

**ANALISIS SIDIK JARI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SENYAWA  
AKTIF PADA EKSTAK KASAR DAUN SIRSAK  
(*Annona Muricata L.*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MIRTHAWATI BELLA PUTRI  
NIM. 17630055**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**ANALISIS SIDIK JARI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SENYAWA  
AKTIF PADA EKSTAK KASAR DAUN SIRSAK  
(*Annona Muricata L.*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MIRTHAWATI BELLA PUTRI  
NIM. 17630055**

**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)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**ANALISIS SIDIK JARI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SENYAWA  
AKTIF PADA EKSTAK KASAR DAUN SIRSAK  
(*Annona Muricata L.*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MIRTHAWATI BELLA PUTRI**  
NIM. 17630055

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji**

**Tanggal : 24 Desember 2021**

**Pembimbing I**

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

**Pembimbing II**

**Rifatul Mahmudah, M. Si**  
NIDT. 19830125 20160801 2 068

**Mengesahkan,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M. Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010

ii

**ANALISIS SIDIK JARI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SENYAWA  
AKTIF PADA EKSTAK KASAR DAUN SIRSAK  
(*Annona Muricata L.*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MIRTHAWATI BELLA PUTRI**  
NIM. 17630055

**Telah Diperiksa di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal : 24 Desember 2021**

**Penguji Utama : Dr. Akyunul Jannah, S. Si, M. P**  
NIP. 19750410 200501 2 009



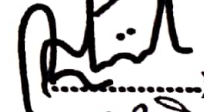
(.....)

**Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M. Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010



(.....)

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



(.....)

**Anggota Penguji : Rif'atul Mahmudah, M. Si**  
NIDT. 19830125 20160801 2 068



(.....)

**Mengesahkan,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M. Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mirthawati Bella Putri

NIM : 17630055

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Aktif Pada Ekstak Kasar Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*)

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

Malang, 25 Desember 2021

Yang Membuat Pernyataan,



Mirthawati Bella Putri

NIM. 17630055

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin, dengan segenap rasa syukur kepada Allah SWT. Saya dapat menyelesaikan naskah skripsi ini. Dan untuk pihak-pihak yang telah senantiasa mendukung saya dalam keadaan apapun, saya ingin mempersembahkan karya sederhana saya ini kepada :

Orang tua saya, nenek dan adik saya tercinta yang selama ini telah mendukung dan memberikan segala bentuk perhatian, motivasi, do'a, nasihat, serta waktunya sehingga saya dapat bertahan menyelesaikan studi saya hingga berada dititik seperti sekarang.

Bapak Ibu dosen kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah sabar membimbing dan menyalurkan ilmu kepada saya. Khususnya Ibu Elok kamillah Hayati, M. Si selaku dosen wali dan pembimbing, yang telah memberikan segala bentuk perhatian, waktu, nasihat dan motivasi untuk saya. Serta Ibu Rif'atul Mahmudah, M. Si selaku pembimbing agama, yang telah sabar dalam memberikan arahan, bimbingan, dukungan, nasihat, serta waktu kepada saya.

Kawan seperjuangan saya Tim Analitik (Farikha, Lifa, Salma, Arni, Dwi, Sella, Soy, Tria, Eky, Berli, Sandy, dan Sakinah) serta Kimia Angkatan 2017 "Neon", terimakasih telah menjadi bagian dalam cerita perjalanan saya selama berproses di Jurusan Kimia ini.

Kepada sahabat-sahabat saya Erlina, Elza, Puspa, dan Rani, terimakasih telah senantiasa membantu, memberikan masukan, motivasi dan mendengarkan keluh kesah saya selama ini sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya dengan baik dan tepat waktu.

Semua kakak tingkat saya, terimakasih yang telah membantu menyalurkan ilmunya, terkhususnya Muhammad Java Nanda Alkautsar yang telah memberikan dukungan, motivasi serta waktunya kepada saya.

## MOTTO

“Berjuanglah kemudian pasrahlah, karena pasti rencana Allah SWT. Lebih nikmat dan indah untuk kita”

وَأَصْبِرْ نَفْسَكَ مَعَ الَّذِينَ يَدْعُونَ رَبَّهُمْ بِالْعَدْوَةِ وَالْعَشِيِّ يُرِيدُونَ وَجْهَهُ وَلَا تَعْدُ عَيْنَاكَ عَنْهُمْ تُرِيدُ زِينَةَ الْحَيَاةِ  
الدُّنْيَا وَلَا تُطِعْ مَنْ أَغْفَلْنَا قَلْبَهُ عَن ذِكْرِنَا وَاتَّبَعَ هَوَاهُ وَكَانَ أَمْرُهُ فُرُطًا

Artinya : “Dan bersabarlah kamu bersama-sama dengan orang-orang yang menyeru Tuhannya di pagi dan senja hari dengan mengharap keridhaan-Nya; dan janganlah kedua matamu berpaling dari mereka (karena) mengharapkan perhiasan dunia ini; dan janganlah kamu mengikuti orang yang hatinya telah Kami lalaikan dari mengingati Kami, serta menuruti hawa nafsunya dan adalah keadaannya itu melewati batas.” (Q.S. Al-Kahfi:28)

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun proposal penelitian ini yang berjudul "**Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Aktif Pada Ekstak Kasar Daun Sirsak (*Annona Muricata L*)**". Sholawat serta salam senantiasa terpanjatkan dengan indah dan tulus terucap kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan para umat serta pengikutnya. Penyusunan proposal penelitian ini tidak luput dari dukungan, motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, izinkanlah penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Orang tua penulis, Bapak Edi, Ibu Sri, adik, nenek serta seluruh keluarga yang dengan sepenuh jiwa memberikan dukungan serta kasih sayangnya, sehingga penyusunan proposal penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malaik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malaik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malaik Ibrahim Malang dan selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan pengarahan, memberikan motivasi serta masukan dalam penulisan proposal penelitian ini.
5. Ibu Rif'atul Mahmudah, M. Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan pengarahan, serta



masuk dalam penulisan proposal penelitian ini.

6. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
7. Muhammad Teguh Laksono dan Bagas Febrianto selaku kakak tingkat yang telah membantu dengan ikhlas meluangkan waktunya dan sudi untuk berbagi ilmunya untuk kelancaran penulisan proposal penelitian ini.
8. Muhammad Java Nanda Alkautsar selaku kakak yang spesial yang telah memberikan segenap dukungan, motivasi, serta waktunya untuk kelancaran penulisan proposal penelitian ini.
9. Puspa Sari, Elza Nurhidayati, Erlina Novita Sari, dan Raniqul Isfahani selaku sahabat dan rekan seperjuangan yang selalu memberikan semangat, do'a, dan motivasi selama penyusunan proposal penelitian ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penulis.

Semoga amal baik semua pihak yang telah membantu penulis mendapatkan imbalan pahala yang berlipat ganda dari Allah SWT. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam proposal penelitian ini. Untuk itu penulis mengharapkan masukan yang bersifat membangun demi menyempurnakan proposal penelitian ini. Semoga tulisan ini bisa bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Malang, 27 Mei 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	xi
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iiiv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	viii
<b>MOTTO</b> .....	x
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>ABSTRAK</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>نبذة مختصرة</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan .....	7
1.4 Batasan Masalah .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	9
2.1 Sirsak ( <i>Annona Muricata L</i> ) .....	9
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak .....	9
2.1.2 Manfaat dan Kandungan Daun Sirsak .....	10
2.2 Pemisahan Senyawa Aktif Daun Sirsak .....	11
2.2.1 Ekstraksi Ultrasonik .....	11
2.2.2 Kromatografi Lapis Tipis .....	12
2.3 Validasi Metode Sidik Jari KLT Daun Sirsak .....	13
2.3.1 Stabilitas Analit Selama Kromatografi .....	13
2.3.2 Stabilitas Analit Dalam Larutan dan Plat .....	14
2.3.3 Stabilitas Hasil Derivatisasi Ekstrak Kasar Daun Sirsak .....	15
2.3.4 Spesifitas .....	16
2.3.5 Presisi dan Presisi Antara .....	17
2.3.6 Ketegaran .....	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	22
3.1 Waktu dan Tempat .....	22
3.2 Alat dan Bahan .....	22
3.2.1 Alat .....	22
3.2.2 Bahan .....	22
3.3 Rancangan Penelitian .....	22
3.4 Tahapan Penelitian .....	24
3.5 Cara Kerja .....	24

3.5.1	Preparasi Sampel .....	24
3.5.2	Analisis Kadar Air .....	25
3.5.3	Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Asetogenin pada Daun Sirsak .....	25
3.5.4	Preparasi Plat KLT Sebelum Digunakan .....	26
3.5.5	Pembuatan Reagen Vanilin – Sulfat.....	26
3.5.6	Penjenuhan Eluen .....	26
3.5.7	Uji Stabilitas Analit Selama Kromatografi .....	26
3.5.8	Uji Stabilitas Analit pada Plat dan Dalam Larutan .....	27
3.5.9	Uji Stabilitas Visualisasi Ekstrak Kasar Daun Sirsak .....	27
3.5.10	Uji Spesifitas .....	28
3.5.11	Uji Presisi .....	28
3.5.12	Uji Presisi Antara .....	28
3.5.13	Uji Ketegaran terhadap Jenis Bejana Pengembang .....	29
3.5.14	Analisis Data .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>30</b>
4.1	Preparasi Sampel .....	30
4.2	Analisis Kadar Air .....	31
4.3	Ekstraksi Ultrasonik Daun Tanaman Sirsak.....	31
4.4	Uji Stabilitas Analit Selama Kromatografi .....	32
4.5	Uji Stabilitas Analit pada Plat dan Dalam Larutan .....	35
4.6	Uji Stabilitas Visualisasi .....	37
4.7	Uji Spesifitas .....	39
4.8	Uji Presisi dan Presisi Antara .....	41
4.9	Uji Ketegaran Terhadap Jenis Bejana Pengembang.....	44
4.10	Identifikasi Senyawa Penciri pada Ekstrak Kasar Daun Sirsak .....	46
4.11	Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam.....	49
<b>BAB V PENUTUP.....</b>		<b>53</b>
5.1	Kesimpulan.....	53
5.2	Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>55</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>60</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil uji presisi dan presisi antara .....	19
Tabel 2.2 Hasil uji ketegaran .....	21
Tabel 4.1 Spot senyawa aktif hasil kromatografi ekstrak etanol daun sirsak .....	43
Tabel 4.2 Hasil uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Sirsak.....	10
Gambar 2.2	Struktur <i>annonaceous acetogenin</i> .....	11
Gambar 2.3	Hasil uji stabilitas analit selama proses kromatografi, dengan ekstrak yang dikembangkan sebanyak 3 $\mu$ L (a) dan 0.5 $\mu$ L (b) .....	14
Gambar 2.4	Stabilitas analit daun tanaman anting-anting selama 90 menit dalam plat dan dalam larutan .....	15
Gambar 2.5	Hasil stabilitas visualisasi batang dan daun brotowali menggunakan sinar UV 366 nm dengan pereaksi asam sulfat.....	16
Gambar 2.6	Hasil uji spesifitas pola sidik jari KLT serbuk rimpang temu manga dari 5 tempat berbeda, yaitu M1, M2, M3, M4, M5; produk serbuk jamu rimpang temu manga (J); standar kurkuminoid, (B) serbuk rimpang bangle, (L) temulawak, (K) kunyit .....	17
Gambar 2.7	Uji presisi daun tanaman anting-anting pada hari pertama, (a) plat ke-1; (b) plat ke-2; dan (c) plat ke 3 .....	18
Gambar 2.8	Uji presisi antara daun tanaman anting-anting pada (a) plat hari ke-1; (b) plat hari ke-2; (c) plat hari ke-3 .....	18
Gambar 2.9	Kromatogram dengan jarak pengembangan (a) 8 cm dan (b) 7 cm..	20
Gambar 2.10	Perbandingan kromatogram hasil pengembangan menggunakan bejana (a) <i>twin-trough</i> dan (b) <i>flat-bottom</i> .....	20
Gambar 4.1	Stabilitas analit selama kromatografi ekstrak daun sirsak ulangan pertama.....	34
Gambar 4.2	Stabilitas analit ekstrak daun sirsak selama 90 menit pada plat dan dalam larutan ulangan pertama. (1) sampel 90 menit sebelum kromatografi, (2) dan (4) sampel segar sebelum kromatografi, (3) sampel 90 menit sebelum aplikasi pada plat.....	36
Gambar 4.3	Hasil derivatisasi menggunakan reagen vanilin-sulfat dibawah sinar UV 366 nm ulangan pertama .....	38
Gambar 4.4	Morfologi (a) daun tanaman sirsak, (b) daun tanaman srikaya, (c) daun tanaman salam.....	39
Gambar 4.5	Hasil uji spesifitas ekstrak daun sirsak. U1 = Ulangan 1; U2 = Ulangan 2; dan U3 = Ulangan 3 .....	40
Gambar 4.6	Hasil uji presisi ekstrak daun sirsak pada hari pertama waktu pagi. U1 = Ulangan 1; U2 = Ulangan 2; dan U3 = Ulangan 3 .....	42
Gambar 4.7	Hasil uji presisi antara ekstrak daun sirsak pada (a) plat hari ke-2 dan (b) plat hari ke-3.....	42
Gambar 4.8	Hasil uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang ekstrak daun sirsak tipe (a) <i>twin trough</i> (b) <i>flat bottom</i> .....	46
Gambar 4.9	Dugaan reaksi asetogenin dengan reagen vanillin-sulfat .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	60
Lampiran 2. Diagram Alir.....	61
Lampiran 3. Perhitungan.....	68
Lampiran 4. Perhitungan Nilai $R_f$ Stabilitas Analit pada Plat dan dalam Larutan .....	69
Lampiran 5. Perhitungan Nilai $R_f$ Stabilitas Visualisasi .....	71
Lampiran 6. Perhitungan Nilai $R_f$ Uji Spesifitas.....	72
Lampiran 7. Perhitungan Nilai $R_f$ Uji Presisi dan Presisi Antara .....	73
Lampiran 8. Perhitungan Nilai $R_f$ Uji Ketegaran Terhadap Jenis Bejana Pengembang.....	77
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	79

## ABSTRAK

Putri, Mirthawati B. 2021. **Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Aktif Pada Ekstrak Kasar Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*)**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Pembimbing II : Rif'atul Mahmudah, M. Si

---

**Kata Kunci** : Analisis sidik jari, daun sirsak, ekstraksi ultrasonik, kromatografi lapis tipis

Tanaman sirsak merupakan salah satu makhluk hidup yang kaya akan khasiatnya. Diantaranya sebagai antikanker, antibakteri, dan antioksidan. Contohnya pada daun sirsak terdapat berbagai senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, kumarin, lakton, antrakuinon, tanin, glikosida jantung, fenol dan pitosterol, namun yang paling dominan yaitu senyawa *annonaceous acetogenin*. Dan dalam era modern masa kini banyak cara untuk menghasilkan obat-obatan herbal. Namun banyak pula produk yang tidak original, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mencari profil kromatografi yang spesifik dari senyawa aktif dalam daun sirsak agar dapat dijadikan sebagai kendali mutu sehingga terhindar dari pemalsuan dan tetap terjaganya keaslian obat-obatan herbal yang dihasilkan.

Dalam penelitian ini juga dilakukan validasi metode untuk mengetahui kestabilan, presisi, spesifitas, dan ketegaran profil kromatografi senyawa aktif daun sirsak pada analisis KLT. Senyawa aktif diperoleh dengan mengekstrak daun sirsak menggunakan pelarut etanol selama 10 menit dengan ekstraksi ultrasonik, maka dihasilkan ekstrak kasar. Kemudian pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan KLT silika gel G<sub>60</sub>F<sub>254</sub> menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7,5:2,5. Derivatisasi hasil KLT menggunakan reagen vanillin-sulfat dan diamati pola sidik jari dibawah lampu UV 366 nm.

Hasil uji stabilitas selama kromatografi menunjukkan bahwa analit kurang stabil selama proses kromatografi. Uji stabilitas analit pada plat dan dalam larutan menunjukkan analit tetap stabil meskipun terdapat selang waktu dalam plat maupun larutan selama 90 menit sebelum proses kromatografi. Uji visualisasi menunjukkan bahwa analit tetap stabil selama waktu tunggu 60 menit. Uji presisi dan presisi antara dapat diterima dengan diperolehnya nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif berturut-turut sebesar 0,003 ( $\leq 0,02$ ) dan 0,01 ( $\leq 0,05$ ). Uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang dapat diterima dengan diperolehnya nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif yaitu 0,00 ( $\leq 0,05$ ). Dan hasil uji spesifitas menunjukkan pola sidik jari spesifik oleh daun sirsak dengan jumlah dan posisi spot yang berbeda dengan tanaman srikaya dan salam.

## ABSTRACT

Putri, Mirthawati Bella. 2021. **Fingerprint Analysis of Thin Layer Chromatography of Active Compounds in Crude Extract of Soursop (*Annona Muricata L.*) Leaves.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Supervisor II: Rifatul Mahmudah, M. Si

---

**Keywords** : Fingerprint analysis, soursop leaf, ultrasonic extraction, thin layer chromatography

Soursop is one of the living things that are rich in benefits. Among them as anticancer, antibacterial, and antioxidant. For example, soursop leaves contain various secondary metabolites, namely alkaloids, saponins, terpenoids, flavonoids, coumarins, lactones, anthraquinones, tannins, cardiac glycosides, phenols and phytosterols, but the most dominant is annonaceous acetogenin compounds. And in today's modern era there are many ways to produce herbal medicines. However, many products are not original, so this study aims to find a specific chromatographic profile of the active compounds in soursop leaves so that they can be used as quality control so as to avoid counterfeiting and maintain the authenticity of the herbal medicines produced.

