

ANALISIS KADAR MIRISETIN PADA EKSTRAK DAUN *Myrica javanica* Reinw. ex Bl. DENGAN METODE HPLC

Varda Arianti¹, Steven Arianto², Devi Maulina³, Sylvi Adiana⁴

^{1,3,4}Program Studi Farmasi, Institut Kesehatan Hermina

²Program Studi TLM, Institut Kesehatan Hermina

Korespondensi : vardaarianti@gmail.com

Abstrak

Tanaman *Myrica javanica* mengandung senyawa mirisetin yang berkhasiat sebagai: antiinflamasi, analgesik, antitumor, hepatoprotektor, antidiabetes dan antibakteri. Metode yang digunakan pada penelitian ini *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Pengujian ini dilengkapi dengan validasi metode pengujian, yaitu Linearitas, Akurasi, Presisi, LOD dan LOQ. Hasil penelitian ini didapatkan pengujian linearitas adalah nilai r^2 yaitu 0.9981 ($r = 0.999$). Persen (%) akurasi adalah 100,53%. Nilai presisi yaitu 0,98%. Nilai LOD diperoleh sebesar 1,93 dan nilai LOQ sebesar 6,43. Hasil uji kadar mirisetin pada yang diperoleh pada konsentrasi ekstrak 5000 ppm adalah sebesar 6,104.

Kata kunci: *Myrica javanica* Rein. Ex Bl.; Mirisetin; HPLC; Validasi.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF MYRICETIN IN EXTRACT LEAF *Myrica javanica* Reinw. ex Bl. USING HPLC

Abstract

Myrica javanica contains the compound myricetin which has many properties such as: anti-inflammatory, analgesic, antitumor, hepatoprotective, antidiabetic, and antibacterial. The method used in this research is *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) which will be validated by testing Linearity, Accuracy, Precision, LOD, and LOQ. The results of this research showed that the linearity test had an r^2 value of 0.9981. Percent (%) accuracy was 100,53%. Precision value was 0,98%. The LOD value obtained was 1,63 and the LOQ value was 6,43. The test results for myricetin levels obtained at an extract concentration of 5000 ppm were 6,104.

Keywords: *Myrica javanica* Rein. Ex Bl.; Myricetin; HPLC; Validation

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang telah dikenal sebagai salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati tinggi. Salah satu kekayaan flora Indonesia adalah famili Myricaceae. Salah satu tanaman dari famili Myricaceae yaitu *Myrica javanica*.

Deskripsi *Myrica javanica* adalah Pohon bercabang banyak, monoecious atau semak, tinggi 2-10 m, dengan batang bengkok dan mahkota yang agak padat. Branchlets berwarna keabu-abuan, dengan kelenjar

kuning ketika muda. Daun elips untuk obovate, 4-14 cm × 2-7.5 cm, apeks bulat, kadang-kadang beremigrasi, dangkal bergerigi, koriaceous, dengan banyak sessile, kuning, kelenjar kental. Perbungaan jantan, panjang 4-18 cm, biasanya bercabang kearah puncak; perbungaan betina suatu catkin aksila, soliter, tidak bercabang, panjang 3-7 cm; Bunga *Myrica javanica* sepanjang tahun. Lebih suka daerah yang cerah, situs terbuka, sering di pegunungan vulkanik. (Biggs et al., 1998)

Berdasarkan hasil pengujian kandungan metabolit sekunder ekstrak daun, batang dan buah *Myrica javanica* sama dengan hasil penelitian isolasi tanaman *Myrica esculenta* yang sama-sama berasal dari marga *Myrica*. Senyawa-senyawa yang ada pada tanaman *Myrica esculenta* antara lain senyawa flavonoid (mirisetin dan kuersetin) maupun flavonoid glikosidanya [mirisitrin (mirisetin 3-O-rhamnoside)]; terpenoid (3-epi-ursolic acid, 3-O-(E)-caffeoylursonic acid); saponin (arjunolic acid) diperoleh dari daun. Pada batang diperoleh flavonoid (mirisetin), flavonoid glikosida [mirisitrin (mirisetin 3-O-rhamnoside), mirisetin-3-O-(3''-Ogalloly)-a-L-rhamnoside], terpenoid [(Triterpen diol (3 β ,28-dihydroxytaraxerane)]. Dan pada buah diperoleh flavonoid (mirisetin) (Sood & Sood, 2018)

