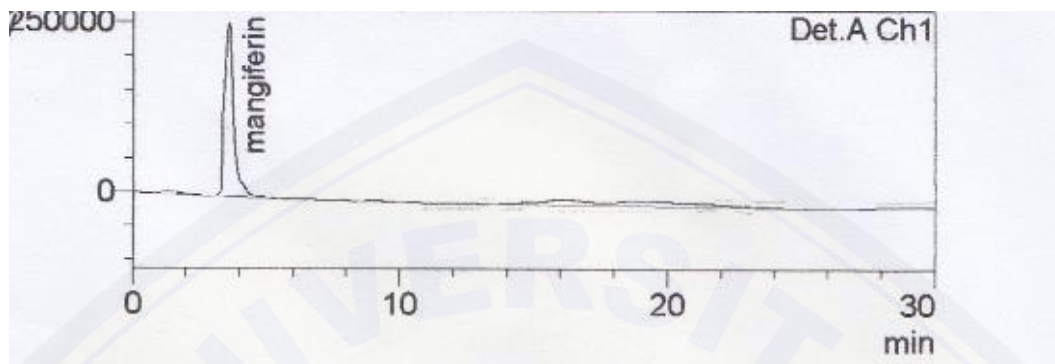
Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
12,049	618,376	404,284	1,210	6,900	2,225

B.1.b Sampel Daun Mangga Spesies Kweni

Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
12,877	527,515	473,920	0,000	2,227	2,479

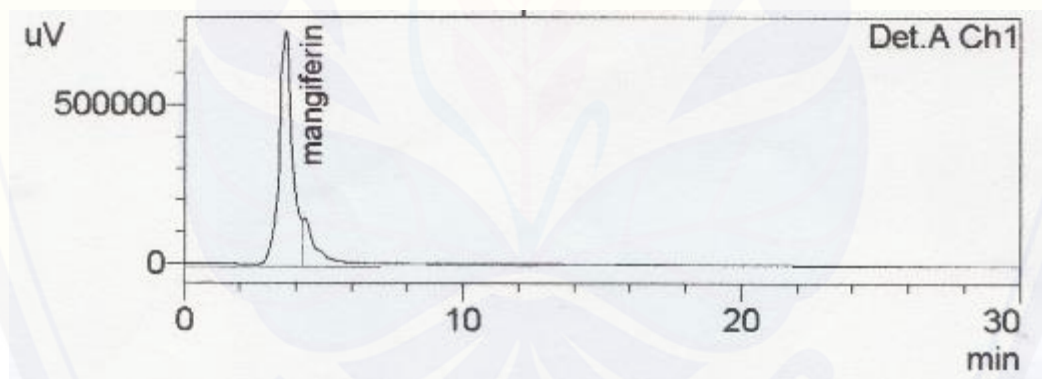
B.2 Metanol:Asam Fosfat 0,1% (v/v)= 69:31

B.2.a Standar Mangiferin



Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
3,602	508,608	491,538	1,539	2,303	1,661

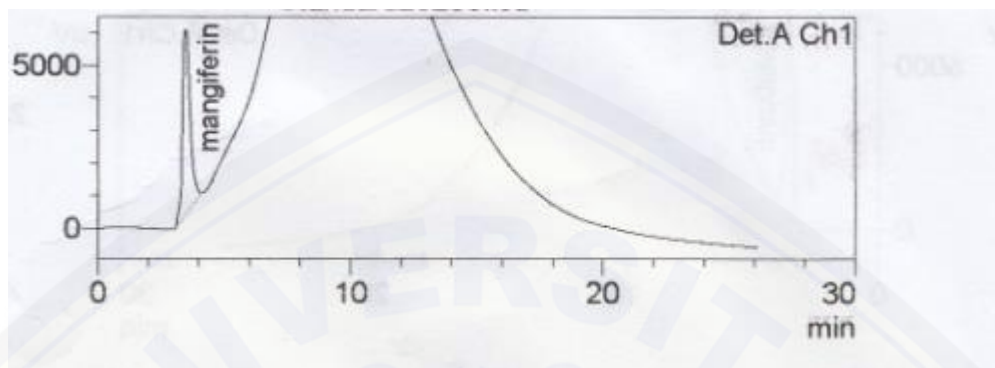
B.2.b Sampel Daun Mangga Spesies Kweni



Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
3,638	515,926	484,565	0,000	0,746	4,355

