

**ANALISIS METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA BIJI
PEPAYA (*Carica papaya L.*) BERDASARKAN WAKTU PENOTOLAN
DAN WAKTU PENGAMATAN UV DENGAN INTERPRETASI *IMAGE J*
DAN PENGENALAN POLA SECARA KEMOMETRIK**

SKRIPSI

**Oleh:
FARIKHA NIKMAH
NIM. 17630015**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**ANALISIS METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA BIJI
PEPAYA (*Carica papaya L.*) BERDASARKAN WAKTU PENOTOLAN
DAN WAKTU PENGAMATAN UV DENGAN INTERPRETASI *IMAGE J*
DAN PENGENALAN POLA SECARA KEMOMETRIK**

SKRIPSI

**Oleh:
FARIKHA NIKMAH
NIM. 17630015**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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
2022**

**ANALISIS METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA BIJI
PEPAYA (*Carica papaya L.*) BERDASARKAN WAKTU PENOTOLAN
DAN WAKTU PENGAMATAN UV DENGAN INTERPRETASI *IMAGE J*
DAN PENGENALAN POLA SECARA KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh :
FARIKHA NIKMAH
NIM. 17630015

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal : 14 Juni 2022

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Mengetahui,
Ketua Program Studi



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

**ANALISIS METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA BIJI
PEPAYA (*Carica papaya L.*) BERDASARKAN WAKTU PENOTOLAN
DAN WAKTU PENGAMATAN UV DENGAN INTERPRETASI *IMAGE J*
DAN PENGENALAN POLA SECARA KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh :
FARIKHA NIKMAH
NIM. 17630015

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 Juni 2022**

Penguji Utama : Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 19770720 200321 2 001

(.....)

Anggota Penguji 1 : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech
LB. 63033

(.....)

Anggota Penguji II : Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

(.....)

Anggota Penguji III : Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Farikha Nikmah

NIM : 17630015

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Analisis Metode Kromatografi Lapis Tipis pada Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Berdasarkan Waktu Penotolan dan Waktu Pengamatan Uv dengan Interpretasi *image J* dan Pengenalan Pola Secara Kemometrik

menyatakan dengan sebenarnya-benarnya bahwa skripsi ini hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 22 Juni 2022

Yang membuat pernyataan,



Farikha Nikmah

NIM. 17630015

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil ‘aalaamiin dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, akhirnya saya bisa menyelesaikan naskah skripsi ini. Oleh karena itu saya ingin mempersembahkan karya ini untuk :

1. Kedua orang tua saya Bapak **Farhan Niam** dan Ibu **Siti Zjubaidah** yang selalu memberikan segala bentuk dukungan, semangat, usaha, do'a dari awal saya masuk kuliah hingga saya bisa memperoleh gelar sarjana ini. Beliau adalah alasan saya untuk terus berjuang.
2. Kedua adik saya **Muhammad Nizar Aditya** dan **Muhammad Affan Nafidz** serta saudara-saudara saya di keluarga besar yang selalu memberi semangat segala bentuk dukungan, nasihat, do'a
3. Seluruh bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim yang telah menyalurkan ilmu kepada saya, khususnya ibu **Elok Kamilah Hayati, M. Si** selaku pembimbing kimia, bapak **Ahmad Hanapi, S.Si., M. Sc** selaku pembimbing agama, ibu **Diana Chandra Dewi, M.Si** selaku dosen wali dan penguji skripsi saya, dan bu **Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech** selaku penguji skripsi saya, terima kasih yang telah membimbing saya, memberikan saya arahan dengan sabar, dan memotivasi saya.
4. Teman-teman seperjuangan saya yaitu **Analitik Squad, Sahambat, Lego Gurls** serta teman **Kimia A 2017** dan Seluruh **angkatan 2017 (Neon)** terima kasih telah menjadi teman berdiskusi, teman ngopi, teman main, yang selalu mendukung saya, memberi arahan, dan semangat kepada saya.
5. Dan persembahan terakhir adalah teruntuk semua dan siapapun yang selalu menanyakan kapan saya lulus, alhamdulillah saya sudah bisa menyelesaikan ini semua.

MOTTO

“Failure Occours Only When We Give Up”

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan nikmat berupa iman, kesehatan, kesempatan, kekuatan, keinginan, serta kesabaran, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. skripsi yang telah penulis susun ini berjudul **“Analisis Metode Kromatografi Lapis Tipis pada Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Berdasarkan Waktu Penotolan dan Waktu Pengamatan UV dengan Interpretasi *Image J* dan Pengenalan Pola Secara Kemometrik”**. Sholawat serta salam penulis panjatkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, hamba Allah SWT yang detik demi detik hidupnya digunakan untuk mengabdikan kepada Allah SWT.

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

1. Kedua Orang tua dan Keluarga yang selalu mendoakan serta memberi dukungan yang berharga.
2. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
5. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Dosen Pembimbing Jurusan Kimia

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

6. Ahmad Hanapi, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Agama Jurusan Kimia
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
7. Segenap anggota teman-teman Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik
Ibrahim Malang yang telah membantu penyusunan skripsi ini baik dari segi ide
dan waktu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan naskah skripsi ini, baik dari segi Bahasa maupun pembahasan. Demi kesempurnaan naskah skripsi ini, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga susunan skripsi ini dapat memberi manfaat kepada banyak orang.

Malang, 22 Juni 2022

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	10
2.1.1 Morfologi	10
2.1.2 Klasifikasi	11
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia dalam Tanaman Pepaya	11
2.2 Ekstraksi Ultrasonik.....	12
2.4 Validasi Metode KLT Biji Pepaya.....	14
2.4.1 Analisis Analit Selama Kromatografi (2 Dimensi).....	14
2.4.2 Analisis Metode Berdasarkan Waktu Penotolan	15
2.4.3 Analisis Metode Berdasarkan Pengamatan UV.....	17
2.5 Pengolahan Plat KLT dengan <i>Image J</i>	19
2.6 Uji Korelasi PCA.....	23
2.7 Pepaya Sebagai Tanaman Obat dalam Perspektif Islam.....	26
BAB III METODOLOGI	28
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	28
3.2 Alat dan Bahan.....	28
3.2.1 Alat.....	28
3.2.2 Bahan	28
3.3 Rancangan Penelitian.....	28
3.4 Tahapan Penelitian.....	29
3.5 Cara Kerja.....	29
3.5.1 Preparasi Sampel.....	29

3.5.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik	30
3.5.3 Analisis Metode dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	30
3.5.4 Pengolahan Plat KLT dengan <i>image J</i>	32
3.5.5 Klasifikasi Sampel Biji Pepaya dengan PCA	32
BAB V PENUTUP	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

