

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DARI BERBAGAI DAERAH
DI INDONESIA DENGAN METODE HPTLC-DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh:
CHORIDA MUHJATUL HADYA
NIM. 14670047



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DARI BERBAGAI DAERAH
DI INDONESIA DENGAN METODE HPTLC-DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh:
CHORIDA MUHJATUL HADYA
NIM. 14670047

Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DARI BERBAGAI DAERAH
DI INDONESIA DENGAN METODE HPTLC-DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh :
CHORIDA MUHJATUL HADYA
NIM. 14670047

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 03 Desember 2018

Pembimbing I

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

Pembimbing II

Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt
NIP. 19900221 201801 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DARI BERBAGAI DAERAH
DI INDONESIA DENGAN METODE HPTLC-DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh :
CHORIDA MUHJATUL HADYA
NIM. 14670047

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 03 Desember 2018

Ketua Penguji : Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt
NIP. 19900221 201801 1 001

(.....)

Anggota Penguji : 1. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

(.....)

2. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt (.....)
NIP. 19881124 20160801 1 085

(.....)

3. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt
NIP. 19761214 200912 1 002

(.....)

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi



(Signature)

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

LEMBAR PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirobbil'aalamiin dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT serta shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW pada akhirnya skripsi ini bisa terselesaikan. Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan tulisan karya sederhana ini kepada:

Ayah dan Ibu Tercinta

Ayahanda Ahmad Mudzakkir dan Ibunda Nur Hidayati, yang telah mencurahkan segala waktu dan tenaga untuk mendoakan dan memberikan dukungan dalam segala bentuk sehingga penulis dapat menempuh pendidikan sarjana dengan lancar.

Saudara Tersayang

Mbak Adila Mujtahidah sekeluarga, Mbak Brisky Musyahidah sekeluarga dan Adik Dania Mazidatul Hana yang selalu memberi semangat dan motivasi ketika saudaranya mulai lelah dan putus asa.

Teman-teman Terkasih

Bawang Dayak Squad (Fadhila Isma Huwaida dan Jauhar Maknun Septaza Rahmandika), Kos Cantik (Fauzta Norma Ayu Anggraini dan Radhinda Megawati), JOS CAK, Teman-teman Bimbingan Bu Iha dan semua teman yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu, memberikan semangat selama menempuh kuliah hingga skripsi ini selesai.

Chorida Muhjatul Hadya / 14670047

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Chorida Muhjatul Hadya

NIM : 14670047

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : *Metabolite Profiling* Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dari Berbagai Daerah di Indonesia dengan Metode HPTLC-Densitometri

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 07 November 2018

Yang membuat pernyataan,



Chorida Muhjatul Hadya

NIM. 14670047

MOTTO

*“Kepala yang penuh pengetahuan tidak akan lebih hebat daripada
hati yang penuh iman”*

“Sukses itu harus banyak melewati proses, bukan banyak protes”



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbil'alamin puji syukur kepada Allah SWT, Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat, rahmat, karunia serta hidayah-Nya dari segala arah, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul **“Metabolite Profiling Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dari Berbagai Daerah di Indonesia dengan Metode HPTLC-Densitometri”**. Shalawat serta salam tak lupa penulis panjatkan kepada Rasulullah SAW yang menjadi teladan terbaik sepanjang masa. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selanjutnya penulis bingkiskan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah meringankan, menuntun, memapah langkah penulis. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP-REK (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt dan Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt, selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan dan pengalaman yang berharga sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt dan Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji serta banyak memberikan saran.

6. Segenap civitas akademika Jurusan Farmasi, terutama seluruh dosen, terima kasih telah mendidik, membimbing, mengajarkan, dan mencurahkan ilmu-ilmunya.
7. Imam Taufik, M.Farm., Apt di Laboratorium Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Kota Ambon atas segala bantuan selama penelitian skripsi.
8. Kepada Ayahanda Ahmad Mudzakkir dan Ibunda Nur Hidayati yang senantiasa menapaki jalan terjal serta tetesan butiran bening yang tiada henti mengalir untuk ketenangan dan keberkahan langkah penulis.
9. Kakak Adila Mujtahidah sekeluarga, Kakak Brisky Musyahidah sekeluarga dan Adik Dania Mazidatul Hana serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan dukungan, do'a dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi.
10. Seluruh teman-teman seperjuangan Jurusan Farmasi. Terima kasih atas segala goresan kenangan yang telah terukir saat menuntut ilmu bersama.
11. Semua pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas keikhlasan bantuan moral dan spiritual yang sudah diberikan pada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini menjadi khasanah kepustakaan baru yang akan memberi celah manfaat bagi semua pihak. *Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 07 Desember 2018

Penulis

Chorida Muhjatul Hadya

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Teoritis	7
1.4.2 Manfaat Terapan	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.	9
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan	9
2.1.2 Deskripsi Tumbuhan	9
2.1.3 Tempat Tumbuh	10
2.1.4 Kandungan Kimia	10
2.2 Lokasi Pengambilan Sampel	12
2.3 Faktor Lingkungan	15
2.3.1 Tanah dan Unsur Hara	16
2.3.2 Ketinggian Tempat Tumbuh	17
2.3.3 Iklim	18
2.4 <i>Moisture Content Analysis</i>	19
2.5 Tinjauan Ekstraksi dengan <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>	19
2.6 Tinjauan Tentang Analisis Metabolit	22
2.7 HPTLC pada Profil Metabolit.....	24
2.8 Densitometri	25
2.9 Analisa pada Profil Metabolit	26
2.9.1 <i>Principle Component Analysis</i> (PCA)	26
2.9.2 <i>Hierarchical Clustering Analysis</i> (HCA)	27
BAB III KERANGKA KONSEP	
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	29
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	30
3.3 Hipotesis Penelitian	31

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	32
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	32
4.3 Populasi dan Sampel	33
4.3.1 Populasi	33
4.3.2 Sampel	33
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	33
4.4.1 Variabel Penelitian	33
4.4.2 Definisi Operasional	33
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5.1 Alat Penelitian	35
4.5.2 Bahan Penelitian	35
4.6 Kerangka Penelitian	37
4.7 Prosedur Penelitian	38
4.7.1 Determinasi Tanaman	38
4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia	38
4.7.3 Penentuan Kadar Air Serbuk Simplisia	38
4.7.4 Ekstraksi Umbi <i>E. palmifolia</i> Metode UAE	39
4.7.5 Optimasi Fase Gerak	40
4.7.6 Validasi Metode	40
4.7.7 Uji Profil Metabolit	41
4.8 Analisis Data	41

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian	42
5.1.1 Determinasi	42
5.1.2 Preparasi Simplisia	43
5.1.3 Analisis Kadar Air	44
5.1.4 Ekstraksi Ultrasonik	46
5.1.5 Optimasi Fase Gerak HPTLC	48
5.1.6 Validasi Metode	51
5.1.7 Profil Metabolit Ekstrak <i>E. palmifolia</i>	53
5.1.8 <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	60
5.1.9 <i>Hierarchical Clustering Analysis</i> (HCA)	61
5.2 Pembahasan	63
5.2.1 Optimasi Fase Gerak HPTLC	63
5.2.2 Validasi Metode	65
5.2.3 Profil Metabolit Ekstrak <i>E. palmifolia</i>	67
5.2.4 <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	68
5.2.5 <i>Hierarchical Clustering Analysis</i> (HCA)	71
5.2.6 Korelasi Hasil Penelitian dengan Perspektif Islam	72

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan	75
6.2 Saran	75

DAFTAR PUSTAKA 76**LAMPIRAN**

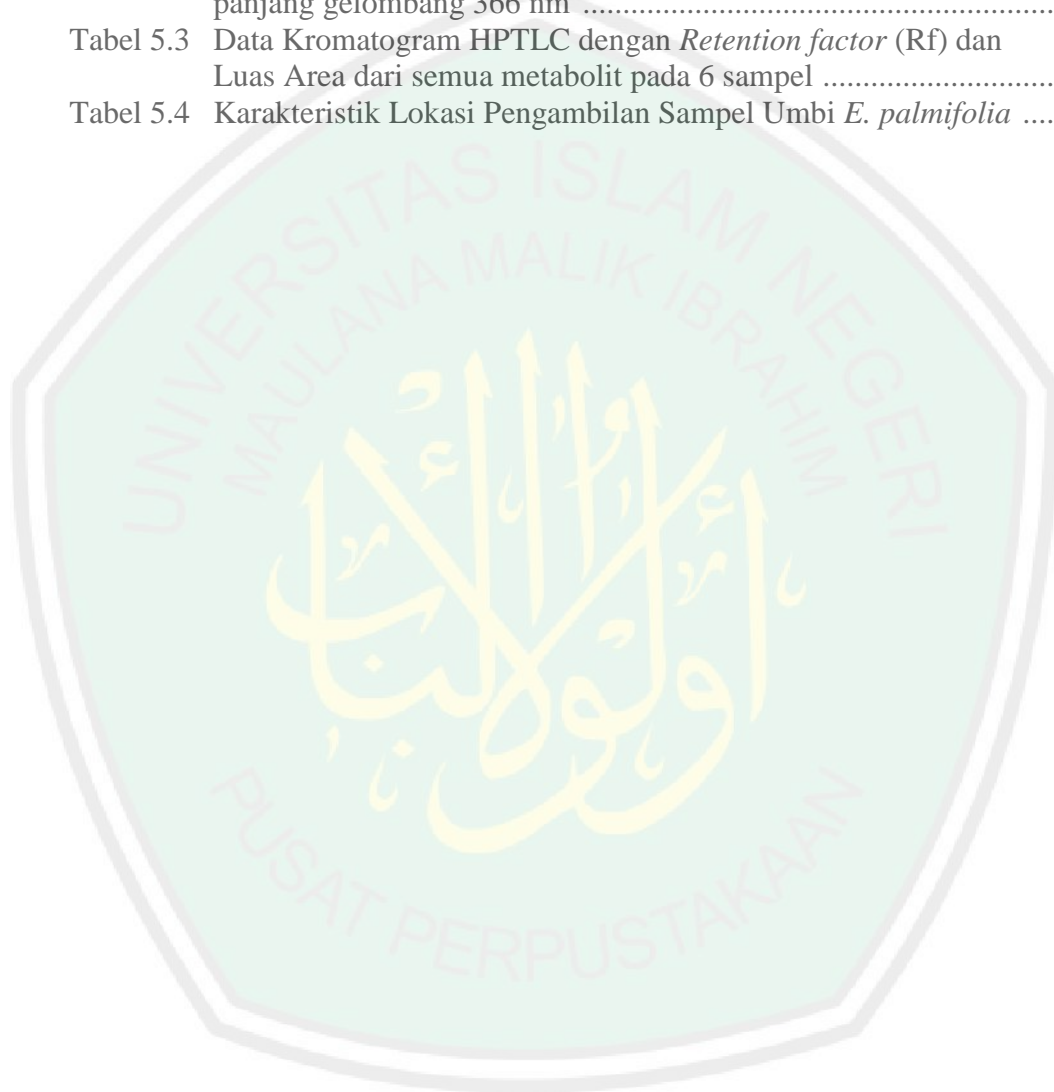
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun (A), Batang (B), Umbi (C), Akar (D), Bunga (E) Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)	10
Gambar 2.2	Diagram Skematis Densitometer	26
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	29
Gambar 4.1	Kerangka Operasional Penelitian	37
Gambar 5.1	Grafik Hasil Analisis Kadar Air	45
Gambar 5.2	(A) Proses ekstraksi bawang dayak menggunakan <i>Ultrasoun Assisted Extraction</i> (UAE)	47
	(B) Penyaringan bawang dayak untuk memisahkan filtrat dengan residu	47
	(C) Pemekatan ekstrak menguunakan <i>rotary evaporator</i>	47
Gambar 5.3	Optimasi fase gerak heksan: etil asetat (7:3 v/v) dengan TLC Visualizer (Camag) pada UV λ 254 nm (1) dan UV λ 366 nm setelah diderivatisasi dengan penampak noda H ₂ SO ₄ 10% (2)	49
Gambar 5.4	Optimasi fase gerak kloroform: metanol (8:2 v/v) dengan TLC Visualizer (Camag) pada UV λ 254 nm (1) dan UV λ 366 nm setelah diderivatisasi dengan penampak noda H ₂ SO ₄ 10% (2)	49
Gambar 5.5	(a) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC2	52
Gambar 5.5	(b) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC3	52
Gambar 5.5	(c) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3	52
Gambar 5.6	(a) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3	53
Gambar 5.6	(b) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3	53
Gambar 5.6	(c) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3	53
Gambar 5.7	Profil Metabolit Ekstrak Etanol <i>E. palmifolia</i> , sampel WJa-WJc (Jawa Barat), CJa-CJc (Jawa Tengah), EJa-EJc (Jawa Timur), EBa-EBc (Kalimantan Timur), CBa-CBc (Kalimantan Tengah), SBa-SBc (Kalimantan Tengah). Fase gerak kloroform: metanol (80:20 v/v) dan diderivatisasi H ₂ SO ₄ 10% (1) UV 254 nm, (2) UV 366 nm, (3) lampu putih ..	55
Gambar 5.8	Densitogram HPTLC menggunakan TLC Scanner-4 (Camag)	

	pada UV 254 nm, kecepatan scan 20 mm/s, resolusi data 100 $\mu\text{m}/\text{step}$, posisi <i>track</i> pertama X 10.0 mm, jarak antar <i>track</i> 10.0 mm, posisi mulai <i>scan</i> Y 15.0 mm dan akhir <i>scan</i> Y 90.0 mm	56
Gambar 5.9	(a) Kromatogram HPTLC menggunakan WinCATS <i>planar chromatography manager</i> v1.4.8.2012 pada 254 nm, <i>track</i> 1-3 (WJ), <i>track</i> 4-6 (CJ), <i>track</i> 7-9 (EJ)	57
Gambar 5.9	(b) Kromatogram HPTLC menggunakan WinCATS <i>planar chromatography manager</i> v1.4.8.2012 pada 254 nm, <i>track</i> 10-12 (EB), <i>track</i> 13-15 (CB), <i>track</i> 16-18 (SB)	58
Gambar 5.10	(a) Profil metabolit <i>E. palmifolia</i> menggunakan <i>Principal Component Analysis</i> (PCA) antara <i>Loading Plot</i> (kiri) dan <i>Score Plot</i> (kanan) yang menjelaskan varian PC ₁ (29,3%) vs PC ₂ (21,3%)	60
Gambar 5.10	(b) Profil metabolit <i>E. palmifolia</i> menggunakan <i>Principal Component Analysis</i> (PCA) antara <i>Loading Plot</i> (kiri) dan <i>Score Plot</i> (kanan) yang menjelaskan varian PC ₁ (29,3%) vs PC ₃ (14,8%)	60
Gambar 5.10	(c) Profil metabolit <i>E. palmifolia</i> menggunakan <i>Principal Component Analysis</i> (PCA) antara <i>Loading Plot</i> (kiri) dan <i>Score Plot</i> (kanan) yang menjelaskan varian PC ₁ (29,3%) vs PC ₂ (21,3%)	61
Gambar 5.11	Dendrogram dari Hierarchical Clustering Analysis (HCA) yang menunjukkan kemiripan <i>E. palmifolia</i> dari Jawa Barat (Hijau), Kalimantan Timur (Merah), Jawa Tengah (Kelabu) Kalimantan Tengah (Kuning) dan Jawa Timur (Ungu), Kalimantan Selatan (Biru)	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi Iklim Menurut Koppen	18
Tabel 4.1	Karakteristik Lokasi Pengambilan Sampel Umbi <i>E. palmifolia</i>	36
Tabel 5.1	Hasil Rendemen Ekstrak Bawang Dayak	48
Tabel 5.2	Hasil Optimasi Fase Gerak setelah diderivatisasi H ₂ SO ₄ 10% pada panjang gelombang 366 nm	50
Tabel 5.3	Data Kromatogram HPTLC dengan <i>Retention factor</i> (Rf) dan Luas Area dari semua metabolit pada 6 sampel	59
Tabel 5.4	Karakteristik Lokasi Pengambilan Sampel Umbi <i>E. palmifolia</i>	72



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Skema Kerja
- Lampiran 2. Prosedur Pengambilan Sampel
- Lampiran 3. Uji Kadar Air
- Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak
- Lampiran 5. Determinasi Tanaman Bawang Dayak
- Lampiran 6. Hasil TLC Visualizer Setelah Derivatisasi
- Lampiran 7. Uji Presisi Analisa dengan PCA
- Lampiran 8. Uji Stabilitas Analisa dengan PCA
- Lampiran 9. *Metabolite Profiling* Analisa dengan PCA
- Lampiran 10. *Metabolite Profiling* Analisa dengan HCA



ABSTRAK

Hadya, Chorida Muhjatul. 2018. **Metabolite profiling Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dari Berbagai Daerah di Indonesia dengan Metode HPTLC-Densitometri. Skripsi.** Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.; Pembimbing II: Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.

Eleutherine palmifolia (L.) Merr. (*E. palmifolia*) adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat herbal. Perbedaan lokasi tumbuh tanaman obat akan berpengaruh terhadap perbedaan kandungan metabolit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit dari 6 lokasi yang berbeda, yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Selatan. *E. palmifolia* dari berbagai lokasi dibuat serbuk simplisia kemudian di ukur kadar airnya. Ekstraksi dilakukan menggunakan UAE kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan optimasi fase gerak dengan metode KLT untuk mendapatkan fase gerak yang optimal menggunakan fase gerak kloroform: metanol (8:2 v/v) dan n-heksana: etil asetat (6:4 v/v). Fase gerak yang terpilih kloroform: metanol (8:2 v/v) selanjutnya digunakan untuk validasi metode yang meliputi uji presisi dengan perbandingan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm dan uji stabilitas pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 75 dan 90. Uji profil metabolit dengan metode HPTLC-Densitometri dengan menggunakan konsentrasi 10.000 ppm dengan 3 kali replikasi. Semua sampel mengandung Rf 013, 028, 040, 071 dan 087. Selanjutnya dilakukan analisis profil metabolit dengan PCA dan HCA. Hasil analisa profil metabolit dengan PCA menunjukkan bahwa *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda memberikan profil metabolit berbeda dan terdapat 3 metabolit yang berpengaruh signifikan pada pembentukan kluster sampel yaitu Rf 055, 059, dan 044. Hasil analisa HCA menunjukkan bahwa ke-6 daerah berada pada satu kluster yang sama.

Kata-kata kunci : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr., perbedaan lokasi tumbuh, profil metabolit

ABSTRACT

Hadya, Chorida Muhjatul. 2018. **Metabolite Profiling of Dayak Onion Extract (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) from Several Regions in Indonesia by HPTLC-Densitometry Method.** Undergraduate Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Science, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.; Advisor II: Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.

Eleutherine palmifolia (L.) Merr. (*E. palmifolia*) is one of the plants that can be used as raw material for herbal medicines. The difference in the location of growing medicinal plants will affect the differences of metabolite content. This study aims to determine the profile of metabolites from 6 different locations, those are West Java, Central Java, East Java, East Kalimantan, Central Kalimantan and South Kalimantan. *E. palmifolia* from various locations is made a simplicia powder then measured the water content. Extraction was carried out using UAE and concentrated with rotary evaporator to get a thick extract. The thick extract was carried out by mobile phase optimization using TLC method and to obtain the optimal mobile phase used the mobile phase of chloroform: methanol (8:2 v/v) and n-hexane: ethyl acetate (6:4 v/v). The selected mobile phase of chloroform: methanol (8:2 v/v) were used for method validation which included precision testing with a ratio of concentrations of 10,000 ppm and 20,000 ppm and stability tests at 0, 15th, 30th, 45th, 60th, 75th and 90th minutes. The profile of metabolites was tested by HPTLC-Densitometry method using a concentration of 10,000 ppm with 3 replications. All samples contained Rf value 013, 028, 040, 071 and 087. Analysis of the metabolite profile conducted by PCA and HCA method. The results of metabolite profiling analysis with PCA showed that *E. palmifolia* from 6 different locations gave a different metabolite profiles and there were 3 metabolites which had a significant effect on the formation of sample clusters, with Rf value 055, 059, and 044. The results of the HCA analysis showed that all 6 regions are in the same cluster.

Key words : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr., differences in growth location, metabolite profile

مستخلص البحث

الهدايا، خريدة مهجة. ٢٠١٨. تنميط المستقبلات في مستخرجة البصل السكري داياك (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) من بعض الأماكن بإندونيسيا بالطريقة كروماتوغرافيا طبقة رقيقة عالية الأداء (HPTLC) للكثافة. البحث الجامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحي بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. رائحة المطيعة الماجستير. المشرف الثاني: برهان معارف ز. أ. الماجستير.

الكلمات الرئيسية: البصل السكري داياك (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)، الفرق في أماكن النمو، تنميط المستقبلات.

البصل السكري داياك (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) هو من إحدى النباتات التي تمكن استخدامها كمادة الأدوية العشبية. سيؤثر الفرق في مكان نمو هذا النبات الطبي على اختلاف محتويات المستقبلات. يهدف هذا البحث إلى معرفة تنميط المستقبلات من ستة أماكن نموه المختلفة، وهي: جاوى الغربية، جاوى الوسطى، جاوى الشرقية، كاليمانتان الشرقية، كاليمانتان الوسطى وكاليمانتان الجنوبية. تم تصنيع البصل السكري داياك من تلك الأماكن في شكل مسحوق *simplisia* ثم قياس محتوى رطوبته. تم إجراء استخراج العينات باستخدام طريقة الموجة فوق الصوتية (*Ultrasound Assisted Extraction*) ثم تذاب بالمبخر الدوراني (*rotary evaporator*) لحصول كثافة المستخرجة. تم إجراء تفعيل طور الحركة على تلك المستخرجة الكثيفة باستخدام طريقة كروماتوغرافيا طبقة رقيقة (KLT) لحصول طور الحركة الأمثل باستخدام طور الحركة من الكلوروفورم (٨) : الميثانول (٢) v/v و ن- هكسان (٦) : خلاص الإيثيل (٤) v/v . طور الحركة الذي تم اختياره هو طور الحركة من الكلوروفورم (٨) : الميثانول (٢) v/v ثم استخدمت الباحثة لتحقيق صحة الطريقة مما يتضمن اختبار الدقة بنسبة التركيز ١٠,٠٠٠ فغم و ٢٠,٠٠٠ فغم و اختبار الثبات عند ٠ ، ١٥ ، ٣٠ ، ٤٥ ، ٦٠ ، ٧٥ ، ٩٠ دقيقة. اختبار تنميط المستقبلات بالطريقة كروماتوغرافيا طبقة رقيقة عالية الأداء للكثافة (HPTLC-Densitometri) بنسبة التركيز ١٠,٠٠٠ فغم مع ثلاث نسخ مكررة. يحتوي جميع العينات Rf ٠,١٣, ٠,٢٨, ٠,٤٠, ٠,٧١, ٠,٨٧. وقامت الباحثة بتحليل تنميط المستقبلات باستخدام تحليل المكونات الأساسية (*Principal Component Analisis*) وتحليل العنقودي الهرمي (*Hierarchical Clustering Analysis*). أظهرت نتائج تحليل المكونات الأساسية أن البصل السكري داياك من ستة أماكن المختلفة له تنميط المستقبلات مختلفة وهناك ثلاث مستقبلات لها أثر كبير على تكوين مجموعة العينة، وهي Rf ٠,٥٥ , ٠,٥٤ , ٠,٥٩. وأشارت نتائج تحليل العنقودي الهرمي إلى أنّ ستة أماكن تكون في نفس المجموعة.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengobatan suatu penyakit dapat dilakukan salah satunya dengan memanfaatkan bahan yang berasal dari tanaman. Tanaman merupakan sumber bahan obat yang banyak digunakan hampir di seluruh negara, salah satunya Indonesia. Indonesia merupakan negara kaya akan sumber daya alamnya memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan kurang lebih 7.000 spesies diantaranya diketahui sebagai tanaman berkhasiat (Sie, 2013). Banyak tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat untuk meningkatkan kesehatan, memulihkan kesehatan, pencegahan penyakit dan penyembuhan oleh masyarakat. Tanaman tersebut secara empiris digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit (Saifudin, 2011).

Pengobatan secara tradisional telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia. Efek yang ditimbulkan dari obat tradisional dirasakan langsung oleh masyarakat yang mengkonsumsi, sehingga penggunaannya cenderung meningkat. Menurut *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa 65% penduduk negara-negara maju telah menggunakan pengobatan tradisional (Depkes, 2007).

Keanekaragaman tumbuhan berkhasiat obat menjadi potensi untuk pengembangan obat baru. Berbagai penelitian dan pengembangan dilakukan untuk peningkatan mutu dan keamanan produk agar dapat dipercaya oleh masyarakat. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia menerangkan bahwa produk

fitofarmaka diperlukan adanya pengendalian mutu simplisia yang akan digunakan untuk bahan baku obat atau sediaan galenik (BPOM, 2005).

Obat tradisional dibuat dalam bentuk ekstrak untuk kemudahan pengelolannya. Ekstrak yang dibuat disesuaikan dengan kebutuhan. Bahan baku tanaman obat yang digunakan kebanyakan tidak dikontrol kualitasnya. Salah satu cara untuk memperoleh simplisia yang baik adalah dengan standarisasi simplisia. Standarisasi dilakukan untuk menjamin mutu simplisia agar memperoleh efek farmakologi yang diinginkan (BPOM, 2005).

Keanekaragaman tanaman di Indonesia merupakan suatu pemberian dari Sang Pencipta. Maka kita harus selalu bersyukur dan memanfaatkan secara baik. Telah disebutkan dalam Al-Quran bahwa Allah menyuruh manusia untuk memperhatikan keadaan bumi. Jangan sampai menyia-nyiakan ciptaanNya. Seperti yang dijelaskan dalam Firman Allah surat Asy Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya *Kami* tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S asy-Syu'ara' (26) ayat 7).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik dan memerintahkan kepada kita untuk memperhatikan hal tersebut (Shihab, 2002). Tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengobatan karena mengandung zat-zat yang bermanfaat untuk kesehatan dan tidak ada yang sia-sia. Pengobatan suatu penyakit menggunakan obat herbal adalah salah satu bentuk usaha untuk mengobati suatu penyakit. Salah satu tanaman yang bisa dijadikan obat adalah bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.).

Dilaporkan bahwa *E. palmifolia* memiliki potensi dan nilai yang besar untuk diolah sebagai tanaman obat karena mengandung metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang baik (Insanu *et al.*, 2014).

E. palmifolia biasa digunakan secara empiris untuk pengobatan. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah Kalimantan. Bagi penduduk lokal, tanaman ini digunakan sebagai bahan untuk pengobatan tradisional (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Tanaman khas Kalimantan ini memiliki daun berwarna hijau dengan Bunga berwarna putih serta umbi berwarna merah seperti umbi bawang merah. Rebusan air umbi bawang dayak dipercaya oleh penduduk setempat dapat digunakan sebagai obat kanker payudara, hipertensi, diabetes militus, kolesterol dan bisul (Fabrinda dkk, 2013). Bagian umbi *E. palmifolia* mengandung senyawa fenolat golongan *Naphtoquinones* seperti *elecanacine*, *eleutherine*, *eletherol*, dan *eleutherinone* (Hara *et al.*, 2008). *Naphtoquinones* memiliki kandungan sebagai antimikroba, antifungal, antiviral dan antiparasitik. Senyawa *Naphtoquinones* juga memiliki aktivitas anti kanker, antioksidan di dalam sel vakuola dalam bentuk glikosida (Babula *et al.*, 2005).

Pengembangan obat baru yang berasal dari tanaman mengalami kendala karena bervariasinya kandungan senyawa yang ada pada tanaman. Kandungan senyawa kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai standar informasi komposisi (jenis dan kadar) (Isnawati dkk, 2006). Faktor yang menyebabkan bervariasinya kandungan tersebut dapat dibedakan menjadi 2 yaitu faktor internal (genetik, ontogenik, dan morfogenik) dan faktor eksternal atau lingkungan yang dapat dibedakan lagi menjadi 2 faktor yaitu faktor biotik (*stress*

akibat bakteri, virus, fungi dan parasit) dan faktor abiotik (perbedaan geografi, ketinggian tempat tumbuh, perubahan iklim, jenis dan kondisi tanah, ketersediaan air, kandungan mineral, dan *stress* akibat temperatur, radiasi dan senyawa kimia) (Verma and Shukla, 2015). Ketinggian tempat tumbuh yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan ketersediaan unsur hara, kelembapan, intensitas cahaya matahari dan suhu. Perbedaan tersebut secara langsung maupun tidak akan mempengaruhi metabolisme tumbuhan, terutama pada tumbuhan obat karena berhubungan dengan zat aktif. Kekurangan unsur hara makro maupun mikro juga dapat mengganggu pertumbuhan tanaman (Prihmantoro dan Indriani, 2001).

Pemahaman tentang variasi metabolit diperlukan untuk memahami bahwa faktor lingkungan mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Brunetti *et al.*, 2013). Analisis komponen suatu organisme pada waktu tertentu atau kondisi tertentu disebut metabolomik (Hall, 2006). Metabolomik dapat digunakan untuk mengkorelasikan antara bioaktivitas dan profil kimia dengan tujuan untuk identifikasi komponen bioaktif pada tanaman (Yuliana *et al.*, 2011). Analisa pada metabolomik dapat dilakukan melalui pemprofilan metabolit (*metabolite profiling*). *Metabolite profiling* adalah suatu metode analisis untuk mengidentifikasi metabolit pada sampel (Dettmer *et al.*, 2007).

Obat-obatan dengan komposisi tanaman harus dilakukan identifikasi dan kontrol kualitas karena untuk membuat sediaan fitofarmaka harus memenuhi beberapa persyaratan. Sediaan fotofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji preklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk telah distandarisasi (BPOM, 2005).

Berdasarkan uraian diatas, untuk standarisasi bahan baku perlu dilakukan *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari beberapa lokasi yang berbeda untuk mengetahui bagaimana profil metabolit *E. palmifolia* dan apakah ada perbedaan dari masing-masing daerah. Pengambilan sampel *E. palmifolia* berasal dari 6 lokasi dengan kondisi yang berbeda, yaitu Desa Srengat, Blitar, Jawa Timur (127 mdpl); Kelurahan Kalisoro, Karanganyar, Jawa Tengah (1221 mdpl); Desa Sukaharja, Bogor, Jawa Barat (668 mdpl); Kelurahan Karang Rejo, Balikpapan, Kalimantan Timur (29 mdpl); Kelurahan Baru, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah (10 mdpl); Banjarbaru, Banjarmasin, Kalimantan Selatan (31 mdpl) (elevationmap.net, 2017).