In this study, method validation was also carried out to determine the stability, precision, specificity, and rigidity of the chromatographic profile of the active compound of soursop leaf in TLC analysis. The active compound was obtained by extracting soursop leaves using ethanol as a solvent for 10 minutes with ultrasonic extraction, resulting in a crude extract. Then the separation of the active compounds was carried out by using silica gel TLC G60F254 using the mobile phase of n-hexane: ethyl acetate with a ratio of 7.5:2.5. The derivatization of TLC results used vanillin-sulfate reagent and observed fingerprint patterns under 366 nm UV lamp.

The results of the stability test during chromatography showed that the analyte was less stable during the chromatography process. The stability test of the analyte on the plate and in solution showed that the analyte remained stable even though there was an interval of 90 minutes in the plate and solution before the chromatography process. The visualization test showed that the analyte remained stable during the 60 minute waiting time. The test of precision and intermediate precision was acceptable with the obtained standard deviation values of Rf ( $\Delta R_f$ ) of the active compound of 0.003 ( $\leq 0.02$ ) and 0.01 ( $\leq 0.05$ ). The stiffness test for the type of expansion vessel can be accepted by obtaining the standard deviation value of Rf ( $\Delta R_f$ ) of the active compound, which is 0.00 ( $\leq 0.05$ ). And the results of the specificity test showed a specific fingerprint pattern by soursop leaves with a different number and position of spots with srikaya and salam plants.



## نبذة مختصرة

فوتري ، ميرتاواي ب. ٢٠٢١. تحليل بصمة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمركبات النشطة في المستخلص الخام لأوراق قشطة شائكة (*Annona Muricata L.*). مقال. قسم الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأول: آلوك كاميلاهيايتي، الماجستير فالعلوم، المشرفة الثانية: رفعة المحمودة الداخستير .

**الكلمات الرئيسية:** تحليل بصمات الأصابع ، ورقة قشطة شائكة ، الاستخراج بالموجات فوق الصوتية ، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

قشطة شائكة هي واحدة من الكائنات الحية الغنية بالفوائد. من بينها كمضاد للسرطان ومضاد للبكتيريا ومضاد للأكسدة. على سبيل المثال، تحتوي أوراق قشطة شائكة على مستقبلات ثانوية مختلفة، وهي القلويدات، والصابونين، والترينويد، والفلافونويد، والكومارين، واللاكتونات، والأنتراكينون، والعنصر، وجليكوسيدات القلب، والفينولا، والفيتوستيرول، ولكن الأكثر شيوعًا هو مركبات الأستروجينين. وفي العصر الحديث هناك العديد من الطرق لإنتاج الأدوية العشبية. ومع ذلك، فإن العديد من المنتجات ليست أصلية، لذلك تهدف هذه الدراسة إلى إيجاد ملف تعريف كروماتوغرافي محدد للمركبات النشطة في أوراق قشطة شائكة بحيث يمكن استخدامها لمراقبة الجودة لتجنب التزييف والحفاظ على أصالة الأدوية العشبية المنتجة.

في هذه الدراسة، تم إجراء التحقق من صحة الطريقة أيضًا لتحديد ثبات ودقة ونوعية وصلابة المظهر الكروماتوغرافي للمركبات النشطة في أوراق قشطة شائكة في تحليل KLT. تم الحصول على المركب الفعال عن طريق استخراج أوراق قشطة شائكة باستخدام الإيثانول لمدة ١٠ دقائق مع الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية، بحيث يتم إنتاج مستخلص خام. ثم تم إجراء فصل المركبات النشطة بواسطة KLT السيليكا هلام  $G_{10}F_{10}$  باستخدام الطور المتحرك ن-الهكسان: أسيتات الإيثيل بنسبة ٥:٢٠:٧٥. اشتقاق نتائج KLT باستخدام كاشف كبريتات الفانيلين ونمط بصمة الإصبع الملحوظ تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية ٣٦٦ نانومتر.

تظهر نتائج اختبار الثبات أثناء الفصل اللوني أن الحليلة أقل استقرارًا أثناء عملية الفصل اللوني. أظهر اختبار ثبات المادة التحليلية على اللوح وفي المحلول أن المادة التحليلية ظلت مستقرة على الرغم من وجود فترة ٩٠ دقيقة في اللوح والمحلول قبل عملية الكروماتوغرافيا. يُظهر اختبار التصور أن المادة التحليلية تظل مستقرة خلال فترة انتظار تبلغ ٦٠ دقيقة. يمكن قبول اختبار الدقة والدقة المتوسطة من خلال الحصول على قيمة الانحراف المعياري  $Rf(\Delta Rf)$  المركب النشط هو  $0.003 \leq$  و  $0.001 \leq$  (  $0.005 \leq$  ). يمكن قبول اختبار الصلابة لنوع وعاء المطور من خلال الحصول على قيمة الانحراف المعياري  $Rf(\Delta Rf)$  المركب النشط هو  $0.005 \leq$  ). وأظهرت نتائج اختبار الخصوصية نمطًا محددًا لبصمات الأصابع بواسطة أوراق قشطة شائكة مع عدد مختلف وموضع البقع مع نباتات السريكايا والسلام.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pengobatan tradisional dengan obat-obatan herbal telah dilakukan sejak jaman dahulu dikarenakan efek samping yang ditimbulkan relatif lebih sedikit dibandingkan dengan menggunakan obat sintetis. Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal yaitu tanaman sirsak (*Annona Muricata L*). Pada bagian daun sirsak mengandung senyawa metabolik sekunder antara lain seperti alkaloid, triterpenoid, kumarin, saponin, dan flavonoid yang berperan dalam proses hipoglikemik, hipotensi, analgesik, dan antiinflamatory (Wurdianing, 2014). Pada daun sirsak lebih banyak terkandung senyawa *Annonaceous acetogenin* dibandingkan dengan bagian tanaman sirsak lainnya. Senyawa ini merupakan senyawa fitokimia terpenting dalam tanaman sirsak dan memiliki sifat sitotoksik (Puriyanti, 2018) yang dapat dimanfaatkan sebagai antikanker, antibakteri, dan antioksidan (Manarizki, 2019).

Khasiat yang terkandung dalam tanaman sirsak merupakan kekuasaan Allah SWT yang patut untuk disyukuri, sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat 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 ?”

(Q.S. As-Syu'ara : 7)

Menurut pakar tafsir al-misbah, dalam firman Allah SWT. diatas mengandung makna bahwa mengajak manusia untuk berfikiran luas kedepan dimana Allah SWT. menumbuhkan tumbuhan dengan kemampuan dapat berkembang biak menggunakan bagian tubuh dari tumbuhan itu sendiri sehingga tumbuhan dapat tumbuh dengan baik dan bermanfaat (Shihab, 2002). Sehingga manusia harus memiliki pola pikir yang cerdas secara luas terhadap tumbuhan dimana tumbuhan tidak akan ditumbuhkan oleh Allah SWT. tanpa memiliki manfaat di muka bumi ini sehingga manusia harus menggali khasiat yang terkandung didalam tumbuh-tumbuhan tersebut. Dan tumbuh-tumbuhan yang baik yaitu yang memiliki manfaat dan berbagai macam keajaiban didalamnya bagi hamba-Nya baik hewan maupun manusia, salah satunya yaitu sebagai tanaman obat-obatan.

Dalam era modern ini sangat mudah untuk mendapatkan daun sirsak dengan cara baik membeli daunnya maupun serbuk simplisianya, sehingga tidak harus bersusah payah mencari pohon sirsak dan memetikinya. Namun terdapat pula pedagang yang tidak jujur yang berani melakukan kecurangan memalsukan dengan tanaman lain yang lebih ekonomis atau mudah didapat dari genus atau morfologi daun yang serupa. Hal tersebut sangat mempengaruhi terhadap kualitas, khasiat dan keamanan dari obat herbal yang dihasilkan karena kandungan senyawa kimia dalam setiap tanaman sangat beragam dan banyak faktor yang mempengaruhi seperti jenis tanaman, usia tanaman, kondisi lingkungan tanaman tersebut tumbuh dan faktor-faktor lainnya. Oleh karena itu, sangat dibutuhkan kontroling terhadap tanaman obat menggunakan peralatan canggih dan efektif agar dapat menunjukkan ciri spesifik dari tanaman obat sehingga mampu mengendalikan serta menjamin mutu obat herbal (Syafi'i, 2018).

Metode pengendali mutu yang sering digunakan yaitu analisis sidik jari. Analisis ini dapat mengevaluasi dan melakukan kontrol kualitas multikomponen dari bahan baku obat herbal yang menghasilkan profil kromatografi akibat senyawa kimia yang terkandung ditampilkan dalam kromatogram sidik jari sehingga dapat menunjukkan karakteristik dan stabilitas suatu tanaman obat (Zhao et al, 2005). Dalam metode ini untuk memisahkan senyawa aktif yang terkandung didalam daun sirsak dapat menggunakan ekstraksi ultrasonik yaitu memanfaatkan gelombang akustik yang frekuensinya lebih besar dari 16-20 kHz. Kelebihan metode ultrasonik ini yaitu dapat mengekstrak lebih cepat dan memiliki efisiensi waktu ekstraksi hampir 50% daripada ekstraksi lain, menggunakan sedikit pelarut dan meningkatkan jumlah randemen (Handayani, 2016). Kemudian pemisahan senyawa aktif dapat dilanjutkan dengan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki kelebihan teknik pemisahan sederhana, waktu dan biaya yang dibutuhkan lebih sedikit, selektif dan sensitif (Katrin, 2013).

Manarizki (2019) telah melakukan penelitian pemisahan senyawa aktif dari ekstrak kasar daun sirsak menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan variasi lama waktu ekstraksi yang kemudian dilakukan pemisahan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan bantuan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) dan diidentifikasi menggunakan FTIR menghasilkan randemen terbesar oleh pelarut etanol dengan lama ekstraksi 10 menit yaitu rerata randemen 3,03%. Dan dihasilkan identifikasi isolat diduga senyawa golongan asetogenin berupa gugus fungsi OH, C-H, C=O, C=C, dan C-O.

Kemudian, terdapat pula penelitian oleh Febrianto (2020) yang telah melakukan stabilitas senyawa aktif daun sirsak dari jenis tanaman dataran rendah dan dataran

tinggi urutan ke-3 sampai ke-6 menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol dan lama ekstraksi 10 menit yang dilanjutkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan bantuan eluen n-heksana : etil asetat (7,5 : 2,5) yang diderivatisasi melalui penyemprotan reagen vanillin-sulfat dan dilakukan variasi lama penotolan serta pengamatan dibawah lampu UV selama 60 menit. Dan menghasilkan stabilitas analit selama kromatografi kurang stabil sedangkan stabilitas hasil derivatisasi (visualisasi) stabil dengan intensitas warna merah-orange yang baik karena tidak ada noda yang hilang selama pengamatan UV 60 menit. Kemudian diperoleh keterulangan pola pemisahan dan hasil rerata rendamen yang baik pada ekstrak daun sirsak dari dataran rendah.

Terdapat pula beberapa penelitian validasi metode yang terdiri dari uji stabilitas analit, spesifitas, presisi, dan ketegaran. Pada uji stabilitas meliputi stabilitas analit selama kromatografi, stabilitas analit pada plat dan dalam larutan, kemudian stabilitas analit hasil derivatisasi (visualisasi). Stabilitas ini bertujuan mengetahui mutu bahan baku tanaman obat yang bervariasi akibat pengaruh lingkungan seperti suhu, kelembaban, dan oksigen yang nantinya dapat digunakan untuk kemungkinan kondisi penyimpanan dan penentuan waktu simpan (Koll, dkk., 2003). Penelitian yang telah dilakukan oleh Jannah (2016) diperoleh kestabilan analit karena tidak terdapat perbedaan intensitas, warna, jumlah, dan posisi baik pada sampel yang diaplikasikan tiga jam sebelum kromatografi, tiga jam dalam larutan, dan sampel yang diaplikasikan segera sebelum kromatografi kemudian selisih nilai Rf tidak lebih dari 0.05 dimana stabilitas analit pada plat dan dalam larutan bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu penundaan sebelum dan setelah sampel diaplikasikan pada plat, dengan dilakukan pendiaman ekstrak setelah pengaplikasian selama tiga

jam untuk mengevaluasi stabilitas analit pada plat. Sedangkan pada stabilitas analit selama kromatografi dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi untuk mengetahui stabilitas analit selama kromatografi berlangsung dan diperoleh hasil pada penelitian Jannah (2016) ini tidak stabil karena terdapat beberapa spot berada diluar garis diagonal persimpangan dua fase gerak. Kemudian dihasilkan pula analit stabil setelah derivatisasi karena tidak terdapat perubahan kromatogram selama 60 menit setelah dilakukan pewarnaan.

Validasi metode yang dilakukan selanjutnya yaitu uji spesifitas dimana merupakan metode kualitatif yang menurut Reich dan Schibli (2006) dapat dikatakan stabil apabila dua sampel dengan identitas yang berbeda seperti tanaman obat dengan tanaman pembanding memberikan hasil yang berbeda nyata, sedangkan apabila pengujian dua sampel dengan identitas yang sama seperti tanaman obat dengan substansi penanda (senyawa standar) harus memberikan hasil yang sama. Penelitian yang telah dilakukan oleh Syafi'i, dkk. (2018) menghasilkan kromatogram yang cukup berbeda nyata dari keempat tanaman baik dari jumlah pita yang masing-masing memiliki 11, 13, 12, dan 10 pita kemudian warna pita yang berbeda yaitu warna biru tua dan jingga kecoklatan dimana warna biru ini dapat dijadikan sebagai ciri khas atau penanda tanaman obat tersebut.

Kemudian validasi metode yang dilakukan yaitu uji presisi yang terdiri dari presisi dan presisi antara. Menurut Riech dan Schibli (2006) presisi untuk kromatografi lapis tipis diketahui melalui ekstrak yang diaplikasikan pada plat memiliki pola kromatogram yang identik berdasarkan jumlah, posisi, intensitas, warna pita dan simpangan baku nilai Rf tidak leih dari 0.02. Sedangkan presisi antara dapat diketahui menggunakan sinar UV 366 nm dengan pereaksi tertentu dan

memiliki pola sidik jari yang identik berdasarkan jumlah, intensitas, warna pita dan simpangan baku nilai Rf tidak lebih dari 0.05. Penelitian yang telah dilakukan oleh Laksono (2020) menghasilkan uji presisi dan presisi antara dapat diterima karena identik dan memenuhi syarat diterimanya simpangan baku nilai Rf yaitu 0,0153 untuk presisi dan 0.0238 untuk presisi antara.

Selain itu validasi metode yang dilakukan yaitu uji ketegaran yang merupakan kemampuan suatu metode mempertahankan hasil yang tidak berbeda signifikan apabila terjadi perubahan. Uji ketegaran meliputi ketegaran tipe bejana (*twin trough* dan *flat bottom*) (Reich dan Schibli, 2006). Penelitian yang telah dilakukan oleh Fatahillah (2016) menghasilkan ketegaran tipe bejana diperoleh pola yang sama secara visual dan tidak mengalami perbedaan nyata pada nilai Rf yaitu 0.0259 yang keduanya memenuhi syarat diterimanya simpangan baku nilai Rf tidak lebih dari 0.05.

Berdasarkan berbagai uraian tersebut, untuk melakukan pengembangan penelitian sebelumnya maka dalam penelitian ini akan dilakukan ekstraksi ultrasonik terhadap daun sirsak pada urutan daun ke-3 sampai ke-6 menggunakan pelarut etanol dan lama waktu ekstraksi 10 menit yang kemudian dilanjutkan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan bantuan eluen n-heksana : etil asetat. Kemudian dilakukan derivatisasi melalui penyemprotan reagen vanillin-sulfat dan dilakukan identifikasi dengan berbagai metode analisis validasi agar didapatkan pola sidik jari senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak yang kemudian dilakukan perbandingan dengan pola sidik jari tanaman serupa dari genus atau morfologi yang memiliki kemiripan yaitu daun srikaya (*Annona Squamosa L*) dan daun salam (*Syzygium Polyanthum*), maka akan didapatkan pola sidik jari senyawa

aktif ekstrak kasar daun sirsak yang spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai kendali mutu jika terjadi pemalsuan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pola sidik jari senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak dengan tanaman pembanding?
2. Bagaimana nilai  $R_f$  yang dihasilkan identifikasi validasi ?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang akan dilaksanakan adalah :

1. Untuk mengetahui perbedaan pola sidik jari senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak dengan tanaman serupa.
2. Untuk mengetahui dapat diterimanya berbagai uji identifikasi validasi senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak.

