

**STANDARDISASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.)  
Steenis) TERSTANDAR *VITEXIN* SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN  
KAPSUL DENGAN *SODIUM STARCH GLYCOLATE* SEBAGAI PENGHANCUR**

**TESIS**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Magister Farmasi (M.Farm)  
Pada Program Studi S2 Farmasi



Diajukan oleh :  
Octavianus Budi Santosa  
NIM : 188122201

**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA  
2021**

**Pengesahan Tesis Berjudul**

**STANDARDISASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERSTANDAR VITEXIN SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN KAPSUL DENGAN *SODIUM STARCH GLYCOLATE* SEBAGAI PENGHANCUR**

**Oleh:**

Octavianus Budi Santosa

NIM: 188122201

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Tesis

Program Studi S2 Farmasi

Fakultas Farmasi

pada tanggal 27 Januari 2021

Mengetahui

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

Dekan

Dr. apt. Yustina Sri Hartini



Panitia Penguji :

1. Dr. apt. Rini Dwiastuti
2. Dr. apt. Dewi Setyaningsih
3. Dr. apt. Sri Hartati Yuliani

Tanda tangan

.....

.....

.....

### Pernyataan Tidak Ada Plagiasi

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Tesis yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain atau karya diri saya sendiri yang sudah dipublikasikan, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, dengan mengikuti ketentuan yang dipersyaratkan dalam karya ilmiah. Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiasi dalam naskah Tesis ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Yogyakarta, ..... 27 Januari 2021

Penulis,



(Octavianus Budi Santosa)



**Lembar Pernyataan Persetujuan  
Publikasi Karya Ilmiah Untuk Kepentingan Akademis**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma :

Nama : Octavianus Budi Santosa

Nomor Mahasiswa : 188122201

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

**STANDARDISASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERSTANDAR VITEXIN SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN KAPSUL DENGAN *SODIUM STARCH GLYCOLATE* SEBAGAI PENGHANCUR**

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, me-ngalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal : 8 Februari 2021.....

Yang menyatakan



( Octavianus Budi Santosa)

### Kata Pengantar

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas semua berkat dan penyertaannya hingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Standardisasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terstandar *Vitexin* serta Aplikasinya dalam Sediaan Kapsul dengan *Sodium Starch Glycolate* sebagai Penghancur”. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi S2 Magister Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Dalam penulisan tesis ini, penulis banyak dibantu oleh pihak-pihak yang dengan tulus dan ikhlas telah memberikan bimbingan dan bantuan serta kerjasama yang baik. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. apt. Yustina Sri Hartini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
2. Ibu apt. Aris Widayati, M.Si., Ph.D. selaku Kaprodi Magister Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
3. Ibu Dr. apt. Sri Hartati Yuliani selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Tesis yang telah dengan sangat baik membimbing dan membantu penulis selama kuliah hingga penulisan tesis.
4. Ibu Dr. apt. Dewi Setyaningsih dan Ibu Dr. apt. Rini Dwiastuti selaku Dosen Penguji atas masukkannya yang berharga demi penyempurnaan naskah tesis ini.
5. Para dosen dan staff Program Studi Magister Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta atas bantuan dan dukungannya selama penulis menempuh perkuliahan hingga penulisan tesis.
6. Bapak apt. Michael Raharja Gani, M. Farm. dan Bapak Florentinus Dika Octa Riswanto, M. Sc. atas bantuan, diskusi dan masukkannya selama penelitian.
7. Saudara Hendry Steven, Maria Ghiyang Prakasitha, Yasinta Oktorobin Rosario Lendo, Theodorus Rexa Handoyo, Go Andrew Purnomo dan Chelsia Devina Maryanto atas bantuan teknisnya selama di laboratorium.
8. Bapak Soesatijo Jusuf, Ibu Dra. apt. DM. Hastuti, Ibu apt. Agnes Rina S.M., S.Si. dan segenap Top Manajemen PT. Graha Farma Solo atas ijin yang diberikan kepada penulis untuk melanjutkan studi S2.
9. Bapak apt. Satyaji Wibowo, S.Si., Ibu apt. Ken Utami Dewi, S.Si., Ibu apt. Maria Rina D.S., S.Si. atas bantuannya selama penelitian berlangsung.

10. Mama dan mami tercinta atas doa dan kasih sayangmu yang selalu mendukungku tanpa henti.
11. Kakakku Petrus, S.Komp. yang selalu mendukung semua kebutuhan selama perkuliahan S2 ini.
12. Teman-teman seperjuangan di program studi S2 atas memori dan kerjasamanya selama perkuliahan.
13. Pihak-pihak lain yang tidak mampu penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran kritik sangat diterima demi penyempurnaan maupun peningkatan kemampuan penulis dalam kesempatan selanjutnya.

Yogyakarta, Januari 2021

Penulis



## Halaman Persembahan

*A dream goes on forever...*

Tesis ini kupersembahkan teruntuk keluarga kecilku, istriku tercinta Vanessa Valencia dan kedua anakku tersayang Sean Sebastian Santosa dan Savio Saverio Santosa.



## Daftar Isi

Pengesahan Tesis Berjudul.....	ii
Pernyataan Tidak Ada Plagiasi.....	iii
Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi .....	iv
Kata Pengantar.....	v
Halaman Persembahan .....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar .....	x
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Lampiran .....	xii
Intisari.....	xiii
<i>Abstract</i> .....	xiv
Bab 1. Latar Belakang .....	1
1.1. Rumusan Penelitian .....	2
1.2. Tujuan Penelitian .....	2
1.3. Manfaat Penelitian .....	3
1.3.1. Manfaat Teoritis .....	3
1.3.2. Manfaat Praktis .....	3
Bab 2. Tinjauan Pustaka .....	4
2.1. Binahong .....	4
2.2. Vitexin .....	4
2.3. Ekstraksi.....	4
2.4. Ekstrak .....	5
2.5. Ekstraksi Daun Binahong .....	5
2.6. Standardisasi .....	5
2.7. Kapsul .....	5
2.8. Bahan Pengerings ( <i>Colloidal Silicon Dioxide</i> dan <i>Microcrystalline Cellulose</i> ).....	6
2.9. Bahan Tambahan Sediaan Kapsul (Laktosa, Mg Stearat, Talk, Corn Starch, <i>Sodium Starch Glycolate</i> ) .....	6
Bab 3. Metode .....	8
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	8
3.2. Variabel Penelitian.....	8



3.2.1. Variabel Bebas .....	8
3.2.2. Variabel Tergantung.....	8
3.3. Definisi Operasional .....	8
3.3.1. Ekstrak Cair Daun Binahong.....	8
3.3.2. Ekstrak Kering Daun Binahong .....	8
3.3.3. Respon.....	8
3.3.4. Kriteria Penerimaan.....	9
3.4. Alur Kerja .....	9
3.5. Cara Kerja .....	9
3.5.1. Preparasi Simplisia.....	9
3.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong.....	9
3.5.3. Optimasi Pengeringan Ekstrak Daun Binahong.....	10
3.5.4. Formulasi Sediaan Kapsul Ekstrak Daun Binahong .....	10
Bab 4. Hasil dan Pembahasan .....	12
4.1. Pembuatan Ekstrak Cair Daun Binahong .....	12
4.2. Penetapan Kadar Vitexin dalam Ekstrak Daun Binahong .....	12
4.3. Pengeringan Ekstrak Cair Daun Binahong .....	13
4.4. Formulasi Kapsul Ekstrak Daun Binahong .....	15
4.4.1. Uji Waktu Hancur. ....	15
4.4.2. Uji Penetapan Kadar Vitexin.....	16
4.4.3. Uji Keseragaman Sediaan .....	17
Bab 5. Kesimpulan dan Saran.....	18
5.1. Kesimpulan .....	18
5.2. Saran .....	18
Referensi.....	19
Lampiran.....	23

**Daftar Gambar**

Gambar 1. Struktur *Vitexin* ..... 4



**Daftar Tabel**

Tabel 1. Kriteria Penerimaan..... 9

Tabel 2. Komposisi campuran bahan pengering ..... 10

Tabel 3. Formulasi sediaan kapsul ekstrak daun binahong ..... 11

Tabel 4. Hasil penetapan kadar *vitexin* dalam ekstrak daun binahong..... 12

Tabel 5. Hasil pengukuran respon *loss on drying* (LOD) dan *water uptake* serta perhitungan *Carr's Index* ..... 13

Tabel 6. Hasil olah data dengan piranti lunak *Design-Expert 12®* ..... 14

Tabel 7. Hasil pengukuran waktu hancur 4 formula kapsul ..... 15

Tabel 8. Hasil penetapan kadar *vitexin* dalam formula kapsul ekstrak daun binahong.. 16

Tabel 9. Hasil uji keseragaman bobot kapsul ekstrak daun binahong..... 17



### Daftar Lampiran

Lampiran 1. Luaran Wajib.....	23
Lampiran 2. Hasil Determinasi.....	30
Lampiran 3. <i>Raw Data</i> Uji <i>Bulk Density</i> dan <i>Tap Density</i> .....	31
Lampiran 4. <i>Raw Data</i> Uji <i>Loss on Drying</i> dan <i>Water Uptake</i> .....	32
Lampiran 5. Kurva Baku <i>Vitexin</i> dan <i>Raw Data</i> Uji Penetapan Kadar.....	33
Lampiran 6. <i>Raw Data</i> Uji Keseragaman Sediaan (Keseragaman Bobot).....	34
Lampiran 7. Uji Statistik Waktu Hancur .....	36
Lampiran 8. Uji Statistik Penetapan Kadar <i>Vitexin</i> dalam Kapsul.....	38



## Intisari

Indonesia merupakan suatu negara yang kaya akan varietas tanaman obat yang berpotensi untuk dikembangkan. Banyak tanaman yang sudah dikembangkan untuk pengobatan, namun sebagian besar hanya sebatas jamu. Ketersediaan obat herbal terstandar masih terbatas, sementara potensi tanaman herbal di Indonesia sangat besar. Oleh karena itu, sediaan herbal terstandar untuk pengobatan sangat berpotensi untuk dikembangkan.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah salah satu tanaman obat di Indonesia yang memiliki berbagai aktivitas antara lain sebagai anti bakteri, anti jamur, *anti-aging*, anti-diabetes, dan sebagainya. Bagian yang sering digunakan dari tanaman tersebut adalah daun, yang diekstraksi sebagai zat aktif untuk sediaan obat herbal. Sejauh ini belum ditemukan sediaan binahong yang terstandar.

Bentuk sediaan kapsul dipilih untuk menutupi sifat fisik ekstrak yang cenderung lembab, memiliki rasa dan bau khas, serta juga kepraktisannya dibandingkan bentuk sediaan serbuk. Selain itu kapsul juga membutuhkan biaya produksi yang relatif rendah serta dapat meningkatkan kepatuhan pasien.

Penelitian ini dilakukan dengan membuat ekstrak daun binahong dengan tehnik maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarutnya. Hasil ekstrak kemudian dikeringkan menggunakan kombinasi *colloidal silicon dioxide* (CSD) dan *microcrystalline cellulose* (MCC) sebagai bahan pengering yang dioptimasi secara *simplex lattice design* (SLD). Hasil pengeringan terbaik yang memenuhi kriteria kemudian dikembangkan untuk formula kapsul ekstrak daun binahong dengan *sodium starch glycolate* (SSG) sebagai penghancur.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak cair daun binahong mengandung *vitexin* sebesar 11,2965 ppm. Optimasi pengeringan dengan kedua bahan pengering secara SLD menunjukkan bahwa komposisi CSD:MCC yang optimal adalah 70:30. Keempat formula kapsul ekstrak daun binahong memenuhi persyaratan uji waktu hancur dan uji keseragaman kandungan, dimana SSG mempercepat waktu hancur kapsul.

Kata kunci

Binahong, ekstrak daun binahong, formula kapsul daun binahong.

### *Abstract*

Indonesia is a country rich in medicinal plant varieties that have the potential to be developed. Many plants have been developed for medicinal purposes, but most of them are limited to herbal medicine. The availability of standardized herbal medicines is still limited, while the potential for herbal plants in Indonesia is very large. Therefore, standardized herbal preparations for treatment have the potential to be developed.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is a medicinal plant in Indonesia which has various activities, including anti-bacterial, anti-fungal, anti-aging, anti-diabetes, and so on. The frequently used part of the plant is the leaves, which are extracted as an active substance for herbal medicinal preparations. So far no standardized binahong preparations have been found.

The capsule dosage form was chosen to cover the physical properties of the extract which tended to be moist, had a distinctive taste and smell, as well as its practicality compared to powder dosage forms. Also, capsules require relatively low production costs and can improve patient compliance.

This research was conducted by making binahong leaf extract using maceration techniques with 96% ethanol as the solvent. The extract was then dried using a combination of colloidal silicon dioxide (CSD) and microcrystalline cellulose (MCC) as a drying agent that was optimized by simplex lattice design (SLD). The best drying results that meet the criteria were then developed for the binahong leaf extract capsule formula with sodium starch glycolate (SSG) as a crusher.