Pada penelitian ini, *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda dianalisa dengan menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) Densitometri. HPTLC-Densitometri mempunyai keunggulan dengan menyajikan hasil gambar yang berwarna, beberapa hasil profil dapat disajikan secara bersama secara otomatis. Teknik ini sudah banyak digunakan sebagai analisis *metabolite profiling* untuk pengendalian mutu obat tradisional (Fan *et al.*, 2006; Ankli *et al.*, 2008; Pudumo *et al.*, 2018) Analisis profil metabolit menggunakan kromatografi untuk membandingkan komponen-komponen dalam suatu ekstrak. Pengembangan *metabolit profiling* menggunakan HPTLC karena efektif, efisien dan ekonomis untuk analisa senyawa dalam jumlah yang banyak (Alphonso and Saraf, 2012).

Data *metabolite profiling* yang merupakan pola metabolit sekunder (Rf, Area, dan % area) juga dapat dibandingkan dengan *marker* sehingga dapat diketahui

bagaimana profil metabolit umbi *E. palmifolia* dan apakah ada perbedaan dari masing-masing daerah dengan kondisi yang berbeda menggunakan analisis data multivariat menggunakan PCA dan HCA sehingga dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan)?
2. Apakah ada perbedaan profil metabolit antara ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan) dengan metode HPTLC-Densitometri?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan

(Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan).

2. Mengetahui perbedaan profil metabolit antara ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan) dengan metode HPTLC-Densitometri.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang kandidat senyawa marker dari ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dengan menganalisa profil metabolit menggunakan HPTLC Densitometri.

1.4.2 Manfaat Terapan

Metode profil metabolit dapat digunakan sebagai dasar penerapan penentuan dosis, toksisitas, aktivitas dan identifikasi *adulteration* dengan bahan baku ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* untuk pengembangan obat baru.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah

1. Sampel yang digunakan adalah umbi *E. palmifolia* yang diperoleh dari 6 lokasi yang berbeda, yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar

(Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan).

2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi ultrasonik dengan menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Instrumen analisis yang digunakan adalah HPTLC-Densitometri.
4. Profil metabolit yang dihasilkan diolah dengan menggunakan PCA dan HCA.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Kerajaan	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Sub Devisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: <i>Eleutherine</i>
Spesies	: <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.
Sinonim	: <i>Eleutherine bulbosa</i> , <i>Eleutherine plicata</i> Herb., <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. (Backer, 1963)

2.1.2 Deskripsi Tumbuhan

Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) merupakan tumbuhan khas dari Kalimantan yang termasuk tanaman perdu. Tanaman ini termasuk tanaman herbal. Umbinya berbentuk seperti telur dengan diameter 0,5-3,5 cm dengan beberapa lapisan berwarna merah coklat. Daunnya berjumlah 1-4 dengan ukuran 19-36 cm x 0,5 cm x 1,4 (2-3) cm. Secara jelas berbarik-barik dengan batang bunga

yang panjangnya 22-30 cm. Bunganya berdiameter 2,5 cm. Bunga tersebut mekar pada sore hari untuk beberapa jam saja (Padhi *et al.*, 2015).

E. palmifolia memiliki beberapa nama berbeda di Indonesia, yaitu bawang hantu atau bawang makkah (Kalimantan), bawang kapal (Sumatera), babawangan beureum (Sunda, Jawa Barat) (Puspadewi dkk, 2013), bawang hutan sebutan dari daerah Sulawesi Tengah (Sharon dkk, 2013).



Gambar 2.1 Daun (A), Batang (B), Umbi (C), Akar (D), Bunga (E) Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

2.1.3 Tempat Tumbuh

E. palmifolia tumbuh subur di daerah pegunungan antara 600-1500 di atas permukaan laut. Umbi *E. palmifolia* menjadi cepat busuk jika ditanam di tanah yang mengandung banyak air dan bersifat liat. Air dalam tanah yang tidak bisa mengalir dengan baik menyebabkan umbi cepat busuk sehingga umbi berada dalam suasana yang basah (Indrawati dan Razimin, 2013). Tanaman ini mudah dibudidayakan, tidak tergantung musim dan dalam waktu 2 hingga 3 bulan setelah tanam sudah dapat dipanen (Amanda, 2014).

2.1.4 Kandungan Kimia

Secara tradisional *E. palmifolia* digunakan sebagai pengobatan hidung tersumbat dengan penambahan lengkuas. Pada suku dayak, beberapa orang menggunakan umbi untuk meningkatkan produksi ASI dan juga pengobatan diabetes, kanker payudara, stroke, hipertensi dan kelainan seksual. Di daerah lain ditemukan untuk pengobatan penyakit coroner, pengobatan diuretik, penurunan proteombin, antihipertensi dan penyembuhan luka (Insanu *et al.*, 2014). Umbi *E. palmifolia* juga dikenal bisa untuk mengobati bisul atau penyakit kulit dari parutan umbinya kemudian ditempel pada daerah yang luka (Galingging, 2009).

E. palmifolia mengandung metabolit sekunder antara lain alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tannin dan minyak atsiri. Flavonoid dan polifenol banyak dijumpai di bagian daun dan umbinya (Puspadewi dkk, 2013). Alkaloid dapat digunakan sebagai antimikroba. Glikosida dan flavonoid dapat digunakan sebagai hipoglikemik. Sedangkan tanin bisa digunakan sebagai obat sakit perut (Galingging, 2009).

Ada tiga golongan senyawa terbesar yang diisolasi dari *Eleutherine palmifolia* yaitu *naphthalene*, *anthraquinone* dan *naphtoquinone* (Insanu *et al.*, 2014) yang dapat digunakan sebagai antifungal, antimikroba, antiviral, dan antiparasitik. Selain itu *naphtoquinone* juga bisa digunakan untuk antikanker dan antioksidan yang dapat ditemukan dalam sel vakuola dalam bentuk glikosida (Hara, 1997).

2.2 Lokasi Pengambilan Sampel

Indonesia diapit oleh 2 Samudera yaitu Samudera Hindia dan Samudera Pasifik. Letak geografis Indonesia berada pada titik koordinat 6° LU- 11° LS dan 95° BT- 141° BT. Luas daerah Indonesia mencapai $1.922.570 \text{ km}^2$ dan luas lautan $3.257.483 \text{ km}^2$ dengan ketinggian 0 mdpl di Samudera Hindia dan 5.030 mdpl di Puncak Jaya Papua. Suhu di Indonesia rata-rata $23-40^{\circ}\text{C}$ tetapi pada puncak Jaya Wijaya suhu mencapai 0°C . Penentuan musim dipengaruhi oleh angin Muson Timur yang bertiup dari Selatan Tenggara kering yang sedikit membawa air dari bulan Juni hingga Oktober dan angin Muson Barat yang banyak membawa uap air dan hujan bertiup dari bulan November hingga Mei. Curah hujan rata-rata di Indonesia 1600mm setahun. Pulau terbesar di Indonesia meliputi Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Sumatera dan Papua (Kemendagri, 2017).

Provinsi Jawa Barat secara geografis terletak di antara $50^{\circ}50'$ - $70^{\circ}50'$ LS dan $104^{\circ}48'$ - $108^{\circ}48'$ BT. Wilayah Jawa Barat sebelah utara berbatasan dengan Laut Jawa dan DKI Jakarta, sebelah Timur berbatasan dengan Provinsi Jawa Tengah, sebelah Selatan berbatasan dengan Samudra Indonesia dan sebelah Barat berbatasan dengan Provinsi Banten. Luas daerah Jawa Barat adalah $35.377,76 \text{ km}^2$. Iklim di Jawa Barat adalah tropis dengan suhu 9°C di Puncak Gunung Pangrango dan 34°C di Pantai Utara. Curah hujan rata-rata 2.000 mm per tahun, namun di beberapa daerah pegunungan antara 3.000-5.000 mm per tahun. Ketinggian di daerah Jawa Barat dapat dibedakan menjadi 4, yaitu di wilayah pegunungan curam di selatan dengan ketinggian lebih dari 1.500 mdpl, wilayah lereng bukit yang landai di tengah ketinggian 100-1.500 mdpl, wilayah dataran luas di utara

ketinggian 0-10mdpl, dan wilayah aliran sungah. Jawa Barat memiliki banyak lahan pertanian yang subur berasal dari endapan vulkanis serta banyaknya aliran sungai. Jawa Barat memiliki 16 kabupaten dan 9 kota, yaitu Kabupaten Bogor, Sukumbumi, Cianjur, Bandung, Garut, Tasikmalaya, Ciamis, Kuningan, Cirebon, Majalengka, Sumedang, Indramayu, Subang, Purwakarta, Karawang, Bekasi, Kota Bogor, Sukabumi, Bandung, Cirebon, Bekasi, Depok, Cimahi, Tasikmalaya, Banjar (Pemerintah Provinsi Jawa Barat, 2017).

Provinsi Jawa Tengah dengan luas wilayah 32.800,69 km² terletak di 5°40'-8°30' LS dan 108°30'-111°30' BT. Jawa Tengah diapit oleh dua provinsi besar yaitu Jawa Barat dan Jawa Timur. Suhu rata-rata di Jawa Tengah berkisar antara 18°C-28°C dengan curah hujan tahunan rata-rata 2.000 mm. Terdapat 29 Kabupaten dan 6 kota di Jawa Tengah, yaitu Kabupaten Banyumas, Batang, Blora, Boyolali, Brebes, Cilacap, Demak, Grobogan, Jepara, Karanganyar, Kebumen, Kendal, Klaten, Kudus, Magelang, Pati, Pekalongan, Pemalang, Purbalingga, Purworejo, Rembang, Semarang, Sragen, Sukoharjo, Tegal, Temanggung, Wonogiri, Wonosobo, Banjarnegara, Kota Magelang, Pekalongan, Salatiga, Semarang, Surakarta, Tegal (Pemerintah Provinsi Jawa Tengah, 2017).

Provinsi Jawa Timur terletak di antara 111°0'-114°4' BT dan 7°12'-8°48' LS memiliki luas wilayah 47.799,75 km² yang meliputi dua bagian utama yaitu Jawa Timur daratan dan Kepulauan. Curah hujan rata-rata di Jawa Timur adalah 1.900 mm per tahun dan suhu rata-rata 21-24 °C. Jawa Timur memiliki 29 kabupaten dan 9 kota yaitu, Kabupaten Madiun, Magetan, Pacitan, Ponorogo, Ngawi, Trenggalek, Tulungagung, Blitar, Nganjuk, Bojonegoro, Tuban, Mojokerto, Kediri, Jombang,

Lamongan, Malang, Pasuruan Probolinggo, Lumajang, Jember, Bondowoso, Situbondo, Banyuwangi, Sidoarjo, Gresik, Bangkalan, Sampang, Pamekasan, Sumenep, Kota Madiun, Blitar, Mojokerto, Kediri, Malang, Batu, Pasuruan, Probolinggo, dan Surabaya (Pemerintah Provinsi Jawa Timur, 2017).

Kalimantan Timur terletak antara $113^{\circ}44'$ dan $119^{\circ}00'$ BT dan antara $2^{\circ}33'$ LU dan $2^{\circ}25'$ LS. Luas wilayahnya sebesar $129.066,64 \text{ km}^2$. Kalimantan Timur memiliki 7 kabupaten dan 3 kota, yaitu Kabupaten Paser, Kutai Brata, Kutai Kartanegara, Kutai Timur, Berau, Penajam, Mahakam, Kota Balikpapan, Samarinda, dan Bontang (Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur, 2017).

Kalimantan Selatan terletak di bagian tenggara pulau Kalimantan, memiliki kawasan rendah di bagian barat dan pantai timur, serta dataran tinggi yang dibentuk oleh Pegunungan Meratus di tengah. Kawasan dataran rendah kebanyakan berupa lahan gambut hingga rawa-rawa. Luas wilayahnya sebesar $38.744,23 \text{ km}^2$. Terdapat 11 Kabupaten dan 2 kota, yaitu Kabupaten Balangan, Banjar, Barito Kuala, Hulu Sungai Selatan, Hulu Sungai Utara, Kotabaru, Tabalong, Tanah Bambu, Tanah Laut, Tapin, Kota Banjarbaru, dan Banjarmasin (Pemerintah Provinsi Kalimantan Selatan, 2017).

Kalimantan Tengah terletak antara $0^{\circ}45'$ LS, $3^{\circ}30'$ LS dan 111° - 116° BT. Provinsi ini merupakan provinsi terluas kedua di Indonesia setelah Provinsi Papua dengan luas wilayah $153.564,50 \text{ km}^2$. Batas wilayah Provinsi Kalimantan Tengah adalah Provinsi Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur untuk sebelah utara, Laut Jawa untuk sebelah selatan, Provinsi Kalimantan Timur dan Kalimantan Selatan untuk sebelah utara dan Provinsi Kalimantan Barat untuk sebelah barat. Titik

tertinggi wilayah Kalimantan Tengah terdapat di Gunung Batu Sambang dengan ketinggian hingga 16660 mdpl. Paparan sinar matahari di provinsi ini sekitar 56,18%. Dimana kondisi suhu pada siang hari mencapai 33°C dan suhu pada malam hari sebesar 23°C. Intensitas curah hujan pertahun relatif tinggi yaitu mencapai 331,68 mm. Kalimantan Tengah memiliki 13 kabupaten dan 1 kota yaitu, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kotawaringin Timur, Kapuas, Barito Selatan, Barito Utara, Lamandau, Sukamara, Seruyan, Katingan, Gunung Mas, Pulau Pisau, Barito Timur, Murung Raya dan Kota Palangka Raya (Pemerintah Provinsi Kalimantan Tengah, 2017).

2.3 Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Potensi hasil tanaman ditentukan oleh varietas, lingkungan dan interaksi antara dan lingkungan. Lingkungan juga akan mempengaruhi hasil dari metabolit sekunder tanaman. Faktor yang menyebabkan bervariasinya kandungan dibedakan menjadi 2 yaitu faktor internal yang meliputi genetik, ontogenik, dan morfogenik dan faktor eksternal atau lingkungan (Verma and Shukla, 2015). Perbedaan komposisi juga dipengaruhi oleh perbedaan tempat tumbuh oleh kondisi habitat antara lain suhu, kelembaban, intensitas cahaya matahari (Khairil dkk, 2015). Faktor lingkungan lainnya adalah adanya polusi, stres yang diinduksi radiasi UV dan logam berat (Nagayjoti *et al.*, 2010; Etasami, 2008).

2.3.1 Tanah dan Unsur Hara

Tanah merupakan hasil pelapukan batuan, bahan organik, bahan anorganik, air dan udara. Faktor proses pembentukan tanah antara lain iklim, organisme, bahan induk, topografi dan waktu. Salah satu faktor yang menunjang tanaman untuk tumbuh dan berproduksi secara optimal adalah ketersediaan unsur hara dalam jumlah yang cukup di dalam tanah. Setiap tanaman memerlukan unsur hara yang berbeda-beda (Ruhnayat, 2007). Ketersediaan unsur hara dan media tanah yang baik dan seimbang akan berpengaruh terhadap kelangsungan proses-proses metabolisme, respirasi dan fotosintesis (Fauziah dkk, 2018).

Tanaman memerlukan unsur hara makro maupun mikro. Unsur hara makro terdiri dari Karbon (C), Hidrogen (H), Oksigen (O), Nitrogen (N), Sulfur (S), Fosfor (P), Kalium (K), Kalsium (Ca), Magnesium (Mg) dan Sulfur (S). Beberapa unsur hara yang penting adalah Besi (Fe), Borium (Bo), Mangan (Mn), Tembaga (Cu), Seng (Zn), Molibdenum (Mo) dan Khlor (Cl) yang merupakan kandungan dari pupuk tanaman. Unsur hara makro yang diserap oleh tanaman relative banyak yang diperlukan. kekurangan unsur hara makro akan menimbulkan defisiensi yang tidak dapat digantikan oleh unsur lain. Sedangkan kelebihan unsur hara makro tidak menimbulkan pengaruh karena akan terlarut ke dalam tanah atau larut oleh air. Unsur hara mikro diperlukan oleh tanaman dalam jumlah sedikit, sebaliknya akan menjadi racun jika dalam keadaan berlebih. Pemberian yang seimbang akan memberikan nutrisi bagi tanaman sehingga tidak akan terjadi kekurangan unsur hara makro maupun mikro (Irfan, 2013).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ruhnayat (2007) pada tanaman panili jika kekurangan unsur hara N akan berdampak pada warna daun yang menguning karena pembentukan klorofil terganggu. Kekurangan unsur hara P juga mengakibatkan daun menguning karena salah satu peran unsur hara P adalah sebagai perangsang pembentukan akar. Sedangkan kekurangan unsur hara K dapat menyebabkan melemahnya batang.

2.3.2 Ketinggian Tempat Tumbuh

Pertumbuhan tanaman dapat dipengaruhi oleh ketinggian tempat tumbuh. Ketinggian tempat tumbuh dibedakan menjadi 2 yaitu dataran rendah (700 m dpl) dan dataran tinggi (700 m dpl). Ketinggian dan temperatur erat hubungannya. Jika semakin tinggi tempat di atas permukaan laut, maka temperatur dan radiasi matahari semakin menurun. Selain itu suhu, kelembaban udara dan angin juga mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Widarawati dkk, 2017). Suhu merupakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Suhu yang terlalu tinggi maupun terlalu rendah dapat merusak enzim sehingga metabolit yang dihasilkan akan berbeda. Curah hujan pada ketinggian tempat tumbuh juga berpengaruh, semakin tinggi tempat maka curah hujan semakin tinggi (Van Beusekom *et al.*, 2015).

Perbedaan ketinggian tempat tumbuh akan berpengaruh terhadap kualitas tanaman. Semakin tinggi tempat dapat meningkatkan mutu biji kopi Arabika yang meliputi presentase biji normal dan berat 100 biji (Supriadi dkk, 2016).

2.3.3 Iklim

Iklim adalah kondisi rata-rata cuaca berdasarkan waktu yang panjang untuk suatu wilayah. Pengamatan iklim dilakukan pada waktu yang lama minimal 30 tahun. Menurut koppen iklim dibagi beberapa tingkatan sebagai berikut:

Tabel 2.1 Klasifikasi Iklim Menurut Koppen (Harono, 2007)

Jenis	Keterangan
Af	Iklim hujan tropis
Aw	Iklim sabana tropis
Bs	Iklim stepa
Bw	Iklim gurun
Cf	Iklim hujan sedang, panas tanpa musim kering
Cw	Iklim hujan sedang, panas dengan musim dingin kering
Cs	Iklim hujan sedang, panas dengan musim panas yang kering
Df	Iklim hujan salju tanpa musim kering
Dw	Iklim hujan salju dengan musim dingin yang kering
Et	Iklim tundra
Ef	Iklim salju

Hujan merupakan suatu fenomena alam yang terdapat dalam siklus hidrologi dan sangat mempengaruhi iklim. Keberadaan hujan sangat penting untuk kebutuhan air tanaman. Jenis-jenis hujan berdasarkan besarnya curah hujan menurut BMKG dibagi menjadi tiga, yaitu hujan sedang dengan intensitas 20-50 mm per hari, hujan lebat dengan intensitas 50-100 mm per hari dan hujan sangat lebat diatas 100 mm per hari. Intensitas curah hujan merupakan ukuran jumlah hujan per satuan waktu tertentu selama hujan berlangsung (Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika, 2017).

Perubahan iklim sebagai kontributor penting pada lingkungan, salah satunya adalah curah hujan yang merupakan faktor penyebab penurunan produktivitas diperkebunan teh, khususnya pada daerah rendah dan sedang berdampak langsung

terhadap pertumbuhan pucuk yang mengalami kekeringan berat (Dalimoenthe dkk, 2016).

2.4 Moisture Content Analysis

Parameter penting untuk menentukan umur simpan produk simplisia adalah kadar air. Kadar air yang tinggi akan mempercepat kerusakan yang disebabkan reaksi kimia maupun mikrobiologis. Kadar air berhubungan dengan kelembaban nisbi (RH) udara. Perbandingan antara kelembaban udara dengan tekanan uap air jenuh pada suhu yang sama disebut kelembaban nisbi. Jika kadar air pada bahan rendah sedangkan kadar air dalam ruangan tinggi, maka uap air akan berpindah dari ruangan kedalam bahan yang akan menyebabkan kadar bahan akan menjadi tinggi (Lindani, 2016).

Kadar air yang dianjurkan berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 12 tahun 2014 tentang pesyaratan mutu obat tradisional adalah $\leq 10\%$. Jika kadarnya melebihi dari itu, kemungkinan simplisia akan rusak akibat terkontaminasi bakteri dan jamur dapat diturunkan. Kadar air juga menjadi parameter lama waktu penyimpanan dan penggunaan (BPOM, 2014).

2.5 Tinjauan Ekstraksi dengan *Ultrasonic Assited Extraction*

Ekstrak adalah zat yang diperoleh dari proses ekstraksi senyawa dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Senyawa yang diekstrak antara lain senyawa aromatik, minyak atsiri, ester. Kemudian pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa

diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Mutu ekstrak dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi seperti lokasi tumbuh, waktu panen, jenis tanaman, penyimpanan bahan. Sedangkan faktor kimia dibagi menjadi dua faktor yaitu faktor eksternal yang meliputi ekstraksi, kandungan logam berat, ukuran kekerasan, pengeringan bahan dan faktor internal yang meliputi jenis senyawa aktif dalam bahan, kadar senyawa aktif (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi merupakan pemisahan komponen-komponen yang ada pada bagian tanaman obat, hewan, maupun bagian ikan termasuk biota laut. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Sifat-sifat dari pelarut dalam ekstraksi tumbuhan terdiri dari toksisitas yang rendah, mudah untuk diuapkan pada suhu rendah, absorpsi yang cepat pada tumbuhan, memiliki aksi untuk pengawetan, tidak menyebabkan ekstrak menjadi kompleks atau terpisah (Tiwari *et al.*, 2011). Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2000).

Pemilihan pelarut yang digunakan tergantung dari banyaknya ekstrak, waktu dalam proses pengekstrasian, perbedaan kandungan senyawa yang diekstrak, kemudahan dalam pengolahan setelah proses ekstraksi, perbedaan penghambatan senyawa yang diekstraksi, toksisitas pelarut dan potensi bahaya bagi kesehatan hasil dari ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Pelarut etanol 96% dipilih karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat nonpolar, semi polar

maupun polar. Sehingga dapat mengekstrak seluruh senyawa pada sampel bawang dayak secara optimal.

Proses ekstraksi dengan metode ultrasonik atau biasa disebut *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Prinsip kerjanya memanfaatkan gelombang ultrasonik yang ditransmisikan melalui pelarut sehingga pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi mengalami kavitasi mikro dan menimbulkan panas yang akhirnya melepaskan senyawa ekstrak. Hal tersebut menimbulkan efek mekanik yang akan memecah dinding sel tanaman sekaligus meningkatkan transfer massa sehingga senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman lebih banyak berdifusi. Semakin banyak jumlah pelarut etanol yang kontak dengan zat yang disari, maka akan menimbulkan proses plasmolisis yang menyebabkan zat aktif keluar sel dan memaksimalkan hasil rendemen ekstrak. Hal tersebut karena semakin lama jumlah sirkulasi pada proses ekstraksi akan mempengaruhi hasil rendemen (Prasetyo dkk, 2015).

Keunggulan proses ekstraksi menggunakan ultrasonik karena membutuhkan waktu yang singkat dan kualitas produk yang lebih baik (Widjanarko dkk, 2011). Metode UAE lebih membutuhkan sedikit energi, tidak terlalu membutuhkan banyak pelarut sehingga hasilnya lebih murni (Ardianti dkk, 2014). Selama proses sonikasi dinding sel akan pecah karena adanya getaran sehingga akan mengakibatkan meningkatnya kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak (Vinatoru, 2001).

Penelitian yang dilakukan oleh Handayani dkk (2016) menyatakan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan rasio bahan:

pelarut (1:10 b/v) dan lama ekstraksi 20 menit menghasilkan rendemen 11,72%, kandungan total fenol 15213,33 ppm, kadar flavonoid 45843 ppm, aktivitas antioksidan 78,14% dan IC_{50} 15,58 ppm.

2.6 Tinjauan Tentang Analisis Metabolit

Analisis metabolit terutama profil metabolit dibutuhkan dalam kompleks matriks biologis. Dalam penelitian bahan alam, istilah metabolit sering digunakan dan mengacu pada senyawa yang dapat mempertahankan kehidupan organisme melalui proses metabolisme. Hal ini disebut dengan metabolit primer. Contoh dari metabolit primer adalah asam amino, lipid, dan karbohidrat (Wolfender, 2015). Metabolit sekunder adalah senyawa kimia pada tanaman dapat digunakan untuk berinteraksi dengan lingkungan. Fungsi dari metabolit sekunder untuk proteksi tanaman dari mikroorganisme seperti virus bakteri dan jamur, menyerap sinar UV (Kennedy and Wight, 2011). Contoh dari metabolit sekunder yaitu polifenol, alkaloid, terpen, dan hormon (Wolfender, 2015). Beragam jenis metabolit sekunder dari jenis atau spesies tanaman yang belum diketahui fungsinya, sehingga belum sepenuhnya dieksplorasi potensinya untuk tujuan pengobatan (Maraschin and Verpoorte, 1999; Uarrota *et al.*, 2011).

Senyawa marker adalah senyawa atau golongan senyawa yang dapat digunakan untuk mengontrol konsistensi tanpa harus mengetahui adanya aktivitas atau tidak senyawa tersebut. Senyawa marker diklasifikasikan menjadi dua, yaitu senyawa marker aktif dan senyawa marker analisis. Senyawa marker aktif adalah senyawa atau golongan yang diketahui secara umum mempunyai kontribusi dalam

aktivitas terapeutik. Sedangkan senyawa marker analisis yaitu senyawa atau golongan senyawa yang digunakan untuk tujuan analisis tanpa perlu mengetahui adanya kontribusi terapeutik atau tidak. Senyawa marker dapat menjadi indikator kualitas obat herbal (Li *et al.*, 2008).

Terdapat beberapa pendekatan yang digunakan untuk menganalisa metabolit, yaitu *metabolite fingerprinting*, *metabolite profiling* dan *metabolite target analysis* (Wolfender, 2015).

Metabolite fingerprinting merupakan teknik analisa untuk klasifikasi secara cepat. Tujuan dari metode ini adalah tidak mengklasifikasi metabolit satu persatu, melainkan membandingkan pola *fingerprinting* yang berubah dalam sistem biologis (Wolfender, 2015).

Metabolite profiling merupakan teknik analisa yang fokus pada kelompok besar metabolit yang terkait dengan jalur metabolisme ataupun dengan klasifikasi suatu senyawa (Wolfender, 2015). Teknik ini juga digunakan untuk menentukan profil metabolit suatu tanaman berdasarkan pola kromatogram yang dihasilkan dari komponen suatu senyawa yang memiliki aktifitas farmakologi ataupun komponen kimia yang memberikan ciri khusus pada tanaman dengan tujuan untuk kontrol kualitas (Fiehn, 2002).

Metabolite target analysis merupakan teknik analisa yang fokus pada penyelidikan metabolit yang terkait dengan jalur metabolisme tertentu. Tujuan dari teknik analisa ini adalah untuk mengamati modifikasi metabolit yang berhubungan dengan jalur metabolisme spesifik (Wolfender 2015).

2.7 HPTLC pada Profil Metabolit

Teknik analisa modern yang digunakan untuk evaluasi senyawa dalam tanaman adalah dengan menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), UPLC-MS, dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) (Khan, *et al.*, 2017). HPTLC bisa menjadi alternatif untuk analisis ekstrak tanaman karena lebih efisien untuk evaluasi obat herbal (Dhalwal *et al.*, 2008).

HPTLC adalah teknik pemisahan berdasarkan kecepatan migrasi dari masing-masing komponen pemisahan pada fase diam yang dibawa dengan fase gerak berdasarkan sifat kepolarannya. Sampel berupa larutan ditotolkan pada plat HPTLC lalu dielusi dengan eluen yang sesuai hingga terjadi pemisahan yang baik antar komponen pada campuran zat tersebut. HPTLC merupakan perbaikan instrumen dari TLC yang menggunakan plat khusus untuk penotolan sampel dan analisis secara kuantitatif dengan bantuan densitometri (Pereira *et al.*, 2004).

Analisis yang sering digunakan untuk profil metabolit adalah dengan menggunakan *metabolite fingerprinting*. Analisis profil metabolit menggunakan kromatografi adalah untuk membandingkan komponen-komponen dalam suatu ekstrak. Pengembangan *metabolit fingerprinting* menggunakan HPTLC karena efektif, efisien dan ekonomis untuk analisa senyawa dalam jumlah yang banyak (Alphonso and Saraf, 2012), dan tanaman yang akan dianalisis tidak memerlukan pembersihan secara menyeluruh termasuk analisa secara kuantitatif (Pereira *et al.*, 2004).