## 1.4 Batasan Masalah

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

1. Sampel diambil pada urutan daun ke-3 sampai ke-6 dari pucuk
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. Reagen yang digunakan yaitu vanilin-sulfat

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi mengenai pola sidik jari senyawa aktif daun sirsak hasil ekstraksi ultrasonik yang spesifik dan dapat digunakan untuk kendali mutu tanaman obat di masyarakat sehingga diharapkan dapat mencegah terjadinya pemalsuan obat herbal.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Sirsak (*Annona Muricata L*)**

##### **2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak**

Sirsak (*Annona Muricata L*) merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah tropis Amerika Selatan. Tumbuhan sirsak berupa pohon yang ukurannya tidak begitu besar dengan tinggi pohon antara 3-8 meter. Ukuran buahnya agak besar, rata-rata 0,2-2 kg. Produksi rata-rata tiap pohon sekitar 25 buah per musim. Buahnya yang sudah tua memiliki ciri-ciri seperti, jarak duri renggang, tangkai buah menguning, aroma lebih harum dan menusuk (Widyastutik dan Paimin, 1992). Daunnya berbentuk bulat panjang menyirip dengan ujung meruncing, permukaan mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Tanaman sirsak dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Sunarjono, 2005) :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Sub divisi	: Angiospermae (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae (berkeping dua/dikotil)
Ordo	: Polycarpiceae
Familia	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: Annona Muricata Linn



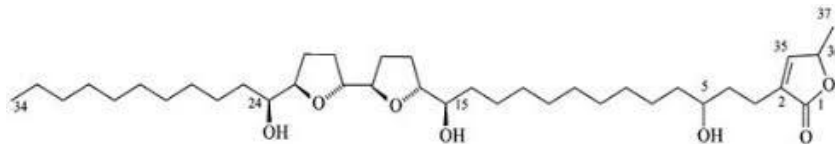
**Gambar 2.1** Tanaman Sirsak

### **2.1.2 Manfaat dan Kandungan Daun Sirsak**

Pada sirsak (*Annona Muricata L*) sama dengan *Annona* lainnya yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk berbagai macam jenis penyakit (De Sousa, dkk., 2010; Mishra, dkk., 2013). Menurut Gavamukulya, dkk., (2014) pada *Annona Muricata L*. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, kumarin, lakton, antrakuinon, tanin, glikosida jantung, fenol dan pitosterol. Dan menurut Moghadamtousi, dkk. (2015) kandungan utama dari *Annona Muricata L*. yaitu *annonaceous acetogenin*.

Asetogenin dalam tanaman sirsak memiliki potensi sitotoksik, dengan rantai asam lemak sepanjang 35 atau 37 karbon yang diakhiri oleh sebuah  $\gamma$ -lakton. Secara biogenetik, *annonaceous acetogenin* diturunkan dari rantai panjang asam lemak (C-32 atau C-34) dan asam karboksilat terminal yang terikat pada gugus 2-propanol pada posisi C-2 untuk membentuk suatu lakton (metil tersubstitusi  $\alpha,\beta$ -tak jenuh- $\gamma$ -lakton) (Kojima dan Tanaka, 2009). *Annonaceous acetogenin* merupakan inhibitor NADH pada enzim ubiquinone oksidoreduktase. Enzim ini merupakan enzim esensial dalam sistem transport elektron yang memimpin ke proses selanjutnya yaitu fosforilase oksidatif di dalam mitokondria. Sumber utama aktifitas biologis *annonaceous acetogenin* melibatkan interaksi dengan kompleks I mitokondrial. Inhibisi kompleks I membuat sel kekurangan ATP, hal ini menyebabkan

pertumbuhan sel terhambat dan mengganggu kinerja sel sehingga sel mengalami apoptosis adalah diinisiasi oleh inhibisi kompleks I mitokondria (Villo, 2008).



**Gambar 2.2** Struktur *annonaceous acetogenins* (Gorman, 2006)

## 2.2 Pemisahan Senyawa Aktif Daun Sirsak

### 2.2.1 Ekstraksi Ultrasonik

Salah satu metode untuk mendapatkan asetogenin yaitu dengan ekstraksi ultrasonik. Proses penarikan senyawa ke dalam pelarut tertentu dengan memanfaatkan getaran dari gelombang ultrasonik. Getaran yang terjadi akan membuat pengadukan yang intensif terhadap proses ekstraksi yaitu mempermudah proses lisis dinding sel pada daun sirsak sehingga dapat meningkatkan efektivitas proses ekstraksi dan senyawa kimia khususnya asetogenin pada daun akan mudah terlarut dalam pelarut (Ashley, dkk., 2001). Kelebihan menggunakan metode ultrasonik adalah proses ekstraksi akan berjalan lebih cepat, suhu dapat diatur sesuai kebutuhan dan meningkatkan jumlah randemen kasar (Handayani, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Safitri (2018) membuktikan bahwa ekstraksi ultrasonik dapat meningkatkan randemen kasar anting - anting yaitu 9,442% dalam waktu 20 menit menggunakan suhu ruang dibandingkan metode maserasi 24 jam yang dilakukan oleh Rosyidah (2016) yang menghasilkan randemen 4,012%. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi ultrasonik yaitu jenis pelarut yang digunakan dan lama ekstraksi. Kemudian terdapat penelitian oleh Manarizki (2019) senyawa asetogenin dapat

diperoleh melalui ekstraksi ultrasonik dengan rerata paling banyak sebesar 3,17% dari beberapa variasi lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit dan dengan variasi pelarut yaitu metanol, etanol dan etil asetat.

### 2.2.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang menggunakan dua fasa yaitu fasa gerak atau eluen dan fasa diam atau plat silika yang memiliki polaritas yang berbeda (Sastrohamidjojo, 1996). Fasa diam berfungsi sebagai pengadsorb, penyangga atau lapisan zat cair. Sedangkan fasa gerak berupa eluen yang sesuai untuk memisahkan komponen senyawa yang diinginkan (Gritter, dkk, 1991).

Fase diam menggunakan plat F<sub>254</sub> dan eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa asetogenin pada penelitian ini berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Manarizki (2019) pada daun sirsak yaitu menggunakan n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 6 : 4 menunjukkan bahwa senyawa asetogenin dapat terpisah dengan baik. Menurut Rohman dan Gandjar (2007) pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan noda yang tidak berekor dan pemisahan nodanya jelas.

Nilai R<sub>f</sub> menunjukkan identitas masing- masing komponen atau bersifat karakteristik. Nilai R<sub>f</sub> merupakan perbandingan jarak tempuh solut dengan jarak tempuh eluen. Nilai R<sub>f</sub> ditunjukkan pada Persamaan 2.1 (Yazid, 2005).

$$\text{Nilai R}_f = \frac{\text{jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

Komponen yang memiliki kepolaran mendekati fasa gerak dan lebih besar dari fasa diam akan bergerak lebih cepat dari komponen yang mempunyai sifat

sebaliknya (Sastrohamidjojo, 1996). Eluen yang digunakan pada penelitian ini adalah non polar, dilihat dari komposisi n-heksana yang bersifat nonpolar lebih banyak daripada etil asetat. Oleh karena itu, sifat asetogenin yang semipolar hingga nonpolar cenderung berinteraksi dengan eluen dan sedikit berinteraksi dengan plat silika. Tingkat kemampuan pemisahan suatu komponen dapat diketahui berdasarkan nilai koefisien distribusi ( $KD = C_s/C_m$ ) yang dipengaruhi oleh tingkat kepolaran fase diam, fase gerak dan kecepatan alir. Menurut Rupprecht (1990) asetogenin memiliki nilai  $R_f$  antara 0,2 hingga 0,7. Pada penelitian yang dilakukan Manarizki (2019) telah membuktikan pemisahan dengan KLT dapat menghasilkan rerata resolusi terbesar yaitu 0,678.

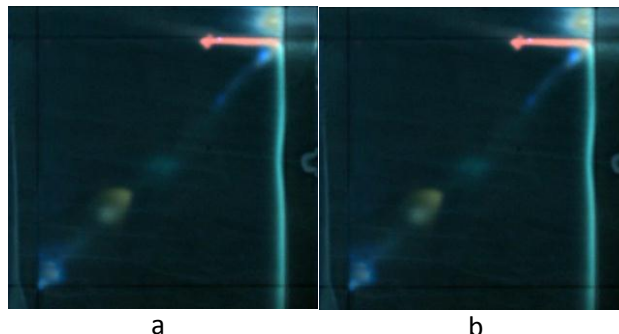
### **2.3 Validasi Metode Sidik Jari KLT Daun Sirsak**

Validasi metode merupakan penilaian terhadap suatu parameter tertentu untuk membuktikan bahwa parameter tersebut dapat memenuhi persyaratan dapat diterimanya untuk dilakukan penggunaan, diantaranya sebagai berikut :

#### **2.3.1 Stabilitas Analit Selama Kromatografi**

Menurut Reich and Schibli (2006) stabilitas analit selama kromatografi dilakukan dengan pengembangan dua dimensi yang bertujuan untuk mengetahui kestabilan nilai  $R_f$  pada tiap spot yg dihasilkan dari dua sisi jarak pengembangan. Stabilitas analat penting untuk diketahui karena sistem dalam kromatografi tidak saling terhubung (offline) dimana aplikasi, pengembangan sampai proses deteksi dilakukan secara terpisah dan membutuhkan selang waktu sehingga banyak faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi sistem. Analat selama kromatografi dapat dikatakan stabil apabila bercak yang dihasilkan berada dalam garis diagonal yang

menghubungkan posisi awal aplikasi dengan perpotongan garis kedua fase gerak dan analat memiliki nilai Rf yang sama pada dimensi pertama maupun kedua.

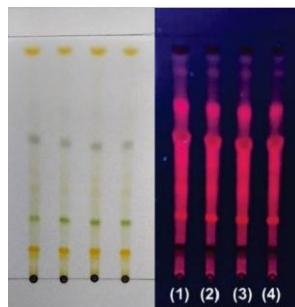


**Gambar 2.3** Hasil uji stabilitas analit selama proses kromatografi, dengan ekstrak yang dikembangkan sebanyak 3  $\mu\text{L}$  (a) dan 0.5  $\mu\text{L}$  (b) (Fatahillah, 2016)

Fatahillah (2016) telah melakukan pengujian stabilitas analit selama kromatografi ekstrak dari tanaman pegagan dihalilkan adanya penyimpangan bercak analit yang terlihat dengan warna merah dibawah lampu UV 366 nm. Namun bercak tersebut masih menyentuh garis diagonal. Bercak ini diduga kumpulan dari beberapa terpenoid. Analit selama proses kromatografi dapat dikatakan stabil karena dapat membentuk garis diagonal pada kromatogram dua dimensi.

### 2.3.2 Stabilitas Analit Dalam Larutan dan Plat

Menurut Koll, et al (2003) adsorben pada plat termasuk faktor yang dapat merubah analat karena permukaannya memiliki sifat katalis. Analat dalam plat dan larutan dapat dikatakan stabil apabila tidak ada perbedaan pada tiap trek kromatogram selama rentang waktu tertentu sehingga akan dihasilkan ada tidaknya perubahan spot dan intensitas warna yang terbentuk.



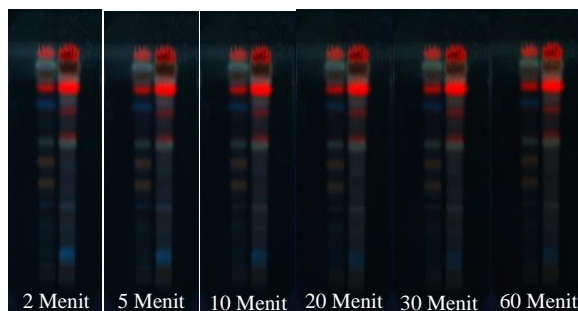
**Gambar 2.4** Stabilitas analit daun tanaman anting-anting selama 90 menit dalam plat dan dalam larutan. (1) sampel 90 menit sebelum kromatografi, (2) dan (4) sampel segar sebelum kromatografi, (3) sampel 90 menit sebelum aplikasi pada plat (Laksono, 2020)

Laksono (2020) telah melakukan pengujian stabilitas analit dalam larutan dan plat dari ekstrak tanaman anting-anting dihasilkan pola relatif sama, tidak terdapat perbedaan jumlah, warna dan intensitas spot hasil kromatogram baik dalam larutan maupun dalam plat. Serta diperoleh hasil simpangan baku Rf dari daun tanaman anting-anting berkisar 0,00-0,012 yang dapat diartikan bahwa analit tetap stabil meskipun didiamkan pada plat dan larutan selama 90 menit sebelum dilakukannya kromatografi.

### 2.3.3 Stabilitas Hasil Derivatisasi Ekstrak Kasar Daun Sirsak

Menurut Fatimah (2018) uji stabilitas hasil derivatisasi ini perlu dilakukan untuk mengetahui ketahanan pola dan intensitas warna pada plat yang telah dicelupkan kedalam pereaksi selama waktu yang ditentukan. Hal ini disebabkan adanya pengaruh waktu yang ditentukan serta penggunaan pereaksi derivatisasi dan proses pemanasan plat yang dapat mengakibatkan reaksi oksidasi senyawa yang terjerat dalam plat menjadi lebih cepat.





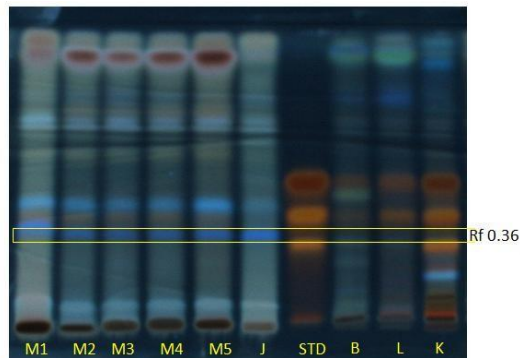
**Gambar 2.5** Hasil stabilitas visualisasi batang dan daun brotowali menggunakan sinar UV 366 nm dengan pereaksi asam sulfat (Jannah, 2016)

Jannah (2016) telah melakukan pengujian stabilitas analit hasil derivatisasi (visualisasi) selama 60 menit dari ekstrak tanaman brotowali dan dihasilkan sedikit terjadi penurunan intensitas warna dari waktu ke waktu namun tidak ada perubahan pola pada plat sehingga masih tergolong stabil setelah 60 menit.

#### 2.3.4 Spesifitas

Menurut Reich dan schibli (2006) spesifitas tanaman obat dilakukan perbandingan dengan sidik jari bahan obat asli atau larutan standar agar diperoleh sidik jari penciri dari sampel tanaman obat. Selain itu, juga dilakukan perbandingan sampel dengan tanaman lain yang memiliki bentuk fisik yang sama dan memiliki kekerabatan yang dekat yang kemudian dibandingkan dengan senyawa standar (Darusman, 2007). Hasil sidik jari sampel uji dengan membandingkan jumlah,

posisi, warna dan intensitas noda sehingga akan diketahui perbedaan nyata yang terbentuk.



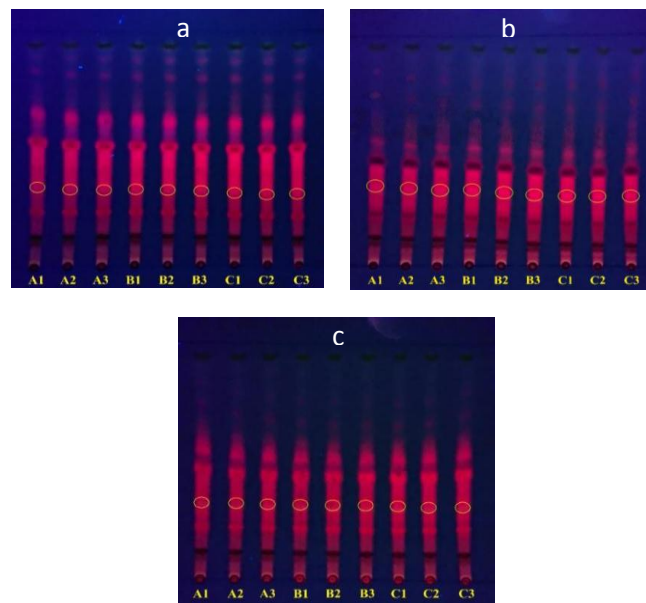
**Gambar 2.6** Hasil uji spesifitas pola sidik jari KLT serbuk rimpang temu manga dari 5 tempat berbeda, yaitu M1, M2, M3, M4, M5; produk serbuk jamu rimpang temu manga (J); standar kurkuminoid, (B) serbuk rimpang bangle, (L) temulawak, (K) kunyit (Syafi'i, 2018)

Syafi'i (2018) telah melakukan pengujian spesifitas terhadap tanaman rimpang temu manga (M), tanaman rimpang bangle (B), temulawak (L) dan kunyit (K) diperoleh hasil yang cukup berbeda nyata karena memiliki pola, jumlah, posisi, warna dan intensitas noda yang berbeda dengan ketiga tanaman pembanding lainnya yaitu pada tanaman rimpang M, B, L, dan K masing-masing menghasilkan 11, 13, 12, dan 10 spot serta pada tanaman rimpang temu manga (M) menghasilkan spot penciri berwarna biru tua dengan nilai Rf 0,36.

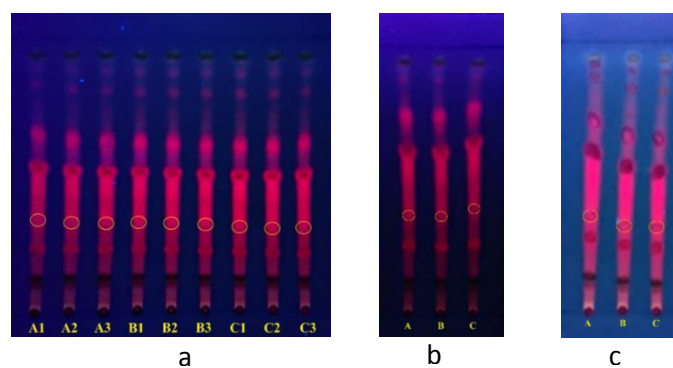
### 2.3.5 Presisi dan Presisi Antara

Presisi dalam validasi metode Kromatografi Lapis Tipis dapat ditinjau secara kualitatif dari kesamaan sidik jari yang dilihat dari jumlah, pola, intensitas dan warna pita hasil kromatogram. Kemudian presisi dapat sebagai deviasi standar atau koefisien varian hasil dari simpangan baku nilai Rf pada pita-pita senyawa yang sama (Fatimah, 2018). Syarat keberterimaan uji presisi simpangan baku Rf

adalah tidak lebih dari 0,02 sedangkan uji presisi antara tidak lebih dari 0,05. Secara visual, presisi juga dapat dilihat dari pola garis dari pita-pita senyawa yang sama di setiap lajur pada kromatogram dimana presisi akan semakin baik jika pola yang terlihat mendekati garis lurus (Reich dan Schibli, 2008).



