

**STABILITAS SENYAWA ACETOGENIN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK VARIASI LAMA PENOTOLAN DAN PENGAMATAN LAMPU UV**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**BAGAS FEBRIANTO**  
NIM 16630053



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**STABILITAS SENYAWA ACETOGENIN DAUN SIRSAK (*Annona  
Muricata Linn*) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK VARIASI LAMA  
PENOTOLAN DAN PENGAMATAN LAMPU UV**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**BAGAS FEBRIANTO**  
NIM 16630053

Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**STABILITAS SENYAWA ACETOGENIN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK VARIASI LAMA PENOTOLAN DAN PENGAMATAN LAMPU UV**

**SKRIPSI**


Oleh:  
**BAGAS FEBRIANTO**  
NIM. 16630053

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diseminarkan  
Pada tanggal 28 Desember 2020


**Pembimbing I**

  
Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

**Pembimbing II**

  
Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc  
NIDT. 19900906 20480201 2 239

Mengetahui,  
Ketua Jurusan





  
Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

**STABILITAS SENYAWA ACETOGENIN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) HASIL EKSTRAKSI ULTRASONIK VARIASI LAMA PENOTOLAN DAN PENGAMATAN LAMPU UV**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**BAGAS FEBRIANTO**  
NIM. 16630053

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 28 Desember 2020

|                           |  |   |
|---------------------------|--|---|
| <b>Penguji Utama</b>      | : Diana Candra Dewi, M.Si<br>NIP. 19770720 200312 2 001          |  |
| <b>Ketua Penguji</b>      | : Vina Nurul Istighfarini, M.Si<br>LB. 63025                     |  |
| <b>Sekretaris Penguji</b> | : Elok Kamilah Hayati, M.Si<br>NIP. 19790620 200604 2 002        |  |
| <b>Anggota Penguji</b>    | : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc<br>NIDT. 19900906 20180201 2 239 |  |

**Mengesahkan,  
Ketua Jurusan**

  
**Elok Kamilah Hayati, M.Si**  
NIP. 19790620 200604 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bagas Febrianto

NIM : 16630053

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Stabilitas Senyawa Acetogenin Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Variasi Lama Penotolan Dan Pengamatan Lampu UV

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Desember 2020

Yang membuat pernyataan,



Bagas Febrianto  
NIM. 16630053

## PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirobbil 'alamiin*, dengan penuh rasa syukur kepada Allah Swt. Saya persembahkan karya sederhana ini kepada:

Orang tua saya tercinta, Kakak dan Adik saya tersayang yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan, nasihat, doa, motivasi, serta waktunya untuk saya dapat bertahan menyelesaikan studi ini hingga selesai.

Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku wali dosen dan pembimbing, yang telah memberikan segala bentuk nasihat serta motivasi untuk saya. Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku pembimbing agama, terimakasih telah sabar dalam memberikan arahan, dukungannya kepada saya. Serta seluru bapak/ibu dosen jurusan kimia uin malang. Semoga seluruh kebaikan bapak/ibu mendapat balasan yang lebih dari Allah Swt.

Kawan seperjuangan KLT Squad (teguh,rian,febri), Tim Analitik ( Anggie, Alma, Servita, Siska, Ririn, Ningsih) serta Kimia Angkatan 2016 “Carbon”, Terimakasih banyak sudah menjadi bagian dari cerita perjalanan saya selama berproses di jurusan ini. Keluarga kontrakan “Kecebong” terima kasih untuk waktunya bersuka duka selama berproses di dunia perkuliahan ini.

Teruntuk semua Kakak tingkat saya ucapkan juga terima kasih atas segala bantuan dan pelajaran yang telah dibagikan ke saya.

## MOTTO

“Selesaikan apa yang sudah kamu mulai”

~ Febrito ~

\*\*\*

“jadikan hobimu untuk memotivasi menyelesaikan segala tugasmu”

~ Febrito ~

\*\*\*

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ۖ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

For indeed, with hardship [will be] ease. Indeed, with hardship [will be] ease.

~ QS. Al-Insyirah: 5-6 ~

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Swt. yang telah memberikan rahmat dan nikmat berupa iman, kesehatan, kesempatan, kekuatan, keinginan, serta kesabaran, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi yang telah penulis susun ini berjudul “**Stabilitas Senyawa Acetogenin Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Variasi Lama Penotolan Dan Pengamatan Lampu UV**”. Sholawat serta salam penulis panjatkan kepada Rasulullah Muhammad saw. hamba Allah Swt. yang detik demi detik hidupnya digunakan untuk mengabdikan kepada Allah Swt.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak yang terkait. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan penulisan skripsi ini. Selanjutnya kami ucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak, Ibu, kakak, adik dan keluarga yang selalu mendoakan serta memberi dukungan yang berharga.
2. Prof. Dr. Abdul Harris selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Elok Kamilah Hayati, M. Si selaku Ketua dan Dosen Pembimbing Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
5. Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
6. Segenap anggota teman-teman Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membantu penyusunan proposal ini baik dari segi ide dan waktu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini, baik dari segi Bahasa maupun pembahasan. Demi



kesempurnaan skripsi ini, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga susunan laporan hasil penelitian ini dapat dilaksanakan dan memberi manfaat kepada banyak orang.

Malang, 23 Desember 2020

Penulis



## DAFTAR ISI

|  |             |
|--|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                                 | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>                             | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>                           | <b>iii</b>  |
| <b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>                   | <b>iv</b>   |
| <b>PERSEMBAHAN .....</b>                                   | <b>v</b>    |
| <b>MOTTO .....</b>   | <b>vi</b>   |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                 | <b>vii</b>  |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                     | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                  | <b>xi</b>   |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                  | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                               | <b>xiii</b> |
| <b>ABSTRAK .....</b>                                       | <b>xiv</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                      | <b>xv</b>   |
| <b>مستخلص البحث .....</b>                                  | <b>xvi</b>  |
| <br>   |             |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                              | <b>1</b>    |
| 1.1. Latar Belakang .....                                  | 1           |
| 1.2. Rumusan Masalah .....                                 | 6           |
| 1.3. Tujuan.....   | 7           |
| 1.4. Batasan Masalah.....                                  | 7           |
| <br>   |             |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>                       | <b>9</b>    |
| 2.1. Tanaman Sirsak .....                                  | 9           |
| 2.1.1. Morfologi.....                                      | 9           |
| 2.1.2. Klasifikasi.....                                    | 10          |
| 2.1.3. Manfaat Dan Kandungan Daun Sirsak .....             | 10          |
| 2.2. <i>Annonaceous Acetogenin</i> .....                   | 13          |
| 2.2.1. Pengertian dan Manfaat <i>Acetogenin</i> .....      | 13          |
| 2.2.2. Sifat Fisik dan Sifat Kimia <i>Acetogenin</i> ..... | 14          |
| 2.3. Teknik Pemisahan Senyawa Aktif .....                  | 15          |
| 2.3.1 Ekstraksi Ultrasonik .....                           | 15          |
| 2.3.2 Pemisahan Senyawa <i>Acetogenin</i> dengan KLT ..... | 17          |
| 2.4. Validasi Metode .....                                 | 19          |
| 2.4.1. Gambaran Umum Validasi Metode.....                  | 19          |
| 2.4.2. Presisi .....                                       | 21          |
| 2.4.3. Stabilitas .....                                    | 21          |
| <br>   |             |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>                     | <b>24</b>   |
| 3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....                      | 24          |
| 3.2. Alat dan Bahan .....                                  | 24          |
| 3.2.1. Alat.....   | 24          |
| 3.2.2. Bahan .....   | 24          |

|  |    |
|--|----|
|  | x  |
| 3.3. Rancangan Penelitian .....  | 24 |
| 3.4. Tahapan Penelitian .....  | 26 |
| 3.5. Cara Kerja .....  | 26 |
| 3.5.1 Preparasi Sampel .....   | 26 |
| 3.5.2 Ekstraksi Senyawa <i>Acetogenin</i> dengan Ultrasonik .....          | 26 |
| 3.5.3 Pembuatan Reagen Vanilin – Asam Sulfat .....                         | 27 |
| 3.5.4 Presisi .....  | 27 |
| 3.5.5 Presisi antara.....  | 27 |
| 3.5.6 Stabilitas Analit selama kromatografi .....                          | 28 |
| 3.5.7 Uji Stabilitas Hasil Derivatisasi Ekstrak kasar Daun Sirsak .....    | 28 |
| <br>   |    |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....  | 29 |
| 4.1. Preparasi Sampel .....  | 29 |
| 4.2. Ekstraksi Ultrasonik Daun Sirsak .....                                | 29 |
| 4.3. Pola Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak kasar Daun Sirsak .....    | 31 |
| 4.4. Identifikasi Senyawa Penciri Golongan <i>Acetogenin</i> .....         | 33 |
| 4.5. Stabilitas Analit Selama Kromatografi .....                           | 35 |
| 4.6. Stabilitas Hasil Derivatisasi .....                                   | 37 |
| 4.7. Presisi dan Presisi Antara .....                                      | 39 |
| 4.6.1. Presisi dan Presisi antara ekstrak daun sirsak dataran rendah ..... | 40 |
| 4.6.2. Presisi dan presisi antara ekstrak daun sirsak dataran tinggi.....  | 42 |
| 4.6.3. Presisi dan presisi antara ekstrak daun sirsak Campuran .....       | 44 |
| 4.8. Integrasi Hasil Penelitian Dalam Prespektif Al-Quran .....            | 46 |
| <br>   |    |
| BAB V PENUTUP .....  | 49 |
| 5.1. Kesimpulan.....   | 49 |
| 5.2. Saran.....  | 50 |
| <br>   |    |
| DAFTAR PUSTAKA .....   | 50 |
| LAMPIRAN.....  | 55 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 3.1 Uji Presisi.....   | 20 |
| Tabel 4.1 Rendemen ekstrak kasar daun sirsak .....   | 30 |
| Tabel 4.2 Spot penciri <i>acetogenin</i> hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak dataran rendah dengan eluen n-heksana : etil asetat (7.2 : 2.5).....  | 41 |
| Tabel 4.3 Spot penciri <i>acetogenin</i> hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak dataran tinggi dengan eluen n-heksana : etil asetat (7.2 : 2.5) ..... | 43 |
| Tabel 4.4 Spot penciri <i>acetogenin</i> hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak campuran (1:1) dengan eluen n-heksana : etil asetat (7.2 : 2.5).....  | 45 |



## DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| Gambar 2.1 Tumbuhan Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.).....                       | 10 |
| Gambar 2.2 Struktur umum <i>Acetogenin</i> .....                                   | 14 |
| Gambar 2.3 <i>Mono-THF Acetogenin core</i> .....                                   | 15 |
| Gambar 2.4 KLT dua dimensi.....  | 22 |
| Gambar 4.1 Pola kromatografi ekstrak daun sirsak .....                             | 32 |
| Gambar 4.2 Dugaan Reaksi <i>Acetogenin</i> dengan Reagen Vanilin-Sulfat .....      | 34 |
| Gambar 4.3 Stabilitas Analit selama kromatografi ekstrak daun sirsak .....         | 36 |
| Gambar 4.4 Stabilitas Visualisasi ekstrak daun sirsak.....                         | 38 |
| Gambar 4.5 Pola kromatografi uji presisi ekstrak dataran rendah .....              | 40 |
| Gambar 4.6 Pola kromatografi uji presisi ekstrak dataran tinggi.....               | 42 |
| Gambar 4.7 Pola kromatografi uji presisi ekstrak dataran tinggi : rendah (1:1).... | 44 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| Lampiran 1 Rancangan Penelitian .....                     | 55 |
| Lampiran 2 Diagram Alir.....                              | 56 |
| Lampiran 3 Pembuatan Reagen Vanilin-Sulfat.....           | 61 |
| Lampiran 4 Perhitungan Rf Presisi dan Presisi Antara..... | 64 |
| Lampiran 5 Resolusi Presisi dan Presisi antara .....      | 70 |
| Lampiran 5 Dokumentasi .....                              | 74 |



## ABSTRAK

Febrianto, Bagas. 2020. **Stabilitas Senyawa Acetogenin Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Variasi Lama Penotolan dan Pengamatan Lampu UV**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Pembimbing II : Lulu'atul Hamidatu Ulya M.Sc

---

**Kata Kunci** : Daun Sirsak, *acetogenin*, ekstraksi ultrasonik, KLT, stabilitas

Daun sirsak memiliki senyawa khas yaitu *Acetogenin*. Senyawa *Acetogenin* memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas profil ekstrak daun sirsak dataran tinggi dan dataran rendah. Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik. Kelebihan ekstraksi ultrasonik adalah ekstraksinya lebih efisien, dan aman untuk senyawa bioaktif. Ekstraksi dilakukan pada tiga variasi sampel daun sirsak yaitu daun sirsak dataran rendah, dataran tinggi, dan campuran dataran rendah: dataran tinggi (1:1) secara ultrasonik selama 10 menit menggunakan pelarut etanol. Pemisahan KLT menggunakan Fase gerak n-heksana dan etil asetat (7.5:2.5). Derivatisasi hasil pemisahan KLT menggunakan reagen vanillin-asam sulfat. Kemunculan senyawa golongan *Acetogenin* ditandai dengan pita atau spot berwarna hijau kebiruan dalam sinar tampak dan menghasilkan warna merah-oranye pada sinar ultraviolet 366 nm. Pengujian stabilitas dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis.

Hasil analisis menunjukkan bahwa dugaan senyawa golongan *acetogenin* sampel dataran tinggi teramati nilai  $R_f = (0,12; 0,16; 0,23; 0,28; 0,41; 0,5)$ . Untuk sampel dataran rendah teramati dengan nilai  $R_f = (0,1; 0,23; 0,38; 0,51; 0,61; 0,66; 0,89; 0,91)$ . Hal ini menunjukkan adanya perbedaan pola kromatografi yang terbentuk dari jumlah spot dan nilai  $R_f$  nya. Perbedaan dikarenakan faktor geografis yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder. Hasil analisis kestabilan menunjukkan bahwa seluruh variasi ekstrak kurang stabil selama proses kromatografi karena masih terdapat spot diluar garis diagonal. Uji stabilitas visualisasi diketahui alat stabil dengan intensitas warna pola tidak berubah selama 60 menit. Uji presisi menunjukkan hasil yang baik antar pengulangan selama tiga hari pada ekstrak dataran rendah dan dataran tinggi dengan nilai SD  $R_f$  yang teramati kurang dari 5% (0,05).

## ABSTRACT

Febrianto, Bagas. 2020. **Stability of Acetogenin Compound Soursop Leaves (*Annona muricata* Linn) Result of Ultrasonic Extraction Variation of Bottling Time and UV Lamp Observation.** Thesis. Chemistry Department, Faculty of Sains and Technology. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Supervisor II : Lulu'atul Hamidatu Ulya M.Sc

---

**Keywords:** Soursop leaves, acetogenin, Ultrasonic extraction, TLC, stability.

Soursop leaves have a distinctive compound, namely acetogenin. Acetogenin compounds have potential as an anticancer. Aims of this research to determine the stability of the high and lowland soursop leaf extract profile. Extraction using the ultrasonic method. The advantages of ultrasonic extraction are that it is efficient and safe for bioactive compounds. Extraction was carried out on lowland, highland, and lowland: highland (1: 1) mixture Soursop leaf with ultrasonic for 10 minutes using ethanol solvent. Separation of TLC used mobile phase n-hexane and ethyl acetate (7.5: 2.5). Derivatization of the result TLC separation using vanillin-sulfuric acid reagent. The acetogenin group compounds indicated by a red-orange color in UV light 366 nm. Stability testing was carried out using TLC method.

The results of the analysis showed the suspected compounds of the acetogenin group in the highland samples were observed Rf value = (0.12; 0.16; 0.23; 0.28; 0.41; 0.5). Lowland samples were observed with a value of Rf = (0.1; 0.23; 0.38; 0.51; 0.61; 0.66; 0.89; 0.91). This shows that there are differences in chromatographic patterns formed from the number of spots and their Rf value. There are Geographical factors that affect the content of secondary metabolites. All variations of the extract were less stable during the chromatography process because there were still spots outside the diagonal line and visualization stability was stable for 60 minutes. The precision showed good results between repetitions for three days on the lowland and upland extracts with the observed SD Rf value less than 5%.



### مستخلص البحث

فيريانطا، باغاس. ٢٠٢٠ . إستقرار المستحضر أحيوتوغينين ورقة القشطة الشائكة أنونا مريجاتا لين حصيلة إستخلاص فوق صوتي الألوان السابقة فنوتولان وملاحظة المصباح يوفي . البحث العلمي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف ١: ايلوك كاملة حياة الماجستير. المشرف ٢: لؤلؤة الحميدة عليا الماجستير.

الكلمات المفتاح : ورقة القشطة الشائكة، أحيوتوغينين، إستخلاص فوق صوتي، TLC، إستقرار.

أوراق قشطة شائكة لها مركب مميز ، وهو الأستوجينين (*Acetogenin*). مركبات الأستوجينين لها القدرة على أن تكون مضادة للسرطان تهدف هذه الدراسة إلى تحديد ثبات ملف مستخلص أوراق نبات القشطة الشائكة في الأراضي المرتفعة والمنخفضة. الاستخراج بطريقة الموجات فوق الصوتية. تتمثل مزايا الاستخراج بالموجات فوق الصوتية في أنه أكثر كفاءة وأماناً للمركبات النشطة بيولوجياً. تم إجراء الاستخراج على ثلاثة أنواع مختلفة من عينات أوراق القشطة الشائكة ، وهي محاليل الأراضي المنخفضة والمرتفعة والمنخفضة: محاليل المرتفعات (١ : ١) باستخدام الموجات فوق الصوتية لمدة ١٠ دقائق باستخدام مذيب الإيثانول. لقد تم الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الذي يستخدم المرحلة المتحركة وهو من "ن الهكسان" و "إيثيل الأسيتات" (٧.٥:٢.٥). اشتقاق نتيجة فصل TLC باستخدام كاشف حمض الفانيلين والكبريتيك. يشار إلى ظهور مركبات مجموعة الأستوجينين من خلال شريط أو بقعة خضراء مزرقة في الضوء المرئي وتنتج لوناً أحمر برتقالياً في ٣٦٦ نانومتر من الضوء فوق البنفسجي. تم إجراء اختبار الثبات باستخدام طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

أظهرت نتائج التحليل أن المركبات المشتبه بها لمجموعة الأستوجينين في عينات المرتفعات لوحظت بقيمة  $Rf = (٠.١٢ : ٠.١٦ ؛ ٠.٢٣ ؛ ٠.٢٨ ؛ ٠.٤١ ؛ ٠.٥)$ . لوحظت عينات الأراضي المنخفضة بقيمة  $Rf = (٠.١ ؛ ٠.٢٣ ؛ ٠.٣٨ ؛ ٠.٥١ ؛ ٠.٦١ ؛ ٠.٦٦ ؛ ٠.٨٩ ؛ ٠.٩١)$ . هذا يدل على أن هناك اختلافات في الأنماط الكروماتوغرافية المتكونة من عدد النقاط وقيمة التردد اللاسلكي الخاصة بهم يرجع الاختلاف إلى العوامل الجغرافية التي تؤثر على محتوى المستقلبات الثانوية. أظهرت نتائج تحليل الثبات أن جميع الاختلافات في المستخلص كانت أقل ثباتاً أثناء عملية الكروماتوغرافيا لأنه لا تزال هناك نقاط خارج الخط المائل. أظهر اختبار ثبات التصور أن التحليلات كانت مستقرة مع عدم تغير كثافة اللون للنمط لمدة ٦٠ دقيقة. أظهر اختبار الدقة نتائج جيدة بين التكرار لمدة ثلاثة أيام على مستخلصات الأراضي المنخفضة والمرتفعة مع قيمة  $SD Rf$  المرصودة أقل من ٥% (٠.٠٥).

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Daun sirsak merupakan salah satu daun yang kaya akan minyak dan protein serta senyawa metabolit sekunder bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, saponin, polifenol, kumarin, pitosterol, antarkuinon, lakton dan senyawa *acetogenins* (Badrie dan Schauss, 2010; Gavamukulya, dkk., 2014). Daun sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Senyawa bioaktif pada daun sirsak mampu bersifat antibakteri, antivirus, antijamur, antimikroba dan sitotoksik (Siswarni, dkk., 2016). Daun sirsak dapat bersifat sitotoksik karena daun sirsak memiliki kandungan *acetogenin* yang melimpah dibandingkan dengan bagian tumbuhan sirsak lainnya, seperti biji sirsak yang kaya kandungan *alkaloid annoaine* yang bermanfaat sebagai pestisida nabati, akar sirsak yang kaya kandungan tanin dan alkaloid yang bermanfaat sebagai pestisida nabati, antidiabetes dan untuk menurunkan tekanan darah (Puriyanti, dkk., 2018).

Aneka ragam manfaat yang dimiliki oleh daun sirsak yang merupakan kekuasaan Allah Swt. yang patut untuk disyukuri dan merenunginya. Allah Swt. berfirman dalam surah Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS: Asy-Syu'ara: 7)

Ayat tersebut dijelaskan dalam tafsir Al-Misbah oleh Shihab (2005) bahwa Allah Swt. yang mengeluarkan dari bumi ini beraneka ragam tumbuh-tumbuhan yang mendatangkan manfaat. Dan itu semua hanya dapat dilakukan oleh Tuhan yang Mahaesa dan Mahakuasa. Sebenarnya, jika mereka bersedia merenungi dan mengamati hal itu, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk.

Berdasarkan penjelasan tersebut Allah Swt. menciptakan tumbuhan di bumi pasti memiliki manfaat bagi makhluk hidup, sehingga kita sebagai manusia yang diberikan akal seharusnya merenungi dan mempelajari akan petunjuk Allah tersebut dan dapat mensyukuri dan mengetahui kebenaran Allah Swt. akan ciptaan-Nya. Berdasarkan penjelasan tafsir tersebut juga manfaat tumbuhan yang diciptakan Allah Swt. dapat digunakan untuk berbagai hal untuk memenuhi kebutuhan hidup di dunia seperti bahan makanan yang bergizi, pelindung dari bencana dan kerusakan bumi, dan lain lain. Salah satu manfaatnya yaitu dapat digunakan sebagai obat, seperti pada penelitian daun sirsak yang akan dilakukan ini bahwasanya daun sirsak diketahui memiliki kandungan yang dapat digunakan sebagai obat. Salah satu kandungan dalam daun sirsak yaitu senyawa bioaktif *Acetogenin*.

*Acetogenin* ( $C_{35}H_{64}O_7$ ) adalah senyawa metabolit sekunder terpenting yang terdapat pada tanaman sirsak dan juga ditemukan pada tanaman dari keluarga *annonaceae*. *Acetogenin* merupakan senyawa turunan polikatida yang memiliki karbon rantai panjang (35-39) alifatik dengan gugus hidroksil, dan asetil karbonil serta cincin 1-3 tetrahidrofuran. *Acetogenin* memiliki karakteristik dengan adanya dua unit fungsional *tetrahydrofuran hydroxylated* (THF), dan cincin  $\gamma$ -laktone  $\beta$ -unsaturated. Senyawa *acetogenins* dapat mengalami penurunan

pada suhu di atas 60°C dikarenakan teroksidasi dan strukturnya cenderung berubah strukturnya sehingga aktivitas sitotoksik akan menurun (Siswarni, dkk., 2016). Rantai *furanone* dalam gugus *hydrofuranone* memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi, dimana dapat menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Rachmani, E. 2012).

Senyawa bioaktif *acetogenin* pada daun sirsak dapat dipisahkan menggunakan metode ekstraksi. Salah satunya yaitu metode ekstraksi menggunakan ultrasonik. Metode ekstraksi ultrasonik merupakan salah satu metode alternatif ekstraksi yang efektif meminimalisir penggunaan pelarut organik dan dengan waktu ekstraksi yang relatif singkat (Sapkale, dkk., 2010). Metode ini menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik yang memiliki frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz (Suslick, 1988). Ultrasonik memiliki sifat *non-destructive* dan *non-invasive*, maka dari itu dapat dengan mudah diterapkan ke berbagai aplikasi (Cameron dan Wang, 2006).