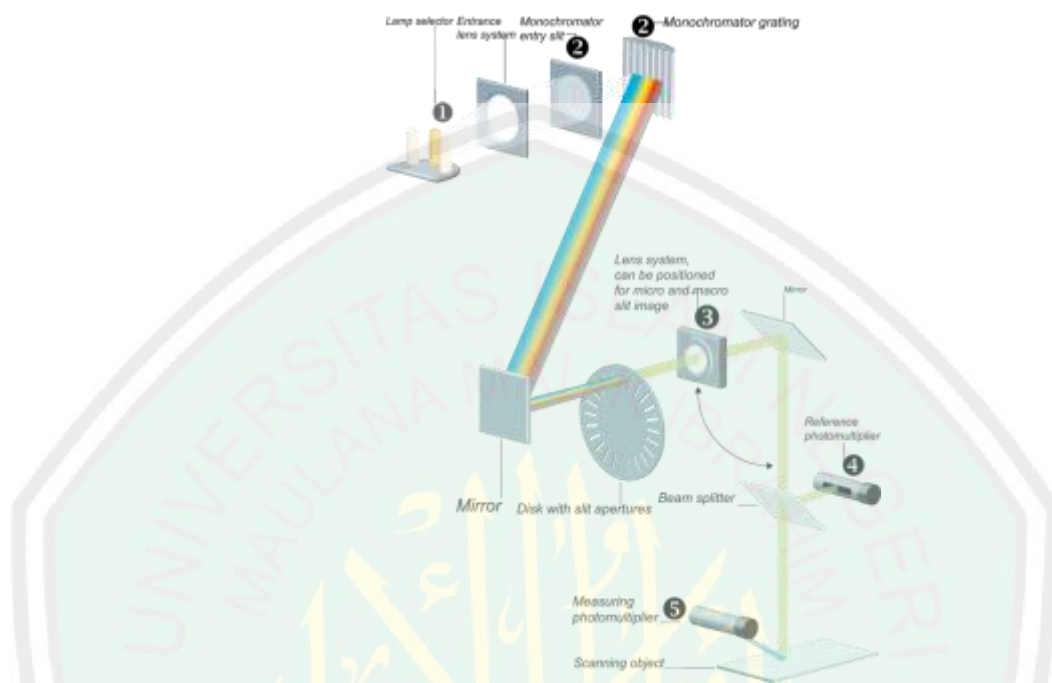
Plat HPTLC mempunyai juga mempunyai keunggulan yaitu resolusi yang baik, sensitifitas dalam deteksi yang tinggi, dan digunakan di industri farmasi dengan analisis densitometri. Analisis menggunakan HPTLC akan menghasilkan kromatogram yang digunakan sebagai standar penentuan pola kromatogram pada masing-masing tanaman dan digunakan sebagai kontrol kualitas bahan tanaman (Mukherjee *et al.*, 2006).

2.8 Densitometri

Densitometri merupakan instrumen analisis dengan mengubah noda yang dibaca menjadi kromatogram dengan menampilkan beberapa puncak. Kadar analit pada noda sesuai dengan jarak dan tinggi puncak yang ditempuh. Teknik ini menganalisa berdasarkan absorpsi, transmisi, pantulan pendar flour dari radiasi semula. Densitometri menggunakan TLC Scanner telah banyak digunakan analisa kuantitatif (Sek *et al.*, 2001).

Penentuan kualitatif analit dilakukan dengan cara membandingkan nilai R_f analit dan standar. Noda analit yang memiliki R_f sama dengan standar dapat diidentifikasi kemurnian analit. Sedangkan penentuan kuantitatif analit dilakukan dengan cara membandingkan luas area noda analit dengan luas area noda standar pada fase diam yang diketahui konsentrasinya atau menghitung densitas noda analit dan membandingkan dengan densitas noda standar. Apabila pada fase diam tidak ada noda, maka cahaya yang jatuh dipantulkan kembali. Tetapi jika cahaya yang jatuh pada plat yang terdapat noda, maka cahaya akan diserap dan intensitas cahaya yang dipantulkan akan berbeda dengan intensitas cahaya yang diserap. Cahaya

yang dipantulkan akan diukur oleh *detector* dan disimpan untuk diubah menjadi kromatogram (Reich & Schibi, 2006).



Gambar 2.2 Diagram Skematis Densitometer
Sumber: www.camag.com (08 November 2018)

2.9 Analisa pada Profil Metabolit

2.9.1 *Principle Component Analysis* (PCA)

Analisa multivariate pada profil metabolit menggunakan *Principle Component Analysis* (PCA). *Principle component analysis* (PCA) adalah salah satu fitur ekstraksi (reduksi) data multivariat yang banyak digunakan, ketika antar variabel terjadi korelasi. Objek (sampel) dengan komponen utama (*principle components*, PCs) mempunyai sifat fisika maupun kimia sehingga metode ini dapat digunakan untuk pengelompokan. Oleh karena itu PCA sering disebut juga sebagai

variabel tersembunyi (*latent variables*) karena mampu mengelompokkan variabel (Rohman, 2014).

Metode PCA digunakan jika data yang ada memiliki jumlah variabel yang besar dan memiliki korelasi antar variabelnya. Metode analisis ini bertujuan untuk menyederhanakan perubahan yang diamati dengan cara mereduksi variabel yang ada menjadi lebih sederhana tanpa harus menghilangkan variabel yang asli. Hasil dari variabel reduksi disebut *principal component* (komponen utama) atau biasa disebut faktor (Hendro dkk, 2012). *Principal component* (PC) hanya menjelaskan sebagian kecil dari varian (Stathis, 2009).

Komponen dari PCA dikarakterisasi dengan tiga bagian untuk melengkapi suatu data, yaitu (1) keragaman (*variance*) yang memaparkan berapa banyak informasi yang dapat digunakan pada PC, (2) *loading* yang memaparkan korelasi antara variabel-variabel dalam setiap PC, dan (3) *scores* yang memaparkan sifat-sifat dari sampel (Ichzan, 2014). Hasil analisis dari PCA dikatakan baik apabila jumlah komponen utama yang sedikit mampu menggambarkan total variasi yang besar (Septiani, 2012; Ichzan, 2014).

2.9.2 Hierarchical Clustering Analysis (HCA)

Hierarchical Clustering Analysis (HCA) merupakan metode pengelompokan data berdasarkan kemiripan. Metode ini mengelompokkan dua objek atau lebih yang memiliki kemiripan atau kesamaan yang paling dekat hingga cluster yang dibentuk terdapat tingkatan yang jelas. Hasil pengelompokan hierarki disajikan dalam bentuk dendogram yang dapat menjelaskan cluster yang dibentuk. Identifikasi dalam pengelompokan antara objek dan kumpulan data.

Terdapat beberapa metode untuk mencari kluster. Salah satu metode dimulai dengan mempertimbangkan tiap objek sebagai pembentuk suatu “kluster” dengan satu ukuran, dan membandingkan jarak antar kluster. Dua titik yang paling dekat satu sama lain digabungkan untuk membentuk kluster baru (Rohman, 2014).

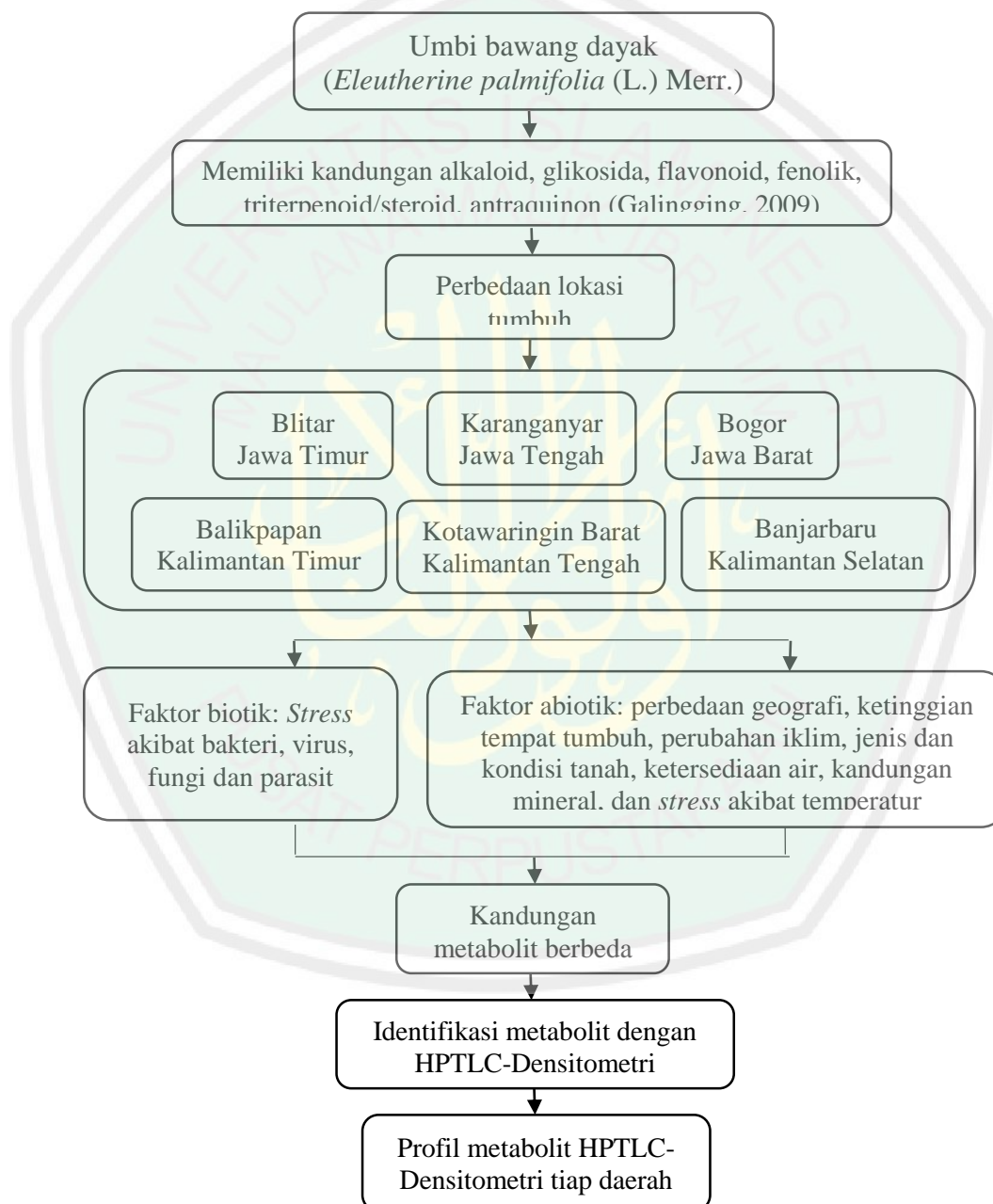
HCA digunakan untuk mengidentifikasi spesies dan melakukan pengelompokan sampel sebagai kelompok *Cricomodes kambaensis* dan kelompok *C. antipolitamus*. Metode analisis kluster ini lebih baik karena cepat untuk mendapatkan hasil identifikasi, dendogram sangat membantu dalam menunjukkan hubungan spesies (Bouket, 2014).



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dapat digunakan sebagai salah satu bahan pembuatan obat herbal. Penduduk local sering menggunakan tanaman ini untuk meningkatkan ASI, pengobatan diabetes, kanker payudara, stroke dan hipertensi. Karena kandungan senyawa pada tanaman ini sangat beragam seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, triterpen/steroid, antraquinon (Galingging, 2009).

Perbedaan lokasi tumbuh pada pengambilan sampel *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Srengat Blitar Jawa Timur (127 mdpl), Tawangmangu Karanganyar Jawa Tengah (1221 mdpl), Cijeruk Sukaharja Bogor Jawa Barat (668 mdpl), Karang Rejo Balikpapan Kalimantan Timur (29 mdpl), Baru Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah (10 7mdpl), Banjarbaru Kalimantan Selatan (31 mdpl) akan mempengaruhi senyawa metabolit yang diproduksi dalam tanaman. Pengaruh tersebut dapat disebabkan karena faktor biotik maupun abiotik. Faktor biotik seperti *stress* akibat bakteri, virus, jamur dan parasit. Sedangkan faktor abiotik yaitu perbedaan geografi, ketinggian tempat tumbuh, perubahan iklim, jenis dan kondisi tanah, ketersediaan air, kandungan mineral, *stress* akibat temperatur, radiasi dan senyawa kimia.

Kandungan metabolit yang berbeda tersebut dapat diketahui dengan identifikasi profil metabolit pada *E. palmifolia* menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC)-Densitometri. Sehingga didapatkan profil metabolit *E.palmifolia* dari masing-masing lokasi pengambilan sampel. Hasil dari identifikasi profil metabolit akan dianalisa menggunakan *Principal Component*

Analysis (PCA) untuk mengetahui kedekatan antar sampel dan *Hierarchical Clustering Analysis* (HCA) untuk mengelompokkan berdasarkan perbedaan maupun persamaan pada masing-masing sampel.

3.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* yang tumbuh di 6 tempat yang berbeda, yaitu Srengat Blitar Jawa Timur (127 mdpl), Tawangmangu Karanganyar Jawa Tengah (1221 mdpl), Cijeruk Sukaharja Bogor Jawa Barat (668 mdpl), Karang Rejo Balikpapan Kalimantan Timur (29 mdpl), Baru Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah (10 7mdpl), Banjarbaru Kalimantan Selatan (31 mdpl) secara HPTLC-Densitometri.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yaitu mengidentifikasi profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda di Indonesia secara HPTLC-Densitometri. Teknik pengambilan sampel dengan cara *Nonrandom Sampling* secara *convenience*, dimana sampel tersebut dipilih berdasarkan pertimbangan kemudahan yang diambil dari 2 provinsi yaitu Kalimantan dan Jawa dengan 3 tanaman umbi *E. palmifolia* pada masing-masing lokasi sehingga didapat total 6 sampel. Masing-masing daerah tersebut juga sudah mewakili macam-macam iklim di Indonesia. Lokasi tersebut adalah Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan). Penentuan profil metabolit, masing-masing sampel ditotol sebanyak 1 kali (6 sampel) dan dilakukan tiga kali replikasi.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juni 2018 bertempat di Laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Badan Pengawa Obat dan Makanan (BPOM) Kota Ambon.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah umbi *E. palmifolia* yang tumbuh di Indonesia.

4.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah umbi *E. palmifolia* yang tumbuh di Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan).

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : perbedaan lokasi tumbuh *E. palmifolia*
2. Variabel Tergantung : profil metabolit ekstrak bawang etanol 96% umbi *E. palmifolia*
3. Variabel Kontrol : spesies bawang dayak, metode ekstraksi, kain hitam untuk penutup, dan lama pengeringan

4.4.2 Definisi Operasional

1. Lokasi penanaman adalah tempat pengambilan sampel *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Timur.

2. Ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* adalah ekstrak kental umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda, yaitu Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan) yang diekstraksi sebanyak 25 gram ke dalam 500 ml etanol 96% menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan ultrasonik.
3. Profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* adalah kelompok suatu metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* yang berhubungan dengan jalur metabolisme atau dengan suatu senyawa yang digunakan untuk menentukan profil metabolit atau pola kromatogram ekstrak yang memiliki aktivitas.
4. Spesies *E. palmifolia* adalah sekelompok tanaman yang memiliki persamaan keturunan yang berkaitan secara fisiologis.
5. Metode ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dengan bantuan gelombang ultrasonik.
6. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air sehingga akan menghambat proses pembusukan. Lama pengeringan akan berpengaruh pada hasil sampel yang dikeringkan.
7. *Score plot* pada hasil PCA menunjukkan kedekatan antar sampel.
8. *Loading plot* pada hasil PCA menunjukkan hubungan antar variabel.

9. *Cluster* adalah pengelompokkan objek ataupun variabel ke dalam beberapa kelompok tertentu dimana setiap objek atau variabel yang terbentuk memiliki sifat dan karakteristik yang berdekatan.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah *Developing chamber* (Camag), *Linomat-5 Applicator* (Camag), *TLC Visualizer* (Camag), *Ultrasonic Assited Extraction*, *Rotary Evaporator*, *Moisture Analyzer*, *TLC Scanner* (Camag *TLC Scanner-4*), *Automatic Developing chamber* (Camag *ADC-2*), *TLC Visualizer* (Camag), *Syringe Applicator 50 µl* (SGE), *TLC Plat Silika Gel 60 F₂₅₄ 20x10 cm* (Merck), *micropipette* (Eppendorf *Research Plus 100-1000 µl*), *vortex mixer* (Digisystem *VM-2000*), neraca analitik (Mettler Toledo *AL-204*), *hot plate* (ITS-IKA *Cmag-HS7*), *filter nylon membrane* (Whatman *0,2 µm*) dan alat gelas (*Iwaki*).

4.5.2 Bahan Penelitian

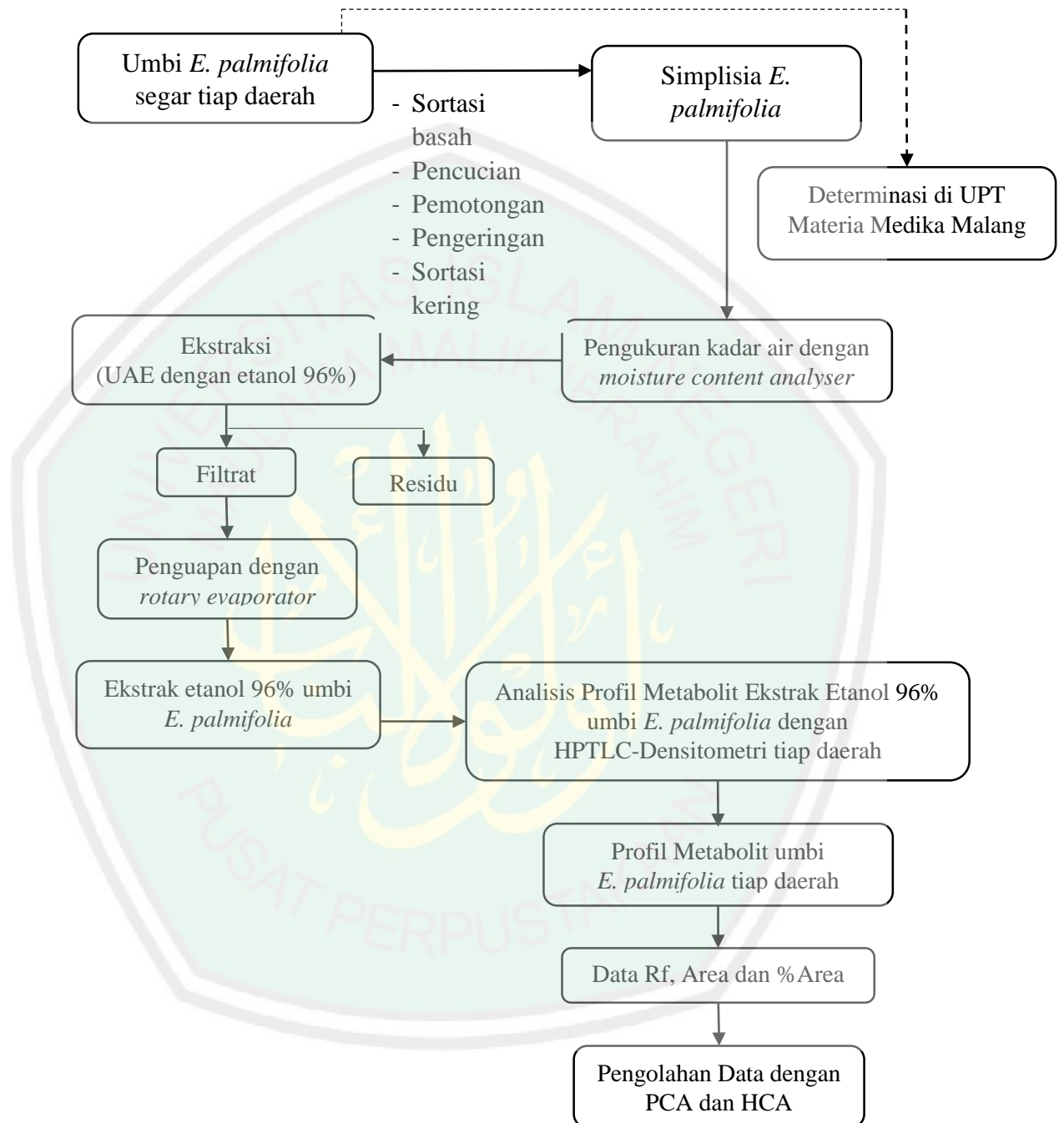
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, etil asetat (Merck), kloroform (Merck), methanol (Merck), hexan (Merck), ethanol *absolute for analysis 2.5 l* (Merck), methanol *gradient grade for liquid chromatography* (Merck), aqua bidest (Elga Pure Lab), chloroform *for analysis 2.5 l* (Merck) dan sulfuric acid *for analysis 2.5 l* (Merck), bawang dayak (*E. palmifolia*) yang diambil dari 6 lokasi yang berbeda yaitu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Timur seperti pada table 4.1.

Tabel 4.1 Karakteristik Lokasi Pengambilan Sampel Umbi *E. palmifolia*

No.	Lokasi	Ketinggian (mdpl)	Suhu rata-rata (°C)	Curah hujan (mm)	Iklm	Jenis tanah
1.	Desa Srengat, Kecamatan Srengat, Kabupaten Blitar, Jawa Timur	127	25,0	1819	Aw	Regosol, Litosol
2.	Kelurahan Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah	1221	19,1	3299	Am	Aluvial Kelabu, Grumosol Kelabu Tua
3.	Desa Sukaharja, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat	668	24,0	3454	Af	Latosol, Aluvial, Regosol, Podsolik, dan Andosol
4.	Kelurahan Karang Rejo, Kecamatan Balikpapan Tengah, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur	29	26,4	2376	Af	Aluvial, Podsolik, Merah Kuning, Tanah Pasir
5.	Kelurahan Baru, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	10	26,8	2765	Af	Latosol, Podsolik Merah Kuning, dan Aluvial
6.	Kecamatan Banjarbaru, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan	31	27,2	2627	Af	Aluvial

Sumber: www.elevationmap.net dan www.id-climate.data.org (8 januari 2018)

4.6 Kerangka Penelitian



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Determinasi Tanaman

Umbi *E. palmifolia* yang diperoleh dideterminasi untuk memastikan sampel yang diambil adalah benar. Determinasi tanaman dilakukan di UPTD Materia Medika Malang.

4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia

Tanaman *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan tanaman. Kemudian dilakukan pencucian dengan air bersih untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada tanaman. Selanjutnya perajangan bahan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Penjemuran dilakukan pada jam 7 sampai 10 pagi dengan menutup nampan dengan kain hitam selama 4 sampai 5 hari. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering. Simplisia yang sudah dalam kondisi kering, selanjutnya dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penghalus. Setelah itu diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

4.7.3 Penentuan Kadar Air Serbuk Simplisia

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam serbuk simplisia umbi *E. palmifolia* digunakan untuk mengetahui kadar air didalam sampel yang akan mempengaruhi proses penyimpanan. Serbuk tersebut diukur dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer*. Alat *Moisture Analyzer* yang sudah dalam kondisi menyala terlebih dahulu dilakukan penyetaraan timbangan yang ditandai dengan muncul

angka 0,000 g. kemudian serbuk simplisia diletakkan 0,5 gram pada *sample pan* dan diratakan untuk memaksimalkan proses pengukuran. Kemudian ditutup dengan tutup *heating halogen*, ditunggu ± 15 menit sampai instrumen menampilkan hasil persentase kadar air. Pengukuran dilakukan pada tiap lokasi dengan 3 kali pengulangan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Simplisia dinilai cukup aman bila mempunyai kadar air kurang dari 10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

4.7.4 Ekstraksi Umbi *E. palmifolia* Metode UAE

Ekstraksi *E. palmifolia* menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) karena lebih membutuhkan sedikit energi, tidak terlalu membutuhkan banyak pelarut sehingga hasilnya lebih murni (Ardianti dkk, 2014). Sebanyak 6 sampel serbuk umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda di Indonesia, masing-masing ditimbang 25 g, diekstraksi dengan 500 ml etanol 96% dengan menggunakan metode UAE. Pelarut tersebut dibagi menjadi 3 *cluster* (200 ml, 150 ml, dan 150 ml) dan tiap *cluster* akan diekstraksi dengan *ultrasonic bath* dengan frekuensi 20 kHz selama 2 menit dengan 3 kali pengulangan. Setiap selesai proses UAE, ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* disaring menggunakan corong pisah dan kertas saring. Hasil tersebut kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian dihitung rendemennya. Rendemen adalah presentase perbandingan berat produk yang dihasilkan dengan berat produk awal. Perhitungan rendemen menggunakan rumus sebagai berikut,

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\%$$

4.7.5 Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan untuk memilih fase gerak yang optimal memisahkan analit. Ekstrak etanol 96% ditimbang 10 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 1 ml. Selanjutnya proses melarutkan sampel menggunakan UAE sampai larut sekitar 1-2 menit.

Total sampel masing-masing daerah dari 6 lokasi yang berbeda dengan urutan (1) Jawa Timur (2) Jawa Tengah (3) Jawa Barat (4) Kalimantan Timur (5) Kalimantan Tengah (6) Kalimantan Selatan dengan ukuran penotolan 2 μ l. Kondisi yang digunakan adalah fase diam plat Silica Gel F₂₅₄ 20x10 cm, fase gerak dilakukan optimasi dengan beberapa kombinasi, yaitu: (A) Kloroform: Metanol (8:2 v/v) (B) Etil Asetat: N-Heksana (6:4 v/v). Sebelum dilakukan eluasi, fase gerak terlebih dahulu dijenuhkan dengan menggunakan bantuan kertas saring yang dimasukkan dalam chamber sampai kertas saring tersebut basah menyerap fase gerak. Setelah itu fase diam dimasukkan dalam chamber kemudian diamati sampai terelusi sempurna. Plat HPTLC hasil kromatografi discan dengan TLC Scanner UV 254 dan 366 nm. Kemudian disemprot H₂SO₄ 10% sebagai penampak noda dan dipanaskan diatas *hotplate* dengan suhu 105°C selama 5 menit. Selanjutnya diamati kembali spot yang terlihat dengan TLC scanner.

4.7.6 Validasi Metode

Validasi metode untuk *metabolite fingerprinting* dilakukan dengan parameter uji presisi (*interday*) dan uji stabilitas (pada plat HPTLC). Uji presisi dan uji stabilitas dilakukan dengan menotol sampel (konsentrasi 20.000 dan 10.000 ppm) sebanyak 5 μ l pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 75 dan 90 dengan replikasi sebanyak

3 kali. Uji presisi (*interday*) dan uji stabilitas (pada plat) dianalisa dengan menggunakan PCA.

4.7.7 Uji Profil Metabolit

Timbang saksama 10.0 mg ekstrak etanol 80% *E. palmifolia* 6 (enam) sampel dari lokasi berbeda: Jabar (WJ), Jateng (CJ), Jatim (EJ), Kaltim (EB), Kalteng (CB) dan Kalsel (SB), larutkan dalam etanol 96% hingga 500 μ l (Konsentrasi 20.000 ppm) dan diencerkan dengan dipipet 200 μ l dan ditambah etanol 96% sama banyak (konsentrasi 10.000 ppm) lalu disaring dengan filter 0.20 μ m. Total sampel (Konsentrasi 10.000 ppm) masing-masing 5 μ l dengan kondisi: Fase diam plat Silica Gel 60 F₂₅₄ 20x10 cm, Fase Gerak terpilih yaitu Kloroform: Metanol (80:20 v/v) dan sebagai penampak noda digunakan asam sulfat 10%. Replikasi 3 kali. Scan plat TLC dengan TLC Scanner pada WL 254, lalu semua *spot* pada semua *track* discan pada WL 200-700 nm dan TLC *Visualizer*.

4.7.8 Analisis Data

Identifikasi *metabolite fingerprinting* ekstrak etanol *E. palmifolia* dari tiap lokasi (nilai R_f, AUC, WL maksimum dan Spektrum 200-700 nm). Profil metabolit diolah dengan menggunakan PCA dan HCA (Multibase v.2015 *adds in* Excel v.2013) untuk melihat perbedaannya.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dari beberapa daerah di Indonesia diantaranya Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Selatan. Penelitian ini dilakukan dalam 8 tahap yaitu determinasi, preparasi simplisia, analisis kadar air, ekstraksi ultrasonik, optimasi pelarut, validasi metode, uji profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* dan analisis data menggunakan PCA dan HCA.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bawang dayak yang berasal dari 6 lokasi yang berbeda di Indonesia, yaitu dari Srengat Blitar (Jawa Timur), Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan). Sebelum melakukan penelitian lebih lanjut, determinasi tanaman dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan pada penelitian. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah semua bagian dari bawang dayak yang terdiri dari akar, batang, daun, dan umbi. Determinasi tanaman bahan uji dilakukan di UPTD Materia Medika Batu Malang dengan nomor surat 074/348/102.7/2017. Hasil dari determinasi tersebut diketahui bahwa tanaman yang

digunakan dalam penelitian adalah benar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). Hasil dari determinasi tanaman *E. palmifolia* terdapat pada lampiran 5.

Kunci determinasi dari *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr. setelah dilakukan determinasi adalah 1b-2b-3b-4b-12b-13b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.

5.1.2 Preparasi Simplisia

Preparasi simplisia dilakukan sebelum melakukan penelitian. Sampel dari 6 lokasi yang berbeda setelah dilakukan determinasi selanjutnya akan disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya yang menempel. Kemudian dilakukan pencucian dengan air bersih, perajangan, dan pengeringan. Pengeringan dilakukan dibawah terik matahari secara tidak langsung untuk menghindari kerusakan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Tujuan pengeringan untuk mengurangi kadar air dalam bawang dayak karena mikroorganisme dan kerja enzim meningkat dalam keadaan lembab. Hal ini dapat menghambat atau mengurangi terjadinya pembusukan sehingga waktu penyimpanan lebih lama. Keberadaan air dalam jumlah yang tinggi akan mempengaruhi polaritas pelarut.

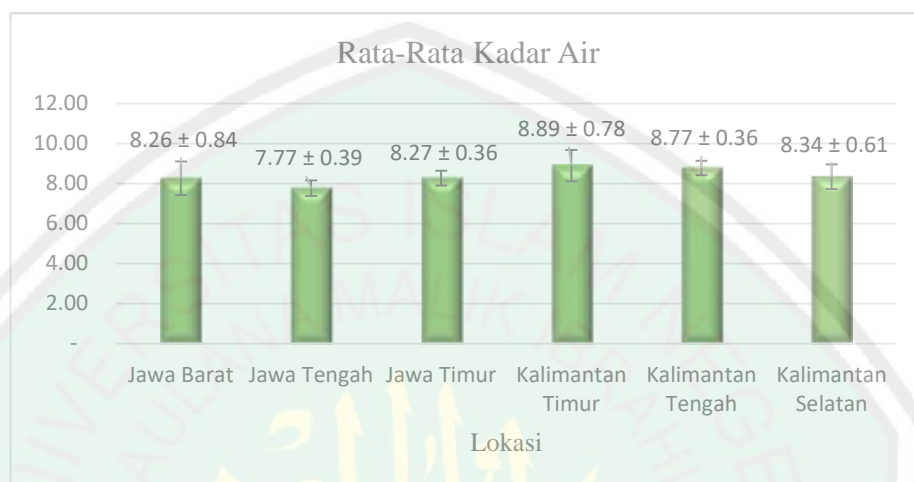
Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing atau bagian tanaman yang tidak diinginkan yang masih tertinggal pada simplisia kering. Simplisia yang sudah dalam kondisi kering, selanjutnya dibuat menjadi serbuk

dengan menggunakan mesin penghalus. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaan yang dapat mempercepat proses ekstraksi karena kontak sampel dengan pelarut akan semakin besar. Serbuk simplisia yang telah halus kemudian di ayak untuk menyamakan variasi ukuran. Sehingga didapatkan simplisia dalam kondisi halus. Partikel yang jauh lebih kecil akan mempermudah kontak pelarut dengan bahan dan berdifusi lebih banyak kedalam partikel sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih baik. Proses ekstraksi dengan memperbesar luas permukaan akan memperbesar kontak antara serbuk dan pelarut juga semakin besar (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015).