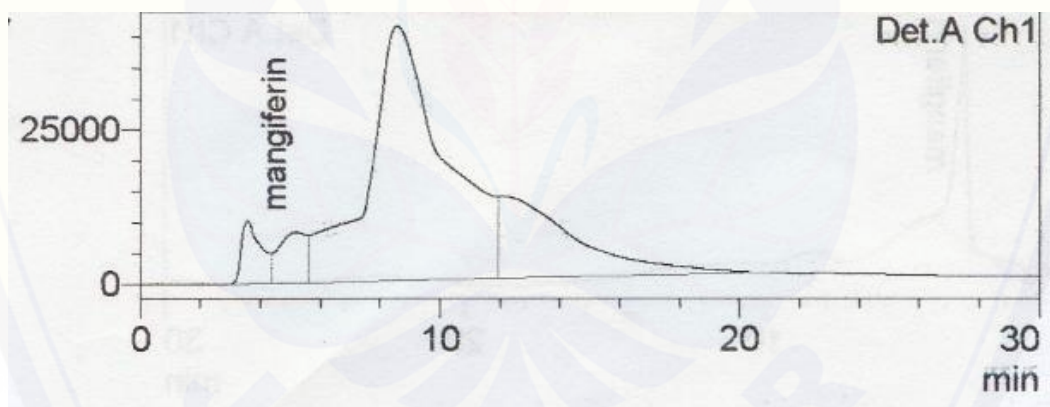
B.3 Metanol:Asam Fosfat 0,1% (v/v)= 20:80

B.3.a Standar Mangiferin



Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
3,483	752,259	332,333	1,300	0,000	0,000

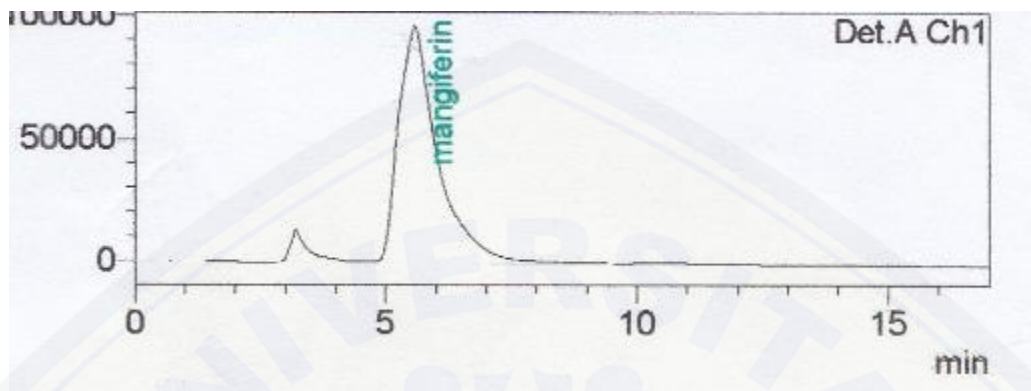
B.3.a Sampel Daun Mangga Spesies Kweni



Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
3,573	76,430	3270,968	0,000	0,000	0,000

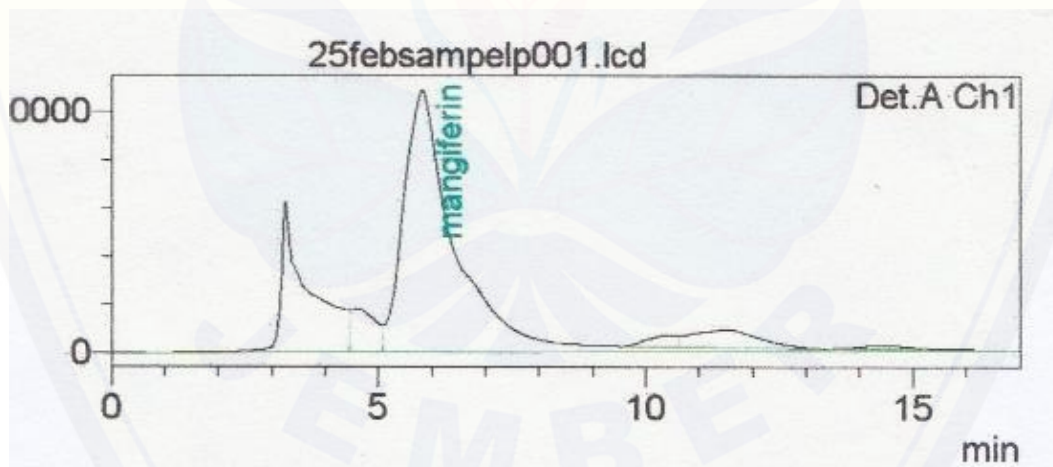
B.4 Metanol:Asam Fosfat 0,1% (v/v)= 40:60