Pemanfaatan tanaman genus *Myrica* telah diteliti oleh Varda (Arianti et al., 2020) hasil uji antielastase dan antioksidan secara in vitro dari ekstrak berbagai bagian tanaman *Myrica javanica* Reinw. ex Bl. antara lain batang, daun dan buah.

Mirisetin secara struktural berhubungan dengan senyawa fenolik yang terkenal yaitu quercetin, morin, kaempferol dan fisetin. Senyawa ini mempunyai kemiripan dengan structural quercetin. Senyawa ini menunjukkan aktivitas farmakologis termasuk antiinflamasi, analgesik, antitumor, hepatoprotektor dan antidiabetes (Semwal et al., 2016).

Aktivitas antibakteri dari *Mirisetin* dan *quercetin* pada bakteri juga dikaitkan dengan kemampuannya dalam menghambat kerja enzim DNA polimerase dan RNA Polimerase. *Mirisetin* dapat menghambat *Escherichia coli* DnaB helicase dengan konsentrasi penghambatan maksimal 50% (IC₅₀) sebesar 11,3 ± 1,6 μ M. (Griep et al., 2007)

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau HPLC dengan kondisi HPLC merujuk pada (Sanghavi et al., 2014) yang telah dimodifikasi. HPLC dapat memisahkan komponen dari satu campuran dan mengidentifikasi dengan menggunakan waktu retensi (tR) serta menentukan kadar masing-masing komponen dengan menggunakan tinggi puncak atau luas area yang dibandingkan dengan standar. (Salamah & Guntarti, 2023)

HPLC adalah metode pilihan untuk memeriksa kemurnian puncak entitas kimia baru, memantau perubahan reaksi dalam prosedur sintetik atau peningkatan skala, mengevaluasi formulasi baru dan melakukan kontrol/penjaminan mutu produk obat akhir. (Gogulamudi et al., 2012)

BAHAN dan METODE

A. Bahan

Ekstrak daun Wuru Ketek (*Myrica javanica* Reinw. ex Bl.), standar mirisetin, etanol 96%, metanol, asam ortofosforic.

B. Penyediaan Sampel

1. Determinasi Tanaman

Tanaman Wuru Ketek (*Myrica javanica* Reinw. ex Bl. dilakukan determinasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB (Bandung).

2. Pembuatan Ekstrak

Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (2017:531), sebanyak 20 gram simplisia bagian daun tanaman Wuru Ketek diekstraksi dengan metode maserasi dengan 200 mL etanol 96%, kemudian diaduk dan didiamkan selama 24 jam. Dimaserasi sebanyak 3 kali. Ekstrak dipekatkan dengan oven dan dikeringkan di atas tangas air pada suhu 60°C, disimpan dalam wadah tertutup.

C. Uji Penetapan Kadar Mirisetin pada Ekstrak *Myrica javanica* Reinw. ex Bl.

1. Pembuatan Larutan Senyawa Marker

Mirisetin sebanyak 1 mg dalam 10 mL metanol untuk dibuat larutan induk 100 ppm. Larutan induk kemudian diencerkan dan dibuat seri konsentrasi 8,673 ppm; 11,52 ppm; 16,484 ppm; 23,52 ppm; 33,6 ppm; dan 48 ppm.

2. Optimasi Kondisi HPLC

Kondisi HPLC yang digunakan berdasarkan penelitian (Sanghavi et al., 2014) yang telah dimodifikasi.