5.1.3 Analisis Kadar Air

Sampel yang telah berbentuk serbuk halus sebelum dilakukan proses ekstraksi akan dianalisa kadar airnya menggunakan alat *Moisture Analyzer*. Penentuan kadar air pada sampel bertujuan untuk menyatakan kadar zat sebagai persen bahan kering untuk mengetahui ketahanan dalam proses penyimpanan. *Moisture Analyzer* merupakan instrumen yang mengaplikasikan prinsip analisa gravimetri dengan akurasi yang sangat tinggi. Prinsip kerja dari analisis gravimetri adalah pemanasan suatu bahan pada tempat khusus dengan suhu dan waktu tertentu kemudian ditimbang sampai berat konstan. Bahan yang akan ditimbang, dipanaskan dengan oven pengering pada suhu tertentu (100-105°C) (Pine *et al.*, 2011). Pengukuran kadar air dengan menggunakan *Moisture Analyzer* membutuhkan waktu sekitar 3-15 menit (Ruiz, 2001). Lampu halogen digunakan sebagai sumber panas. Sampel dimasukkan dalam alas wadah alumunium yang di atasnya terdapat

kumparan koil pemanas listrik. Kumparan koil akan memanaskan ketika analisis kadar air dimulai. Berat sampel secara otomatis akan dikukur sehingga presentase kadar air dapat diketahui (Kenkel, 2003).



Gambar 5.1 Grafik Hasil Analisis Kadar Air

Rata-rata kadar air pada sampel bawang dayak dari 6 lokasi yang berbeda memiliki kadar air dibawah 10%. Persentase kadar air dari yang terendah sampai tertinggi adalah Bawang dayak Provinsi Jawa Tengah memiliki kadar air sebesar 7,77%; Provinsi Jawa Barat 8,26%; Provinsi Jawa Timur 8,27%; Provinsi Kalimantan Selatan 8,34%, Provinsi Kalimantan Tengah 8,77%; dan Provinsi Kalimantan Timur 8,89%. Hasil yang diperoleh dari analisis kadar air tersebut memenuhi kriteria yaitu tidak lebih dari 10%. Hal ini dimaksudkan agar tidak terjadi reaksi enzimatik dan mencegah pertumbuhan mikroba sehingga tidak mengalami pembusukan dan memenuhi syarat dalam baku simplisia (DepKes RI 1985).

5.1.4 Ekstraksi Ultrasonik

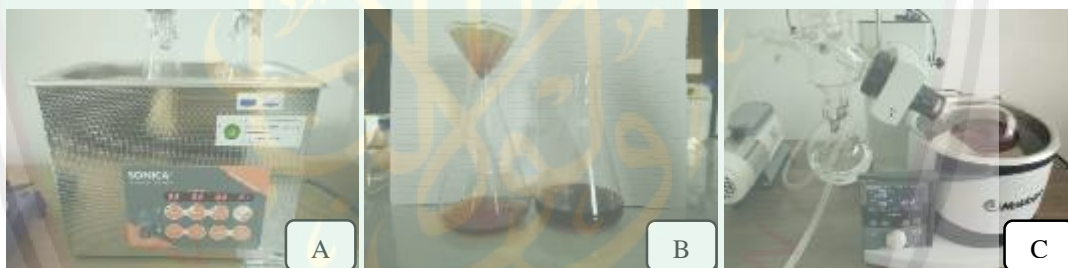
Proses ekstraksi menggunakan bantuan ultrasonik yang memanfaatkan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia. Proses ini dikenal dengan sonokimia (Hartuti dan Dani, 2013). Gelombang yang ditimbulkan berupa kavitasi dapat mengakibatkan sel-sel biologis akan pecah. Penurunan ukuran partikel, gangguan fisik baik pada dinding maupun membrane sel juga disebabkan oleh gelombang ultrasonik. Hal tersebut akan berdampak pada meningkatnya laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif dari sel ke pelarut (Novak *et al.*, 2008).

Sampel bawang dayak diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:20 untuk sampel dan pelarut. Karena semakin besar rasio bahan: pelarut dan lama waktu ekstraksi maka semakin besar rerata rendemennya (Prasetyo dkk, 2015). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga mampu melarutkan senyawa yang memiliki kepolaran rendah hingga relatif tinggi. Pemilihan pelarut etanol 96% akan menghasilkan nilai *yield* dibandingkan dengan pelarut lainnya seperti heksana dan air karena etanol dapat digunakan untuk ekstraksi bahan kering seperti daun, batang, dan akar (Handayani, 2010).

Ekstraksi bawang dayak dengan ultrasonik kemudian dipisahkan antara filtrat dan residu. Selanjutnya filtrat diproses dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan mendapatkan ekstrak kental bawang dayak. Pada alat *rotary evaporator* menggunakan suhu 50°C dengan kecepatan 70rpm karena etanol memiliki titik didih sebesar 78.32°C (Yuswi dkk, 2017). Pengaruh suhu akan

menyebabkan pori-pori padatan mengembang sehingga memudahkan etanol sebagai pelarut berdifusi masuk kedalam pori-pori bawang dayak.

Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator* dihentikan jika sudah mendapat ekstrak yang cukup pekat dengan ditandai berhentinya tetesan pelarut pada labu penampung. Ekstak yang diperoleh berwarna merah tua dengan tekstur pekat. Hasil ekstrak dimasukkan dalam oven pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut yang masih tersisa kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemen. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Wijaya dkk, 2018).



Gambar 5.2 (A) Proses ekstraksi bawang dayak menggunakan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) (B) Penyaringan bawang dayak untuk memisahkan filtrat dengan residu (C) Pemekatan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*

Tabel 5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Bawang Dayak

Sampel	Serbuk (gr) + Pelarut Etanol 96% (ml)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Bawang Dayak Jawa Barat	200 + 500	9,3039	4,6517
Bawang Dayak Jawa Tengah	200 + 500	10,0483	5,0215
Bawang Dayak Jawa Timur	200 + 500	8,1034	4,0512
Bawang Dayak Kalimantan Timur	200 + 500	12,3260	6,1538
Bawang Dayak Kalimantan Selatan	200 + 500	10,0772	5,0386
Bawang dayak Kalimantan Tengah	200 + 500	16,0893	8,0430

Rendemen yang dihasilkan pada 6 lokasi yang berbeda dipengaruhi oleh hasil ekstraksi. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah penyiapan bahan, ukuran partikel, pelarut, metode yang digunakan dalam ekstraksi, waktu, suhu, serta proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi (Ramadhan dan Phaza, 2010). Hasil rendemen yang berbeda-beda pada setiap sampel dikarenakan perbedaan lokasi tumbuh. Perbedaan lokasi tumbuh tersebut akan mempengaruhi kadar senyawa dalam tanaman. Selain lokasi tumbuh, faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil rendemen adalah perlakuan atau keadaan sampel, iklim, intensitas cahaya (Ulfah dan Karsa, 2007).

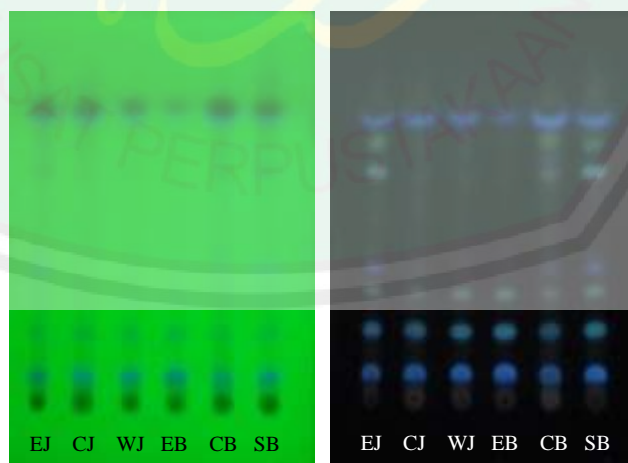
5.1.5 Optimasi Fase Gerak HPTLC

Optimasi fase gerak dilakukan menggunakan kombinasi 2 macam pelarut yaitu kloroform: metanol (8:2 v/v) dan n-heksana: etil asetat (7:3 v/v). Konsentrasi 10.000 ppm pada masing-masing sampel dan ditotolkan sebanyak 2 μ l. Penotolan dilakukan pada plat Silica Gel 60 F₂₅₄ berukuran 10x8 cm dengan 0,5 cm untuk

batas atas dan 1 cm untuk batas bawah. Hasil dari proses optimasi fase gerak dapat dilihat pada gambar 5.3 untuk fase gerak kloroform: metanol (8:2 v/v) dan gambar 5.4 untuk fase gerak n-heksana: etil asetat (7:3 v/v). Fase gerak yang dapat memisahkan analit dengan baik yaitu fase gerak kloroform: metanol (8:2 v/v) dibanding fase gerak n-heksana: etil asetat (7:3 v/v) karena dapat memisahkan dengan baik dan menghasilkan nilai Rf yang lebih tinggi.



Gambar 5.3 Optimasi fase gerak n-heksana:etil asetat (7:3 v/v) dengan *TLC Visualizer* (Camag) pada UV λ 254 nm (1) dan UV λ 366 nm setelah diderivatisasi dengan penampak noda H₂SO₄ 10% (2)



Gambar 5.4 Optimasi fase gerak kloroform:metanol (8:2 v/v) dengan *TLC Visualizer* (Camag) pada UV λ 254 nm (1) dan UV λ 366 nm setelah diderivatisasi dengan penampak noda H₂SO₄ 10% (2)

Setelah dilakukan eluasi, plat Silica Gel 60 F₂₅₄ divisualisasi menggunakan *TLC Visualizer* pada UV λ 254 nm dan λ 366 nm. Selanjutnya diderivatisasi menggunakan H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan *hotplate* 105°C selama 5 menit. Kemudian di *TLC Visualizer* pada UV λ 366 nm (Tabel 5.3).

Tabel 5.2 Hasil Optimasi Fase Gerak setelah diderivatisasi H₂SO₄ 10% pada panjang gelombang 366 nm

Sampel	No	Rf	Noda	Senyawa
Bawang dayak Jawa Timur	1	0.071	Biru	Steroid
	2	0.185	Hijau	Flavonoid
	3	0.292	Hijau	Flavonoid
	4	0.360	Biru	Steroid
	5	0.624	Hijau	Flavonoid
	6	0.706	Hijau	Flavonoid
	7	0.761	Biru	Steroid
Bawang dayak Jawa Tengah	1	0.070	Biru	Steroid
	2	0.184	Hijau	Flavonoid
	3	0.287	Hijau	Flavonoid
	4	0.515	Hijau	Flavonoid
	5	0.764	Biru	Steroid
Bawang dayak Jawa Barat	1	0.071	Biru	Steroid
	2	0.180	Hijau	Flavonoid
	3	0.283	Hijau	Flavonoid
	4	0.709	Hijau	Flavonoid
	5	0.769	Biru	Steroid
Bawang dayak Kalimantan Timur	1	0.074	Biru	Steroid
	2	0.180	Hijau	Flavonoid
	3	0.284	Hijau	Flavonoid
	4	0.776	Biru	Steroid
Bawang dayak Kalimantan Tengah	1	0.071	Biru	Steroid
	2	0.184	Hijau	Flavonoid
	3	0.287	Hijau	Flavonoid
	4	0.252	Biru	Steroid
	5	0.622	Hijau	Flavonoid
	6	0.712	Hijau	Flavonoid
	7	0.764	Biru	Steroid
Bawang dayak Kalimantan Selatan	1	0.072	Biru	Steroid
	2	0.188	Hijau	Flavonoid
	3	0.294	Hijau	Flavonoid
	4	0.360	Biru	Steroid
	5	0.628	Hijau	Flavonoid
	6	0.704	Hijau	Flavonoid

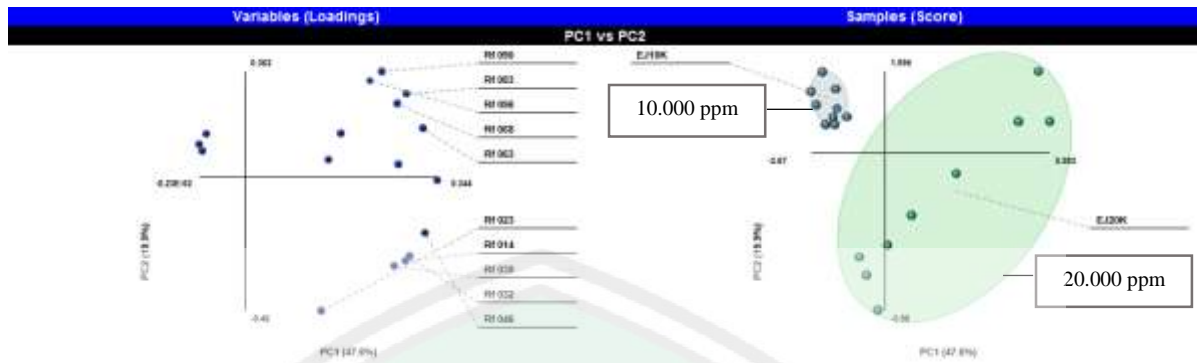
	7	0.765	Biru	Steroid
--	---	-------	------	---------

5.1.6 Validasi Metode

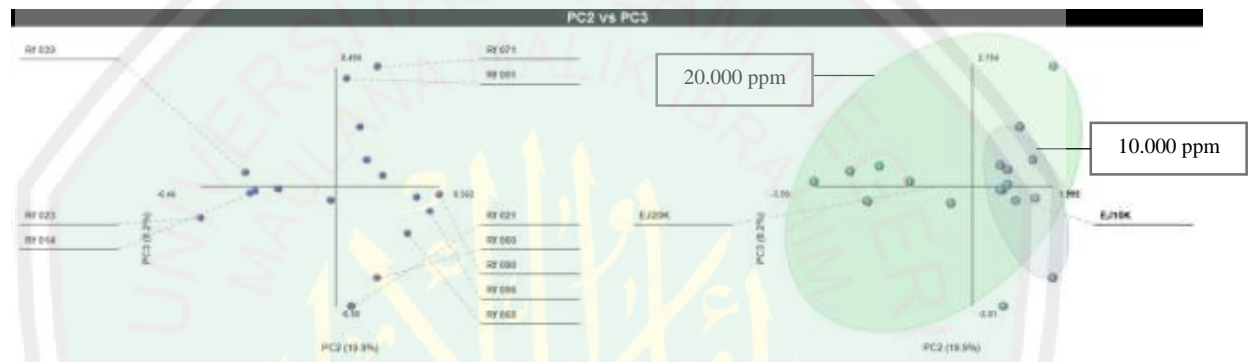
Validasi metode dilakukan setelah mendapatkan hasil optimasi fase gerak. Validasi metode yang digunakan yaitu uji presisi pada penentuan profil metabolit dan uji stabilitas pada plat HPTLC setelah penotolan. Fase gerak yang terpilih yaitu kloroform: metanol (8:2 v/v).

Penotolan dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm sebanyak 5 μ l dilakukan pada plat Silica Gel 60 F₂₅₄ ukuran 20x10 cm dengan fase gerak kloroform: metanol (80:20 v/v). Fase gerak tersebut merupakan fase gerak terpilih dari proses optimasi. Pada uji stabilitas, penotolan dilakukan pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 75, dan 90 untuk mengetahui stabilitas ekstrak pada waktu tertentu. Sedangkan untuk uji presisi dilakukan pada konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm dengan 3 kali replikasi.

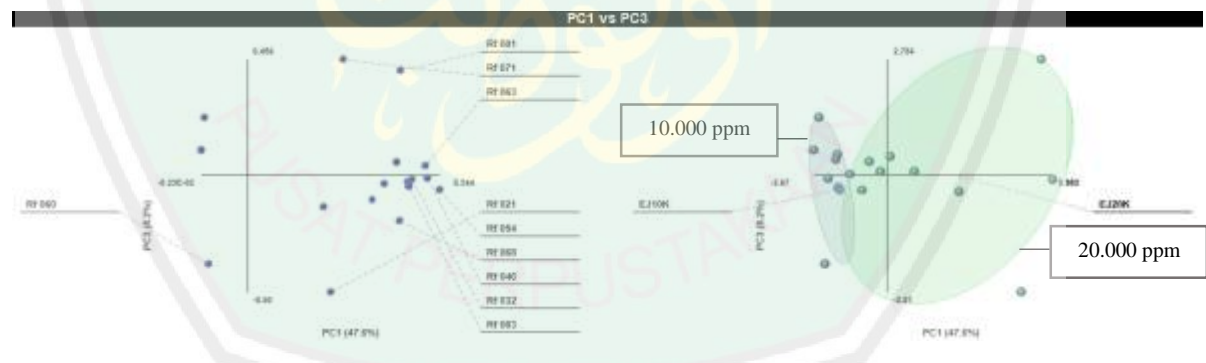
Hasil yang diperoleh, ekstrak *E. palmifolia* stabil selama pengujian sampei menit ke-90. Konsentrasi 10.000 ppm menunjukkan hasil yang presisi dibanding dengan konsentrasi 20.000 ppm dimana sampel terpisah dengan baik dalam kondisi yang cukup rapat setelah dianalisa menggunakan PCA.



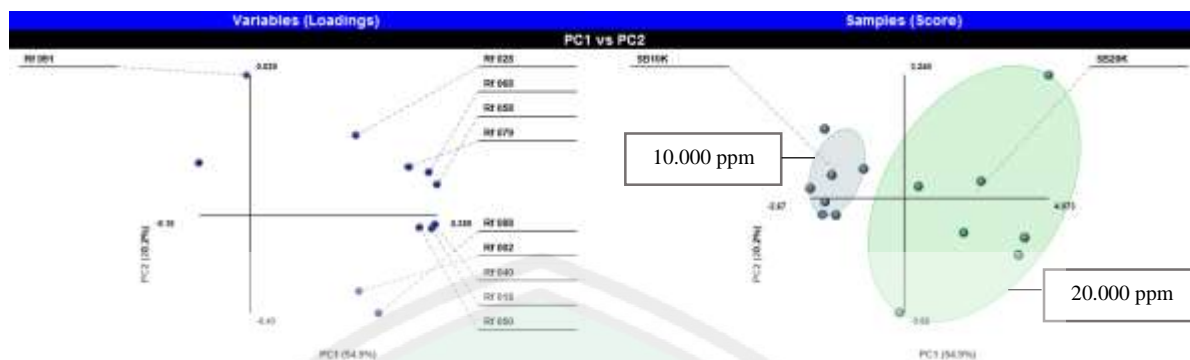
Gambar 5.5 (a) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC2



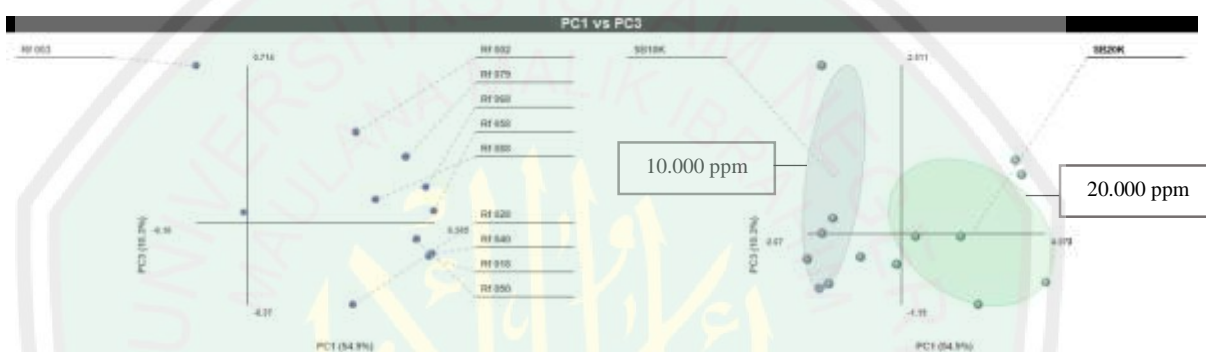
Gambar 5.5 (b) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3



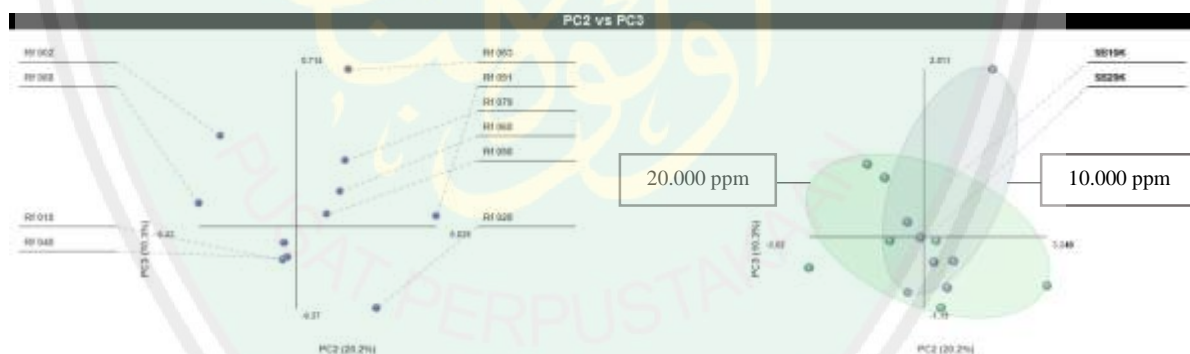
Gambar 5.5 (c) Profil PCA untuk Uji Presisi (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC3



Gambar 5.6 (a) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC2



Gambar 5.6 (b) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC1 vs PC3



Gambar 5.6 (c) Profil PCA untuk Uji Stabilitas (pada plat HPTLC) sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 20.000 ppm, PC2 vs PC3

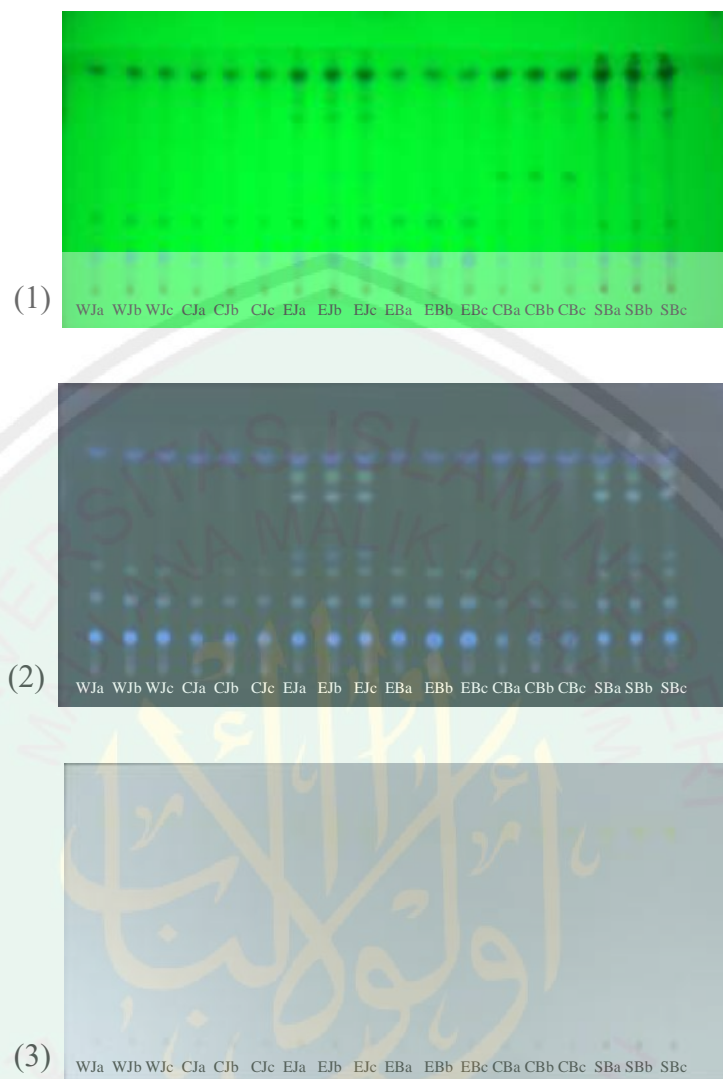
5.1.7 Profil Metabolit Ekstrak *E. palmifolia*

Penentuan profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* dianalisis menggunakan HPTLC-Densitometri menggunakan fase gerak terpilih setelah dilakukan optimasi fase gerak yaitu kloroform: methanol (80: 20 v/v). Ekstrak *E. palmifolia* dari 6

lokasi yang berbeda yaitu Jawa Timur (*East Java/EJ*), Jawa Barat (*West Borneo/WS*), Jawa Tengah (*Central Java/CJ*), Kalimantan Timur (*East Borneo/EB*), Kalimantan Tengah (*Central Borneo/CB*), Kalimantan Selatan (*South Borneo/SB*) ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% hingga 500 μ l (konsentrasi 20.000 ppm). Selanjutnya diencerkan dengan dipipet 200 μ l dan ditambah etanol 96% sama banyak (konsentrasi 10.000 ppm).

Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 5.6 profil metabolit dari ke 6 sampel dengan lokasi yang berbeda dapat terpisah dengan baik senyawa polar maupun non polar.