B.4.a Standar Mangiferin



Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
5,578	308,855	809,442	1,697	2,482	28,77 5

B.4.b Sampel Daun Mangga Spesies Kweni



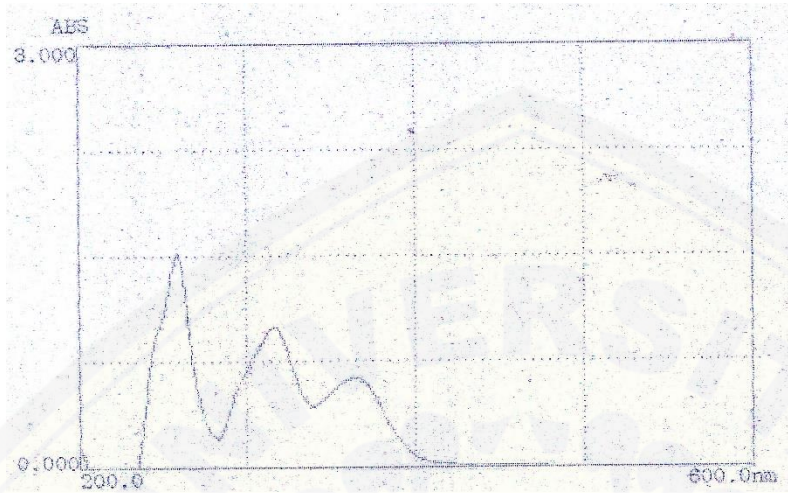
Ret.Time	Theoretical Plate#	HETP	Tailing Factor	Resolution	k'
5,822	283,877	880,662	0,000	0,357	0,790

Lampiran C. Optimasi Laju Alir**C.1 Standar Mangiferin**

No	Laju Alir	Parameter Penilaian			
		Rt	Rs	N	HETP
1	0,9 ml/menit	10,237	2,631	236,859	1055,480
2	0,8 ml/menit	12,049	6,900	618,376	404,284

C.2 Sampel Daun Mangga Spesies Kweni

No	Laju Alir	Parameter Penilaian			
		Rt	Rs	N	HETP
1	0,9 ml/menit	10,337	0,000	251,722	993,157
2	0,8 ml/menit	12,877	2,227	527,515	473,920

Lampiran D. Data Optimasi Panjang Gelombang

Panjang gelombang maksimum hasil optimasi adalah 258 nm.

Lampiran E. Data Optimasi Konsentrasi Uji**E.1 Standar Mangiferin**

Konsentrasi	Waktu Retensi	N	HETP	Resolusi	k'
5	13,119	509,870	490,321	4,774	10,446
10	12,999	500,891	499,110	4,679	2,509
50	13,112	635,739	393,243	2,788	2,572
500	12,909	664,827	376,038	7,752	4,462

E.2 Sampel Mangiferin

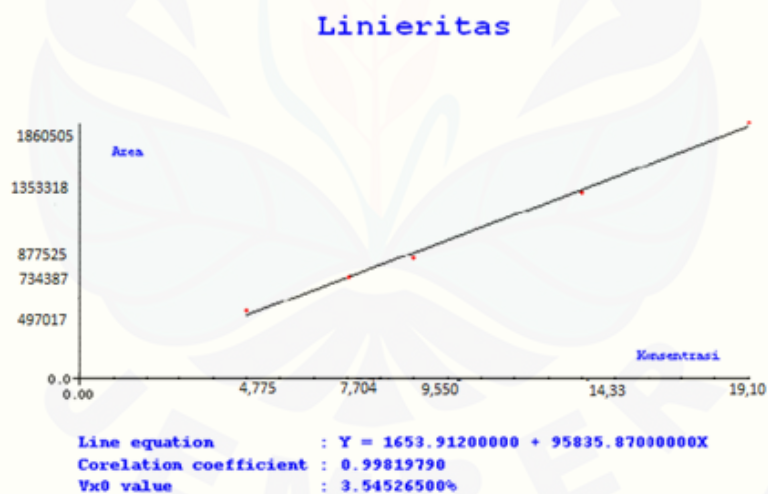
Konsentrasi	Waktu Retensi	N	HETP	Resolusi	k'
5	12,468	580,846	430,407	2,700	2,411
10	13,686	609,345	410,276	2,297	2,691
50	12,129	540,257	462,743	0,467	3,645
500	12,302	584,876	427,441	0,532	2,393