Penelitian Manarizki (2019) melaporkan bahwa rendemen ekstrak daun sirsak hasil ekstraksi metode ultrasonik terbesar diperoleh pada pelarut etanol dengan lama ekstraksi 10 menit sebesar 3,09% dan pada 20 menit yaitu 3,39 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kepolaran senyawa yang terkandung dalam daun sirsak memiliki kepolaran yang mendekati kepolaran pelarut etanol. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan digunakan pelarut etanol. Ekstraksi etanol dari *Annonaceae* untuk mendapatkan *acetogenin* merupakan metode umum yang digunakan, hampir semua *acetogenin* dapat dengan mudah larut dalam pelarut organik. *Annonaceous acetogenin* bersifat sedikit polar dan mudah larut dalam

pelarut organik pada umumnya sehingga ekstraksi menggunakan etanol mampu mendapatkan senyawa organik sebanyak-banyaknya dari daun sirsak.

Rendemen suatu hasil ekstraksi juga dipengaruhi oleh faktor biologis salah satunya lokasi pengambilan sampel. Dalam penelitian Setyorini (2016) menyatakan bahwa rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang diambil dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah ( $\pm 1200$  mdpl) memberikan rendemen sebanyak 19,52 % sedangkan daun sirsak yang diambil dari daerah Bogor, Jawa Barat ( $\pm 300$  mdpl) memberikan rendemen sebanyak 18,94 %. Oleh karena itu pada penelitian ini juga akan dilakukan perbandingan pengujian stabilitas hasil ekstraksi pada sampel yang diambil dari lokasi yang berbeda untuk mengetahui apakah memiliki perbedaan atau tidak.

Salah satu metode identifikasi senyawa bioaktif *acetogenin* pada daun sirsak dapat menggunakan metode pemisahan kromatografi lapis tipis (Kristanti dkk., 2008). Berdasarkan penelitian Grzybowski, et al (2012) hasil pemisahan dengan KLT menunjukkan profil kromatografi ekstrak kasar etanol dari *A. muricata* dengan nilai  $R_f$  yang sama dengan polar *acetogenin* (pGA) yaitu pada  $R_f = 0.27$  menunjukkan senyawa golongan *acetogenin* mono THF. Polar *acetogenin* yang dimurnikan digunakan sebagai referensi standard untuk mengetahui profil senyawa *acetogenin* karena pada hasil C-NMR menunjukkan bahwa isolat murni dari pAG ditemukan bahwa terdapat pasangan karbon yang mengapit cincin THF pada 74,1 ppm dan 73.9 ppm yang sesuai dengan referensi pada “*journal of natural product*” Rupprecht (1990).

Profil kromatografi ekstrak kasar hasil elusi akan diuji Stabilitasnya. Salah satunya yaitu stabilitas hasil derivatisasi visualisasi kromatografi. Uji

stabilitas hasil derivatisasi ini dilakukan dengan pengamatan selama 60 menit pada lampu UV dengan didokumentasikan pada menit ke-2,5,10,20,30, dan 60. Variasi dokumentasi dilakukan pada menit ke-2,5,10,20,30, dan 60 ini untuk mengetahui waktu tunggu yang tepat untuk melakukan deteksi hasil kromatografi. Waktu tunggu yang dimaksudkan yaitu untuk pendeteksian spot apakah harus menunggu selama 30 sampai 60 menit dahulu setelah derivatisasi atau sesegera mungkin dideteksi setelah diderivatisasi (Reich, 2006).

Beberapa penelitian telah melaporkan stabilitas hasil derivatisasi kromatogram pada plat yang telah disemprotkan pereaksi asam sulfat 10% v/v selama 60 menit pada saat 2, 5, 10, 15, 30, 60 menit yang diamati di bawah sinar UV 366 nm. Fatimah (2018), Karimah (2017), dan Astuti (2016) masing-masing melaporkan bahwa jumlah pita dan pola pemisahan hasil derivatisasi rimpang kencur, daun jati belanda, dan daun jambu biji tidak mengalami perubahan selama 60 menit, walaupun terjadi penurunan intensitas warna pita setelah 30 menit namun tidak ada pita yang hilang, sehingga dapat dikatakan bahwa hasil derivatisasi visualisasi analit stabil selama 60 menit.

Beberapa penelitian juga melaporkan uji presisi. Salah satunya yaitu Presisi antara yang mengekspresikan variasi dalam laboratorium seperti hari yang berbeda, analisis yang berbeda, peralatan yang berbeda. Variasi presisi antara yang sering dilakukan dalam penelitian validasi metode secara kualitatif yaitu dengan variasi penotolan ekstrak pada 1 hari, 2 hari, dan 3 hari pada sinar UV 366 nm setelah derivatisasi dengan reagen. Hal tersebut dilakukan untuk mengamati pengaruh lingkungan penyimpangan yang dapat berbeda antar hari, dimana syarat dapat diterima uji ini jika perbedaan SD  $R_f$  pita tidak lebih dari 0,05 (Reich dan

Schibli, 2006). Pada penelitian Yang, *et.al* (2010) uji presisi dan presisi antara pada 3 hari yang berbeda pada 10 senyawa turunan golongan *annonaceous acetogenin* pada *Annona squamosa* diperoleh % RSD keseluruhan kurang dari 3,66 %. Hasil tersebut dapat diterima karena %RSD kurang dari 0.05 (5%). Sehingga metode presisi dengan variasi 3 hari berbeda dapat digunakan pada senyawa *annonaceous acetogenin* untuk validasi metode pada tanaman *Annona muricata* yang merupakan satu keluarga *annonaceae*.

Berdasarkan uraian tersebut, daun sirsak penting untuk dilakukan validasi metode untuk mengevaluasi kualitas dan stabilitas banyak senyawa bioaktifnya dengan mengamati senyawa khas daun sirsak yaitu *acetogenin*. Validasi metode dilakukan menggunakan Teknik KLT karena telah umum dilakukan dalam berbagai analisis multikomponen tanaman obat di bidang farmasi. Urgensi dilakukan penelitian ini untuk memastikan kualitas dan stabilitas profil kromatografi ekstrak kasar daun sirsak yang memungkinkan dapat digunakan sebagai marker untuk membantu pembuatan produk yang konsisten.

Penelitian ini akan dilakukan ekstraksi ultrasonik senyawa *acetogenin* dari daun sirsak menggunakan pelarut etanol. Identifikasi yang digunakan untuk mengetahui profil kromatografi senyawa *acetogenin* pada analisis KLT ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) yang diambil dari dua tempat yakni dataran tinggi dan dataran rendah. Menggunakan eluen n-heksana: etil asetat dengan melakukan analisis berdasarkan validasi metode secara kualitatif sehingga dapat dipastikan konsistensi dan kualitas senyawa *acetogenin* ekstrak kasar daun sirsak.

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana stabilitas profil kromatografi selama proses kromatografi pada analisis KLT ekstrak daun Sirsak (*Annona muricata* L)?
2. Bagaimana stabilitas profil kromatografi hasil derivatisasi visualisasi pada analisis KLT ekstrak daun Sirsak (*Annona muricata* L)?
3. Bagaimana stabilitas profil kromatografi antar ulangan selama tiga hari pada analisis KLT ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) dari sampel yang berbeda tempat?

### 1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian yang akan dilaksanakan adalah:

1. Untuk mengetahui stabilitas profil kromatografi selama proses kromatografi dan pada analisis KLT ekstrak daun Sirsak (*Annona muricata* L).
2. Untuk mengetahui Stabilitas profil kromatografi hasil derivatisasi visualisasi pada analisis KLT ekstrak daun Sirsak (*Annona muricata* L).
3. Untuk mengetahui Stabilitas profil kromatografi antar ulangan selama tiga hari pada analisis KLT ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) dari sampel yang berbeda tempat.

### 1.4. Batasan Masalah

Agar pembahasan tidak menyimpang, maka penulis menentukan batasan masalah sebagai berikut:

1. Sampel yang diambil adalah tumbuhan sirsak yang tumbuh di daerah dataran rendah dan dataran tinggi yang diambil bagian daun urutan ke-3 sampai ke-6
2. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%



3. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana : etil asetat (7,5:2,5)
4. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi ultrasonik selama 10 menit
5. Pengamatan di bawah lampu UV selama 60 menit didokumentasi pada saat menit ke-2,5,10,20,30,60 untuk uji stabilitas hasil derivatisasi

#### **1.1. Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi mengenai stabilitas senyawa *acetogenin* daun sirsak hasil ekstraksi ultrasonik yang diambil dari tempat yang berbeda kondisi lingkungannya dan dapat digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya dan evaluasi kendali mutu tanaman obat di masyarakat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Sirsak

##### 2.1.1. Morfologi

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tumbuhan berupa pohon yang ukurannya tidak begitu besar dengan tinggi pohon antara 3-8 meter. Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua., Ukuran buahnya agak besar, dengan berat rata-rata 0,2-2 kg. Buahnya yang sudah tua memiliki tanda-tanda, seperti jarak duri renggang, tangkai buah menguning, aroma lebih harum dan menusuk. Tumbuhan sirsak dapat tumbuh di sembarang tempat. Buah yang besar dan banyak dapat diperoleh dengan cara ditanam di daerah yang tanahnya cukup mengandung air. Sirsak di Indonesia tumbuh dengan baik pada daerah yang mempunyai ketinggian kurang dari lima meter di atas permukaan laut. Pengembangbiakan sirsak yang paling baik adalah melalui okulasi dan akan menghasilkan buah pada usia 4 tahun setelah ditanam (Oberlies, 2003; Widyastuti, 1992).

Tanaman ini banyak digunakan di Indonesia dalam pengobatan tradisional. Daun sirsak secara tradisional juga digunakan untuk mengobati sakit kepala, demam, sakit gigi, batuk dan asma. Sirsak juga digunakan sebagai pengobat antikanker dengan meminum rebusan daunnya. Daun sirsak berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun yang

meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. (Sunarjono, 2005).

### 2.1.2. Klasifikasi

Tumbuhan sirsak dalam Taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut (Sunarjono, 2005):

|              |   |
|--------------|---|
| Kingdom      | : Plantae (Tumbuhan)                      |
| Subkingdom   | : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)    |
| Super Divisi | : Spermatophyta (Menghasilkan biji)       |
| Divisi       | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)       |
| Kelas        | : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil) |
| Sub Kelas    | : Magnoliidae                             |
| Ordo         | : Magnoliales                             |
| Famili       | : Annonaceae                              |
| Genus        | : Annona                                  |
| Spesies      | : <i>Annona muricata</i> L.               |



Gambar 2.1 Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L.)  
(balitbu.litbang.pertanian.go.id)

### 2.1.3. Manfaat dan Kandungan Daun Sirsak

Manusia diciptakan oleh Allah memiliki akal untuk berfikir dan untuk senantiasa beribadah kepada-Nya. Manusia hendaknya dapat memikirkan dan menyadari petunjuk yang Allah berikan salah satunya yaitu Allah menumbuhkan

beranekaragam tumbuhan. Allah Swt. berfirman dalam Al-Qur'an Surah An-Nahl ayat 11 yakni:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS: An-Nahl: 11)

Tumbuhan yang telah Allah Swt. ciptakan di dunia memiliki berbagai manfaat bagi manusia. Segala manfaat dari tumbuhan yang diciptakan Allah Swt. merupakan kekuasaan Allah Swt. bagi manusia karena manusia diberikan akal untuk berfikir dan mempelajari sesuatu. Dalam tafsir Al-Wajiz oleh Wahbah (1982) pada ayat di atas firman Allah Swt. “benar-benar terdapat tanda” tanda tersebut yakni tanda yang jelas akan keberadaan Allah Swt., kekuasaan, ilmu, hikmah, dan kasih sayang-Nya yang mengharuskan kita untuk beribadah kepada-Nya. Namun itu semua “bagi kaum yang memikirkan.” Dari apa yang telah dipikirkan tersebut mereka bisa mengambil pelajaran dari apa yang Allah tandakan. Bentuk pelajaran yang dapat diambil selain ma'rifatullah (mengetahui Allah) yaitu berfikir dan memahami manfaat tumbuhan yang telah Allah Swt. ciptakan. Salah satunya yaitu manfaat pada tanaman sirsak. Tidak hanya pada buahnya saja yang bisa dimanfaatkan, daunnya pun dapat dimanfaatkan. Bagian daun Sirsak memiliki manfaat salah satunya sebagai obat alami untuk mengatasi segala jenis penyakit.

Daun sirsak digunakan sebagai antispasmodik, emetik, dan obat herbal. Ramuan daun dapat digunakan untuk membunuh kutu kepala dan kutu busuk, sementara teh dari daun ini terkenal di Hindia Barat memiliki sifat obat penenang. Jus buah diambil secara oral untuk hematuria, keluhan hati, dan urethritis (Badrie.dkk.,2010). Daun sirsak mengandung senyawa *acetogenin*, *annonatacin*, *annonacatalin*, *annonahexocin*, *annonacin*, *annomuricin*, *annomurin*, *anonol*, *caclourin*, *genticid acid*, *gegantronin*, *linoleic acid* dan *muricapentocin*. *Annonaceous acetogenins* hanya terdapat dalam familia *Annonaceae*. *Annonaceous acetogenins* yang ada dalam tanaman sirsak yaitu: *annocatalin*, *annohexocin*, *annomonacin*, *annomontacin* dan sejenisnya. Tanaman sirsak menghasilkan senyawa alami ini pada daun, batang, kulit kayu, buah, dan biji. Daun sirsak selain memiliki kandungan senyawa *acetogenin* juga mempunyai kandungan senyawa aktif alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid. Tanaman yang mengandung flavonoid dan alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik. Selain itu senyawa aktif tanin juga mampu menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Perbedaan kondisi lingkungan pada tempat tumbuh suatu tanaman dapat menyebabkan terjadinya perbedaan jenis dan jumlah dari metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman (Rahman, 2017).

Daun sirsak yang memiliki kadar metabolit sekunder yang cukup banyak pada daun ke-3 sampai ke-5. Dalam penelitian handayani (2016) melaporkan rendemen ekstrak ultrasonik daun sirsak yang berada pada ranting urutan 3 – 5 dari pucuk selama 20 menit yaitu sekitar 12%. Kemudian pada penelitian Lilbaiq (2017) ekstrak daun sirsak pada ranting urutan 4 dan 5 menghasilkan rendemen

sebanyak 14,97%. dan pada penelitian Rusmiyati (2014) menyatakan juga bahwa daun sirsak pada urutan ke-4 memiliki bioaktivitas yang lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan daun sirsak urutan ke-2. Nazmi (2013) melakukan uji fitokimia terhadap daun sirsak gundul (*Annona glabra*) menunjukkan bahwa terdapat golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, dan tanin. Iskandar, *et. al.* (2012) juga melakukan uji fitokimia terhadap ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan bahwa daun sirsak mengandung golongan senyawa alkaloid, kuinon, tanin, flavonoid, dan steroid. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan biasanya tersebar merata ke seluruh bagian tumbuhan tetapi memiliki kadar yang berbeda-beda (Robinson, 1995).

## **2.2. Annonaceous Acetogenin**

### **2.2.1. Pengertian dan Manfaat Acetogenin**

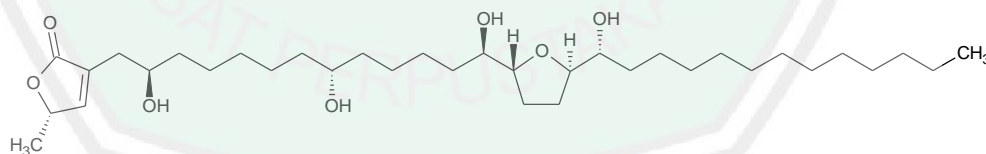
*Annonaceous Acetogenin* adalah serangkaian produk alami dengan rantai C-35 / C-37 yang berasal dari asam lemak C-32 / C-34 yang dikombinasikan dengan unit 2-propanol. Mereka biasanya dicirikan dengan rantai alifatik panjang yang mengandung cincin R-lakton yang tersubstitusi oleh metil terminal,  $\alpha$ ,  $\beta$  tak-jenuh  $\gamma$ -cincin-lakton (kadang-kadang disusun ulang menjadi ketolakton). dengan satu, dua, atau tiga cincin tetrahidrofuran (THF) yang terletak di sepanjang rantai hidrokarbon dan sejumlah gugus teroksigenasi (hidroksil, asetoksil, keton, epoksida) dan / atau ikatan rangkap yang ada (alali, 1999).

*Annonaceous acetogenins* diklasifikasikan menurut stereo struktur relatif mereka di cincin THF. klasifikasi itu lebih informatif daripada metode lain dan lebih mengarah ke sejumlah besar subkelas. *Annonaceous acetogenins* paling

baik diklasifikasikan menjadi mono-THF, bis-THF yang berdekatan, bis-THF tidak berdekatan, cincin non-THF, tri-THF, dan asetogenin non-klasik (THP dan senyawa THF cincin-terhidroksilasi), diikuti oleh subklasifikasi dari variasi  $\alpha$ -lakton,  $\gamma$ -lakton tersubstitusi, atau ketolakton (alali, 1999).

*Annonaceous acetogenins* secara umum telah diketahui memiliki sifat antitumor, antiparasit, insektisida, dan aktivitas antimikroba. *Annonaceous acetogenins* telah menunjukkan toksisitas selektif untuk sel tumor pada dosis yang sangat rendah (Zuhud, 2011). Sehingga *Annonaceous Acetogenin* bermanfaat untuk mengobati kanker dan tumor dalam tubuh seperti: kanker hati, kanker pankreas, kanker usus besar, dan kanker paru-paru, tumor human breast solid dan tumor paru-paru. kanker leukemia serta dua jenis kanker payudara (MDAMB 231 dan MCF-7) dan jenis jenis kanker lainnya (Warisno, 2012). Penjelasan diatas telah dibuktikan dalam penelitian (Rachmani, 2012) bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki aktivitas sitotoksik dalam garis sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  sebesar 17,149  $\mu\text{g/mL}$ .

### 2.2.2. Sifat Fisik dan Sifat Kimia Acetogenin

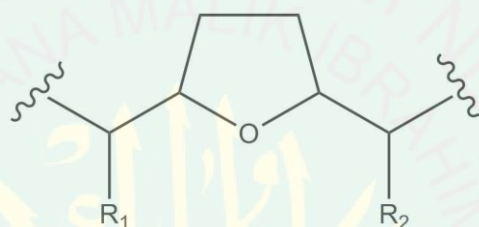


**Gambar 2.2: Struktur Umum Acetogenin**

*Acetogenin* memiliki nama (IUPAC) (2*S*)-2-Methyl-4-[(2*R*,8*R*,13*R*)-2,8,13-trihydroxy-13-[(2*R*,5*R*)-5-[(1*R*)-1-hydroxytridecyl] oxolan-2-yl] tridecyl]-2*H* furan-5-one. Dengan rumus molekulnya dari *acetogenin* adalah  $C_{35}H_{64}O_7$  serta memiliki massa molekul relatif ( $M_r$ ) 596,88 g/mol. *Acetogenin* merupakan

senyawa dengan polaritas yang rendah dan strukturnya cenderung berubah pada temperatur lebih dari 60°C dan hasil ekstraksinya rendah menggunakan metode ekstraksi pelarut organik klasik (Siswarni, 2016).

*Acetogenin* merupakan senyawa dengan rantai panjang asam lemak 35-37 karbon yang diakhiri oleh sebuah  $\gamma$ -laktone baik jenuh maupun tidak jenuh serta memiliki 1-3 cincin tetrahydrofuran (THF). ekstrak daun sirsak paling banyak menunjukkan jenis *acetogenin* mono tetra hydrofuran (Siswarni, 2016). struktur *Mono-THF acetogenin* dapat dilihat pada gambar berikut:



**Gambar 2.3: Mono-THF Acetogenins Core**

### 2.3. Teknik Pemisahan Senyawa Aktif

#### 2.3.1 Ekstraksi Ultrasonik

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik adalah metode yang menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz (Suslick, 1988). Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik yaitu gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati akan menimbulkan getaran. Getaran yang terjadi akan menimbulkan suatu gelembung yang dapat memecah dinding sel suatu tanaman, sehingga senyawa pada tanaman dapat terekstrak lebih banyak karena getaran yang diberikan pada proses ekstraksi mengakibatkan pengadukan yang intensif antara bahan dan pelarut, sehingga dapat mempercepat proses ekstraksi. Frekuensi dari ultrasonik yaitu antara 20 kHz – 500 MHz (Thompson,dkk , 1999).



Faktor-faktor ekstraksi yang mempengaruhi kinerja ekstraksi adalah suhu, lama ekstraksi, ukuran partikel, jenis pelarut, pH media ekstraksi, jumlah ekstraksi, dan degradasi senyawa selama ekstraksi juga dapat mempengaruhi ekstraksi ultrasonik. Kelebihan metode ekstraksi ultrasonik ini adalah proses ekstraksinya yang berlangsung lebih cepat daripada metode ekstraksi konvensional (Garcia dan Castro, 2004). Metode ini juga lebih aman dan meningkatkan jumlah rendemen. Sedangkan menurut Fuadi (2012) menyatakan bahwa pada penelitian ekstraksi ultrasonik sebagai alat bantu ekstraksi oleoresin jahe menunjukkan bahwa proses ekstraksi menggunakan ultrasonik menghasilkan rendemen sebesar 7,434% dalam waktu 4 jam, sedangkan rendemen yang hampir sama diperoleh dalam waktu 7 jam untuk ekstraksi Soxhlet.

Berdasarkan penelitian (Handayani, 2016) perlakuan terbaik hasil ekstraksi ultrasonik yang diperoleh pada perlakuan dengan rasio bahan : pelarut sebesar 1 : 10 (b/v) dan lama ekstraksi 20 menit serbuk daun sirsak menghasilkan rendemen sebesar 11,72%. Sedangkan pada penelitian (Yuliantari, 2017) menjelaskan bahwa bahwa rendemen ekstrak daun sirsak tertinggi terdapat pada perlakuan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 19,14%, yang tidak berbeda nyata dengan suhu 35°C dengan waktu 20 dan 30 menit. Suhu dan waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan rendemen ekstrak daun sirsak yang optimal.

Ultrasonik bersifat non-destructive dan non-invasive, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Salah satu manfaat metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi. Hal ini dibuktikan dengan penelitian Cameron and Wang (2006) tentang ekstraksi pati jagung yang menyebutkan rendemen pati jagung yang didapat dari proses

ultrasonik selama 2 menit adalah sekitar 55,2-67,8 % hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4%. Dengan penggunaan ultrasonik proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada didalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason,1990).

### **2.3.2 Pemisahan Senyawa Acetogenin dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Prinsip kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu ditotolkan senyawa yang akan dipisahkan di dekat salah satu sisi lempeng. Lalu sisi lempeng yang sudah ditotol di masukkan ke dalam fasa gerak (eluen) yang sesuai. Eluen umumnya adalah campuran senyawa organik. Lalu pelarut akan menyerap sepanjang lempeng sampai ke atas bersama dengan gerakan itu. Zat zat terlarut diangkut dengan laju yang bergantung pada kelarutan mereka dalam fasa gerak itu dan pada intraksi mereka dengan zat padat. Setelah garis depan pelarut bermigrasi sekitar 10 cm, lempeng di ambil dan dikeringkan dan noda noda di periksa. (Soebagio,2003)

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (eluen) Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarutnya (misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran. Pelarut-pelarut pengembang harus memiliki kemurnian yang tinggi. Adanya sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak bagus, maka dari itu eluen pengembang yang digunakan harus memiliki potensi baik untuk memisahkan senyawa-senyawa aktif.

Identifikasi hasil pemisahan KLT dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi kimia dan reaksi-reaksi warna. Tetapi biasanya untuk identifikasi digunakan harga Rf. Nilai Rf merupakan perbandingan jarak tempuh solut dengan jarak tempuh eluen. Nilai Rf ditunjukkan pada Persamaan 2.1 (Yazid, 2005).