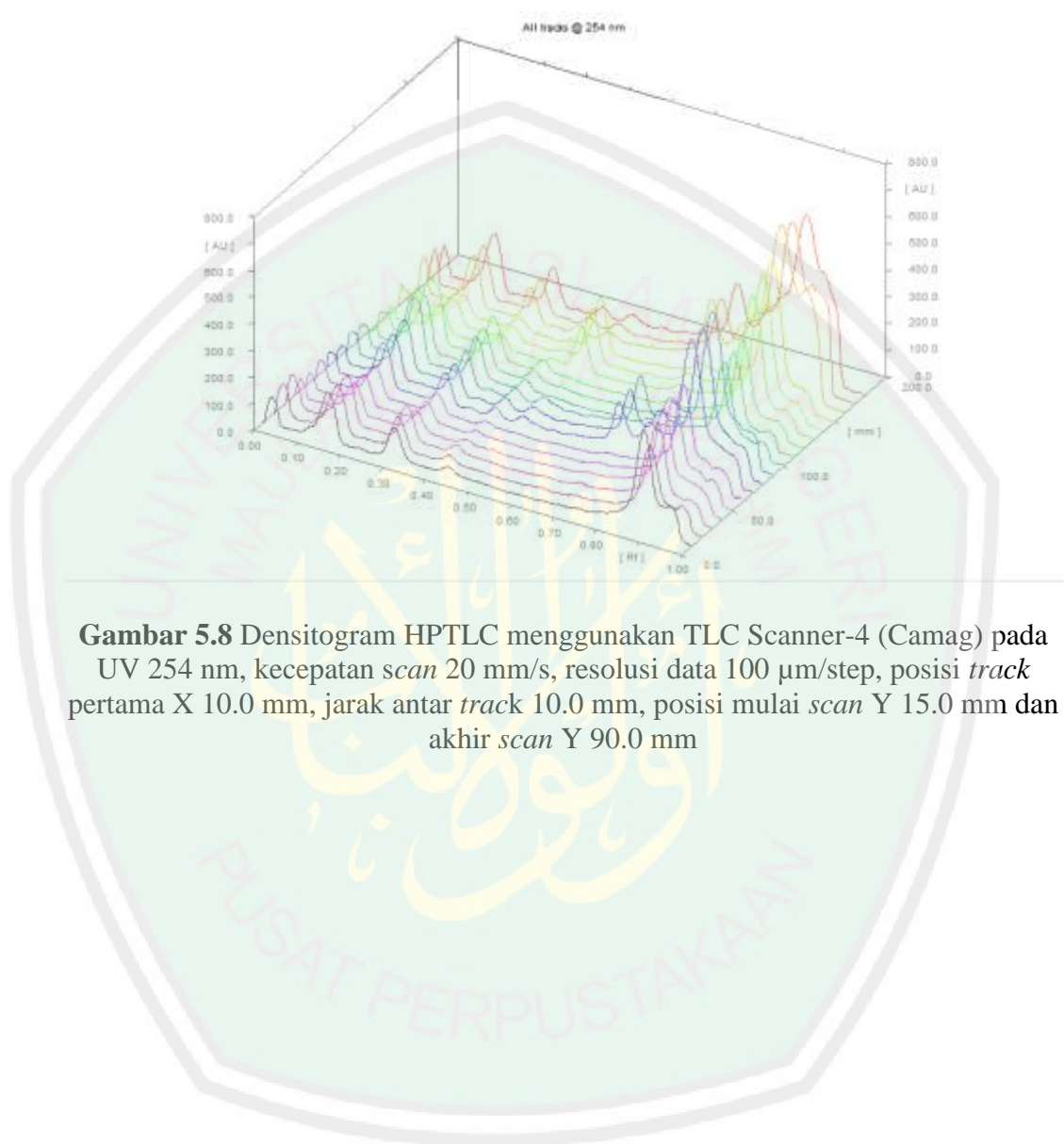




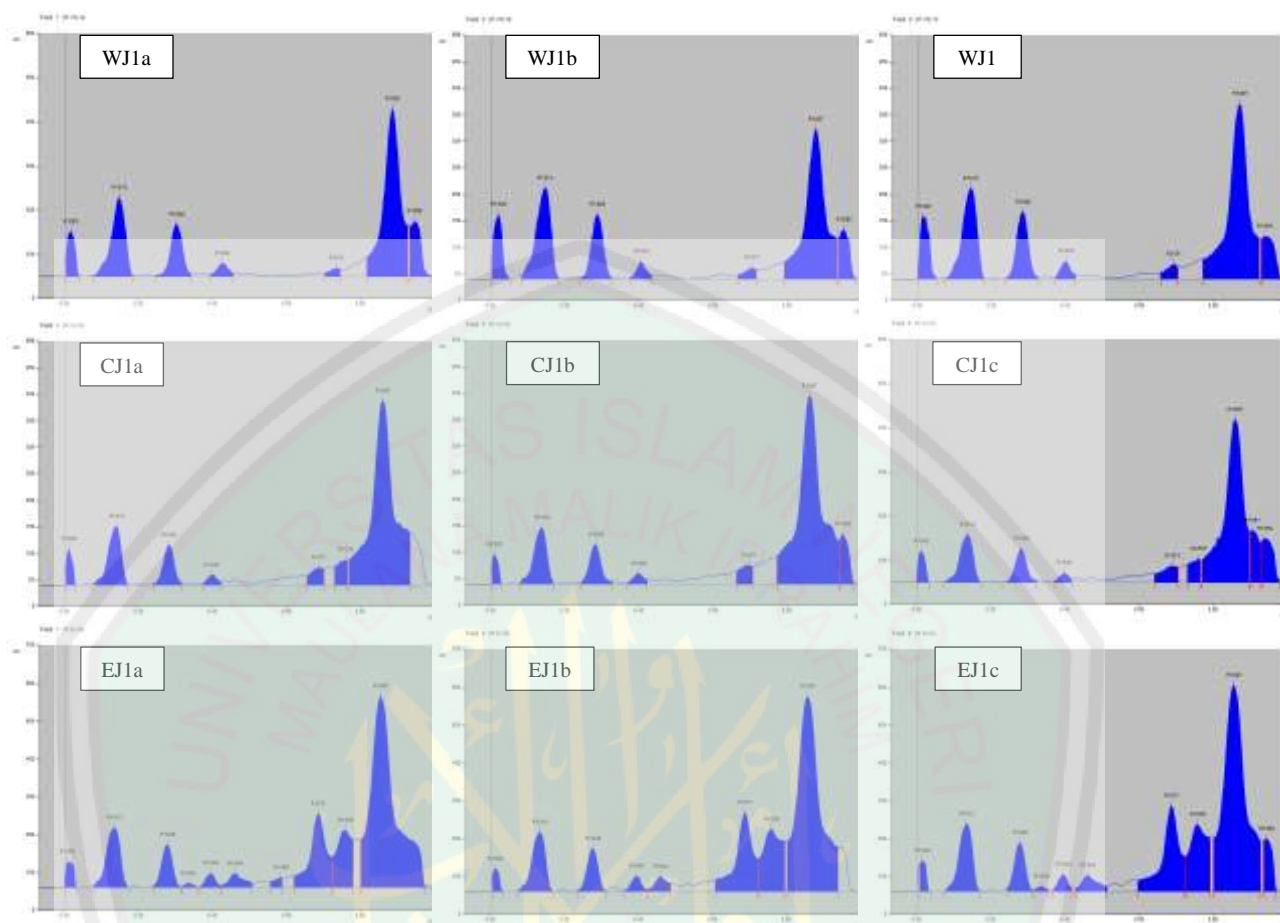
Gambar 5.7 Profil Metabolit Ekstrak Etanol *E. palmifolia*, sampel WJa-WJc (Jawa Barat), CJa-CJc (Jawa Tengah), EJa-EJc (Jawa Timur), EBa-EBc (Kalimantan Timur), CBa-CBc (Kalimantan Tengah), SBa-SBc (Kalimantan Tengah). Fase gerak kloroform: metanol (80:20 v/v) dan diderivatisasi H₂SO₄ 10% (1) UV 254 nm, (2) UV 366 nm, (3) lampu putih

.Pada gambar 5.7 hasil densitogram HPTLC menggunakan TLC *Scanner-4* (Camag) pada UV λ 254 nm secara keseluruhan dari sampel sebanyak 6 ekstrak *E. palmifolia* dengan 3 kali replikasi pada lokasi yang berbeda. *Track* 1-3: WJ1a-WJ1c (Jawa Barat), *track* 4-6: CJ1a-CJ1c (Jawa Tengah), *track* 7-9: EJ1a-EJ1c (Jawa

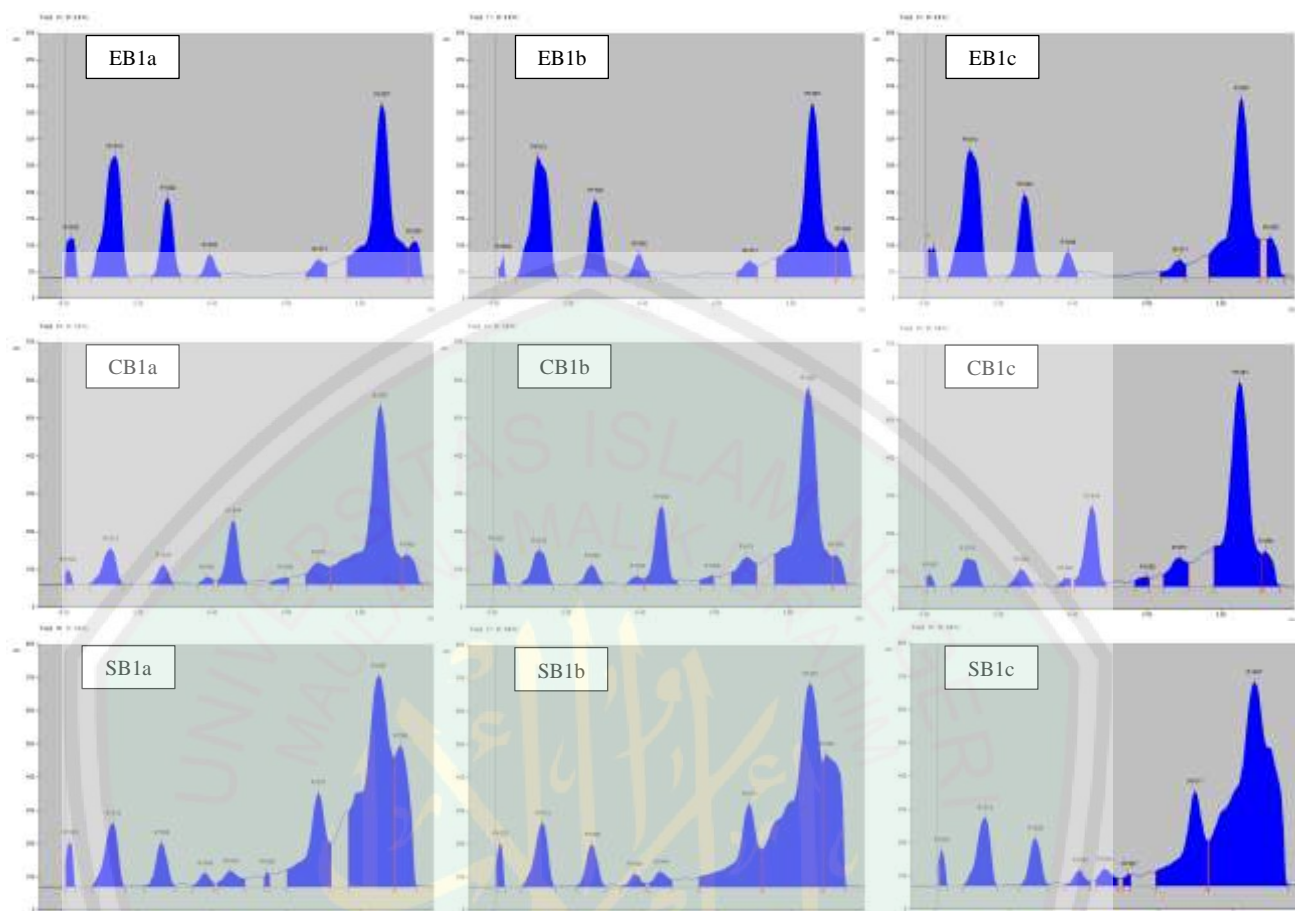
Timur), *track* 10-12: EB1a-EB1c (Kalimantan Timur), *track* 13-15: CB1a-CB1c (Kalimantan Tengah), dan *track* 16-18: SB1a-SB1c (Kalimantan Selatan).



Gambar 5.8 Densitogram HPTLC menggunakan TLC Scanner-4 (Camag) pada UV 254 nm, kecepatan *scan* 20 mm/s, resolusi data 100 $\mu\text{m}/\text{step}$, posisi *track* pertama X 10.0 mm, jarak antar *track* 10.0 mm, posisi mulai *scan* Y 15.0 mm dan akhir *scan* Y 90.0 mm



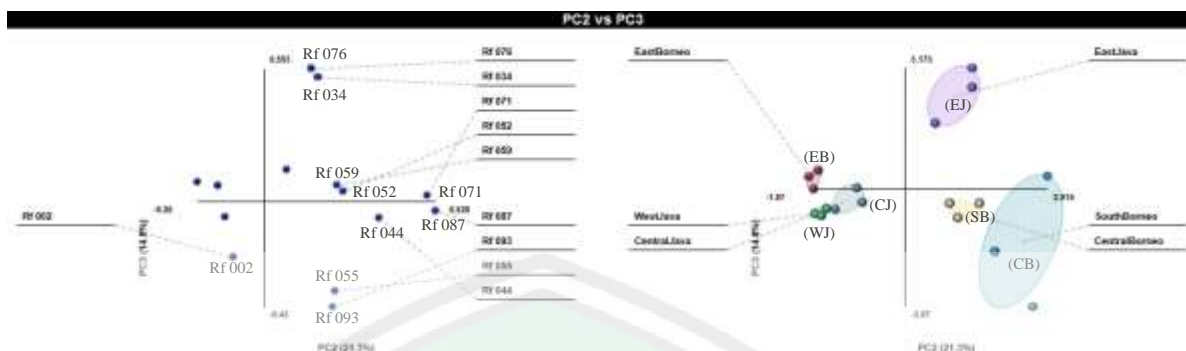
Gambar 5.9 (a) Kromatogram HPTLC menggunakan WinCATS *planar chromatography manager* v1.4.8.2012 pada 254 nm, track 1-3 (WJ), track 4-6 (CJ), track 7-9 (EJ)



Gambar 5.9 (b) Kromatogram HPTLC menggunakan WinCATS *planar chromatography manager* v1.4.8.2012 pada 254 nm, *track* 10-12 (EB), *track* 13-15 (CB), *track* 16-18 (SB)

Tabel 5.3 Data Kromatogram HPTLC dengan *Retention factor* (Rf) dan Luas Area dari semua metabolit pada 6 sampel

Substance & Activity	West Java	West Java	West Java	Central Java	Central Java	Central Java	East Java	East Java	East Java	East Borneo	East Borneo	East Borneo	Central Borneo	Central Borneo	Central Borneo	South Borneo	South Borneo	South Borneo	Candidate Marker	WL (nm)
	WJ1a	WJ1b	WJ1c	CJ1a	CJ1b	CJ1c	EJ1a	EJ1b	EJ1c	EB1a	EB1b	EB1c	CB1a	CB1b	CB1c	SB1a	SB1b	SB1c		
Rf 002	1814.5	2339.3	2501.1	862.2	711.0	1126.9	1160.1	803.8	1113.0	1434.4	320.1		412.1	1664.2	379.8	1690.8	1481.7	1187.2		
Rf 013	5855.4	5986.9	5888.9	3424.1	3282.5	3420.0	5207.0	4960.8	5681.2	8703.3	9337.6	9987.9	2990.6	2998.3	2770.8	5778.0	5739.1	6368.1	Yes	250
Rf 028	3357.3	3364.4	3500.2	1957.0	2033.1	2012.3	2902.8	2902.9	3299.9	3942.8	4136.5	4534.6	1277.1	1324.2	1249.4	3479.6	3345.0	3722.3	Yes	272
Rf 034							219.7		278.6											
Rf 040	842.6	756.8	807.2	452.7	507.4	499.7	864.4	947.9	1007.6	982.3	1084.7	1139.3	424.0	528.5	426.8	1016.7	985.8	1225.3	Yes	266
Rf 044							1318.5	1148.2	1584.4				4469.6	5822.4	6262.2	1789.5	1450.2	1630.2		
Rf 052																		523.1		
Rf 055																489.1				
Rf 059							522.2						521.0	531.2	656.5					
Rf 071	464.0	574.2	770.2	991.0	1072.8	1463.8	7382.4	8256.1	9186.4	1012.8	953.7	1137.2	2409.5	3006.0	3118.9	12353.3	12380.4	13616.3	Yes	279
Rf 076				1138.8		1327.3	5360.7	7233.1	7214.7											
Rf 087	15013.4	13354.0	15611.1	18663.7	19292.8	16838.7	29368.1	27495.3	28348.2	15137.7	14805.0	14914.4	23749.4	25133.0	25132.0	38973.2	40107.3	53714.3	Yes	249, 270, 399
Rf 091						2379.0														
Rf 093	3056.5	2220.3	2420.4		1971.8	2713.8			2741.4	1590.4	1814.6	1704.3	2229.6	1595.1	2153.7	13559.7	15437.8			

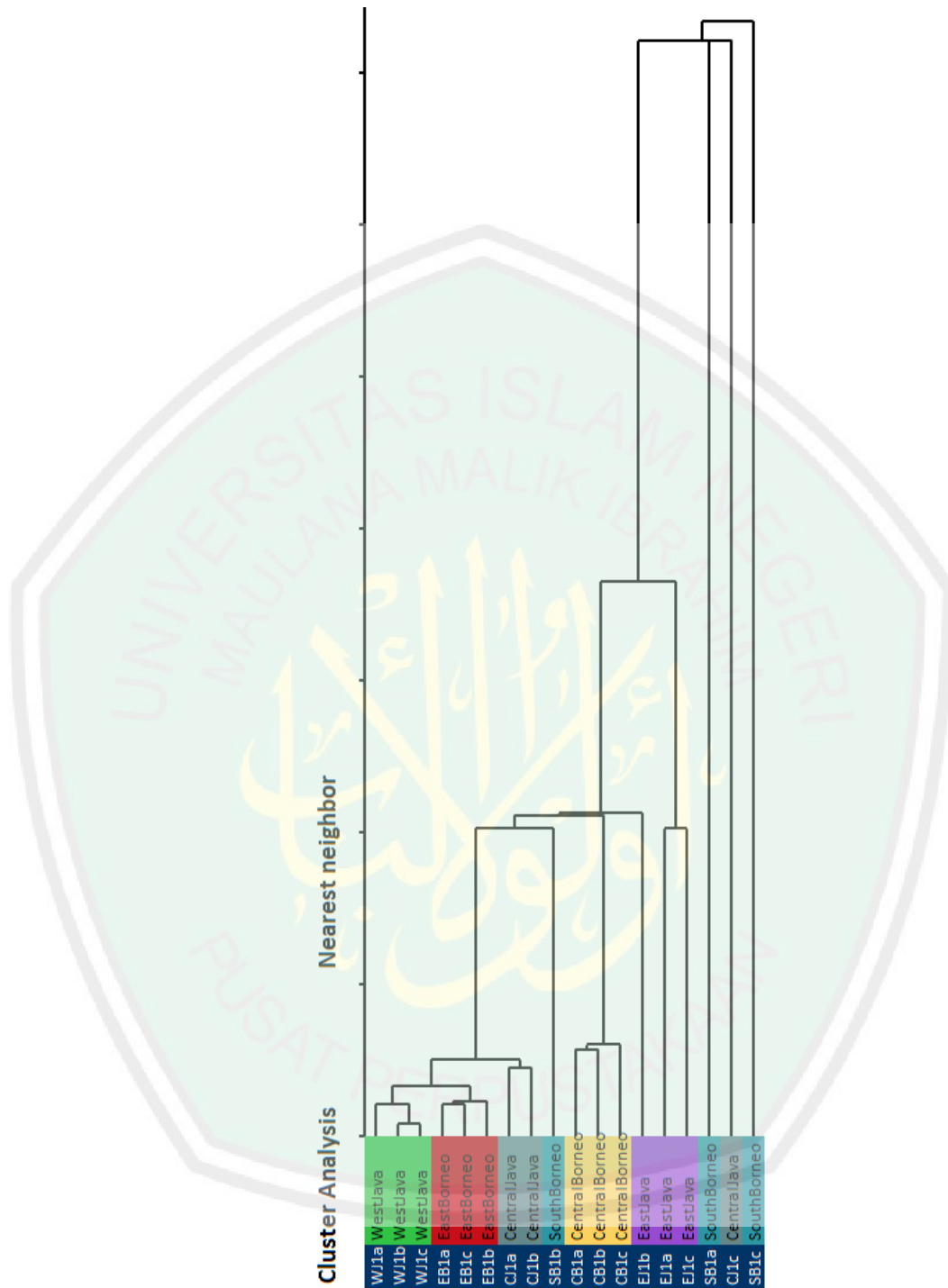


Gambar 5.10 (c) Profil metabolit *E. palmifolia* menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) antara *Loading Plot* (kiri) dan *Score Plot* (kanan) yang menjelaskan varian PC₁ (29,3%) vs PC₂ (21,3%)

5.1.9 Hierarchical Clustering Analysis (HCA)

Hierarchical Clustering Analysis (HCA) adalah salah satu metode untuk mengetahui kemiripan antar sampel dengan membaginya menjadi beberapa kelompok menurut perbedaan sifat dengan kelompok yang lain. Hasil dari HCA divisualisasikan dalam bentuk dendrogram.

Hasil dari HCA memiliki karakteristik yang berdekatan antara Jawa Barat (hijau) dan Kalimantan Timur (merah), Jawa Tengah (kelabu) dan Kalimantan Selatan (biru), Kalimantan Tengah (kuning) dan Jawa Timur (ungu). Dapat disimpulkan bahwa dari semua sampel yang diambil dari 6 lokasi yang berbeda mempunyai kemiripan dan terletak dalam satu *cluster* (Gambar 5.11).



Gambar 5.11 Dendrogram dari *Hierarchical Clustering Analysis* (HCA) yang menunjukkan kemiripan *E. palmifolia* dari Jawa Barat (Hijau), Kalimantan Timur (Merah), Jawa Tengah (Kuning) Kalimantan Tengah (Kuning) dan Jawa Timur (Ungu), Kalimantan Selatan (Biru)

5.2 Pembahasan

Penelitian tentang profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* dilakukan dengan metode HPTLC-Densitometri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit serta perbedaan dari masing-masing daerah pengambilan sampel. Manfaat yang diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai profil metabolit sehingga dapat digunakan sebagai dasar dari penentuan dosis, toksisitas, aktivitas dan identifikasi *adulteration*.

5.2.1 Optimasi Fase Gerak HPTLC

Sebelum dilakukan uji Profil Metabolit *E. palmifolia* secara HPTLC-Densitometri terlebih dahulu menentukan fase gerak yang akan digunakan. Optimasi fase gerak dilakukan untuk mendapatkan perbandingan eluen yang dapat memisahkan analit dengan optimal. Fase diam yang digunakan adalah Plat Silika Gel 60 F₂₅₄ berukuran 8x10 cm dengan batas atas berukuran 0,5 cm dan batas bawah berukuran 1 cm. Larutan sampel konsentrasi 10.000 ppm ditotolkan pada fase diam sebanyak 2 µl. Optimasi fase gerak menggunakan (a) Klorofom: Metanol (8:2 v/v) dan (b) N-Hexana: Etil Asetat (7:3 v/v). Karena dalam penentuan profil metabolit harus dilakukan dalam kondisi yang optimum sehingga fase gerak mampu membawa analit dan proses pemisahan berdasarkan koefisien partisi. Hasil eluasi kemudian dilihat dengan TLC *Visualizer* dan diderivatisasi menggunakan H₂SO₄ 10%. Plat Silika Gel 60 F₂₅₄ dipanaskan dengan *hotplate* 105°C selama 5 menit.

KLT merupakan analisis pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak. Daya serap fase gerak akan mempengaruhi kecepatan gerakan senyawa kimia yang akan dibawa

oleh fase gerak tergantung tingkat kepolarannya. Senyawa yang terikat kuat pada fase diam akan tereluasi paling lama dan mempunyai nilai *Retention factor* (Rf) yang kecil, sedangkan senyawa yang tidak terikat fase diam akan tereluasi paling lama dan mempunyai nilai Rf yang besar. Hal inilah yang menjadikan adanya pemisahan komponen kimia di dalam ekstrak (Alen, 2017). KLT dilakukan menggunakan 2 macam eluen dengan tingkat kepolaran berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda warna yang bagus. Setelah dilakukan eluasi fase gerak terpilih adalah kloroform: metanol (8:2 v/v) karena memberikan pemisahan terbaik dibandingkan dengan fase gerak n-heksana: etil asetat (7:3 v/v). Profil metabolit pada fase ini juga merata dengan $0.0 < Rf < 1.0$ mengindikasikan bahwa metabolit polar dan non polar terpisah dengan cukup baik. Rf dipengaruhi oleh interaksi senyawa terhadap fase diam dan fase gerak yang digunakan.

Hasil pemisahan senyawa pada ekstrak *E. palmifolia* dengan KLT pada fase gerak terpilih yaitu kloroform: metanol (8:2 v/v). Fase gerak tersebut merupakan fase gerak yang dominan bersifat non polar. Karena kloroform bersifat non polar dan lebih besar perbandingannya dari metanol. Pemisahan yang terjadi pada kondisi ini adalah fase gerak yang bersifat non polar dan fase diam yang bersifat polar. Analit yang bersifat polar akan tertahan pada fase diam, sedangkan analit yang bersifat non polar akan ikut terdistribusi dengan fase gerak. Sehingga nilai Rf yang rendah lebih polar dibanding dengan nilai Rf yang lebih tinggi. Noda yang dihasilkan pada pemisahan KLT memiliki jumlah noda yang berbeda pada setiap lokasi sampel. Bawang dayak dari Jawa Timur menghasilkan 7 noda, dari Jawa

Tengah 5 noda, dari Jawa Barat 5 noda, dari Kalimantan Timur 4 noda, dari Kalimantan Tengah 7 noda, dan dari Kalimantan Selatan 7 noda. Warna noda dari optimasi eluen adalah hijau kebiruan yang merupakan senyawa flavonoid dan noda berwarna biru diduga senyawa steroid. Kandungan senyawa flavonoid dan terpenoid juga dikuatkan oleh penelitian sebelumnya dimana mengandung senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin (Gayatri dkk, 2017). Perbedaan hasil yang diperoleh dari 6 lokasi yang berbeda dapat dipengaruhi oleh adanya faktor intrinsik dan ekstrinsik tumbuhan sehingga akan memberikan dampak perbedaan metabolit sekunder. Faktor intrinsik yang berpengaruh yaitu gen dan hormone sedangkan faktor ekstrinsik antara lain faktor lingkungan yang meliputi ketinggian tempat, pH tanah, intensitas cahaya, temperatur, kelembapan, curah hujan, tekstur tanah (Raharjeng, 2015).

5.2.2 Validasi Metode

Validasi metode dilakukan sebelum uji profil metabolit ekstrak *E. palmifolia*, hal ini bertujuan untuk mengetahui prosedur yang digunakan dalam penelitian sudah memenuhi persyaratan dalam parameter penelitian (Ambarwati dkk, 2013; Harmita, 2004) dan persyaratan untuk aplikasi analisis (USP XXXVII, 2014). Pada penelitian ini dilakukan uji pre-validasi yang meliputi uji stabilitas setelah penotolan pada plat HPTLC yang digunakan dan uji validasi pada profil metabolit menggunakan uji presisi.

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur

diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada uji presisi, sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dibanding konsentrasi 20.000 ppm lebih presisi pada konsentrasi 10.000 ppm. Profil analisis PCA untuk uji presisi (Gambar 5.4) menunjukkan kedekatan pengulangan pada konsentrasi 10.000 ppm lebih rapat dibanding dengan konsentrasi 20.000 ppm. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 20.000 ppm lebih pekat dibandingkan dengan konsentrasi 10.000 ppm sehingga viskositas relatif tinggi dan kemungkinan menempel pada pipa kapiler pada saat penotolan. Hasil tersebut menunjukkan kesesuaian antara hasil uji individual yang diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata pada prosedur yang diterapkan secara berulang. Uji presisi bertujuan memperoleh kedekatan hasil pengukuran suatu analit ketika metode analisis diulang (Ravichandran *et al.*, 2010). Hasil yang diperoleh pada uji presisi kemudian digunakan sebagai konsentrasi penotolan pada uji profil metabolit ekstrak *E. palmifolia*.

Uji stabilitas merupakan tahap prevalidasi untuk menunjukkan stabilitas yang cukup dalam waktu tertentu. Tahap tersebut menjadi tahap yang paling penting dalam melakukan penelitian (Yuwono dan Indriyanto, 2005). Stabilitas analit dalam matriks dan wadah hanya relevan pada matriks dan wadah tersebut, tidak dapat diganti dengan matriks dan wadah yang lain. Hasil dari uji stabilitas dapat dilihat pada gambar 5.5 bahwa sampel dapat terpisah dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa sampel dengan pengujian beberapa perbedaan waktu penotolan masih stabil sampai menit ke 90.

Hasil dari validasi metode mengidentifikasi bahwa untuk uji profil metabolit dengan metode HPTLC-Densitometri menggunakan penotolan dengan konsentrasi 10.000 ppm. Sedangkan untuk waktu pengerjaan dilakukan paling lama selama 90 menit setelah preparasi sampel untuk mendapatkan hasil yang maksimal.

5.2.3 Profil Metabolit Ekstrak *E. palmifolia*

Tujuan dari penentuan profil metabolit ini adalah untuk menentukan profil metabolit atau pola kromatogram dari ekstrak *E. palmifolia* yang memiliki aktifitas farmakologi ataupun ciri khusus pada suatu tanaman yang digunakan untuk kontrol kualitas. Profil metabolit juga digunakan sebagai analisis yang berhubungan dengan suatu metabolit yang memiliki jalur metabolisme maupun dengan klasifikasi suatu senyawa.

Penotolan sampel dengan konsentrasi 10.000 ppm dipilih karena memiliki presisi yang lebih baik daripada konsentrasi 20.000 ppm. Sampel ditotolkan pada plat Silica Gel 60 F₂₅₄ berukuran 20x10cm dilakukan dengan 3 kali replikasi masing-masing 5 µl menggunakan Liniomat-V *sample applicator* (Camag) dengan jarak antar pita 10 mm dan jarak dari pinggir kiri 15 mm, eluasi dengan *Automatic Developing Chamber* (Camag ADC-2).

Hasil profil metabolit pada plat di *scan* menggunakan TLC *Scanner-4* (Camag) dengan UV λ 254 nm dengan kecepatan scan 20 mm/s. Kemudian di visualisasi menggunakan TLC *visualizer* (Camag) dengan UV λ 254 dan 366 nm. Sebagai penampak noda digunakan H₂SO₄ 10%.

Profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda masih ada kemiripan. Walaupun sampel tersebut berbeda lingkungan tumbuhnya. Terdapat 145 metabolit yang terdeteksi menggunakan HPTLC-Densitometri, masing-masing daerah rata-rata mengandung 8 metabolit. Hasil dari tiap daerah dapat dilihat pada Tabel 5.4. Nilai Rf yang muncul pada tiap daerah berbeda, tetapi masih ada kemiripan yang beberapa Rf yang sama seperti Rf 002, 013, 028, 040, 071, 080, dan 093 terdapat pada semua lokasi. Sedangkan Rf 034 hanya terdapat pada daerah Jawa Timur; Rf 044 terdapat pada daerah Jawa Timur, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan; Rf 052 hanya ada di Kalimantan Selatan; Rf 055 terdapat pada daerah Kalimantan Selatan; Rf 059 terdapat pada 2 daerah yaitu Jawa Timur dan Kalimantan Tengah; Rf 091 hanya di daerah Jawa Tengah. Hasil profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* yang dapat dijadikan senyawa marker adalah pada Rf 013; Rf 028; Rf 040; Rf 071; Rf 087. Karena Rf tersebut terdapat pada semua daerah pengambilan sampel yang dapat dijadikan sebagai kandidat senyawa marker. Kandidat senyawa marker dapat digunakan sebagai penanda keberadaan tanaman didalam formulasi campuran.

5.2.4 Principal Component Analysis (PCA)

PCA yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kedekatan antar sampel data keseluruhan dari profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* yang dilakukan. Prinsip dari metode PCA adalah melakukan pengurangan terhadap variabel-variabel yang mempunyai korelasi (Miller, 2005). Data yang beragam lebih efisien dilihat menggunakan PCA karena dapat mengurangi informasi dari

banyak variabel menjadi 2 atau 3 komponen utama (Taylor, 2002). Dari hasil analisis, ketiga komponen memiliki *eigenvalue* lebih dari satu. *Eigenvalue* adalah total variasi yang dijelaskan oleh setiap faktor. Faktor pertama memiliki *eigenvalue* paling besar yaitu sebesar 5,27, dimana pada faktor pertama ini keragaman data sangat besar. Sedangkan *eigenvalue* faktor kedua dan ketiga masing-masing adalah 3,83 dan 2,66.

Proyeksi sampel terhadap variabel baru ditunjukkan pada score plot. Score plot yang biasa digunakan adalah score plot pada PC pertama dan kedua. Karena memiliki variansi terbanyak pada data. PC 1 merupakan kombinasi dari banyak variabel asli yang memiliki keragaman paling banyak diantara sampel. PC 2 diperoleh untuk keragaman yang belum diterangkan pada PC 1. Tetapi untuk hasil ini menggunakan ketiga PC. Pada gambar 5.9 PCA menunjukkan visualisasi *loading plot* (kiri) dan *score plot* (kanan). Score plot adalah menggambarkan sifat-sifat subjek (sampel) sedangkan *loading plot* adalah gambaran hubungan (korelasi) antara variabel-variabel dalam setiap komponen. Terlihat bahwa presentase varian PC 1 sebesar 29,3%, presentase PC 2 sebesar 21.3%, dan presentase varian PC 3 sebesar 14,8%.