4.1 Nilai Rf pada sampel biji pepaya bogor waktu penotolan	39
4.2 Nilai Rf pada sampel biji pepaya magetan waktu penotolan	39
4.3 Nilai Rf pada sampel biji pepaya bogor waktu pengamatan UV	42
4.4 Nilai Rf pada sampel biji pepaya magetan waktu pengamatan UV	42
4.5 Nilai AUC pada sampel biji pepaya bogor waktu penotolan	46
4.6 Nilai AUC pada sampel biji pepaya Magetan waktu penotolan	46
4.7 Nilai AUC pada sampel biji pepaya bogor waktu pengamatan UV	49
4.8 Nilai AUC pada sampel biji pepaya Magetan waktu pengamatan UV	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Pepaya	10
Gambar 2.2 Analisis Analit Selama Kromatografi	14
Gambar 2.3 Hasil Analisis Berdasar Waktu Penotolan Daun Sirsak.....	16
Gambar 2.4 Hasil Analisis Berdasar Waktu Penotolan Daun Jelatang.....	17
Gambar 2.5 Hasil Analisis Visual Batang dan Daun Brotowali	18
Gambar 2.6 Hasil Analisis Visualisasi Tanaman Anting-Anting	19
Gambar 2.7 Penandaan Pita Komponen.....	20
Gambar 2.8 Densitogram dengan Nilai Area Pada Puncak	21
Gambar 2.9 Noda Sinentesin Pada Plat KLT	22
Gambar 2.10 Kromatogram daun Kumis Kucing	22
Gambar 2.11 Score Plot dari Temulawak, Kunyit, dan Bangle.....	24
Gambar 2.12 Score plot dari Daun Kumis Kucing	25
Gambar 4.1 Serbuk Biji Pepaya	33
Gambar 4.2 Hasil Ekstraksi Ultrasonik Sampel Biji Pepaya	34
Gambar 4.3 Hasil Analisis Analit Selama Kromatografi.....	36
Gambar 4.4 Hasil Analisis Berdasarkan Waktu Penotolan.....	38
Gambar 4.5 Grafik hubungan nilai Rf dengan Waktu Penotolan	40
Gambar 4.6 Hasil Analisis Berdasarkan Waktu Pengamatan UV	41
Gambar 4.7 Grafik hubungan nilai Rf dengan Waktu Pengamatan UV	42
Gambar 4.8 Contoh Penandaan Plat KLT.....	43
Gambar 4.9 Kromatogram Berdasarkan Waktu Penotolan.....	46
Gambar 4.10 Grafik hubungan nilai AUC dengan Waktu Penotolan.....	47
Gambar 4.11 Kromatogram Berdasarkan Waktu Pengamatan UV	49
Gambar 4.12 Grafik hubungan nilai AUC dengan Waktu Pengamatan UV.....	50
Gambar 4.13 Score Plot nilai AUC pada Waktu Penotolan.....	52
Gambar 4.14 Score Plot nilai AUC pada Waktu Pengamatan UV.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	65
Lampiran 2. Diagram Alir.....	66
Lampiran 3. Perhitungan Pelarut.....	72
Lampiran 4. Perhitungan Rf dan SD	73
Lampiran 5. Hasil Nilai AUC	80
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	87

ABSTRAK

Nikmah, Farikha. 2022. **Analisis Metode Kromatografi Lapis Tipis pada Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Berdasarkan Waktu Penotolan dan Waktu Pengamatan Uv dengan Interpretasi Image J Dan Pengenalan Pola Secara Kemometrik.** Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Pembimbing II : Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc

Kata Kunci : Biji Pepaya (*Carica papaya L.*), Kromatografi Lapis Tipis, image J, PCA

Perkembangan obat tradisional di Indonesia meningkat sangat pesat, seiring dengan perkembangan zaman banyak industri jamu, industri rumah tangga dan industri farmasi yang memanfaatkan bahan alam untuk diproduksi menjadi obat tradisional, biji pepaya dikenal manfaatnya sebagai bahan obat. Dalam upaya mengembangkan obat bahan alam terdapat beberapa faktor yang sangat menentukan keberhasilan dan juga permasalahan yang timbul seperti dalam perdagangan tidak selalu memperoleh bahan yang sepenuhnya murni, maka dari itu diperlukan metode untuk tetap dapat mempertahankan mutu, khasiat dan keamanan produk obat. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui analisis metode kromatografi lapis tipis dengan mengetahui waktu terbaik dari waktu penotolan dan waktu pengamatan uv dengan interpretasi *image j* dan klasifikasi PCA. Metode yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etanol:air:HCl dengan waktu ekstraksi 30 menit dan analisis menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil dari analisis berdasarkan waktu penotolan pada biji pepaya bogor dan magetan yaitu stabil hingga menit ke 60, dan berdasarkan waktu pengamatan uv pada biji pepaya bogor dan magetan yaitu juga stabil hingga menit ke 60. Interpretasi hasil kromatografi lapis tipis dengan image J menghasilkan nilai AUC yaitu pada waktu penotolan dan pengamatan uv pada menit ke 0,30,60 dengan hasil yang stabil sedangkan pada menit ke 90 mengalami penurunan nilai AUC dan untuk hasil PCA yaitu pengelompokan terlihat jelas dari saling berdekatnya sampel sampel dengan waktu tunggu yang sama, yaitu pada variasi penotolan sampel biji Bogor terdapat 3 pengelompokan, pada biji pepaya Magetan 3 pengelompokan, dan pada variasi waktu pengamatan UV pada sampel biji pepaya Bogor memiliki 3 pada biji pepaya magetan memiliki 4 pengelompokan.

ABSTRACT

Nikmah, Farikha. 2022. **Analysis Of Thin Layer Chromatography Methods On Papaya Seeds (*Carica papaya L.*) Based On Pointing Time and Uv Observation Time With Image J Interpretation And Chemometric Pattern Recognition.** 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 : Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc

Key Words : Papaya Seeds (*Carica papaya L.*), Thin Layer Chromatography, Image J, PCA

The development of traditional medicine in Indonesia is increasing very rapidly, with the development of many herbal medicine industries, home industries and pharmaceutical industries that use natural ingredients to produce traditional medicines, seeds which are useful as medicinal ingredients. In an effort to develop natural medicines, there are several factors that determine success and also problems that arise, such as in the trade, it is not always possible to obtain completely pure ingredients, therefore methods are needed to maintain product quality, efficacy and safety. The purpose of this study was to determine the analysis of thin layer chromatography by knowing the best time of spotting and UV observation with interpretation of image j and PCA classification. The method used is ultrasonic extraction using ethanol:water:HCl solvent with extraction time of 30 minutes and analysis using thin layer chromatography. The results of the analysis based on the time of spotting on the papaya seeds of Bogor and Magetan were stable up to 60, and based on observations on the seeds of the papaya seeds of Bogor and Magetan were also stable until the 60th minute. and UV observations at 0.30.60 minutes with stable results while at the 90th minute the AUC value decreased and for PCA results, the grouping was clearly visible from adjacent samples with the same waiting time, namely the variation of spotting on Bogor seed samples. there are 3 groupings, on Magetan papaya seeds 3 groupings, and on the variation of UV observations on samples of papaya seeds Bogor has 3 in Magetan papaya seeds have 4 groupings.

مستخلص البحث

نكمة، فارخة. 2022. تحليل طريقة كروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة على بذور البابايا (*Carica papaya L.*) بناء على وقت الإكتشاف ووقت مراقبة الأشعة فوق البنفسجية مع تفسير *Image J* والتعرف على الأنماط الكيميائية. البحث الجامعي. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأول: إيلوك كاملة حياتي الماجيستير. المشرف الثاني: أحمد حنافي الماجيستير.