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak tempuh dari komponen}}{\text{jarak tempuh dari pelarut}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Harga maksimum untuk Rf adalah 1, sampel yang bermigrasi memiliki kecepatan sama dengan eluen. Harga minimum Rf adalah 0, teramat jika sampel tertahan pada posisi titik awal dipermukaan fase diam. Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa yang murni dapat dibandingkan dengan harga-harga Rf standar, harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Analisis KLT untuk mengetahui senyawa golongan *Acetogenin* pada daun sirsak pada penelitian (Vinothini,2016) yaitu : KLT analitik dilakukan pada gel silika 60 sebagai fase diam dan kloroform-metanol (9: 1) sebagai fase gerak. *Acetogenin* divisualisasikan dengan menyemprotkan reagen kedde pada pelat KLT. membentuk bintik warna ungu muda di hadapan *acetogenin*. kemudian pada penelitian (Pradana, 2015) Pemisahan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Menggunakan Fase gerak campuran diklorometana dan metanol dengan perbandingan 4,5: 0,5. Noda atau spot pada plat KLT menunjukkan warna merah muda pucat setelah dilakukan penyemprotan dengan reagen Kedde (3-5 dinitrobenzoat dan KOH dalam metanol)., hal ini menandakan bahwa pada fraksi metanol tersebut mengandung gugus lakton. Berdasarkan penelitian (Ranisharivony, 2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirsak yang di elusi menghasilkan spot golongan *acetogenin* tipe mono THF yaitu: annonacin,

annonacinon, dan murisolin masing masing pada Rf (0,23; 0,27; dan 0,34) dan telah diidentifikasi menggunakan MS, H-NMR, dan C-NMR. Pada penelitian Manarizki (2019) ekstrak yang memiliki pemisahan terbaik yaitu ekstrak etanol : 10 menit. Yang di elusi menggunakan n-heksana : etil asetat (6:4). Karena menghasilkan 7 noda dengan SD Rf antar ulangan sama dengan 0-0.004 dan resolusi sebesar 0,574. Hasil elusi diderivatisasi dengan disemprot reagen vanilin + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan diketahui dugaan adanya senyawa golongan *acetogenin* pada Rf = 0,56 karena terjadi perubahan warna dari merah (sebelum derivatisasi) menjadi oranye (setelah diderivatisasi) pada pengamatan lampu UV 366 nm. Dan diidentifikasi menggunakan FTIR diketahui adanya gugus  $\gamma$ -lakton pada serapan 1731.88 cm<sup>-1</sup>.

## 2.4. Validasi Metode

### 2.4.1. Gambaran Umum Validasi Metode

United States Pharmacopeia (USP) menjelaskan bahwa validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, dan reproduibel pada kisaran analit yang akan dianalisis. Secara singkat validasi merupakan sebuah tahapan konfirmasi bahwa metode analisis yang akan digunakan sesuai dengan tujuan yang diinginkan (Rohman, 2009). Validasi dimulai dengan menjelaskan tujuan analisis yang kemudian dilanjutkan pemilihan metode meliputi optimasi atau pengembangan metode yang tepat. Kegunaan lain dari Validasi metode ialah untuk menguji kekonsistenan dengan memeriksa stabilitas alat, pengujian ketahanan dan ketersalinanya. Dari seluruh parameter validasi yang disusun, dikerjakan, dan didokumentasikan. Kemudian dievaluasi dan dibandingkan dengan syarat keterterimaanya. Jika kriteria semuanya diterima

maka metode tersebut dinyatakan valid untuk digunakan sebagai analisis mutu suatu tanaman obat atau produk komersial (Rafi, dkk. 2017)

Menurut The United States Pharmacopeia 30th tahun 2007, metode analisis dapat dibedakan menjadi 4 kategori, yaitu:

- a) Kategori I: Mencakup prosedur analisis kuantitatif, untuk menetapkan kadar komponen utama bahan obat atau zat aktif dalam sediaan farmasi.
- b) Kategori II: Mencakup prosedur analisis kualitatif dan kuantitatif yang digunakan untuk menganalisis impurities dalam sediaan farmasi.
- c) Kategori III: Mencakup prosedur analisis yang digunakan untuk menentukan karakteristik penampilan suatu sediaan farmasi, misalnya disolusi dan pelepasan obat.
- d) Kategori IV (tes identifikasi): uji spesifitas tanaman obat dan produk komersial.

Uji stabilitas dapat dianggap sebagai metode kualitatif, tetapi metode uji ini memiliki unsur-unsur pengujian. Metode tersebut harus dapat mendeteksi degradasi sidik jari (kualitatif) dan perubahan jumlahnya. Metode kualitatif terutama untuk identifikasi tumbuhan perlu memvalidasi ketepatan dan ketahanan suatu metode, karena tanaman menunjukkan variabilitas alami yang cukup besar. Parameter validasi yang sering digunakan untuk mengetahui stabilitas tanaman obat dalam analisis menggunakan sistem kromatografi lapis tipis yaitu parameter presisi, stabilitas analit, dan stabilitas visualisasi hasil derivatisasi (Reich and schibli, 2006).

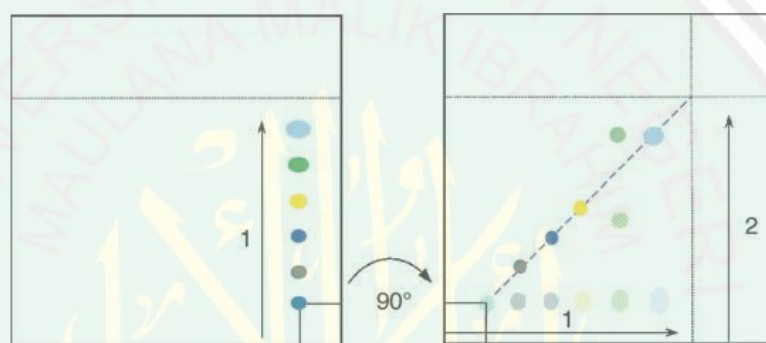
### 2.4.2. Presisi

Presisi dalam analisis kualitatif dapat dikaitkan dengan nilai Rf dari senyawa yang dipisahkan. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat dinyatakan sebagai *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (ketertiruan). Untuk Presisi antara (presisi dalam laboratorium) mengacu pada analisis sampel yang sama atau ekstraksi baru di laboratorium yang sama pada hari yang berbeda. Analisis *reproducibility* (ketertiruan) dapat dihitung sebagai deviasi standar dari nilai-nilai Rf yang diperoleh dalam analisis paralel dari setiap ulangan dari sampel yang sama. Kriteria penerimaan yang masuk akal adalah bahwa nilai Rf pada plat tidak lebih dari 0,01. Untuk analisis kualitatif pengulangan dapat dibangun secara visual hanya dengan membandingkan masing-masing lempeng. Berdasarkan nilai Rf yang diukur, ketepatan rata-rata setiap senyawa antar pelat dapat dihitung. Kriteria penerimaan yang masuk akal adalah bahwa nilai Rf dari bahan yang sama tidak bervariasi lebih dari 0,02. Presisi antara dapat diterima jika nilai Rf dari bahan yang sama bervariasi tidak lebih dari 0,05 antara pelat dari hari yang berbeda (reich and schibli, 2006).

### 2.4.3. Stabilitas

Metode pengukuran stabilitas analit yaitu: Stabilitas analit selama kromatografi, Stabilitas derivatisasi / hasil. Kromatogram dua dimensi dapat digunakan untuk menyelidiki stabilitas analit selama proses kromatografi berlangsung (termasuk langkah pengeringan). Dengan klt 2 dimensi lebih dapat menggambarkan konsistensi pola kromatografi. Larutan sampel ditotolkan berbentuk spot di bagian bawah pada sudut kanan pelat 10 x 10 cm (10 mm dari

masing-masing ujung). Dielusi dan dikeringkan sesuai dengan metode KLT. Kemudian pelat diputar 90 derajat ke kanan dan dikembangkan untuk kedua kalinya dengan eluen. Jika perlu, pelat diderivatisasi, lalu dievaluasi. Sampel stabil selama kromatografi jika semua spot terletak pada diagonal yang menghubungkan posisi aplikasi dengan persimpangan dua bidang pelarut. Setiap penyimpangan spot dari diagonal itu menunjukkan produk terdekomposisi. proses Kromatografi lapis tipis dua dimensi digambarkan seperti gambar 2.4 (reich and schibli, 2006).



**Gambar 2.4. KLT dua dimensi (Reich and schibli, 2006)**

Penentuan stabilitas Hasil derivatisasi dilakukan dengan pengamatan selama 1 jam pada lampu UV 366nm. Ekstrak diaplikasikan pada pelat 3x10 cm kemudian dilakukan pengembangan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Pelat diderivatisasi dengan pereaksi. Hasilnya didokumentasi setelah 2, 5, 10, 20, 30, dan 60 menit. Pita yang dihasilkan stabil jika tidak terjadi perubahan yang signifikan minimal selama 30 menit. Ada beberapa Dalam penelitian Fatahillah (2016) pada tanaman pegagan menunjukkan bahwa pengamatan warna hasil derivatisasi stabil selama lebih dari 60 menit. Dengan kepresisian yang dapat diterima karena nilai perbedaan Rf yang diperoleh kurang dari 0.05. Lalu pada penelitian Fatimah (2018) pada rimpang kencur

menunjukkan bahwa jumlah pita dan pola pemisahan hasil derivatisasi tidak mengalami perubahan selama 60 menit, walaupun terjadi penurunan intensitas warna pita setelah 30 menit .





## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Agustus 2020 hingga September 2020 di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

##### **3.2.1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, blender, gunting, pisau, ayakan 90 mesh, oven, neraca analitik, kaca arloji, penjepit kayu, kertas saring, ultrasonic bath (Bransonic 3510E-DTH), labu alas bulat, bejana pengembang (chamber) *Camag 10x10*, bola hisap, pipa kapiler, dan penggaris, lampu UV 366 nm.

##### **3.2.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang diperoleh dari daerah Balongbendo, Sidoarjo dan daerah Kota Malang, metanol, etanol (Et-OH), n-heksana: etil asetat, plat KLT silika gel GF<sub>254</sub>, asam sulfat, vanillin, dan aquades

#### **3.3. Rancangan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan validasi metode kualitatif. Pertama diambil daun sirsak pada bagian daun urutan ke-3 sampai ke-6 dari daun paling ujung ranting, kemudian dikeringanginkan lalu dihaluskan dengan blender. Kemudian diayak dengan ukuran 90 mesh. Serbuk kemudian dilakukan ekstraksi

ultrasonik dengan pelarut terbaik etanol dengan lama ekstraksi 10 menit. Ekstraksi yang digunakan memiliki frekuensi sebesar 42 kHz pada suhu kamar. Selanjutnya hasil ekstraksi ultrasonik disaring dan filtratnya merupakan ekstrak kasar senyawa *acetogenin*. Setelah itu ekstrak kasar *acetogenin* dilakukan deteksi dan derivatisasi komponen. Kemudian pemisahan menggunakan KLTA dengan eluen n-heksana: etil asetat (7,5:2,5) untuk dianalisis. Analisis yang dilakukan yaitu uji stabilitas hasil derivatisasi ekstrak daun sirsak, uji presisi, presisi antara, uji ketegaran jenis bejana, dan ketegaran jarang waktu pengembangan.

Analisis data yang dilakukan yaitu dengan menentukan simpangan baku Rf intraplat, antarpelat dan semua plat untuk menetapkan bahwa presisi dan ketegaran dapat diterima. Rancangan analisis data tersaji pada tabel 3.1 dan 3.2.

Tabel 3.1 Presisi senyawa pada pelat KLT

| Ekstrak          | Jalur | Hari ke-1      |                |                | Hari ke-2      | Hari ke-3      |
|------------------|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  |       | Plat 1         | Plat 2         | Plat 3         |                |                |
| Sampel X         | 1     | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> |
|                  | 2     | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> |
|                  | 3     | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>1</sup> | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> |
|                  | 4     | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> |                |                |
|                  | 5     | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> |                |                |
|                  | 6     | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> | U <sup>2</sup> |                |                |
|                  | 7     | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> |                |                |
|                  | 8     | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> |                |                |
|                  | 9     | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> | U <sup>3</sup> |                |                |
| SD Rf interplat  |       | x              | x              | x              | x              | x              |
| SD Rf antarpelat |       |                | x              |                | x              | x              |
| SD Rf semua plat |       |                |                | x              |                |                |

Ket :

U<sup>1</sup> : Ekstrak kasar pertama

U<sup>2</sup> : Ekstrak kasar kedua

U<sup>3</sup> : Ekstrak kasar ketiga

x : Nilai SD Rf

### 3.4. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel
2. Preparasi sampel
3. Ekstraksi senyawa *acetogenin* dengan ultrasonik pelarut etanol dan lama ekstraksi 10 menit
4. Uji presisi
5. Uji stabilitas ekstrak kasar *acetogenin* daun sirsak kromatografi lapis tipis
6. Analisis data

### 3.5. Cara Kerja

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Daun sirsak dipetik pada urutan daun ke-3 sampai ke-6 dari ujung daun kemudian dicuci dengan air terlebih dahulu. Daun dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara dikeringanginkan. Selanjutnya daun Sirsak dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk, kemudian serbuk diayak dengan ayakan 90 mesh dan disimpan di wadah plastik bersih.

#### 3.5.2 Ekstraksi Senyawa Acetogenin dengan Ultrasonik

Ekstraksi senyawa *Acetogenin* pada daun Sirsak dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik dengan pelarut terbaik penelitian (Manarizki, 2019) yaitu Etanol dan lama ekstraksi 10 menit. Ekstraksi dilakukan dengan cara 1 gram serbuk dilarutkan dengan 10 ml pelarut. Perbandingan yang digunakan yaitu (1:10). Selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilakukan ekstraksi ultrasonik pada frekuensi 42 KHz dan sesuai suhu kamar. Kemudian disaring hasil ekstraksi sehingga diperoleh filtrat yang diduga senyawa *acetogenin*.

### 3.5.3 Pembuatan Reagen Vanilin – Asam Sulfat

Vanilin sebanyak 0,5 gram dilarutkan pada 85 ml metanol, kemudian ditambahkan 10 ml asam asetat dan 5 ml asam sulfat. Saat pelarutan, larutan dikondisikan dalam suhu rendah dengan dimasukkan ke dalam *ice bath*.

### 3.5.4 Presisi (Reich and Schibli, 2006)

Dibuat ekstrak kasar dari sampel dataran rendah diekstraksi sebanyak tiga kali ulangan. Masing-masing ekstrak kasar diaplikasikan dalam 3 jalur berbentuk spot pada pelat 10x10 cm. sehingga diperoleh 9 jalur. Kemudian dilakukan ulangan pengembangan dengan Ekstrak kasar diaplikasikan pada 3 pelat berbeda. Pengembangan setiap pelat dilakukan dengan bejana pengembang menggunakan fase gerak yang baru. Dielusi sampai tinggi 8 cm dari posisi batas bawah. Pelat didokumentasi sebelum dan setelah derivatisasi. Nilai Rf pada masing-masing zona pita *acetogenin* dihitung lalu ditentukan rerata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika spot sidik jari identik terkait dengan letak, jumlah, warna, intensitas warna, dan memiliki perbedaan nilai Rf tidak lebih dari 0,02. Diulangi pada variasi sampel dataran tinggi dan sampel campuran dari dataran rendah : dataran tinggi (1:1).

### 3.5.5 Presisi antara (Reich and Schibli, 2006)

Daun sirsak diekstraksi sebanyak tiga kali ulangan. Kemudian ekstrak diaplikasikan berbentuk spot pada pelat 10x10 cm. Pengaplikasian ekstrak kasar dilakukan pada 2 hari yang berbeda setelah pengujian presisi, satu pelat perhari. Pengembangan setiap pelat dilakukan dengan bejana pengembang hingga mencapai tinggi 8 cm dari posisi batas bawah. Pelat didokumentasi sebelum dan

setelah derivatisasi. Nilai Rf pada masing masing zona pita *acetogenin* dihitung lalu ditentukan rerata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika pola sidik jari identik terkait jumlah, warna, intensitas warna, letak, dan perbedaan nilai Rf tidak lebih dari 0,05. diulangi pada variasi sampel dataran tinggi dan sampel campuran dari dataran rendah : dataran tinggi (1:1).

### **3.5.6 Stabilitas Analit selama kromatografi (Reich and Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar daun sirsak sebanyak diaplikasikan sebagai spot pada sudut kiri bawah pelat berukuran  $10 \times 10$  cm (10 mm dari masing-masing tepi). Pelat dielusi dan dikeringkan, kemudian diputar  $90^\circ$  ke kanan dan dielusi untuk kembali menggunakan eluen yang baru. Pelat didokumentasikan sebelum dan setelah derivatisasi. Ekstrak dikatakan stabil jika spot atau pola membentuk posisi garis diagonal yang menghubungkan posisi awal ekstrak ditotolkan dengan titik perpotongan garis dari dua sisi pelarut.

### **3.5.7 Uji Stabilitas Hasil Derivatisasi Ekstrak kasar Daun Sirsak (Reich and Schibli, 2006)**

Pelat hasil elusi yang telah derivatisasi diamati dengan visualisasi sinar tampak dan UV 366 nm. Pengamatan dilakukan pada menit ke-2, 5, 10, 20, 30, dan 60. Hasil yang diperoleh stabil jika tidak terjadi perubahan yang signifikan pada pita selama 60 menit.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebanyak 1 kg yang diambil dari daerah dataran tinggi dan daerah dataran rendah. Preparasi ini bertujuan untuk memperhalus sampel dan memperluas permukaan pada sampel. Semakin luas permukaan pada sampel akan memperbesar interaksi antara pelarut dan sampel sehingga proses ekstrak yang berlangsung lebih cepat dan lebih maksimal. Sebelum dihaluskan sampel daun terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Kemudian dikeringkan untuk mengurangi kadar air pada sampel agar sampel terhindar dari mikroba dan tidak rusak. Pengeringan dilakukan dengan cara keringangin pada suhu ruang agar senyawa khas yang terkandung dalam daun tidak rusak. Hasil preparasi yang diperoleh yaitu sampel daun berupa serbuk berwarna hijau kecoklatan sebanyak 120 gram sedangkan untuk sampel dataran rendah dan 180 gram pada sampel dataran tinggi.

#### 4.2. Ekstraksi Ultrasonik Daun Sirsak

Metode ekstraksi yang digunakan untuk penelitian ini yaitu ekstraksi ultrasonik. Gelombang ultrasonik berperan dalam perusakan sel dimana saat sampel dalam wadah yang diberikan gelombang ultrasonik akan menghasilkan gelombang kejut (Chang et al., 2010). Energi gelombang ultrasonik merambat melalui media air yang menyebabkan terbentuknya gelembung yang saat pecah menghasilkan getaran. Getaran yang timbul membuat sampel dan pelarut terjadi

interaksi sehingga mempermudah proses pelarutan berlangsung. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel pada sampel sehingga senyawa aktif *acetogenin* dan senyawa aktif lainnya akan terdesak keluar dan larut ke dalam pelarut. Proses ini terjadi berkelanjutan sampai konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel terjadi kesetimbangan (Ashley, dkk, 2001).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etanol. Etanol memiliki sifat kepolaran yang hampir sama dengan senyawa aktif *acetogenin* yaitu semipolar. Selain itu pelarut etanol digunakan karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manarizki (2019) menyatakan bahwa pelarut etanol yang digunakan merupakan pelarut yang optimal dibandingkan pelarut lainnya. Selain itu pada penelitian Ranisaharivony (2015) menyatakan bahwa kadar *acetogenin* pada biji sirsak diperoleh sebanyak 4,2 % dengan menggunakan pelarut etanol saat ekstraksi. Sedangkan lama ekstraksi yang digunakan diambil dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manarizki (2019) menghasilkan pola pemisahan senyawa *acetogenin* terbaik dengan waktu ekstraksi ultasonik selama 10 menit dengan pelarut etanol dan rendemen paling tinggi dibandingkan waktu ekstraksi lebih dari 10 menit.

Berdasarkan hasil ekstraksi yang diperoleh dari tiga variasi sampel yang diekstraksi diperoleh kadar rendemen pada tabel berikut:

**Tabel 4.1. Rendemen Ekstrak Daun Sirsak**

| Sampel                                | Rendemen % |
|---------------------------------------|------------|
| Dataran rendah                        | 5,1%       |
| Dataran tinggi                        | 5,5%       |
| Dataran rendah: dataran tinggi (1: 1) | 4,7%       |

Estraksi ultrasonik dalam penelitian ini dilakukan dengan melarutkan masing-masing sampel sebanyak 1 gram dalam 10 ml pelarut etanol. Rendemen terbesar diperoleh pada sampel yang diambil dari daerah dataran tinggi sebesar 5,5% dibandingkan dengan sampel yang diambil dari daerah dataran rendah. Hal ini dikarenakan perbedaan kondisi lingkungan yang berbeda antara wilayah dataran rendah dan dataran tinggi. Safrina (2018) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa intensitas sinar matahari di daerah dataran tinggi lebih rendah dibandingkan daerah dataran rendah sehingga daun pada suatu tumbuhan pada daerah dataran tinggi cenderung lebih lebar karena daun akan merespon lingkungan dengan daun lebar untuk memperbesar penangkapan cahaya matahari dan memperbesar penguapan yang terjadi. Sebaliknya di dataran rendah daun akan merespon dengan daun kecil untuk memperkecil penguapan yang terjadi.

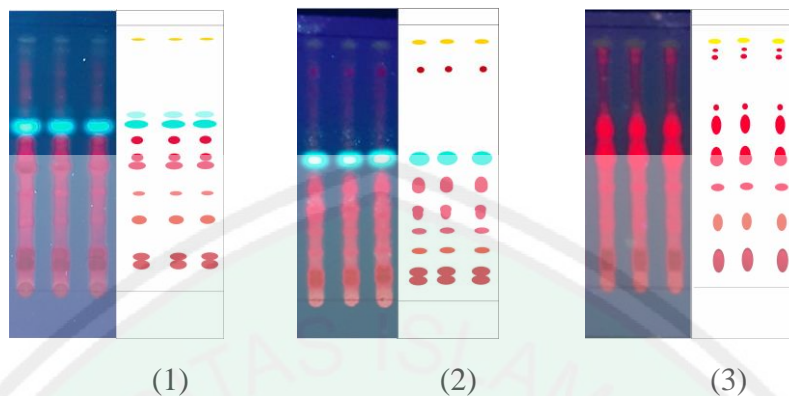
#### **4.3. Pola Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak kasar Daun Sirsak**

Ekstrak kasar daun sirsak dalam penelitian ini dianalisis dengan metode KLT untuk mengetahui bagaimana kestabilan pola kromatografi selama proses kromatografi berlangsung hingga pengamatan hasil derivatisasinya. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: jumlah noda, intensitas warna, dan presisi dalam kondisi perlakuan dan ulangan dengan dugaan senyawa *acetogenin* sebagai senyawa penciri pada daun sirsak. Selain itu pemisahan ini dilakukan untuk mengetahui pola kromatografi dari daun sirsak yang diambil di daerah dataran rendah dan daerah dataran tinggi.

Berdasarkan hasil KLT ekstrak kasar daun sirsak yang dielusi menggunakan eluen n-heksana: etil asetat (7,5: 2,5) diperoleh bahwa dari tiga



variasi ekstrak terdapat perbedaan pola sidik jari dan jumlah spotnya. Pola sidik jari yang terbentuk pada ketiga ekstrak ditunjukkan pada gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Pola kromatografi ekstrak daun sirsak (1) campuran (1:1), (2) dataran tinggi, (3) dataran rendah

Berdasarkan gambar 4.1 diketahui bahwa ekstrak daun sirsak dataran tinggi dan dataran rendah memiliki 9 spot yang terbentuk. Hal ini serupa dengan penelitian Setyorini (2016) menjelaskan bahwa pola kromatografi ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah tawangmangu dengan ketinggian wilayah 1200 mdpl dan wilayah pasuruan dengan tinggi 800 mdpl yang amati pada lampu UV 366 nm memiliki jumlah spot yang sama. Sedangkan Ekstrak daun sirsak campuran (1:1) memiliki 10 spot yang terbentuk. Pola kromatografi pada ekstrak daun sirsak dataran tinggi dan dataran rendah terdapat perbedaan pada pola kromatografinya yaitu spot warna biru yang terdapat pada ekstrak daun sirsak dataran tinggi tidak muncul pada ekstrak daun sirsak dataran rendah. Spot warna biru ini diduga senyawa golongan minyak atsiri karena pada penelitian Naik (2020) diketahui bahwa pada hasil kromatografi ekstrak daun sirsak yang disemprot reagen vanillin-sulfat diketahui spot berwarna biru merupakan golongan minyak atsiri. Selain itu spot warna kuning menunjukkan flavonoid dan

beberapa spot warna abu abu pada sinar tampak dan merah saat di lampu UV menunjukkan asam lemak (Jork, Dkk. 1990). Spot dugaan golongan *acetogenin* untuk sampel dataran tinggi teramati nilai rerata Rf nya pada (0,12; 0,16; 0,23; 0,28; 0,41; 0,5). Kemudian untuk sampel campuran teramati pada Rf (0,11; 0,16; 0,27; 0,38; 0,48; 0,54; 0,59). Sedangkan untuk sampel dataran rendah teramati pada Rf (0,1; 0,23; 0,38; 0,51; 0,61; 0,66; 0,89; 0,91).