**Gambar 2.7** Uji presisi daun tanaman anting-anting pada hari pertama, (a) plat ke-1; (b) plat ke-2; dan (c) plat ke 3 (Laksono, 2020)



**Gambar 2.8** Uji presisi antara daun tanaman anting-anting pada (a) plat hari ke-1; (b) plat hari ke-2; (c) plat hari ke-3 (Laksono, 2020)

**Tabel 2.1** Hasil uji presisi dan presisi antara (Laksono, 2020)

Ekstrak	Jalur	<i>Rf</i> senyawa berberin			Hari ke-2	Hari ke-3
		Plat 1	Plat 2	Plat 3		
A	A1	0,325	0,313	0,300	0,350	0,338
	A2	0,313	0,313	0,300		
	A3	0,313	0,300	0,300		
B	B1	0,313	0,300	0,300	0,363	0,313
	B2	0,313	0,300	0,300		
	B3	0,313	0,288	0,300		
C	C1	0,313	0,275	0,288	0,375	0,300
	C2	0,313	0,263	0,288		
	C3	0,300	0,263	0,300		
Rerata <i>Rf</i> intraplat		0,313	0,290	0,296	0,363	0,317
Rerata <i>Rf</i> antarplat		0,300			0,363	0,317
Rerata <i>Rf</i> semua plat		0,307				
SD <i>Rf</i> intraplat		0,0063	0,0195	0,0063	0,0125	0,0191
SD <i>Rf</i> antarplat		0,0153			0,0125	0,0191
SD <i>Rf</i> semua plat		0,0238				

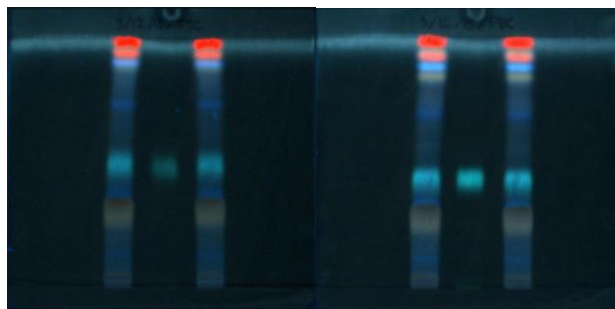
Laksono (2020) telah melakukan pengujian uji presisi terhadap tanaman anting-anting pada 3 plat menghasilkan simpangan baku *Rf* berturut-turut 0,0063; 0,0195; dan 0,0063 sehingga diperoleh simpangan baku *Rf* antar plat sebesar 0,0153 yang dapat disimpulkan bahwa uji presisi dapat diterima karena memenuhi syarat keberterimaan simpangan baku *Rf*. Kemudian untuk uji presisi antara diperoleh simpangan baku *Rf* berturut-turut 0,0063; 0,0125; dan 0,0238 sehingga diperoleh simpangan baku *Rf* antar plat sebesar 0,0238 yang dapat disimpulkan bahwa uji presisi antara dapat diterima karena memenuhi syarat keberterimaan simpangan baku *Rf*.

### 2.3.6 Ketegaran

Menurut Reich dan Schibli (2006) uji ketegaran merupakan kemampuan suatu metode untuk mempertahankan hasil yang tidak berbeda signifikan apabila

terdapat lebih dari satu parameter yang mengalami perubahan. Terdapat uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang. Uji ketegaran dapat diterima apabila profil sidik jari konstan yang dilihat dari jumlah, posisi, warna pita dan perbedaan nilai Rf tidak lebih dari 0,05.

Fatahillah (2016) telah melakukan uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang dihasilkan kedua jenis bejana *twin-trough* dan *flat-bottom* menghasilkan pola yang sama secara visual dan tidak menimbulkan perbedaan nyata pada nilai Rf.



**Gambar 2.9** Perbandingan kromatogram hasil pengembangan menggunakan bejana (a) *twin-trough* dan (b) *flat-bottom* (Fatahillah, 2016)

**Tabel 2.2** Hasil uji ketegaran (Fatahillah, 2016)

Lajur		<i>Rf</i> asiatioksida			
		Jenis Bejana		Jarak Pengembang	
		<i>Twin-trough</i>	<i>Flat-bottom</i>	8 cm	7 cm
1		0,49	0,45	0,49	0,50
2					
3		0,48	0,45	0,48	0,49
		0,49	0,45	0,49	0,49
Intraplat	Rerata <i>Rf</i>	0,49	0,45	0,49	0,49
	SD <i>Rf</i>	0,0058	0,0000	0,0058	0,0058
Antarplat	Rerata <i>Rf</i>	0,47		0,49	
	SD <i>Rf</i>	0,0259		0,0047	

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus 2021 hingga September 2021 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-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, blender, pisau, gunting, ayakan 90 mesh, neraca analitik, pipet ukur, pipet tetes, bola hisap, kertas saring, corong gelas, gelas pengaduk, kaca arloji, bejana pengembang (*chamber*), loyang, oven, pipa kapiler, botol semprot, vortex, *hair dryer*, alat ekstraksi ultrasonik, lampu UV 254 dan 366 nm.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun tanaman sirsak (*Annona Muricata L*), daun tanaman srikaya (*Annona Squamosa L*), daun tanaman salam (*Syzygium Polyanthum*), aquades, etanol 96%, etil asetat, n-heksana, vanilin, asam sulfat, methanol, asam asetat dan plat KLT silika gel G<sub>60</sub>F<sub>254</sub>.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian akan dilaksanakan menggunakan metode deskriptif kualitatif. Tahapan yang akan dilakukan dalam penelitian ini terdiri atas preparasi sampel dengan dikeringanginkan daun tanaman sirsak yang kemudian dihaluskan dan

diayak dengan ayakan 90 mesh sehingga diperoleh serbuk kasar daun sirsak. Tahap selanjutnya dihitung kadar air dari serbuk kasar daun sirsak. Setelah itu dilanjutkan ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz menggunakan pelarut etanol 96% selama 10 menit dalam suhu ruang. Ekstrak yang dihasilkan disaring dan filtratnya merupakan senyawa aktif dari daun sirsak. Pengembangan plat dilakukan menggunakan komposisi n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7,5:2,5. Proses validasi dilakukan dengan berbagai uji yaitu diantaranya :

No.	Uji Validasi	Parameter
1.	Stabilitas Analit Selama Kromatografi	Pengembangan 2 sisi : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sisi bawah</li> <li>• Sisi kiri</li> </ul>
2.	Stabilitas Analit pada Plat dan Dalam Larutan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 90 menit didiamkan pada plat</li> <li>• 90 menit didiamkan dalam larutan</li> </ul>
3.	Stabilitas Visualisasi	Diamati dibawah sinar UV 366 nm pada menit ke-0, 2, 5, 10, 20, 30, 60
4.	Spesifitas	Terhadap 3 sampel daun : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sirsak</li> <li>• Srikaya</li> <li>• Salam</li> </ul>
5.	Presisi	Dalam 1 hari pada 3 waktu : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pagi</li> <li>• Siang</li> <li>• Sore</li> </ul>
6.	Presisi Antara	Dilakukan pada : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hari ke-2</li> <li>• Hari ke-3</li> </ul>
7.	Ketegaran Terhadap Jenis Bejana Pengembang	Dilakukan menggunakan bejana: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Twin trough</li> <li>• Flat bottom</li> </ul>



Validasi metode analisis sidik jari secara kualitatif ini dapat digunakan untuk kendali mutu serbuk kasar daun sirsak apabila telah memenuhi standarisasi baku mutu yang telah ditentukan.

### **3.4 Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dirancang dengan tahap sebagai berikut :

1. Preparasi Sampel
2. Analisis Kadar Air
3. Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif pada Daun Sirsak
4. Preparasi Plat KLT Sebelum Digunakan
5. Pembuatan Reagen Vanilin - Sulfat
6. Penjenuhan Eluen
7. Uji Validasi Metode
8. Analisis Data

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Preparasi Sampel (Febrianto, 2020)**

Daun sirsak dipetik pada urutan daun ke-3 sampai ke-6 dari pucuk sebanyak 1 kg, dibersihkan dari kotoran dengan dicuci menggunakan air bersih. Daun dipotong kecil-kecil dan dikeringkan. Setelah kering daun dihaluskan menggunakan blender. Serbuk yang didapat diayak menggunakan ayakan 90 mesh. Sampel serbuk halus yang dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup.

### 3.5.2 Analisis Kadar Air (AOAC., 2006)

Langkah awal cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan didalam desikator selama  $\pm 15$  menit. Lalu cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 5 gr dimasukkan ke dalam cawan dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Setelah itu, didinginkan dalam desikator selama  $\pm 15$  menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

### 3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif pada Daun Sirsak (Manarizki, 2019)

Ekstraksi dilakukan dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96% dengan lama ekstraksi 10 menit yang dilakukan dengan cara 1 gr serbuk dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut etanol 96% karena rasio bahan : pelarut yang digunakan 1 : 10. Ekstrak dilakukan dengan frekuensi 42 kHz pada suhu ruang. Ekstrak disaring ke dalam chamber bersih. Hasil ekstrak yang didapatkan diduga mengandung senyawa metabolit sekunder, disebut ekstrak kasar daun sirsak.

#### **3.5.4 Preparasi Plat KLT Sebelum Digunakan (Manarizki, 2019)**

Plat silika G<sub>60</sub>F<sub>254</sub> dipotong sesuai kebutuhan. Plat ditandai garis awal sebagai batas bawah dan akhir sebagai batas atas menggunakan pensil dengan jarak 1 cm dari tepi plat. Plat diaktivasi dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan kandungan air.

#### **3.5.5 Pembuatan Reagen Vanilin – Sulfat (Febrianto, 2020)**

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

#### **3.5.6 Penjenuhan Eluen (Manarizki, 2019)**

Eluen yang digunakan adalah n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7,5:2,5. Eluen dimasukkan bejana pengembang dan ditutup rapat untuk proses penjenuhan selama 1 jam. Penjenuhan dilakukan sebelum elusi untuk menyamakan tekanan uap pada lingkungan dalam bejana pengembang.

#### **3.5.7 Uji Validasi Metode**

##### **3.5.7.1 Uji Stabilitas Analit Selama Kromatografi (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan pada plat KLT di bagian tepi kiri bawah menggunakan pipa kapiler sebanyak 10 µL. Kemudian dikembangkan dalam chamber hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan. Setelah pengembangan plat diangkat dan dikeringkan lalu diputar 90° ke kanan kemudian pengembangan dilakukan untuk kedua kalinya hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari garis awal.

Plat didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi. Dan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm.

#### **3.5.7.2 Uji Stabilitas Analit pada Plat dan Dalam Larutan (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan sebanyak 10  $\mu$ L pada lajur 1 plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dibiarkan agar kering. Selanjutnya ekstrak yang sama sebanyak 10  $\mu$ L ditotolkan pada lajur 3 plat KLT. Kemudian disiapkan ekstrak baru tanaman serupa sebagai pembanding yang diaplikasikan pada lajur 2 dan 4 plat KLT masing-masing sebanyak 10  $\mu$ L. Plat dikembangkan dalam chamber hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan. Plat didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi. Kemudian diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm.

#### **3.5.7.3 Uji Stabilitas Visualisasi Ekstrak Kasar Daun Sirsak (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan sebanyak 10  $\mu$ L pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dibiarkan agar kering. Plat dikembangkan dalam *chamber* hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan. Plat yang telah terelusi dan diderivatisasi diamati dibawah lampu UV 366 nm. Hasil didokumentasi setelah menit ke-0, 2, 5, 10, 20, 30, dan 60. Hasil dikatakan stabil apabila tidak terjadi perubahan signifikan pada pita selama 60 menit.

#### **3.5.7.4 Uji Spesifitas (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar daun sirsak dan tanaman pembanding ditotolkan menggunakan pipa kapiler berturut - turut pada lajur 1, 2, dan 3 plat KLT sebanyak 10  $\mu$ L. Pengembangan setiap plat KLT dilakukan dengan *chamber* menggunakan eluen yang telah dijenuhkan hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan ekstrak. Plat didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi untuk membandingkan pola-pola yang terbentuk pada setiap lajurnya.

#### **3.5.7.5 Uji Presisi (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L pada tiga plat KLT berbeda yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengembangan setiap plat KLT dilakukan dengan *chamber* menggunakan eluen yang telah dijenuhkan hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan ekstrak. Plat didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi. Kemudian nilai *Rf* pada masing-masing spot dihitung lalu ditentukan rata-rata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika dihasilkan pola sidik jari identik terkait dengan letak, warna, jumlah, dan perbedaan nilai *Rf* tidak lebih dari 0,02 .

#### **3.5.7.6 Uji Presisi Antara (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L pada plat KLT yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Penotolan ini dilakukan pada 2 hari yang berbeda setelah pengujian presisi dan 1 plat per hari. Pengembangan setiap plat KLT dilakukan dengan *chamber* menggunakan eluen yang telah dijenuhkan hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan

ekstrak. Plat didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi. Kemudian nilai  $R_f$  pada masing-masing spot dihitung lalu ditentukan rata-rata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika dihasilkan pola sidik jari identik terkait dengan letak, warna, jumlah, dan perbedaan nilai  $R_f$  tidak lebih dari 0,05.

#### **3.5.7.7 Uji Ketegaran terhadap Jenis Bejana Pengembang (Reich dan Schibli, 2006)**

Ekstrak kasar ditotolkan menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu\text{L}$  pada plat KLT pada 3 lajur sebagai pengulangan. Plat dikembangkan dalam bejana *twin-trough* dan *flat-bottom* hingga eluen mencapai 8 cm dari posisi penotolan ekstrak. Plat didokumentasi sebelum dan setelah derivatisasi. Hasil dapat diterima jika pola sidik jari identik terkait dengan letak, warna, jumlah, dan perbedaan nilai  $R_f$  tidak lebih dari 0,05.

#### **3.5.8 Analisis Data**

Dari hasil yang diperoleh secara kualitatif dengan memperhatikan pola pemisahan masing-masing pada plat KLT. Hasil pemisahan dapat ditentukan dengan pengamatan pola sidik jari yang dihasilkan, perhitungan nilai  $R_f$  dan nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) yang dapat diterima, serta apabila tidak ada perbedaan jumlah, letak, warna dan intensitas noda pada pola sidik jari. Dan untuk uji presisi dapat diterima apabila memenuhi syarat nilai  $R_f$  yaitu tidak lebih dari 0,02. Sedangkan uji presisi antara tidak lebih dari 0,05. Uji ketegaran terhadap jenis bejana kromatografi dapat diterima apabila nilai  $R_f$  tidak lebih dari 0,05. Dan uji

spesifitas dapat dikatakan spesifik terhadap tanaman sirsak apabila pola sidik jari tanaman pembanding dapat dibedakan dengan tanaman sirsak.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona Muricata L.*) yang diambil dari daerah Kabupaten Malang sebanyak 1 kg dengan kriteria daun pada urutan ke-3 sampai ke-6 dari ujung ranting, karena pada daun dengan urutan tersebut memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder paling tinggi, sesuai pernyataan Wicaksono (2011) bahwa pada daun tanaman sirsak usia muda senyawa aktif belum banyak terbentuk dan pada daun tanaman sirsak usia tua senyawa aktif mulai terdegradasi sehingga kadar senyawa berkurang. Daun sirsak dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Kemudian daun dikeringkan untuk mengurangi kadar air yang terkandung didalamnya agar sampel terhindar dari perkembangbiakan bakteri maupun jamur sehingga sampel dapat disimpan dalam waktu yang lama. Proses pengeringan dilakukan dengan cara dikeringanginkan pada suhu ruang agar senyawa aktif dalam daun tidak rusak, karena senyawa aktif dalam daun sirsak merupakan senyawa yang tidak tahan panas (Handayani, dkk., 2016). Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan mesin penggiling dan disaring dengan ayakan 90 mesh untuk memperluas permukaan sampel agar dapat memperbesar interaksi antara partikel serbuk sampel dengan pelarut sehingga proses ekstraksi dapat berjalan lebih cepat dan lebih maksimal. Maka diperoleh hasil serbuk halus berwarna hijau kecoklatan.



#### **4.2 Analisis Kadar Air**

Sampel serbuk daun sirsak dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kandungan air yang masih tersisa didalamnya dan didiamkan hingga dingin agar konstan ketika dilakukan penimbangan. Penentuan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui daya tahan suatu sampel sehingga dapat diketahui cara terbaik dalam penyimpanan sampel agar tidak terjadi kerusakan. Dan diperoleh hasil rerata kadar air sampel serbuk daun sirsak sebesar 5,12%. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk daun sirsak sesuai dengan persyaratan yang berlaku pada sediaan obat tradisional yaitu menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2009) syarat suatu serbuk dapat menjadi bahan baku pembuatan obat tradisional apabila memiliki nilai kadar air tidak lebih dari 10%.

#### **4.3 Ekstraksi Ultrasonik Daun Tanaman Sirsak (*Annona Muricata L.*)**

Metode ultrasonik merupakan metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yang bertujuan untuk memperoleh senyawa aktif yang larut kedalam pelarut. Pada ekstraksi ini gelombang ultrasonik menghasilkan getaran yang merambat melalui media air diikuti dengan munculnya gelembung pada permukaan serta adanya suhu panas yang dapat dikontrol atau diatur. Getaran ini dapat memecah dinding sel sampel sehingga pelarut dapat masuk kedalam celah sel akibat pemecahan dinding sel tersebut yang menyebabkan adanya perbedaan konsentrasi didalam dan diluar sel, maka terjadilah proses pelarutan senyawa-senyawa bioaktif dalam sampel yang akan terbebas keluar dan larut kedalam pelarut. Proses ini terjadi terus menerus hingga tercapainya kesetimbangan konsentrasi larutan yang

berada didalam dan diluar sel. Dan suhu panas yang dihasilkan dapat meningkatkan proses pelarutan tersebut (Adhiksana, 2017).