الكلمات الإشارية: بذور البابايا (*Carica papaya L.*)، كروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة، *PCA*، *Image J*

ارتفع تطور الطب التقليدي في إندونيسيا ارتفاعا سريعا مع تطور عصر العديد من صناعات الأدوية العشبية والصناعات المنزلية والصناعات الدوائية التي تستخدم المكونات الطبيعية لإنتاج الأدوية التقليدية. وتشتهر بذور البابايا بفوائدها كمكون الأدوية. أما في محاولة تطوير الأدوية الطبيعية هناك العديد من العوامل التي تحدد النجاح والمشكلات المظهورة مثل في التجارة أحيانا لم يحصل على مكونات نقية تماما، حتى يحتاج إلى طريقة للحفاظ على الجودة والفعالية وسلامة المنتجات الطبية. كان الهدف من هذا البحث هو تحديد طريقة تحليل كروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة من خلال معرفة أفضل وقت للاكتشاف ووقت مراقبة الأشعة فوق البنفسجية مع تفسير *Image J* وتصنيف *PCA*.

الطريقة المستخدمة هي الاستخراج بالموجات فوق الصوتية باستخدام مذيب الإيثانول: الماء: *HCl* مع وقت الاستخلاص 30 دقيقة وعملية التحليل باستخدام كروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة. أما نتائج التحليل بناء على وقت التبع لبذور البابايا في بوجور وماجيتان مستقرة حتى الدقيقة 60، واستنادا إلى وقت مراقبة الأشعة فوق البنفسجية على بذور البابايا بوجور وماجيتان كانت مستقرة أيضا حتى الدقيقة 60. أنتج تفسير نتائج كروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة باستخدام *image J* حصل قيمة *AUC* وهو في وقت اكتشاف الأشعة فوق البنفسجية ومراقبته عند 0.30.60 نتيجته مستقرة وبينما عند 90 دقيقة انخفضت قيمة *AUC* ونتائج *PCA* كان تجمع بشكل واضح من تقارب العينات مع نفس وقت الانتظار، وهو في تباين اكتشاف عينات بذور بوجور بها 3 مجموعات ولبذور البابايا ماجيتان بها 3 مجموعات وفي اختلاف وقت مراقبة الأشعة فوق البنفسجية على عينات بذور البابايا بوجور 3 مجموعات وعلى بذور البابايا ماجيتان بها 4 مجموعات.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan obat tradisional di Indonesia meningkat sangat pesat, seiring dengan perkembangan zaman banyak industri jamu, industri rumah tangga dan industri farmasi yang memanfaatkan bahan alam untuk diproduksi menjadi obat tradisional dengan menggunakan mesin modern yang dikemas secara modern. Masyarakat di Indonesia banyak yang mengonsumsi dan mencari pengobatan menggunakan obat tradisional dengan bahan alam karena relatif lebih aman dibandingkan dengan obat kimia atau sintetis (Permatasari dkk., 2022). Biji pepaya dikenal sebagai bahan obat, Secara tradisional biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing gelang, gangguan pencernaan, diare, penyakit kulit, bahan baku obat masuk angin. Biji pepaya sendiri diketahui mengandung senyawa kimia lain seperti golongan fenol, alkaloid, dan saponin (Martiasih, dkk).

Dalam upaya mengembangkan obat bahan alam terdapat beberapa faktor yang sangat menentukan keberhasilan. Beberapa faktor tersebut adalah ketersediaan bahan baku, keterjaminan kebenaran khasiat, serta kepastian perlindungan masyarakat dari penyalahgunaan obat yang dapat merugikan/membahayakan.. Pencampuran bahan obat dapat terjadi karena unsur kesengajaan dari pemasok bahan baku untuk mensiasati harga. Atau dapat terjadi karena unsur ketidaksengajaan seperti tumbuhan bukan berasal hasil dari budidaya atau tumbuhan liar. Tumbuhan liar umumnya kurang baik untuk dijadikan bahan obat karena mutunya tidak tetap, maka dari itu diperlukan metode untuk tetap dapat mempertahankan mutu, khasiat dan keamanan produk obat (Sari, 2011).

Sedangkan menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional harus memenuhi beberapa parameter standar diantaranya : identitas, mikroskopis, senyawa identitas, pola kromatografi, susut pengeringan, abu total, abu tidak larut asam, sari larut air, sari larut etanol, kandungan kimia simplisia (misal kadar minyak atsiri, kadar senyawa identitas, dan sebagainya). Dalam penelitian ini sampel biji pepaya hawaii akan diteliti berdasarkan pola kromatogramnya.

Teknik analisis yang banyak digunakan untuk pengembangan yaitu kromatografi seperti kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, dan jenis kromatografi lainnya. Penggunaan kromatografi lainnya memiliki pertimbangan yaitu memerlukan biaya yang mahal serta membutuhkan analisis khusus untuk mengoperasikannya. Untuk KLT sendiri memiliki keunggulan seperti sederhana, biaya murah, kapasitas sampel yang besar dan hasil yang cepat. KLT dapat memberikan resolusi pemisahan yang baik sehingga memungkinkan identifikasi dari berbagai zat dalam sekali elusi, selain itu digunakan untuk mengetahui kesamaan atau ketidaksamaan dan untuk mengetahui ada atau tidak adanya suatu senyawa sehingga dapat digunakan untuk metode deteksi adanya pemalsuan bahan tumbuhan obat yang digunakan pada suatu produk obat herbal.

Keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia merupakan salah satu nikmat yang diberikan oleh Allah SWT kepada kita, sehingga kita patut bersyukur dan memanfaatkannya dengan baik. Tumbuhan yang telah diciptakan-Nya memiliki bentuk, ciri khas serta berbeda-beda tingkat kelebihan dan kekurangannya (al Maraghi, 1992), sebagaimana firman Allah dalam surat asy Syu'ara ayat 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*

Pada QS. Asy-Syu'ara ayat 7 di atas, menurut tafsir Al Qurthubi ada tiga kata yang ditekankan yaitu *يَرَوْا* kata yang artinya memperhatikan, *زَوْجٍ* yang artinya tumbuh-tumbuhan dan *كَرِيمٍ* artinya baik dan mulia. Dalam ayat tersebut kita sebagai manusia diperintahkan untuk memperhatikan tumbuh-tumbuhan yang baik dan mulia yang telah Allah tumbuhkan di bumi ini. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Tumbuhan pepaya adalah tumbuhan yang baik yang kaya manfaat yang mana banyak digunakan sebagai obat yaitu obat tradisional.

Metode ekstraksi konvensional seperti refluks, maserasi dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa karpain pada biji pepaya ini, ekstraksi cara konvensional mempunyai kekurangan waktu yang lebih lama dan jumlah pelarut yang lebih banyak (Kunarto, dkk., 2019). Maka dari itu menggunakan metode ultrasonik. Metode ini dikenal dengan sonokimia yang memanfaatkan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia. Kelebihan dari ekstraksi gelombang ultrasonik antara lain lebih efisien waktu, dan biasanya laju perpindahan massa lebih cepat jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan Soxhlet (Hartuti dan Muhammad., 2013). Febrianto (2021) melakukan penelitian pada biji pepaya dengan ekstraksi ultrasonik

menggunakan variasi waktu didapat hasil terbaik pada menit ke 30, dan didapat pelarut terbaik etanol : air : HCl

Metode pemisahan dalam penelitian ini menggunakan kromatografi lapis tipis yang menunjukkan pola kromatografi yang dihasilkan. Banyak faktor yang mempengaruhi hasil KLT selama proses analisis seperti udara, debu, cahaya dan perubahan suhu yang bisa menyebabkan adanya perubahan hasil analisis. Maka dari itu diperlukan analisis validasi metode untuk menjamin bahwa metode bersifat akurat, spesifik dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. validasi metode ini untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi persoalan analisis. Parameter pada penelitian ini meliputi analisis waktu penotolan dan waktu pengamatan UV.