Perbedaan pola kromatografi dan nilai Rf pada sampel yang berbeda tempat tumbuhnya ini dikarenakan adanya Faktor geografis wilayah seperti suhu, intensitas cahaya, kelembaban, kandungan unsur hara tanah yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan (Mpapa, 2016). Selain itu menurut Laily *et al.* (2012) mengemukakan bahwa ketinggian tempat tumbuh berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Akibatnya proses metabolisme yang berlangsung pada tanaman tersebut juga akan mengalami gangguan sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat. Oleh karena itu hasil kromatografi yang terbentuk memiliki pola yang berbeda.

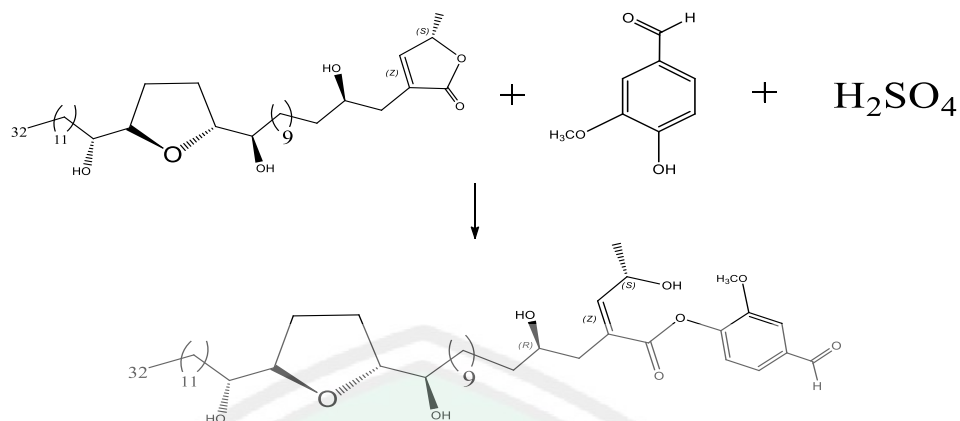
#### **4.4. Identifikasi Senyawa Penciri Golongan Acetogenin pada Ekstrak**

##### **Kasar Daun Sirsak**

Ekstrak kasar daun sirsak dielusi menggunakan eluen n-heksana: etil asetat dengan perbandingan 7,5: 2,5. Berdasarkan komposisi perbandingan yang digunakan n-heksana lebih banyak karena tingkat kepolaran n-heksana cenderung nonpolar sedangkan etil asetat bersifat semi polar sehingga eluen dari n-heksana : etil asetat menghasilkan eluen yang bersifat nonpolar. Senyawa *acetogenin* yang

sifatnya semi polar akan berinteraksi dengan fase diam dan fase gerak. Dalam penelitian Grzybowski (2012) dilakukan pengujian pada ekstrak etanol *Annona muricata* dan standar polar *acetogenin* sebagai referensi. Diperoleh hasil kromatografi pada ekstrak etanol *Annona muricata* menunjukkan noda *acetogenin* yang sama dengan standard polar *acetogenin* pada Rf 0,27. Ranisharivony, (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirsak yang di elusi menghasilkan spot golongan *acetogenin* tipe mono THF yaitu: *annonacin* pada Rf 0.23. Sedangkan pada penelitian Rupprecht,dkk (1990) hasil KLT menggunakan eluen n-heksana : etil asetat pada ekstrak daun sirsak diketahui nilai Rf *acetogenin* berada pada 0,2 sampai 0,7.

Noda *acetogenin* pada penelitian ini dapat diketahui dengan melakukan pendekatan dengan referensi Rf diatas dan diamati menggunakan reagen vanillin-sulfat. hasil pemisahan setelah elusi plat dikeringkan anginkan untuk menguapkan eluen kemudian disemprot reagen vanillin-sulfat untuk mengetahui gugus dugaan noda *acetogenin*. Setelah reagen disemprotkan ke plat, kemudian plat dipanaskan pada suhu sekitar 65-70°C kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan plat diamati pada lampu UV 366 nm dengan Perubahan warna terjadi dari warna merah (sebelum disemprot reagen) menjadi oranye (setelah disemprot reagen). Karena dalam penelitian Rahmawati (2020) dapat diketahui senyawa golongan *acetogenin* berupa senyawa *Annonacin* dengan nilai Rf =0.32 terdeteksi oleh reagen vanillin sulfat dan diamati dengan LC-MS. reaksi yang terjadi ditunjukkan pada gambar 4.2.



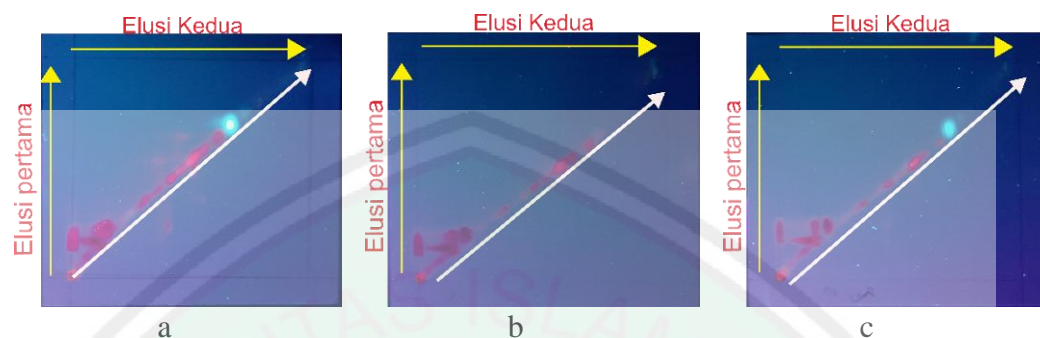
**Gambar 4.2.** Dugaan Reaksi *Acetogenin* dengan Reagen Vanilin-Sulfat

#### 4.5. Stabilitas Analit Selama Kromatografi

Stabilitas menjadi salah satu parameter uji yang penting dalam kromatografi lapis tipis. Karena dalam prosesnya mulai dari preparasi sampel, penotolan, proses elusi sampai deteksi dan derivatisasi pengerjaan nya dilakukan secara terpisah dan membutuhkan selang waktu yang berbeda beda sehingga perlu dilakukan pengujian untuk memastikan tidak terjadi penurunan selama proses analisis. Ketidakstabilan suatu sampel dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain: kondisi penyimpanan, suhu, kelembaban, dan kejenuhan eluen.

Uji stabilitas selama kromatografi merupakan salah satu validasi metode untuk mengevaluasi mutu suatu sampel. Uji stabilitas selama kromatografi menggunakan metode Kromatografi lapis tipis dua dimensi. KLT dua dimensi merupakan metode pengembangan dua arah yang pada umumnya bertujuan untuk meningkatkan resolusi selama proses pemisahan sampel (wulandari,2011). Sedangkan untuk pengujian stabilitas pengembangan dua arah dilakukan dengan eluen yang sama dengan pengembangan pertama. Setelah dielusi, suatu sampel dikatakan stabil selama proses kromatografi jika noda kromatografi dapat dideteksi membentuk garis diagonal yang menghubungkan posisi awal penotolan

sampel dan perpotongan dari 2 fase gerak (Reich dan Schibli 2006). Hasil kromatografi pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 4.2 berikut.



**Gambar 4.3.** Stabilitas Analit selama kromatografi ekstrak daun sirsak (a) dataran tinggi, (b) dataran rendah, (c) campuran (1:1)

Berdasarkan gambar 4.2 diketahui bahwa pola kromatografi membentuk garis diagonal antara 2 arah pengembangan. Pengembangan pertama analit (a) diketahui terdapat 9 spot yang terbentuk setelah pengembangan kedua terdapat spot baru yang terbentuk sehingga total spot yang teramati ada 13 spot. Pada analit (b) pengembangan pertama menghasilkan jumlah spot sebesar 9 spot dan pada pengembangan kedua terbentuk 10 spot. Kemudian pada analit (c) diketahui pada pengembangan pertama ada 10 spot yang terbentuk kemudian pada pengembangan kedua spot yang terbentuk bertambah menjadi 12 spot. Terbentuknya spot baru pada pengembangan kedua dikarenakan masih adanya komponen yang menumpuk dalam satu spot dan belum terpisah saat pengembangan pertama.

Penumpukan spot dapat diamati pada bagian bawah seluruh jenis sampel. Hal ini dapat terjadi dikarenakan pada pengembangan pertama ekstrak masih memiliki komponen yang terkumpul dalam satu noda sehingga pada

pengembangan kedua noda tersebut akan terjadi pemisahan Kembali dan Sebagian komponen tetap tertinggal pada noda pertama (Hahn-Deinstrop, 2007). Selain itu penumpukan noda mengakibatkan terjadinya noda yang berekor (tailing) pada saat elusi dimensi yang kedua. Faktor tailing ini terjadi disebabkan afinitas mol analit yang telah ditotolkan dalam fase diam lebih besar dibandingkan dengan kemampuan eluen untuk membawa zat-zat sehingga terdapat bagian komponen akan tertahan sehingga noda yang dihasilkan memanjang seperti berekor (Sudarmadji, 2007).

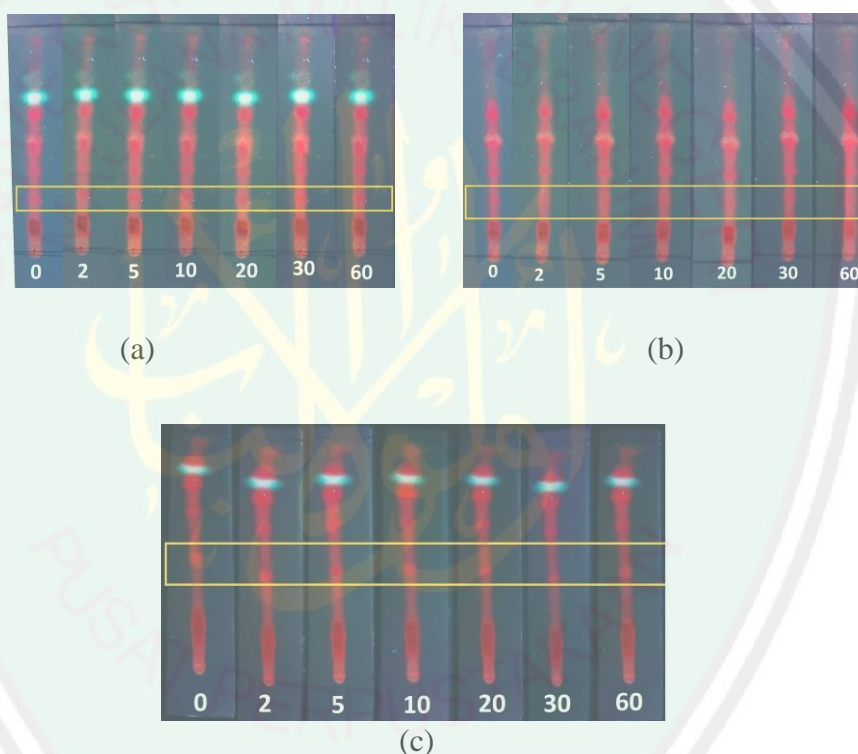
Analit (a) terdapat noda penyimpangan atau spot baru diluar garis diagonal yang intensitas nodanya sangat kecil. Menurut literatur reich dan schibli (2006) penyimpangan bercak terjadi karena pada pengembangan yang kedua terjadi dekomposisi pada analit selama proses kromatografi berlangsung. Sedangkan pada analit (b) dan (c) pola kromatografi membentuk garis diagonal. Jadi, dapat diketahui bahwa pada analit (a), (b), dan (c) kurang stabil selama proses kromatografi walaupun noda penciri *acetogenin* berada pada garis diagonal. Hasil ini serupa dengan penelitian Jannah (2016) menyatakan bahwa Hasil kromatogram baik pada batang dan daun brotowali masih terdapat beberapa spot yang berada di atas garis diagonal dan terdapat penumpukan spot. Hal ini menunjukkan bahwa analit tidak stabil selama proses kromatografi. Setiap spot yang muncul di atas atau di bawah garis diagonal menunjukkan ketidakstabilan analit yang sesuai selama kromatografi.

#### **4.6. Stabilitas Hasil Derivatisasi**

Uji stabilitas hasil derivatisasi termasuk dalam salah satu parameter pengujian stabilitas dalam proses analisis pemisahan multikomponen dengan

kromatografi lapis tipis. Stabilitas visualisasi bertujuan mengetahui kestabilan pola dan insensitas warna noda pada plat yang telah diderivatisasi dengan reagen yang telah ditentukan kemudian diamati selama 60 menit. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pola pemisahan hasil derivatisasi stabil jika tidak mengalami perubahan selama 60 menit diamati dibawah lampu uv (reich and schibli, 2006).

Berdasarkan penelitian pada ekstrak daun sirsak diperoleh pola kromatografi yang diamati selama 60 menit dapat dilihat pada gambar 4.3 berikut ini.



**Gambar 4.4.** Stabilitas Visualisasi pada (0,2,5,10,20,30,60) menit ekstrak daun sirsak (a) dataran tinggi, (b) dataran rendah, (c) campuran a : b (1:1) dengan reagen Vanilin-sulfat

Hasil pengamatan stabilitas visualisasi ekstrak daun sirsak (a), (b), dan (c) pada gambar 4.3 menunjukkan bahwa pada ekstrak (a) dan (b) warna hasil derivatisasi stabil selama 60 menit. Sehingga ekstrak (a) dan (b) dinyatakan stabil.

Sedangkan pada ekstrak (c) secara visual terjadi penurunan intensitas warna setelah 5 menit pengamatan. Walaupun terjadi penurunan intensitas warna pola kromatografi tidak terjadi perubahan dan tidak ada noda yang hilang selama 60 menit. Sehingga (c) dinyatakan stabil secara visualisasi. Pada penelitian Fatahillah (2016) dalam uji stabilitas visualisasi tanaman pegagan menyatakan bahwa analit stabil secara visual walaupun terjadi penurunan intensitas warna setelah pengamatan 5 menit tetapi jumlah pita dan Rf tidak terjadi perubahan dan warna yang tidak mengalami perubahan yang signifikan selama 60 menit.

#### 4.7. Presisi dan Presisi Antara

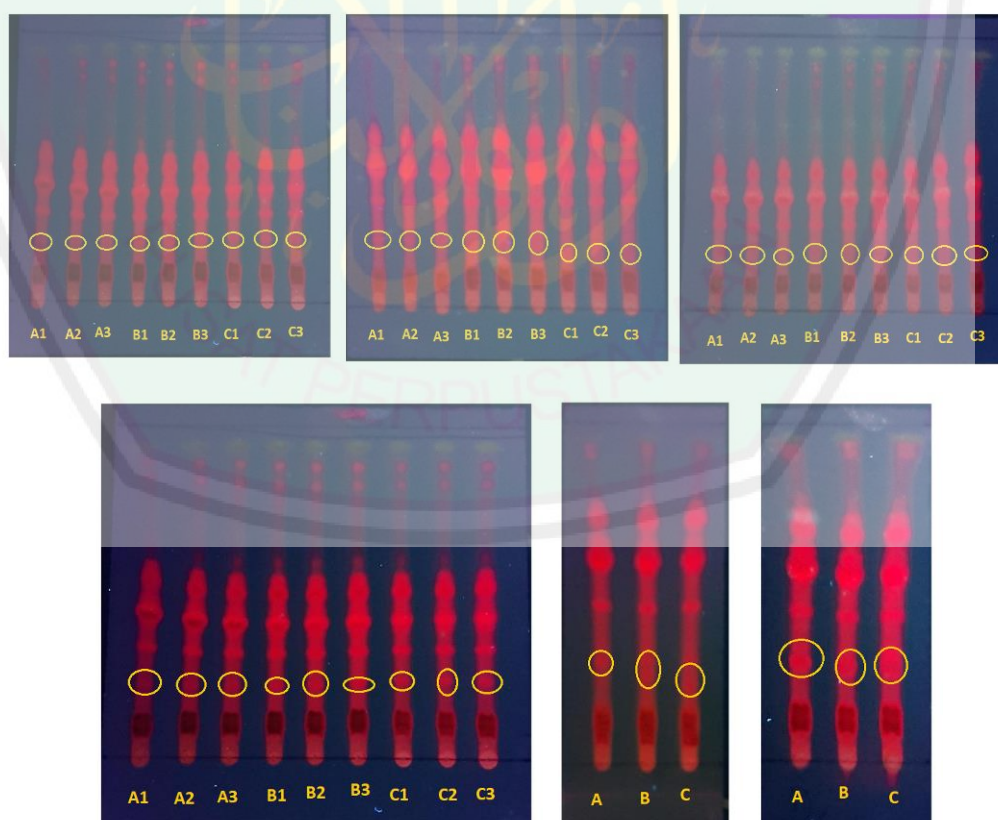
Presisi merupakan salah satu parameter dalam validasi metode. Presisi dalam validasi metode menggunakan metode kromatografi lapis tipis dapat diketahui melalui simpangan baku dari nilai Rf pada pola kromatografi. Untuk penentuan secara kualitatif dapat diamati dari jumlah, intensitas warna, dan pola garis yang tersusun oleh pita atau spot kromatogram yang sama pada setiap jalur dan presisi semakin baik jika pola kromatografi yang terbentuk mendekati garis lurus (reich dan schibli,2006). Uji presisi mencakup keterulangan sebagai variasi dalam sehari (*intraday*) dan presisi antara yang diperiksa dengan mengulangi penelitian dengan perlakuan yang sama selama tiga hari berturut turut (*interday*) (Rasyid, 2015).

Uji presisi dalam penelitian ini dilakukan dengan mengembangkan 3 ekstrak daun sirsak yang sama dan ditotolkan pada satu plat dalam waktu yang sama. Masing masing ekstrak ditotolkan 3 kali. Jadi, terdapat 9 jalur dalam satu plat KLT dengan ukuran 10x10 cm. Pengembangan ketiga ekstrak tersebut dilakukan dalam 3 plat pada hari yang sama. Sedangkan untuk uji presisi antara 3



ekstrak yang di analisis pada hari pertama diulangi lagi pada hari kedua dan ketiga pada plat 4x10 dengan masing masing ekstrak ditotolkan pada satu jalur. Pengamatan dilakukan menggunakan pendekatan kuantitatif pada salah satu spot senyawa bioaktifnya yaitu spot golongan *acetogenin* yang berwarna hijau kebiruan pada sinar tampak dan warna oranye pada lampu uv 366 nm setelah disemprot reagen vanillin sulfat. Pada sampel dataran rendah teramati pada spot nomor 2 dari bawah dan untuk sampel dataran tinggi dan campuran teramati pada spot nomor 3. Syarat keterterimaan uji presisi antarplat yaitu simpangan baku Rf < 0.02 (2%) dan untuk presisi antara yaitu simpangan baku Rf < 0.05 (5%) (Reich dan Schibli 2006).

#### 4.6.1. Presisi dan Presisi antara ekstrak daun sirsak dataran rendah



**Gambar 4.5.** Pola Kromatografi uji presisi dan presisi antara ekstrak dataran rendah

**Tabel 4.2.** Spot penciri *acetogenin* hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak dataran rendah dengan eluen n-heksana : etil asetat (7,2 : 2,5)

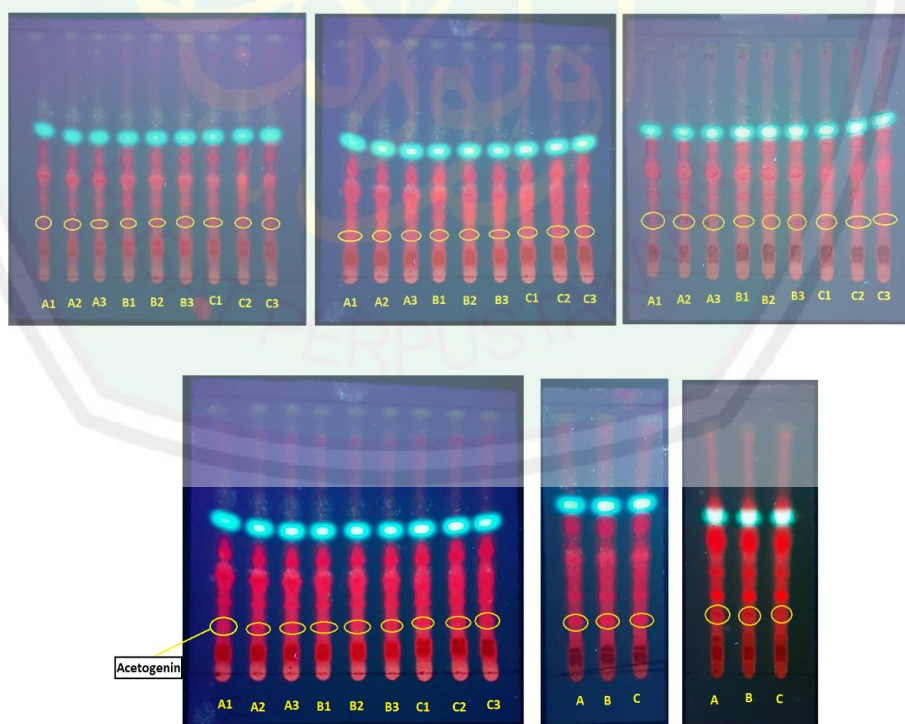
| ekstrak              | Jalur | Ulangan antar plat |        |        | Hari ke-2 | Hari ke-3 |
|----------------------|-------|--------------------|--------|--------|-----------|-----------|
|                      |       | plat 1             | plat 2 | plat 3 |           |           |
| A                    | A1    | 0,250              | 0,206  | 0,213  | 0,313     | 0,275     |
|                      | A2    | 0,244              | 0,200  | 0,206  |           |           |
|                      | A3    | 0,247              | 0,213  | 0,213  |           |           |
| B                    | B1    | 0,250              | 0,219  | 0,206  | 0,313     | 0,263     |
|                      | B2    | 0,250              | 0,219  | 0,213  |           |           |
|                      | B3    | 0,244              | 0,219  | 0,231  |           |           |
| C                    | C1    | 0,213              | 0,225  | 0,213  | 0,319     | 0,275     |
|                      | C2    | 0,213              | 0,219  | 0,225  |           |           |
|                      | C3    | 0,213              | 0,219  | 0,219  |           |           |
| Rerata Rf intraplat  |       | 0,236              | 0,215  | 0,215  | 0,315     | 0,271     |
| Rerata Rf antarplat  |       | 0,222              |        |        | 0,315     | 0,271     |
| Rerata Rf semua plat |       | 0,235              |        |        |           |           |
| SD Rf intraplat      |       | 0,0176             | 0,0077 | 0,0083 | 0,0036    | 0,0072    |
| SD Rf antarplat      |       | 0,0152             |        |        | 0,0036    | 0,0072    |
| SD Rf semua plat     |       | 0,0324             |        |        |           |           |

Berdasarkan tabel 4.2 hasil pengembangan untuk uji presisi ulangan antar plat pada hari yang sama diketahui Simpangan baku Rf *acetogenin* antarplat sebesar 0,0152 dan untuk presisi antara diperoleh simpangan baku Rf intraplat hari ke 2 dan ketiga kurang dari 0,02 sehingga presisi dapat diterima. Kemudian untuk simpangan baku Rf dalam tiga hari pengujian diperoleh SD Rf semua plat sebesar 0,0324. nilai SD Rf semua plat yang diperoleh kurang dari 0,05 sehingga hasil uji presisi dan presisi antara dapat diterima karena memenuhi syarat keterterimaan. Dan untuk hasil uji presisi secara visual menunjukkan pola

kromatografi antar ulangan pada hari yang sama (*intraday*) dan ulangan dalam tiga hari (*interday*) menunjukkan pola kromatogram yang identik.