Ekstraksi ini dilakukan dengan melarutkan sampel serbuk daun sirsak sebanyak 1 gram kedalam 10 mL pelarut etanol. Pelarut ini dipilih dikarenakan etanol memiliki sifat kepolaran hampir sama dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun sirsak. Sehingga dimungkinkan senyawa aktif dalam daun sirsak dapat terekstrak. Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Manarizki (2019) menyatakan bahwa pelarut etanol memisahkan senyawa aktif dalam daun sirsak terbaik dibanding pelarut lainnya. Dan lama waktu ekstraksi yang digunakan yaitu selama 10 menit dimana menghasilkan pola pemisahan terbaik dengan rendemen tertinggi dibanding waktu ekstraksi lebih dari 10 menit, dengan kadar senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak yang diperoleh sebanyak 3,03 %. Selain itu terdapat pula penelitian Febrianto (2020) menghasilkan kadar senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak dengan pelarut etanol selama 10 menit sebanyak 5,5 %. Dalam penelitian ini diperoleh hasil ekstrak kasar daun sirsak berwarna hijau kehitaman dengan kadar senyawa aktif sebanyak 7,79 %.

#### **4.4 Uji Stabilitas Analit Selama Kromatografi**

Uji stabilitas analit selama kromatografi merupakan salah satu parameter dalam validasi metode yang penting dalam mengevaluasi kendali mutu suatu sampel. Uji stabilitas analit selama kromatografi dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi karena dilakukannya pengembangan dua arah. Uji ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan analit yang dihasilkan apabila dielusikan dari dua sisi pengembangan. Suatu sampel dapat dikatakan stabil selama proses

kromatografi apabila hasil pola kromatografi dapat membentuk garis diagonal yang lurus antara dua arah pengembangan (Reich dan Schibli, 2006).

Analit daun sirsak diaplikasikan pada satu jalur plat KLT yang kemudian dilakukan elusi yang pertama. Dimana eluen atau fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu campuran n-heksana : etil asetat dengan perbandingan (7,5:2,5) yang merupakan eluen terbaik dalam pengembangan analit daun sirsak seperti yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya oleh Febrianto (2020). Dipilihnya komposisi eluen tersebut berdasarkan sifat n-heksan yang merupakan pelarut nonpolar sedangkan etil asetat bersifat semipolar sehingga eluen akan cenderung nonpolar sehingga senyawa metabolit sekunder dalam daun sirsak akan dapat berinteraksi dengan kedua fase yaitu fase diam dan fase geraknya yang dimungkinkan senyawa aktif akan menghasilkan noda pada bagian tengah plat KLT (Manarizki, 2019). Setelah proses elusi pertama selesai plat dikeringanginkan, kemudian plat diputar 90° ke kanan dan dilakukan elusi yang kedua dengan kondisi serta komposisi yang sama pada proses elusi pertama dengan fase gerak yang baru. Pola kromatografi yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut, serta pengulangan 2 dan 3 dapat dilihat pada Lampiran 9.

Berdasarkan Gambar 4.1 dan Lampiran 9 dapat diketahui bahwa pola kromatografi membentuk garis diagonal yang lurus antara dua arah pengembangan. Pengembangan pertama terbentuk 6 spot pada analit U1, 7 spot pada analit U2 dan U3, namun setelah proses pengembangan kedua terdapat spot baru yang terbentuk sehingga total spot yang teramati sebanyak 7 spot pada analit U1, 9 spot pada analit U2 dan U3. Hal ini dikarenakan pada elusi pertama masih adanya spot yang menumpuk dalam satu spot dan belum terpisah secara optimal sehingga

terbentuknya spot baru yang baru terpisah pada elusi kedua. Penumpukan spot ini dapat diamati pada bagian bawah semua ulangan. Dan terdapat pula noda penyimpangan atau spot baru diluar garis diagonal yang terbentuk dengan intensitas noda kecil. Menurut Reich dan Schibli (2006) hal ini dapat terjadi karena pada elusi kedua mengalami pemisahan senyawa pada analit menjadi senyawa yang lebih sederhana lagi selama proses kromatografi berlangsung. Dan kemungkinan juga dikarenakan terdapat faktor lingkungan karena mulai dari proses penotolan, elusi, dan deteksi dilakukan terpisah yang membutuhkan selang waktu berbeda-beda yang dapat mempengaruhi kerja kromatografi. Dan penumpukan spot ini dapat mengakibatkan terjadinya spot yang berekor (*tailing*) pada proses elusi kedua.

Faktor *tailing* dikarenakan afinitas mol analit yang telah diaplikasikan pada plat (fase diam) lebih besar dibandingkan dengan kemampuan eluen membawa zat-zat yang mengakibatkan terdapat bagian komponen yang tertahan sehingga dihasilkan noda yang memanjang seperti berekor (Sudarmadji, 2007). Pada penelitian Jannah (2016) juga mengalami hal tersebut dimana hasil kromatografi pada batang dan daun brotowali terdapat beberapa spot yang terbentuk diatas garis diagonal. Sehingga berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa analit U1, U2 dan U3 kurang stabil selama proses kromatografi walaupun noda senyawa aktif membentuk garis diagonal, karena menurut Riech dan Schibli (2006) analit dapat dikatakan stabil apabila noda yang dihasilkan berada dalam garis diagonal yang menghubungkan posisi awal penotolan dengan perpotongan garis lurus kedua fase gerak.

#### **4.5 Uji Stabilitas Analit pada Plat dan Dalam Larutan**

Uji stabilitas perlu dilakukan karena proses mulai dari preparasi sampel, penotolan, elusi, deteksi dan derivatisasi dilakukan terpisah yang membutuhkan selang waktu berbeda-beda yang dapat mempengaruhi kerja kromatografi sehingga dilakukannya uji stabilitas analit pada plat dan dalam larutan untuk mengetahui mutu suatu sampel dengan adanya pengaruh lingkungan.

Dilakukannya jalur 1 dan 2 untuk mengevaluasi stabilitas analit pada plat, sedangkan jalur 3 dan 4 untuk mengevaluasi stabilitas analit dalam larutan, dimana pada jalur 1 ekstrak ditotolkan pada plat dan didiamkan selama 90 menit sebelum proses elusi. Pada jalur 3 ekstrak didiamkan selama 90 menit kemudian diaplikasikan pada plat dan dielusi. Sedangkan jalur 2 dan 4 yaitu ekstrak baru yang langsung diaplikasikan pada plat dan dielusi tanpa waktu pendiaman 90 menit.

Berdasarkan hasil penelitian keempat jalur menunjukkan pola kromatografi yang relatif sama (Gambar 4.2 dan Lampiran 10) pada semua ulangan, dengan hasil simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) ekstrak kasar daun sirsak berkisar 0,000 – 0,012 (Lampiran 4). Hal ini menunjukkan bahwa simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) memenuhi syarat keberterimaan stabilitas analit pada plat dan dalam larutan yaitu  $\leq 0,05$ . Dan hasil kromatografi tidak menunjukkan adanya perbedaan jumlah, letak, warna, dan intensitas noda sehingga dapat disimpulkan bahwa analit U1, U2 dan U3 tetap stabil meskipun didiamkan pada plat maupun larutan selama 90 menit sebelum proses kromatografi. Sehingga penotolan dapat dilakukan kapan saja baik langsung setelah proses ekstraksi maupun terdapat selang waktu tunggu 90 menit. Hal ini sesuai dengan Reich dan Anne (2007) yang menyatakan bahwa sampel dapat dikatakan stabil pada plat dan dalam larutan selama rentang waktu tertentu apabila tidak mengalami adanya perbedaan pada setiap spot kromatogram.

#### **4.6 Uji Stabilitas Visualisasi**

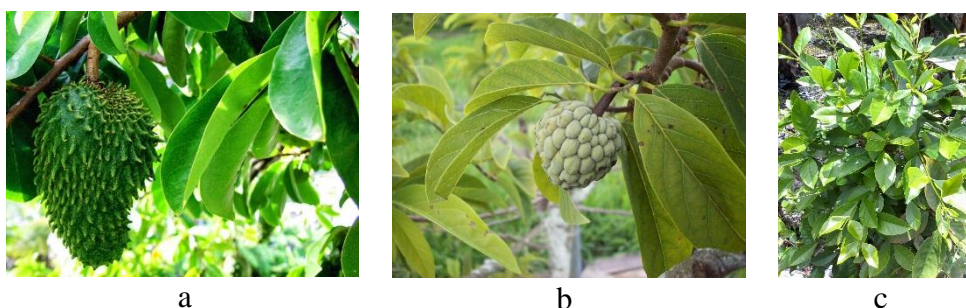
Uji stabilitas visualisasi perlu dilakukan karena adanya waktu jeda antara penyelesaian proses kromatografi dengan deteksi komponen. Uji ini bertujuan agar mengetahui kestabilan pola dan intensitas warna noda pada plat yang telah disemprot (derivatisasi) menggunakan reagen vanilin-sulfat kemudian diamati selama 60 menit dibawah sinar UV 366 nm dalam rentang waktu 0, 2, 5, 10, 20, 30, dan 60 menit.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diamati bahwa tidak ada perubahan pada jumlah, posisi, dan warna noda pada plat, namun terdapat sedikit perbedaan intensitas warna dimana pada menit ke-0 dan menit ke-2 spot berwarna biru belum terlihat sempurna, dan pada menit ke-5, 10, 20, 30, dan 60 spot berwarna biru telah stabil terlihat dengan jelas. Hal ini mungkin dikarenakan pada waktu ke-0 dan ke-2 senyawa belum bereaksi sempurna dengan reagen vanillin-sulfat. Secara penampakan visual tidak terjadi perubahan yang nyata sehingga dapat disimpulkan bahwa analit stabil karena memenuhi syarat keberterimaan kestabilan visualisasi yang ada, dan disarankan dilakukan deteksi dibawah sinar UV 366 nm setelah menit ke-5 agar noda yang terbentuk dapat teramati dengan optimal. Hal ini juga terjadi pada penelitian Fatahillah (2016) dimana uji stabilitas hasil derivatisasi (visualisasi) yang diperoleh stabil meskipun mengalami penurunan intensitas warna namun tidak ada spot yang hilang selama 60 menit.

#### **4.7 Uji Spesifitas**

Uji spesifitas dilakukan dengan membandingkan daun sirsak dengan daun tanaman lain yang memiliki kemiripan bentuk fisik atau masih dalam satu genus.

Daun tanaman srikaya dan daun salam digunakan sebagai daun tanaman pembanding karena secara visual memiliki bentuk fisik daun yang mirip (Gambar 4.4) dan daun srikaya masih tergolong dalam satu genus. Kemiripan yang dimiliki dari ketiga sampel tersebut diantaranya yaitu bentuk daun elips memanjang, ujung daun meruncing, dan tepi daun rata mengkilap (Widodo, 2010; Sunarjono, 2005; Tjitrosoepomo, 2002).



**Gambar 4.4** Morfologi (a) daun tanaman sirsak, (b) daun tanaman srikaya, (c) daun tanaman salam

Uji spesifitas ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pola kromatografi, baik dari segi jumlah noda, posisi, warna serta intensitas noda yang dihasilkan ekstrak kasar daun sirsak dengan daun tanaman srikaya dan salam. Menurut Shivantare, dkk. (2013) sampel dapat dikatakan berkaitan apabila terdapat kesamaan jumlah, letak noda, warna dan intensitas noda yang dihasilkan. Hasil pola kromatogram ketiga sampel dapat diamati pada Gambar 4.5 berikut.

Berdasarkan hasil uji spesifitas tersebut menunjukkan bahwa pola, jumlah, posisi, warna serta intensitas noda yang sangat berbeda antara daun sirsak dengan kedua tanaman pembanding. Daun tanaman sirsak menghasilkan 9 spot, sedangkan tanaman srikaya menghasilkan 9 spot dengan pola noda yang berbeda dan tanaman

salam menghasilkan 7 spot. Pada tanaman sirsak terdapat spot penciri berwarna hijau kebiruan pada sinar tampak yang membedakan dengan kedua tanaman pembanding. Sedangkan pada ekstrak kasar daun srikaya juga terdapat spot penciri yang dapat membedakan yaitu berwarna hijau kebiruan dengan intensitas rendah. Dan pada ekstrak kasar daun salam memiliki spot penciri berwarna biru dibawah sinar UV 366 nm yang membedakan dengan daun sirsak dan daun salam. Sehingga dapat dikatakan bahwa pola sidik jari yang dimiliki ekstrak kasar daun sirsak sangat spesifik untuk dirinya sendiri.

#### **4.8 Uji Presisi dan Presisi Antara**

Uji presisi dan presisi antara merupakan validasi metode untuk mengetahui kestabilan analit apabila dilakukan berulang kali terhadap beberapa sampel yang sama (Sidberg, dkk., 2010) dimana dapat diketahui baik melalui jumlah, posisi, warna dan intensitas noda maupun perbedaan nilai  $R_f$  yang dihasilkan dengan syarat pada uji presisi nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ )  $\leq 0,02$  sedangkan pada uji presisi antara nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ )  $\leq 0,05$  (Reich dan Schibli, 2008). Nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) pada uji presisi antara lebih besar karena kita tidak dapat menjaga kondisi lingkungan akan selalu konstan setiap harinya.

Uji presisi dilakukan pada satu hari pada 3 plat berbeda yang dilakukan pada waktu pagi, siang dan sore dimana setiap plat KLT dilakukan dengan 3 ekstrak daun sirsak yang sama yang kemudian diaplikasikan pada waktu yang sama. Dan setiap ekstrak diaplikasikan pada tiga jalur masing-masing sebanyak 10  $\mu\text{L}$  sehingga terdapat 9 jalur pada setiap plat KLT. Sedangkan uji presisi antara dilakukan pada hari kedua dan ketiga berturut-turut dengan 3 ekstrak yang telah dianalisis pada hari



pertama dan diaplikasikan pada 1 plat KLT dengan masing-masing ekstrak dilakukan pengulangan 3 jalur sebanyak 10  $\mu$ L sehingga terdapat 9 jalur pada plat KLT. Hasil penelitian dapat diamati pada Gambar 4.6 dan 4.7 berikut.

Berdasarkan tabel hasil penelitian tersebut dapat diketahui bahwa nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif antarplat dapat ditarik kesimpulan bahwa uji presisi dapat diterima karena memenuhi syarat diterimanya kepresisian yaitu  $\leq 0,02$ . Sedangkan nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif uji presisi antara dapat diterima karena memenuhi syarat diterimanya kepresisian antara yaitu  $\leq 0,05$ .

Berdasarkan Gambar 4.6 dapat diamati pola sidik jari atau pola kromatografi untuk uji presisi dan Gambar 4.7 untuk presisi antara yang dideteksi dibawah sinar UV 366 nm dengan pereaksi vanillin-sulfat dimana pada uji presisi dilakukan secara berturut-turut pagi, siang, dan sore, sedangkan pada uji presisi antara dilakukan pada hari yang berbeda yaitu hari kedua dan ketiga. Perlakuan dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis pada tempat terbuka sehingga banyak faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kerja kromatografi setiap harinya, sehingga dapat mengakibatkan adanya sedikit perbedaan nilai  $R_f$ , dan kedua uji menghasilkan pola sidik jari yang relatif sama, baik dari segi jumlah, posisi, warna dan intensitas noda yang dihasilkan. Hal ini seperti pada penelitian Jannah (2016) yang menghasilkan pola sidik jari identik pada uji presisi dan presisi antara terhadap sampel batang dan daun brotowali berdasarkan jumlah, letak, warna serta intensitas noda dan nilai simpangan bakunya berkisar 0,01 – 0,02 pada presisi dan 0,01 – 0,03 pada presisi antara.

#### 4.9 Uji Ketegaran terhadap Jenis Bejana Pengembang

Uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang dilakukan untuk mengetahui apakah suatu metode mampu mempertahankan hasil yang tidak berbeda nyata apabila terdapat variasi parameter yang dilakukan (Reich dan Schibli, 2006). Uji ketegaran ini dilakukan dengan memisahkan senyawa dalam ekstrak daun sirsak menggunakan dua tipe bejana pengembang yaitu bejana *twin trough* dan bejana *flat bottom*. Dimana kedua bejana memiliki perbedaan bentuk yaitu pada bejana *twin trough* berukuran lebih kecil dibandingkan bejana *flat bottom* dan pada bagian dasar tengah bejana *twin trough* terdapat pembatas kedua area yang lebih tinggi dibandingkan bejana *flat bottom* sehingga luas area pada dasar bejana *twin trough* lebih sempit yang mengakibatkan eluen didalam bejana menjadi lebih tinggi, sedangkan luas area pada dasar bejana *flat bottom* lebih luas dan datar yang mengakibatkan eluen didalam bejana menjadi lebih rendah. Uji ketegaran ini dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak daun sirsak pada plat KLT dengan tiga kali pengulangan masing-masing sebanyak 10  $\mu$ L yang dikembangkan dalam dua tipe bejana tersebut. Berdasarkan hasil kromatografi dapat diamati pada Gambar 4.8 pola sidik jari dari penggunaan kedua jenis bejana pengembang secara visual menunjukkan adanya sedikit perbedaan, namun hasil perhitungan rerata nilai  $R_f$  kedua plat yang diperoleh menunjukkan bahwa perbedaan jenis bejana tidak menimbulkan perbedaan yang nyata pada nilai  $R_f$  senyawa aktif ekstrak kasar daun sirsak. Dan berdasarkan hasil nilai  $R_f$  yang diperoleh dapat diketahui uji ketegaran dapat diterima karena memenuhi syarat diterimanya yaitu nilai uji ketegaran  $\leq 0,05$  (Reich dan Schibli, 2006).