Analisis metode berdasarkan waktu penotolan bisa disebut juga analisis stabilitas pada plat, adanya pengaruh faktor lingkungan terhadap waktu tunggu sebelum dielusi memungkinkan terjadinya penguapan senyawa yang berpengaruh terhadap posisi, jumlah, dan intensitas noda yang dihasilkan setelah pengelusan, maka dari itu dilakukannya analisis waktu penotolan untuk melihat hasil analisis yang digunakan hingga stabil dengan waktu tertentu dan dengan sesuai kebutuhan. Penelitian Masruroh (2021) pada daun sirsak dengan variasi waktu 1,2 dan 3 jam, hasil terbaik didapat pada waktu ke 1 jam dan ditunjukkan oleh Reich and Schibli (2006) Analisis berdasarkan waktu penotolan pada daun jelatang hasil menunjukkan sampel tetap stabil pada pendiaman hingga 3 jam.

Analisis Pengamatan UV disebut juga analisis visualisasi, yang mana plat didiamkan setelah dilakukan elusi dengan rentang waktu tertentu. adanya pengaruh faktor lingkungan terhadap waktu tunggu setelah dielusi memungkinkan juga

terjadinya penguapan senyawa yang berpengaruh terhadap ketahanan intensitas noda yang dihasilkan, maka dari itu dilakukannya analisis waktu pengamatan UV untuk melihat pengaruh ketahanan noda terhadap parameter yang diukur dibandingkan kondisi normal. Jannah (2016) melakukan analisis berdasarkan waktu pengamatan UV/visualisasi pada tanaman brotowali hasil terbaik pada waktu ke 60 menit. Kumalasari (2019) melakukan melakukan uji kestabilan visualisasi pada tanaman anting-anting hasil terbaik didapat yang stabil pada menit ke 60. Laila (2019) melakukan analisis berdasarkan waktu pengamatan UV/visualisasi pada tanaman anting-anting hasil terbaik didapat yang stabil pada menit ke 30.

Image J merupakan suatu piranti lunak yang dapat mengubah citra dari bentuk pita menjadi bentuk densitogram, *image J* dapat menghitung area dan piksel dari suatu gambar, mengikuti jarak, sudut, membuat profil dari densitogram, dan garis kurva. Pengolahan parameter pada penelitian ini dilakukan sampai didapatkan metode terbaik yang ditunjukkan dengan nilai korelasi terbesar dari nilai AUC yang dihasilkan. Nilai AUC (*Area Under Curve*) adalah nilai luas area di bawah kurva puncak densitogram.

Penelitian sebelumnya yaitu oleh Fitrianti (2011) yang berjudul diferensiasi temulawak, kunyit, dan bangle berdasarkan interpretasi kromatografi lapis tipis menggunakan *image J* hasilnya puncak ganda dapat terbentuk pada densitogram dan cukup menyulitkan dalam penentuan baseline-nya, sehingga dapat berpengaruh pada nilai AUC yang dihasilkan. Adapun penelitian Nuryani (2015) yang berjudul kendali mutu daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik Hasil kromatogram ini juga dibuktikan dari nilai luas puncak hasil pengolahan *image J*,

yang lebih tinggi pada daun kumis kucing daerah Nagrak. Berdasarkan hasil ini, mutu daun kumis kucing terbaik adalah dari daerah Nagrak.

Principle component analysis (PCA) salah satu fitur ekstraksi data multivariat yang banyak digunakan, metode ini digunakan untuk melakukan pengenalan pola sehingga dapat mengelompokkan tanaman, data yang digunakan dalam PCA ini adalah nilai AUC. Setiap data akan diklasifikasikan dan hasilnya akan ditampilkan dalam bentuk *Score Plot* berdasarkan nilai AUC-nya, semakin dekat satu titik dengan yang lainnya, semakin besar kemiripan diantara nilai AUC dari pita komponen sampel.

Fitrianti (2011) yang berjudul diferensiasi temulawak, kunyit, dan bangle hasil dari analisis PCA nya yaitu pengelompokkan terbaik untuk memisahkan tanaman temulawak, kunyit, dan bangle dimiliki oleh data nilai AUC dari densitogram pita KLT tanpa penyemprotan larutan pendeteksi pita komponen dan data nilai AUC dari densitogram pita KLT dengan penyemprotan menggunakan larutan vanilin pada visualisasi sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm, yang mana pada datanya seluruh sampel pada masing-masing kelompok berada saling berdekatan.

Adapun penelitian Nuryani (2015) yang berjudul kendali mutu daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik, hasil analisis PCAny yang baik ada pada perlakuan data asli dengan menghilangkan pencilan yang mana dapat memisahkan dan mengelompokkan sampel daun kumis kucing berdasarkan perbedaan daerah dengan baik, pada datanya sampel daun kumis kucing dengan daerah yang sama akan mengelompok dan berdekatan karena nilai reflektansnya sama.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian berjudul Analisis Metode Kromatografi Lapis Tipis pada Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Didasarkan Waktu Penotolan dan Pengamatan UV Dengan Interpretasi *Image J* dan Pengenalan Pola secara Kemometrik, ini penting untuk dilakukan untuk mengetahui hasil pengaruh waktu penotolan dan pengamatan UV dengan variasi penotolan 0, 30, dan 60, dan 90 menit terhadap jumlah, posisi, dan ketahanan intensitas pada noda KLT dan juga nilai AUC yang dihasilkan dari *image J*. Sebelum dilakukan uji stabilitas dilakukan ekstraksi dengan metode ultrasonik. Ekstrak senyawa kemudian dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis dengan eluen kloroform : metanol (85 : 15) kemudian hasil KLT di olah dengan *image J* dan klasifikasi PCA.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini berdasarkan latar belakang diatas adalah

1. Berapakah waktu terbaik yang dihasilkan dari analisis metode biji pepaya bedasarkan waktu penotolan secara kromatografi lapis tipis?
2. Bagaimana hasil analisis metode biji pepaya yang dihasilkan pada variasi pengamatan UV secara kromatografi lapis tipis?
3. Bagaimana interpretasi hasil image J terhadap variasi waktu penotolan dan pengamatan UV?
4. Bagaimana hasil PCA berdasarkan variasi waktu penotolan dan pengamatan UV?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini berdasarkan latar belakang diatas adalah

1. Untuk mengetahui waktu terbaik dari analisis metode biji pepaya yang dihasilkan berdasarkan waktu penotolan secara kromatografi lapis tipis
2. Untuk mengetahui waktu terbaik dari analisis metode biji pepaya yang dihasilkan pada variasi pengamatan UV secara kromatografi lapis tipis
3. Untuk mengetahui interpretasi hasil image J terhadap variasi waktu penotolan dan pengamatan UV
4. Untuk mengetahui hasil PCA berdasarkan variasi waktu penotolan dan pengamatan UV

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah biji papaya (*Carica papaya L.*) yang berasal dari bogor dan magetan
2. Pelarut yang digunakan adalah pelarut terbaik dari penelitian sebelumnya
3. Metode ekstraksi menggunakan metode Ultrasonik dengan pelarut yaitu etanol : air : HCl (89:10:1) dan dengan frekuensi 42 kHz
4. Menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen kloroform : metanol (85:15)
5. Menggunakan variasi waktu penotolan 0, 30, 60 dan 90 menit
6. Menggunakan variasi pengamatan UV 0, 30, 60 dan 90 menit
7. Pengolahan hasil KLT dengan aplikasi *image J*
8. Klasifikasi PCA dengan aplikasi Orange

1.5 Manfaat

1. Memberikan informasi bahwa ekstraksi ultrasonik lebih efektif dari pada ekstraksi yang lain

- 2 Untuk mengetahui metode untuk analisis mutu suatu obat yang valid dari hasil penelitian ini.