Lampiran F. Data dan Perhitungan Linieritas

F.1 Data Konsentrasi dan Luas Area Standar Mangiferin

Konsentrasi (ppm)	Area
4,775	497017
7,704	734387
9,550	877525
14,325	1353318
19,100	1860505
Regresi Linear	$Y = 1653.91200000 + 95835.87000000X$
Koefisien Korelasi > 0,99	0.99819790
Nilai V_{x0} 0%-5%	3.54526500%
Nilai $X_p < 4,775$	2.57590100

F.2 Kurva Linieritas Konsentrasi Berbanding Luas Area Mangiferin pada Penentuan Linieritas



F.3 Tabel Hasil Analisis Parameter Linieritas dengan Program Validasi pada Penentuan Linieritas

Keterangan	Hasil
Metode	Linieritas
Probability	95%
Jumlah Data	5
Persamaan Garis	$Y = 1653.91200000 + 95835.87000000X$
Koefisien Korelasi	0.99819790
V _{xo}	3.54526500%
X _p	2.57590100

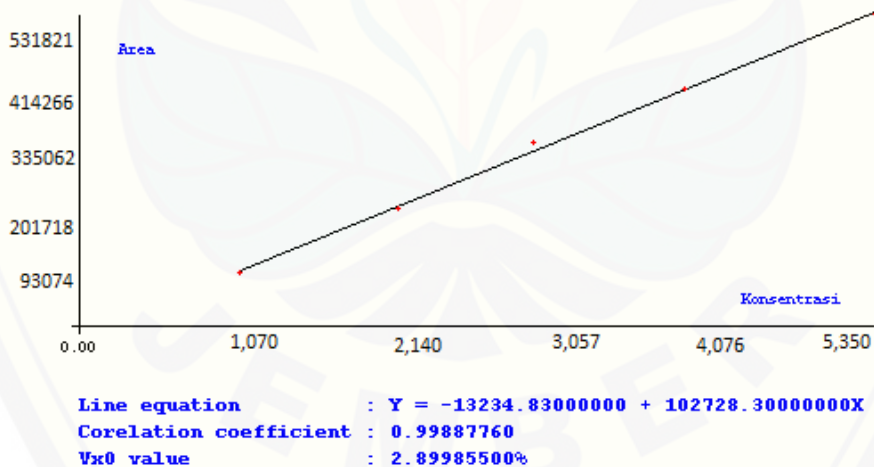
Lampiran G. Data dan Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

G.1 Data Konsentrasi dan Luas Area Standar Mangiferin

Konsentrasi (ppm)	Area
1,070	93074
2,140	201718
3,057	285062
4,076	394266
5,350	531821
Regresi Linear	$Y = -13234,83 + 102728,3x$
Koefisien Korelasi > 0,99	0.99887760
Nilai V_{x0} 0%-5%	2,899855%
Nilai X_p <1,070	0,59412420

G.2 Kurva Linieritas Konsentrasi Berbanding Luas Area Mangiferin pada Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

LOD & LOQ



G.3 Tabel Hasil Analisis Parameter Linieritas dengan Program Validasi pada Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Keterangan	Hasil
Metode	Linieritas
Probability	95%
Jumlah Data	5
Persamaan Garis	$Y = -13234,83 + 102728,3x$
Koefisien Korelasi	0.99887760
V_{x0}	2,899855%
X_p	0,59412420