The results showed that the binahong leaf liquid extract contained 11.2965 ppm of vitexin. The SLD drying optimization of the two drying agents shows that the optimal CSD: MCC composition is 70:30. The four binahong leaf extract capsule formulas met the requirements of the disintegration time test and content uniformity test, where SSG accelerated the capsule disintegration time.

#### Keywords

Binahong, binahong leaf extract, binahong leaf capsule formula.

## Bab 1. Latar Belakang

Indonesia memiliki kurang lebih 28.000 jenis tumbuhan dan kurang lebih 6.000 diantaranya sudah digunakan dalam pengobatan(1). Beberapa tanaman sudah dikembangkan bentuk sediaan pengobatannya, seperti Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*), Kunyit (*Curcuma domestica*), Meniran (*Phyllanthus niruri*), Pace (*Morinda citrifolia*) dan sebagainya. Salah satu tanaman yang potensial untuk dikembangkan menjadi bentuk sediaan adalah Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)(2).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) potensial untuk dikembangkan karena memiliki cukup banyak kegunaan bagi kesehatan, antara lain sebagai anti bakteri(3–6), anti jamur(7), *anti-aging*(8), anti-diabetes(2,9), penyembuh luka(10,11), anti inflamasi(12) dan anti oksidan(13,14). Sejauh ini binahong hanya tersedia dipasaran berupa sediaan obat tradisional dalam bentuk serbuk atau kapsul untuk asam urat, rematik dan pegel linu.

Ekstrak yang dihasilkan dari tanaman umumnya memiliki rasa yang tidak enak, bau yang khas dan terkadang juga tampilannya yang kurang menarik. Tidak terkecuali dengan ekstrak dari daun binahong (DB). Oleh karena itu untuk pengembangan DB menjadi sediaan yang siap dikonsumsi, perlu dipilih bentuk sediaan yang sesuai. Bentuk sediaan kapsul terpilih karena dapat mengatasi kondisi tersebut. Selain itu sediaan kapsul juga memberi beberapa keuntungan, antara lain biaya produksi yang lebih rendah dibanding biaya produksi tablet serta dapat meningkatkan kepatuhan pasien(15).

Ekstrak DB yang diperoleh perlu distandardisasi agar kualitas dan konsistensinya terjaga. Dalam penelitian ini *vitexin* digunakan sebagai *marker* untuk standardisasi ekstrak daun binahong, karena dari beberapa penelitian diketahui *vitexin* yang terdapat dalam daun binahong memiliki aktivitas farmakologi yang cukup luas(16,17). Selain itu sejauh penelusuran penulis, belum ditemukan ekstrak DB yang terstandar *vitexin*.

Untuk pengembangan sediaan kapsul DB, ekstrak yang digunakan adalah ekstrak yang sudah dikeringkan. Pemilihan bahan pengering yang tepat diperlukan agar ekstrak kering yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik. CSD merupakan eksipien yang berfungsi sebagai pelicin, pengisi kapsul serta sebagai adsorben(18), sedangkan MCC memiliki fungsi antara lain sebagai pengisi dan adsorben(18). Kombinasi keduanya diharapkan dapat menghasilkan ekstrak kering dengan sifat alir yang baik, serta dapat melindungi ekstrak dari kelembaban udara.

Selain ekstrak kering DB sebagai zat aktif, dalam formulasi sediaan kapsul juga memerlukan bahan tambahan lainnya. Bahan tambahan disini sengaja ditambahkan ke dalam suatu produk obat dengan berbagai fungsi, antara lain untuk menambah *volume*, sebagai bahan penghancur, bahan pengikat, bahan pelicin, serta untuk menutupi rasa atau untuk memodifikasi pelepasan obat(19). Sebagai pengisi, laktosa dan *corn starch* berfungsi sebagai pengisi(18), talk sebagai peluncur(18), *Mg stearat* sebagai pelicin serta SSG sebagai penghancur(19). Dalam sediaan kapsul, bahan penghancur memegang peran penting sehubungan dengan khasiatnya.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan standardisasi ekstrak DB dengan *vitexin* sebagai *marker*, melakukan optimasi komposisi CSD dan MCC sebagai bahan pengering, serta melihat pengaruh SSG sebagai bahan penghancur dalam formulasi sediaan kapsul ekstrak daun binahong. Lebih luasnya penelitian ini berguna untuk mengoptimalkan potensi tanaman obat di Indonesia khususnya binahong.

### 1.1. Rumusan Penelitian

Permasalahan yang diangkat oleh penulis dalam penelitian ini :

1. Berapa kandungan *vitexin* dalam ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?
2. Berapa komposisi optimum bahan pengering (CSD dan MCC) yang digunakan untuk pengeringan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?
3. Bagaimana profil sifat fisik ekstrak kering daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?
4. Bagaimana pengaruh jumlah bahan penghancur (SSG) dalam formula sediaan kapsul ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?

### 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini:

1. Melakukan standardisasi ekstrak etanol binahong dengan *vitexin* sebagai marker.
2. Melakukan optimasi bahan pengering yang digunakan (CSD dan MCC) untuk pengeringan ekstrak daun binahong.
3. Mengetahui profil sifat fisik ekstrak kering daun binahong.
4. Mengetahui pengaruh jumlah bahan penghancur (SSG) dalam formula sediaan kapsul ekstrak daun binahong.



### 1.3. Manfaat Penelitian

#### 1.3.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan ekstrak daun binahong terstandar *vitexin*, optimasi bahan pengering dalam pengeringan ekstrak daun binahong dan formula sediaan kapsul ekstrak kering daun binahong, serta

#### 1.3.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran dan informasi tentang standardisasi, pengeringan dan formulasi sediaan kapsul ekstrak daun binahong hingga siap untuk diterapkan pada skala industri.



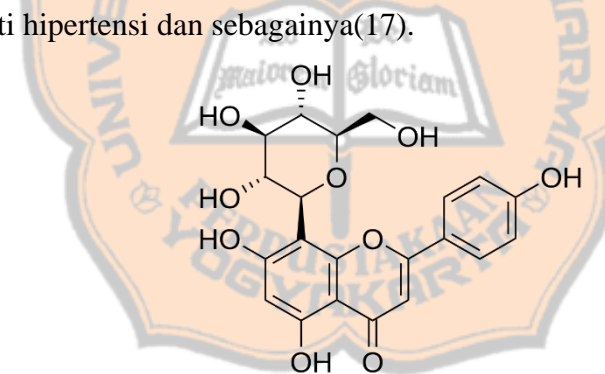
## Bab 2. Tinjauan Pustaka

### 2.1. Binahong

Daun binahong berasal dari tanaman obat binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), yang termasuk dalam famili *Basellaceae*(20,21). Tanaman binahong di Indonesia dipercaya dapat menyembuhkan beberapa penyakit, maupun untuk menjaga kesehatan(20). Daun Binahong mengandung terpenoid, steroid, glikosida, flavonoid, saponin dan alkaloid(22). Sejumlah senyawa murni yang didapat dari isolasi tanaman binahong antara lain *ursolic acid*, *ancordin*, *apigenin*(22) dan *vitexin*(13,23).

### 2.2. Vitexin

*Vitexin* (*apigenin-8-C-glucoside*) merupakan suatu senyawa golongan flavonoid tepatnya *c-glycosylated flavon*. *Vitexin* adalah suatu komponen aktif yang ditemukan pada sejumlah tanaman obat(17). *Vitexin* berbentuk serbuk kristal kuning yang tidak larut dalam air(24), memiliki bobot molekul 432,38, titik didih 1496,39°K dan titik leleh 1125,97°K(25). *Vitexin* sudah mulai dikenal dan diterima karena memiliki efek farmakologis yang luas, seperti anti diabetes(16), anti kanker, anti oksidan, anti virus, anti inflamasi, anti hipertensi dan sebagainya(17).



Gambar 1. Struktur *Vitexin*

### 2.3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair(26). Standarisasi ekstrak mencakup parameter spesifik dan non-spesifik(26). Parameter non-spesifik antara lain: susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba dan sebagainya(26). Sedangkan parameter spesifik antara lain: identitas ekstrak, organoleptik, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, kadar total golongan kandungan kimia dan sebagainya(26).

## 2.4. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan(27). Bahan alam (daun binahong) yang akan digunakan dibuat dalam bentuk ekstrak sebelum selanjutnya dibuat bentuk sediaan yang diinginkan.

## 2.5. Ekstraksi Daun Binahong

Proses ekstraksi daun binahong umumnya menggunakan teknik maserasi(2,8,9,28,29), yaitu dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut(9). Pelarut yang biasa digunakan adalah air atau pelarut organik(30). Teknik maserasi ini cocok untuk zat aktif yang tidak tahan terhadap proses pemanasan(30). Peralatan yang digunakan cukup sederhana dan pengerjaannya juga relatif mudah(30). Oleh karena itu teknik maserasi ini sering kita jumpai pada penelitian yang digunakan untuk ekstraksi tanaman obat, termasuk Binahong(7,10,31,32).

## 2.6. Standardisasi

Standardisasi merupakan suatu ukuran yang esensial untuk mengontrol kualitas dari obat herbal(33,34). Hal-hal yang mendorong perlunya obat herbal distandardisasi antara lain karena pada proses pengembangan, teknologi dan konsep standardisasi bisa berbeda-beda. Untuk komersialisasi perlu dikembangkan suplai bahan baku yang terjamin serta pengaruh lingkungan dapat mempengaruhi karakter tanaman itu sendiri(33).

Standardisasi memiliki beberapa tujuan, yaitu untuk konsistensi tiap bets, menentukan dosis serta sebagai kontrol positif untuk melihat apakah terjadi degradasi selama produksi(34). Standardisasi obat herbal dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu pertama standardisasi untuk ekstrak dari senyawa aktif yang sudah diketahui dan yang kedua untuk ekstrak senyawa penanda (*marker*) dimana senyawa penanda digunakan untuk menilai keberadaan senyawa lain pada tanaman obat(33).

## 2.7. Kapsul

Kapsul adalah sediaan padat yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut dalam lambung(27). Penggunaan bahan alam (ekstrak dari

tanaman obat) untuk pengobatan umumnya tidak disediakan dalam bentuk simplisia murni, namun ditambahkan bahan lainnya yang berguna untuk mengurangi bau, menghilangkan rasa tidak enak pada bahan alam tersebut, menjaga stabilitas serta untuk menentukan dosis yang sesuai(30). Kapsul merupakan salah satu bentuk sediaan yang umum ditemui untuk produk berbahan dasar ekstrak(30).

Umumnya kapsul untuk bahan alam mengandung ekstrak kering sebagai zat aktif serta bahan tambahan yang berfungsi sebagai pengering (amilum, laktosa, CSD, MCC) dan pelicin (*Mg Stearat* atau *talk*)(30). Sebelum dimasukkan ke dalam cangkang kapsul, campuran zat aktif dan bahan tambahan tersebut harus mempunyai sifat alir yang baik dan tidak higroskopis(30). Massa bahan alam tersebut dapat dibuat dengan pencampuran langsung ataupun dengan metode granulasi(30).

### **2.8. Bahan Pengering (*Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose*)**

*Colloidal silicon dioxide* ( $\text{SiO}_2$ ) merupakan silika dalam ukuran submikroskopik dengan ukuran partikel sekitar 15 nm(18). Berupa serbuk amorp ringan, berwarna putih kebiruan, tak berbau dan tak berasa(18). CSD dapat berfungsi sebagai adsorben, *anticaking agent*, *emulsion stabilizer*, *glidant*, *suspending agent*, penghancur tablet, *thermal stabilizer*, dan *viscosity-increasing agent*(18). Dalam penelitian ini CSD berfungsi sebagai adsorben untuk pengeringan ekstrak.

*Microcrystalline cellulose* merupakan selulosa yang sudah terpurifikasi dan terdepolimerisasi sebagian(18). Berupa serbuk kristal putih, tak berbau dan tak berasa(18). MCC berfungsi sebagai adsorben, *suspending agent*, pengisi tablet dan kapsul dan sebagai penghancur tablet(18). Bersama CSD, MCC dan CSD dikombinasikan sebagai adsorben untuk pengeringan ekstrak.

### **2.9. Bahan Tambahan Sediaan Kapsul (Laktosa, Mg Stearat, Talk, Corn Starch, Sodium Starch Glycolate)**

Laktosa merupakan disakarida natural yang mengandung galaktosa dan glukosa yang biasa dijumpai pada air susu kebanyakan mamalia(19). Berupa serbuk atau kristal putih hingga putih keputihan(18). Laktosa umumnya digunakan sebagai bahan pengisi dan pengikat sediaan tablet dan kapsul(18). Dalam penelitian ini digunakan sebagai pengisi kapsul.