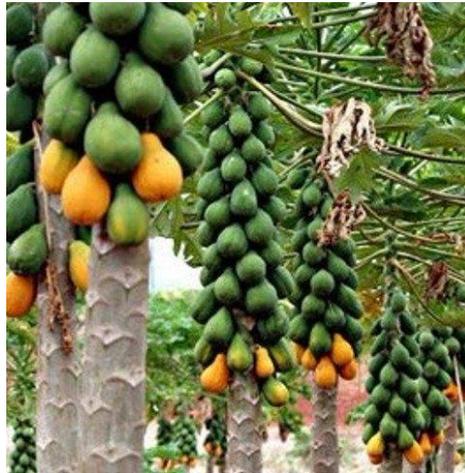
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pepaya (*Carica papaya L.*)

2.1.1 Morfologi

Tanaman pepaya merupakan salah satu sumber protein nabati, buah pepaya tergolong buah yang populer dan digemari hampir seluruh penduduk di bumi ini. Pepaya ini tanaman yang cukup banyak dibudidayakan di Indonesia, dari dataran rendah sampai daerah pegunungan 1000 m dpl. Negara penghasil pepaya antara lain kosta Rika, Republik Dominika, Puerto Rika, dan lain-lain. Brazil, India, dan Indonesia merupakan penghasil pepaya yang cukup besar (Pangesti, dkk., 2013).



Gambar 2.1. Tanaman pepaya

Tanaman papaya memiliki batang pohon yang tidak bercabang, tangkai daun yang panjang dan mengumpul diujung batang, daunnya tunggal yang menjari, buahnya berbentuk bulat memanjang dan menggantung pada batang, warnanya saat masih muda berwarna hijau dan saat matang berwarna kuning kemerahan. Buah papaya memiliki daging yang tebal dengan biji yang banyak dan berwarna hitam

bulat kecil. Tanaman yang kaya akan manfaat terutama bijinya yang digunakan sebagai obat (Oktofani, dan Jhons., 2019).

2.1.2 Klasifikasi

Taksonomi tanaman pepaya adalah sebagai berikut (Oktofani, dan Jhons., 2019) :

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Ordo	:	Brassicales
Famili	:	Caricaceae
Genus	:	Carica
Spesies	:	<i>Carica papaya</i> L.

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia dalam Tanaman Pepaya

Kandungan biji dalam buah pepaya kira-kira 14,3%. Kandungan berupa asam lemak tak jenuh yang tinggi, yaitu asam oleat dan palmitat. Selain mengandung asam-asam lemak, biji pepaya diketahui mengandung senyawa kimia lain seperti golongan fenol, alkaloid, terpenoid dan saponin. Zat-zat aktif yang terkandung dalam biji pepaya tersebut bisa berefek sitotoksik (Pangesti, dkk., 2013).

Biji pepaya mengandung protein kasar, minyak pepaya, karpain, benzilisothiosianat, benzilglukosinolat, glukotropakolin, benzilthiourea, caricin dan enzim myrosin. Beberapa senyawa diketahui memiliki kelarutan yang baik dalam air, senyawa tersebut adalah thiourea, karpain, karbohidrat dan protein (Kalsasin, 2014).

2.2 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi merupakan suatu metode yang bertujuan untuk memindahkan atau mengeluarkan suatu senyawa atau zat dari suatu medium ke medium yang lain, ekstraksi juga disebut dengan suatu proses untuk mendapatkan suatu zat dengan atau tidak menggunakan solvent dari zat tersebut (Day dkk., 1996). Faktor yang berpengaruh pada efisiensi proses ekstraksi antara lain pengadukan, jenis pelarut, waktu perendaman, ukuran partikel dan juga lama waktu yang digunakan dalam proses ekstraksi (Rosenthal, 1996).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik. Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik yaitu gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati akan mengalami getaran, getaran yang terjadi akan menimbulkan suatu gelembung yang dapat memecah dinding sel suatu tanaman, sehingga senyawa pada tanaman dapat terekstrak lebih banyak karena getaran yang diberikan pada proses ekstraksi mengakibatkan pengadukan yang intensif antara bahan dan pelarut, sehingga dapat mempercepat proses ekstraksi. Frekuensi dari ultrasonik yaitu antara 20 kHz – 500 MHz (Thompson,dkk , 1999). Beberapa keunggulan penggunaan teknologi ultrasonik yaitu tidak memerlukan biaya tinggi tidak memerlukan waktu yang lama, sehingga energi yang dikeluarkan tidak terlalu besar (Davis, 1983). Febrianto (2021) melakukan optimasi ekstrak ultrasonik pada biji pepaya didapat waktu terbaik yaitu pada menit ke 30 dan juga pelarut terbaik yaitu etanol : air : HCl.

2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi didefinisikan sebagai pemisah zat terlarut yang terdiri dari 2

fase atau lebih, Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan, kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (*adsorpsi*) (Hendayana, 2006).

Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah demikian juga peralatan yang digunakan. Dalam kromatografi lapis tipis, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dikatakan bahwa hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara cepat (Rohman, 2009). Pemilihan pelarut yang digunakan untuk senyawa yang akan dianalisis dengan metode KLT, harus dapat melarutkan analit dengan sempurna, mudah menguap, viskositas rendah, serta dapat membasahi lapisan penyerap (Sherma and Fried, 1996).

Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapisan tipis dapat menggunakan harga R_f (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, Nilai R_f dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. yaitu:

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga R_f berjangka antara 0,00 – 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Harga R_f dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan (Sastrohamidjojo,

1991). Penelitian Febrianto (2021) melakukan ekstraksi biji pepaya hawaii dengan KLT menggunakan eluen kloroform : metanol (85:15).

2.4. Validasi Metode KLT Biji Pepaya

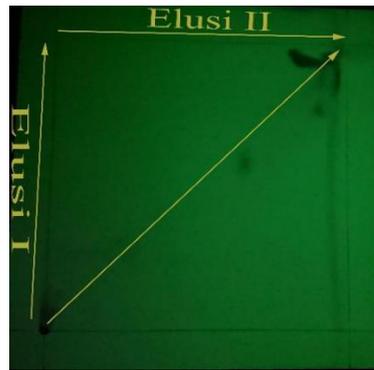
Validasi metode menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, *reproduksibel*, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Secara singkat, validasi merupakan konfirmasi bahwa metode analisis yang akan digunakan sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi persoalan analisis (Susanti dan Dachriyanus). Dari parameter parameter yang ada disusun, dikerjakan dan didokumentasikan kemudian dibandingkan dengan syarat kediterimaannya, jika telah memenuhi maka metode dinyatakan valid sebagai analisis mutu suatu produk tanaman obat.