a. Perhitungan Batas Deteksi

$$\text{Batas Deteksi} = \text{Nilai } X_p$$

$$\text{Batas Deteksi} = 0,594 \text{ ppm}$$

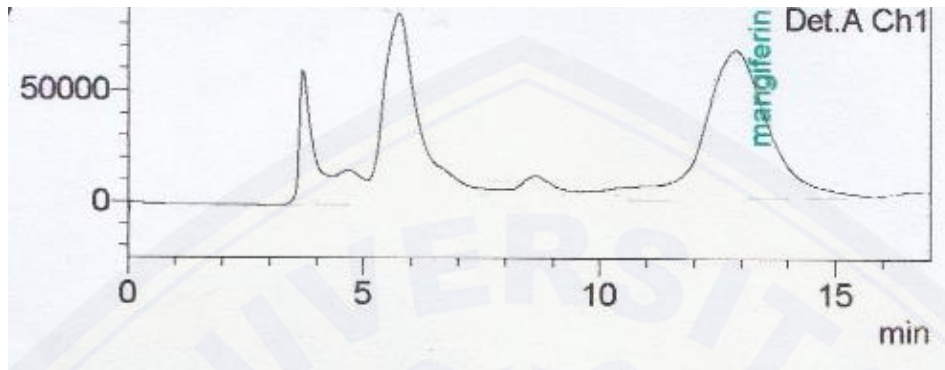
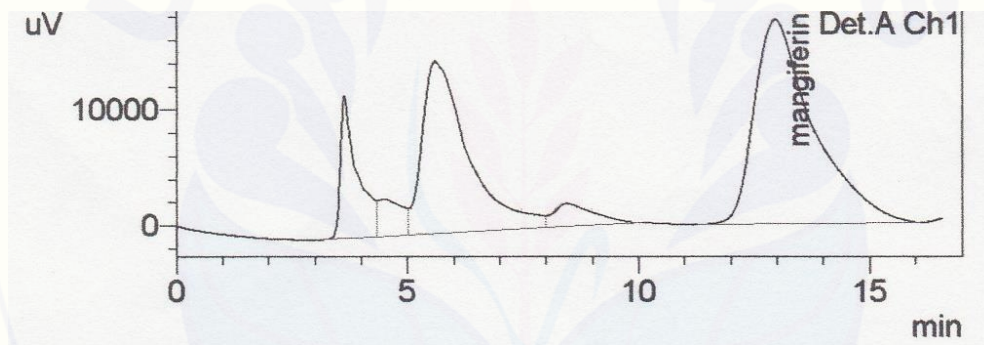
b. $\frac{10}{3}$ Perhitungan Batas Kuantitasi

$$\text{Batas Kuantitasi} = \text{BD}$$

$$\frac{10}{3}$$

$$\text{Batas Kuantitasi} = 0,594$$

$$\text{Batas Kuantitasi} = 1,980 \text{ ppm}$$

Lampiran H. Hasil Uji Selektivitas**H.1 Kromatogram Sampel Daun Mangga Spesies Kweni****H.2 Kromatogram Penambahan Standar pada Sampel Daun Mangga Spesies Kweni**

Lampiran I. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi

I.1 Hasil Pengujian Keterulangan

Sampel	Massa Analit (mg)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)*
Replikasi 1	0,14573	14,573	2,341
Replikasi 2	0,11345	11,345	2,335
Replikasi 3	0,10479	10,479	2,376
Replikasi 4	0,12092	12,092	2,333
Replikasi 5	0,10519	10,519	2,324
Replikasi 6	0,10369	10,369	2,343
Rata-rata	0,11563	11,563	2,342

*Nilai SD dan RSD sebesar 0,017956 dan 0,766%

- Perhitungan SD dan RSD

X (%b/b)	$X - X_{(rata-rata)}$	$(X - X_{(rata-rata)})^2$
2,341	1×10^{-3}	1×10^{-6}
2,335	7×10^{-3}	$4,9 \times 10^{-5}$
2,376	0,034	$1,156 \times 10^{-3}$
2,333	-9×10^{-3}	$8,1 \times 10^{-5}$
2,324	-0,018	$3,24 \times 10^{-4}$
2,343	1×10^{-3}	1×10^{-6}
$X_{rata-rata}=2,342$	Jumlah $(X - X_{(rata-rata)})^2$	$1,612 \times 10^{-3}$
	SD	0,017956
	%RSD	0,766%

I.2 Hasil Pengujian *Intermediate Precision*

Hari ke-1

Sampel	Massa Analit (mg)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)*
Replikasi 1	0,14573	14,573	2,341
Replikasi 2	0,11345	11,345	2,335
Replikasi 3	0,10479	10,479	2,376
Replikasi 4	0,12092	12,092	2,333
Replikasi 5	0,10519	10,519	2,324
Replikasi 6	0,10369	10,369	2,343
Rata-rata	0,11563	11,563	2,342