#### **4.10 Identifikasi Senyawa Penciri pada Ekstrak Kasar Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*)**

Ekstrak kasar daun sirsak dielusi menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7,5:2,5. Berdasarkan perbandingan komposisi yang digunakan n-heksan lebih banyak karena memiliki sifat nonpolar sedangkan etil asetat memiliki sifat semi polar, sehingga akan menghasilkan fase gerak campuran yang bersifat nonpolar. Senyawa penciri yang dimiliki daun sirsak merupakan dugaan golongan senyawa asetogenin yang memiliki sifat semi polar sehingga akan berinteraksi dengan kedua fase yaitu fase diam dan fase gerak yang memungkinkan senyawa dugaan asetogenin akan terperangkap pada plat KLT. Kemudian hasil elusi berupa pola kromatografi dikeringanginkan untuk menguapkan eluen dan dilakukan pewarnaan menggunakan reagen vanillin-sulfat untuk mengetahui noda dugaan senyawa asetogenin. Setelah disemprot, plat dipanaskan didalam oven pada suhu 70°C selama 10 menit karena merupakan suhu dan waktu yang optimum untuk menampakkan bercak setelah dilakukan penyemprotan vanillin-sulfat (Picman, dkk., 1980). Ranisaharivony (2015) menyatakan reagen vanillin-sulfat akan berinteraksi dengan gugus fenol pada senyawa penciri asetogenin.

Plat tersebut setelah dioven diamati dibawah sinar UV 366 nm karena dalam penelitian Mukharomah (2019) menyatakan bahwa senyawa asetogenin dapat berpendar pada panjang gelombang tersebut dan mengalami pemadaman pada panjang gelombang 254 nm. Noda asetogenin yang terbentuk menghasilkan warna merah sebelum disemprot reagen kemudian berubah warna menjadi oranye setelah disemprot reagen yang teramati dibawah sinar UV 366 nm dan pada sinar tampak noda asetogenin berwarna hijau kebiruan. Menurut Manarizki (2019) perubahan

warna ini dapat terjadi karena diduga terjadinya pergeseran hipsokromik dimana warna merah mempunyai rentang panjang gelombang 470-500 nm sedangkan warna oranye mempunyai panjang gelombang lebih kecil yaitu pada rentang 440-470 nm.

Berdasarkan hasil kromatografi yang diperoleh, dugaan noda senyawa asetogenin dapat diketahui melalui ciri-ciri visual serta pendekatan dengan referensi  $R_f$  penelitian sebelumnya. Hasil penelitian ini diperoleh rerata nilai  $R_f$  stabil pada 0,2. Dan dalam penelitian Rupprecht, dkk. (1990) dihasilkan noda senyawa asetogenin menggunakan eluen n-heksana : etil asetat terhadap ekstrak daun sirsak berada pada nilai  $R_f$  rentang 0,2 sampai 0,7. Kemudian pada penelitian Grzybowski (2012) diperoleh noda asetogenin dalam ekstrak etanol sirsak yang dibandingkan dengan standar polar asetogenin berada pada nilai  $R_f$  0,27. Dan pada penelitian Ranisaharivony (2015) menghasilkan noda golongan asetogenin jenis *annonacin* dalam ekstrak etanol daun sirsak berada pada  $R_f$  0,23. Terdapat pula pada penelitian Febrianto (2020) menghasilkan noda dugaan asetogenin dari ekstrak etanol daun sirsak menggunakan reagen vanillin-sulfat berada pada nilai  $R_f$  0,2 sampai 0,3.

Dan pada penelitian yang dilakukan Manarizki (2019) menghasilkan noda dugaan senyawa asetogenin dari ekstrak etanol daun sirsak dengan reagen vanillin-sulfat berwarna hijau kebiruan pada sinar tampak dan berwarna oranye dibawah sinar UV 366 nm berada pada  $R_f$  0,56 yang telah terbukti pada identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dimana isolat senyawa asetogenin memiliki ciri khas yaitu gugus lakton pada salah satu ujungnya. Dan diperoleh hasil FTIR sebanyak 13 puncak yaitu serapan  $3449,816\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus O-H *stretching*,  $2958, 882\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan C-H asimetris (vibrasi rantai C-H  $sp^3$ ),

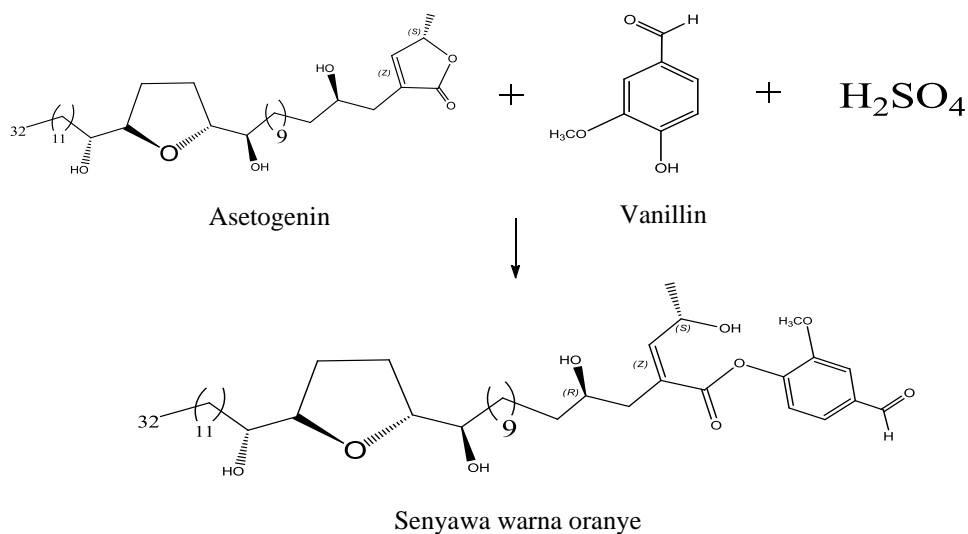
2928,596  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan C-H simetris (vibrasi rantai C-H  $\text{sp}^3$ ), 2858  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{CH}_2$  simetris asiklik, 1731,810  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan C=O *stretching*, 1650,417  $\text{cm}^{-1}$  dan 1541,661  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan serapan C=C, 1459,924  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{CH}_2$  *scissoring*, 1384,037  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan C-O *stretching*, 1280,991  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{CH}_2$  *twisting*, 1119,705  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan C-O, 668,810  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan C-O *rocking*, dan 537,444  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan cincin C-H. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pada serapan 1731,810  $\text{cm}^{-1}$  merupakan serapan C=O *stretching* lakton penciri senyawa asetogenin. Dan diperkuat dengan adanya serapan C=C pada 1650,417  $\text{cm}^{-1}$  dan 1541,661  $\text{cm}^{-1}$  serta serapan ikatan C-O *stretching* lakton pada 1384,037  $\text{cm}^{-1}$ .

Terdapat pula penelitian Mukharomah (2019) menghasilkan noda asetogenin dari ekstrak etanol daun sirsak dengan reagen vanillin-sulfat berada pada *Rf* 0,47 dan telah dibuktikan dengan identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dimana isolat senyawa asetogenin menghasilkan 7 puncak serapan, yaitu serapan 3460,469  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan gugus O-H; 2925,581  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{C}_{\text{sp}^3}$ -H asimetris; 2854,172  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{C}_{\text{sp}^3}$ -H simetris. Kemudian terdapat serapan yang menunjukkan ciri khas yang dimiliki asetogenin yaitu pada serapan 1737,893  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan gugus C=O penyusun lakton; 1648,981  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan ikatan C=C; 1384,579  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi C-H bengkok dan serapan 1104,356  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan ikatan C-O.

Kemudian terdapat penelitian Daud, dkk. (2016) menyatakan diperoleh senyawa golongan asetogenin dalam ekstrak daun sirsak diantaranya yaitu squamostatin-A, bullatacin, squamocin, isodesacetyluvaricin, dan desacetyluvaricin yang diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan

diperoleh hasil 4 puncak serapan yaitu serapan  $3262,75\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus O-H,  $2936,15\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus alkena  $\text{CH}_2$  dan C-H,  $1394,17\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus alkana  $\text{CH}_3$ , dan serapan  $1261\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus ester COC.

Dan terdapat penelitian Rahmawati (2020) menyatakan diperoleh senyawa golongan asetogenin dari ekstrak daun sirsak berada pada nilai  $R_f$  0,32 yang telah terdeteksi reagen vanillin-sulfat dengan dibuktikan melalui identifikasi isolat asetogenin menggunakan LC-MS/MS dan diperoleh 14 puncak yaitu 7 puncak senyawa *annonacin* dengan waktu retensi 16,17 bermuatan pada  $m/z$  597,4730  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , dan puncak ion tambahan bermuatan pada  $m/z$  619,4550; 507,4200; 579,4622; 561,4520; 543,4417; dan 525,4313 yang menunjukkan ion molekuler berturut-turut yaitu  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{Na}-112]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-3\text{H}_2\text{O}]^+$ , dan  $[\text{M}+\text{H}-4\text{H}_2\text{O}]^+$ . Kemudian 7 puncak senyawa *annomuricin* dengan waktu retensi 13,9 bermuatan pada  $m/z$  613,4691  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , dan puncak ion tambahan bermuatan pada  $m/z$  635,4496; 523,4074; 595,4574; 577,4460; 559,4357; dan 541,4250 yang menunjukkan ion molekuler berturut-turut yaitu  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{Na}-112]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ ,  $[\text{M}+\text{H}-3\text{H}_2\text{O}]^+$ , dan  $[\text{M}+\text{H}-4\text{H}_2\text{O}]^+$ . Reaksi yang dimungkinkan terjadi ditunjukkan pada Gambar 4.9 berikut.



**Gambar 4.9** Dugaan reaksi asetogenin dengan reagen vanillin-sulfat

#### 4.11 Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Penelitian ini mengkaji mengenai pola sidik jari yang khas yang dimiliki daun sirsak (*Annona Muricata L.*) menggunakan kromatografi lapis tipis dengan berbagai uji validasi, sehingga akan dapat diketahui mutu tanaman tersebut yang akan digunakan untuk bahan baku obat-obatan herbal. Allah SWT. telah menciptakan tumbuh-tumbuhan sesuai dengan kondisi lingkungan sekitarnya mulai dari pertumbuhannya, bentuknya dan manfaat tumbuhan itu sendiri yang dapat dimanfaatkan demi kelangsungan hidup hamba-Nya. Sebagaimana firman Allah SWT. dalam QS. Luqman ayat 10 :

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَٰ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۖ وَأَنْزَلْنَا مِنَ

السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

Artinya :

*“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”* (Q.S. Luqman : 10)

Menurut Shihab (2002), dari ayat tersebut dapat bermakna bahwa Allah SWT menganugerahkan tumbuh-tumbuhan yang baik yang dapat bermanfaat bagi setiap hamba-Nya sehingga memungkinkan didalam tumbuh-tumbuhan tersebut terdapat berbagai macam senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan atau dikonsumsi manusia dan lingkungan sekitarnya. Hal ini sebagaimana pada firman Allah SWT. dalam QS. Abasa ayat 24 – 32:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ○ أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ○ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ○ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ○ وَعِنَبًا ○ وَقَضْبًا ○ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ○ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ○ وَفَكْهَةً وَأَبًّا ○ مَتَعًا لَكُمْ وَلِأَنْعَمِكُمْ ○

Artinya :

*“Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya (24) Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) (25) Kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya (26) lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu (27) anggur dan sayur-sayuran (28) zaitun dan kurma (29) kebun-kebun (yang) lebat (30) dan buah-buahan serta rumput-rumputan (31) untuk kesenanganmu dan untuk hewan-hewan ternakmu (32)”* (Q.S. Abasa (30): 24-32).



Sesungguhnya aneka tumbuhan dan buah-buahan di bumi ini diciptakan diiringi dengan tujuan diciptakannya. Dapat disimpulkan bahwa dari keseluruhan ayat- ayat diatas, Allah SWT. melimpahkan nikmat-Nya kepada hamba-Nya yang haruslah disyukuri (Shihab, 2002). Selain itu ayat tersebut juga dapat dimaknai bahwa tanaman yang Allah SWT. ciptakan di muka bumi ini seluruh anggota tanaman tersebut pasti memiliki manfaat atau khasiat masing-masing, karena Allah SWT tidak akan menumbuhkan sesuatu dengan sia-sia. Karena manusia dianugerahi fikiran yang lebih baik dari makhluk hidup lainnya maka haruslah menggali kualitas yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan seperti halnya menjadikan tumbuhan sebagai bahan obat-obatan herbal dengan meneliti terlebih dahulu senyawa aktif metabolik sekunder yang terkandung didalamnya yang nantinya dapat membantu kelangsungan hidup manusia.

Namun sebelum langsung memanfaatkan tumbuh-tumbuhan tersebut manusia perlu melakukan penelitian agar mengetahui manfaat yang spesifik dan tepat yang akan diberikan tumbuhan sehingga tidak salah dan tidak membahayakan dalam pemanfaatan tumbuhan yang ada. Dan tanaman sirsak (*Annona Muricata L.*) ini dapat dengan mudah dijumpai diseluruh Indonesia. Sehingga para ilmuwan dapat dengan mudah untuk melakukan penelitian terkait tanaman sirsak (*Annona Muricata L.*) ini. Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan para ilmuwan sebelumnya, dapat diketahui bahwa daun tanaman sirsak (*Annona Muricata L.*) dapat dipergunakan sebagai antikanker (Rahmawati, 2020), antibakteri (Rahman, dkk., 2017), dan antioksidan (Aminah, dkk., 2016). Karena tanaman ini dapat tumbuh dengan mudah dan liar, sehingga perlunya dilakukan kendali mutu agar dapat menjamin serta menjaga keaslian kualitas tanaman sirsak (*Annona Muricata*

L.) dengan cara melihat pola sidik jarinya yang spesifik sehingga nantinya akan dapat dibedakan dengan pola sidik jari tanaman obat lainnya yang memiliki kemiripan morfologi (serupa) atau segenus. Hal ini merupakan salah satu bentuk ikhtiar terhadap penggunaan tanaman yang Allah SWT. ciptakan, sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW. yang diceritakan pada salah satu hadist riwayat Al-Bukhari sebagai berikut :

حَدَّثَنَا جُمُعَةُ بْنُ عَبْدِ اللَّهِ حَدَّثَنَا مَرْوَانُ أَخْبَرَنَا هَاشِمُ بْنُ هَاشِمٍ أَخْبَرَنَا عَامِرُ بْنُ سَعْدٍ عَنْ أَبِيهِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَنْ تَصَبَّحَ كُلَّ يَوْمٍ سَبْعَ تَمَرَاتٍ عَجْوَةً لَمْ يَضُرَّهُ فِي ذَلِكَ الْيَوْمِ سُمٌّْ وَلَا سِحْرٌ

Artinya :

Telah menceritakan kepada kami Juma'h bin Abdillah, telah menceritakan kepada kami Marwan, telah menkhabarkan kepada kami Hasyim bin Hasyim, telah menkhabarkan kepada kami Amir bin Said dari bapaknya (Said bin Abi Waqash) dia berkata, aku mendengar Rasulullah Saw bersabda “Barangsiapa mengkonsumsi tujuh butir Kurma Ajwa pada pagi hari, maka pada hari itu ia tidak akan terkena racun maupun sihir.” (HR. Al-Bukhari No. 5025).

Seperti halnya pada tanaman kurma yang dapat dimanfaatkan untuk obat penyembuh dari racun maupun sihir, maka sangat banyak kemungkinan tanaman lain yang Allah SWT. anugerahkan di bumi ini memiliki khasiat atau manfaatnya masing-masing, seperti halnya pada tanaman sirsak (*Annona Muricata L.*) tersebut, dimana sebagai manusia perlu berikhtiar menggali kebenaran khasiat serta mutu dari apa yang terkandung didalam tanaman tersebut.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Hasil pola sidik jari yang diperoleh pada ekstrak kasar daun sirsak dengan tanaman pembanding yaitu daun srikaya dan daun salam dikatakan pola tersebut spesifik dimiliki oleh daun sirsak karena menghasilkan pola, jumlah, posisi, warna serta intensitas noda yang sangat berbeda, ditunjukkan pula oleh hasil analisis validasi metode
2. Hasil validasi metode yang diperoleh berdasarkan penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :
  - a. Hasil uji stabilitas selama kromatografi menunjukkan bahwa analit kurang stabil selama proses kromatografi walaupun noda senyawa aktif berada pada garis diagonal namun terbentuk noda penyimpangan atau spot baru dibawah garis diagonal.
  - b. Hasil uji stabilitas analit pada plat dan dalam larutan menunjukkan pola kromatografi tidak adanya perbedaan baik dari jumlah, warna, dan intensitas spotnya, dengan hasil simpangan baku  $R_f$ nya ( $\Delta R_f$ ) berkisar 0,000 – 0,007 pada analit U1; 0,000 – 0,012 pada analit U2; dan 0,000 – 0,007 pada analit U3 ( $\leq 0,05$ ). Sehingga dapat diketahui bahwa analit tetap stabil meskipun terdapat selang waktu dalam plat maupun larutan selama 90 menit sebelum proses kromatografi.
  - c. Hasil uji visualisasi menunjukkan terdapat sedikit perbedaan intensitas noda sebelum menit ke-5 namun setelah menit ke-5 hingga ke-60 intensitas noda stabil

dan tidak adanya perubahan pada jumlah, posisi serta warna selama selang waktu tunggu 60 menit sehingga dapat disimpulkan bahwa analit tetap stabil.

d. Hasil uji presisi menunjukkan nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif sebesar 0,003 ( $\leq 0,02$ ) dan pada uji presisi antara menunjukkan nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif sebesar 0,01 ( $\leq 0,05$ ). Kemudian pada kedua uji menghasilkan pola sidik jari yang identik, baik dari segi jumlah, posisi, warna dan intensitas noda, sehingga hasil uji presisi dan presisi antara dapat diterima.

e. Hasil uji ketegaran terhadap jenis bejana pengembang menunjukkan nilai simpangan baku  $R_f$  ( $\Delta R_f$ ) senyawa aktif sebesar 0,00 ( $\leq 0,05$ ), sehingga dapat diketahui bahwa perbedaan jenis bejana pengembang tidak mempengaruhi proses kromatografi.