Perbedaan nilai Rf pada setiap pengulangan uji selama 3 hari diketahui bahwa nilai Rf mengalami kenaikan pada pengujian hari kedua dan nilai Rf mengalami penurunan kembali. Terjadinya nilai Rf yang naik turun ini dikarenakan tingkat kejenuhan dalam chamber berbeda dengan pengujian hari sebelumnya. Perbedaan kejenuhan ini dikarenakan adanya faktor lingkungan seperti kelembaban dan suhu yang mempengaruhi penguapan eluen dalam chamber (Oktaviantari, 2019). Chamber yang kurang jenuh akan terjadi kenaikan nilai Rf sedangkan jika kejenuhan chamber tinggi akan terjadi penurunan nilai Rf (Wulandari, 2011)

#### 4.6.2. Presisi dan presisi antara ekstrak daun sirsak dataran tinggi



**Gambar 4.6.** Pola Kromatografi uji presisi dan presisi antara ekstrak dataran tinggi

**Tabel 4.3.** Spot penciri *acetogenin* hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak dataran tinggi dengan eluen n-heksana: etil asetat (7,2: 2,5)

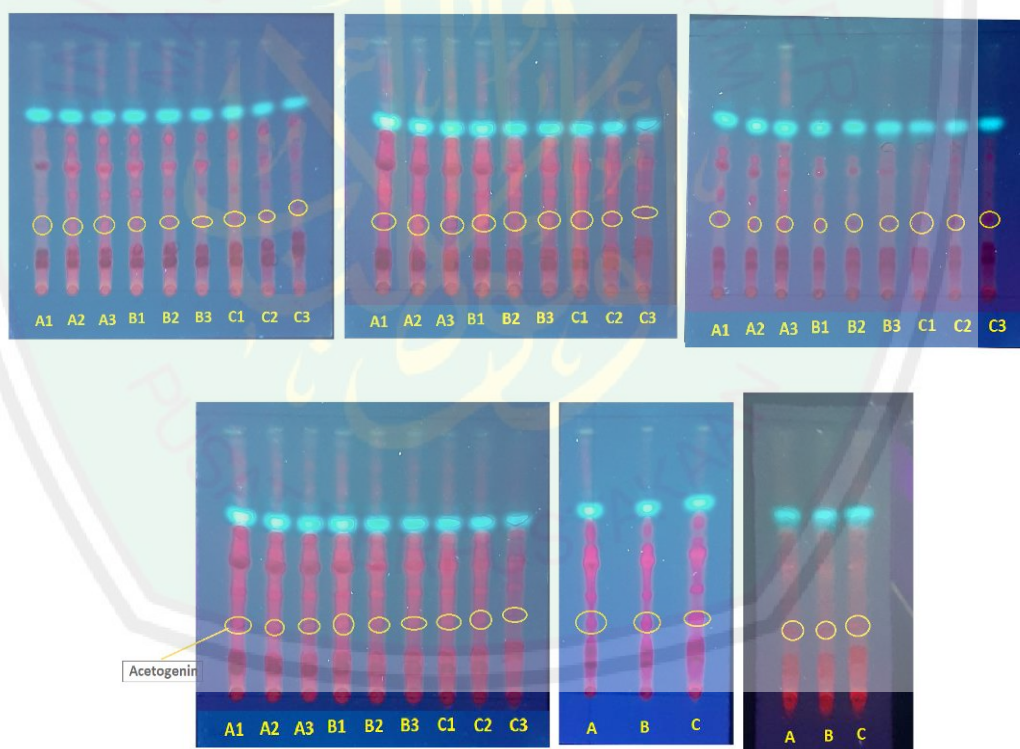
| ekstrak              | Jalur | Ulangan antar plat |        |        | Hari ke-2 | Hari ke-3 |
|----------------------|-------|--------------------|--------|--------|-----------|-----------|
|                      |       | plat 1             | plat 2 | plat 3 |           |           |
| A                    | A1    | 0,231              | 0,188  | 0,275  | 0,206     | 0,269     |
|                      | A2    | 0,231              | 0,181  | 0,219  |           |           |
|                      | A3    | 0,225              | 0,175  | 0,219  |           |           |
| B                    | B1    | 0,231              | 0,181  | 0,219  | 0,213     | 0,263     |
|                      | B2    | 0,244              | 0,188  | 0,219  |           |           |
|                      | B3    | 0,238              | 0,200  | 0,219  |           |           |
| C                    | C1    | 0,244              | 0,206  | 0,219  | 0,200     | 0,256     |
|                      | C2    | 0,231              | 0,200  | 0,219  |           |           |
|                      | C3    | 0,231              | 0,194  | 0,225  |           |           |
| Rerata Rf intraplat  |       | 0,234              | 0,190  | 0,226  | 0,206     | 0,263     |
| Rerata Rf antarplat  |       | 0,217              |        |        | 0,206     | 0,263     |
| Rerata Rf semua plat |       | 0,220              |        |        |           |           |
| SD Rf intraplat      |       | 0,0063             | 0,0104 | 0,0186 | 0,0062    | 0,0063    |
| SD Rf antarplat      |       | 0,0229             |        |        | 0,0062    | 0,0063    |
| SD Rf semua plat     |       | 0,0251             |        |        |           |           |

Hasil pengembangan untuk uji presisi pada tabel 4.3 diketahui bahwa untuk ulangan antar plat pada hari yang sama simpangan baku Rf *acetogenin* antarplat sebesar 0,0229. Nilai simpangan baku Rf antarplat  $> 0,02$  walaupun demikian presisi antarplat karena masih mendekati 0,02 dan pola kromatografi secara visual terbentuk mendekati garis lurus dan untuk presisi antara diperoleh simpangan baku Rf intraplat hari ke 2 dan ketiga yaitu 0,0062 dan 0,0063 dinamakan SD Rf ini kurang dari 0,02 sehingga presisi dapat diterima. Kemudian untuk simpangan baku Rf dalam tiga hari pengujian diperoleh SD Rf semua plat sebesar 0,0224. Simpangan baku Rf pada semua plat yang diperoleh kurang dari 0,05 sehingga hasil uji presisi dan presisi antara dapat diterima karena memenuhi syarat keterterimaan. Dan untuk hasil uji presisi dalam 3 hari pengujian secara

pengamatan visual menunjukkan pola kromatografi antar ulangan pada hari yang sama (*intraday*) dan ulangan pengujian dalam 3 hari (*interday*) menunjukkan pola kromatogram yang identik dan mendekati garis lurus dalam satu plat.

Hasil kromatografi pada pengulangan uji hari kedua terjadi penurunan nilai Rf tetapi tidak signifikan. Selanjutnya kenaikan nilai Rf terjadi pada pengulangan uji pada hari ketiga. Kenaikan nilai Rf pada hari ketiga cukup signifikan tetapi tidak mempengaruhi pola kromatografi secara keseluruhan.

#### 4.6.3. Presisi dan presisi antara ekstrak daun sirsak dataran rendah : dataran tinggi (1:1)



**Gambar 4.7.** Pola Kromatografi uji presisi dan presisi antara ekstrak dataran tinggi : rendah (1:1)

**Tabel 4.4.** Spot penciri *acetogenin* hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak dataran rendah : dataran tinggi (1:1) dengan eluen n-heksana : etil asetat (7,2 : 2,5)

| ekstrak              | Jalur | Ulangan antar plat |        |        | Hari ke-2 | Hari ke-3 |
|----------------------|-------|--------------------|--------|--------|-----------|-----------|
|                      |       | plat 1             | plat 2 | plat 3 |           |           |
| A                    | A1    | 0,269              | 0,256  | 0,288  | 0,250     | 0,250     |
|                      | A2    | 0,269              | 0,250  | 0,269  |           |           |
|                      | A3    | 0,263              | 0,250  | 0,281  |           |           |
| B                    | B1    | 0,275              | 0,263  | 0,281  | 0,256     | 0,256     |
|                      | B2    | 0,275              | 0,263  | 0,281  |           |           |
|                      | B3    | 0,275              | 0,275  | 0,275  |           |           |
| C                    | C1    | 0,294              | 0,275  | 0,281  | 0,281     | 0,269     |
|                      | C2    | 0,306              | 0,281  | 0,281  |           |           |
|                      | C3    | 0,331              | 0,313  | 0,288  |           |           |
| Rerata Rf intraplat  |       | 0,284              | 0,269  | 0,281  | 0,263     | 0,258     |
| Rerata Rf antarplat  |       | 0,278              |        |        | 0,263     | 0,258     |
| Rerata Rf semua plat |       | 0,275              |        |        |           |           |
| SD Rf intraplat      |       | 0,0223             | 0,0196 | 0,0058 | 0,0165    | 0,0095    |
| SD Rf antarplat      |       | 0,0180             |        |        | 0,0165    | 0,0095    |
| SD Rf semua plat     |       | 0,0183             |        |        |           |           |

Hasil uji presisi untuk ekstrak daun sirsak campuran pada ulangan antar plat hari yang sama diketahui Simpangan baku Rf *acetogenin* antarplat sebesar 0,0180 dan untuk presisi antara diperoleh simpangan baku Rf intraplat hari kedua dan ketiga 0,0165 dan 0,0095. Hasil simpangan baku Rf antarplat memiliki nilai kurang dari 0,02 sehingga presisi dapat diterima. Selanjutnya simpangan baku Rf dalam tiga hari pengujian diperoleh SD Rf semua plat sebesar 0,0124. nilai SD Rf pada semua plat yang diperoleh memiliki nilai kurang dari 0,05 sehingga hasil uji presisi dan presisi antara dapat diterima karena memenuhi syarat keterterimaan. Dan untuk pengamatan secara visual menunjukkan pola kromatografi antar ulangan pada hari yang sama (*intraday*) dan ulangan dalam tiga hari (*interday*) menunjukkan pola kromatogram yang tersusun dari setiap jalur membentuk pola kromatogram yang kurang stabil karena terdapat beberapa spot selain spot penciri memiliki intensitas warna yang rendah sehingga saat pengamatan di lampu UV 366

nm tampak pudar. Selain itu pada pengujian hari ketiga jumlah spot yang terbentuk berkurang. Terdapat 1 spot yang hilang. Hilangnya 1 spot pada pengulangan uji pada hari ketiga ini diasumsikan senyawa tersebut telah terdegradasi oleh pelarut etanol saat didiamkan. Menurut Mukhriani (2014) kerugian ekstrak yang didiamkan dalam pelarut dengan waktu yang cukup lama memungkinkan banyak senyawa yang hilang. Oleh karena itu pada ekstrak campuran presisi dinyatakan kurang baik.

Hasil uji presisi yang telah dilakukan dari ketiga variasi ekstrak dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak dataran rendah memiliki tingkat presisi yang paling baik dibandingkan ekstrak daun sirsak dataran tinggi dan campuran (1:1) karena secara visual pola kromatografi spot penciri identik pada setiap jalur dan simpangan baku Rf antarplat dan dalam 3 hari pengulangan pengujian dibawah 0,02 dan 0,05.

#### **4.8. Integrasi Hasil Penelitian dalam Perspektif Al-Qur'an**

Penelitian ini mengkaji tentang stabilitas profil kromatografi ekstrak kasar daun sirsak yang tumbuh di dataran rendah dan dataran tinggi sebagai variasi sampel. Stabilitas suatu senyawa merupakan kemampuan mempertahankan karakteristik dari senyawa tersebut jika terjadi gangguan oleh faktor luar seperti udara, suhu, kelembaban, dan tempat penyimpanan yang mana dapat merubah karakteristik senyawa tersebut. Al-Qur'an telah menjelaskan mengenai kestabilan suatu peristiwa di alam semesta. Allah Subhanahu wata'ala berfirman dalam surah Ar-Ra'd ayat 2 yang berbunyi:

اللَّهُ الَّذِي رَفَعَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ ثُمَّ اسْتَوَىٰ عَلَى الْعَرْشِ وَسَخَّرَ الشَّمْسَ وَالْقَمَرَ ۖ كُلٌّ يَجْرِي لِأَجَلٍ مُّسَمًّى ۚ يُدَبِّرُ الْأَمْرَ يُفَصِّلُ الْآيَاتِ لَعَلَّكُمْ بِلِقَاءِ رَبِّكُمْ تُوقِنُونَ ﴿٢﴾

Artinya: “Allah-lah Yang meninggikan langit tanpa tiang (sebagaimana) yang kamu lihat, kemudian Dia bersemayam di atas 'Arasy, dan menundukkan matahari dan bulan. Masing-masing beredar hingga waktu yang ditentukan. Allah mengatur urusan (makhluk-Nya), menjelaskan tanda-tanda (kebesaran-Nya), supaya kamu meyakini pertemuan(mu) dengan Tuhanmu.” (QS: Ar-Ra’d: 2)

Berdasarkan ayat di atas dalam tafsir Al-Wajiz oleh Wahbah (1982) Allah memberitahukan tentang keesaannya dalam penciptaan, pengaturan, serta kekuasaan yang menandakan bahwa Dia-lah Dzat satu-satunya yang berhak disembah, tidak sepatasnya ibadah dilakukan kecuali untuknya saja. Kemudian dalam kalimat *كُلٌّ يَجْرِي لِأَجَلٍ مُّسَمًّى* “Masing-masing beredar hingga waktu yang ditentukan” yaitu matahari dan bulan diciptakan atas dasar pengaturan *al-‘Aziz al-‘Alim* (Yang Mahaperkasa lagi Maha Mengetahui) dengan bentuk perjalanan yang teratur, tidak lamban dan tidak melemah, sampai datang masa yang telah ditentukan. Berdasarkan penjelasan tersebut merupakan dasar mengenai suatu keadaan yang seimbang dan stabil terjadi di alam semesta ini. Segala sesuatu di muka bumi ini tidak akan mencapai kondisi yang stabil tanpa izin Allah dan akan datang di kondisi dan waktu yang tepat atau sesuai. Seperti halnya pada hasil penelitian bahwa stabilitas profil kromatografi pada ekstrak daun sirsak dengan spot senyawa dugaan *acetogenin* sebagai penciri akan memperoleh kestabilan pada kondisi tertentu dan waktu tertentu. Dari beberapa parameter uji kestabilan dengan variasi sampel yang telah ditentukan ekstrak daun sirsak yang dianalisis ketiga ekstrak menunjukkan kestabilan yang baik pada pengamatan lampu UV



selama 60 menit. Kemudian kestabilan selama kromatografi menunjukkan bahwa ekstrak dataran rendah dan campuran menunjukkan hasil yang stabil dibandingkan ekstrak daun sirsak dataran tinggi. Lalu pada ekstrak daun sirsak dataran rendah paling presisi.

Pemisahan KLT daun sirsak menghasilkan pola kromatografi yang menunjukkan bahwa dalam daun sirsak memiliki banyak kandungan senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan untuk kebutuhan kehidupan di bumi. Penciptaan tumbuhan sirsak membuktikan bahwa Allah Maha memberi rezeki dengan menciptakan segala jenis tumbuhan agar dapat dimanfaatkan dan dipelajari, oleh manusia di muka bumi. Dalam Al-Qur'an surah Qaf ayat 9, Allah Subhanahu wata'ala berfirman:

وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُّبَارَكًا فَأَنْبَتْنَا بِهِ جِبْتًا وَحَبَّ الْحَصِيدِ ﴿٩﴾

Artinya: “Dan Kami turunkan dari langit air yang banyak manfaatnya lalu Kami tumbuhkan dengan air itu pohon-pohon dan biji-biji tanaman yang diketam” (QS: Qaf: 9)

Berdasarkan ayat tersebut, Allah Subhanahu wata'ala menjelaskan bukti akan kekuasaannya kepada hambanya di dunia. Dalam tafsir Al wajiz oleh Wahbah (1982) Allah mengulang dalam menjelaskan akan bukti-bukti kekuasaannya, Allah menyampaikan bahwasanya Allah menurunkan dari langit hujan yang penuh berkah, yang baik dan bermanfaat. Semua manfaat dan kepentingan untuk para hamba merupakan bukti kasih sayang Allah. Oleh karena itu kita sebagai umat manusia hendaknya memiliki rasa keingintahuan yang besar akan kebasaran ilmu Allah dengan menjadi hamba-Nya yang selalu berfikir bahwasanya Allah menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini tidaklah sia sia.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1. Kesimpulan

1. Hasil identifikasi pola Kromatografi diketahui bahwa spot dugaan senyawa golongan *acetogenin* pada ekstrak daun sirsak dataran tinggi teramati ada 6 spot yang menghasilkan warna merah-oranye setelah disemprot reagen vanillin-sulfat dengan nilai  $R_f = (0,12; 0,16; 0,23; 0,28; 0,41; 0,5)$  sedangkan pada ekstrak dataran rendah teramati ada 8 spot dengan masing-masing nilai  $R_f = (0,1; 0,23; 0,38; 0,51; 0,61; 0,66; 0,89; 0,91)$ . Perbedaan pola kromatografi dari kedua jenis daun sirsak dikarenakan perbedaan kondisi lingkungan yang terdapat pada wilayah tersebut sehingga kandungan metabolit sekunder dalam daun juga akan berbeda.
2. Hasil uji stabilitas selama proses kromatografi pada tiga variasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) diketahui bahwa ketiga variasi ekstrak daun sirsak kurang stabil selama proses kromatografi karena pola kromatografi karena masih terdapat beberapa spot yang berada di luar garis diagonal dan terdapat penumpukan spot. Kemudian untuk kestabilan hasil derivatisasi ketiga variasi ekstrak daun sirsak dinyatakan stabil karena pola kromatografi tidak ada yang hilang dan intensitas warna tidak terjadi perubahan yang signifikan selama 60 menit.
3. Hasil uji presisi dan presisi antara ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) dengan tiga variasi sampel menggunakan kromatografi lapis tipis

diketahui bahwa ekstrak daun sirsak yang di ambil dari daerah dataran rendah dan dataran tinggi memiliki kepresisian yang baik karena pada pengujian pengulangan dalam satu hari (*intraday*) nilai simpangan baku Rf nya kurang dari 0,02 dan untuk presisi antara (*interday*) kurang dari 0,05 sehingga presisi dapat diterima.

## 5.2. Saran

Pengamatan profil kromatografi untuk ekstrak daun sirsak perlu digunakan reagen kedde yang merupakan reagen spesifik untuk mendeteksi senyawaan acetogenin yang terbentuk. Perbedaan tempat tumbuh sampel memberikan pola kromatografi yang berbeda sehingga Perlu dilakukan uji spesifitas dibandingkan dengan standar senyawaan acetogenin dan tanaman sejenis lainnya agar diperoleh pola kromatografi dengan senyawa penciri yang lebih valid dan konsisten. Pengujian stabilitas selama proses kromatografi yang kurang baik perlu dilakukan penentuan variasi fase gerak yang paling optimal untuk sampel tersebut sebelum melakukan validasi metode. Selain itu penotolan sampel yang lebih teliti dan kejenuhan chamber juga perlu dikondisikan dengan baik agar konsistensi antar ulangan yang dihasilkan lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alali, F.Q., Xiao-Xi L. & Jerry L. M., 1999, Annonaceous Acetogenins: Recent Progress, *Journal of Natural Products*, 60(3), 504-508.
- Andres Felipe Gomez Lozada, S. L. (2012). *Evaluacion Preliminar De La Actividad Insecticida Contra Puto barberi (Cochinilla Harinosa) Del Extracto Etanolico De Las Semillas Desengrasadas De Annona muricata*. Pereira: Skripsi. Facultadede Quimica Univesidad Technologica De Pereira.
- Ashley, K. 2001. *Ultrasonic Extraction as a Sample Preparation Technique For Elemental Analysis By Atomic Spectrometry*. America. John Wiley
- Astuti, M. (2016). *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Daun Jambu Biji (Psidium Guajava)*. Bogor: Skripsi. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Badrie, N, Schauss, A.G., 2010, *Soursop (Annona muricata L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology, Bioactive Foods in Promoting Health*, Oxford: Academic Press, 621-643.
- Cameron, D.K., dan J.Y. Wang. 2006. *Application of Protease and High Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Degermed Corn Flour*. *Journal Food Sience University of Arkansas*: Volume 83 (5).
- Chang, R. (2010). *Chemistry 10th edition*. New York: McGraw-Hill
- Fatahillah, Aditya Utama. 2016. *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Pegagan*. Skripsi. Institut Teknologi Bandung
- Fatimah, N. (2018). *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Kencur (Kaempferia Galanga)*. Bogor: Skripsi. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Fuadi, A. 2012. *Ultrasonik Sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe*. *Jurnal Teknologi*. 12(1):14-21.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 419, 425.
- Garcia, J.L.L dan Castro, M.D.L. 2004. *Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds*. *Journal Chromatography*. A1034: 237-242

- Gavamukulya Y., Abou-Elella F., Wamunyokoli F. and Hany AEI-Shemy, 2014, *Phytochemical Screening, Anti-Oxidant Activity And In Vitro Anticancer Potential of Ethanolic And Water Leaves Extracts of Annona muricata (Graviola)*, *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 7 (1), S355–S363.
- Hahn-Deinstrop, Elke (2007). *Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes*. Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- Handayani, H., Sriherfyna, F.H., Veteran, J., Korespodensi, P., 2016. *Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi) Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 4, 11. Universitas Brawijaya
- Iskandar, Y., Marliani, L. dan Irawan, J. F. 2012. *Toksisitas Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Sirsak (Annona muricata L.) Menggunakan BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*. *Skripsi Penelitian*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
- Jannah, M. (2016). *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Batang dan Daun Brotowali (Tinospora Crispa, L)*. Bogor: Skripsi. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Jork, Hellmut., Funk, Werner., Fischer, W. dan Hans Wimmer. 1990. *Thin-Layer Chromatography "Reagents and Detection Methods": Volume 1a*. VCH, Weinheim.
- Karimah, S. (2017). *Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Daun Jati Belanda (Guazuma Ulmifolia)*. Bogor: Skripsi. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Kristanti, Alfinda Novi., dkk. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press
- Laily AN, Suranto, Sugiyarto. 2012. Characteristics of *Carica pubescens* of Dieng Plateau, Central Java according to its morphology, antioxidant, and protein pattern. *Nusantara Bioscience* 4 No.1, halaman 16-21.
- Lilbaiq FZ. 2017. *Uji aktivitas ekstrak etanol daun sirsak (Annona muricata Lin.) yang diimbangkan pada Zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering sebagai antikanker payudara T47D*. Universitas Islam Negeri Malang.
- Manarizki, Wahyuningtyas A. (2019). *Optimasi Pemisahan Senyawa Asetogenin Pada Daun Sirsak (Annona Muricata Linn.) Secara Kromatografi Lapis*

*Tipis Berdasarkan Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi Ultrasonik.*  
Malang: Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