Tabel 1. Optimasi Kondisi HPLC

Parameter	Deskripsi
Jenis Kolom	C18
Ukuran Kolom	4.6mm x 150mm x 5 μ
Fase Gerak	Metanol:0.1% asam ortofosforic (40:60)
Laju Alir	1 mL/min
Detektor	UV detector
Panjang Gelombang	369 nm
Volume Injeksi	20 μ L

3. Pengujian Linearitas

Masing-masing seri konsentrasi larutan mirisetin diukur pada panjang gelombang 369 nm dan dibuat kurva kalibrasinya. Nilai r dari persamaan tersebut menggambarkan linearitas.

4. Pengujian Akurasi (Ketepatan)

Larutan mirisetin (3 seri konsentrasi) diukur pada panjang gelombang 369 nm. Pada masing-masing konsentrasi disuntikan berulang sebanyak 3 kali kemudian diperoleh nilai perolehan kembali (%recovery).

5. Pengujian Presisi

Larutan mirisetin (3 seri konsentrasi) diukur pada panjang gelombang 369 nm. Pada masing-masing konsentrasi disuntikan berulang sebanyak 3 kali kemudian hitung %KV. Parameter presisi dinyatakan teliti jika $KV \leq 2\%$.

6. Penetapan Kadar

Larutan ekstrak wuru ketek dengan konsentrasi 5000 ppm yang sudah disaring kemudian disuntikan ke alat HPLC menggunakan kolom C18 dengan laju alir 1 mL/min dan diukur pada panjang gelombang 369 nm. (Sanghavi et al., 2014) Persen kadar diperoleh dari rumus:

$$\% \text{Kadar} = \left(\frac{\text{Konsentrasi} / \text{Luas Area}}{100\% \dots\dots} \right) \times 100\% \dots\dots(1)$$

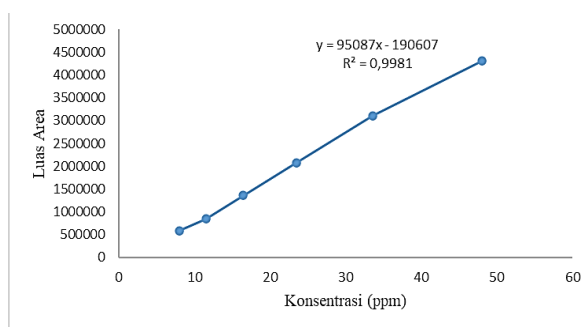
HASIL

Determinasi Tanaman

Hasil determinasi dapat dilihat dari Surat Nomor:3911/I1.CO2.2/PL/2019 menginformasikan bahwa benar tanaman yang digunakan adalah tanaman wuru ketek dengan nama latin *Myrica javanica* Reinw. ex Bl.

Pengujian Linearitas

Lima konsentrasi larutan standar mirisetin disuntikkan ke dalam HPLC dan kemudian diperoleh luas area yang digunakan untuk memperoleh nilai r2. Nilai r2 yang diperoleh adalah 0.9981 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Mirisetin

Pengujian Akurasi (Ketepatan) dan Presisi

Nilai perolehan kembali (%recovery) diperoleh dari perbandingan antara kadar terukur dengan kadar teoritis. Rentang nilai perolehan kembali yang baik yaitu 98-102%. Sedangkan untuk hasil uji presisi dinyatakan dalam simpangan baku relatif (%KV) dengan syarat nilai <2%. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Data Akurasi dan Presisi

Kadar Teoritis (µg/mL)	Area (mV)	Kadar Terukur (µg/mL)	Akurasi (%)	KV (%)	SD
8,064	587199	8,179	100,53	0,98	1,13
	591749	8,228			
	574987	8,052			
16,464	1377440	16,49	100,53	0,98	1,26
	1364719	16,36			
	1338664	16,08			
23,52	2065117	23,72	100,53	0,98	1,26
	2090207	23,99			
	2076601	23,84			

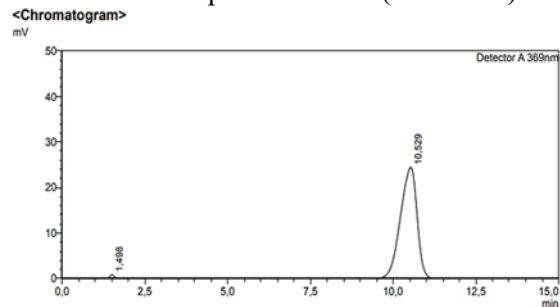
Hasil analisis validasi metode dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Analisis Validasi