*Nilai SD dan RSD sebesar 0,017956 dan 0,766%

- Perhitungan SD dan RSD

X (%b/b)	$X - X_{(rata-rata)}$	$(X - X_{(rata-rata)})^2$
2,341	1×10^{-3}	1×10^{-6}
2,335	7×10^{-3}	$4,9 \times 10^{-5}$
2,376	0,034	$1,156 \times 10^{-3}$
2,333	-9×10^{-3}	$8,1 \times 10^{-5}$
2,324	-0,018	$3,24 \times 10^{-4}$
2,343	1×10^{-3}	1×10^{-6}
$X_{rata-rata}=2,342$	Jumlah $(X - X_{(rata-rata)})^2$	$1,612 \times 10^{-3}$
	SD	0,017956
	%RSD	0,766%

Hari ke-2

Sampel	Massa Analit (mg)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)*
Replikasi 1	0,11359	11,359	2,290
Replikasi 2	0,11501	11,501	2,307
Replikasi 3	0,13041	13,041	2,354
Replikasi 4	0,13531	13,531	2,411
Replikasi 5	0,11314	11,314	2,276
Replikasi 6	0,11508	11,508	2,324
Rata-rata	0,12042	12,042	2,327

*Nilai SD dan RSD sebesar 0,049323 dan 2,119%

- Perhitungan SD dan RSD

X (%b/b)	$X - X_{(rata-rata)}$	$(X - X_{(rata-rata)})^2$
2,290	-0,037	$1,369 \times 10^{-3}$
2,307	-0,02	4×10^{-4}
2,354	0,027	$7,29 \times 10^{-4}$
2,411	0,084	$7,056 \times 10^{-3}$
2,276	-0,051	$2,601 \times 10^{-3}$
2,324	3×10^{-3}	9×10^{-6}
$X_{rata-rata}=2,327$	Jumlah $(X - X_{(rata-rata)})^2$	0,012164
	SD	0,049323
	%RSD	2,119%

Hari ke-3

Sampel	Massa Analit (mg)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)*
Replikasi 1	0,13781	13,781	2,411
Replikasi 2	0,11327	11,327	2,348
Replikasi 3	0,10149	10,149	2,310
Replikasi 4	0,11872	11,872	2,318
Replikasi 5	0,13033	13,033	2,372
Replikasi 6	0,13206	13,206	2,390
Rata-rata	0,11563	11,563	2,358

*Nilai SD dan RSD sebesar 0,040082 dan 1,699%

- Perhitungan SD dan RSD

X (%b/b)	$X - X_{(rata-rata)}$	$(X - X_{(rata-rata)})^2$
2,411	-0,053	$2,809 \times 10^{-3}$
2,348	-0,01	1×10^{-4}
2,310	-0,048	$2,304 \times 10^{-3}$
2,318	-0,04	$1,6 \times 10^{-3}$
2,372	0,014	$1,96 \times 10^{-4}$
2,390	0,032	$1,024 \times 10^{-3}$
Xrata-rata=2,358	Jumlah $(X - X_{(rata-rata)})^2$	$8,033 \times 10^{-3}$
	SD	0,040082
	%RSD	1,699%

Rata-rata pengujian *Intermediate Precision*

Hari ke-	Kadar (%b/b)	%RSD (n=6)
1	2,342	0,766%
2	2,327	2,119%
3	2,358	1,699%
	Rata-rata %RSD	1,528%

Lampiran J. Data dan Perhitungan Pengujian Akurasi

J.1 Hasil Akurasi Mangiferin dalam Ekstrak Daun Mangga Spesies Kweni

Sampel Adisi (%)	Penimbangan Sampel (mg)	Penambahan Standar Adisi	Massa Teoritis (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	% Recovery	Rata-rata (%)	RSD (%)
30	5,220	0,036	0,1583	0,1573	99,36	102,36	2,5585
	5,446	0,036	0,1635	0,1704	104,19		
	5,437	0,036	0,1633	0,1691	103,53		
45	4,547	0,045	0,1515	0,1535	101,32	100,54	2,4919
	4,464	0,045	0,1495	0,1534	102,57		
	5,059	0,045	0,1635	0,1598	97,74		
60	4,387	0,062	0,1647	0,1638	99,50	98,69	0,8469
	4,519	0,062	0,1678	0,1642	97,83		
	4,238	0,062	0,1613	0,1598	99,09		
Rata-rata						100,53	1,9657