## 5.2 Saran

Pengujian proses kromatografi pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan optimasi pemilihan fase gerak agar lebih baik dan memperoleh hasil yang lebih stabil meskipun pada penelitian ini telah diperoleh hasil pola kromatografi yang baik. Kemudian sebaiknya pada penelitian selanjutnya dapat melanjutkan ke tahap *profiling metabolit* menggunakan deteksi universal seperti LC-MS terhadap deteksi senyawa aktif sehingga dapat mengetahui senyawa aktif dan noda penciri yang lebih valid dan konsisten.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhiksana, Arief. 2017. Perbandingan Metode Konvensional Ekstraksi Pektin Dari Kulit Buah Pisang dengan Metode Ultrasonik. *Journal of Research and Technology*. Vol. 3, No. 2.
- Aminah, Maryam, St., Muzakkir, B., dan Umami, K. 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Berdasarkan Tempat Tumbuh dengan Metode Peredaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol. 3, No. 1.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2006. *Official Methods of AOAC International*. Edisi ke-14. Washington DC (US) : Association of Official Analytical Chemist.
- Ashley, K, R. N. Andrews, L. Cavazos And M. Demange. 2001. Ultrasonic Extraction As A Sample Preparation Technique For Elemental Analysis By Atomic Spectrometry,”. *Journal Of Analytical Atomic Spectrometry*, Issue 12 Vol. 16, Pp. 1147-1153.
- Darusman, Latifah Kosim, Rudi Heryanto, Mohamad Rafi, dan Wulan Tri Wahyuni. 2007. Potensi Daerah Sidik Jari Spektrum Inframerah Sebagai Penanda Bioaktivitas Ekstrak Tanaman Obat. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol. 12, No. 3.
- Daud, Nik Nurul Najihah N.M., Harisun Ya’akob, dan Mohamad Norisham M.R. 2016. Acetogenins of *Annona Muricata* Leaves: Characterization and Potential Anticancer Study. *Integrative Cancer Science and Therapeutics*. 3 (4), 543–551.
- De Sousa, O. V., Vieira, G. D-V., Pinho, Jose De Jesus R. G. De., Yamamoto, C. H., Dan Alves, M. S. 2010. Antinociceptive And Anti-Inflammatory Activities Of The Ethanol Extract Of *Annona Muricata L.* Leaves In Animal Models. *International Journal Of Molecular Sciences*, 11: 2067-2078.
- Fatahillah, Aditya Utama. 2016. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Pegagan (*Centella Asiatica*). *Skripsi*. Bogor : Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Fatimah, N. 2018. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Kencur (*Kaempferia Galangal*). *Skripsi*. Bogor : Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Febrianto, Bagas. 2020. Stabilitas Senyawa Acetogenin Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*) Hasil Ekstrak Ultrasonik Variasi Lama Penotolan dan Pengamatan Lampu UV. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- 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.
- Gorman, J.S.T. 2006. Transition Metal- Mediated Cyclizations And Synthesis Of Annonaceous Acetogenin Analogs. *Dissertation*. Austin: Faculty Of The Graduate School Of The University Of Texas At Austin.
- Gritter, R. J., J. M. Bobbit, And A. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*.
- Grzybowski, A. 2012. The Combined Action of Phytolavacides for The Control of Dengue Fever Vector, *Aedes Aegypti*. 1.
- Handayani, Hana, Feronika Heppy Sriherfyna Dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonik Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol 4(1).
- Jannah, Miftahul. 2016. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Batang Dan Daun Brotowali (*Tinospora Crispa, L*). *Skripsi*. Bogor : Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Katrin, E., Amaliah, R., Aziz, Z., Dan Winarno, H. 2013. Aktivitas Sitotoksik Dan Profil Kromatogram Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Yang Diiradiasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*,11(1): 244-254.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009 Tentang Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Jakarta (ID): KEMENKES RI.
- Kojima, N., Dan Tanaka, T. 2009. Medicinal Chemistry Of Annonaceous Acetogenins: Design, Synthesis, And Biological Evaluation Of Novel Analogues. *Molecules*, 14: 3621-3661.
- Koll K, Reich E, Blatter A, Veit M. 2003. Validation of standardized high performance thin layer chromatographic methods for quality control and stability testing of herbals. *Journal of The Assosiation of Official Analytical Chemist International*. 86:909-915.
- Laksono, Muhammad Teguh. 2020. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L*). *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- 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. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mishra, S., Ahmad, S., Kumar, N., Sharma, B.K. 2013. *Annona Muricata* (The Cancer Killer): A Review. *Glob. Journal Pharm. Research*, 2: 1613–1618.
- Moghadamtousi, S.Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H.M., And Kadir, H.A. 2015. *Annona Muricata* (Annonaceae): A Review Of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins And Biological Activities. *International Journal Of Molecular Sciences*. Issn 1422-0067. 16: 15625-15658.
- Mukharomah, S. 2019. Potensi Senyawa Asetogenin dari Daun Sirsak yang Diembankan pada Zeolit NaX sebagai Senyawa Antikanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Picman, A. K., Panfil, L., Towers, G. H. N. 1981. Separation and Identification of Stereoisomers of Sesquiterpene Lactones by Multiple Development of Thin-Layer Chromatograms *Journal of Chromatography*. 212, 379-381.
- Puriyanti Y., Netty Kamal, Selly Aulia S., dan Ardhiansyah M. 2018. Ekstraksi *Annonaceous Acetogenin* Dari Daun Sirsak (*Annona Muricata L*) Untuk Menentukan Variabel Optimum Terhadap Hasil Ekstraksi. *Jurnal ITEKIMIA*. Vol. 4, No. 2.
- Rahman, F. A., Tetiana, H., dan Trianna, W. U. 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.
- Ranisaharivony, B.G., Ramanandraibe, V., Rasoanaivo, L. H., Rokotovao, M., dan Lemaire, M. 2015. Separation and Potencial Variation of Chemical Constituent of Soursop Seeds. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(2), 161-171.
- Reich, Eike dan Anne Schibli. 2006. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medical Plants*. New York (US): Thieme.
- Reich, Eike dan Anne Schibli. 2007. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medical Plants*. New York (US): Thieme.

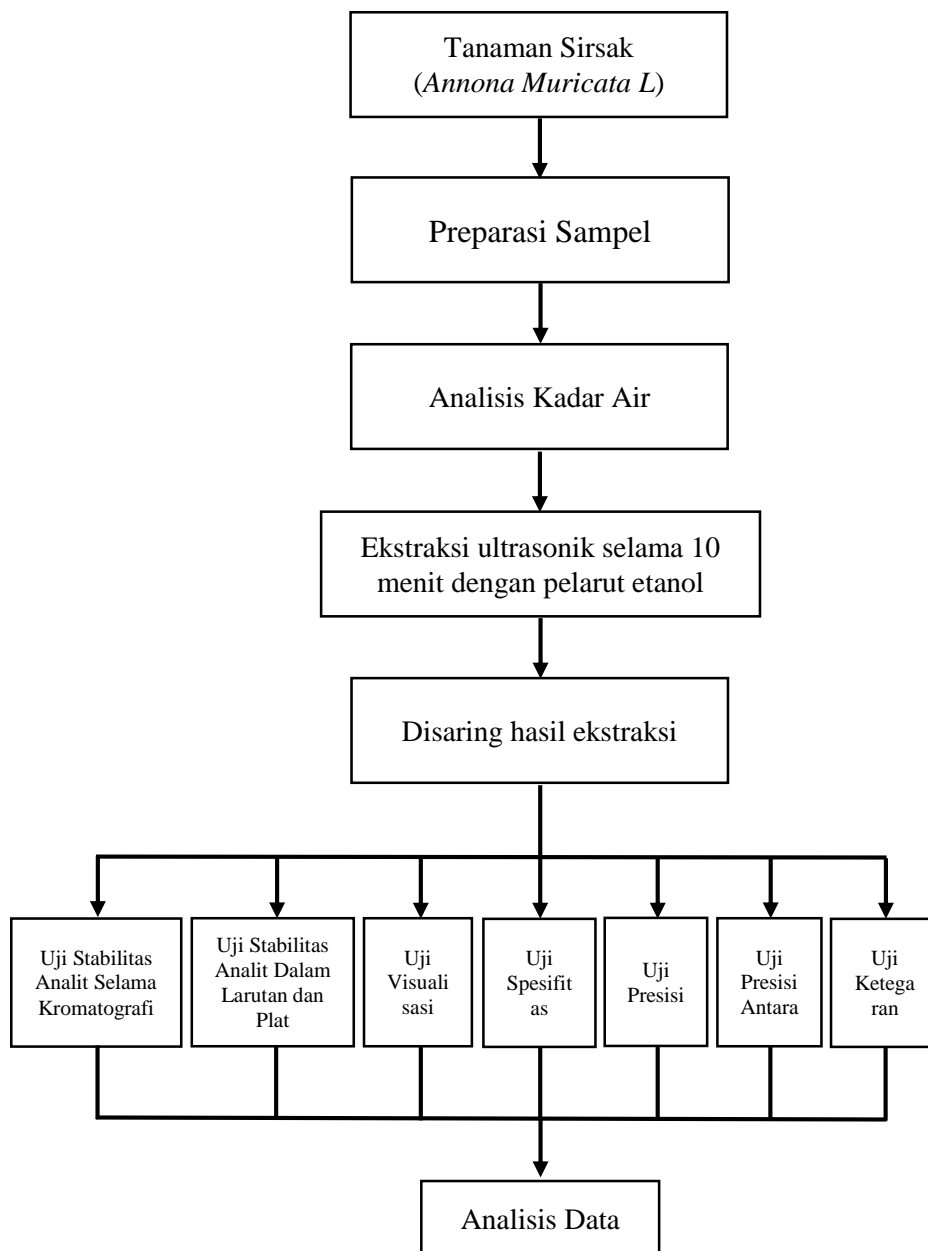
- Reich, Eike dan Anne Schibli. 2008. Validation of High Performance Thin-Layer Chromatographic Methods for Identification of Botanical in a cGMP Environment. *J. AOAC Internasional*. 91: 13-20.
- Rosyidah, H. 2016. Standardisasi Ekstrak Etil Asetat Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.) Sebagai Herba Antimalaria. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rupprecht, J. Kent, Yu-Hua Hui, And Jerry L. Mclaughlin. 1990. Annonaceous Acetogenins: A Review. *Journal Of Natural Product*. Vol. 53, No. 2, Pp. 237-278.
- Safitri, E.W., 2018, Optimasi Variasi Pelarut Dan Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloi Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L) Serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Liberty.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan Dan Kesan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati.
- Shivantare, R. S., Dheeroj, H. N., dan Sanjay, U. N. 2013. 'HPTLC' and Important Tool in Standardization of Herbal Medical Product: a review. *J. Farmasi dan Farmakologi*. 1(1): 21-28.
- Sidberg, S., Elen, M. S., Jennifer, T., Sandra, S., Kirtal, P., Jose, P., Bryan, F. 2010. Fingerprint Analysis and Application of HPTLC for Determination of Identity and Quality of Botanical form Industry Prespective. *JAOC Int*. 95(5): 1367-1375.
- Sudarmadji, S. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty: Yogyakarta.
- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak Srikaya*. Bogor : Penerbit Swadaya.
- Syafi'I, Makmum, Eti Rohaeti, Wulan Tri Wahyuni, Mohamad Rafi, dan Dewi Anggraini Septaningsih. 2018. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga*). *Jurnal Jamu Indonesia*, 3(3): 109-115.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatopyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Villo, P. V. 2008. Synthesis Of Acetogenin Analogues. *Master Thesis In Organic Chemistry*. University Of Tartu.
- Wicaksono, A. 2011. *Kalahkan Kanker dengan Sirsak*. Tegal: Citra Media Mandiri.



- Widodo, F. 2010. Karakterisasi Morfologi Beberapa Aksesori Tanaman Srikaya (*Annona Squamosa* L.) di Daerah Sukolilo, Pati Jawa Tengah. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Widyastutik, T. E. Dan F. B. Paimin. 1992. *Mengenal Buah Unggul Indonesia*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wurdianing, Indrawati, Sa Nugraheni, Zen Rahfiludin. 2014. Efek Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Terhadap Profil Lipid Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Gizi Indonesia*. 1(3):7-12.
- Yazid, E. 2005. *Kimia Fisika Untuk Paramedis*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Zhao L, Chaoyu H, Zhen S, Bingren X, Linghua M. 2005. Fingerprint analysis of *Psoralea corylifolia*, L. by HPLC and LC-MS. *Journal Chromatography*. 821:67-74.

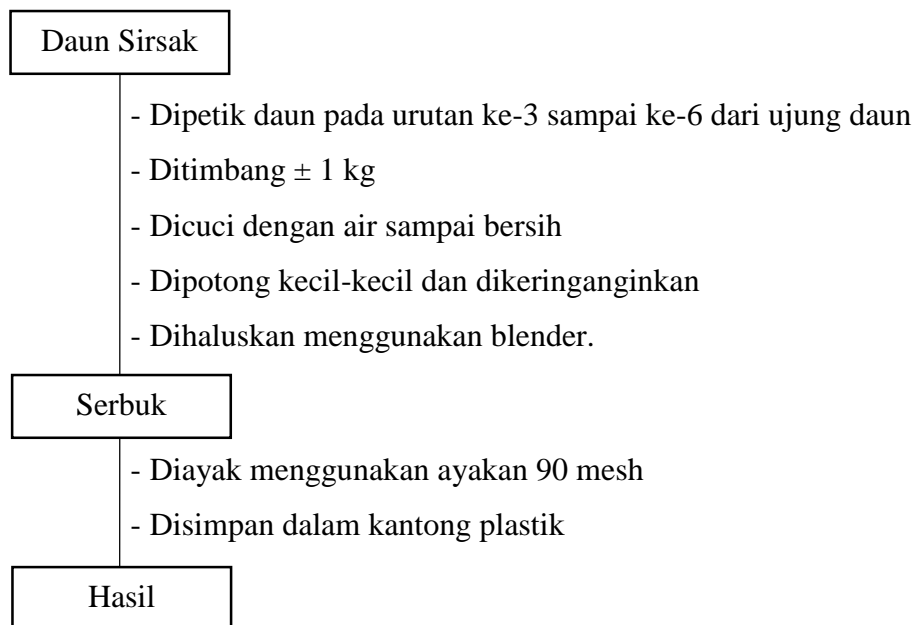
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