Magnesium stearat merupakan serbuk halus berwarna putih, samar-samar tercium aroma asam stearat, dan memiliki rasa yang khas(18). Terasa licin di tangan dan mudah menempel di kulit(18). Fungsi utamanya adalah sebagai pelumasan dalam sediaan tablet dan kapsul dengan jumlah pemakaian 0,25 – 5,0 % b/b(18). Dalam sediaan kapsul daun binahong ini magnesium stearat difungsikan sebagai pelumasan.

Talcum merupakan serbuk kristal halus berwarna putih hingga putih keabu-abuan, tak berbau, manis-manisan(18). Mudah menempel pada kulit dan terasa lembut saat disentuh(18). Talcum memiliki beberapa fungsi seperti *anticaking agent*, peluncur, serta sebagai pelumasan pada sediaan tablet dan kapsul(18). Dalam penelitian ini digunakan sebagai peluncur.

*Corn Starch* atau pati jagung merupakan bahan tambahan yang berupa serbuk putih yang mengalir bebas(18). *Corn starch* berfungsi sebagai bahan pengikat, penghancur, pengisi tablet dan kapsul(18). Bersama laktosa, *corn starch* dikombinasikan sebagai pengisi untuk sediaan kapsul ekstrak daun binahong.

*Sodium starch glycolate* merupakan serbuk putih atau hampir putih, bersifat *free-flowing* dan sangat higroskopik(18). Secara umum SSG digunakan sebagai bahan penghancur dalam sediaan tablet maupun kapsul(18). Demikian juga dalam penelitian ini SSG digunakan sebagai bahan penghancur, dan akan diamati pengaruhnya jumlahnya terhadap waktu hancur kapsul ekstrak daun binahong.

## Bab 3. Metode

### 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis rancangan penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni. Penelitian dilakukan di Laboratorium Formulasi Sediaan Padat, Farmasi Fisika, Farmakognosi Fitokimia dan Kimia Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

### 3.2. Variabel Penelitian

#### 3.2.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah komposisi bahan pengering, yaitu *Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose*, serta jumlah *Sodium Starch Glycolate* dalam formula kapsul.

#### 3.2.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah *bulk density*, *tap density*, *loss on drying*, *water uptake*, waktu hancur, uji keseragaman kandungan dan kadar *vitexin*.

### 3.3. Definisi Operasional

#### 3.3.1. Ekstrak Cair Daun Binahong

Ekstrak kental daun binahong adalah ekstrak cair hasil maserasi daun binahong dengan pelarut etanol 96%, lalu diuapkan hingga sisa cairan 10% dari volume awal.

#### 3.3.2. Ekstrak Kering Daun Binahong

Ekstrak kering daun binahong adalah serbuk dari ekstrak kental daun binahong yang dikeringkan dengan bahan pengering kombinasi *Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose*, lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 60°C selama 1 jam 30 menit.

#### 3.3.3. Respon

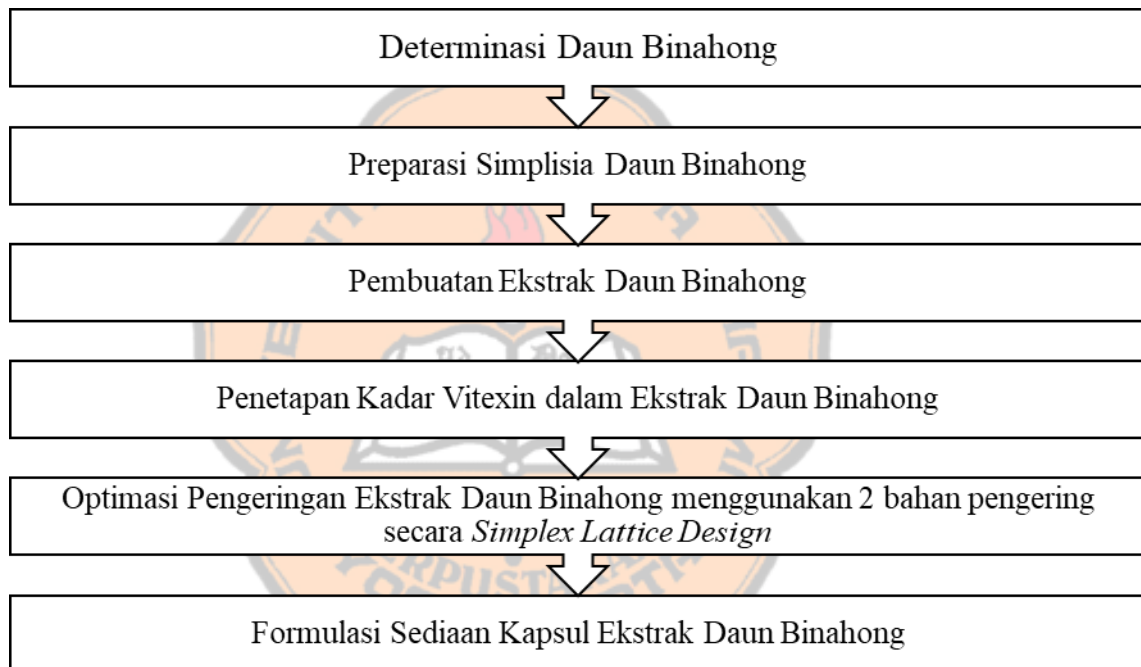
Respon adalah besaran yang diamati dalam penelitian ini, yaitu : *bulk density*, *tap density*, *loss on drying* (LOD), *water uptake*, waktu hancur, keseragaman kandungan dan kadar *vitexin*.

### 3.3.4. Kriteria Penerimaan

**Tabel 1.** Kriteria Penerimaan

Respon / Perhitungan	Kriteria
Carr's Index	<i>Fair</i> (16 - 20)
Loss on Drying (LOD)	< 10 %
Water Uptake	<i>slighgtly hygroscopic</i> (0,2 – 2,0) %
Waktu Hancur	< 15 menit

### 3.4. Alur Kerja



### 3.5. Cara Kerja

#### 3.5.1. Preparasi Simplisia

Daun Binahong yang masih segar dipilih yang baik dan dibersihkan dari kotoran. Kemudian dikeringkan menggunakan oven merk Venticell dengan suhu 60°C selama 5 jam. Daun yang sudah mengering kemudian dihancurkan dan dihaluskan menggunakan *grinder*, lalu disaring dengan ayakan mesh nomor 40.

#### 3.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong

Timbang serbuk daun binahong sebanyak 500 g, lalu tambahkan etanol 96% sebanyak 5L, suhu di atur 55°C dikendalikan dengan *waterbath* disertai pengadukan

konstan dengan kecepatan 200 rpm. Proses ini dilakukan selama 90 menit, lalu hasilnya disaring dengan kertas *Whatman*. Selanjutnya di evaporasi menggunakan evaporator sampai ekstrak tinggal 10%.

### 3.5.3. Optimasi Pengeringan Ekstrak Daun Binahong

Ekstrak cair hasil dari ekstraksi dikeringkan menggunakan campuran 2 bahan yaitu *Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose* yang didesain secara *Simplex Lattice Design* sebagai berikut :

**Tabel 2.** Komposisi campuran bahan pengering

Nama Bahan	P1	P2	P3	P4	P5
<i>Colloidal Silicon Dioxide</i>	1	0,75	0,5	0,25	0
<i>Microcrystalline Cellulose</i>	0	0,25	0,5	0,75	1

Pada P1 bahan yang digunakan 100% *Colloidal Silicon Dioxide* dan pada P5 bahan yang digunakan adalah 100% *Microcrystalline Cellulose*. Total bahan pengering yang digunakan adalah 40% dari bobot ekstrak cair.

Dari hasil pengeringan yang diperoleh lalu diukur parameter-parameter sebagai berikut, yaitu: *bulk density*, *tap density*, *loss on drying* (LOD) dan *water uptake*. Selanjutnya hasil pengukuran dianalisa secara statistik dengan *simplex lattice design* menggunakan bantuan piranti lunak *Design-Expert 12<sup>®</sup>*. Parameter uji yang dimasukkan ke dalam piranti lunak adalah: *Carr's Index*, LOD dan *water uptake*. Hasil pengolahan dengan piranti lunak tersebut, digunakan sebagai dasar untuk formulasi kapsul ekstrak daun binahong.

### 3.5.4. Formulasi Sediaan Kapsul Ekstrak Daun Binahong

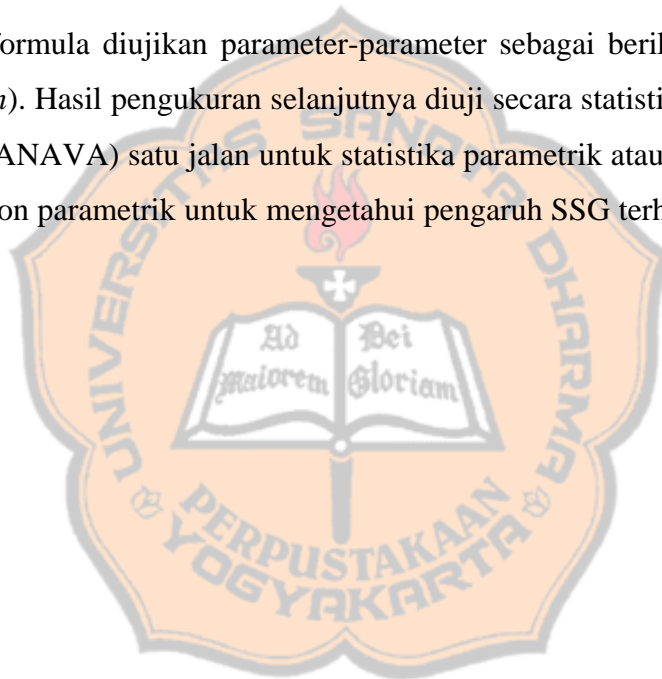
Berdasarkan data dari hasil pengeringan yang didesain secara *simplex lattice design* menggunakan bantuan piranti lunak *Design-Expert 12<sup>®</sup>*, maka dipilih formula pengeringan yang memenuhi kriteria. Selanjutnya ekstrak kering tersebut diformulasikan menjadi sediaan kapsul dengan variabel bebas *Sodium Starch Glycolate* sebagai berikut :



**Tabel 3.** Formulasi sediaan kapsul ekstrak daun binahong

Nama Bahan	Jumlah per kapsul (mg)			
	F1	F2	F3	F4
Ekstrak Binahong	56,00	56,00	56,00	56,00
Laktosa	82.60	79.30	77.65	74.35
<i>Corn Stach</i> (10%)	16.50	16.50	16.50	16.50
Talk (3%)	4.95	4.95	4.95	4.95
Mg Stearat (3%)	4.95	4.95	4.95	4.95
<i>Sodium Starch Glycolate</i>	0	3.30	4.95	8.25

Masing-masing formula diujikan parameter-parameter sebagai berikut : waktu hancur dan kadar (*vitexin*). Hasil pengukuran selanjutnya diuji secara statistik menggunakan uji analisis varians (ANAVA) satu jalan untuk statistika parametrik atau uji Kruskal-Wallis untuk statistika non parametrik untuk mengetahui pengaruh SSG terhadap waktu hancur kapsul.



## Bab 4. Hasil dan Pembahasan

### 4.1. Pembuatan Ekstrak Cair Daun Binahong

Pembuatan ekstrak daun binahong dilakukan dengan teknik maserasi, menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena ekstraksi dengan etanol memberikan hasil kadar *vitexin* yang lebih tinggi dibandingkan jika menggunakan pelarut air(35). Selain itu etanol mudah diperoleh dengan harga yang relatif murah, mudah diuapkan, serta dapat berfungsi sebagai pelarut sekaligus pengawet(26).

Air tidak dipilih karena *vitexin* tidak larut dalam air(24), sedangkan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) meskipun menjanjikan untuk ekstraksi *vitexin* dari daun binahong(23), tidak dipilih karena ketersediaanya yang susah dan relatif mahal, sehingga menurut pengalaman penulis tidak efisien penerapannya untuk industri skala besar.

### 4.2. Penetapan Kadar Vitexin dalam Ekstrak Daun Binahong

Penetapan kadar *vitexin* dalam ekstrak daun binahong telah dikembangkan menggunakan metode HPLC(36,37). Namun menurut Santosa et al.(38) telah dikembangkan metode kemometrik sebagai alternatif penetapan kadar *vitexin* dalam ekstrak daun binahong. Metode ini lebih sederhana namun memberikan hasil yang cukup baik(38).

Hasil penetapan kadar *vitexin* dalam ekstrak daun binahong dilakukan secara kemometrik (*Partial Least Squares / PLS*) sebagai berikut :

**Tabel 4.** Hasil penetapan kadar *vitexin* dalam ekstrak daun binahong

<b>Ekstrak Daun Binahong</b>	<b>Kadar <i>Vitexin</i> (ppm)</b>
Sampel 1	11,3966
Sampel 2	11,0421
Sampel 3	11,4508
<b>Rerata</b>	<b>11,2965</b>
<b>SD</b>	<b>0,22199</b>
<b>CV</b>	<b>1,96509</b>

Dari tiga kali pengujian, rata-rata kadar *vitexin* dalam binahong adalah 11,2965 ppm.