Hasil dari *Principal Component Analysis* (PCA) ekstrak *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan terjadi pemisahan antar *cluster*. Hal ini terjadi karena ada ciri khas metabolit dari masing-masing lokasi sampel pada hasil *score plot* (kiri). Jarak antara titik variabel menunjukkan hubungan diantara variabel. Interpretasi titik-titik sampel sama dengan interpretasi

variabel. Hubungan diantara dua titik sampel dapat dilihat dengan membandingkan jaraknya dengan titik-titik dari variabel. Titik-titik sampel yang berdekatan menunjukkan bahwa sampel-sampel tersebut sama, sedangkan titik-titik sampel yang berjauhan menunjukkan hal yang sebaliknya. Titik-titik sampel yang terdapat dalam satu kelompok adalah sama satu sama lain dan berbeda dengan titik-titik sampel yang terdapat dalam kelompok lain (Esbensen *et al.*, 1994). *Cluster* berwarna hijau dan merah yaitu Jawa Barat dan Kalimantan Timur pada hasil *score plot* menunjukkan kemiripan *metabolite fingerprinting*. Karena keduanya pada hasil PC1, PC2 maupun PC3 berdekatan.

Hasil *loading plot* (kanan) terdapat 3 metabolit pembentuk *cluster* yang berpengaruh signifikan. Karena terdapat disetiap PC, baik PC1, PC2, maupun PC3. Metabolit tersebut terdapat pada Rf 055, Rf 059, dan Rf 044.

Sampel yang berasal dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan mempunyai kemiripan profil metabolit. Pada hasil *Principal Component Analysis* (PCA) diketahui bahwa senyawa yang berpengaruh terdapat pada Rf 055, 059 dan 044.

Analisa akan dilanjutkan dengan *Hierarchical Clustering Analysis* (HCA) untuk mengetahui *cluster* berdasarkan kemiripan maupun perbedaan antar sampel dari 6 lokasi yang berbeda setelah dilakukan analisa *Principal Component Analysis* (PCA).

5.2.5 Hierarchical Clustering Analysis (HCA)

Kemiripan antar sampel dapat dilihat dari kemiripan antar kelompok (kelas). Metode untuk membagi sekelompok objek kedalam suatu kelompok sehingga objek-objek yang sejenis akan berada dalam kelompok yang sama merupakan metode analisis kluster (Rohman, 2014).

Dendogram dari *Hierarchical Clustering Analysis* (HCA) yang menunjukkan adanya kedekatan antar objek yang bisa dijadikan panduan untuk melihat objek mana yang memiliki kemiripan karakteristik yang sama. Objek dengan karakteristik sama akan digambarkan dengan posisi yang berdekatan. Semakin dekat posisi antar objek maka kemiripan karakteristik lebih besar. Sedangkan semakin jauh posisi antar objek maka tingkat kemiripan lebih rendah. *Cluster* yang diperoleh terbentuk dari beberapa sampel.

Hasil HCA menunjukkan bahwa *East Borneo* memiliki kemiripan dengan *West Java* dan *Central Java*, *Central Borneo* memiliki kemiripan dengan *South Borneo* dan *East Java*. Hal ini disebabkan karena dari ke-6 lokasi pengambilan sampel yang berbeda masih terdapat kemiripan metabolit yang berada pada *E. palmifolia*.

Hasil profil metabolit bila dihubungkan dengan karakteristik pengambilan sampel umbi *E. palmifolia* jenis tanah pada ke 6 daerah memiliki kemiripan, seperti Jawa Barat dengan Kalimantan Timur memiliki jenis tanah aluvial dan iklim yang sama. Jawa Tengah dan Kalimantan Selatan memiliki jenis tanah dan iklim yang sama yaitu aluvial. Sedangkan Kalimantan Tengah dan Jawa Timur memiliki jenis tanah yang sama yaitu litosol.

Tabel 5.4 Karakteristik Lokasi Pengambilan Sampel Umbi *E. palmifolia*

No.	Lokasi	Ketinggian (mdpl)	Suhu rata-rata (°C)	Curah hujan (mm)	Iklim	Jenis tanah
1.	Desa Srengat, Kecamatan Srengat, Kabupaten Blitar, Jawa Timur	127	25,0	1819	Aw	Regosol, Litosol
2.	Kelurahan Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah	1221	19,1	3299	Am	Aluvial Kelabu, Grumosol Kelabu Tua
3.	Desa Sukaharja, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat	668	24,0	3454	Af	Latosol, Aluvial, Regosol, Podsolik, dan Andosol
4.	Kelurahan Karang Rejo, Kecamatan Balikpapan Tengah, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur	29	26,4	2376	Af	Aluvial, Podsolik, Merah Kuning, Tanah Pasir
5.	Kelurahan Baru, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	10	26,8	2765	Af	Latosol, Podsolik Merah Kuning, dan Aluvial
6.	Kecamatan Banjarbaru, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan	31	27,2	2627	Af	Aluvial

Sumber: www.elevationmap.net dan www.id-climate.data.org (8 januari 2017)

5.2.6 Korelasi Hasil Penelitian Berdasarkan Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan bumi beserta isinya dengan begitu sempurna. Keanekaragaman tumbuhan yang diciptakan mempunyai manfaat masing-masing tanpa ada yang sia-sia. Hal tersebut dimaksudkan agar manusia dapat mengambil manfaat untuk kebaikan. Begitu banyak tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dan

dikembangkan sebagai salah satu bahan untuk obat herbal, salah satunya adalah Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT yang terdapat dalam surat Al-An'am ayat 141 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَعَآئُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ۝١٤١

Artinya:

dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.

(Q.S. Al-An'am: 141)

Ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menumbuhkan berbagai macam tanaman dengan berbagai manfaat tidak ada yang sia-sia, setiap tumbuhan memiliki kandungan masing-masing meskipun sama bentuk maupun warnanya. Hal ini sesuai dengan tafsir Quraish Shihab (2002) bahwa Allah SWT menciptakan berbagai kebun yang ditanami maupun tidak. Tumbuhan yang ditumbuhkan memiliki warna dan bentuk yang berbeda. Padahal ditanam di atas tanah yang sama dan disiram dengan air yang sama. Hal tersebut menunjukkan kekuasaan Allah SWT.

E. palmifolia dari 6 lokasi yang berbeda terdapat perbedaan profil metabolit, meskipun tanaman yang digunakan sama. Tetapi perbedaan lokasi tumbuh

mempengaruhi profil metabolit pada masing-masing daerah. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT yang terdapat dalam surat An-Nahl ayat 13 yang berbunyi:

وَمَا ذَرَأًا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ۝۱۳

Artinya:

dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.

(Q.S. An-Nahl: 13)

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai macam binatang, tumbuhan dan benda dengan berlainan bentuk. Berbagai macam bentuk tersebut memiliki manfaat yang berbeda juga. Walaupun dengan bentuk yang sama tetapi ada perbedaan yang terkandung. Seperti profil metabolit ekstrak *E. palmifolia* pada masing-masing daerah di 6 lokasi yang berbeda terdapat perbedaan profil metabolit karena perbedaan lokasi tumbuh. Perbedaan kondisi tanah dan lingkungan tempat tumbuh akan berpengaruh, sehingga *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda dapat dipilih yang terbaik dan digunakan untuk bahan baku obat herbal. Hal ini sesuai dengan tafsir dari Quraish Shihab (2002) bahwa Allah SWT menciptakan bumi seisinya dengan beraneka warna, bentuk dan cirinya untuk dimanfaatkan. Sesungguhnya yang demikian itu adalah kekuasaan Allah SWT.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Profil metabolit ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Kecamatan Srengat Blitar (Jawa Timur), Kecamatan Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Kecamatan Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Kecamatan Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Kecamatan Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Kecamatan Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan) yang dapat digunakan sebagai kandidat senyawa marker adalah pada Rf 013, Rf 028, Rf 040, Rf 071, Rf 080.
2. Terdapat perbedaan profil metabolit antara ekstrak etanol 96% umbi *E. palmifolia* dari 6 lokasi yang berbeda yaitu Kecamatan Srengat Blitar (Jawa Timur), Kecamatan Tawangmangu Karanganyar (Jawa Tengah), Kecamatan Cijeruk Bogor (Jawa Barat), Kecamatan Balikpapan Balikpapan (Kalimantan Timur), Kecamatan Arut Selatan Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah), Kecamatan Banjarbaru Banjarbaru (Kalimantan Selatan) dengan metode HPTLC-Densitometri

6.2 Saran

1. Penentuan profil metabolit untuk menemukan senyawa marker perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan UPLC-QTOF-MS dan NMR.
2. Pengujian aktivitas ekstrak *E. palmifolia* yang memiliki nilai IC_{50} tinggi pada daerah tertentu dapat digunakan sebagai bahan baku obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Alen, Y., Agresa, F.L., Yuliandra, Y. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperuria Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycaldium* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 3 (2).
- Alphonso, P., Saraf, A. 2012. Chemical Profile Studies on the Secondary Metabolites of Medically Important Plant *Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) DC using HPTLC. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. S1293.
- Amanda, F.R. 2014. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Ambarwati., Ariyani, N., Palupi, M.F. 2013. Validasi Metode Spektrofotometri pada Uji Kadar Sediaan Injeksi Obat Hewan Enrofloksasin. *Jurnal Sain Veteriner*. 31 (2).
- Ankli, A., Reich, E., Steiner, M. 2008. Rapid high performance thin layer chromatographic method for detection of 5% adulteration of black cohosh with *Cimicifuga foetida*, *C. heracleifolia*, or *C. dahurica*, or *C. americana*. *Journal of AOAC International*. 91:1257-1264.
- Ardianti, A., Kusnadi, J. 2014. Ekstraksi Antibakteri dari Daun Berenuk (*Crescentia cujute* Linn.) Menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.2(2): 28-35.
- Babula, V., Mikelova, R., Patesil, D., Adam, V., Kizek, R., Havel, L., Sladky, Z. 2005. Simultaneous Determination of 1,4-Napthoquinone, Lawsone, Juglone and Plumbagin by Liquid Chromatography with UV Detection. *Biomed paper*. 149 (1).
- Backer, C.A., Brink, B.V.D., 1965. *Flora of Java*. Vol II. Netherland: NVP Noordhoff.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika, 5 Januari 2017. *Curah Hujan*. www.bmkg.go.id
- Bouket, A.C. 2014. Hierarchical Cluster Analysis of *Criconemoids* species (Nematoda: Criconematidae), with a Proposal for Unknown Spisies Identification. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*.47 (1).
- BPOM RI. 2005. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: HK.00.05.41.1384 tentang Kriteria dan Tata Laksana*

Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

BPOM RI. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.* Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.

Brunetti, C., George, R.M., Tattini, M., Field, K., Davey, M.P. 2013. Metabolomics in Plant Environmental Physiology. *Journal of Experimental Botany*. 64 (13): 4011-4020.

Dalimonthe, S.L., Wulansari, R., Rezamela, E. 2016. Dampak Perubahan Iklim Terhadap Produktivitas Pucuk Teh pada Berbagai Ketinggian Tempat. *Jurnal Litri*. E-ISSN 2528-6870.

Departemen Kesehatan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

Departemen Kesehatan RI. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dhalwal, K., Shinde, V.M., Namdeo, A.G., Mahadik. 2008. Antioxidant Profile and HPTLC-Densitometric Analysys of Umbelliferone and Psoralen in *Aegle marmelos*. *Pharmaceutical Biology*. 46 (4).

Elevationmap, 8 Januari 2017. *Elevationmap*. www.elevationmap.net

Esatami, H. 2018. Bacterial Medicated Alleviation of Heavy Metal Stress and Decreased Accumulation of Metals in Plant Tissues: Mechanism and Future Prospect. *Ecotoxicology and Enviromental Safety*. 147:175-191.

Fan, X. H., Cheng, Y. Y., Ye, Z. L., Lin, R. C. 2014. Glycosylflavonoids from *Cecropia pachystachya* Trecul are quorum sensing inhibitors. *Phytomedicine* 21: 670-675.

Faiziah, F., Wulandari, R., Rezamela E. 2018. Pengaruh Pemberian Pupuk Mikro Zn dan Cu serta Pupuk Tanah terhadap Perkembangan *Empoasca* sp. pada Areal Tanaman Teh. *Jurnal Agrikultua*. 29 (1).

Febrinda, A.E., Astawan, Made, Wresdiyanti, Tutik., Yuliana, N.D. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. 24 (2).

- Fiehn, O. 2002. Metabolomics-The Link Between Genotypes and Phenotypes. *Plant Molecular Biology*. 48: 155-171.
- Galingging, R.Y. 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan* 15 (3): 2-4.
- Gayatri, P.R., Sudjarwo, S.A., I'tishom, R. 2017. Potensi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine amreicana* Merr.) sebagai Protektor Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Balb/C yang di Induksi Timbal Asetat. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19 (3).
- Hall, D. Robbert. 2006. Plant Metabolomics: From Holistic Hope, to Hype, to Hot Topic. *New Phytologist*. 169.
- Hara, H., Maruyama, N., Yamashita, S. 1997. A Novel New Napthoquinones From The Bulb Of *Eleutherine Americana*. *Chem pharm bull*. 45:1724-1716.
- Handayani, P.A., Munawaroh, S. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 2 (1).
- Handayani, H., Sriherfyna, F.H., Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4 (1).
- Hartuti, Sri dan Supardan M.D. 2013. Optimasi Ekstraksi Gelombang Ultrasonik untuk Produksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Agritech*. 33 (4).
- Hendro M.G., Adji T.B., Setiawan, N.A. 2012. Penggunaan Metodologi Analisa Komponen Utama (PCA) untuk Mereduksi Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Penyakit Jantung Koroner.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1 (3).
- Ichzan, A.M. 2014. Pemrofilan Kandungan Metabolit Sekunder Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa dan Kemometrik. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Id Climate Data, 8 Januari 2017. *Data climate*. www.id.climate-data.org
- Indrawati, N.L., Razimin. 2013. *Bawang Dayak: Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.

- Insanu, M., Kusmardiyani, S., Hartati, R. 2014. Recent Studies on Pythochemicals and Pharmacologi Effect of *Eleutherine americana* Merr. *Procedia Chemistry*. 13:221-227.
- Irfan, M. 2013. Respon Bawang Merah (*Allium ascolanicum* L) Terhadap Zat Pengatur Tumbuh dan Unsur Hara. *Jurnal Agroteknologi*. Vol 3. No 2.
- Isnawati, A.R.M., Alegantina, S. 2006. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etabol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (1)) dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*. 16 (2).
- Kemendagri, 4 Januari 2017. *Data Climate*. www.id.climate-data.org
- Kenkel, J. 2003. *Analytical Chemistry for Technicians*. Boca Raton: Lewis Press.
- Kennedy, D.O., Wightman, E.L. 2011. Herbal Extract and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function. *Advances in Nutrition. An International Review Journal*. Vol 2. P 32-50.
- Khairil, M., Dewantara, I., Widiastuti, T. 2015. Studi Keanekaragaman Jenis Kantong Semar (*Nepenthes* Sp) di Kawasan Hutan Bukit Beluan Kecamatan Hulu Gurung. *Jurnal Hutan Lestari*. 3 (2).
- Khan, W., Chester, K., Anjum, V., Wasim, A., Sayeed, A. Chromatographic Profiling og Pancharishta at Different Satges of its Development using HPTLC, HPLC, GC-MS and UPLC-MS. *Phytochemistry Letters*.
- Li, S., Han, Q., Qiao, C., Song, J., Lung, C.C., Xu, H. 2008. Chemica; Markers for the Quality Control of Herbal Medicines: an Overview. *Chinese Medicine*. 3 (7).
- Lindani, A. 2016. Perbandingan Pengukuran Kadar Air Metode *Moisture Analyzer* dengan Metode Oven pada Produk Biskuit *Sandwich Cookies* di PT Mondelez Indonesia anufacturing (Skripsi). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Maraschin, M., and R. Verpoorte. 1999. Secondary Metabolism engineering. Optimization of Secondary Metabolite Production in Plant Cell Cultures. *Biotechol. Sci. Dev*. 10:24-28.
- Mukherjee, P.K., Wahile, A., Kaumar, V., Rai, S., Mukherjee, K., Suha, B.P. 2006. Marker Profiling of Botanicals Used for Hepatoprotection in Indian System of Medicine. *Drug Information Journal*. Vol 40:131-139.
- Nagajoyti, P.C., Lee, K.D., Sreekant, T.V.M. 2010. Heavy Metals, Occurrence and Toxicity for Plants: a Review *Environ Chem Lett*. 8:199-216.

- Novak, I., Janeiro, P., Seruga, M., Oliveira-Brett A.M. 2008. Ultrasound Extract Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography With Electrochemical Detection. *Analytica Chimica Acta*. 630.
- Padhi, L., Panda, S.K. 2015. Antibacterial Activity of *Eleutherine bulbosa* Against Multidrug-Resistant Bacteria. *Journal of Acute Medicine*. xx:1-9.
- Pemerintah Provinsi Jawa Barat, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Jawa Barat*. www.jabarprov.go.id
- Pemerintah Provinsi Jawa Tengah, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Jawa Tengah*. www.jatengprov.go.id
- Pemerintah Provinsi Jawa Timur, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Jawa Timur*. www.jatimprov.go.id
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Tengah, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Kalimantan Tengah*. www.kaltengprov.go.id
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Kalimantan Timur*. www.kaltim.go.id
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Selatan, 4 Januari 2017. *Data Pemerintah Kalimantan Selatan*. www.kalselgprov.go.id
- Pereira C.A.M., Yariwake J.H., Lancis F.M., Wauters J.N., Tots M., Angenot L. 2004. A HPTLC Densitometric Determination of Flavonoids from *Passiflora alata*, *P. adulis*, *P. incarnaya* and *P. caerulea* and Comparison with HPLC Method. *Phytochemical Analysis*. 15:241-248.
- Pine, A., Alam, G., Attamin, F. 2011. Standarisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.)) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. *JF FKIK UINAM*. 3 (3).
- Prasetyo, A.W., Wignyanto, Mulyadi A.F. 2015. Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*, Rosc.) dengan Metode Ekstraksi Sokletasi (Kajian Rasio Bahan dengan Pelarut dan Jumlah Sirkulasi Ekstraksi yang paling Efisien). *Jurnal Industria*.
- Prihmantoro, H. dan Y. H. Indriani. 2001. *Hidroponik Sayuran Semusim*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pudumo J., Chaudhary S. K., Chen W., Viljoen A., Vermaak I., Veale, C. G. L. 2018. HPTLC fingerprinting of *Croton gratissimus* leaf extract Preparative HPLC-MS-isolated marker compounds. *South African Journal of Botany* 114.

- Puspadewi, R., Adirestuti, P., Menawati, R. 2013. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 1 (1).
- Raharjeng, A.R.P. 2015. Pengaruh Faktor Abiotik Terhadap Hubungan Kekebalan Tanaman *Sansevieria trifasciata* L.. *Jurnal Biota*. 1 (1).
- Ramadhan, A.E., Phaza H.A. 2010 Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu dan Jumlah Stage pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rose) Secara Batch (Skripsi). Semarang: Universitas Diponegoro.
- Ravichandran, V., S. Shalini., M. Sundram K., Rajak, Harish. 2010. Validation of Analytical Methods – Strategi & Importance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2 (3).
- Reich, E., Schibli, A. 2006. *High Performance Thin Layer Chromatography for the Analysis of Medical Plants*. New York: Thieme Medical Publisher.
- Rohman, A. 2014. *Statistika dan Kemometrika Dasar dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ruhnayat, A. 2007. Penentuan Kebutuhan Pokok Unsur Hara N, P, K untuk Pertumbuhan Tanaman Panili (*Vanili planifolia* Andrews). *Bul. Littro*. 17 (1).
- Ruiz, R.P. 2005. *Gravimetric Determination of Water by Drying and Weighting*. California: John Wiley & Sohn, Inc.
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Tanaman Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr.) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1 (2).
- Saifudin, A., Rahayu., Teruna. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Edisi Pertama. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sek, L., Porter, C.J.H., Charman, W.N. 2001. Characteristic and Quantification of Medium Chain and Long Chain Triglycerides and their In Vitro Digestion Products, by HPTLC coupled with In Situ Densitometric Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 25:651-661.
- Septiani, R. 2012. Pemrofilan Metabolit Rimpang Temulawak Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sharon, N., Anam, S., Yuliet. 2013. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Hutan (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). *Online Journal of Natural Science*. 2 (3).

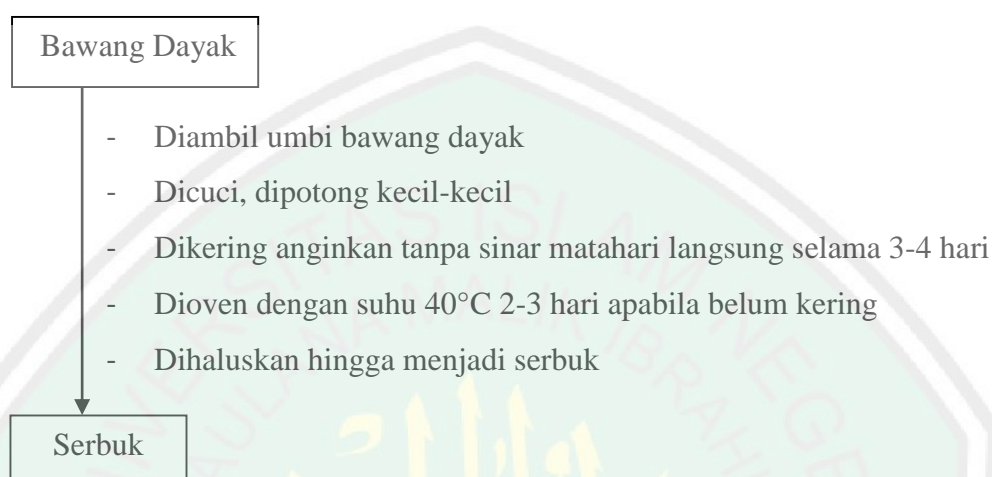
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah; pesan dan keserasian Al-Qur'an volume 11 dan 15*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sie, J.O. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcia mangostana* Linn) Hasil Pengadukan dan Reflux. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2 (1).
- Stahis, D., Myron, D. 2009. Principal Component Analysis of Precipitation in Thessaly Region (Central Greece). *Global NEST Journal*. 11 (4): 467-476.
- Supriadi, H., Randriani, E., Towaha, J. 2016. Korelasi antara Ketinggian Tempat, Sifat Kimia Tana, dan Mutu Fisik Biji Kopi Arabika di Dataran Tinggi Garut. *J. TDIP*. 3 (1).
- Tiwari, P., B. Kumar., M., Kaur., H., Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internasional Pharmaceutical Science*. Vol 1. Issue 1.
- Uarrota, V.G., Severino, R.B., Maraschin M. 2011. Maize Landraces (*Zea mays* L.): A New Prospective Source for Secondary Metabolite Production. *International Journal of Agricultural Research*. 6 (3): 218-226.
- Ulfah, D., Krasa, L.A. 2007. Pengaruh Tempat Tumbuh dan Lama Penyulingan Terhadap Rendemen Minyak Atsiri Rambu Atap (*Baeckea frutescens* L) dengan Penyulingan Metode Perebusan. 2 (21).
- United States Pharmacopeial Convention. 2014. *The United States Pharmacopeia 37-National Formulary 32 (USP37-NF32)*. 37th Edition. Rockville USA: United States Pharmacopeial Convention Inc.
- Van Beusekom A.E., Gonzales, G., Rivera, M.M. 2014. Short-Term Precipitation and Temperature Trends along an Elevation Gradient in Northeastern Puerto Rico. *Earth Interaction*. 19 (3).
- Verma, N., Shukla, S. 2015. Impact of Various Factors Responsible for Fluctuations in Plant Secondary Metabolite. *J App Res on Med Ar Plants*. 2 (4):105-113.
- Vinatoru, M. 2001. An Overview of The Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*. 8:301-313.
- Widjanarko, S.B., Sutrisno, A., Faridah, A. 2011. Efek Hidrogen Peroksida Terhadap Sifat Fisiko-Kimia Tepung Porang (*Amorphophallus oncophyllus*) dengan Metode Maserasi dan Ultrasonik. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 12 (3).

- Wijaya, H., Novitasari., Jubaidah, S. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Ramai Laut. *Jurnal Ilmiah Manunting*. 4 (1).
- Windrawati, R., Yudono, P., Indradewa, D., Utami, S.N.H. 2017. Sifat dan Karakteristik Tanah yang Mempengaruhi Pertumbuhan Tanaman Aren (*Arenga pinnata* (Wurumb.) Merr.). *Jurnal Pertanian Agros*. 19 (1).
- Wolfender, J.L., Marti, G., Thomas, A., Bertrand, S. 2014. Current Approach and Challenges for the Metabolite Profiling of Complex Natural Extracts. *Journal of Chromatography A*. 138-164.
- Yuliana, N.D., Khatib, A., Choi, Y.H., Verpoorte, R. 2011. Metabolomics for Bioactivity Assessment of Natural Products. *Phytother*. 25: 157-169.
- Yuswi, N.C.R. 2017. Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5 (1).
- Yuwono, M., Indriyanto, G. 2005. Validation of Chromatographic Method of Analysis. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. Vol 32: 243-259.

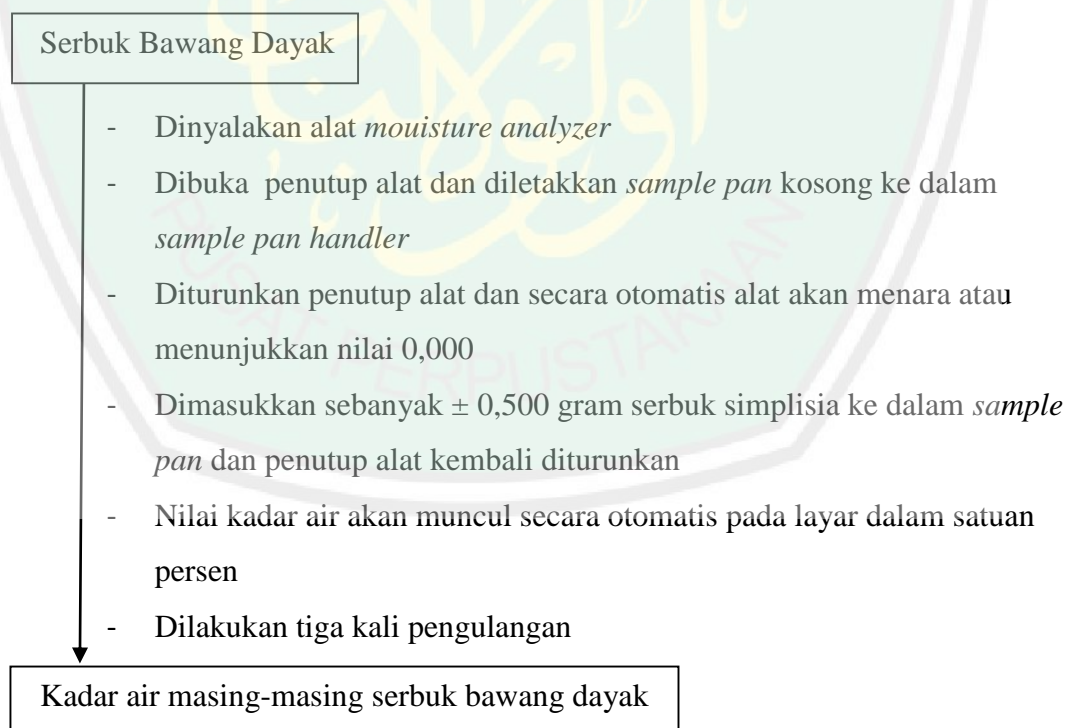
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

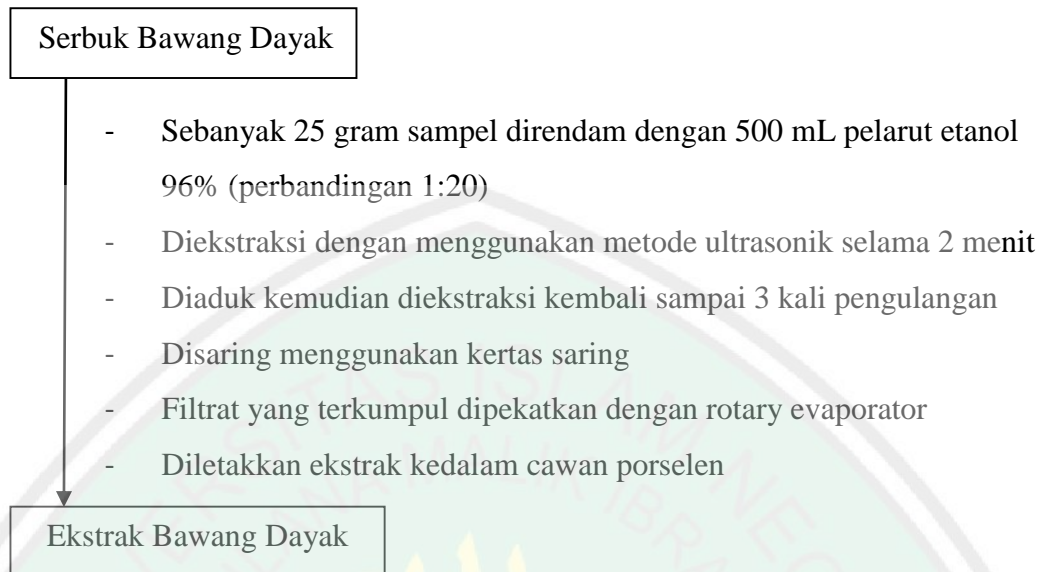
L.1.1 Preparasi Sampel



L.1.2 Analisis Kadar Air

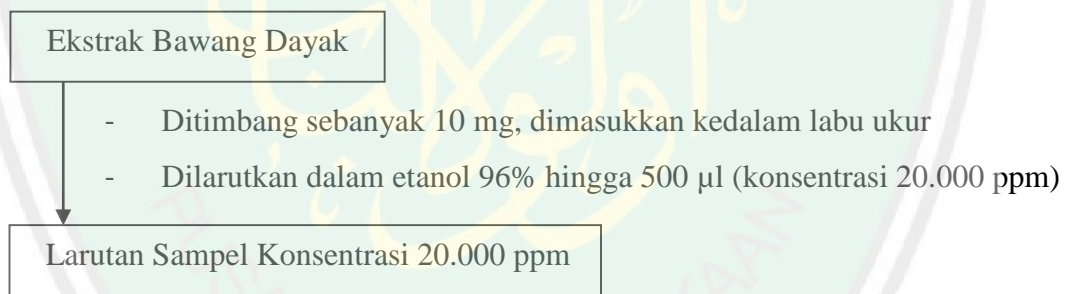


L.1.3 Ekstraksi

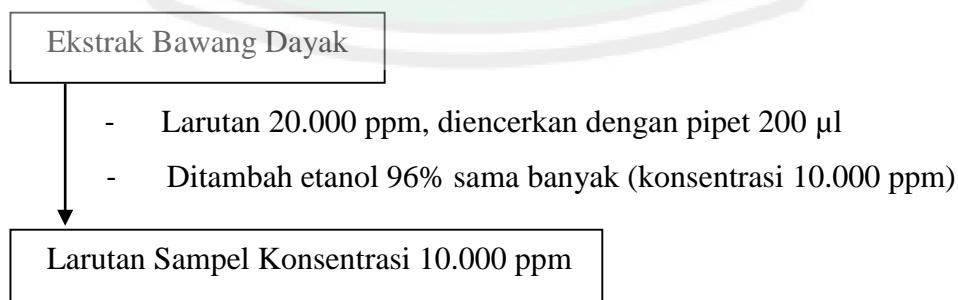


L.1.4 Validasi Metode

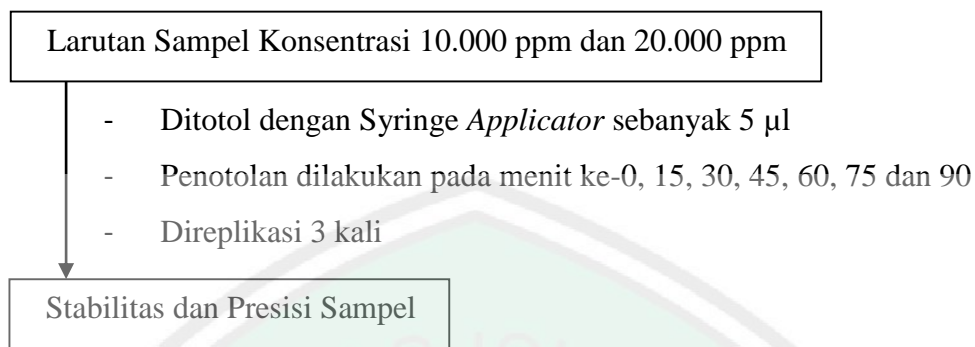
L.1.4.1 Pembuatan Larutan Sampel Konsentrasi 20.000 ppm