2.4.1. Analisis Analit Selama Kromatografi (2 Dimensi)

Analisis analit selama kromatografi dilakukan menggunakan pengembangan dua dimensi, Pengembangan dua dimensi ditujukan untuk identifikasi senyawa dalam sampel multikomponen, pengembangan dua dimensi disebut juga pengembangan dua arah (Wulandari, 2011).

Larutan sampel diaplikasikan di titik sudut kiri bawah pelat 10x10 cm. Pelat dikembangkan dan dikeringkan sesuai dengan metode. Kemudian pelat diputar 90 derajat dan dikembangkan untuk kedua kalinya dengan kondisi yang sama. Sampel stabil selama kromatografi jika semua zona terletak pada diagonal yang

menghubungkan posisi awal aplikasi dengan perpotongan garis dua kedua fasa gerak. Setiap penyimpangan zona dari diagonal itu menunjukkan produk dekomposisi (Reich and Schibli, 2007).



Gambar 2.2 Analisis Analit Selama Kromatografi pada Biji Pepaya (Febrianto, 2021)

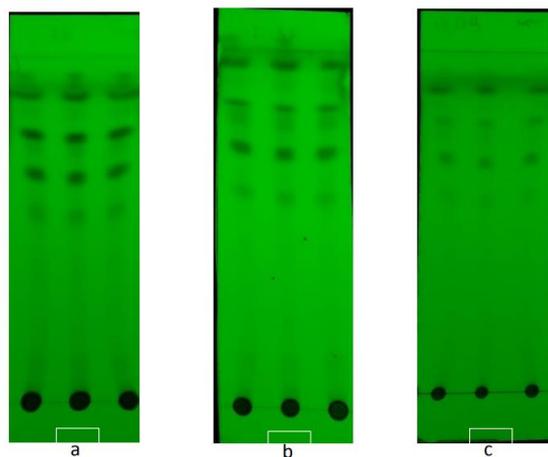
Gambar 2.2 adalah penelitian oleh Febrianto (2021) hasil analisis analit selama kromatografi pada biji pepaya menghasilkan hasil analit membentuk garis diagonal.

2.4.2 Analisis Metode Berdasarkan Waktu Penotolan

Analisis metode berdasarkan waktu penotolan bisa disebut juga analisis stabilitas pada plat. Analisis yang bertujuan melihat adanya pengaruh waktu penundaan sebelum diaplikasikan pada plat. adanya pengaruh faktor lingkungan seperti udara, debu, cahaya dan perubahan suhu bisa berpengaruh terhadap parameter, yang memungkinkan terjadinya penguapan senyawa sebelum dielusi dan berpengaruh terhadap posisi, jumlah, dan intensitas noda yang dihasilkan setelah pengelusian. maka dari itu dilakukan analisis waktu penotolan karena sampel yang digunakan harus stabil pada waktu tertentu dengan waktu sesuai

dengan kebutuhan atau untuk menunjukkan waktu yang cukup selama jangka waktu analisis yang sesuai dengan syarat kediterimaan. Reich and schibli (2006) menyatakan bahwa untuk syarat kediterimaannya yaitu tidak adanya spot yang menghilang atau mengalami penguapan, profil spot tiap plat yang identik atau tidak mengalami perubahan terkait dengan jumlah, letak, intensitas warna, dan nilai simpangan baku tidak lebih dari 0,02.

Analisis terhadap waktu penotolan ditunjukkan oleh penelitian Masruroh (2021) pada Daun Sirsak dengan variasi waktu 1,2 dan 3 jam, hasil terbaik didapat pada menit ke 1 jam. Hasil ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.3. Hasil Analisis berdasarkan waktu penotolan pada Daun Sirsak

Keterangan :

- a) Hasil analisis waktu penotolan (didiamkan 1 jam)
- b) Hasil analisis waktu penotolan (didiamkan 2 jam)
- c) Hasil analisis waktu penotolan (didiamkan 3 jam)

Berdasarkan Gambar 2.3 analisis plat KLT dapat dilihat bahwa nilai R_f stabil pada variasi 1 jam. Selain itu intensitas warna pada spot KLT stabil pada variasi 1 jam hal ini ditunjukkan. Pada variasi 2 hingga 3 jam sudah terdapat perubahan R_f pada dengan adanya beberapa spot yang hilang serta terdapat

perubahan intensitas warna pada spot KLT. Analisis senyawa pada plat juga ditunjukkan oleh Reich and Schibli (2006) yaitu analisis pada waktu penotolan daun jelatang dengan pendiaman 3 jam dan kurang dari 5 menit.



Gambar 2.4. Hasil Analisis berdasarkan waktu penotolan pada Daun Jelatang

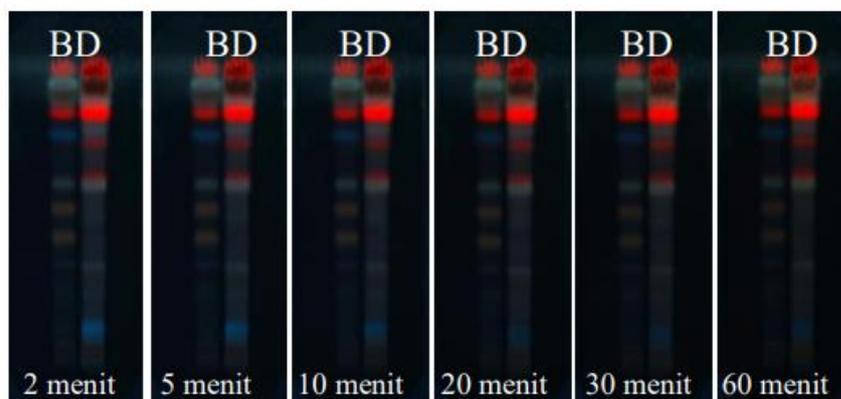
Gambar 2.4 Pada gambar (1) menunjukkan analisis senyawa pada plat dengan pendiaman 3 Jam, dan sampel pada Gambar (2) dengan pendiaman kurang dari 5 menit, hasil menunjukkan sampel tetap stabil pada pendiaman hingga 3 jam.

2.4.3 Analisis Metode Berdasarkan Pengamatan UV

Analisis metode pengamatan UV disebut juga analisis visualisasi, yang mana didiamkan setelah dilakukan elusi dengan rentang waktu tertentu (Anwar, 2011). Tujuan dari analisis pengamatan UV yaitu mengetahui ketahanan pola dan intensitas warna pada plat selama jeda waktu tunggu yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan kromatogram selama waktu tunggu. Analisis ini juga dapat diartikan sebagai pengukuran ketahanan dari suatu metode untuk tetap tidak terpengaruhi oleh adanya variasi parameter metode. adanya pengaruh faktor lingkungan terhadap waktu tunggu setelah dielusi memungkinkan juga terjadinya

penguapan senyawa yang berpengaruh terhadap ketahanan intensitas noda yang dihasilkan, maka dari itu dilakukannya analisis waktu pengamatan UV untuk melihat pengaruh ketahanan noda terhadap parameter yang diukur dibandingkan kondisi normal dan dibandingkan dengan syarat kediterimaannya. Reich and schibli (2006) menyatakan bahwa untuk syarat kediterimaannya yaitu tidak adanya spot yang menghilang atau mengalami penguapan, profil spot tiap plat yang identik atau tidak mengalami perubahan terkait dengan jumlah, letak, intensitas warna, dan nilai simpangan baku tidak lebih dari 0,02.