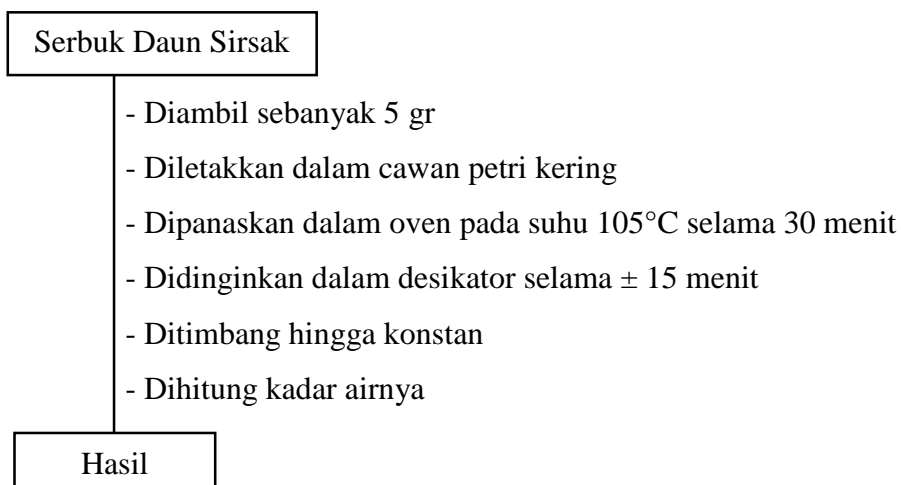


## Lampiran 2. Diagram Alir

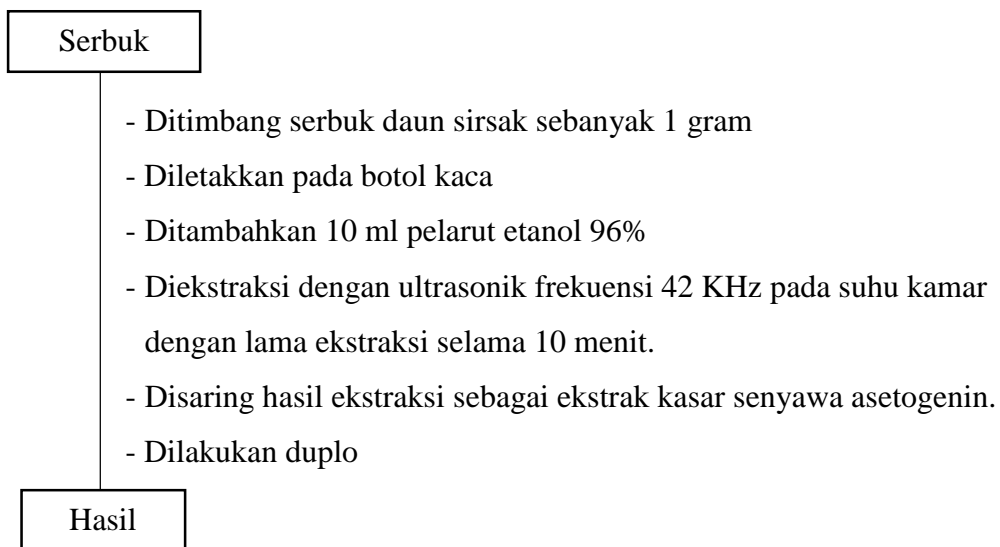
### 1. Preparasi Sampel



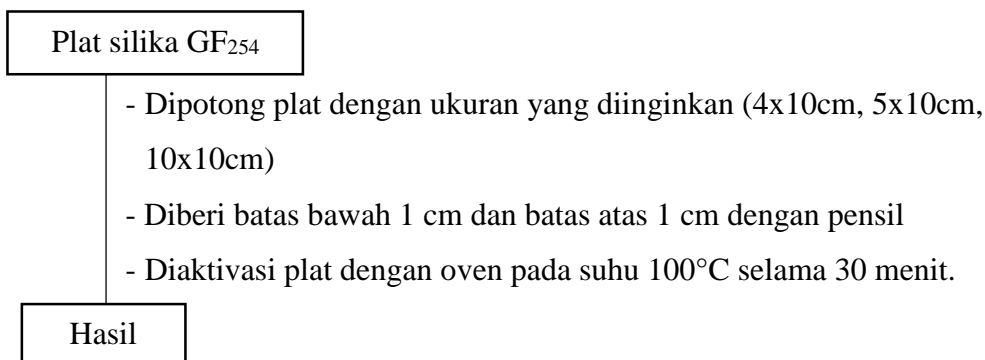
### 2. Analisis Kadar Air



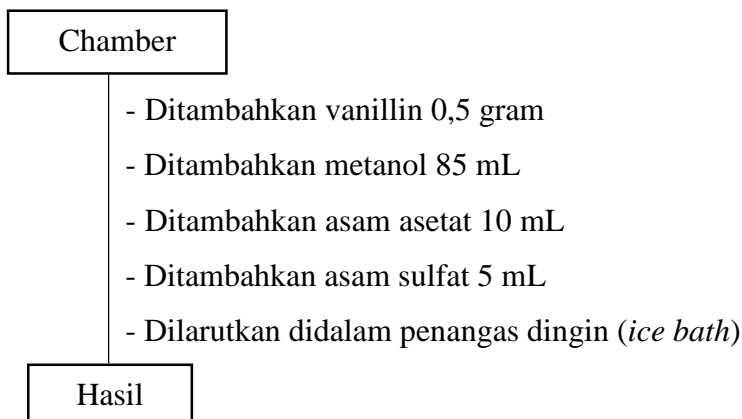
### 3. Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Asetogenin pada Daun Tanaman Sirsak



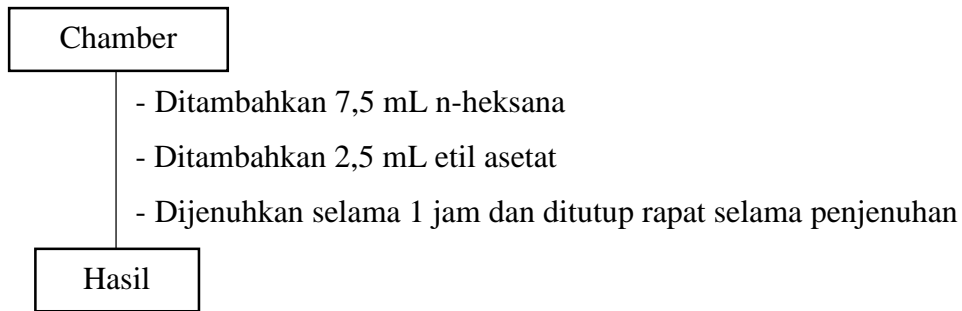
### 4. Preparasi Plat KLT Sebelum Digunakan



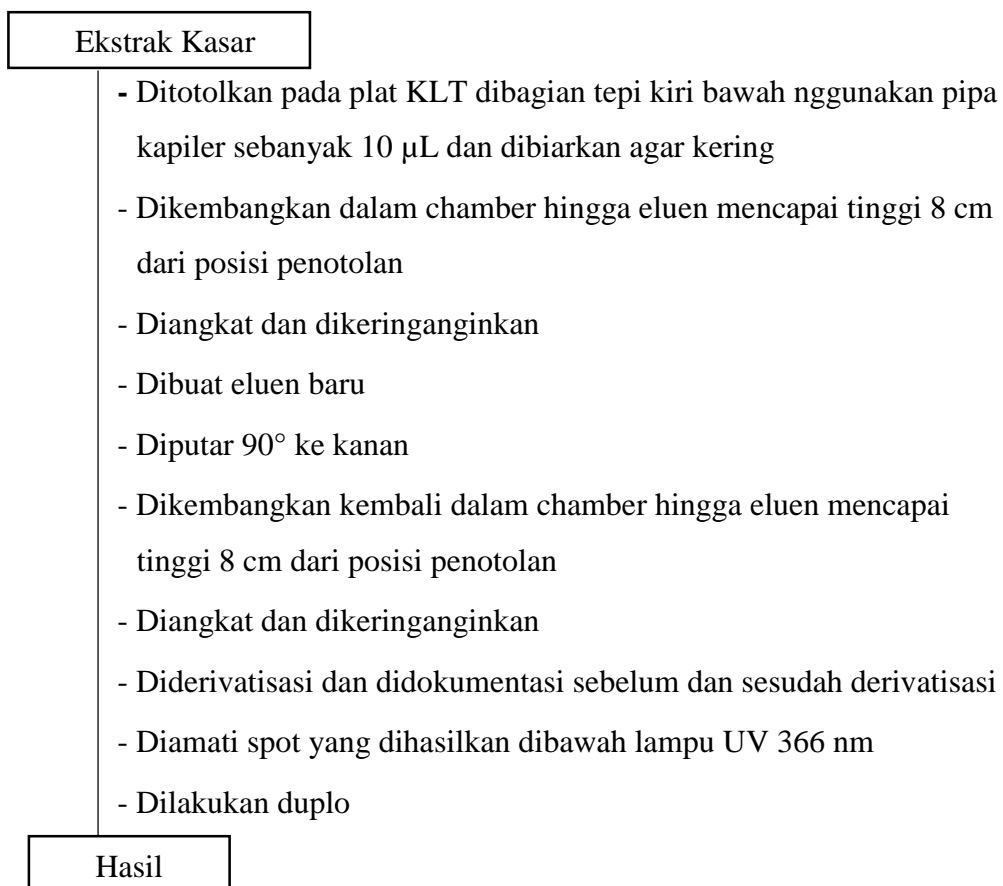
### 5. Pembuatan Reagen Vanilin – Asam Sulfat



## 6. Penjenuhan Eluen



## 7. Uji Stabilitas Analit Selama Kromatografi



## 8. Uji Stabilitas Analit Dalam Larutan dan Plat

### Ekstrak Kasar

- Ditotolkan pada lajur 1 plat KLT menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L dan dibiarkan agar kering
- Ditotolkan pada lajur 3 plat KLT menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L dan dibiarkan agar kering
- Disiapkan ekstrak baru sebagai pembanding
- Ditotolkan ekstrak baru pada lajur 2 dan 4 plat KLT menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L dan dibiarkan agar kering
- Dikembangkan dalam chamber hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan
- Diangkat dan dikeringanginkan
- Diderivatisasi dan didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi
- Diamati spot yang dihasilkan dibawah lampu UV 366 nm
- Dilakukan duplo

### Hasil

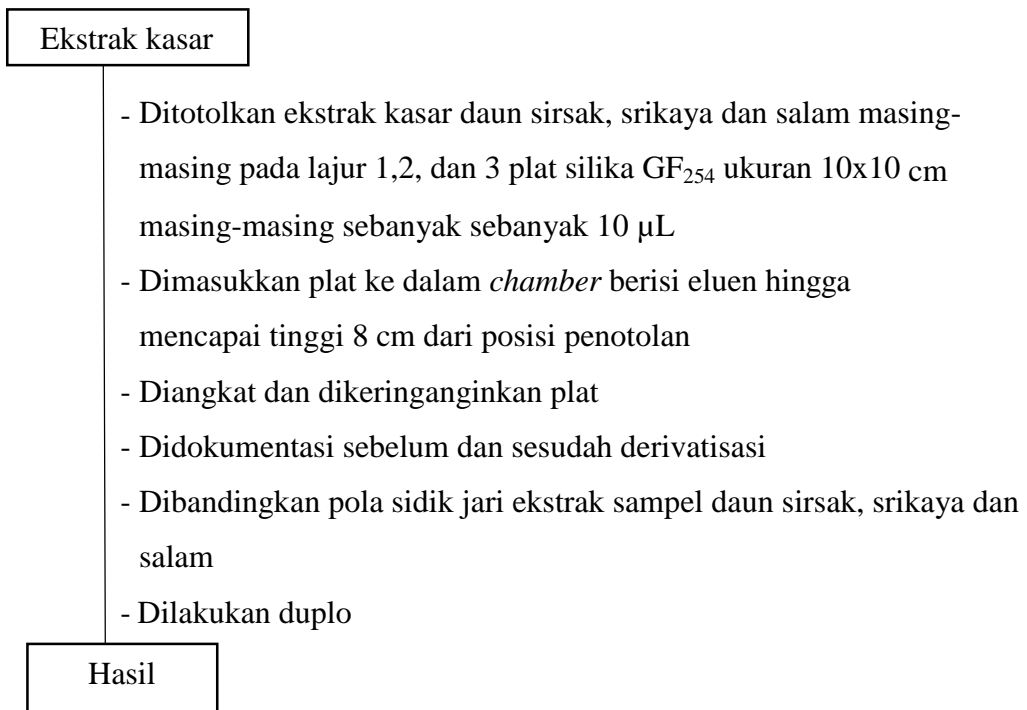
## 9. Uji Stabilitas Hasil Derivatisasi (Uji Visualisasi)

### Ekstrak Kasar

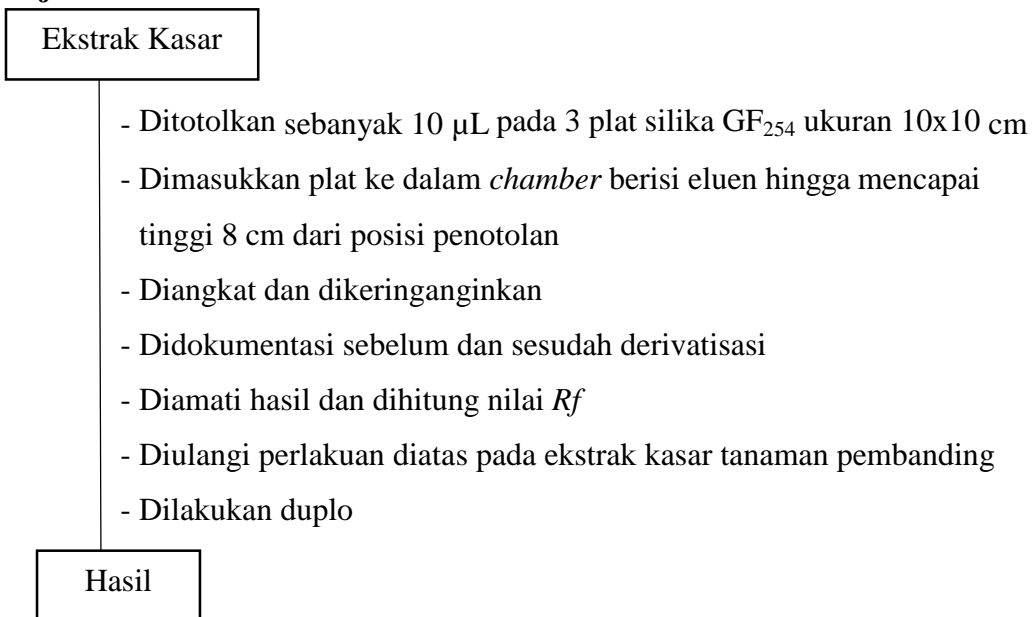
- Ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler sebanyak 10  $\mu$ L dan dibiarkan agar kering
- Dikembangkan dalam *chamber* hingga eluen mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan
- Diangkat dan dikeringanginkan
- Didokumentasi plat sebelum dan sesudah derivatisasi
- Diamati dan didokumentasi spot dibawah lampu UV 366 nm pada menit ke-0, 2, 5, 10, 20, 30, dan 60.
- Diamati warna noda yang dihasilkan
- Dilakukan duplo

### Hasil

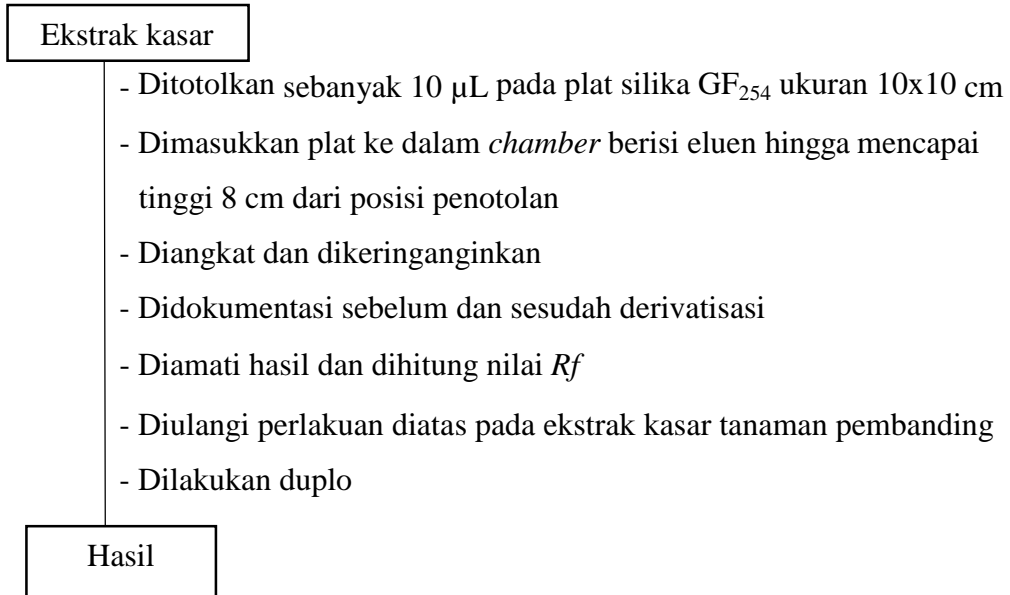
## 10. Uji Spesifitas



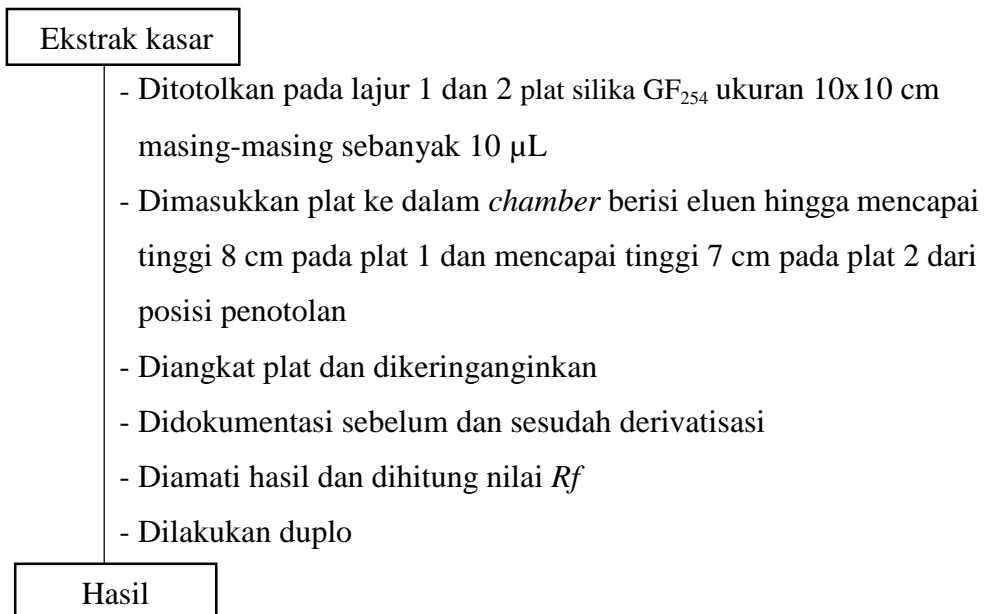
## 11. Uji Presisi



## 12. Uji Presisi Antara



## 13. Uji Ketegaran Terhadap Jarak Pengembang





#### 14. Uji Ketegaran Terhadap Jenis Bejana Pengembang

Ekstrak kasar

- Ditotolkan pada lajur 1 dan 2 plat silika GF<sub>254</sub> ukuran 5x10 cm masing-masing sebanyak 10 µL
- Dimasukkan plat ke dalam *chamber twin-trough* yang berisi eluen hingga mencapai tinggi 8 cm dari posisi penotolan
- Diangkat dan dikeringanginkan
- Didokumentasi sebelum dan sesudah derivatisasi
- Diulangi perlakuan yang sama dengan menggunakan *chamber flat-bottom*
- Diamati hasil dan dihitung nilai *R<sub>f</sub>*
- Dilakukan duplo

Hasil

### Lampiran 3. Perhitungan

#### 1. Perhitungan sampel dan larutan yang dibutuhkan

Perbandingan sampel : pelarut (1:10)

1 gram sampel : 10 mL pelarut etanol

#### 2. Pembuatan Reagen

Komposisi :

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

Cara Pembuatan :

-Dicampurkan seluruh bahan dalam penangas dingin

Cara Penggunaan :

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

#### 3. Analisis Kadar Air

$$\text{Kadar Air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan