

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA PIPERIN MENGGUNAKAN
METODE SPEKTROFOTOMETER UV-VISIBEL DAN *HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

SKRIPSI

**MUHAMAD AZRUL
A242018**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA PIPERIN MENGGUNAKAN
METODE SPEKTROFOTOMETER UV-VISIBEL DAN *HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**MUHAMAD AZRUL
A242018**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**APLIKASI *SOLID PHASE EXTRACTION* (SPE) UNTUK
PEMURNIAN SENYAWA PIPERIN MENGGUNAKAN METODE
SPEKTROFOTOMETER UV-VISIBEL DAN *HIGH*
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)**

**MUHAMAD AZRUL
A242018**

Oktober 2025

Disetujui Oleh :

Pembimbing



apt. Melvia Sundalian, M.Si

Pembimbing



Sri Gustini Husein., M.Farm

Kutipan atau sauran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Skripsi ini saya persembahkan kepada keluarga saya, terutama untuk mama saya tercinta dan alm. nenek tercinta. Terima kasih atas doa, dukungan, pengorbanan serta kerja kerasnya agar saya bisa melanjutkan kuliah ini. Terima kasih juga kepada orang-orang baik disekitar saya yang selalu mensupport agar tetap semangat. Terima kasih kepada diriku sendiri yang sudah mampu bertahan, berjuang, dan tetap semangat menjalani hidup ini.

ABSTRAK

Piperin merupakan senyawa utama dalam buah lada (*Piper nigrum L.*) yang memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antiinflamasi, analgesik, dan hepatoprotektan. Proses isolasi piperin memiliki keterbatasan yang disebabkan oleh adanya senyawa pengotor serta waktu ekstraksi yang relatif panjang, sehingga efisiensi pemurnian menjadi rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas metode *Solid Phase Extraction* (SPE) dalam meningkatkan kemurnian isolat piperin yang dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Tahapan penelitian meliputi preparasi larutan isolat piperin 100 ppm, optimasi sistem SPE dengan kartrid C-18, serta analisis kadar dan kemurnian sebelum dan sesudah pemurnian menggunakan HPLC dengan sistem fase gerak Asetonitril : Buffer asetat 2% (60 : 40) dengan laju alir 10 μ L/menit. Berdasarkan penelitian, persen area yang didapatkan meningkat dari 96,32% sebelum SPE menjadi 97,97% setelah tahap pemisahan. Dengan demikian, metode SPE terbukti efektif sebagai teknik pemurnian sederhana, cepat, dan efisien untuk meningkatkan kemurnian piperin dalam isolat piperin.

Kata kunci: Piperin, *Solid Phase Extraction* (SPE), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), Kemurnian.

ABSTRACT

*Piperine is the main compound in pepper fruit (*Piper nigrum* L.) which has various pharmacological activities such as anti-inflammatory, analgesic and hepatoprotectant. The piperine isolation process has limitations caused by the presence of impurities and relatively long extraction times, resulting in low purification efficiency. This research aims to determine the effectiveness of the Solid Phase Extraction (SPE) method in increasing the purity of piperine isolates which were analyzed using a UV-Visible Spectrophotometer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The research stages included preparation of a 100 ppm piperine isolate solution, optimization of the SPE system with a C-18 cartridge, as well as content and purity analysis before and after purification using HPLC with the mobile phase system Acetonitrile: 2% acetate buffer (60 : 40) with a flow rate of 10 μ L/minute. Based on research, the percent area obtained increased from 96.32% before SPE to 97.97% after the separation stage. Thus, the SPE method was proven to be effective as a simple, fast and efficient purification technique to increase the purity of piperine in piperine isolates.*