J.2 Perhitungan Pembuatan Sampel Adisi

- Kadar mangiferin pada sampel ekstrak daun mangga spesies kweni yang dipakai pada perhitungan uji akurasi adalah 2,342% (rata-rata hasil uji presisi)

1. Adisi 30%

- Bila ditimbang sampel 5 mg, maka jumlah standar mangiferin yang ditambahkan dalam sampel sebesar:

$$\frac{5 \text{ mg} \times 2,342 \text{ mg} \times 0,3}{100 \text{ mg}} = 0,035 \text{ mg standar mangiferin}$$

- Pembuatan sampel adisi

Menimbang standar mangiferin 3,5 mg, dimasukkan labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet 1 ml, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas

$$\frac{3,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 350 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 350 \text{ ppm} = 35 \text{ ppm}$$

Cara kerja:

- a) Menimbang 5 mg sampel dengan vial
- b) Memipet 1 ml larutan standar 35 ppm, masukkan dalam vial yang berisi sampel, sehingga telah dilakukan adisi sebanyak 0,0035 mg ke dalam 5 mg sampel.

$$1 \text{ ml dari } 35 \text{ ppm} = \frac{35 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,035 \text{ mg}$$

- c) Menambahkan metanol 9 ml.

- Perhitungan % *recovery*

Misal : pada replikasi 1 dengan penimbangan sampel 5,22 mg

Konsentrasi teoritis :

$$\frac{2,342 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 5,22 \text{ mg} = 0,1223 \text{ mg} + 0,036 \text{ mg} \left(\frac{30}{100} \times 0,1223 \text{ mg} \right)$$

$$= 0,1583 \text{ mg (jumlah asam klorogenat dalam sampel adisi 30%)}$$

Hasil percobaan : 0,15728 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,15728}{0,1583} \times 100\% = 99,356\%$$

2. Adisi 45%

- Bila ditimbang sampel 5 mg, maka jumlah standar mangiferin yang ditambahkan dalam sampel sebesar:

$$\frac{5 \text{ mg} \times 2,342 \text{ mg} \times 0,45}{100 \text{ mg}} = 0,053 \text{ mg standar mangiferin}$$

- Pembuatan sampel adisi

Menimbang standar mangiferin 1,6 mg, dimasukkan lab ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet 5 ml, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas

$$\frac{1,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 160 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 160 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

Cara kerja:

- d) Menimbang 5 mg sampel dengan vial
- e) Memipet 1 ml larutan standar 53 ppm, masukkan dalam vial yang berisi sampel, sehingga telah dilakukan adisi sebanyak 0,0053 mg ke dalam 5 mg sampel.

$$1 \text{ ml dari } 53 \text{ ppm} = \frac{53 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,053 \text{ mg}$$

- f) Menambahkan metanol 9 ml.

- Perhitungan % *recovery*

Misal : pada replikasi 1 dengan penimbangan sampel 4,547 mg

Konsentrasi teoritis :

$$\frac{2,342 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 4,547 \text{ mg} = 0,1065 \text{ mg} + 0,045 \text{ mg} \left(\frac{45}{100} \times 0,1065 \text{ mg} \right)$$

$$= 0,1515 \text{ mg (jumlah asam klorogenat dalam sampel adisi 45%)}$$

Hasil percobaan : 0,15350 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,15350}{0,1515} \times 100\% = 101,320\%$$

3. Adisi 60%

- Bila ditimbang sampel 5 mg, maka jumlah standar mangiferin yang ditambahkan dalam sampel sebesar:

$$\frac{5 \text{ mg} \times 2,342 \text{ mg} \times 0,60}{100 \text{ mg}} = 0,070 \text{ mg standar mangiferin}$$

- Pembuatan sampel adisi

Menimbang standar mangiferin 1,4 mg, dimasukkan lab ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet 1 ml, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas

$$\frac{1,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 140 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 140 \text{ ppm} = 70 \text{ ppm}$$

Cara kerja:

- g) Menimbang 5 mg sampel dengan vial
- h) Memipet 1 ml larutan standar 70 ppm, masukkan dalam vial yang berisi sampel, sehingga telah dilakukan adisi sebanyak 0,070 mg ke dalam 5 mg sampel.

$$1 \text{ ml dari } 70 \text{ ppm} = \frac{70 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,070 \text{ mg}$$

- i) Menambahkan metanol 9 ml.