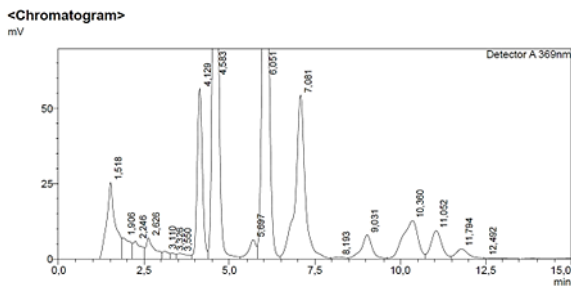
Parameter	Data (ppm)
LOD	1.93
LOQ	6.43

Pengujian Kadar

Dilakukan pengujian kadar dengan menyuntikkan larutan ekstrak wuru ketek dengan konsentrasi 5000 ppm pada kondisi sistem kromatografi. Selanjutnya diperoleh luas area peak kromatogramnya yang digunakan untuk memperoleh kadar jumlah (%) senyawa mirisetin pada ekstrak wuru ketek. Hasil kadar mirisetin yang diperoleh adalah sebesar 6,104 ppm (0,12%). Senyawa mirisetin muncul pada menit 10 (Gambar 2).



Gambar 2. Peak Kromatogram Senyawa Mirisetin



Gambar 3. Peak Kromatogram Ekstrak Wuru Ketek Konsentrasi 5000 ppm

PEMBAHASAN

Tanaman Wuru Ketek (*Myrica javanica* Reinw. ex Bl.) merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia yang secara ilmiah sudah diteliti efektifitasnya sebagai antioksidan dan antielastase yang memberikan hasil bahwa ekstrak daun Wuru Ketek memiliki potensi sebagai antielastase (Arianti et al., 2020; Moon et al., 2010). Sedangkan efektifitas antibakteri, antiinflamasi dan sebagainya belum pernah diteliti, tetapi beberapa tanaman dari marga *Myrica* lainnya sudah dibuktikan efektifitas lainnya.

Kemampuan suatu tanaman Wuru Ketek dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tidak lepas karena terkandungnya suatu metabolit sekunder salah satu senyawa yaitu mirisetin. Diketahui bahwa mirisetin memiliki aktivitas biologi sebagai antioksidan, antielastase, anti bakteri dan lain sebagainya (Imran et al., 2021). Pada penelitian ini dilakukan pengujian kadar mirisetin dalam ekstrak daun Wuru Ketek dengan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Metode ini dipilih karena hanya dibutuhkan ukuran sampel yang kecil, dapat dimodifikasi pengujiannya tergantung pada tingkat kuantifikasi yang diperlukan, dan sensitif sehingga dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak Wuru Ketek.

Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut dipilih karena dapat menarik suatu senyawa yang bersifat polar maupun non-polar. Sehingga dapat menarik senyawa mirisetin pada ekstrak Wuru Ketek. Pilihan fase gerak didasarkan pada kondisi kromatografi partisi fase terbalik. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa kedua senyawa analit bersifat polar, sehingga fase gerak yang polar harus digunakan untuk mengelusinya dengan cepat sesuai dengan kepolaran kedua analit. Selain

itu, untuk memisahkan kedua analit dari satu sama lain karena perbedaan interaksi tiap analit dengan fase diam, kolom C-18 harus bersifat non polar (Sarmiento et al., 2020). Sebelum dilakukan pengujian kadar mirisetin dilakukan dahulu validasi metode yang akan digunakan untuk pengujian karena setiap teknik pengujian kadar harus mampu memberikan hasil yang dapat diandalkan, proses verifikasi dan validasi diperlukan sebelum teknik tersebut digunakan untuk pengujian rutin (Ravisankar et al., 2015). Validasi yang dilakukan antara lain linearitas, akurasi, presisi, *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ).