Keywords: *Piperine, Solid Phase Extraction (SPE), High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Purity.*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Aplikasi *Solid Phase Extraction* (SPE) untuk Pemurnian Senyawa Piperin Menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Visibel dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Melvia Sundalian, S. Farm., M.Si dan Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Yola Desnera, M.Si selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh dosen, asisten laboratorium, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia atas ilmu, pengalaman, dan fasilitas yang telah diberikan selama masa perkuliahan,
6. Serta sahabat-sahabat angkatan RPL 2024 yang telah memberikan inspirasi, kegembiraan, dukungan, dan sama-sama berjuang menyelesaikan studi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Oktober 2025
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Buah Lada (<i>Piper Nigrum</i> L.)	4
2.1.1 Taksonomi	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Kandungan dan Khasiat	5
2.2 Piperin	5
2.3 <i>Solid Phase Ectraction</i> (SPE)	6
2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	7
2.5 Spektrofotometer UV-Visibel	7
2.6 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	8
2.6.1 Komponen-Komponen HPLC	9
BAB III TATA KERJA	12
3.1 Alat	12
3.2 Bahan	12
3.3 Metode Penelitian	12
3.3.1 Preparasi Larutan Sampel Isolat Piperin	12
3.3.2 Optimasi Sistem <i>Solid Phase Extraction</i>	12
3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	12
3.3.4 Spektrofotometer UV-Visibel	13
3.3.5 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC) ...	13
3.4 Analisis data	13
BAB IV HASIL PENELITIAN	14
4.1 Preparasi Larutan Sampel Piperin	14

4.2	Optimasi Sistem <i>Solid Phase Extraction</i> (SPE)	14
4.3	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	15
4.4	Spektrofotometer UV-Vis.....	16
4.5	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	19
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR SELANJUTNYA	22
5.1	Simpulan	22
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya	22
DAFTAR PUSTAKA		23
LAMPIRAN.....		27

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Konsentrasi dan absorbansi standar pembanding piperin menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel.....	17
4.2 Hasil analisis isolat piperin menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel.....	18
4.3 Perbandingan antara sebelum SPE, tahap 2 memasukkan sampel, dan tahap 4 elusi	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tumbuhan lada	4
2.2 Struktur kimia piperin.....	5
2.3 Prosedur Pemurnian Sampel dengan SPE	6
2.4 Diagram Alat Spektrofotometer UV-Visibel <i>Single-Beam</i>	8
2.5 Diagram Alat Spektrofotometer UV-Visibel <i>Double-Beam</i>	8
2.6 Diagram Skematik Alat HPLC	9
4.1 Prosedur <i>Solid Phase Extraction</i> (SPE).....	14
4.2 Hasil Plat KLT; (std) standar piperin 99%, (sblm) sebelum SPE 96% (3) tahap 3 pencucian, dan (4) tahap 4 elusi	15
4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum pada Piperin.....	16
4.4 Perbandingan Kromatogram Panjang Gelombang Maksimum Antara Standar dan Sampel Sebelum SPE (A) ; Standar Dan Sampel Sesudah SPE (B)	16
4.5 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum (A) Piperin Pembanding λ_{maks} 342 nm Absorban 0,370 dan (B) Piperin Isolasi pada λ_{maks} 341,40 nm Absorban 0,438 dalam Pelarut Metanol dengan Konsentrasi 0,5 $\mu\text{g/ml}$	17
4.6 Kurva Standar Pembanding Piperin Menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel.....	18
4.7 Hasil Kromatogram Sebelum SPE (A), Hasil Kromatogram Tahap 2 Pemasukan Sampel dan Hasil Kromatogram Setelah SPE (C)	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Certificate of Analysis</i> (CoA)	27
2. Perhitungan Kromatogram Lapis Tipis (KLT)	29
3. Perhitungan Konsentrasi untuk Analisis Spektrofotometer UV-Visibel.....	30
4. Perhitungan Konsentrasi untuk Analisis HPLC	32
5. Dokumen Asli	33