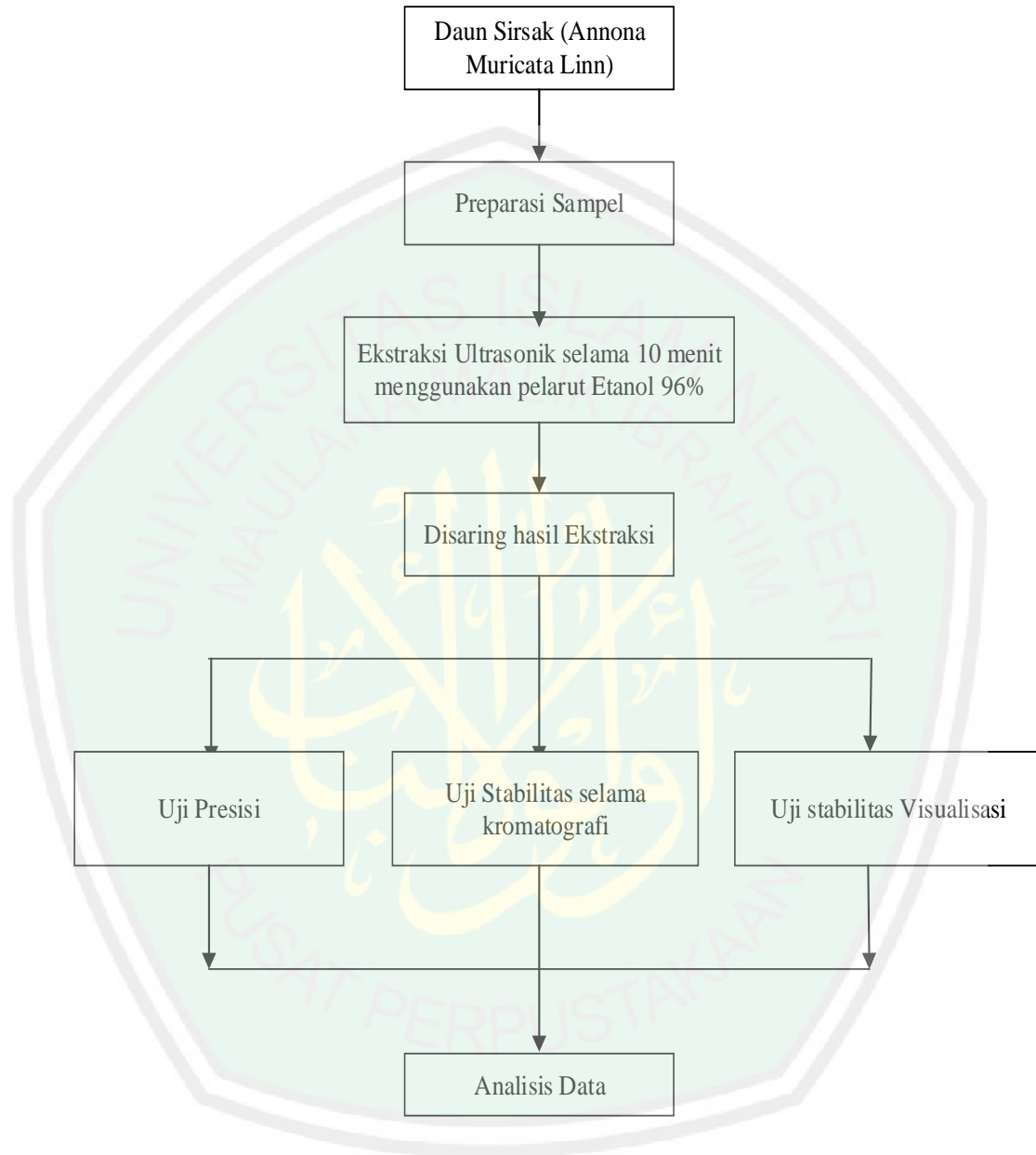
- Mason, T. J. 1990. Introduction, *Chemistry with Ultrasound*. Edited by T.J Mason. Elsevier Applied Science. London
- Mpapa, Bahidin L. 2016. Analisis Kesuburan Tanah Tempat Tumbuh Pohon Jati (*Tectona Grandis L.*) Pada Ketinggian Yang Berbeda. *Jurnal Agrista* Volume 20, No. 3. Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Luwuk
- Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif.* *Jurnal Kesehatan* Vol VII. No.2. Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makasar
- Naik, A.V., Sellappan, K., 2020. Chromatographic Fingerprint of Essential Oils in Plant Organs of *Annona muricata L.* (Annonaceae) using HPTLC. *Analytical Chemistry Letters* 10, 214–226.
- Nazmi, M. 2013. *Pencirian Ekstrak Aktif Sitotoksik dari Daun Sirsak Gundul (Annona glabra) Indonesia.* Skripsi Tidak Diterbitkan. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Oberlies, N.H., 1998, *Cytotoxic and Insecticidal Constituents of the Unripe Fruit of Persea Americana*, *J. Nat. Prod.*, 61, 781-785.
- Okviantari, Destiana E, Niken F, Risna A. 2019. *Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemoth Pembersihwajah Pada Tiga Klinik Kecantikan Di Bandar Lampung Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri Uv-Vis.* *Jurnal Analisis Farmasi.* Vol 4, No 2. Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Lampung
- Pradana P.Y., Suratmo and Retnowati R., 2015, *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Turunan Acetogenin dari Daun Sirsak (Annona muricata) Serta Uji Toksisitas*, *Kimia Student Journal*, 1 (1), 798–804.
- Pulung Yudhariska Pradana, S. R. (2015). *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Turunan Acetogenin Dari Daun Sirsak (Annona Muricata) Serta Uji Toksisitas.* *Kimia.Studentjournal*, Vol.1, No. 1, Pp. 798 - 804.
- Puriyanti Y, N. K. (2018). *Ekstraksi Annonaceous Acetogenin Dari Daun Sirsak (Annona Muricata L.) Untuk Menentukan Variabel Optimum Terhadap Hasil Ekstraksi.* *Tekima*, Issn: 2548-947x.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T., Utami, T.W., 2017. *Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (Annona muricata L.) pada*

*Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* Vol 3 No 1

- Rahmawati, Amila. 2020. *Uji Aktivitas Antikanker T47D Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata L) Secara Ultrasonik*. Malang: Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Rachmani E.P.N. dan Suhesti T.S., 2012, *The Breast of Anticancer from Leaf Extract of Annona muricata Againsts Cell Line in T47D*, *International Journal of Applied Science and Technology*, 2 (1).
- Rasyid, R., Kardela, W., Widyawati, W., 2015. Validasi Metode Analisis  $\alpha$ -Mangostin Dalam Plasma Darah Manusia Secara In Vitro Dengan Metode Spektrofotometri Ultraviolet
- Reich, E. D. (2006). *High-Performance Thin Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York (US): Thieme Medical Publishers.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Penj. Padmawinata, K. Bandung: ITB
- Rusmiyati I, Husain DR, Alam Gemini. 2014. *Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Muda Sirsak Annona muricata L. sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus dan Propionibacterium acnes*. [jurnal] Universitas Hasanuddin, Makassar
- Safrina, D., Priyambodo, W.J., 2018. Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Dan Pengeringan Terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (Iresine herbstii). *J. Penelit Pascapanen Pertan* 15, 147.
- Sapkale, G.N., Patil, S.M., Surwase, U.S. & Bhatbhage, P.K. 2010, *A Review: Supercritical fluid extraction*, *Int J Chem Sci*, 8(2): 729 – 743.
- Setyorini, H.A., Kurniatri, A.A., Adelina, R., Adelina, A., 2016. *Karakterisasi Mutu Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata L.) dari Tiga Tempat Tumbuh*. *Buletin Penelitian Kesehatan* 44, 279–286.
- Shihab, M. Quraish. 2005. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati
- Siswarni, M., Nurhayani, & Sinaga, S. D. (2016). *Ekstraksi asetogenin dari daun dan biji Sirsak (Annona muricata L.) dengan Pelarut Aseton*. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 5, No. 2 hal. 1-4.
- Soebagio, dkk. 2003. *Kimia Analitik II*. Yogyakarta: Universitas Negeri Malang

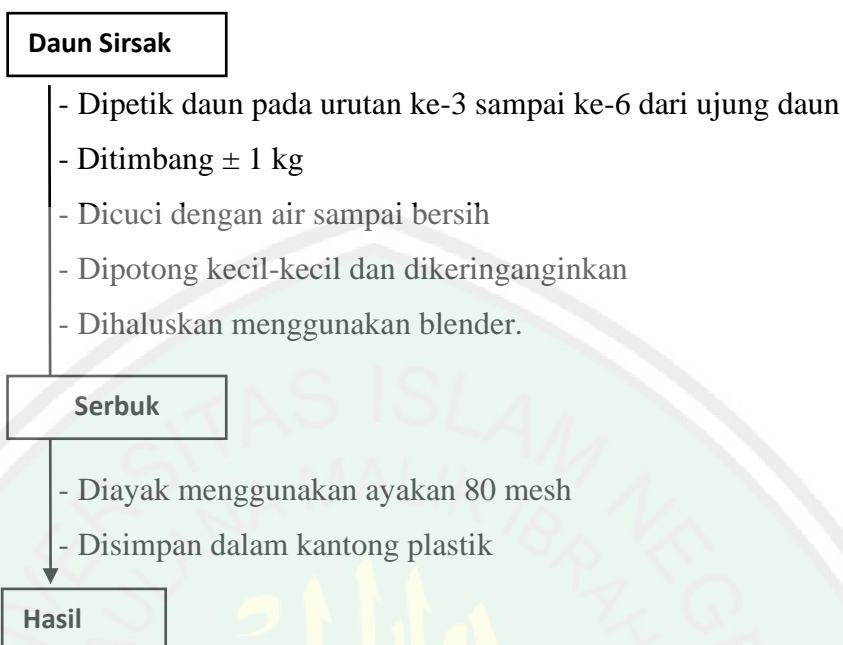
- Sudarmadji, S. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Sunarjono H. 2005. *Sirsak dan Srikaya: Budidaya untuk Menghasilkan Buah Prima*. Penebar Swadaya: Depok
- Suslick, K. S. 1988. *Ultrasounds: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. VHC Publishers. New York.
- Swari, S. R. (2012). *Penentuan Kandungan Annonaceous Acetogenin pada Daun Sirsak dengan Metode Spektrofotometri Gugus Lakton*. Depok: Skripsi, Program Studi Ekstensi Teknik Kimia Fakultas Teknik UI.
- Thompson, L. H., and L. K. Doraiswamy. 1999. Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 38:1215–1249.
- Vinothini R and Lali Growth, 2016. *Isolation and identification of acetogenin from Annona muricata leaves, International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 7 (4), 169-172
- Wahbah, Al Zukhaili, 1982, *Tafsir Al Wajiz*, Suriah, Darul Fikr, Terbitan Pertama.
- Warisno dan Kres Dahana. 2012. *Daun Sirsak Langkah Alternatif Menggempur Penyakit*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Widyastuti, Y.E. dan F.B. Paimin, 1993. *Mengenal Buah Unggul Indonesia*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wulandari, Lesty. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo, Jember
- Yazid, E. 2005. *Kimia Fisika untuk Paramedis*. Yogyakarta: Penerbit Andi
- Yuliantari, N.W.A., n.d.2017. *Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (Annona muricata L.) Menggunakan Ultrasonik*. Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology) Vol.4, No.1
- Zuhud E A. 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Agromedia Pustaka: Jakarta



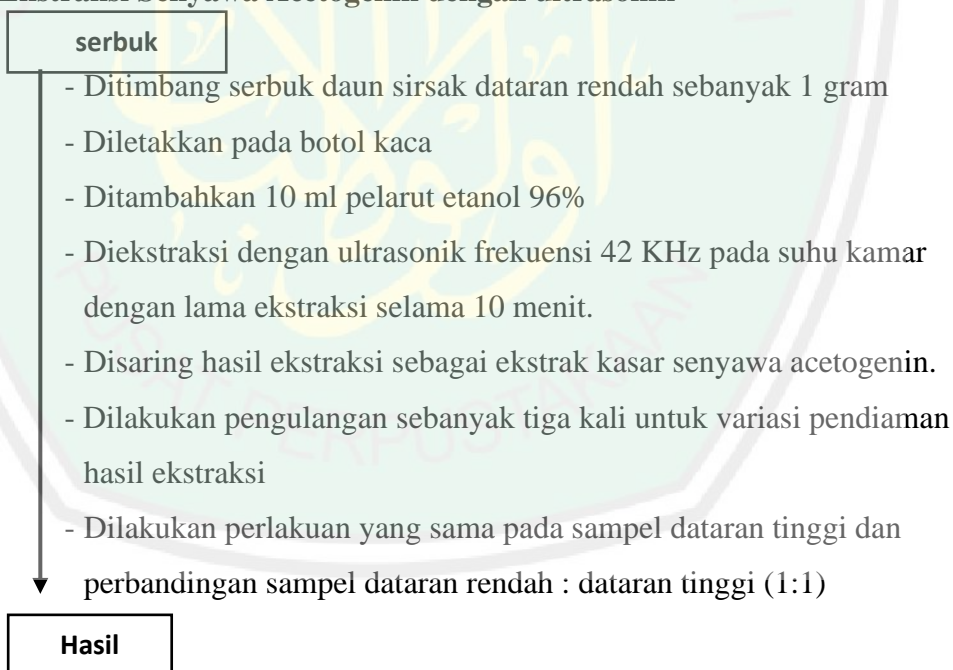
**LAMPIRAN****Lampiran 1. Rancangan Penelitian**

## Lampiran 2. Diagram Alir

### 1. Preparasi Sampel

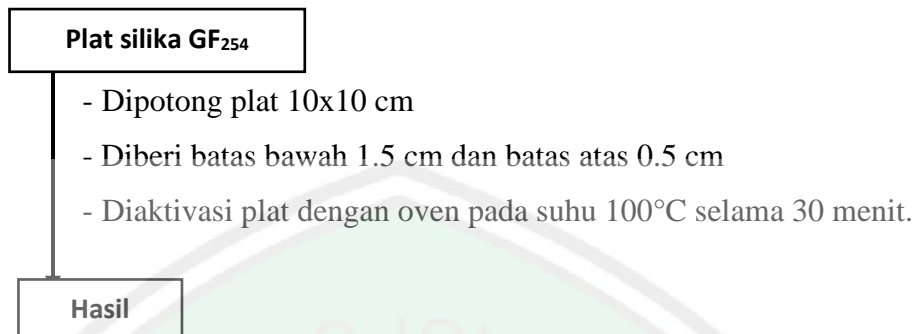


### 1. Ekstraksi Senyawa Acetogenin dengan ultrasonik

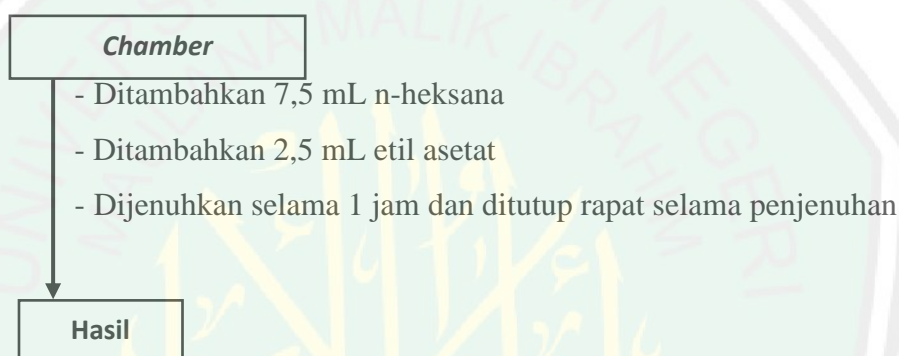


## 2. Uji Presisi

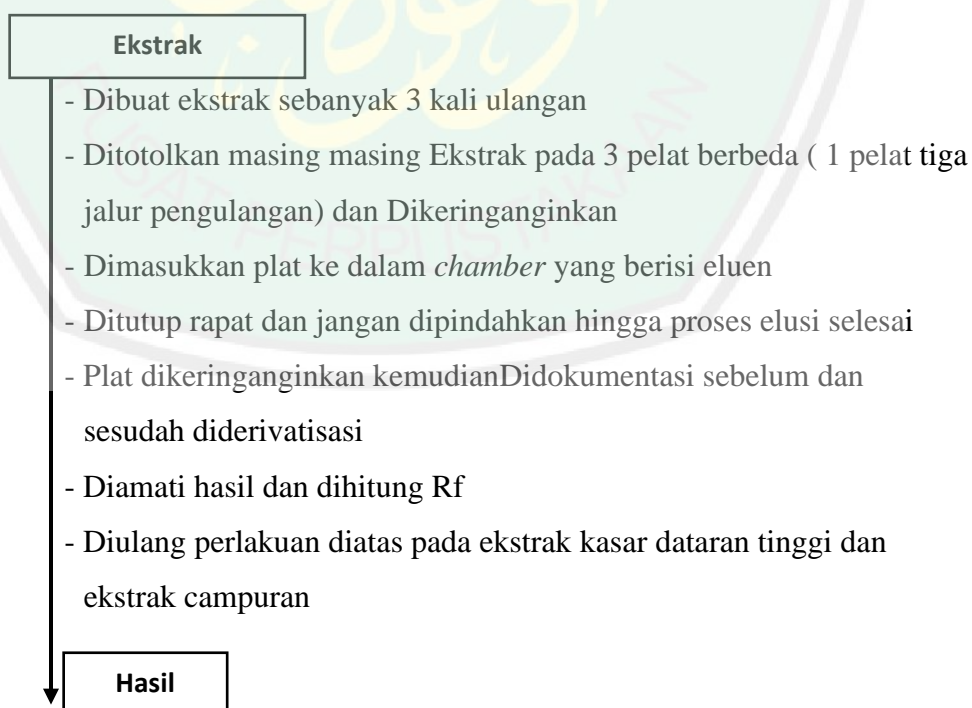
### A. Persiapan Plat KLT



### B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

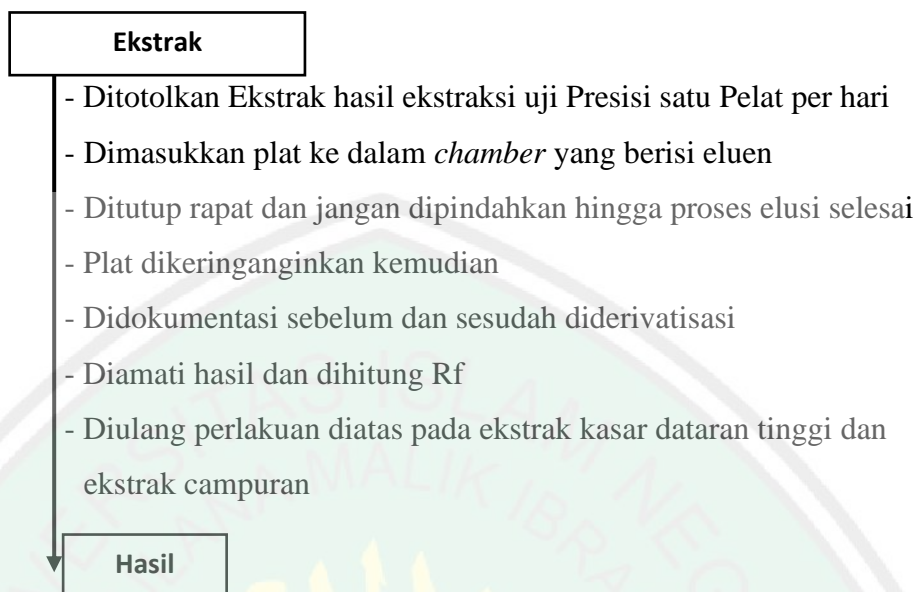


### C. Proses Elusi



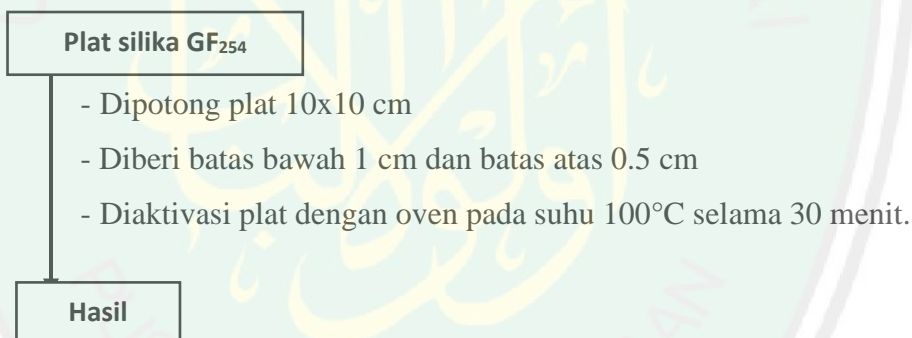
### 3. Uji Presisi Antara

#### A. Proses Elusi

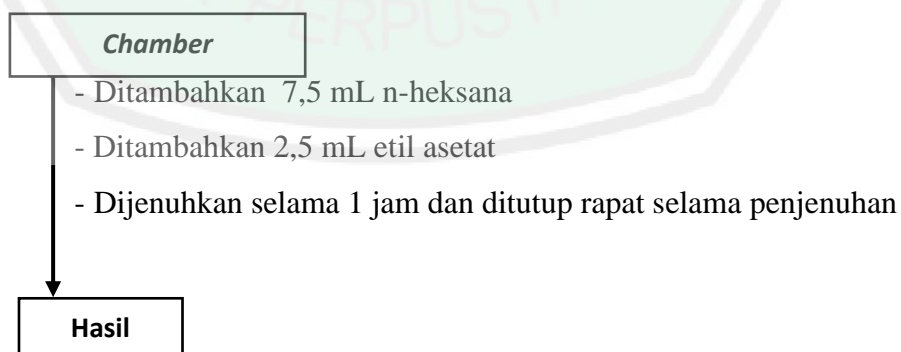


### 4. Stabilitas analit selama Kromatografi

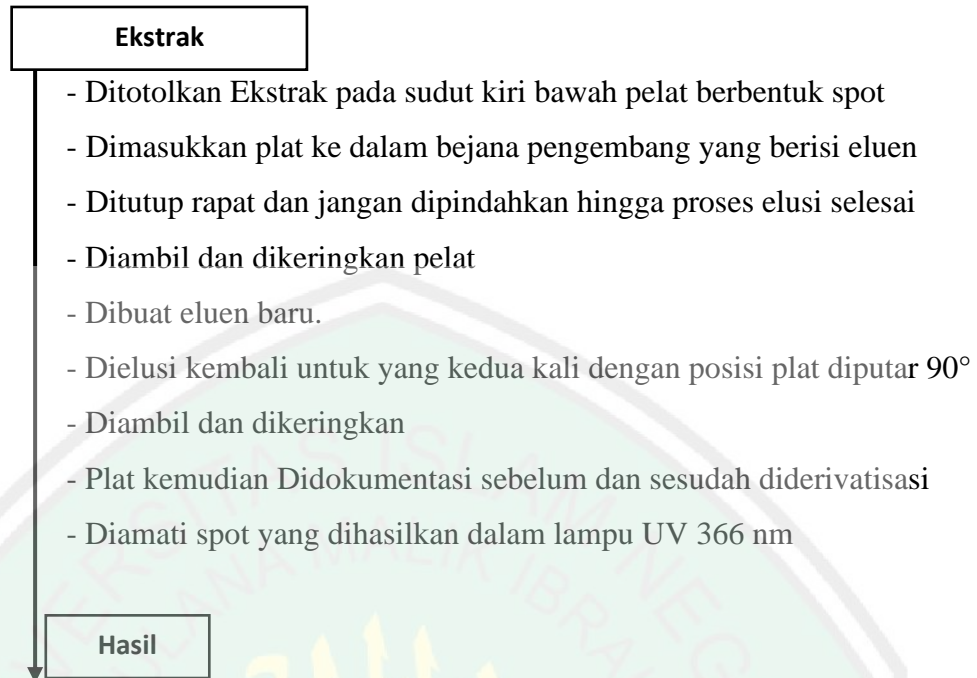
#### A. Persiapan Plat KLT



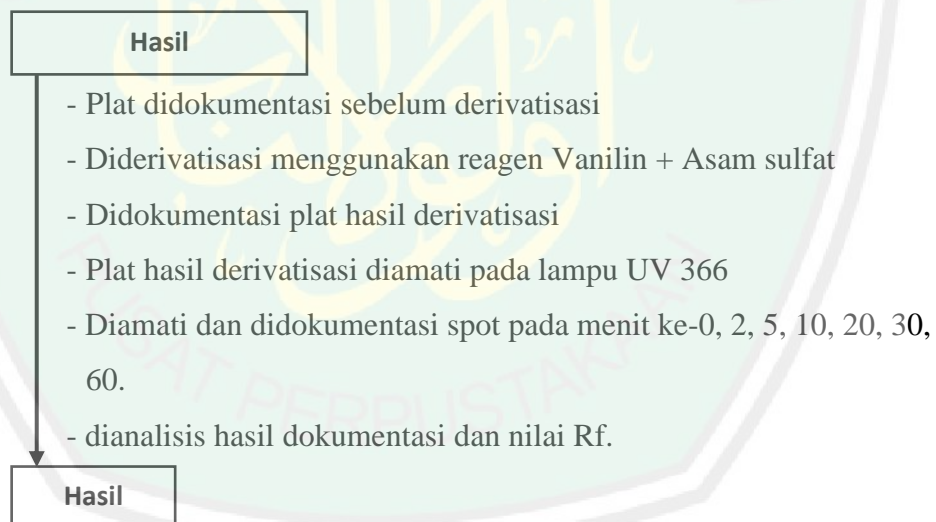
#### B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)



