

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE PENENTUAN SEROTONIN DAN
PREKURSORNYA MENGUNAKAN HPLC-FD DAN APLIKASINYA
DALAM EKSTRAK BERAS HITAM**

Duanti Oktarani Tisadewi
13/346483/10577

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk optimisasi metode penentuan serotonin dan prekursornya (oksitriptan dan triptofan) menggunakan HPLC-FD dengan Box Behnken Design (BBD) dan *multiresponse optimization* (MRO) sebagai desain penelitian. Tiga variabel bebas yang berpengaruh terhadap resolusi kromatogram dan waktu analisis adalah %B awal (x_1), %B akhir (x_2) dan laju alir (x_3). Analisis berakhir dalam waktu 10 menit untuk memperoleh resolusi terbaik dari ketiga komponen tersebut. Berdasarkan hasil MRO diperoleh level optimal untuk masing-masing variabel bebas adalah %B awal (x_1 , 10%), %B akhir (x_2 , 100%) dan laju alir (x_3 , 0,8 mL/menit). Metode ini telah tervalidasi oleh koefisien determinasi yang tinggi untuk serotonin ($R^2 > 0,9996$) dan triptofan ($R^2 > 0,9935$) dengan batas konsentrasi 1-100 $\mu\text{g/L}$, serta oksitriptan ($R^2 > 0,9736$) dengan batas konsentrasi 1-50 $\mu\text{g/L}$. Metode ini juga divalidasi dengan parameter presisi, yaitu reipitabilitas dan presisi antara (CV kurang dari 6,48% dan 1,67% untuk rata-rata luas area dan waktu retensi). Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh untuk serotonin adalah 2,9051 dan 8,8033. Metode ini telah berhasil diaplikasikan untuk penentuan serotonin dan prekursornya dalam ekstrak beras hitam.

Kata kunci : HPLC, serotonin, optimisasi, validasi metode

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE PENENTUAN SEROTONIN DAN
PREKURSORNYA MENGUNAKAN HPLC-FD DAN APLIKASINYA
DALAM EKSTRAK BERAS HITAM**

Duanti Oktarani Tisadewi
13/346483/10577

ABSTRACT

This study were performed to optimize the HPLC-FD method for the simultaneous determination separation of serotonin and its precursors (oxitriptan dan tryptophan) using Box Behnken Design (BBD) conjunction with multiresponse optimization (MRO). The effect of three independent variables (x_1 , solvent composition (%B) at starting gradient program; x_2 , %B at end of gradient program; x_3 , flow rate) on the resolution severely overlapping chromatographic peaks and the total run time were evaluated. A gradient program of only 10 minute analysis run was found to provide the best resolution for the simultaneous separation of three studies compunds. The MRO suggests the optimal level for the studied variable thus the optimal setting of the experimental variables have been determined : %B initial (x_1 , 10%), %B end (x_2 , 100%) and flow rate (x_3 , 0.8 mL/min). The method were validated resulting high coefficients of determination for serotonin ($R^2 > 0,9996$), and tryptophan ($R^2 > 0,9935$) in the concentration range 1-100 $\mu\text{g/L}$, and oxitriptan ($R^2 > 0,9736$) in the concentration range 1-50 $\mu\text{g/L}$. High precision for both repeatability and intermediate precisions (CV less than 6,48% and 1,67% on the average respectively for the signal and retention time) were optained. The method validation ensured right values for LOD and LOQ that were found to be 2,9051 and 8,8033 respectively for serotonin determination. Furthermore, the method was succesfully applied to determine serotonin and its precursors in black rice extract.

Keywords: HPLC, serotonin, optimization, method validation