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, W. (2020) 'Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat bunga telang (*Clitoria Ternatea*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan analisis KLT-Bioautografi', *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Magelang.
- Alshehri, S., Haq, N., dan Shakeel, F. (2018) 'Solubility, molecular interactions and mixing thermodynamic properties of piperine in various pure solvents at different temperatures', *Journal of Molecular Liquids*, 250, pp. 63-70.
- Arief, R. W., Mustikawati, D. R. dan Asnawi, R. (2020) 'Karakteristik mutu lada hitam dan lada putih dari beberapa kabupaten sentra lada di Lampung', *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS*, 4(1), pp. 111–116.
- Arista, D. dan Mustikaningrum, M. (2023) 'Evaluasi nilai konstanta kecepatan ekstraksi pada isolasi piperin lada hitam menggunakan etanol 95%', *Jurnal Integrasi Proses dan Lingkungan*, 1(1), pp. 6–11. <https://doi.org/10.30587/jipl.v1i1.6412>
- Bethary, D. C. (2022) 'Validasi metode penetapan kadar metformin hidroklorida dalam plasma secara in vitro menggunakan *Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)*'. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Bogusz, M., Klys, M., Wijsbeek, J., Franke, J. P., & de Zeeuw, R. (1984). 'Impact of biological matrix and isolation methods on detectability and inter-laboratory variations of TLC Rf-Values in systematic toxicological analysis', *Journal of Analytical Toxicology*, 8(4), pp. 149-154. <https://doi.org/10.1093/jat/8.4.149>
- Dillon, J.T. et al. (2012) 'Thin layer chromatography in the separation of unsaturated organic compounds using Silver-Thiolate chromatographic material', *Journal of Chromatography A*, 1251, pp. 240–243. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.042>.
- Febriyanti, P., Iswarin, S. J. dan Susanti (2018) 'Penetapan kadar piperin dalam ekstrak buah hitam (Piper) menggunakan Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC–MS/MS)', *Jurnal Ilmuan Farmasi Farmasyifa*, 1(2), pp. 69–80.
- Framono, I. D., Hardani, P. T., dan Purbosari, I. (2024). 'Validation of RP-HPLC Method for Determination of Curcumin Content Obtained from E-Commerce. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 21(2), 228–235. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v21i2.6162>

- Gandjar, I. G. and Rohman, A. (2012) '*Kimia Farmasi Analisis*'. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I. G. and Rohman, A. (2010) '*Kimia Farmasi Analisis. Edisi IV*'. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, pp. 298, 305–312, 319.
- Gandjar, I. G. and Rohman, A. (2007) '*Kimia Farmasi Analisis*'. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gaikwad Ankita, R., Kharche Amol, P., Deokar Savita, S., dan Shelar Madhuri, U. (2023) 'Development and validation of simultaneous UV-spectrophotometric method for the determination of Resveratrol and Piperine in pharmaceutical dosage form'. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, pp. 4141-4150.
- Hendriati, L. *et al.* (2021) 'Analgesic activity of transdermal patch ethanol extract Piper nigrum L. fructus with some enhancers on mice', *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*, 7(1). <http://journal.ummgl.ac.id/index.php/pharmacy>
- Hikmawanti, N. P. E. *et al.* (2016) 'Kandungan piperin dalam ekstrak buah lada hitam dan buah lada putih (Piper nigrum L.) yang diekstraksi dengan variasi konsentrasi etanol menggunakan metode KLT-Densitometri', *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), pp. 173. <https://doi.org/10.12928/mf.v13i2.7769>
- Indonesia, S. P. (2020) '*Statistik Perkebunan Indonesia: Lada Edisi 2020*'. Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Ismah, L. (2019) 'Isolasi minyak atsiri buah lada hitam (*Piper nigrum L.*) dari Takegon dan identifikasi dengan menggunakan kromatografi gas', *Skripsi*. Institut Kesehatan Helvetia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017) '*Farmakope Herbal Indonesia (Edisi II)*'. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kuber, R. (2019). 'Method development and validation for estimation of curcumin and piperine by RP-HPLC'. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(1), pp. 216-221.
- Kurniawati, A. (2016) 'Validasi metode analisis etil p-metoksisinamat dalam plasma secara in vitro menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi'. *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Kusumah, K. P. (2019) 'Penetapan kadar piperin dari ekstrak buah cabe jawa (*Piper retrofracti fructus*) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)'. *Skripsi*. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