### C. Proses Elusi



### 5. Uji Stabilitas Hasil Derivatisasi



**LAMPIRAN 3. Pembuatan Reagen (jork, Helmutt, Dkk. 1990)****A. Komposisi :**

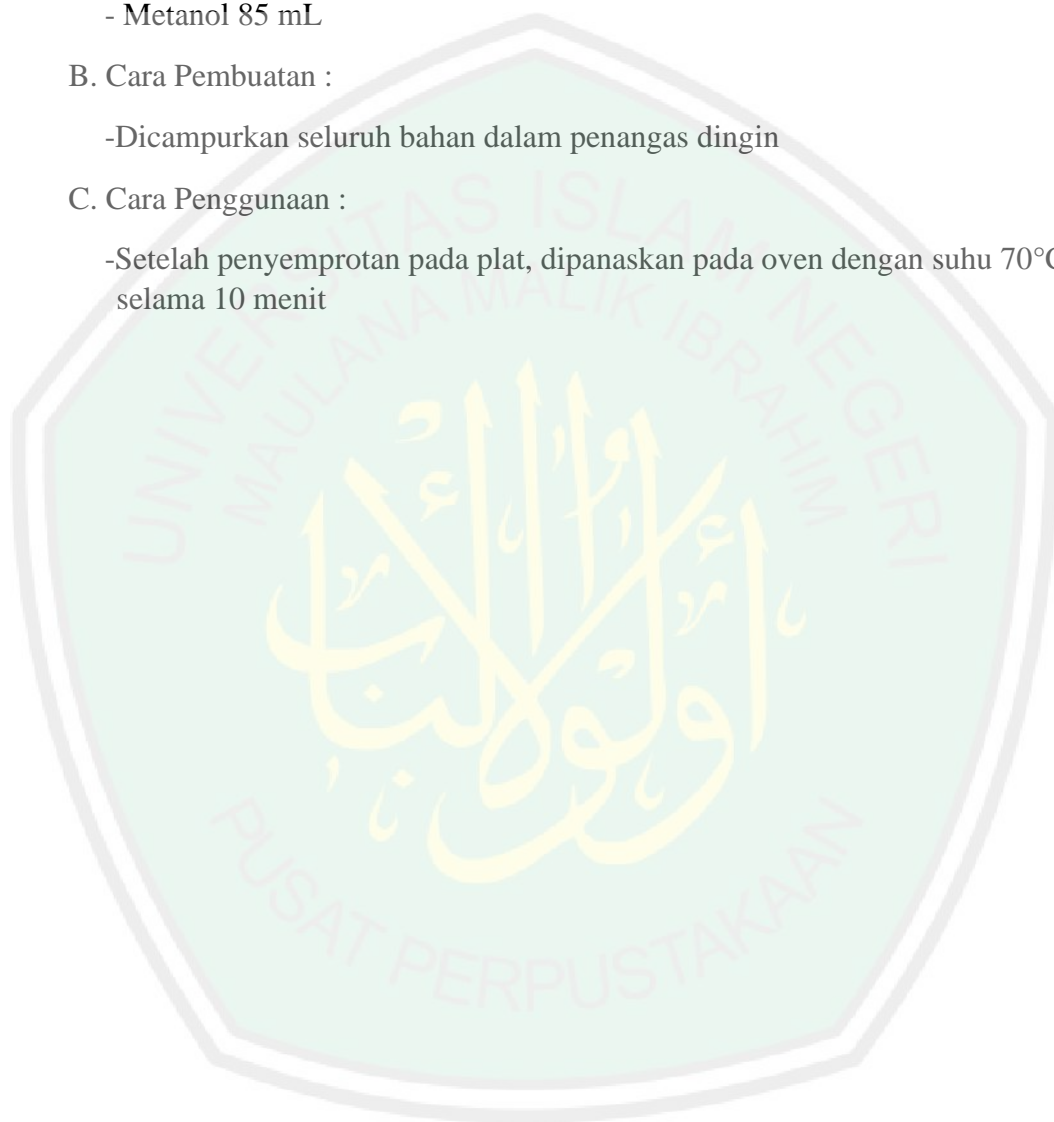
- Vanilin 0,5 gram
- Asam Sulfat 5 mL
- Asam Asetat 10 mL
- Metanol 85 mL

**B. Cara Pembuatan :**

- Dicampurkan seluruh bahan dalam penangas dingin

**C. Cara Penggunaan :**

- Setelah penyemprotan pada plat, dipanaskan pada oven dengan suhu 70°C selama 10 menit



#### Lampiran 4. Perhitungan Rf Presisi dan Presisi Antara

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

##### A. Ekstrak Campuran

Jarak tempuh eluen : 8 cm

| nomor noda | Jarak tempuh noda (plat 1) (cm) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,9                             | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,9  | 0,9  | 0,9  | 1    | 1,3  |
| 2          | 1,2                             | 1,3  | 1,2  | 1,25 | 1,3  | 1,3  | 1,35 | 1,5  | 1,75 |
| 3          | 2,15                            | 2,15 | 2,1  | 2,2  | 2,2  | 2,2  | 2,35 | 2,45 | 2,65 |
| 4          | 3,05                            | 3,05 | 3    | 3,05 | 3,15 | 3,15 | 3,3  | 3,35 | 3,6  |
| 5          | 3,85                            | 3,85 | 3,85 | 3,8  | 3,9  | 3,95 | 4,1  | 4,35 | 4,5  |
| 6          | 4,35                            | 4,3  | 4,3  | 4,3  | 4,35 | 4,45 | 4,45 | 4,6  | 4,85 |
| 7          | 4,85                            | 4,8  | 4,7  | 4,75 | 4,8  | 4,85 | 4,95 | 5,1  | 5,35 |
| 8          | 5,4                             | 5,45 | 5,4  | 5,3  | 5,4  | 5,5  | 5,55 | 5,65 | 5,9  |
| 9          | 5,6                             | 5,65 | 5,55 | 5,55 | 5,65 | 5,7  | 5,7  | 5,8  | 6,1  |
| 10         | 7,7                             | 7,65 | 7,6  | 7,6  | 7,65 | 7,2  | 7,75 | 7,2  | 7,2  |

| nomor noda | Jarak tempuh noda (plat 2) (cm) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,85                            | 0,8  | 0,8  | 0,85 | 0,8  | 0,85 | 0,9  | 0,9  | 1,3  |
| 2          | 1,15                            | 1,1  | 1,1  | 1,2  | 1,1  | 1,15 | 1,2  | 1,2  | 1,55 |
| 3          | 2,05                            | 2    | 2    | 2,1  | 2,1  | 2,2  | 2,2  | 2,25 | 2,5  |
| 4          | 2,9                             | 2,85 | 2,85 | 2,95 | 2,95 | 2,85 | 3,1  | 3,1  | 3,25 |
| 5          | 3,9                             | 3,7  | 3,7  | 3,7  | 3,8  | 3,8  | 3,8  | 3,85 | 4,1  |
| 6          | 4,2                             | 4,1  | 4,1  | 4,05 | 4,1  | 4,15 | 4,15 | 4,2  | 4,4  |
| 7          | 4,65                            | 4,5  | 4,5  | 4,5  | 4,6  | 4,55 | 4,55 | 4,6  | 4,8  |
| 8          | 5,1                             | 5    | 5    | 4,95 | 5    | 5    | 5,1  | 5,1  | 5,2  |
| 9          | 5,5                             | 5,3  | 5,2  | 5,25 | 5,25 | 5,2  | 5,35 | 5,4  | 5,45 |
| 10         | 7,4                             | 7,55 | 7,6  | 7,5  | 7,55 | 7,55 | 7,55 | 7,55 | 7,7  |

| nomor noda | Jarak tempuh noda (plat 3) (cm) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,95                            | 0,9  | 0,9  | 0,9  | 1    | 1    | 1    | 0,95 | 1,15 |
| 2          | 1,25                            | 1,25 | 1,3  | 1,3  | 1,3  | 1,3  | 1,25 | 1,3  | 1,4  |
| 3          | 2,3                             | 2,15 | 2,25 | 2,25 | 2,25 | 2,2  | 2,25 | 2,25 | 2,3  |
| 4          | 3,1                             | 3    | 2,95 | 2,95 | 3    | 3    | 3    | 3    | 3,15 |
| 5          | 4,05                            | 3,75 | 3,75 | 3,75 | 3,75 | 3,75 | 3,8  | 3,8  | 3,85 |
| 6          | 4,4                             | 4,15 | 4,1  | 4,05 | 4,05 | 4,1  | 4,1  | 4,15 | 4,15 |
| 7          | 4,8                             | 4,7  | 4,6  | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,55 | 4,6  |
| 8          | 5,5                             | 5,25 | 5,15 | 5,15 | 5,2  | 5,15 | 5,15 | 5,15 | 5,2  |
| 9          | 5,9                             | 5,6  | 5,5  | 5,45 | 5,45 | 5,4  | 5,45 | 5,45 | 5,55 |
| 10         | 7,6                             | 7,6  | 7,65 | 7,65 | 7,65 | 7,6  | 7,65 | 7,55 | 7,6  |

| nomor<br>noda | Jarak tempuh noda |      |      |           |      |      |
|---------------|-------------------|------|------|-----------|------|------|
|               | hari ke 2         |      |      | hari ke 3 |      |      |
|               | 1                 | 2    | 3    | 1         | 2    | 3    |
| 1             | 0,9               | 0,9  | 1    | 0,8       | 0,85 | 1    |
| 2             | 1,3               | 1,3  | 1,35 | 1,25      | 1,2  | 1,4  |
| 3             | 2                 | 2,05 | 2,25 | 2         | 2,05 | 2,15 |
| 4             | 2,8               | 2,9  | 3,1  | 2,85      | 2,9  | 3,05 |
| 5             | 3,8               | 3,9  | 4,1  | 3,8       | 3,9  | 3,9  |
| 6             | 4,2               | 4,25 | 4,45 | 4,75      | 4,75 | 4,8  |
| 7             | 4,75              | 4,8  | 5,05 | 5,35      | 5,4  | 5,4  |
| 8             | 5,35              | 5,35 | 5,55 | 5,6       | 5,65 | 5,65 |
| 9             | 5,65              | 5,6  | 5,7  | 7,6       | 7,7  | 7,65 |
| 10            | 7,65              | 7,65 | 7,65 | -         | -    | -    |

| Rf plat 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,113     | 0,119 | 0,113 | 0,106 | 0,113 | 0,113 | 0,113 | 0,125 | 0,163 |
| 0,150     | 0,163 | 0,150 | 0,156 | 0,163 | 0,163 | 0,169 | 0,188 | 0,219 |
| 0,269     | 0,269 | 0,263 | 0,275 | 0,275 | 0,275 | 0,294 | 0,306 | 0,331 |
| 0,381     | 0,381 | 0,375 | 0,381 | 0,394 | 0,394 | 0,413 | 0,419 | 0,450 |
| 0,481     | 0,481 | 0,481 | 0,475 | 0,488 | 0,494 | 0,513 | 0,544 | 0,563 |
| 0,544     | 0,538 | 0,538 | 0,538 | 0,544 | 0,556 | 0,556 | 0,575 | 0,606 |
| 0,606     | 0,600 | 0,588 | 0,594 | 0,600 | 0,606 | 0,619 | 0,638 | 0,669 |
| 0,675     | 0,681 | 0,675 | 0,663 | 0,675 | 0,688 | 0,694 | 0,706 | 0,738 |
| 0,700     | 0,706 | 0,694 | 0,694 | 0,706 | 0,713 | 0,713 | 0,725 | 0,763 |
| 0,963     | 0,956 | 0,950 | 0,950 | 0,956 | 0,900 | 0,969 | 0,900 | 0,900 |

| Rf plat 2 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,106     | 0,100 | 0,100 | 0,106 | 0,100 | 0,106 | 0,113 | 0,113 | 0,163 |
| 0,144     | 0,138 | 0,138 | 0,150 | 0,138 | 0,144 | 0,150 | 0,150 | 0,194 |
| 0,256     | 0,250 | 0,250 | 0,263 | 0,263 | 0,275 | 0,275 | 0,281 | 0,313 |
| 0,363     | 0,356 | 0,356 | 0,369 | 0,369 | 0,356 | 0,388 | 0,388 | 0,406 |
| 0,488     | 0,463 | 0,463 | 0,463 | 0,475 | 0,475 | 0,475 | 0,481 | 0,513 |
| 0,525     | 0,513 | 0,513 | 0,506 | 0,513 | 0,519 | 0,519 | 0,525 | 0,550 |
| 0,581     | 0,563 | 0,563 | 0,563 | 0,575 | 0,569 | 0,569 | 0,575 | 0,600 |
| 0,638     | 0,625 | 0,625 | 0,619 | 0,625 | 0,625 | 0,638 | 0,638 | 0,650 |
| 0,688     | 0,663 | 0,650 | 0,656 | 0,656 | 0,650 | 0,669 | 0,675 | 0,681 |
| 0,925     | 0,944 | 0,950 | 0,938 | 0,944 | 0,944 | 0,944 | 0,944 | 0,963 |



| Rf plat 3 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,119     | 0,113 | 0,113 | 0,113 | 0,125 | 0,125 | 0,125 | 0,119 | 0,144 |
| 0,156     | 0,156 | 0,163 | 0,163 | 0,163 | 0,163 | 0,156 | 0,163 | 0,175 |
| 0,288     | 0,269 | 0,281 | 0,281 | 0,281 | 0,275 | 0,281 | 0,281 | 0,288 |
| 0,388     | 0,375 | 0,369 | 0,369 | 0,375 | 0,375 | 0,375 | 0,375 | 0,394 |
| 0,506     | 0,469 | 0,469 | 0,469 | 0,469 | 0,469 | 0,475 | 0,475 | 0,481 |
| 0,550     | 0,519 | 0,513 | 0,506 | 0,506 | 0,513 | 0,513 | 0,519 | 0,519 |
| 0,600     | 0,588 | 0,575 | 0,569 | 0,569 | 0,569 | 0,569 | 0,569 | 0,575 |
| 0,688     | 0,656 | 0,644 | 0,644 | 0,650 | 0,644 | 0,644 | 0,644 | 0,650 |
| 0,738     | 0,700 | 0,688 | 0,681 | 0,681 | 0,675 | 0,681 | 0,681 | 0,694 |
| 0,950     | 0,950 | 0,956 | 0,956 | 0,956 | 0,950 | 0,956 | 0,944 | 0,950 |

| Rf hari ke 2 |       |       | Rf hari ke 3 |       |       |
|--------------|-------|-------|--------------|-------|-------|
| 1            | 2     | 3     | 1            | 2     | 3     |
| 0,113        | 0,113 | 0,125 | 0,100        | 0,106 | 0,125 |
| 0,163        | 0,163 | 0,169 | 0,156        | 0,150 | 0,175 |
| 0,250        | 0,256 | 0,281 | 0,250        | 0,256 | 0,269 |
| 0,350        | 0,363 | 0,388 | 0,356        | 0,363 | 0,381 |
| 0,475        | 0,488 | 0,513 | 0,475        | 0,488 | 0,488 |
| 0,525        | 0,531 | 0,556 | 0,594        | 0,594 | 0,600 |
| 0,594        | 0,600 | 0,631 | 0,669        | 0,675 | 0,675 |
| 0,669        | 0,669 | 0,694 | 0,700        | 0,706 | 0,706 |
| 0,706        | 0,700 | 0,713 | 0,950        | 0,963 | 0,956 |
| 0,956        | 0,956 | 0,956 | -            | -     | -     |

## B. Ekstrak Dataran Tinggi

Jarak tempuh eluen : 8 cm

| nomor noda | Jarak tempuh noda (plat 1) (cm) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,8                             | 0,8  | 0,85 | 0,9  | 1    | 0,95 | 0,95 | 0,9  | 0,85 |
| 2          | 1,15                            | 1,05 | 1,1  | 1,25 | 1,25 | 1,25 | 1,2  | 1,2  | 1,1  |
| 3          | 1,85                            | 1,85 | 1,8  | 1,85 | 1,95 | 1,9  | 1,95 | 1,85 | 1,85 |
| 4          | 2,55                            | 2,5  | 2,5  | 2,6  | 2,1  | 2,1  | 2,5  | 2,6  | 2,55 |
| 5          | 3,45                            | 3,25 | 3,2  | 3,3  | 3,25 | 3,25 | 3,3  | 3,25 | 3,3  |
| 6          | 4,1                             | 4    | 4    | 3,95 | 4    | 4    | 3,95 | 4    | 4,1  |
| 7          | 4,95                            | 4,8  | 4,7  | 4,75 | 4,75 | 4,75 | 4,75 | 4,75 | 4,8  |
| 8          | 7,4                             | 7,4  | 7,45 | 7,3  | 7,35 | 7,4  | 7,3  | 7,45 | 7,4  |
| 9          | 7,85                            | 7,9  | 7,9  | 7,8  | 7,9  | 7,85 | 7,9  | 7,85 | 7,9  |

| nomor<br>noda | Jarak tempuh noda (plat 2) (cm) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|               | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1             | 0,55                            | 0,6  | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,65 | 0,65 | 0,7  | 0,7  |
| 2             | 0,75                            | 0,75 | 0,75 | 0,75 | 0,8  | 0,85 | 0,95 | 0,95 | 0,95 |
| 3             | 1,5                             | 1,45 | 1,4  | 1,45 | 1,5  | 1,6  | 1,65 | 1,6  | 1,55 |
| 4             | 2,15                            | 2,05 | 2,05 | 2,05 | 2    | 2,15 | 2,2  | 2,2  | 2,2  |
| 5             | 2,8                             | 2,75 | 2,6  | 2,65 | 2,65 | 2,85 | 2,75 | 2,8  | 2,9  |
| 6             | 3,5                             | 3,5  | 3,4  | 3,3  | 3,45 | 3,35 | 3,9  | 3,5  | 3,6  |
| 7             | 4,4                             | 4,2  | 4,2  | 4,2  | 4,25 | 4,25 | 4,25 | 4,35 | 4,5  |
| 8             | 7                               | 6,9  | 6,9  | 6,95 | 6,9  | 6,9  | 6,95 | 7    | 7    |
| 9             | 7,5                             | 7,7  | 7,75 | 7,65 | 7,7  | 7,7  | 7,65 | 7,7  | 7,65 |

| nomor<br>noda | Jarak tempuh noda (plat 3) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|               | 1                          | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1             | 0,65                       | 0,5  | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,6  | 0,5  | 0,55 | 0,55 |
| 2             | 1,3                        | 0,75 | 0,8  | 0,8  | 0,8  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,8  |
| 3             | 2,2                        | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,8  |
| 4             | 3                          | 2,65 | 2,55 | 2,55 | 2,55 | 2,65 | 2,6  | 2,5  | 2,85 |
| 5             | 3,55                       | 3,3  | 3,35 | 3,4  | 3,3  | 3,4  | 3,4  | 3,5  | 3,75 |
| 6             | 4,35                       | 4,2  | 4,15 | 4,1  | 4,15 | 4,2  | 4,15 | 4,25 | 4,6  |
| 7             | 4,65                       | 4,75 | 4,75 | 4,75 | 4,8  | 4,8  | 4,8  | 4,9  | 5,25 |
| 8             | 7,55                       | 7,1  | 7,2  | 7,2  | 7,25 | 7,35 | 7,3  | 7,25 | 7,25 |
| 9             | 7,45                       | 7,45 | 7,5  | 7,55 | 7,6  | 7,6  | 7,6  | 7,55 | 7,5  |

| nomor<br>noda | Jarak tempuh noda |      |      |           |      |      |
|---------------|-------------------|------|------|-----------|------|------|
|               | hari ke 2         |      |      | hari ke 3 |      |      |
|               | 1                 | 2    | 3    | 1         | 2    | 3    |
| 1             | 0,5               | 0,55 | 0,5  | 0,5       | 0,55 | 0,55 |
| 2             | 0,85              | 0,85 | 0,8  | 1,45      | 1,4  | 1,25 |
| 3             | 1,65              | 1,7  | 1,6  | 2,15      | 2,1  | 2,05 |
| 4             | 2,4               | 2,35 | 2,35 | 2,8       | 2,6  | 2,55 |
| 5             | 3,6               | 3,6  | 3,5  | 3,35      | 3,3  | 3,2  |
| 6             | 4,5               | 4,5  | 4,4  | 4,1       | 4    | 4    |
| 7             | 5,25              | 5,2  | 5,15 | 4,9       | 4,85 | 3,8  |
| 8             | 7,4               | 7,35 | 7,3  | 7,35      | 7,25 | 7,15 |
| 9             | 7,7               | 7,65 | 7,6  | 7,6       | 7,65 | 7,6  |

| Rf plat 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,100     | 0,100 | 0,106 | 0,113 | 0,125 | 0,119 | 0,119 | 0,113 | 0,106 |
| 0,144     | 0,131 | 0,138 | 0,156 | 0,156 | 0,156 | 0,150 | 0,150 | 0,138 |
| 0,231     | 0,231 | 0,225 | 0,231 | 0,244 | 0,238 | 0,244 | 0,231 | 0,231 |
| 0,319     | 0,313 | 0,313 | 0,325 | 0,263 | 0,263 | 0,313 | 0,325 | 0,319 |
| 0,431     | 0,406 | 0,400 | 0,413 | 0,406 | 0,406 | 0,413 | 0,406 | 0,413 |
| 0,513     | 0,500 | 0,500 | 0,494 | 0,500 | 0,500 | 0,494 | 0,500 | 0,513 |
| 0,619     | 0,600 | 0,588 | 0,594 | 0,594 | 0,594 | 0,594 | 0,594 | 0,600 |
| 0,925     | 0,925 | 0,931 | 0,913 | 0,919 | 0,925 | 0,913 | 0,931 | 0,925 |
| 0,981     | 0,988 | 0,988 | 0,975 | 0,988 | 0,981 | 0,988 | 0,981 | 0,988 |

| Rf plat 2 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,069     | 0,075 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,081 | 0,081 | 0,088 | 0,088 |
| 0,094     | 0,094 | 0,094 | 0,094 | 0,100 | 0,106 | 0,119 | 0,119 | 0,119 |
| 0,188     | 0,181 | 0,175 | 0,181 | 0,188 | 0,200 | 0,206 | 0,200 | 0,194 |
| 0,269     | 0,256 | 0,256 | 0,256 | 0,250 | 0,269 | 0,275 | 0,275 | 0,275 |
| 0,350     | 0,344 | 0,325 | 0,331 | 0,331 | 0,356 | 0,344 | 0,350 | 0,363 |
| 0,438     | 0,438 | 0,425 | 0,413 | 0,431 | 0,419 | 0,488 | 0,438 | 0,450 |
| 0,550     | 0,525 | 0,525 | 0,525 | 0,531 | 0,531 | 0,531 | 0,544 | 0,563 |
| 0,875     | 0,863 | 0,863 | 0,869 | 0,863 | 0,863 | 0,869 | 0,875 | 0,875 |
| 0,938     | 0,963 | 0,969 | 0,956 | 0,963 | 0,963 | 0,956 | 0,963 | 0,956 |

| Rf plat 3 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,081     | 0,063 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,075 | 0,063 | 0,069 | 0,069 |
| 0,163     | 0,094 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,106 | 0,100 | 0,094 | 0,100 |
| 0,275     | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,219 | 0,225 |
| 0,375     | 0,331 | 0,319 | 0,319 | 0,319 | 0,331 | 0,325 | 0,313 | 0,356 |
| 0,444     | 0,413 | 0,419 | 0,425 | 0,413 | 0,425 | 0,425 | 0,438 | 0,469 |
| 0,544     | 0,525 | 0,519 | 0,513 | 0,519 | 0,525 | 0,519 | 0,531 | 0,575 |
| 0,581     | 0,594 | 0,594 | 0,594 | 0,600 | 0,600 | 0,600 | 0,613 | 0,656 |
| 0,944     | 0,888 | 0,900 | 0,900 | 0,906 | 0,919 | 0,913 | 0,906 | 0,906 |
| 0,000     | 0,931 | 0,938 | 0,944 | 0,950 | 0,950 | 0,950 | 0,944 | 0,938 |

| Rf hari ke 2 |       |       | Rf hari ke 3 |       |       |
|--------------|-------|-------|--------------|-------|-------|
| 1            | 2     | 3     | 1            | 2     | 3     |
| 0,063        | 0,069 | 0,063 | 0,063        | 0,069 | 0,069 |
| 0,106        | 0,106 | 0,100 | 0,181        | 0,175 | 0,156 |
| 0,206        | 0,213 | 0,200 | 0,269        | 0,263 | 0,256 |
| 0,300        | 0,294 | 0,294 | 0,350        | 0,325 | 0,319 |
| 0,450        | 0,450 | 0,438 | 0,419        | 0,413 | 0,400 |
| 0,563        | 0,563 | 0,550 | 0,513        | 0,500 | 0,500 |
| 0,656        | 0,650 | 0,644 | 0,613        | 0,606 | 0,475 |
| 0,925        | 0,919 | 0,913 | 0,919        | 0,906 | 0,894 |
| 0,963        | 0,956 | 0,950 | 0,950        | 0,956 | 0,950 |