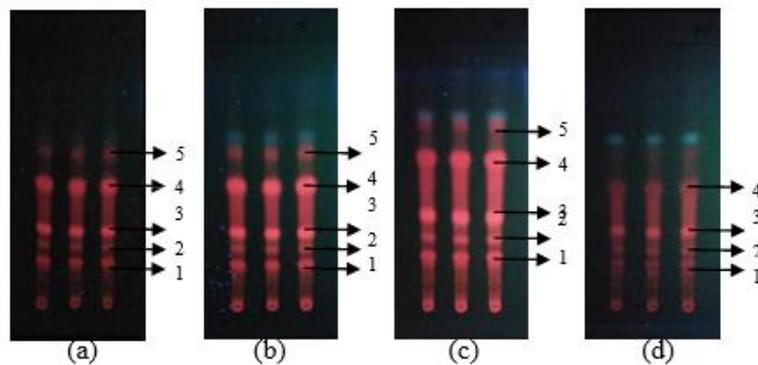
Analisis visualisasi ditunjukkan oleh penelitian Jannah (2016) dengan melakukan uji stabilitas visualisasi Ekstrak batang dan daun brotowali. Pengamatan dilakukan pada 2, 5, 10, 20, 30 menit, dan 60 menit. Hasil yang diperoleh stabil jika tidak terjadi perubahan yang signifikan pada pita selama 60 menit. Hasil pengamatan visualisasi ditampilkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Analisis visualisasi batang dan daun brotowali menggunakan sinar UV 366 nm dengan pereaksi asam sulfat.

Intensitas warna dari kromatogram yang dihasilkan sedikit berkurang dari waktu ke waktu, namun tidak terdapat pita yang hilang selama 60 menit. Hal ini mengindikasikan bahwa hasil setelah pewarnaan stabil selama 60 menit.

Pada penelitian Laila (2019) melakukan uji stabilitas visualisasi/pengamatan UV pada tanaman anting-anting dengan variasi waktu 0, 15, 30 dan 60 menit, hasil terbaik didapat pada menit ke 30 Hasil pengamatan stabilitas visualisasi ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Analisis visualisasi Tanaman Anting-Anting

Keterangan :

- a) Hasil analisis visualisasi dengan UV 366 nm (langsung)
- b) Hasil analisis visualisasi dengan UV 366 nm (didiamkan 15 menit setelah elusi)
- c) Hasil analisis visualisasi dengan UV 366 nm (didiamkan 30 menit setelah elusi)
- d) Hasil analisis visualisasi dengan UV 366 nm (didiamkan 60 menit setelah elusi)

Hasil tersebut menunjukkan bahwa analisis visualisasi (stabilitas setelah elusi) tidak stabil setelah 60 menit, terjadi penurunan intensitas warna spot dan terdapat spot yang hilang/ terjadi penguapan senyawa pada menit ke-60.

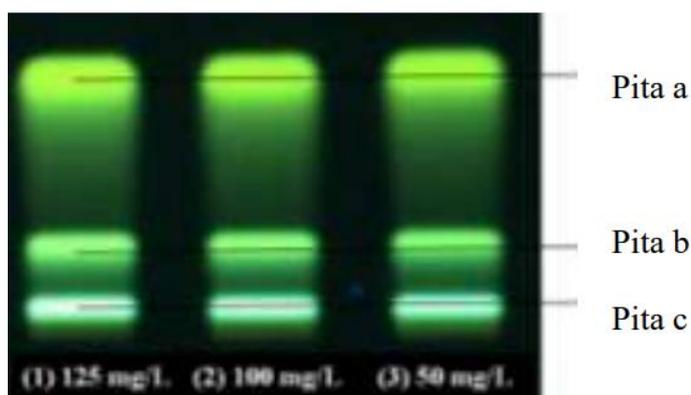
2.5 Pengolahan Plat KLT dengan *Image J*

Image J merupakan suatu piranti lunak yang dapat mengubah citra dari bentuk pita menjadi bentuk densitogram dan terkuantifikasi dengan baik. Selain itu, *Image J* juga mampu memperlihatkan besar kecilnya kandungan suatu komponen di dalam sampel dengan jelas. Semakin besar konsentrasi komponennya, semakin

tinggi puncak yang dihasilkan karena intensitas warna gambar yang semakin terang dan sebaliknya (Dewi, 2013).

Image J dapat menghitung area dan piksel dari suatu gambar, mengikuti jarak, sudut, membuat profil dari densitogram, dan garis kurva. Program ini didukung dengan pengatur gambar seperti pengatur ketajaman, kehalusan, kecerahan, warna, sudut dan penyaring dari gambar yang akan diolah, *ImageJ* membantu stacks (menganalisis, memproses, menyimpan, dan mencetak 8-bit, 16-bit, dan 32-bit gambar). Program ini dapat membaca gambar dalam berbagai format, seperti TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FTIS, dan gambar mentah.

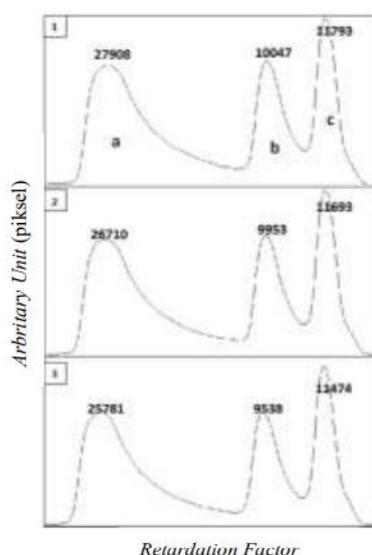
Penelitian sebelumnya yaitu oleh Fitriana (2011) yang berjudul diferensiasi temulawak, kunyit, dan bangle berdasarkan interpretasi kromatografi lapis tipis menggunakan *Image J*. Ada parameter yang penting dalam analisis menggunakan *Image J* yaitu penandaan pita yang berfungsi untuk memunculkan densitogram masing-masing komponen.



Gambar 2.7. Penandaan Pita Komponen

Nilai AUC dapat keluar secara otomatis dengan menekan daerah kurva yang ingin diketahui luasan areanya menggunakan icon “wand” yang terdapat pada toolbar

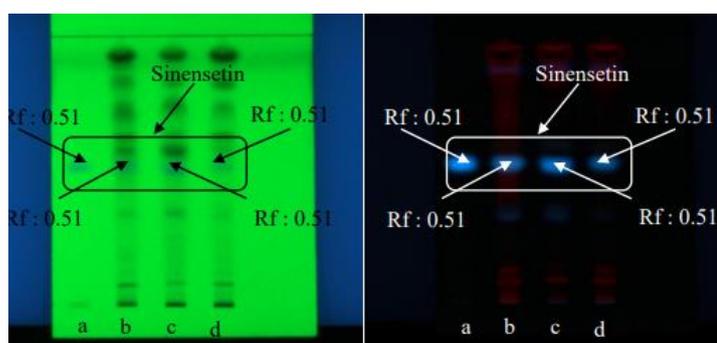
diketahui luasan areanya menggunakan icon “wand” yang terdapat pada toolbar *image J*. Nilai luasan area ini tergantung dari besarnya intensitas warna yang direfleksikan oleh gambar pita komponen pada pelat KLT.