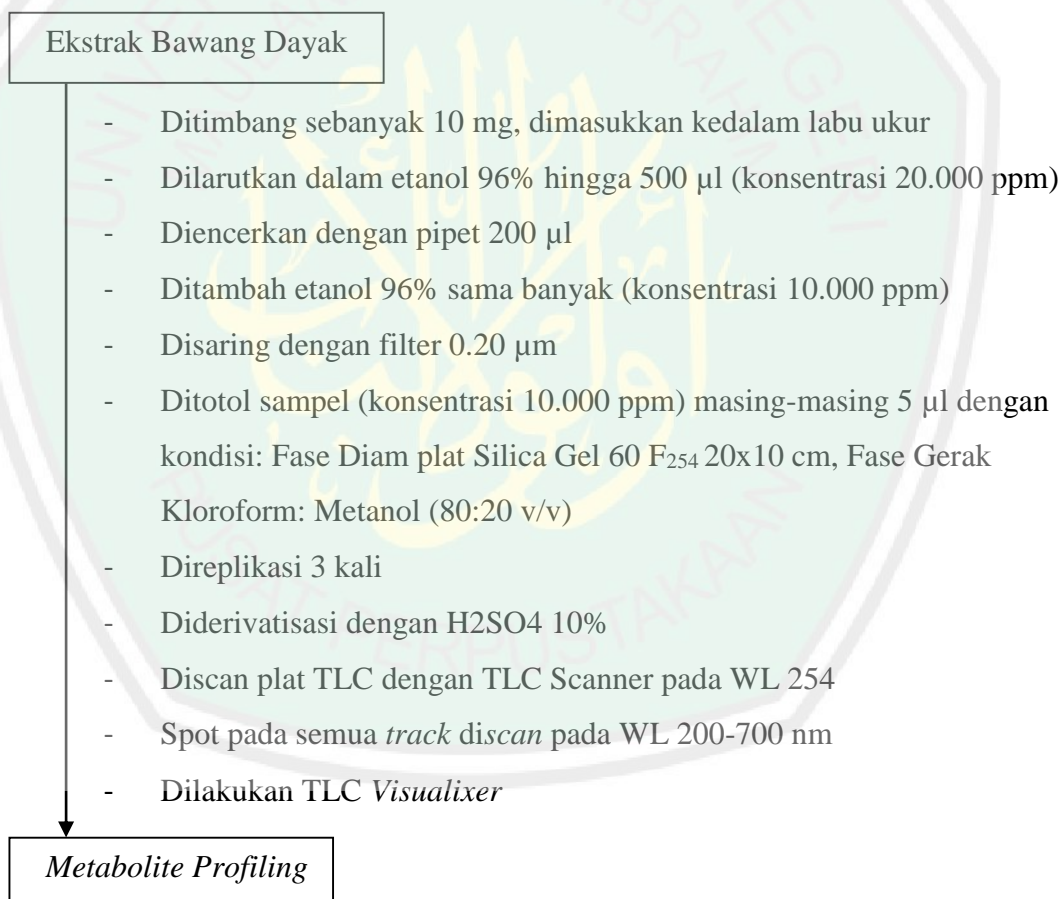
L.1.4.2 Pembuatan Larutan Sampel Konsentrasi 10.000 ppm



L.1.4.3 Uji Presisi (*interday*) dan Uji Stabilitas



L.1.4 *Metabolite Profiling* Menggunakan HPTLC-Densitometri



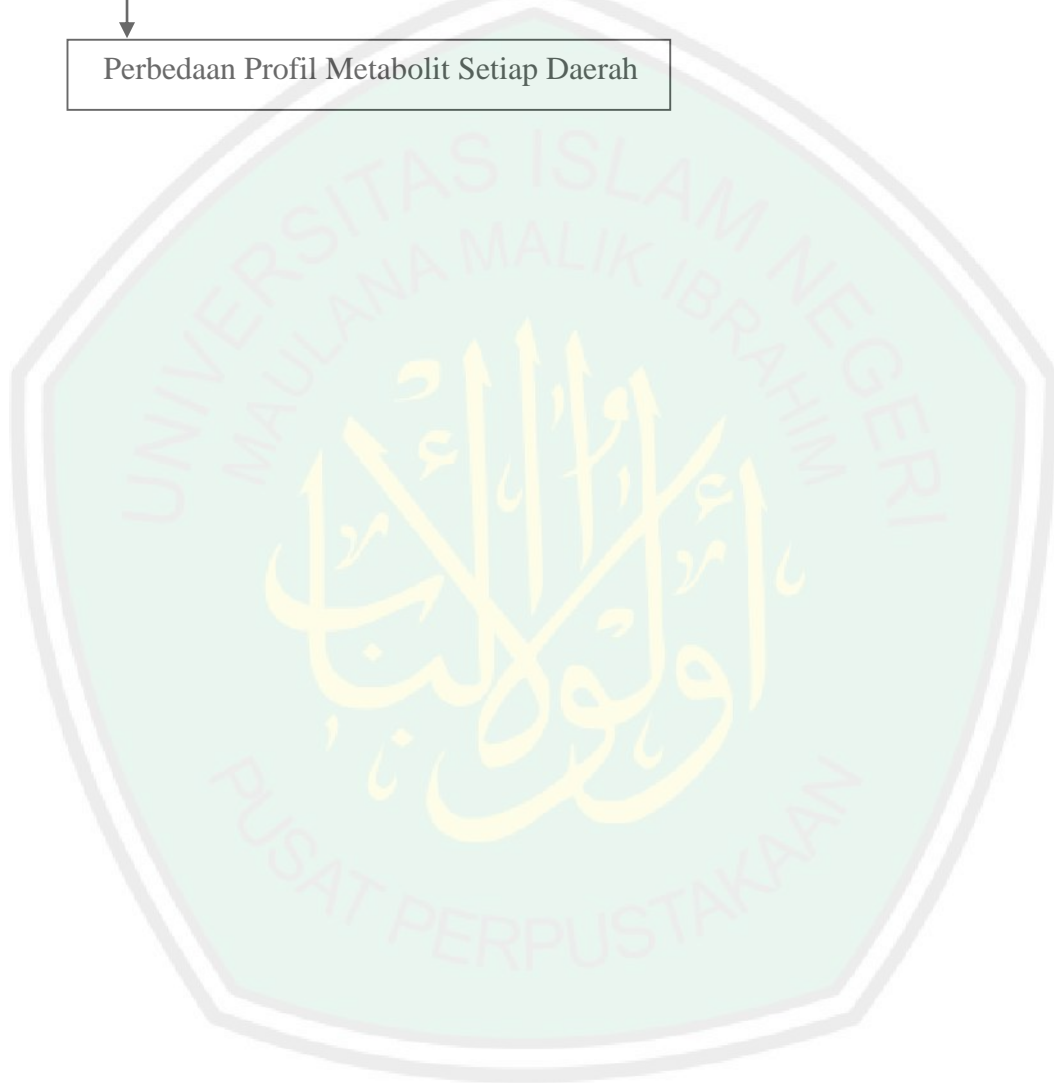
L.1.5 Analisis Data

L.1.5.1 Profil Metabolit

Data Profil Metabolit Bawang Dayak

- Diolah dengan menggunakan PCA dan HCA

Perbedaan Profil Metabolit Setiap Daerah



Lampiran 2. Prosedur Pengambilan Sampel

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Desa Sukaharja, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Barat

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Tengah

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Desa Srengat, Kecamatan Srengat, Kabupaten Blitar, Jawa Timur
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Timur

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Karang Rejo, Kecamatan Balikpapan Tengah, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Timur

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Baru, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Tengah

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)
2. Lokasi Sampling	Kecamatan Banjarbaru, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Selatan

Lampiran 3. Uji Kadar Air

No.	Lokasi	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	SD
1	Jawa Barat	9,22	7,68	7,89	8,26	0,84
2	Jawa Tengah	7,37	7,78	8,15	7,77	0,39
3	Jawa Timur	7,94	8,22	8,66	8,27	0,36
4	Kalimantan Timur	8,27	9,77	8,63	8,89	0,78
5	Kalimantan Tengah	9,18	8,66	8,48	8,77	0,36
6	Kalimantan Selatan	9,04	7,89	8,10	8,34	0,61

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3} \times 100\%$$

1. Jawa Barat

$$\text{Kadar air} = \frac{9,22 + 7,68 + 7,89}{3} \times 100\% = 8.26\%$$

2. Jawa Tengah

$$\text{Kadar air} = \frac{7,37 + 7,78 + 8,15}{3} \times 100\% = 7.77\%$$

3. Jawa Timur

$$\text{Kadar air} = \frac{7,94 + 8,22 + 8,66}{3} \times 100\% = 8.27\%$$

4. Kalimantan Timur

$$\text{Kadar air} = \frac{8,27 + 9,77 + 8,63}{3} \times 100\% = 8.89\%$$

5. Kalimantan Barat

$$\text{Kadar air} = \frac{9,18 + 8,66 + 8,48}{3} \times 100\% = 8.77\%$$

6. Kalimantan Selatan

$$\text{Kadar air} = \frac{9,04+7,89+8,10}{3} \times 100\% = 8.34\%$$



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

1. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Bogor, Jawa Barat

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0093 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	9,3039	4,6517%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{9,3039 \text{ g}}{200,0093 \text{ g}} \times 100\% = 4,6517\%$$

2. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Karanganyar, Jawa Tengah

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,1022 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	10,0483	5,0215%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{10,0483 \text{ g}}{200,1022 \text{ g}} \times 100\% = 5,0215\%$$

3. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Blitar, Jawa Timur

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0245 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	8,1034	4,0512%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{8,1034 \text{ g}}{200,0245 \text{ g}} \times 100\% = 4,0512\%$$

4. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Balikpapan, Kalimantan Timur

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,3127 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	12,3269	6,1538%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{12,3269 \text{ g}}{200,3127 \text{ g}} \times 100\% = 6,1538\%$$

5. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Kotawaringin Barat, Kalimantan

Tengah

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0391 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	16,0893	8,0430%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{16,0893\text{g}}{200,0391\text{g}} \times 100\% = 8,0430\%$$

6. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Banjarmasin, Kalimantan Selatan

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,2753 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	10,0772	5,0386%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{10,0772\text{g}}{200,2753\text{g}} \times 100\% = 5,0386\%$$

Lampiran 5. Determinasi Tanaman Bawang Dayak



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/348/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bawang Dayak**

Memuenuhi permohonan saudara :

Nama : Dr. ROIHATUL MUTIAH, M.Kes., Apt.
NIP : 19800203 200912 2 001
Instansi : JURUSAN FARMASI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bawang merah hutan

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Liliales
Famili : Liliaceae
Genus : Eleutherine
Spesies : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.
Sinonim : *Eleutherine bulbosa*, *E. plicata* Herb., *E. americana* (Aubl.) Merr.
Nama Umum : Bawang subrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kambe, brambang sabrang.
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.

2. Morfologi

Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis bulat telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai ±40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang ±5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang ±4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, coklat muda.

3. Nama Simplisia

: Eleutherinii Bulbus/ Umbi Bawang Sabrang.

4. Kandungan

: Daun dan umbi mengandung flavonoida, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, glikosida, tannin, dan polifenol.

5. Penggunaan

: Penelitian (Skripsi).

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://ff.unair.ac.id/sito/index.php?search=Eleutherine+Americana>, diakses tanggal 16 Juni 2010.
- Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 19 September 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin M. Drs. Apt. M.Kes.
NIP. 19611102 199103 1 003

Lampiran 6. Hasil TLC Visualizer Setelah Derivatisasi

1. Jawa Timur

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.034	0.0152	0.071	0.2738	27.25	0.101	0.0056	0.01009	27.48	No	
2	0.134	0.0022	0.185	0.1836	18.27	0.226	0.0000	0.00690	18.79	No	
3	0.235	0.0000	0.292	0.0787	7.83	0.324	0.0020	0.00245	6.67	No	
4	0.325	0.0019	0.360	0.0958	9.53	0.417	0.0011	0.00320	8.73	No	
5	0.563	0.0056	0.624	0.1338	13.31	0.661	0.0145	0.00484	13.19	No	
6	0.662	0.0144	0.706	0.0735	7.32	0.732	0.0373	0.00327	8.89	No	
7	0.734	0.0370	0.761	0.1657	16.49	0.812	0.0196	0.00597	16.25	No	

2. Jawa Tengah

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.031	0.0056	0.070	0.2848	40.25	0.103	0.0000	0.01102	40.96	No	
2	0.130	0.0004	0.184	0.1676	23.68	0.224	0.0000	0.00678	25.19	No	
3	0.246	0.0011	0.287	0.0504	7.12	0.320	0.0015	0.00155	5.75	No	
4	0.483	0.0038	0.515	0.0188	2.65	0.551	0.0062	0.00079	2.92	No	
5	0.724	0.0162	0.764	0.1861	26.30	0.819	0.0204	0.00677	25.18	No	

3. Jawa Barat

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.028	0.0064	0.071	0.3177	41.82	0.101	0.0000	0.01190	41.89	No	
2	0.120	0.0005	0.180	0.1877	24.71	0.221	0.0000	0.00716	25.18	No	
3	0.233	0.0008	0.283	0.0757	9.97	0.317	0.0013	0.00221	7.77	No	
4	0.680	0.0096	0.709	0.0285	3.75	0.724	0.0102	0.00057	2.00	No	
5	0.727	0.0101	0.769	0.1501	19.75	0.901	0.0041	0.00658	23.15	No	

4. Kalimantan Timur

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.028	0.0077	0.074	0.3226	46.12	0.103	0.0000	0.01280	46.49	No	
2	0.122	0.0009	0.180	0.1977	28.26	0.225	0.0000	0.00790	28.69	No	
3	0.233	0.0002	0.284	0.0844	12.07	0.317	0.0011	0.00246	8.93	No	
4	0.732	0.0059	0.776	0.0948	13.55	0.890	0.0042	0.00437	15.89	No	

5. Kalimantan Tengah

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.026	0.0038	0.071	0.1791	26.45	0.103	0.0000	0.00712	28.71	No	
2	0.120	0.0000	0.184	0.1158	17.11	0.224	0.0000	0.00443	17.87	No	
3	0.236	0.0008	0.287	0.0351	5.18	0.317	0.0000	0.00108	4.36	No	
4	0.317	0.0000	0.353	0.0314	4.64	0.415	0.0010	0.00115	4.64	No	
5	0.577	0.0107	0.622	0.0511	7.55	0.639	0.0339	0.00186	7.50	No	
6	0.683	0.0332	0.712	0.0556	8.21	0.732	0.0422	0.00229	9.22	No	
7	0.732	0.0422	0.764	0.2090	30.87	0.807	0.0171	0.00687	27.71	No	

6. Kalimantan Selatan

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.031	0.0167	0.072	0.2843	30.55	0.100	0.0002	0.01076	31.16	No	
2	0.116	0.0003	0.188	0.1689	18.15	0.232	0.0000	0.00665	19.26	No	
3	0.244	0.0005	0.294	0.0658	7.07	0.324	0.0041	0.00205	5.93	No	
4	0.325	0.0039	0.360	0.0730	7.84	0.426	0.0002	0.00247	7.17	No	
5	0.580	0.0064	0.628	0.1362	14.64	0.665	0.0142	0.00474	13.73	No	
6	0.665	0.0142	0.704	0.0445	4.78	0.731	0.0232	0.00198	5.74	No	
7	0.732	0.0229	0.765	0.1579	16.97	0.815	0.0228	0.00587	17.00	No	

	EJ20K1		EJ20K2		EJ20K3		EJ20K4		EJ20K5		EJ20K6		EJ20K7		EJ20K8		EJ20K9		EJ10K1		EJ10K2		EJ10K3		EJ10K4		EJ10K5		EJ10K6		EJ10K7		EJ10K8		EJ10K9			
	Maximum	Min Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample	Minimum	Max Sample		
Rf 001	X	0.96139521	0.30996463	0.01795641	0.65321152	0.29999792	0.13500805	0.01383902	1.99548204	2.64308934	0.20957667	0.26000037	0.37260784	0.04971917	-1.043449	-1.23579013	-0.70229348	-0.19585399	-1.03727291																			
Rf 014	X	0.69881409	1.15741108	0.68440503	0.65935576	0.75225718	0.98994747	1.22615367	1.25162049	1.18839927	-1.14338817	-1.01433255	-1.03421923	-0.98411668	-1.11234121	-0.94956729	-0.9958706	-0.7594863	-0.53503401																			
Rf 021	X	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226																			
Rf 023	X	1.54746482	1.75770489	0.96961748	0.86134988	0.86197935	1.06088959	0.27594949	0.98409513	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501	-0.83190501																			
Rf 032	X	0.35757752	1.0210844	0.67809431	0.73824329	0.87301033	1.1040612	1.22488944	1.30071957	1.20216312	-1.19932654	-0.98092666	-0.90176333	-1.01145568	-0.99175954	-0.93562554	-1.01319803	-0.80260084	-0.66313703																			
Rf 039	X	0.4739899	1.14769804	0.7307705	0.62985066	0.74869449	0.86753832	1.13289127	1.30901393	0.94040323	-0.67899009	-0.39493385	-1.4259528	-0.46857806	-0.15140141	-1.4259528	-1.4259528	-1.4259528	-1.4259528																			
Rf 046	X	0.15942771	0.75380288	0.46840278	0.83564185	0.88795205	0.85751615	1.33170065	1.74440578	1.52030352	-1.0905869	-0.95156417	-1.04596477	-1.09554491	-1.01978645	-0.79885733	-0.92360097	-0.59736362	-0.53588424																			
Rf 054	X	-0.47890386	-0.13433503	-0.17201557	-0.18948207	0.57246938	0.89613929	1.70991575	2.44221874	1.41866233	-0.78991746	-0.66951638	-0.80139825	-0.72824503	-0.78270517	-0.63963689	-0.57781727	-0.60887427	-0.83952036																			
Rf 055	X	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226																			
Rf 060	X	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226																			
Rf 063	X	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	0.39047425	1.82488247	2.32778637	2.12815953	0.12578798	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282	-0.52285282																			
Rf 066	X	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226																			
Rf 068	X	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	0.3537621	1.7141911	2.31884886	1.53102925	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493	-0.7449493																			
Rf 071	X	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226	-0.23570226																			
Rf 083	X	-1.39976579	-1.16688299	-1.04342705	-0.74200216	0.04082074	1.01509053	1.54160707	2.14087443	1.75988479	-0.55569031	-0.42514527	-0.35793093	-0.270174	-0.338891651	-0.25509273	0.03185214	-0.1854734	0.21027203																			
Rf 090	X	-1.67064269	-1.45334417	-1.41068951	-0.88472975	0.11171063	0.9559422	1.33789957	1.87412516	1.68718727	-0.43106761	-0.12221915	-0.13401393	0.02022309	-0.07582011	0.03591826	0.09576884	-0.04330645	0.10905837																			
Rf 096	X	0.14711679	-2.04040112	-1.97342701	-0.84823105	0.09674896	1.11408984	1.44422555	1.62334355	1.39539455	-0.25294374	-0.12259812	-0.06740966	-0.0322757	-0.02694042	0.03648255	0.1911941	-0.28277672	-0.32751763																			

Statistical Information

Maximum	Min Sample	Minimum	Max Sample	Average	Standard Deviation	CV
1485.3	EJ20K9	166.4	EJ10K6	586.59	340.02	0.58
5991.7	EJ20K8	9357.2	EJ10K1	7283.29	1684.55	0.23
342.1	EJ20K7	0	EJ10K9	9.01	38.21	4.24
411.4	EJ20K2	0	EJ10K9	132.16	158.87	1.20
6056.5	EJ20K8	2756.3	EJ10K1	4539.48	1320.06	0.30
701.9	EJ20K8	0	EJ10K9	365.96	256.64	0.70
2218.8	EJ20K8	786.8	EJ10K4	1549.21	504.23	0.39
3154.8	EJ20K8	925	EJ10K9	1495.37	879.40	0.65
320.3	EJ10K1	0	EJ10K9	6.68	28.35	4.24
365.8	EJ10K6	0	EJ10K9	9.21	39.08	4.24
861.9	EJ20K8	0	EJ10K9	163.96	313.56	1.91
237.3	EJ10K3	0	EJ10K9	33.19	55.98	1.64
1232.8	EJ20K8	0	EJ10K5	295.75	462.38	1.54
3029	EJ20K9	0	EJ10K9	57.17	242.54	4.24
36470	EJ20K8	2936.8	EJ20K1	7804.26	9991.71	0.60
11390.3	EJ20K8	0	EJ20K1	5554.09	3204.81	0.60
28588.4	EJ20K8	7232	EJ20K2	19125.74	5479.12	0.30

Analytical Report

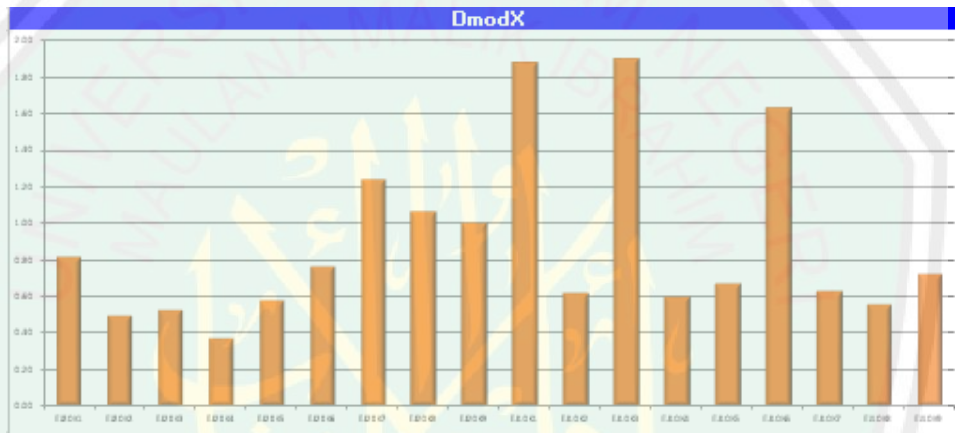
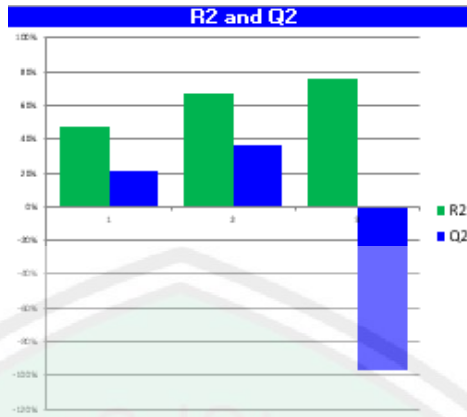
	Comp 1	Comp 2	Comp 3
R2	48%	20%	8%
R2(cum)	48%	68%	76%
Eigenvalue	8.57	3.59	1.48
Q2	21%	19%	-210%
Q2(cum)	21%	36%	-97%

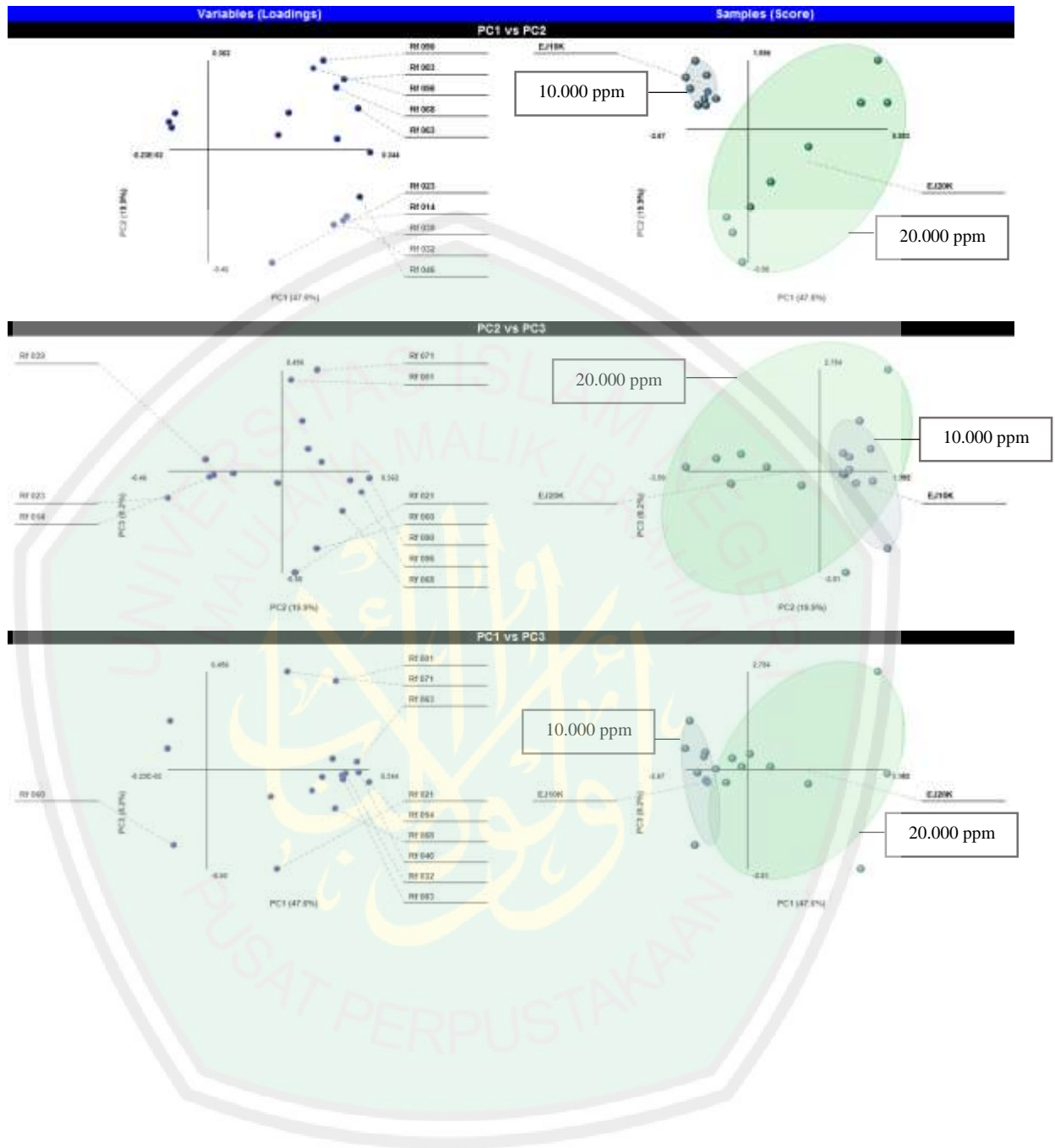
Score

Samples	Groups	Comp 1	Comp 2	Comp 3	DmodX
EJ20K1	EJ20K	-0.92	-2.58	-0.37	0.81
EJ20K2	EJ20K	-0.25	-3.90	0.09	0.49
EJ20K3	EJ20K	-0.66	-3.02	0.33	0.52
EJ20K4	EJ20K	0.10	-2.30	0.45	0.37
EJ20K5	EJ20K	0.96	-1.56	0.09	0.58
EJ20K6	EJ20K	2.59	-0.52	-0.40	0.76
EJ20K7	EJ20K	4.84	0.76	-2.82	1.23
EJ20K8	EJ20K	5.98	0.75	-0.11	1.06
EJ20K9	EJ20K	5.58	2.00	2.78	1.00
EJ10K1	EJ10K	-2.50	1.17	1.38	1.87
EJ10K2	EJ10K	-1.84	0.69	0.49	0.62
EJ10K3	EJ10K	-2.67	1.49	0.60	1.90
EJ10K4	EJ10K	-1.89	0.86	0.37	0.60
EJ10K5	EJ10K	-2.17	0.68	-0.09	0.67
EJ10K6	EJ10K	-2.27	1.98	-2.15	1.63
EJ10K7	EJ10K	-1.78	1.56	-0.30	0.63
EJ10K8	EJ10K	-1.38	0.87	0.02	0.56
EJ10K9	EJ10K	-1.73	1.07	-0.36	0.72