- Perhitungan % *recovery*

Misal : pada replikasi 1 dengan penimbangan sampel mg

Konsentrasi teoritis :

$$\frac{2,342 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 4,387 \text{ mg} = 0,1027 \text{ mg} + 0,062 \text{ mg} \left(\frac{60}{100} \times 0,1027 \text{ mg} \right)$$

$$= 0,1647 \text{ mg (jumlah asam klorogenat dalam sampel adisi 60%)}$$

Hasil percobaan : 0,16388 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,15728}{0,1583} \times 100\% = 99,50\%$$

J.3 Perhitungan SD dan RSD

- Standar Adisi 30%

X (% <i>Recovery</i>)	X-X(rata-rata)	(X-X(rata-rata)) ²
99,36	-3	9,000
104,19	1,83	3,3489
103,53	1,17	1,3689
Rata-rata = 102,36	Jumlah (X-X(rata-rata)) ²	13,718
	SD	2,6189
	RSD	2,5585%

- Standar Adisi 45%

X (% Recovery)	X-X(rata-rata)	(X-X(rata-rata)) ²
101,32	0,77	0,5929
102,57	2,03	4,1209
97,74	-2,8	7,8400
Rata-rata = 100,54	Jumlah (X-X(rata-rata)) ²	12,553
	SD	2,5054
	%RSD	2,4919%

- Standar Adisi 60%

X (% Recovery)	X-X(rata-rata)	(X-X(rata-rata)) ²
99,50	-0,81	0,6561
97,83	-0,86	0,7396
98,73	0,04	1,6 x 10 ⁻³
Rata-rata = 98,69	Jumlah (X-X(rata-rata)) ²	1,3973
	SD	0,8359
	%RSD	0,8469%

Lampiran K. Penetapan Kadar Mangiferin pada Ekstrak Daun Mangga Spesies Pakel dan Kopyor

K.1 Ekstrak Daun Mangga Spesies Pakel

Replikasi	Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b (%)	RSD (%)
1	5,176	0,5971	9,98	2,13
2	5,224	0,5080	9,72	
3	5,051	0,5427	10,14	
		Rata-rata	9,95	

- **Perhitungan SD dan RSD**

X (Kadar b/b)	X-X(rata-rata)	(X-X(rata-rata)) ²
9,98	0,03	9 x 10 ⁻⁴
9,72	-0,23	0,0529
10,14	0,19	0,0361
Rata-rata = 9,95	Jumlah (X-X(rata-rata)) ²	0,0899
		SD
		0,2120
		%RSD
		2,1308

K.2 Ekstrak Daun Mangga Spesies Kopyor

Replikasi	Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b (%)	RSD (%)
1	5,232	0,3970	7,46	1,41
2	5,672	0,4187	7,38	
3	5,355	0,3885	7,25	
		Rata-rata	7,36	

- **Perhitungan SD dan RSD**

X (Kadar b/b)	X-X(rata-rata)	(X-X(rata-rata)) ²
7,46	0,1	0,01
7,38	0,02	4 x 10 ⁻⁴
7,25	-0,11	0,0121
Rata-rata = 7,36	Jumlah (X-X(rata-rata)) ²	0,0225
		SD
		0,1061
		%RSD
		1,4411

K3. Analisis Uji ANOVA

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.668	2	44.834	2385.009	.000
Within Groups	.113	6	.019		
Total	89.781	8			

Multiple Comparisons

kadar
LSD

(I) jenis	(J) jenis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
▶ kopyor	kweni	7.60267*	.11195	.000	7.1876	8.0177
	pakel	2.58333*	.11195	.000	2.1683	2.9984
kweni	kopyor	-7.60267*	.11195	.000	-8.0177	-7.1876
	pakel	-5.01933*	.11195	.000	-5.4344	-4.6043
pakel	kopyor	-2.58333*	.11195	.000	-2.9984	-2.1683
	kweni	5.01933*	.11195	.000	4.6043	5.4344

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.