#### 4.3. Pengeringan Ekstrak Cair Daun Binahong

Pengeringan ekstrak cair daun binahong didesain secara *Simplex Lattice Design* menggunakan kombinasi *Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose* sebagai pengering. Respon yang diukur dari pengeringan tersebut : *bulk density*, *tap density*, *loss on drying* (LOD) dan *water uptake*. *Carr's Index* dihitung berdasarkan formula(39,40) sebagai berikut :

$$C = 100 (1 - B/T)$$

C : *Carr's Index* (%)  
 B : *Bulk density* (g/ml)  
 T : *Tap density* (g/ml)

**Tabel 5.** Hasil pengukuran respon *loss on drying* (LOD) dan *water uptake* serta perhitungan *Carr's Index*

Formula	LOD (%) ± SD	Water Uptake (%) ± SD	Carr's Index (%) ± SD
P1	3.78 ± 0.205	1.10 ± 0.046	20.00 ± 0.000
P2	4.72 ± 0.161	1.03 ± 0.032	19.33 ± 1.155
P3	1.97 ± 0.085	1.09 ± 0.015	21.33 ± 1.155
P4	2.51 ± 0.146	1.67 ± 0.091	18.67 ± 1.155
P5	3.72 ± 0.200	1.80 ± 0.083	17.33 ± 2.309

Optimasi formula pengering secara *simplex lattice design* dilakukan dengan bantuan piranti lunak *Design-Expert 12*<sup>®</sup>. Adapun parameter uji yang dimasukkan ke dalam piranti lunak adalah : *Carr's Index*, LOD dan *water uptake*.

Dalam optimasi formula pengering, kriteria penerimaan untuk parameter *Carr's Index*(39,40) yang dimasukkan ke dalam perhitungan adalah kriteria *fair* ke atas (max 20). Kriteria ini dipilih dengan harapan ekstrak kering yang dihasilkan memiliki sifat alir yang baik, sehingga dalam formulasi sediaan kapsul tidak menemui masalah yang bearti.

Untuk parameter LOD, batasan penerimaannya adalah <10%(21). Sedangkan parameter *water uptake*, kriteria yang digunakan dalam perhitungan adalah 0,2 – 2 %

(*slighgtly hygroscopic*)(41). Kriteria ini dipilih dengan harapan ekstrak kering yang dihasilkan memiliki sifat higroskopik yang rendah. Hal ini bertujuan agar stabilitas ekstrak kering yang dihasilkan terjaga dengan baik sehingga dapat memperpanjang masa kadaluarsanya.

Hasil olah data dengan piranti lunak *Design-Expert 12*<sup>®</sup>, diperoleh sebanyak 23 prediksi komposisi campuran yang memenuhi kriteria (lihat tabel 6).

**Tabel 6.** Hasil olah data dengan piranti lunak *Design-Expert 12*<sup>®</sup>

Number	CSD	MCC	LOD	Water Uptake	Carr's Index	Desirability
1	0.700	0.300	4.106	1.001	19.947	1.000
2	0.250	0.750	2.513	1.667	18.667	1.000
3	1.000	0.000	3.780	1.103	20.000	1.000
4	0.000	1.000	3.720	1.797	17.333	1.000
5	0.750	0.250	4.723	1.033	19.333	1.000
6	0.327	0.673	1.963	1.463	19.890	1.000
7	0.717	0.283	4.318	1.010	19.743	1.000
8	0.961	0.039	4.734	1.140	19.036	1.000
9	0.230	0.770	2.684	1.715	18.344	1.000
10	0.173	0.827	3.197	1.837	17.475	1.000
11	0.042	0.958	3.874	1.889	16.808	1.000
12	0.093	0.907	3.761	1.920	16.739	1.000
13	0.114	0.886	3.646	1.912	16.852	1.000
14	0.289	0.711	2.204	1.564	19.307	1.000
15	0.264	0.736	2.396	1.630	18.900	1.000
16	0.981	0.019	4.299	1.126	19.470	1.000
17	0.731	0.269	4.503	1.020	19.559	1.000
18	0.056	0.944	3.871	1.906	16.731	1.000
19	0.148	0.852	3.402	1.876	17.168	1.000

20	0.072	0.928	3.841	1.917	16.701	1.000
21	0.766	0.234	4.902	1.046	19.144	1.000
22	0.017	0.983	3.816	1.843	17.057	1.000
23	0.193	0.807	3.021	1.800	17.756	1.000

Berdasarkan hasil tersebut, dipilih satu komposisi campuran pengering yang akan digunakan untuk formulasi sediaan kapsul ekstrak daun binahong. Meskipun semua prediksi komposisi campuran memenuhi kriteria yang ditetapkan, penulis memilih komposisi campuran yang memiliki respon *water uptake* paling kecil, dalam hal ini terpilih komposisi **CSD:MCC = 0.700:0.300**. Dengan respon *water uptake* yang kecil (higroskopisitas rendah) diharapkan serbuk dapat memiliki stabilitas yang lebih baik. Sebagaimana telah diketahui air adalah media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga dengan higroskopisitas yang rendah, diharapkan dapat menekan pertumbuhannya.

#### 4.4. Formulasi Kapsul Ekstrak Daun Binahong

##### 4.4.1. Uji Waktu Hancur.

Hasil uji waktu hancur dari 4 formula kapsul ekstrak daun binahong sebagai berikut :

**Tabel 7.** Hasil pengukuran waktu hancur 4 formula kapsul

Waktu hancur (detik)	F1	F2	F3	F4
Uji ke-1	341	201	168	131
Uji ke-2	323	193	171	136
Uji ke-3	329	189	159	126
<b>Rerata</b>	<b>331.0</b>	<b>194.3</b>	<b>166.0</b>	<b>131.0</b>
<b>SD</b>	<b>9.17</b>	<b>6.11</b>	<b>6.24</b>	<b>5.00</b>
<b>CV</b>	<b>2.77</b>	<b>3.14</b>	<b>3.76</b>	<b>3.82</b>

Hasil uji menunjukkan rata-rata waktu hancur F1 sampai F4 berturut-turut adalah 331, 194,3, 166 dan 131 detik. Untuk melihat apakah ada perbedaan waktu hancur dari masing-masing formula maka dilakukan analisa secara statistik terhadap data tersebut. Pertama kali dilakukan uji normalitas masing-masing kelompok data,

hasilnya menunjukkan bahwa semua kelompok data terdistribusi secara normal (nilai  $p\text{-value} \geq 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji varians homogen dan hasilnya menunjukkan bahwa varians data homogen (nilai  $p\text{-value} \geq 0,05$ ). Dengan demikian asumsi untuk melakukan uji analisis varian (ANAVA) terpenuhi.

Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa waktu hancur masing-masing formula berbeda satu sama lain. Data menunjukkan waktu hancur  $F1 > F2 > F3 > F4$ . Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa SSG dalam formula kapsul dapat mempercepat waktu hancur kapsul ekstrak daun binahong.

#### 4.4.2. Uji Penetapan Kadar Vitexin

Hasil penetapan kadar untuk masing-masing formula kapsul ekstrak daun binahong tertera pada tabel berikut :

**Tabel 8.** Hasil penetapan kadar *vitexin* dalam formula kapsul ekstrak daun binahong

<b>Penetapan Kadar (ppm)</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Uji ke-1	4.622098	5.081568	4.108465	5.763311
Uji ke-2	5.159313	4.715871	4.013034	5.746408
Uji ke-3	4.991433	5.121408	4.251059	5.621592
<b>Rerata</b>	<b>4.924282</b>	<b>4.972949</b>	<b>4.124186</b>	<b>5.710437</b>
<b>SD</b>	<b>0.274831</b>	<b>0.223525</b>	<b>0.119789</b>	<b>0.077405</b>
<b>CV</b>	<b>5.581131</b>	<b>4.494818</b>	<b>2.904542</b>	<b>1.355495</b>

Hasil uji menunjukkan rata-rata kadar *vitexin* dalam tiap kapsul untuk masing-masing formula berturut-turut : 4,924 ppm, 4,973 ppm, 4,124 ppm dan 5,71 ppm. Hasil pengolahan secara statistik menunjukkan bahwa masing-masing kelompok data terdistribusi secara normal (nilai  $p\text{-value} \geq 0,05$ ). Begitu juga dengan hasil uji varians homogen, nilai  $p\text{-value} \geq 0,05$  menunjukkan bahwa varians data homogen. Dengan demikian asumsi untuk melakukan uji analisis varian (ANAVA) terpenuhi.

Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa kadar *vitexin* dalam F1 dan F2 tidak berbeda ( $adjusted\ p\text{-value} \geq 0,025$ ), namun kedua formula tersebut berbeda dengan F3 dan F4 ( $adjusted\ p\text{-value} < 0,025$ ). Demikian halnya dengan F3 dan F4, hasil statistik juga menunjukkan perbedaan ( $adjusted\ p\text{-value} < 0,025$ ).

#### 4.4.3. Uji Keseragaman Sediaan

Uji keseragaman kapsul ekstrak daun binahong dilakukan dengan metode uji keseragaman bobot. Hal ini dilakukan karena kandungan ekstrak daun binahong dalam tiap kapsul adalah 56 mg ( $\geq 25$  mg) dan dengan persentase bobot 33,94 % dari bobot total isi kapsul ( $\geq 25$  %). Dengan demikian memenuhi persyaratan uji keseragaman bobot sesuai FI VI(27).

Hasil uji keseragaman bobot tersaji pada tabel berikut :

**Tabel 9.** Hasil uji keseragaman bobot kapsul ekstrak daun binahong

F1		F2		F3		F4	
Min	97.247	Min	98.00469	Min	97.8898	Min	98.8817
Max	101.93	Max	101.5258	Max	101.993	Max	101.8246
Rerata	100	Rerata	100	Rerata	100	Rerata	100
SD	1.354	SD	1.180212	SD	1.359322	SD	1.191787
CV	1.354	CV	1.180212	CV	1.359322	CV	1.191787
M	100	M	100	M	100	M	100
k	2.4	k	2.4	k	2.4	k	2.4
NP	3.250	NP	2.833	NP	3.262	NP	2.860

Hasil menunjukkan nilai keberterimaan (NP) untuk F1-F4 berturut-turut 3,25; 2,83; 3,26; 2,86. Dengan demikian maka semua formula memenuhi uji keseragaman bobot ( $NP \leq 15,0$ )(27).

Dalam formulasi sediaan kapsul, SSG difungsikan sebagai bahan penghancur. Hal ini sesuai dengan fungsinya sebagai bahan penghancur tablet dan kapsul(18). SSG mempengaruhi waktu hancur sediaan kapsul. Semakin banyak jumlah SSG semakin mempercepat waktu hancur kapsul. Tidak dijumpai pengaruh SSG dalam sifat fisis lainnya. Baik pada uji keseragaman bobot maupun penetapan kadar, keberadaan SSG dalam formula tidak memberi perbedaan.

## Bab 5. Kesimpulan dan Saran

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak cair daun binahong yang diperoleh dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 96% mengandung *vitexin* dalam jumlah rata-rata 11,2965 ppm.
2. Optimasi pengeringan ekstrak cair daun binahong yang didesain secara *Simplex Lattice Design* menggunakan kombinasi *Colloidal Silicon Dioxide* dan *Microcrystalline Cellulose* sebagai pengering, diperoleh komposisi terbaik *Colloidal Silicon Dioxide* : *Microcrystalline Cellulose* adalah 70:30.
3. Formulasi kapsul ekstrak kering daun binahong dengan *Sodium Starch Glycolate* sebagai penghancur menunjukkan bahwa *Sodium Starch Glycolate* mempercepat waktu hancur kapsul. Secara statistik penggunaan *Sodium Starch Glycolate* sebanyak 2-5% memberi perbedaan kecepatan waktu hancur kapsul.

### 5.2. Saran

Untuk pengayaan bentuk sediaan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk aplikasi ekstrak kering daun binahong dalam bentuk sediaan lainnya, seperti tablet. Untuk pengembangan analisa perlu penelitian lebih lanjut untuk penetapan kadar *vitexin* dalam kapsul ekstrak daun binahong secara kemometrik.