### C. Ekstrak Dataran Rendah

Jarak tempuh eluen : 8 cm

| Nomor Noda | Jarak tempuh noda (plat 1) |      |       |      |      |      |      |      |      |
|------------|----------------------------|------|-------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                          | 2    | 3     | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,8                        | 0,8  | 0,8   | 0,8  | 0,8  | 0,85 | 0,85 | 0,8  | 0,8  |
| 2          | 2                          | 1,95 | 1,975 | 2    | 2    | 1,95 | 1,7  | 1,7  | 1,7  |
| 3          | 3,25                       | 3,15 | 3,05  | 3,1  | 3    | 3,05 | 3,15 | 3,05 | 3,25 |
| 4          | 4,2                        | 4,2  | 4     | 3,95 | 4,05 | 4    | 4,1  | 4,1  | 4,1  |
| 5          | 5                          | 4,9  | 4,85  | 4,85 | 4,85 | 4,85 | 5    | 5    | 5    |
| 6          | 5,3                        | 5,25 | 5,2   | 5,2  | 5,2  | 5,1  | 5,35 | 5,3  | 5,3  |
| 7          | 7,15                       | 7,1  | 7,1   | 7,1  | 7,05 | 7,1  | 7,15 | 7,1  | 7,1  |
| 8          | 7,4                        | 7,35 | 7,4   | 7,3  | 7,3  | 7,25 | 7,35 | 7,3  | 7,3  |
| 9          | 7,7                        | 7,5  | 7,65  | 7,55 | 7,5  | 7,55 | 7,7  | 7,6  | 7,55 |

| Nomor Noda | Jarak tempuh noda (plat 2) |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                          | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,7                        | 0,75 | 0,8  | 0,8  | 0,85 | 0,8  | 0,85 | 0,8  | 0,8  |
| 2          | 1,65                       | 1,6  | 1,7  | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,8  | 1,75 | 1,75 |
| 3          | 2,35                       | 2,5  | 2,45 | 2,45 | 2,9  | 2    | 2,55 | 2,65 | 2,8  |
| 4          | 3,15                       | 3,1  | 3,25 | 3,3  | 3,35 | 3,4  | 3,3  | 3,4  | 3,75 |
| 5          | 3,95                       | 3,95 | 3,95 | 4    | 4    | 4    | 4,1  | 4,2  | 4,4  |
| 6          | 4,85                       | 4,6  | 4,75 | 4,75 | 4,75 | 4,9  | 4,9  | 5    | 5,25 |
| 7          | 6,6                        | 6,6  | 6,6  | 6,65 | 6,8  | 6,8  | 6,8  | 6,9  | 6,8  |
| 8          | 6,95                       | 7    | 7    | 6,95 | 7,15 | 7,2  | 7,15 | 7,2  | 7,1  |
| 9          | 7,35                       | 7,5  | 7,5  | 7,5  | 7,5  | 7,6  | 7,65 | 7,55 | 7,5  |

| Nomor Noda | Jarak tempuh noda (plat 3) |      |     |      |      |      |      |      |      |
|------------|----------------------------|------|-----|------|------|------|------|------|------|
|            | 1                          | 2    | 3   | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 1          | 0,8                        | 0,8  | 0,8 | 0,85 | 0,8  | 0,9  | 0,85 | 0,85 | 0,8  |
| 2          | 1,7                        | 1,65 | 1,7 | 1,65 | 1,7  | 1,85 | 1,7  | 1,8  | 1,75 |
| 3          | 2,6                        | 2,4  | 2,5 | 2,45 | 2,45 | 2,6  | 2,5  | 3,1  | 2,5  |
| 4          | 3,25                       | 3,15 | 3,2 | 3,15 | 3,15 | 3,2  | 3,15 | 3,4  | 3,25 |
| 5          | 4,1                        | 3,9  | 3,9 | 3,95 | 3,85 | 4    | 4,05 | 4    | 4    |
| 6          | 4,8                        | 4,75 | 4,7 | 4,7  | 4,6  | 4,7  | 4,7  | 4,8  | 4,7  |
| 7          | 6,75                       | 6,6  | 6,6 | 6,55 | 6,5  | 6,6  | 6,5  | 6,6  | 6,5  |
| 8          | 7,1                        | 7,05 | 7   | 7,05 | 7    | 7    | 7    | 7,05 | 6,95 |
| 9          | 7,45                       | 7,5  | 7,5 | 7,55 | 7,45 | 7,55 | 7,5  | 7,55 | 7,4  |

| Nomor Noda | Jarak tempuh noda |      |      |           |      |      |
|------------|-------------------|------|------|-----------|------|------|
|            | hari ke 2         |      |      | hari ke 3 |      |      |
|            | 1                 | 2    | 3    | 1         | 2    | 3    |
| 1          | 0,95              | 0,95 | 0,8  | 0,9       | 1    | 1    |
| 2          | 2,5               | 2,5  | 2,55 | 2,2       | 2,1  | 2,2  |
| 3          | 3,9               | 3,3  | 3,8  | 2,55      | 2,5  | 2,6  |
| 4          | 4,95              | 4,9  | 4,85 | 3,45      | 3,3  | 3,35 |
| 5          | 5,3               | 5,25 | 5,25 | 4,4       | 4,25 | 4,25 |
| 6          | 5,85              | 5,9  | 5,8  | 5,45      | 5,3  | 5,3  |
| 7          | 7,05              | 7    | 6,9  | 7,1       | 7,3  | 7,25 |
| 8          | 7,2               | 7,2  | 7,1  | 7,3       | 7,55 | 7,45 |
| 9          | 7,4               | 7,45 | 7,35 | 7,6       | 7,65 | 7,65 |

| Rf plat 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,100     | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,106 | 0,106 | 0,100 | 0,100 |
| 0,250     | 0,244 | 0,247 | 0,250 | 0,250 | 0,244 | 0,213 | 0,213 | 0,213 |
| 0,406     | 0,394 | 0,381 | 0,388 | 0,375 | 0,381 | 0,394 | 0,381 | 0,406 |
| 0,525     | 0,525 | 0,500 | 0,494 | 0,506 | 0,500 | 0,513 | 0,513 | 0,513 |
| 0,625     | 0,613 | 0,606 | 0,606 | 0,606 | 0,606 | 0,625 | 0,625 | 0,625 |
| 0,663     | 0,656 | 0,650 | 0,650 | 0,650 | 0,638 | 0,669 | 0,663 | 0,663 |
| 0,894     | 0,888 | 0,888 | 0,888 | 0,881 | 0,888 | 0,894 | 0,888 | 0,888 |
| 0,925     | 0,919 | 0,925 | 0,913 | 0,913 | 0,906 | 0,919 | 0,913 | 0,913 |
| 0,963     | 0,938 | 0,956 | 0,944 | 0,938 | 0,944 | 0,963 | 0,950 | 0,944 |

| Rf plat 2    |              |              |              |              |              |              |              |              |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1            | 2            | 3            | 4            | 5            | 6            | 7            | 8            | 9            |
| 0,088        | 0,094        | 0,100        | 0,100        | 0,106        | 0,100        | 0,106        | 0,100        | 0,100        |
| <b>0,206</b> | <b>0,200</b> | <b>0,213</b> | <b>0,219</b> | <b>0,219</b> | <b>0,219</b> | <b>0,225</b> | <b>0,219</b> | <b>0,219</b> |
| 0,294        | 0,313        | 0,306        | 0,306        | 0,363        | 0,250        | 0,319        | 0,331        | 0,350        |
| 0,394        | 0,388        | 0,406        | 0,413        | 0,419        | 0,425        | 0,413        | 0,425        | 0,469        |
| 0,494        | 0,494        | 0,494        | 0,500        | 0,500        | 0,500        | 0,513        | 0,525        | 0,550        |
| 0,606        | 0,575        | 0,594        | 0,594        | 0,594        | 0,613        | 0,613        | 0,625        | 0,656        |
| 0,825        | 0,825        | 0,825        | 0,831        | 0,850        | 0,850        | 0,850        | 0,863        | 0,850        |
| 0,869        | 0,875        | 0,875        | 0,869        | 0,894        | 0,900        | 0,894        | 0,900        | 0,888        |
| 0,919        | 0,938        | 0,938        | 0,938        | 0,938        | 0,950        | 0,956        | 0,944        | 0,938        |

| Rf plat 3    |              |              |              |              |              |              |              |              |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1            | 2            | 3            | 4            | 5            | 6            | 7            | 8            | 9            |
| 0,100        | 0,100        | 0,100        | 0,106        | 0,100        | 0,113        | 0,106        | 0,106        | 0,100        |
| <b>0,213</b> | <b>0,206</b> | <b>0,213</b> | <b>0,206</b> | <b>0,213</b> | <b>0,231</b> | <b>0,213</b> | <b>0,225</b> | <b>0,219</b> |
| 0,325        | 0,300        | 0,313        | 0,306        | 0,306        | 0,325        | 0,313        | 0,388        | 0,313        |
| 0,406        | 0,394        | 0,400        | 0,394        | 0,394        | 0,400        | 0,394        | 0,425        | 0,406        |
| 0,513        | 0,488        | 0,488        | 0,494        | 0,481        | 0,500        | 0,506        | 0,500        | 0,500        |
| 0,600        | 0,594        | 0,588        | 0,588        | 0,575        | 0,588        | 0,588        | 0,600        | 0,588        |
| 0,844        | 0,825        | 0,825        | 0,819        | 0,813        | 0,825        | 0,813        | 0,825        | 0,813        |
| 0,888        | 0,881        | 0,875        | 0,881        | 0,875        | 0,875        | 0,875        | 0,881        | 0,869        |
| 0,931        | 0,938        | 0,938        | 0,944        | 0,931        | 0,944        | 0,938        | 0,944        | 0,925        |

| Rf hari ke 2 |              |              | Rf hari ke 3 |              |              |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1            | 2            | 3            | 1            | 2            | 3            |
| 0,119        | 0,119        | 0,100        | 0,113        | 0,125        | 0,125        |
| <b>0,313</b> | <b>0,313</b> | <b>0,319</b> | <b>0,275</b> | <b>0,263</b> | <b>0,275</b> |
| 0,488        | 0,413        | 0,475        | 0,319        | 0,313        | 0,325        |
| 0,619        | 0,613        | 0,606        | 0,431        | 0,413        | 0,419        |
| 0,663        | 0,656        | 0,656        | 0,550        | 0,531        | 0,531        |
| 0,731        | 0,738        | 0,725        | 0,681        | 0,663        | 0,663        |
| 0,881        | 0,875        | 0,863        | 0,888        | 0,913        | 0,906        |
| 0,900        | 0,900        | 0,888        | 0,913        | 0,944        | 0,931        |
| 0,925        | 0,931        | 0,919        | 0,950        | 0,956        | 0,956        |

**Lampiran 5. Resolusi Uji Presisi dan Presisi antara**

$$R_s = \frac{d}{(w_1 + w_2)\sqrt{2}}$$

**A. Ekstrak campuran**

| PLAT 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,372  | 0,452 | 0,405 | 0,496 | 0,462 | 0,462 | 0,558 | 0,645 | 0,520 |
| 1,226  | 1,097 | 1,162 | 1,226 | 1,006 | 1,006 | 1,195 | 1,226 | 1,039 |
| 1,116  | 1,076 | 1,076 | 1,016 | 1,062 | 1,062 | 1,001 | 1,006 | 1,030 |
| 0,843  | 0,843 | 0,896 | 0,791 | 0,791 | 0,843 | 0,843 | 1,054 | 0,949 |
| 0,477  | 0,474 | 0,450 | 0,527 | 0,474 | 0,527 | 0,418 | 0,299 | 0,418 |
| 0,513  | 0,559 | 0,447 | 0,538 | 0,538 | 0,447 | 0,598 | 0,645 | 0,598 |
| 0,564  | 0,685 | 0,783 | 0,580 | 0,632 | 0,650 | 0,548 | 0,580 | 0,537 |
| 0,187  | 0,205 | 0,150 | 0,233 | 0,233 | 0,183 | 0,122 | 0,137 | 0,179 |
| 2,155  | 2,052 | 2,103 | 2,224 | 1,952 | 1,430 | 1,912 | 1,335 | 0,984 |

| PLAT 2 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,346  | 0,335 | 0,335 | 0,369 | 0,335 | 0,335 | 0,335 | 0,335 | 0,250 |
| 1,039  | 0,949 | 1,006 | 0,949 | 1,118 | 1,174 | 1,085 | 1,174 | 0,906 |
| 0,922  | 0,896 | 0,896 | 0,872 | 0,896 | 0,685 | 0,923 | 0,922 | 0,685 |
| 1,026  | 0,896 | 0,850 | 0,732 | 0,850 | 1,001 | 0,700 | 0,866 | 0,810 |
| 0,335  | 0,447 | 0,447 | 0,369 | 0,316 | 0,418 | 0,391 | 0,418 | 0,316 |
| 0,538  | 0,496 | 0,478 | 0,488 | 0,559 | 0,447 | 0,447 | 0,422 | 0,422 |
| 0,462  | 0,513 | 0,513 | 0,420 | 0,381 | 0,411 | 0,502 | 0,456 | 0,365 |
| 0,381  | 0,280 | 0,187 | 0,258 | 0,219 | 0,175 | 0,219 | 0,263 | 0,219 |
| 1,772  | 2,196 | 2,288 | 2,196 | 2,100 | 2,241 | 2,200 | 2,050 | 2,012 |

| PLAT 3 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,387  | 0,452 | 0,496 | 0,516 | 0,359 | 0,325 | 0,280 | 0,418 | 0,310 |
| 1,485  | 1,273 | 1,226 | 1,344 | 1,281 | 0,976 | 1,118 | 1,178 | 1,162 |
| 1,265  | 1,344 | 0,868 | 1,043 | 1,118 | 0,924 | 0,896 | 1,061 | 1,202 |
| 1,502  | 1,061 | 1,033 | 1,193 | 1,186 | 0,866 | 0,956 | 1,131 | 0,990 |
| 0,553  | 0,539 | 0,495 | 0,507 | 0,474 | 0,391 | 0,359 | 0,452 | 0,405 |
| 0,632  | 0,820 | 0,674 | 0,913 | 0,791 | 0,503 | 0,581 | 0,539 | 0,671 |
| 0,783  | 0,710 | 0,580 | 0,693 | 0,777 | 0,616 | 0,600 | 0,693 | 0,693 |
| 0,373  | 0,380 | 0,320 | 0,280 | 0,256 | 0,244 | 0,263 | 0,300 | 0,342 |
| 1,744  | 2,169 | 2,050 | 2,257 | 2,386 | 2,319 | 2,200 | 2,214 | 2,161 |

| hari ke 2 |       |       | hari ke 3 |       |       |
|-----------|-------|-------|-----------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 1         | 2     | 3     |
| 0,516     | 0,539 | 0,404 | 0,558     | 0,391 | 0,434 |
| 0,904     | 1,061 | 1,039 | 0,930     | 0,981 | 0,750 |
| 1,131     | 1,344 | 1,097 | 0,981     | 1,097 | 0,949 |
| 1,291     | 1,581 | 1,240 | 1,062     | 1,291 | 0,896 |
| 0,516     | 0,592 | 0,418 | 1,178     | 1,054 | 0,949 |
| 0,870     | 0,930 | 0,744 | 0,651     | 0,705 | 0,572 |
| 0,632     | 0,615 | 0,500 | 0,233     | 0,233 | 0,215 |
| 0,258     | 0,228 | 0,134 | 2,052     | 2,050 | 2,052 |
| 2,052     | 2,161 | 2,055 |           |       |       |

### B. Ekstrak dataran tinggi

| Plat 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,434  | 0,323 | 0,323 | 0,434 | 0,323 | 0,372 | 0,299 | 0,372 | 0,299 |
| 0,904  | 1,131 | 0,868 | 0,809 | 0,904 | 0,777 | 0,866 | 0,777 | 0,839 |
| 0,904  | 0,876 | 0,837 | 0,968 | 0,179 | 0,224 | 0,635 | 0,866 | 0,759 |
| 1,039  | 0,839 | 0,759 | 0,759 | 1,212 | 1,212 | 0,894 | 0,751 | 0,813 |
| 0,751  | 0,866 | 0,894 | 0,705 | 0,813 | 0,791 | 0,727 | 0,791 | 0,843 |
| 0,922  | 0,843 | 0,718 | 0,843 | 0,750 | 0,750 | 0,821 | 0,715 | 0,700 |
| 2,829  | 2,820 | 3,075 | 2,944 | 2,668 | 2,874 | 2,851 | 3,019 | 2,907 |
| 0,503  | 0,577 | 0,538 | 0,598 | 0,615 | 0,520 | 0,671 | 0,496 | 0,620 |

| Plat 2 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,248  | 0,179 | 0,231 | 0,248 | 0,289 | 0,239 | 0,359 | 0,299 | 0,271 |
| 0,866  | 0,783 | 0,727 | 0,783 | 0,808 | 0,791 | 0,783 | 0,751 | 0,616 |
| 0,727  | 0,671 | 0,705 | 0,616 | 0,542 | 0,580 | 0,580 | 0,651 | 0,685 |
| 0,667  | 0,738 | 0,564 | 0,600 | 0,667 | 0,738 | 0,580 | 0,651 | 0,738 |
| 0,718  | 0,750 | 0,800 | 0,650 | 0,821 | 0,488 | 1,212 | 0,759 | 0,683 |
| 0,858  | 0,683 | 0,781 | 0,822 | 0,746 | 0,839 | 0,334 | 0,810 | 0,805 |
| 2,668  | 2,846 | 2,929 | 2,821 | 2,793 | 2,874 | 2,929 | 2,719 | 2,635 |
| 0,598  | 0,956 | 0,981 | 0,783 | 0,894 | 0,924 | 0,783 | 0,837 | 0,777 |



| Plat 3 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 0,919  | 0,354 | 0,354 | 0,299 | 0,299 | 0,310 | 0,335 | 0,239 | 0,289 |
| 1,116  | 1,291 | 1,178 | 1,062 | 1,030 | 1,039 | 1,097 | 1,118 | 1,085 |
| 0,992  | 1,116 | 0,956 | 0,843 | 0,800 | 0,923 | 0,872 | 0,791 | 1,050 |
| 0,615  | 0,667 | 0,868 | 0,830 | 0,732 | 0,750 | 0,781 | 1,026 | 0,858 |
| 0,894  | 0,878 | 0,821 | 0,700 | 0,830 | 0,821 | 0,750 | 0,769 | 0,793 |
| 0,300  | 0,513 | 0,560 | 0,620 | 0,581 | 0,586 | 0,606 | 0,606 | 0,559 |
| 2,462  | 2,411 | 2,450 | 2,657 | 2,514 | 2,851 | 2,712 | 2,477 | 2,000 |
| 0,462  | 0,404 | 0,325 | 0,404 | 0,391 | 0,299 | 0,387 | 0,372 | 0,289 |

| Hari ke 2 |       |       | Hari ke 3 |       |        |
|-----------|-------|-------|-----------|-------|--------|
| 1         | 2     | 3     | 1         | 2     | 3      |
| 0,434     | 0,335 | 0,335 | 1,226     | 1,146 | 0,944  |
| 0,956     | 0,896 | 0,843 | 0,868     | 0,904 | 1,033  |
| 0,791     | 0,685 | 0,839 | 0,751     | 0,598 | 0,559  |
| 1,200     | 1,318 | 1,180 | 0,657     | 0,837 | 0,667  |
| 0,900     | 0,900 | 0,900 | 0,896     | 0,783 | 0,800  |
| 0,658     | 0,614 | 0,685 | 0,763     | 0,793 | -0,183 |
| 2,098     | 2,098 | 2,050 | 2,583     | 2,530 | 3,437  |
| 0,325     | 0,316 | 0,308 | 0,299     | 0,422 | 0,462  |

### C. Ekstrak dataran rendah

| PLAT 1 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 1,342  | 1,286 | 1,314 | 1,302 | 1,342 | 1,270 | 0,922 | 1,006 | 1,006 |
| 1,356  | 1,265 | 1,133 | 1,160 | 1,118 | 1,230 | 1,674 | 1,423 | 1,634 |
| 1,001  | 1,077 | 0,975 | 0,872 | 1,174 | 1,030 | 1,097 | 1,050 | 0,850 |
| 0,868  | 0,783 | 0,922 | 0,900 | 0,894 | 1,016 | 1,039 | 0,949 | 0,949 |
| 0,387  | 0,495 | 0,452 | 0,418 | 0,452 | 0,337 | 0,495 | 0,387 | 0,387 |
| 2,616  | 3,127 | 2,687 | 2,832 | 2,758 | 2,981 | 3,043 | 2,683 | 2,683 |
| 0,354  | 0,354 | 0,405 | 0,270 | 0,354 | 0,237 | 0,316 | 0,270 | 0,270 |
| 0,325  | 0,168 | 0,271 | 0,264 | 0,231 | 0,359 | 0,418 | 0,308 | 0,256 |

| PLAT 2 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 1,062  | 1,016 | 0,949 | 0,975 | 0,949 | 1,062 | 1,062 | 1,030 | 1,030 |
| 0,718  | 0,976 | 0,813 | 0,667 | 1,212 | 0,271 | 0,791 | 0,878 | 1,025 |
| 0,821  | 0,616 | 0,924 | 0,850 | 0,488 | 1,519 | 0,769 | 0,732 | 0,927 |
| 0,868  | 0,896 | 0,759 | 0,718 | 0,705 | 0,632 | 0,868 | 0,843 | 0,685 |
| 1,116  | 0,777 | 0,992 | 0,866 | 0,930 | 1,116 | 0,992 | 0,992 | 1,054 |
| 2,609  | 2,828 | 2,925 | 2,687 | 2,899 | 3,004 | 2,562 | 2,357 | 1,923 |
| 0,522  | 0,596 | 0,632 | 0,424 | 0,495 | 0,539 | 0,452 | 0,346 | 0,346 |
| 0,496  | 0,620 | 0,598 | 0,580 | 0,369 | 0,410 | 0,500 | 0,369 | 0,422 |

| PLAT 3 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |
| 1,006  | 0,950 | 1,006 | 0,868 | 1,006 | 1,097 | 0,922 | 1,062 | 1,062 |
| 0,976  | 0,791 | 0,843 | 0,843 | 0,839 | 0,839 | 0,924 | 1,370 | 0,791 |
| 0,685  | 0,769 | 0,738 | 0,718 | 0,700 | 0,616 | 0,705 | 0,293 | 0,732 |
| 0,950  | 0,839 | 0,783 | 0,821 | 0,700 | 0,843 | 0,900 | 0,600 | 0,750 |
| 0,904  | 1,097 | 0,992 | 0,930 | 0,968 | 0,904 | 0,777 | 0,924 | 0,808 |
| 2,629  | 2,495 | 2,687 | 2,925 | 3,004 | 3,004 | 2,683 | 2,546 | 2,546 |
| 0,434  | 0,558 | 0,566 | 0,745 | 0,707 | 0,596 | 0,707 | 0,671 | 0,671 |
| 0,369  | 0,462 | 0,527 | 0,527 | 0,503 | 0,580 | 0,527 | 0,488 | 0,439 |

| hari ke 2 |       |       | hari ke 3 |       |       |
|-----------|-------|-------|-----------|-------|-------|
| 1         | 2     | 3     | 1         | 2     | 3     |
| 1,733     | 1,681 | 1,957 | 1,501     | 1,230 | 1,342 |
| 1,546     | 0,853 | 1,398 | 0,418     | 0,434 | 0,434 |
| 1,015     | 1,540 | 1,050 | 0,949     | 0,781 | 0,732 |
| 0,342     | 0,342 | 0,358 | 0,927     | 0,886 | 0,839 |
| 0,550     | 0,650 | 0,513 | 1,107     | 1,025 | 1,025 |
| 1,302     | 1,193 | 1,230 | 1,972     | 2,309 | 2,252 |
| 0,224     | 0,283 | 0,239 | 0,248     | 0,299 | 0,239 |
| 0,211     | 0,271 | 0,244 | 0,300     | 0,098 | 0,195 |

## Lampiran 5. Dokumentasi

### A. Preparasi sampel daun sirsak



Pencucian daun



Pengeringan daun



Daun dihaluskan



Serbuk daun sirsak

### B. Ekstraksi Ultrasonik



Serbuk ditimbang



Serbuk + etanol



Proses ekstraksi



Penyaringan ekstrak



Filtrat ekstrak kasar

### C. Uji Stabilitas dengan metode KLT

#### 1) Stabilitas selama kromatografi ( KLT 2D)



Hasil KLT sebelum di lampu UV

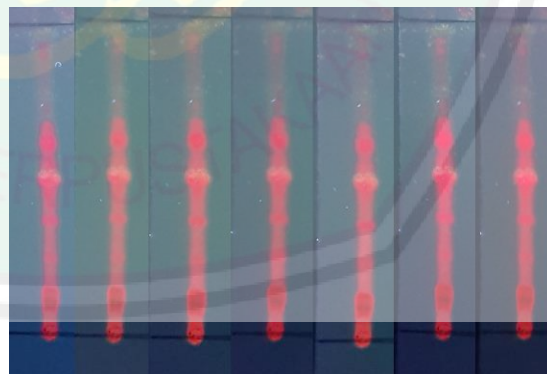


Hasil KLT setelah di lampu UV 366 nm

#### 2) Stabilitas Visualisasi



Hasil KLT sebelum di lampu UV



Hasil KLT sesudah di lampu UV 366 nm selama 60 menit

### 3) Presisi dan presisi antara



Hasil KLT uji presisi sebelum di lampu UV



Hasil KLT uji presisi sesudah di lampu UV 366 nm



Hasil KLT uji presisi antara sebelum di lampu UV



Hasil KLT uji presisi antara sesudah di lampu UV 366 nm