Loading

Variables	Type	Comp 1	Comp 2	Comp 3
Rf 001	X	0.27	0.04	0.45
Rf 014	X	0.29	-0.30	-0.03
Rf 021	X	0.15	0.06	-0.50
Rf 023	X	0.14	-0.47	-0.14
Rf 032	X	0.30	-0.28	-0.02
Rf 039	X	0.27	-0.31	0.05
Rf 046	X	0.32	-0.20	-0.01
Rf 054	X	0.34	-0.02	-0.06
Rf 055	X	-0.08	0.09	0.25
Rf 060	X	-0.07	0.15	-0.38
Rf 063	X	0.32	0.16	0.04
Rf 066	X	-0.08	0.11	0.11
Rf 068	X	0.27	0.25	-0.20
Rf 071	X	0.17	0.15	0.50
Rf 083	X	0.29	0.28	-0.05
Rf 090	X	0.25	0.36	-0.04
Rf 096	X	0.22	0.33	-0.11





	SB20K90	SB20K75	SB20K60	SB20K45	SB20K30	SB20K15	SB20K0	SB10K90	SB10K75	SB10K60	SB10K45	SB10K30	SB10K15	SB10K0
	SB20K	SB20K	SB20K	SB20K	SB20K	SB20K	SB20K	SB10K	SB10K	SB10K	SB10K	SB10K	SB10K	SB10K
Rf 002	X	0.53114665	0.335444303	-0.71492427	-0.17023868	1.54456292	-0.15039461	2.23910547	-0.58148999	0.08636571	0.72685026	-0.90857505	-0.86820262	-1.19049774
Rf 018	X	0.3643692	0.50919947	0.85199015	0.88978873	1.17347092	1.42996127	0.98891357	-1.11194491	-1.32933495	-1.37422076	-1.03200864	-0.70696015	-0.42747244
Rf 028	X	-0.39319946	-0.39319946	2.7822914	-0.39319946	-0.39319946	2.44016438	-0.39319946	-0.39319946	-0.39319946	-0.39319946	-0.39319946	-0.39319946	-0.39319946
Rf 040	X	0.32956723	0.48148078	0.87865416	0.75369059	1.13708787	1.53810049	1.09440453	-1.10224432	-1.25920158	-1.33666394	-1.06648667	-0.64341722	-0.41773
Rf 050	X	0.3577935	0.33085549	0.37446411	0.70586771	1.06338789	1.52202058	0.76772979	-1.37312495	-0.41106288	0.19689208	-1.37312495	0.38461151	-1.37312495
Rf 058	X	-0.42113654	-0.07532444	0.48489503	0.55526264	1.33863686	2.10296128	1.18021255	-0.46895541	-0.98466057	-1.14930523	-0.99457424	-0.44796176	-0.91701436
Rf 068	X	-0.88632499	-0.19576826	0.41395514	0.4781587	1.30111215	2.06672338	1.38627081	-0.11935549	-0.97894654	-0.9135852	-1.03083565	-0.26565542	-0.91179592
Rf 079	X	-1.42918818	0.32837773	0.88995203	0.5170767	1.38628518	1.46875077	0.97501572	0.24292914	-0.44931993	-0.37137696	-0.47549337	-0.22463247	-1.42918818
Rf 088	X	1.31066615	-0.71436397	1.04981983	1.16047514	1.378886403	-0.71436397	1.52945522	-0.71436397	-0.71436397	-0.71436397	-0.71436397	-0.71436397	-0.71436397
Rf 091	X	-2.34045456	0.52270568	-0.30994056	-0.67134966	-0.45229445	2.0092207	-0.59824352	0.7677148	0.15556051	-0.00288293	0.17475833	0.78161304	0.66077557

	Statistical Information				
	Maximum	Max Sample	Minimum	Min Sample	CV
643.3	SB20K0	142.1	SB10K15	316.08	146.14
12052	SB20K15	6235.7	SB10K60	9086.04	2074.15
281.7	SB20K15	0	SB10K0	39.09	99.42
7442.8	SB20K15	3624	SB10K60	5399.61	1328.39
678.6	SB20K15	0	SB10K0	321.85	234.39
177.4	SB10K90	0	SB10K0	12.67	47.41
2929.9	SB20K15	1256.8	SB10K60	1848.05	514.44
4687.2	SB20K15	1744.2	SB10K45	2723.60	950.10
3011.6	SB20K15	0	SB10K0	1485.24	1039.22
12748.5	SB20K0	0	SB10K0	4058.74	5681.61
40699	SB20K15	15912.1	SB20K90	29249.33	5698.56

Analytical Report

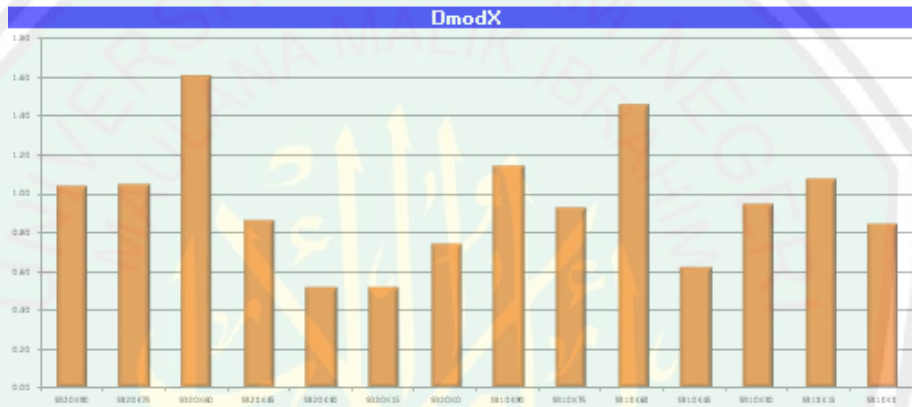
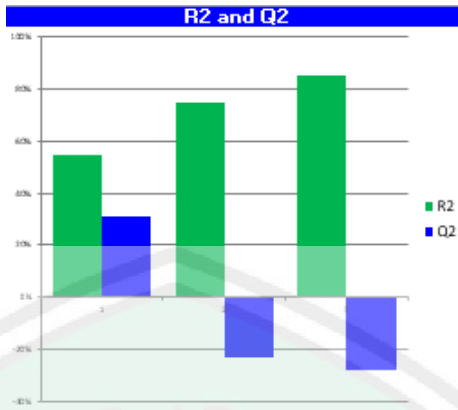
	Comp 1	Comp 2	Comp 3
R2	55%	20%	10%
R2(cum)	55%	75%	85%
Eigenvalue	7.68	2.82	1.44
Q2	31%	-79%	-4%
Q2(cum)	31%	-23%	-28%

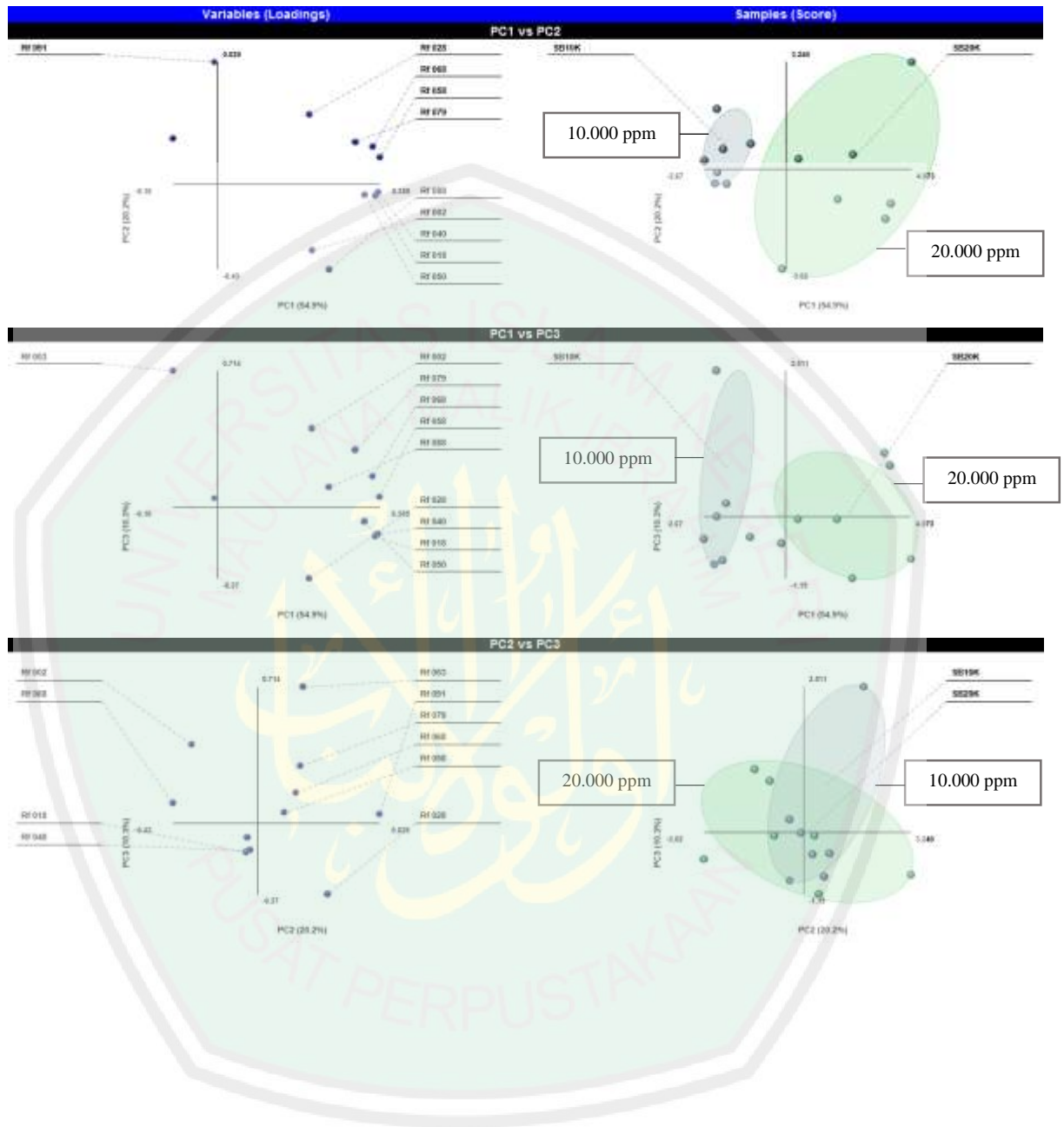
Score

Samples	Groups	Comp 1	Comp 2	Comp 3	DmodX
SB20K90	SB20K	-0.14	-3.03	-0.52	1.04
SB20K75	SB20K	0.38	0.30	-0.06	1.04
SB20K60	SB20K	2.16	0.45	-1.19	1.61
SB20K45	SB20K	1.66	-0.91	-0.06	0.86
SB20K30	SB20K	3.39	-1.04	0.99	0.52
SB20K15	SB20K	4.07	3.24	-0.82	0.52
SB20K0	SB20K	3.23	-1.50	1.22	0.74
SB10K90	SB10K	-2.27	1.81	2.81	1.14
SB10K75	SB10K	-2.26	-0.10	0.00	0.93
SB10K60	SB10K	-1.96	-0.44	0.25	1.45
SB10K45	SB10K	-2.67	0.25	-0.43	0.62
SB10K30	SB10K	-1.18	0.78	-0.40	0.94
SB10K15	SB10K	-2.07	0.61	-0.85	1.08
SB10K0	SB10K	-2.33	-0.43	-0.93	0.84

Loading

Variables	Type	Comp 1	Comp 2	Comp 3
Rf 002	X	0.23	-0.34	0.41
Rf 018	X	0.38	-0.06	-0.15
Rf 028	X	0.22	0.36	-0.37
Rf 040	X	0.39	-0.04	-0.14
Rf 050	X	0.35	-0.05	-0.08
Rf 053	X	-0.11	0.24	0.71
Rf 058	X	0.39	0.14	0.05
Rf 068	X	0.37	0.20	0.16
Rf 079	X	0.33	0.22	0.30
Rf 088	X	0.27	-0.44	0.10
Rf 091	X	-0.01	0.63	0.05





Lampiran 9. Metabolite Profiling Analisa dengan PCA

Substance & Activity	WestJava		WestSum		WestLana		CentralJava		CentralLana		EastJava		EastSum		EastLana		CentralBont		CentralBont		SouthBorne		SouthBorne		Candidate Marker	WL (nm)
	W11a	W11b	W11c	W11d	W11e	W11f	E11a	E11b	E11c	E11d	E11e	E11f	C11a	C11b	C11c	C11d	C11e	C11f	S11a	S11b	S11c	S11d	S11e	S11f		
RT 002	1814.5	2399.3	2501.1	862.1	1126.9	1160.1	803.8	1113.0	1404.4	320.1	978.8	412.1	1664.2	379.8	1890.8	1481.7	1107.2									
RT 013	5855.4	5946.9	5888.9	3424.1	3282.5	4950.8	5681.2	8701.3	9337.6	9987.9	2990.6	2998.3	2770.8	5778.0	3759.1	8368.1										250
RT 018	3357.3	3364.4	3500.2	1957.0	2033.1	2012.3	2902.8	3299.9	3942.8	4336.5	4534.6	1377.1	1324.2	1349.4	3479.6	3345.0	3722.3									272
RT 034							219.7	278.6																		
RT 040	842.8	794.8	807.2	451.7	499.7	864.4	847.9	1007.8	882.3	1084.7	1139.3	424.0	518.3	428.8	1018.7	985.8	1228.3									268
RT 044						1318.5	1348.2	1584.4				6469.6	5822.4	6282.2	1789.5	1492.2	3650.1									
RT 053																										
RT 055																										
RT 059						522.1						521.0	511.2	698.5												
RT 071	484.0	574.2	770.2	991.0	1463.8	7382.4	8256.1	9186.4	1011.8	953.7	1137.2	2409.5	3006.0	3118.9	12353.3	12360.4	13616.3									279
RT 076						1327.3	5380.7	7233.1	7214.7																	
RT 087	13013.4	13394.0	15011.1	11865.7	16838.7	29568.1	27495.1	28348.2	15137.7	14805.0	14914.4	23769.4	25133.0	25132.0	38973.2	40107.3	51714.3									265, 270, 299
RT 091						2319.0																				
RT 093	3056.5	2220.5	2420.4	272.55	272.55	86.98	86.98	86.98	131.23	133.13	133.23	104.52	104.52	104.52	269.80	269.80	269.80									
K50 W10r	159.07	159.07	159.07	393.16	393.16	476.87	476.87	476.87	414.65	414.65	414.65	528.77	528.77	528.77	446.49	446.49	446.49									
CS50 W10r	519.70	519.70	519.70	393.16	393.16	476.87	476.87	476.87	414.65	414.65	414.65	528.77	528.77	528.77	446.49	446.49	446.49									

Analytical Report

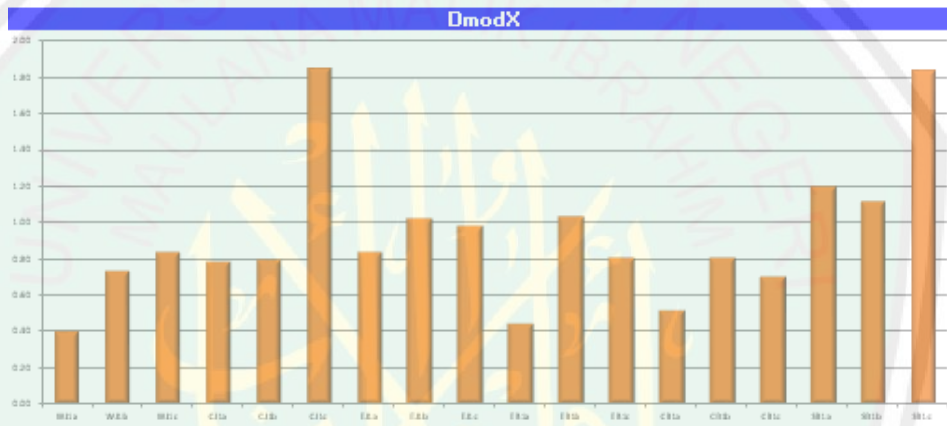
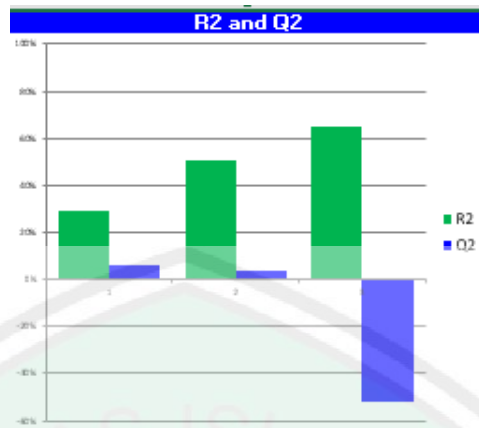
	Comp 1	Comp 2	Comp 3
R2	29%	21%	15%
R2(cum)	29%	51%	65%
Eigenvalue	5.27	3.83	2.66
Q2	6%	-2%	-58%
Q2(cum)	6%	4%	-52%

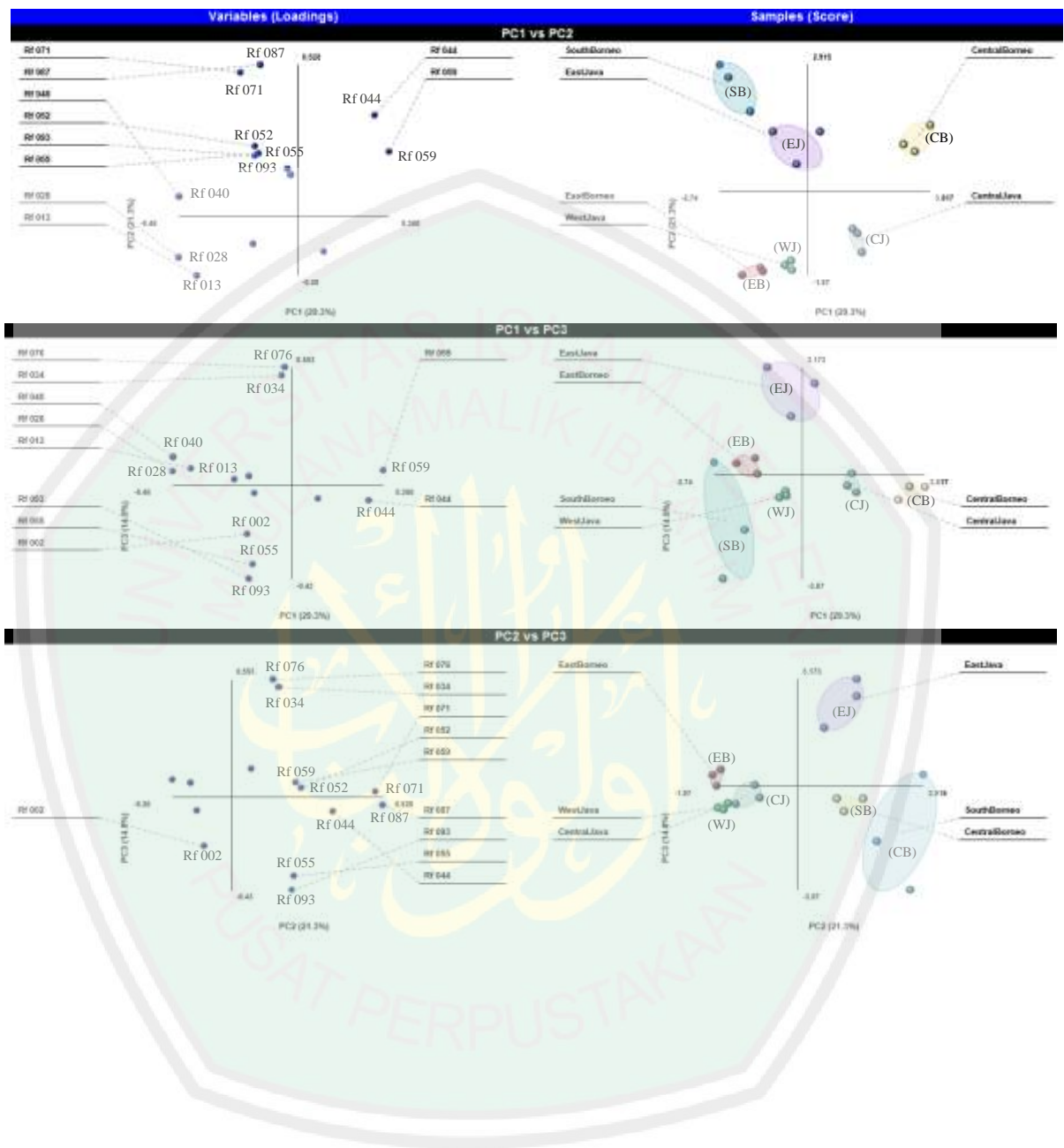
Score

Samples	Groups	Comp 1	Comp 2	Comp 3	Dmodx
WJ1a	WestJava	-0.51	-1.62	-0.49	0.40
WJ1b	WestJava	-0.49	-1.85	-0.63	0.73
WJ1c	WestJava	-0.71	-1.73	-0.68	0.83
CJ1a	CentralJava	1.54	-1.00	0.04	0.78
CJ1b	CentralJava	1.40	-0.89	-0.33	0.79
CJ1c	CentralJava	1.69	-1.45	-0.53	1.85
EJ1a	EastJava	0.37	1.37	2.69	0.83
EJ1b	EastJava	-0.36	0.61	1.73	1.02
EJ1c	EastJava	-1.10	1.37	3.17	0.97
EB1a	EastBorneo	-1.40	-1.89	0.02	0.44
EB1b	EastBorneo	-1.47	-1.79	0.49	1.03
EB1c	EastBorneo	-2.06	-1.97	0.34	0.80
CB1a	CentralBorneo	3.34	0.90	-0.36	0.51
CB1b	CentralBorneo	2.98	1.07	-0.74	0.81
CB1c	CentralBorneo	3.82	1.51	-0.37	0.70
SB1a	SouthBorneo	-2.49	2.62	-3.07	1.19
SB1b	SouthBorneo	-1.80	1.83	-1.63	1.11
SB1c	SouthBorneo	-2.75	2.92	0.36	1.84

Loading

Variables	Type	Comp 1	Comp 2	Comp 3
Rf 002	X	-0.17	-0.10	-0.23
Rf 013	X	-0.39	-0.21	0.08
Rf 028	X	-0.47	-0.14	0.07
Rf 034	X	-0.04	0.17	0.52
Rf 040	X	-0.46	0.07	0.13
Rf 044	X	0.30	0.35	-0.07
Rf 052	X	-0.17	0.24	0.04
Rf 055	X	-0.15	0.22	-0.37
Rf 059	X	0.36	0.23	0.07
Rf 071	X	-0.22	0.50	0.03
Rf 076	X	-0.03	0.14	0.55
Rf 087	X	-0.15	0.53	-0.04
Rf 091	X	0.10	-0.12	-0.06
Rf 093	X	-0.17	0.21	-0.44





Lampiran 10. Metabolite Profiling Analisa dengan HCA

Substance & Activity	WestJava		WestSum		CentralJava		CentralSum		EastJava		EastSum		CentralJava		CentralSum		SouthJava		SouthSum		Candidate Marker	WL (nm)
	WJ1a	WJ1b	WJ1c	WJ1d	CJ1a	CJ1b	CJ1c	CJ1d	EJ1a	EJ1b	EJ1c	EJ1d	CS1a	CS1b	CS1c	CS1d	SJ1a	SJ1b	SJ1c	SJ1d		
RF 002	1814.5	2339.3	2501.1		1126.9	1107.0	801.8	1113.0	1404.4	1501.1	978.8	472.1	1664.2	379.8	1690.8	1481.7	1187.2					
RF 013	5855.4	9866.9	18888.9		3428.1	3281.5	8420.0	5107.0	4950.8	5681.2	8703.8	9987.9	2990.8	2770.8	5778.0	5778.1	8368.1				Yes	250
RF 028	3357.3	3364.4	3500.2		1957.0	2033.1	2012.3	2902.8	3299.9	3842.8	4136.5	4534.6	1777.1	1324.2	1249.4	3943.0	3722.3				Yes	272
RF 034					218.7			278.6														
RF 040	842.6	764.8	807.2		452.7	307.4	499.7	884.4	947.9	1007.6	982.3	1084.7	1139.3	424.0	528.3	428.8	1028.7	985.8	1225.3		Yes	268
RF 044					1318.5	1348.2	1588.4						6469.6	5822.4	6262.2	3781.5	1452.2	1650.1				
RF 053																						
RF 055																						
RF 059					327.2									521.0	531.2	858.5						
RF 071	484.0	574.2	770.2		921.0	1072.8	1463.8	7382.4	8256.1	9186.4	1011.8	953.7	1137.2	2409.5	3006.0	3118.9	12383.3	12380.4	13616.3		Yes	278
RF 076					1158.8			1327.3	5380.7	7233.1	7234.7											
RF 087	13023.4	13394.0	15603.1		18663.7	19292.8	16838.7	29348.1	27495.3	28348.2	15137.7	14800.0	14914.4	23749.4	25133.0	25132.0	38973.2	40107.3	53714.3		Yes	265, 270, 298
RF 091					2379.0																	
RF 093	8056.5	2220.3	2420.4		1971.8	2713.8		2741.4	1590.4	1814.6	1704.3	2229.6	1595.1	2153.7	13559.7	15457.8						
K50 W02	159.07	159.07	159.07		272.55	272.55	272.55	86.98	86.98	86.98	133.23	133.23	104.52	104.52	104.52	269.80	269.80	269.80	269.80			
K50 W08	519.70	519.70	519.70		393.16	393.16	393.16	476.87	476.87	476.87	414.65	414.65	528.77	528.77	528.77	446.49	446.49	446.49	446.49			

	WJ1a		WJ1b		WJ1c		CJ1a		CJ1b		CJ1c		EJ1a		EJ1b		EJ1c		EB1a		EB1b		EB1c		CB1a		CB1b		CB1c		SB1a		SB1b		SB1c				
	WestJava	WestJava	WestJava	WestJava	WestJava	WestJava	CentralJava	CentralJava	CentralJava	CentralJava	CentralJava	CentralJava	EastJava	EastJava	EastJava	EastJava	EastJava	EastJava	EastJava	EastBorneo	EastBorneo	EastBorneo	EastBorneo	EastBorneo	CentralBorneo	CentralBorneo	CentralBorneo	CentralBorneo	CentralBorneo	SouthBorneo	SouthBorneo	SouthBorneo	SouthBorneo	SouthBorneo	SouthBorneo				
Rf 002 X	0.486	0.916	1.048	-0.294	-0.418	-0.077	-0.050	-0.342	-0.089	0.175	-0.738	-0.198	-0.663	0.363	-0.689	0.385	0.213	-0.028																					
Rf 013 X	0.071	0.095	0.077	-0.374	-0.399	-0.374	-0.047	-0.092	0.039	0.592	0.708	0.827	-0.453	-0.451	-0.493	0.057	0.050	0.165																					
Rf 028 X	0.155	0.157	0.204	-0.327	-0.301	-0.308	-0.002	-0.002	0.135	0.356	0.423	0.559	-0.561	-0.545	-0.570	0.197	0.150	0.280																					
Rf 034 X	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	6.936	-1.000	9.064	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000																					
Rf 040 X	0.046	-0.061	0.002	-0.438	-0.370	-0.380	0.073	0.177	0.251	0.219	0.347	0.414	-0.474	-0.344	-0.470	0.262	0.224	0.521																					
Rf 052 X	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000																					
Rf 055 X	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000																					
Rf 071 X	-0.896	-0.871	-0.827	-0.777	-0.759	-0.671	0.658	0.854	1.063	-0.773	-0.786	-0.745	-0.459	-0.325	-0.300	1.774	1.780	2.058																					
Rf 076 X	-1.000	-1.000	-1.000	-0.080	-1.000	0.073	3.332	4.845	4.830	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000																					
Rf 087 X	-0.380	-0.448	-0.355	-0.229	-0.203	-0.304	0.213	0.136	0.171	-0.375	-0.388	-0.384	-0.019	0.038	0.038	0.610	0.657	1.219																					
Rf 091 X	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	17.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000																					
Rf 093 X	-0.003	-0.276	-0.211	-1.000	-0.357	-0.115	-1.000	-1.000	-1.000	-0.481	-0.408	-0.444	-0.273	-0.480	-0.298	3.421	4.033	4.033																					

Statistical Information				
Maximum	Max Sample	Minimum	Min Sample	CV
2501.1	WJ1c	320.1	EJ1b	0.51
9987.9	EB1c	2770.8	CB1c	0.40
4534.6	EB1c	1249.4	CB1c	0.35
278.6	EJ1c	0	SB1c	2.93
1225.3	SB1c	424	CB1a	0.33
6262.2	CB1c	0	EB1c	1.44
523.1	SB1c	0	SB1b	4.24
489.1	SB1a	0	SB1c	4.24
656.5	CB1c	0	SB1c	1.94
13616.3	SB1c	464	WJ1a	1.05
7233.1	EJ1b	0	SB1c	2.04
53714.3	SB1c	13354	WJ1b	0.45
2379	CJ1c	0	SB1c	4.24
15437.8	SB1b	0	SB1c	1.40
			Average	Standard Deviation
			1221.17	622.74
			5465.58	2175.77
			2907.86	1020.74
			27.68	81.20
			805.54	267.32
			1415.29	2037.42
			29.06	123.30
			27.17	115.28
			123.94	240.20
			4452.72	4694.59
			1237.48	2527.51
			24202.87	10955.62
			132.17	560.74
			3067.19	4288.37

Cluster Analysis	Square Distance	Distance	Cluster
1	0.197137059	0.444001192	WJ1b WJ1c
2	0.525437485	0.724870668	EB1a EB1c
3	0.525600976	0.724983431	WJ1a WJ1b
4	0.575725956	0.758766074	EB1a EB1b
5	0.826257205	0.908986911	WJ1a EB1a
6	1.132460814	1.064171421	CJ1a CJ1b
7	1.26242987	1.123579045	WJ1a CJ1a
8	1.432767281	1.196982574	CB1a CB1b
9	1.508985737	1.228407806	CB1a CB1c
10	5.05798823	2.248997161	EJ1a EJ1c
11	5.068356581	2.251301086	WJ1a SB1b
12	5.283617806	2.298612148	WJ1a CB1a
13	5.317137575	2.305891926	WJ1a EJ1b
14	9.1204022	3.020000364	WJ1a EJ1a
15	18.01298496	4.244170704	WJ1a SB1a
16	18.02425471	4.24549817	WJ1a CJ1c
17	18.34306914	4.28288094	WJ1a SB1c