### Referensi

1. Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian Traditional Herbal Medicine Towards Rational Phytopharmacological Use. *J Herb Med.* 2014;1–23.
2. Djamil R, Winarti W, Zaidan S, Abdillah S. Antidiabetic Activity of Flavonoid from Binahong Leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Extract in Alloxan Induced Mice. *J Pharmacogn Nat Prod.* 2017;03(02):1–4.
3. Darsana IGO, Besung INK, Mahatmi H. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro. *Indones Med Veterinus.* 2012;1(3):337–51.
4. Yulia E, Widiyanti F, Purnama A, Nurhelawati I. Keefektifan Ekstrak Air Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Menekan Pertumbuhan Koloni dan Perkecambahan Konidia Jamur *Colletotrichum capsici* Penyebab Penyakit Antraknos pada Cabai. *Agrikultura.* 2016;27(1):16–22.
5. Sulistyarsi A, Pribadi NW. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharm Sci Med Res.* 2018;1(1):26–36.
6. Leliqia NPE, Sukandar EY, Fidrianny I. Antibacterial activities of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves extracts and fractions. *Asian J Pharm Clin Res.* 2017;10(12):175–8.
7. Kumalasari E, Sulistyani N. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *J Ilm Kefarmasian.* 2011;1(2):51–62.
8. Nazliniwaty, Suryanto, Damanik DD. The utilization of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaf as an anti-aging. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018;11(Special Issue 1):87–9.
9. Makalalag IW, Wullur A, Wiyono W. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *J Ilm Farm -*

- UNSRAT. 2013;2(01):28–35.
10. Miladiyah I, Prabowo BR. Ethanolic Extract of (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs. *Universa Med.* 2012;31(1):4–11.
  11. Yuniarti WM, Lukiswanto BS. Effects of Herbal Ointment Containing the Leaf Extracts of Madeira vine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) for Burn Wound Healing Process on Albino Rats. *Vet World.* 2017;10(7):808–13.
  12. Laksmiawati DR, Widyastuti A, Karami N, Afifah E, Rihibiha DD, Nufus H, et al. Anti-Inflammatory Effects of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis and *Piper crocatum* Extracts on Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophage Cell Line. *Bangladesh J Pharmacol.* 2017;12(1):35–40.
  13. Djamil R, Wahyudi PS, Wahono S, Hanafi M. Antioxidant Activity of Flavonoid From *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves. *Int Res J Pharm.* 2012;3(9):241–3.
  14. Rahmawati L, Fachriyah E, Kusriani D. Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Chem Info J.* 2013;1(1):1–9.
  15. Tunsirikongkon A, Kraisit P, Seubsasana S, Itharat A, Sarisuta N. Formulation Development of Herbal Capsule Containing Oleoresin of *Zingiber officinale* Extract. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2013;5(4):439–45.
  16. Singh H. Anti-diabetic activities of vitexin and isovitexin from mung bean soup. *J Nutr Food Sci.* 2017;07(04).
  17. He M, Min JW, Kong WL, He XH, Li JX, Peng BW. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. *Fitoterapia.* 2016;115:74–85.
  18. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition. Sixth Edit. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association; 2009. 1–888 p.
  19. Narang AS, Mantri R V, Raghavan KS. Excipient Compatibility and

- Functionality. Developing Solid Oral Dosage Forms. Elsevier Inc.; 2017. 151–179 p.
20. Astuti SM, Sakinah A.M M, Andayani B.M R, Risch A. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. J Agric Sci. 2011;3(4):224–32.
  21. Kemenkes RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2. 2017;561.
  22. Leliqia NPE, Sukandar EY, Fidrianny I. Overview of Efficacy, Safety and Phytochemical Study of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Pharmacologyonline. 2017;1:124–31.
  23. Mulia K, Muhammad F, Krisanti E. Extraction of vitexin from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves using betaine - 1,4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES). AIP Conf Proc. 2017;1823(November).
  24. MSDS. Vitexin sc-258332. 2010.
  25. Aslam MS, Ahmad MS, Mamat AS. Pharmacological Potential of Vitexin. Indian Res J Pharm Sci. 2015;2(2):114–22.
  26. Kemenkes RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan. 2000.
  27. Kemenkes RI. Farmakope Indonesia Edisi VI. 2020.
  28. Rimpoporok S, Kepel BJ, Siagian K V. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara In Vitro. Pharmacon J Ilm Farm – Unsrat. 2015;4(4):15–21.
  29. Veronita F, Wijayati N, Mursiti S, Kimia J, Matematika F, Ilmu D, et al. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta Aplikasinya sebagai Hand Sanitizer. Vol. 6, Indonesian Journal of Chemical Science. 2017.
  30. BPOM RI. Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 1. 2012.
  31. Wijayanti D, Setiatin ET, Kurnianto E. Efek Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Profil Darah Merah pada Marmut (*Cavia cobaya*). J Sain Vet. 2016;34(1):75–83.

32. Samirana PO, Swastini DA, Ardinata IPR, Suarka IPSD. Penentuan Profil Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). J Farm Udayana. 2017;6(1):23–5.
33. Kumari R, Kotecha M. A review on the Standardization of herbal medicines. Int J Pharma Sci Res. 2016;7(2):97–106.
34. Yadav NP, Dixit VK. Recent approaches in herbal drug standardization. Int J Integr Biol. 2008;2(3):195–203.
35. Fu Y, Zu Y, Liu W, Zhang L, Tong M, Efferth T, et al. Determination of vitexin and isovitexin in pigeonpea using ultrasonic extraction followed by LC-MS. J Sep Sci. 2008;31(2):268–75.
36. Mulia K, Krisanti EA, Andika G. Betain and alcohol-based deep eutectic solvents for vitexin extraction from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves. ASEAN J Chem Eng. 2018;18(2):1–6.
37. Dwitiyanti, Harahap Y, Elya B, Bahtiar A. Impact of solvent on the characteristics of standardized binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Pharmacogn J. 2019;11(6):1463–70.
38. Santosa OB, Gani MR, Yuliani SH. Chemometric Assisted Quantitative Determination of Vitexin in Ethanolic Extract of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaves. Int J Appl Pharm. 2020;12(6):69–75.
39. Earle RR, Ayalasomayajula LU, Naga Raju A, Tanuja Kumari K, Ravi Kumar P. Formulation and evaluation of diclofenac sodium oro dispersible tablets using different superdisintegrants by direct compression technique. Der Pharm Lett. 2016;8(8):227–38.
40. Pooja B, Karishma P, MV G, S J, D G. Formulation and evaluation of diclofenac sodium oro dispersible tablets using different superdisintegrants by direct compression technique. Int Res J Sci Eng. 2018;(Special Issue A3):43–8.
41. Allada R, Maruthapillai A, Palanisamy K, Chappa P. Hygroscopicity categorization of pharmaceutical solids by gravimetric sorption analysis: A systematic approach. Asian J Pharm. 2016;10(4):279–86.

## Lampiran

## Lampiran 1. Luanan Wajib



International Journal of Applied Pharmaceutics

ISSN- 0975-7058

Vol 12, Issue 6, 2020

Original Article

**CHEMOMETRIC ASSISTED QUANTITATIVE DETERMINATION OF VITEXIN IN ETHANOLIC EXTRACT OF BINAHONG (*ANREDERA CORDIFOLIA* (TEN.) STEENIS) LEAVES**

OCTAVIANUS BUDI SANTOSA<sup>1</sup>, MICHAEL RAHARJA GANI<sup>1</sup>, SRI HARTATI YULIANI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55284, Indonesia  
Email: srihartatiyuliani@usd.ac.id

Received: 27 Jul 2020, Revised and Accepted: 11 Sep 2020

**ABSTRACT**

**Objective:** The objective of this study was to develop a UV spectroscopy method in combination with multivariate analysis for determining vitexin in binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves extract.

**Methods:** The partial least square (PLS) regression and the principal component regression (PCR) was performed in this study to evaluate several statistical performances such as coefficient of determination ( $R^2$ ), root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of cross-validation (RMSECV), root mean square error of prediction (RMSEP) and relative error of prediction (REP). Cross-validation in this study was performed using leave one out technique.

**Results:** The  $R^2$  values of calibration data sets resulted from PLS and PCR method were 0.9675 and 0.9648, respectively. The low values of RMSEC and RMSECV both for PLS and PCR method indicated the minimum error of the calibration models. The  $R^2$  values of validation data sets resulted from PLS and PCR method were 0.9778 and 0.9820, respectively. The low values of RMSEP both for PLS and PCR method indicated the minimum error of prediction generated from the calibration data sets. Multivariate calibration techniques were applied to determine the content of vitexin in binahong leaves extract. Predicted values from the multivariate calibration models were compared to the actual values determined from a validated HPLC method. It was found that PLS models resulted in the lowest REP values compared to the PCR models.

**Conclusion:** The chemometrics technique can be applied as an alternative method for determining vitexin levels in the ethanol solution of binahong leaves extract.

**Keywords:** Binahong, HPLC, UV Spectroscopy, Vitexin

© 2020 The Authors. Published by Innovare Academic Sciences Pvt Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)  
DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ijap.2020v12i6.39248>. Journal homepage: <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijap>

**INTRODUCTION**

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), one of 6000 types of plants in Indonesia, have been used for several health treatments [1]. Binahong has pharmacological effects such as anti-bacterial [2-5], anti-fungal [6], anti-aging [7], anti-diabetes [8], wound healing [9-11], anti-inflammatory [12], anti-oxidant [13], anti-cancer [14], anti-obesity [15] and anti-hyperuricemia [16]. Due to its pharmacological activities, binahong was potential to be developed as traditional medicine. Hence, it is important to determine the chemicals contained in binahong.

Binahong leaves contain terpenoids, steroids, glycosides, flavonoids, saponins and alkaloids [17]. Several active compounds were reported and obtained from binahong such as ursolic acid, ancordin, apigenin [17] and vitexin [13, 18]. Vitexin was reported due to its pharmacological effects, such as anti-diabetes [19], anti-cancer, anti-oxidant, anti-virus, anti-inflammatory, anti-hypertension, etc [20]. It can be stated that vitexin, one of the active compounds in binahong, can be potentially developed as an anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-cancer. In this research, vitexin was used as a marker in the standardization of binahong leaf extract.

In previous studies, the determination of vitexin levels has been reported. The most common analytical method used was HPLC [21, 22]. Results of these study indicate that the determination of vitexin levels by the HPLC method has been well validated. However, this kind of method requires considerable expertise, spends a lot of time and requires equipment and costs. Therefore, it is necessary to develop a simple, efficient, and low-cost analytical method to analyze vitexin content in the binahong extract.

The use of spectroscopy, combined with the multivariate technique, was expected to overcome this problem. This study aims to determine the levels of vitexin in binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaf extracts using spectrophotometry combined with multivariate techniques.

**MATERIALS AND METHODS****Materials and chemicals**

The vitexin (Sigma-Aldrich, Missouri, USA), methanol HPLC grade (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) and orthophosphoric acid p. a (Merck Millipore, Darmstadt, Germany), acetonitrile HPLC grade (JT Baker, Phillipsburg, USA), ethanol was purchased from a local store in Yogyakarta, Indonesia. Redistilled water was obtained from the Analytical Instrument Laboratory, Faculty of Pharmacy, Universitas Sanata Dharma, Indonesia. Samples of binahong leaves were obtained from Wirobrajan district in Yogyakarta, Indonesia. The identification of Binahong leaves was confirmed based on the specimen authentication certificate no 14.8.11/UNI/FFA/BF/PT/2019 that was conducted by Biological Pharmacy Departement, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada.

**Instrumentation and software**

A set of UV-Vis Spectrophotometer (Shimadzu®, Kyoto, Japan) type UV 1800 equipped with quartz cuvette 1 cm (Hellma®, Jena, Germany), ultra-micro analytical balance (RADWAG®, Radom, Poland) series of UYA 2.3Y (max: 2.1 g, min 0.01 mg), a system of (Shimadzu®, Kyoto, Japan) LC-2010HT No. C21255111004 LP with UV/Vis detector, (Retsch®, Haan, Germany) T460 ultrasonicator, membrane filter holder of Whatman® (Maidstone, United Kingdom) (capacity of 300 ml) Cat. No. 1960-004, organic solvent membrane filter of Whatman® (Maidstone, United Kingdom) (0.5 µm pore size, 47 mm diameter); inorganic solvent membrane filter of Whatman® (Maidstone, United Kingdom) (0.45 µm pore size, 47 mm diameter), Millipore® (Darmstadt, Germany) syringe filter (0.20 µm pore size, 25 mm diameter) and a set of Socorex® (Ecuibens, Switzerland) micropipettes were used in this study.

**Chemometrics method****Extraction of dry leaves of binahong**

This procedure was developed from Yuliani *et al.* [23] and conducted as follow: 20 g dry leaves of binahong were weighed,

powdered and macerated using 200 ml ethanol for 90 min at 50 °C and shake at 200 rpm. The macerate was separated and concentrated into 25% of volume. This solution was labelled as the stock solution of ethanolic extract of binahong.

**Preparation of calibration set and validation set solutions**

Calibration and validation set solution was prepared by diluting a stock solution of ethanolic extract of binahong to achieve 26

compositions of samples as presented in table 1. Each composition was scanned using UV spectrophotometer at the range of 200 nm-400 nm. The absorbance for each composition was recorded with an interval of 2 nm. The obtained absorbance data for each wavelength were used for generating both calibration and validation models. The models were developed by plotting concentration of vitexin in each composition which was determined using HPLC as actual values vs the UV spectrophotometer predicted value.

**Table 1: Calibration and validation data sets information for model selection and statistical analysis for determining the content of vitexin in ethanolic extract of binahong**

Items	Data sets	
	Calibration	Validation
Number of mixture standards	16	10
Vitexin concentration in ethanolic extract of binahong (µg/ml)		
Mean	14.12	13.11
Range	6.38–26.72	5.36–25.42
Multivariate calibration models	PCR	PCR
	PLS	PLS
Evaluated parameters for model selection	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>
	RMSEC	RMSEP
	RMSECV*	

Note: \*cross-validation was performed using leave one out (LOO) technique

**Spectroscopic analysis and multivariate calibrations**

The absorbance values of every single wavelength point achieved from the calibration and validation data sets were statistically analyzed using the R studio software. A statistical package of pls was employed to perform chemometrics data processing. This package has been downloaded and installed by using the function of install. Packages (“pls”). After successfully installed, this package was loaded by using the function of library (pls) before further statistical analysis. A couple of multivariate calibration models, namely PLS and PCR, was generated for ethanolic extract of binahong. The built model multivariate calibration models were statistically evaluated by assessing several performances such as coefficient of determination (R<sup>2</sup>), root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of cross-validation (RMSECV), and root mean square error of prediction (RMSEP). Further, multivariate calibration model for each compound which resulted in a value of R<sup>2</sup> near one and lower RMSEC, RMSECV, and RMSEP were chosen for content determination [24].

**Preparations of samples**

Samples of diluted ethanolic extract solution of binahong were taken 1 ml. All the diluted and replicated sample solutions were sonicated for 15 min and filtered using Milipore syringe filter before injection. These prepared samples were analyzed both using spectroscopy method for generating the predictive models of multivariate calibration and HPLC method for achieving the actual values for each compound containing in the samples.

**HPLC method**

**Chromatographic conditions**

The system of Shimadzu LC-2010 CHT with LabSolution software and UV-Vis detector was developed. This chromatographic system was developed from Mulia *et al.* [25] with the column type, flow rate, pH, and stop time modification. A C18 column of Luna type Phenomenex (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) was used. An isocratic elution system was developed. The composition of the mobile phase was methanol-acetonitrile-water (adjusted until pH 3 by orthophosphoric acid) (20:20:60), and mobile phase flow rate was 0.8 ml/min. Chromatographic separation was performed at ambient temperature the injection volume of 10 µl, and stop time setting at 25 min. Quantitation was set with UV detection at 319 nm.

**Preparation of vitexin standard solutions**

Accurate weight of 0.1 mg of vitexin was transferred into 5 ml volumetric flask. The weighted standard in the volumetric flask was diluted in methanol into the volume. These solutions were labelled as vitexin stock solution.

Standard solutions for UV spectral scanning were prepared from the stock solution. The stock solution was transferred into three separated 5 ml volumetric flasks, respectively, followed by the methanol dilution into the volume.

**System suitability parameters**

System suitability parameters were analyzed to check the system performance consistency. For system suitability parameters, six times repetition of one concentration of calibration solution vitexin was injected, and column performances like area, retention time, tailing factor, and a number of theoretical plates were observed. Values of the percentage of relative standard deviation (% RSD) for area and retention time parameters were found within the acceptance criteria of system performance. Tailing factor and number of theoretical plates were found for qualitative study based on USP [26].

**Analytical method validation**

The analytical method for determining the content of vitexin was validated for selectivity, linearity, range, precision, accuracy, detection limit, and quantitation limit, according to the ICH guidelines [27] and AOAC [28].

**RESULTS**

**Validation method and analysis of vitexin in ethanolic extract of binahong using HPLC**

The representative chromatogram profile of the sample and vitexin were presented in fig. 1 and 2. The HPLC performance was shown in table 2.

**Chemometrics application**

The spectra of calibration and validation set solutions can be seen in fig. 3 and 4, while table 3 and 4 presented the performance of PLS and PCR in the calibration and validation solutions. The results of calibration and validation with PLS and PCR can be seen in fig. 5 and 6.

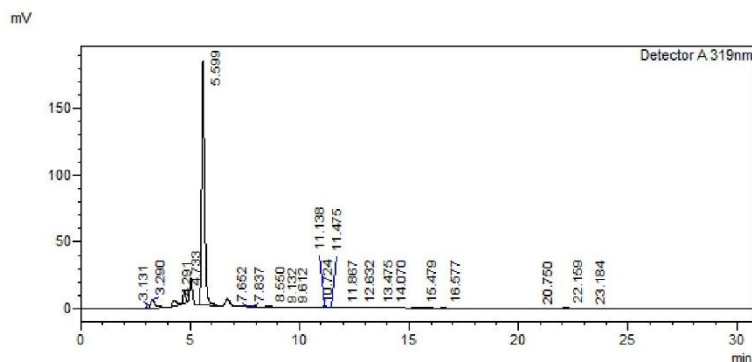


Fig. 1: The representative chromatogram profile of the sample (binahong)

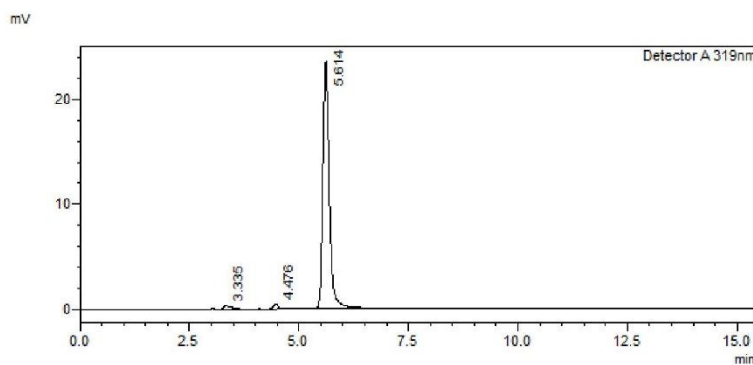


Fig. 2: The representative chromatogram profile of the vitexin (10 ppm)

Table 2: The performance of the validation method and analysis of vitexin in ethanolic extract of binahong using HPLC

Parameters	Value	Acceptance criteria
<b>System suitability test</b>		
% RSD Tr (min)	0.38	% RSD<2%
% RSD Area	0.12	Tf<2.0
Tailing factor (Tf)	1.247	N>2000
Number theoretical plate (N)	7488	
<b>Selectivity</b>		
Resolution (Rs) sample	Rs = 2.045	Resolution>1.5
<b>Linearity</b>		
Coefficient correlation (r)	0.9996	0.999
Coefficient determination (R)	0.9992	-
Slope (b)	20349	-
Intercept (a)	-28532	-
<b>Range</b>	2.11 ppm–31.61 ppm	-
<b>Limit of detection</b>	1.10 ppm	-
<b>Limit of quantitation</b>	3.34 ppm	-
<b>*Accuracy (Recovery)</b>		
(intra-day)	97.85%–104.42%	95%–105%
(inter-day)	101.45%–103.40%	
<b>*Precision (RSD)</b>		
(intra-day)	1.63%–3.04%	<3.7%
(inter-day)	1.35%–3.33%	
<b>*Assay content vitexin in ethanolic extract of binahong</b>	0.11±0.01 % w/w with RSD = 1.32%	RSD<3.7%

Note: \* Accuracy and Precision were determined at 3 concentration addition levels of vitexin, 3 replicates and 3 consecutive days for inter-day.+assay content was determined by 3 replicates of ethanolic extract of binahong.

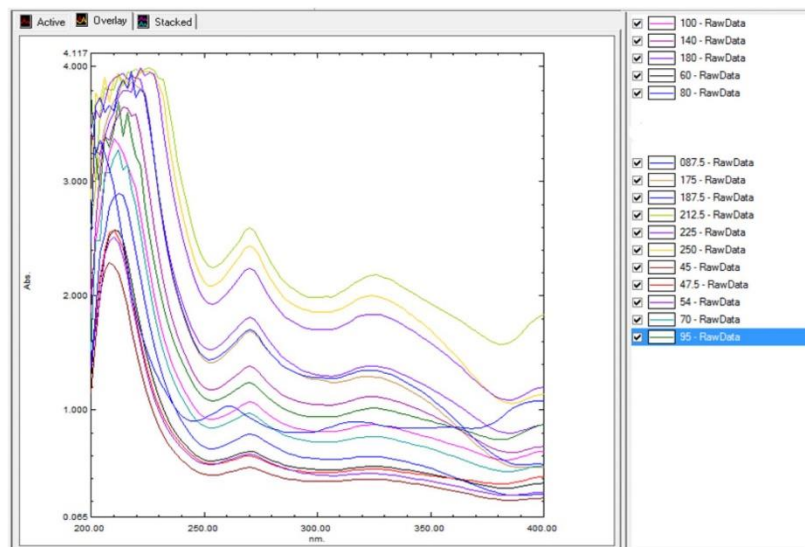


Fig. 3: The spectra of calibration set solutions

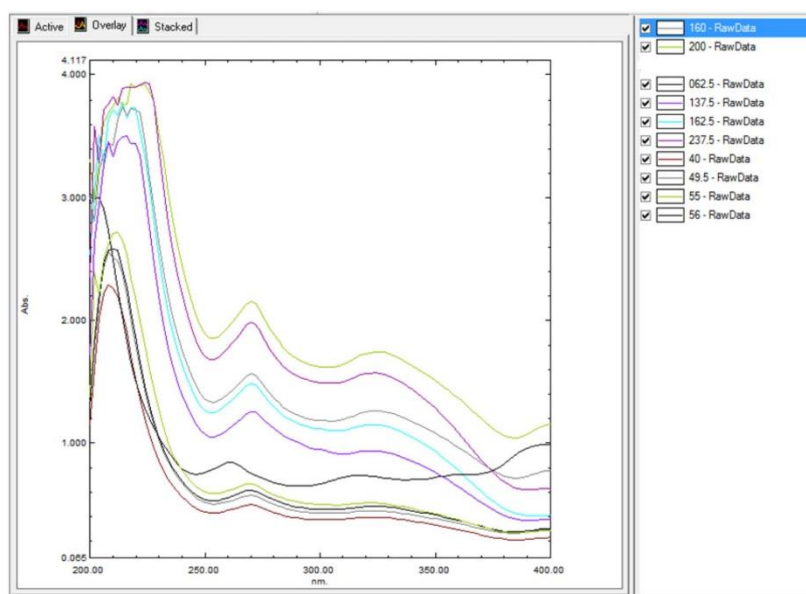


Fig. 4: The spectra of validation set solutions

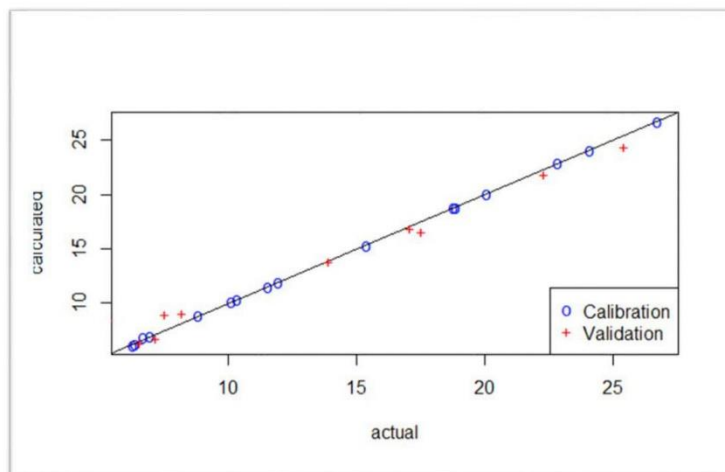
Table 3: The performance of partial least squares (PLS) and principal component regression (PCR) for predicting the content of vitexin in calibration set solutions

Compounds	Multivariate calibrations	Calibration			
		Number of components	R <sup>2</sup>	RMSEC	RMSECV
Vitexin	PLS	11	0.9675	0.0738	1.204
Vitexin	PCR	14	0.9648	0.0585	1.253

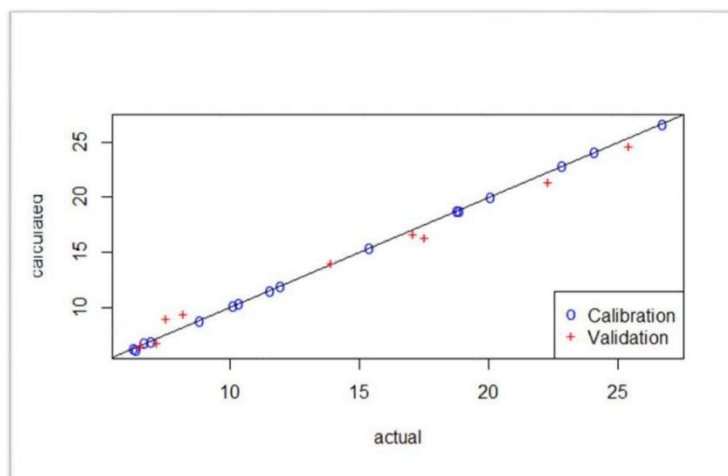


**Table 4: The performance of partial least squares (PLS) and principal component regression (PCR) for predicting the content of vitexin in validation set solutions**

Compounds	Multivariate calibrations	Validation		
		# of components	R <sup>2</sup>	RMSEP
Vitexin	PLS	11	0.9778	1.2437
Vitexin	PCR	14	0.9820	1.1669



**Fig. 5: Observation data plot (actual) vs predicted data (calculated) with PLS**



**Fig. 6: Observation data plot (actual) vs predicted data (calculated) with PCR**

**Table 5: The assay of vitexin at the ethanolic extract of binahong leaves result**

Compounds	Method	# of solution test			REP
		1	2	3	
Vitexin	PLS	8.192513	16.950112	12.530707	5.603%
Vitexin	PCR	7.95943	17.01199	12.12951	6.917%
Vitexin	Actual	9.29	16.32	12.57	-

### The assay of vitexin

Result of the assay of vitexin at the ethanolic extract of binahong leaves can be seen in table 5.

### DISCUSSION

The HPLC method was chosen as a reference method, according to the previous study [25]. This reference method was modified and validated due to the different parameters of the instrument compared to the previous study. The representative chromatogram profile of the sample was presented in fig. 1. This study was validated according to ICH (selectivity, linearity, range, the limit of detection, the limit of quantitation, accuracy and precision) [27]. Parameters of system suitability test and validation study were presented in table 2.

The actual data of vitexin levels in binahong leaves extract should be determined to conduct a multivariate analysis. The actual data was obtained from the HPLC analysis. The results of the validation method for determining levels of vitexin by HPLC are presented in table 2. The system suitability test and all validation parameters have been met with the requirement with high sensitivity, since the LoD and LoQ were 1.10 ppm and 3.34 ppm, respectively. This method gave valid, simple and fast method to determine vitexin in binahong if it was compared to Dwitiyanti *et al.* [29] they reported using gradient elution to determine vitexin compound in binahong, but in this study, isocratic elution was developed to determine vitexin compound. Mulia *et al.* [25] also reported HPLC method to determine vitexin in binahong extract, but they use no ethanol as a solvent to extract the binahong powder. Mulia *et al.* [25] and Dwitiyanti *et al.* [29] also reported no validation data in their research, so this method can be made an alternative method to standardize binahong extract.

The output of UV spectral data was exported to Excel (Microsoft) and converted into .csv formatted files for further chemometrics data processing. Statistical analysis and multivariate calibrations were performed using R Studio software version 1.1.456 with pls packages. This software can be freely downloaded from <https://rstudio.com/products/rstudio/download/>.

The results of  $R^2$  both for PLS and PCR were 0.9675 and 0.9648, respectively. These coefficient correlations indicated that the predicted value (model) and the observed value (HPLC) resulted in a very good correlation. RMSEC values resulted from the PLS and PCR models were 0.0738 and 0.0585, respectively, while RMSECV obtained from LOO cross-validation for PLS and PCR models were 1.204 and 1.253, respectively. Less values both for RMSEC and RMSECV indicated that minimum errors in calibration models.

The results of calibration and validation with PLS and PCR can be seen in fig. 5 and 6. Table 4 presented the performance of PLS and PCR in the validation solution that resulted in  $R^2$  of 0.9778 and 0.9820, respectively. These results indicated that the predicted value and observed values showed a good correlation. RMSEP values given by the PLS and PCR models were 1.02437 and 1.1669, respectively. Hence, it can be assumed that the generated model resulted in minimum errors of prediction.

Spectral data from the measurement results of the samples were collected and processed statistically to achieve the prediction results of vitexin levels. The prediction results were then calculated by the REP value against the results of the determination of levels by HPLC, as shown in table 5.

Based on the results of the determination of the levels of vitexin in the ethanol extract solution of binahong leaves (see table 5), by experimenting with 3 sets of test solutions, the results using the PLS model showed values of 8.192513, 16.950112 and 12.530707, respectively. When compared with the actual value (HPLC), an error value (REP) of 5.603% is obtained, which means very good. Likewise, the results using PCR showed successive values of 7.95943, 17.01199 and 12.12951. When compared with the actual value (HPLC), an error value (REP) of 6.917% is slightly greater, but it can still be said to be very good.

### CONCLUSION

The UV spectroscopy combined with chemometrics technique can be developed as an alternative method for determination of vitexin levels in the ethanol solution of binahong leaves extract.

### ACKNOWLEDGMENT

This research has financially supported by the Ministry of Research Technology and Higher Education, the Government of the Indonesian Republic (No. SPDIPA-042.06-1.401516/2020) and Institute of Research and Community Service, Sanata Dharma University (No. 005/Penel/PPM-USD/1/2020). The authors would like to express their gratitude Maria Ghiyang Prakasitha, Hendry Steven, and Yasinta Oktorobin Rosario Lendo for assisting the laboratory technicians in this research.

### AUTHORS CONTRIBUTIONS

All the authors have contributed equally.

### CONFLICTS OF INTERESTS

The authors declare that they have no conflicts of interest.

### REFERENCES

1. Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *J Herb Med* 2014;4:1–23.
2. Yulia E, Widiyanti F, Purnama A, Nurhelawati I. Effectiveness of aqueous extract of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves in suppressing colony growth and conidia germination of *Colletotrichum capsici* the casual agents of anthracnose disease on chili. *Agrikultura* 2016;27;1:16–22.
3. Sulistyarsi A, Pribadi NW. Test of antibacterial activity of leaf extract binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) on growth of bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharm Sci Med Res* 2018;1:26–36.
4. Leliqia NPE, Sukandar EY, Fidianny I. Antibacterial activities of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves extracts and fractions. *Asian J Pharm Clin Res* 2017;10;12:175–8.
5. Wijaya V, Maharani ES, Gunawan HA, Puspitawati R. The efficacy of an infusion of binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) against wild strain black-pigmented bacteria. *Int J Appl Pharm* 2018;90:28-1.
6. Kumalasari E, Sulistyani N. Antifungal activity of ethanol extract of binahong stem (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) against *Candida albicans* and the phytochemical screening. *J Ilm Kefarmasian* 2011;2:51–62.
7. Nazliniwaty, Suryanto, Damanik DD. The utilization of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaf as an anti-aging. *Asian J Pharm Clin Res* 2018;11 Special Issue 1:87–9.
8. Djamil R, Winarti W, Zaidan S, Abdillah S. Antidiabetic activity of flavonoid from binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) extract in alloxan induced mice. *J Pharmacogn Nat Prod* 2017;3:1–4.
9. Miladiyah I, Prabowo BR. Ethanolic extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves improved wound healing in Guinea pigs. *Universa Med* 2012;31:4–11.
10. Yuniarti WM, Lukiswanto BS. Effects of herbal ointment containing the leaf extracts of madeira vine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) for burn wound healing process on albino rats. *Vet World* 2017;10:808–13.
11. Istyastono EP, Yuliani SH. Scarless wound healing gel with binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves extract and celecoxib as the active ingredients. *AIP Conf Proc* 2016;1755:160001.
12. Laksmiawati DR, Widyastuti A, Karimi N, Afifah E, Rihibiha DD, Nufus H, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Anredera cordifolia* and *Piper crocatum* extracts on lipopolysaccharide-stimulated macrophage cell line. *Bangladesh J Pharmacol* 2017;12:35–40.
13. Djamil R, Wahyudi PS, Wahono S, Hanafi M. Antioxidant activity of flavonoid from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves. *Int Res J Pharm* 2012;3:241–3.
14. Yuliani SH, Anggraeni CD, Sekarjati W, Panjalu A, Istyastono EP, Setiawati A. Cytotoxic activity of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaf extract on hela cervical cancer cells through p53-independent pathway. *Asian J Pharm Clin Res* 2015;8:328–31.
15. Sukandar EY, Kurniati NF, Nurdianti AN. Antiobesity effect of ethanol extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves on obese male wistar rats induced by high-carbohydrate diet. *Int J Pharm Pharm Sci* 2016;8:171-3.

Yuliani *et al.**Int J App Pharm, Vol 12, Issue 6, 2020, 69-75*

16. Widyarani KD, Sukandar EY, Fidrianny I. Xanthine oxidase inhibitory and antihyperuricemic activities of *Anredera cordifolia* (Ten.) steenis, *Sonchus arvensis* L., and its combination. *Int J Pharm Pharm Sci* 2015;7:86-90.
17. Leliqia NPE, Sukandar EY, Fidrianny I. Overview of efficacy, safety and phytochemical study of *Anredera cordifolia* (Ten.) steenis. *Pharmacologyonline* 2017;1:124-31.
18. Mulia K, Muhammad F, Krisanti E. Extraction of vitexin from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves using betaine-1,4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES). *AIP Conf Proc* 2017;1823:020018.
19. Sae-tan S, Saeting O. Anti-diabetic activities of vitexin and isovitexin from mung bean soup. *J Nutr Food Sci* 2017;7:39.
20. He M, Min JW, Kong WL, He XH, Li JX, Peng BW. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. *Fitoterapia* 2016;115:74-85.
21. Wang CH, Wang YX, Liu HJ. Validation and application by HPLC for simultaneous determination of vitexin-2''-O-glucoside, vitexin-2''-O-rhamnoside, rutin, vitexin, and hyperoside. *J Pharm Anal* 2011;1:291-6.
22. Sagaradze VA, Babaeva EY, Kalenikova EI. HPLC-UV method for determining flavonoids in hawthorn flowers and leaves. *Pharm Chem J* 2017;51:277-80.
23. Yuliani SH, Fudholi A, Pramono S, Marchaban. Physical properties of wound healing gel of ethanolic extract of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) during storage. *Indones J Pharm* 2012;23:203-8.
24. Kassambara A. Machine learning essentials: practical guide in R. STHDA; 2018.
25. Mulia K, Krisanti EA, Andika G. Betain and alcohol-based deep eutectic solvents for vitexin extraction from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves. *ASEAN J Chem Eng* 2018;18:1-6.
26. The United States Pharmacopeia USP 42. National Formulary. 37. Vol. 4. Rockville (MD): United States Pharmacopeia Convention; 2019. p. 6789-92.
27. International Conference on Harmonization (ICH). Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1); 1995. Available from: [www.ich.org](http://www.ich.org) [Last accessed on 10 Jul 2020]
28. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20<sup>th</sup> ed. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2016. p. 8-9.
29. Dwitianti, Harahap Y, Elya B, Bahtiar A. Impact of solvent on the characteristics of standardized binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Pharmacogn J* 2019;11:1463-70.

**Lampiran 2. Hasil Determinasi**



**UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS FARMASI**

Jl. Sekip Utara, Senolowo, Sinduadi, Mlati, Sleman, DIY 55281; Telp./Fax.: +62 274 543120  
http://www.farmasi.ugm.ac.id; E-mail: farmasi@ugm.ac.id

**SURAT KETERANGAN**

Nomor : 8.28.12/UN1/FFA/BF/PT/2020


Yth. Octavianus Budi Santosa  
Mahasiswa Fakultas Farmasi (NIM: 188122201)  
Universitas Sanata Dharma


28 Desember 2020

Berikut kami sampaikan hasil identifikasi sampel yang diterima oleh Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada:

No. Pendaftaran	Jenis	Suku
76	<i>Anredera cordifolia</i> (Ten) Steenis	Basellaceae

Demikian surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,  
Dekan  
  
Prof. apt. Agung Endro Nugroho, M.Si., Ph.D.

Ketua Departemen Biologi Farmasi,  
  
Dr. apt. Indah Purwantini, M.Si.



**Lampiran 3. Raw Data Uji Bulk Density dan Tap Density****Bulk Density**

Formula	<i>Bulk Density (g/ml)</i>				
	1	2	3	Rerata	SD
<b>P1 CSD 100%</b>	0.17	0.17	0.17	<b>0.17</b>	<b>0.0002</b>
<b>P2 CSD 75% + MCC 25%</b>	0.30	0.30	0.30	<b>0.30</b>	<b>0.0001</b>
<b>P3 CSD 50% + MCC 50%</b>	0.32	0.32	0.32	<b>0.32</b>	<b>0.00003</b>
<b>P4 CSD 25% + MCC 75%</b>	0.39	0.39	0.39	<b>0.39</b>	<b>0.0001</b>
<b>P5 MCC 100%</b>	0.35	0.35	0.35	<b>0.35</b>	<b>0.00004</b>

**Tap Density**

Formula	<i>Tap Density (g/ml)</i>				
	1	2	3	Rerata	SD
<b>P1 CSD 100%</b>	0.22	0.22	0.22	<b>0.22</b>	<b>0.0002</b>
<b>P2 CSD 75% + MCC 25%</b>	0.36	0.37	0.37	<b>0.37</b>	<b>0.005</b>
<b>P3 CSD 50% + MCC 50%</b>	0.41	0.40	0.41	<b>0.41</b>	<b>0.006</b>
<b>P4 CSD 25% + MCC 75%</b>	0.48	0.47	0.47	<b>0.48</b>	<b>0.007</b>
<b>P5 MCC 100%</b>	0.44	0.42	0.42	<b>0.43</b>	<b>0.012</b>

**Lampiran 4. Raw Data Uji Loss on Drying dan Water Uptake****Loss on Drying (LOD)**

Formula	LOD (%)				
	1	2	3	Rerata	SD
<b>P1 CSD 100%</b>	3.77	3.99	3.58	<b>3.78</b>	<b>0.205</b>
<b>P2 CSD 75% + MCC 25%</b>	4.79	4.84	4.54	<b>4.72</b>	<b>0.161</b>
<b>P3 CSD 50% + MCC 50%</b>	1.88	2.05	1.98	<b>1.97</b>	<b>0.085</b>
<b>P4 CSD 25% + MCC 75%</b>	2.68	2.41	2.45	<b>2.51</b>	<b>0.146</b>
<b>P5 MCC 100%</b>	3.55	3.67	3.94	<b>3.72</b>	<b>0.200</b>

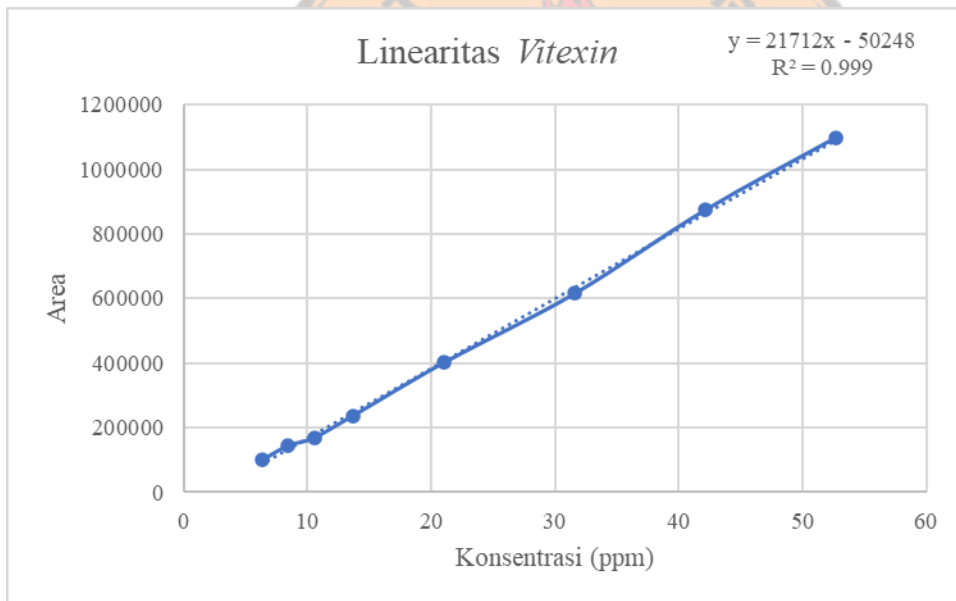
**Water Uptake**

Formula	Water Uptake (%)				
	1	2	3	Rerata	SD
<b>P1 CSD 100%</b>	1.13	1.05	1.13	<b>1.10</b>	<b>0.046</b>
<b>P2 CSD 75% + MCC 25%</b>	1.07	1.01	1.02	<b>1.03</b>	<b>0.032</b>
<b>P3 CSD 50% + MCC 50%</b>	1.1	1.07	1.09	<b>1.09</b>	<b>0.015</b>
<b>P4 CSD 25% + MCC 75%</b>	1.75	1.68	1.57	<b>1.67</b>	<b>0.091</b>
<b>P5 MCC 100%</b>	1.89	1.77	1.73	<b>1.80</b>	<b>0.083</b>

**Lampiran 5. Kurva Baku *Vitexin* dan Raw Data Uji Penetapan Kadar**

**Kurva Baku *Vitexin***

Konsentrasi (ppm)	Area
6.322	100038
8.43	145128
10.537	169538
13.66	237501
21.074	403126
31.611	616796
42.148	875433
52.685	1098948



**Penetapan Kadar *Vitexin* dalam Kapsul Ekstrak Daun Binahong**

F1		F2		F3		F4	
Area	Kadar (ppm)	Area	Kadar (ppm)	Area	Kadar (ppm)	Area	Kadar (ppm)
50107	4.622098	60083	5.081568	38955	4.108465	74885	5.763311
61771	5.159313	52143	4.715871	36883	4.013034	74518	5.746408
58126	4.991433	60948	5.121408	42051	4.251059	71808	5.621592
<b>Rerata</b>	<b>4.924282</b>	<b>Rerata</b>	<b>4.972949</b>	<b>Rerata</b>	<b>4.124186</b>	<b>Rerata</b>	<b>5.710437</b>
<b>SD</b>	<b>0.274831</b>	<b>SD</b>	<b>0.223525</b>	<b>SD</b>	<b>0.119789</b>	<b>SD</b>	<b>0.077405</b>
<b>CV</b>	<b>5.581131</b>	<b>CV</b>	<b>4.494818</b>	<b>CV</b>	<b>2.904542</b>	<b>CV</b>	<b>1.355495</b>

**Lampiran 6. Raw Data Uji Keseragaman Sediaan (Keseragaman Bobot)**

**Keseragaman Sediaan (Keseragaman Bobot)**

**Formula 1 (F1)**

Bobot per kapsul (mg)	Bobot Rata-rata (mg)	Kadar (ppm)	Kadar per Kapsul (ppm)	Kadar per Kapsul (%)	Resume	
171	170.7	4.924	4.933	100.18	Min	97.24663
169	170.7	4.924	4.875	99.00	Max	101.9332
174	170.7	4.924	5.019	101.93	Rerata	100
171	170.7	4.924	4.933	100.18	SD	1.354309
172	170.7	4.924	4.962	100.76	CV	1.354309
169	170.7	4.924	4.875	99.00	M	100
173	170.7	4.924	4.991	101.35	k	2.4
170	170.7	4.924	4.904	99.59	NP	3.250
172	170.7	4.924	4.962	100.76		
166	170.7	4.924	4.789	97.25		

**Formula 2 (F2)**

Bobot per kapsul (mg)	Bobot Rata-rata (mg)	Kadar (ppm)	Kadar per Kapsul (ppm)	Kadar per Kapsul (%)	Resume	
168	170.4	4.973	4.903	98.59	Min	98.00469
167	170.4	4.973	4.874	98.00	Max	101.5258
170	170.4	4.973	4.961	99.77	Rerata	100
170	170.4	4.973	4.961	99.77	SD	1.180212
169	170.4	4.973	4.932	99.18	CV	1.180212
171	170.4	4.973	4.990	100.35	M	100
172	170.4	4.973	5.020	100.94	k	2.4
173	170.4	4.973	5.049	101.53	NP	2.833
171	170.4	4.973	4.990	100.35		
173	170.4	4.973	5.049	101.53		



**Formula 3 (F3)**

Bobot per kapsul (mg)	Bobot Rata-rata (mg)	Kadar (ppm)	Kadar per Kapsul (ppm)	Kadar per Kapsul (%)	Resume	
171	170.6	4.124	4.134	100.23	Min	97.8898
173	170.6	4.124	4.182	101.41	Max	101.993
167	170.6	4.124	4.037	97.89	Rerata	100
169	170.6	4.124	4.086	99.06	SD	1.359322
168	170.6	4.124	4.061	98.48	CV	1.359322
169	170.6	4.124	4.086	99.06	M	100
171	170.6	4.124	4.134	100.23	k	2.4
173	170.6	4.124	4.182	101.41	NP	3.262
171	170.6	4.124	4.134	100.23		
174	170.6	4.124	4.206	101.99		

**Formula 4 (F4)**

Bobot per kapsul (mg)	Bobot Rata-rata (mg)	Kadar (ppm)	Kadar per Kapsul (ppm)	Kadar per Kapsul (%)	Resume	
168	169.9	4.124	4.078	98.88	Min	98.8817
168	169.9	4.124	4.078	98.88	Max	101.8246
173	169.9	4.124	4.199	101.82	Rerata	100
171	169.9	4.124	4.151	100.65	SD	1.191787
168	169.9	4.124	4.078	98.88	CV	1.191787
173	169.9	4.124	4.199	101.82	M	100
171	169.9	4.124	4.151	100.65	k	2.4
168	169.9	4.124	4.078	98.88	NP	2.860
170	169.9	4.124	4.127	100.06		
169	169.9	4.124	4.102	99.47		

**Lampiran 7. Uji Statistik Waktu Hancur****#Uji Normalitas**

```
> wh.kapsul
```

```
  F1 F2 F3 F4
1 341 201 168 131
2 323 193 171 136
3 329 189 159 126
```

```
> shapiro.test(wh.kapsul$F1)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
data: wh.kapsul$F1
W = 0.96429, p-value = 0.6369
```

```
> shapiro.test(wh.kapsul$F2)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
data: wh.kapsul$F2
W = 0.96429, p-value = 0.6369
```

```
> shapiro.test(wh.kapsul$F3)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
data: wh.kapsul$F3
W = 0.92308, p-value = 0.4633
```

```
> shapiro.test(wh.kapsul$F4)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
data: wh.kapsul$F4
W = 1, p-value = 1
```

**#Uji Varians Homogen**

```
> wh.kapsul.stack = stack(wh.kapsul)
```

```
> leveneTest(values ~ ind, data = wh.kapsul.stack, center = mean)
```

```
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
```

```
  Df F value Pr(>F)
group 3    0.5821 0.6432
      8
```

**#Uji ANAVA**

```
> summary(aov(values ~ ind, data = wh.kapsul.stack))
```

```
  Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
ind    3   68956    22985   496.1 2.01e-09 ***
Residuals  8     371     46
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
> TukeyHSD(aov(values ~ ind, data = wh.kapsul.stack))
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level
```

```
Fit: aov(formula = values ~ ind, data = wh.kapsul.stack)
```

```
$ind
```

	diff	lwr	upr	p adj
F2-F1	-136.66667	-154.46463	-118.86871	0.0000000
F3-F1	-165.00000	-182.79796	-147.20204	0.0000000
F4-F1	-200.00000	-217.79796	-182.20204	0.0000000
F3-F2	-28.33333	-46.13129	-10.53537	0.0041064
F4-F2	-63.33333	-81.13129	-45.53537	0.0000149
F4-F3	-35.00000	-52.79796	-17.20204	0.0010550



**Lampiran 8. Uji Statistik Penetapan Kadar *Vitexin* dalam Kapsul****#Uji Normalitas**

```
> pk.kap
```

```
  F1  F2  F3  F4
1 4.622 5.082 4.109 5.763
2 5.159 4.716 4.013 5.746
3 4.991 5.121 4.251 5.622
```

```
> shapiro.test(pk.kap$F1)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: pk.kap$F1
```

```
W = 0.95538, p-value = 0.5935
```

```
> shapiro.test(pk.kap$F2)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: pk.kap$F2
```

```
W = 0.82149, p-value = 0.1669
```

```
> shapiro.test(pk.kap$F3)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: pk.kap$F3
```

```
W = 0.9877, p-value = 0.7878
```

```
> shapiro.test(pk.kap$F4)
```

```
  Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: pk.kap$F4
```

```
W = 0.83896, p-value = 0.2113
```

**#Uji Varians Homogen**

```
> pk.kap.stack = stack(pk.kap)
```

```
> leveneTest(values ~ ind, data = pk.kap.stack, center = mean)
```

```
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
```

	Df	F value	Pr(>F)
group	3	2.2366	0.1614
	8		

**#Uji ANAVA**

```
> summary(aov(values ~ ind, data = pk.kap.stack))
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ind	3	3.780	1.2599	34.6	6.26e-05 ***
Residuals	8	0.291	0.0364		

```
---
```

```
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
> TukeyHSD(aov(values ~ ind, data = pk.kap.stack))
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level
```

```
Fit: aov(formula = values ~ ind, data = pk.kap.stack)
```

```
$ind
```

	diff	lwr	upr	p adj
F2-F1	0.0490000	-0.4499193	0.5479193	0.9884144
F3-F1	-0.7996667	-1.2985860	-0.3007474	0.0039381
F4-F1	0.7863333	0.2874140	1.2852526	0.0043669
F3-F2	-0.8486667	-1.3475860	-0.3497474	0.0027149
F4-F2	0.7373333	0.2384140	1.2362526	0.0064355
F4-F3	1.5860000	1.0870807	2.0849193	0.0000346