Hasil uji linearitas menunjukkan hasil yang baik karena yang paling baik dimana nilai r^2 adalah 1, untuk hasil akurasi dan presisi juga masuk dalam kriteria penerimaan. Pengujian akurasi dilakukan untuk menilai kemampuan metode analisis untuk menghasilkan replikasi. Presisi menunjukkan seberapa dekat hasil dari serangkaian pengukuran yang dihasilkan dari tes berulang pada kondisi tertentu. Nilai LOD diperoleh sebesar 1,93 dan nilai LOQ sebesar 6,43. Hasil uji kadar mirisetin pada konsentrasi 5000 ppm adalah sebesar 6,104 (0,12%).

SIMPULAN dan SARAN

Simpulan

Pengujian kadar dengan metode HPLC pada penelitian ini untuk hasil yang diperoleh dapat digunakan karena hasil validasi metodenya memberikan hasil yang baik. Kadar mirisetin yang diperoleh pada pengujian menunjukkan mirisetin pada ekstrak Wuru Ketek bukan senyawa dominan yang terkandung karena pada ekstrak dengan konsentrasi 5000 ppm diperoleh kadar sebesar 6,104.

Saran

Penelitian lebih lanjut untuk pengujian aktifitas antibakteri ekstrak Wuru Ketek sebagai antibakteri secara *in vitro* dan *in silico*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Kebudayaan Riset dan Teknologi, LLDIKTI atas hibah PDP.

DAFTAR PUSTAKA

Arianti, V., Elya, B., & Iskandarsyah. (2020). Anti-Elastase, Antioxidant, Total Phenolic and Total Flavonoid Content of

- Wuru Ketek (*Myrica javanica* Reinw. Ex BL.) from Tangkuban Perahu, West Java - Indonesia. *Pharmacognosy Journal*, 12(2), 293–297. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.46>
- Gogulamudi, L., Chatragadda, N., Vishnubotla, J., & Sujana, K. (2012). *Ultra performance liquid chromatography*. 5(4), 1994–1999.
- Griep, M. A., Blood, S., Larson, M. A., Koepsell, S. A., & Hinrichs, S. H. (2007). Myricetin inhibits *Escherichia coli* DnaB helicase but not primase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(22), 7203–7208. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.057>
- Imran, M., Saeed, F., Hussain, G., Imran, A., Mehmood, Z., Gondal, T. A., El-Ghorab, A., Ahmad, I., Pezzani, R., Arshad, M. U., Bacha, U., Shariarti, M. A., Rauf, A., Muhammad, N., Shah, Z. A., Zengin, G., & Islam, S. (2021). Myricetin: A comprehensive review on its biological potentials. *Food Science and Nutrition*, 9(10), 5854–5868. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2513>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Herbal. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*, 307–310.
- Moon, J.-Y., Yim, E.-Y., Song, G., Lee, N. H., & Hyun, C.-G. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsian Journal of Biosciences*, 53(March), 41–53. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2010.4.0.6>
- Ravisankar, P., Naga Navya, C., Pravallika, D., & Sri, D. N. (2015). A review on step-by-step analytical method validation. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(10), 2250–3013.
- Salamah, N., & Guntarti, A. (2023). *Analisis Instrumen: Kromatografi dan Elektroforesis*. viii–42.
- Sanghavi, N., Bhosale, S. D., & Malode, Y. (2014). RP-HPLC method development and validation of Quercetin isolated from the plant *Tridax procumbens* L. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 3(6), 594–597. <https://doi.org/10.31254/jsir.2014.3609>
- Sarmento, Z. L. ., Rangdi, O. S. ., De Sena, Bernilda M, C., & Dewi, K. N. . (2020). Penetapan Kadar Parasetamol dan Kafein dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Cakra Kimia Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 8(2), 99–104.
- Semwal, D. K., Semwal, R. B., Combrinck, S., & Viljoen, A. (2016). Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*, 8(2), 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu8020090>