- Kusumorini, N., Nugroho, A. K., Pramono, S., dan Martien, R. (2021). 'Development of New Isolation and Quantification Method of Piperine from White Pepper Seeds (*Piper nigrum* L.) Using A Validated HPLC' *Indonesian Journal of Pharmacy*, 32 (2), pp. 158-165. <https://doi.org/10.22146/ijp.866>
- Lupina, T., dan Cripps, H. (1987) 'UV Spectrophotometry Determination of Piperine in Pepper Preparations: Collaborative Study' *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 70(1), pp. 112-113. <https://doi.org/10.1093/jaoac/70.1.112>
- Mariam, T. P. (2023) 'Uji aktivitas antidiare fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) pada tikus putih' *Disertasi*. Universitas Islam Sultan Agung Semarang. <http://repository.unissula.ac.id/id/eprint/33432>
- Maranata, G. J., Surya, N. O., dan Hasanah, A. N. (2021). 'Optimising factors affecting solid phase extraction performances of molecular imprinted polymer as recent sample preparation technique' *Heliyon*, 7(1).
- Mukharomah, M., Safitri, A., Ulfa, S. M., Fatah, R. and Farmasi, P. S. (2024) 'Standarisasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai sumber bioaktif berkualitas', *Media Bioteknologi*, 1(25), pp. 57–65. <https://doi.org/10.47575/mb.v1i2.635>
- Musmade, B. D., Baraskar, M. L., Ghodke, V. N., Bhope, S. G., Padmanabhan, S., and Lohar, K. S. (2021). 'Impurity profiling method development and validation of metformin hydrochloride and teneligliptin hydrobromide hydrate in their combination tablet dosage form by using RP-HPLC with UV/PDA detector' *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), pp. 218.
- Moein, M. M., El Beqqali, A. and Abdel-Rehim, M. (2017) 'Bioanalytical method development and validation; critical concepts and strategies', *Journal of Agriculture*, 90(1), pp. 43–51.
- Octavia, M. D. et al. (2024) 'Isolasi piperin dari lada hitam (*Piper nigrum* L.) dan uji kemurniannya', *Jurnal Farmasi Higea*, 16(1), pp. 52. <https://doi.org/10.52689/higea.v16i1.621>
- Oktafiani, R., Retnoningsih, A. and Widiatningrum, T. (2020) '*E-Book Interaktif Tumbuhan Berbiji dengan Pendekatan Saintifik dan Kontekstual (1st ed)*', Unnes Press.
- Oktriana, S., Aeni, S. R. N., dan Sari, I. P. (2022) 'Validation of UV-visible spectrophotometry for measuring rhodamine B content in crackers', *Journal*

of Applied Food and Nutrition, 2(1), pp. 6-15.

Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2022) '*Outlook Komoditas Lada*' Sekretariat Jenderal - Kementerian Pertanian.

Rahmatia, T. U. (2016) 'Metode SPE sebagai alternatif terbaru dalam analisis dan pemurnian senyawa obat', *Farmaka*, 14(2), pp. 151–170.

Rasmi, (2023). 'Validasi Metode Spektrofotometri UV-Vis Untuk Analisis Kafein pada Kopi Instan. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Samanidou, V. (2018) 'Solid phase extraction state of the art and future perspectives', *Molecules*. www.mdpi.com/journal/molecules

Saputri, F. A., Mayangsari, A., & Muchtaridi, M. (2018) 'The optimization of eluting condition of solid phase extraction method for α -mangostin purification in mangosteen pericarp extract' *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 10(3), pp. 112–114. <https://doi.org/10.22159/ijap.2018v10i3.25415>

Shrestha, S., Chaudhary, N., Sah, R. and Malakar, N. (2020) 'Analysis of piperine in black pepper by high performance liquid chromatography', *Journal of Nepal Chemical Society*, 41(1), pp. 80–86. <https://doi.org/10.3126/jncs.v41i1.30492>

Suhartati, T. (2017) '*Dasar-Dasar Spektrofometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*', AURA-Anugrah Utama Raharja.

Syukri, Y. et al. (2015) 'Validasi penetapan kadar isolat andrografolid dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menggunakan HPLC', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), pp. 8. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2015.2.1.42>

Via, W, B. (2021). 'Identifikasi Flavonoid Mantangan (*Merremia peltate* (L.) Merr) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis', *Laporan Tugas Akhir*. Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

Wiradiningrum, A. P. (2017) 'Validasi metode analisis untuk penetapan kadar metformin HCl dalam tablet *floating* secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)'. *Disertasi*. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.