Gambar 2.8. Densitogram dengan nilai area pada puncak dari masing-masing gambar pita komponen standar kurkumin.

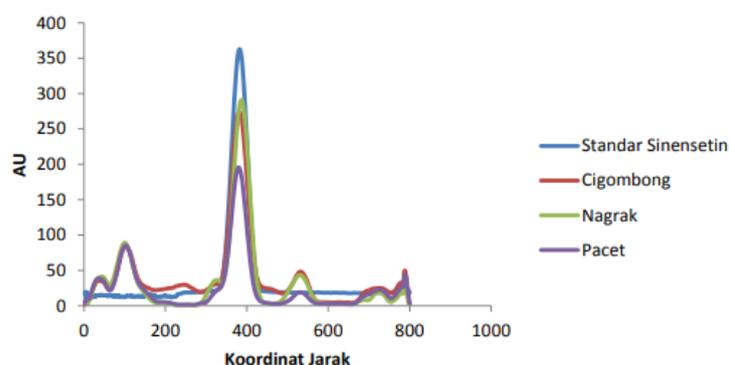
Hasilnya Puncak ganda dapat terbentuk pada densitogram dan cukup menyulitkan dalam penentuan *baseline*-nya, sehingga dapat berpengaruh pada nilai AUC yang dihasilkan. Hal ini dapat diakibatkan oleh adanya *tailing*/jejak elusi yang menyebabkan pembentukan puncak yang berekor, Pembentukan *tailing* dapat disebabkan oleh preparasi awal saat penotolan sampel pada pelat KLT. Penotolan sampel dengan jumlah yang terlalu banyak dapat menyebabkan konsentrasi komponen di dalamnya menjadi lebih besar sehingga cukup menyulitkan komponen tersebut untuk terelusi dan bergerak terpisah satu dengan yang lainnya. Oleh karena itu, komponen yang bergerak tidak seluruhnya terangkat dan meninggalkan jejak elusi.

Adapun penelitian Nuryani (2015) yang berjudul kendali mutu daun kumis kucing (*orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik hasilnya yaitu



Gambar 2.9. Noda sinensetin pada pelat KLT pada λ 254 nm dan 366 nm standar sinensetin (a), Cigombong (b), Nagrak (c), dan Pacet (d)

Pengolahan foto pelat KLT yang dipaparkan sinar UV 254 nm dan 366 nm menggunakan *image J* mengubah noda menjadi sebuah data dalam bentuk kromatogram. Dari kromatogram tersebut dapat dilihat pola dan intensitas noda pada pelat KLT. Noda dari 3 daerah ditunjukkan memiliki pola noda yang sama dengan menggunakan eluen kloroform-etil asetat.



Gambar 2.10. Kromatogram daun kumis kucing standar sinensetin (a), Cigombong (b), Nagrak (c), dan Pacet (d)

Hasil kromatogram ini juga dibuktikan dari nilai luas puncak hasil pengolahan *image J*, yang lebih tinggi pada daun kumis kucing daerah Nagrak. Berdasarkan hasil ini, mutu daun kumis kucing terbaik adalah dari daerah Nagrak. Hasil tersebut juga membuktikan bahwa secara kimia terdapat perbedaan mutu daun kumis kucing berdasarkan perbedaan daerah.

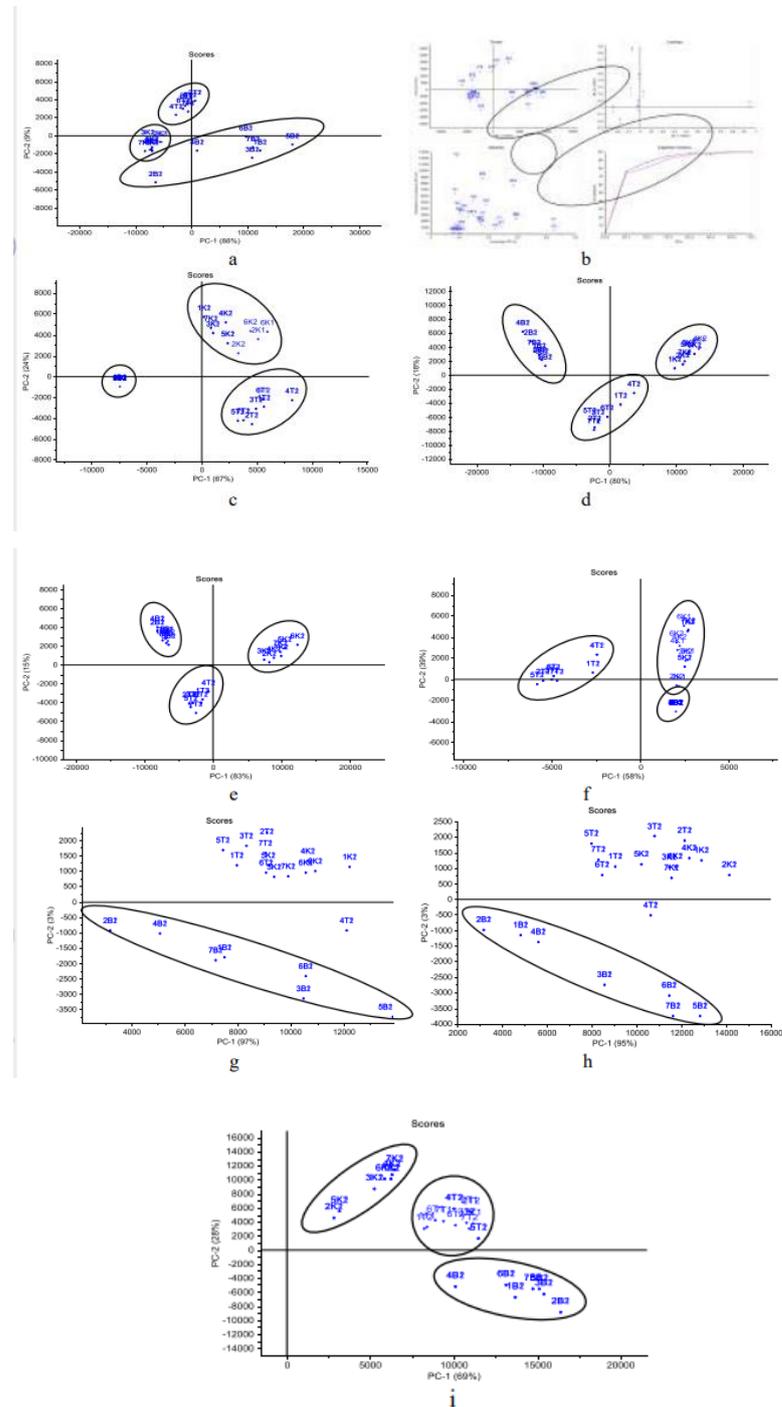
2.6. Uji Korelasi PCA

Principle component analysis (PCA) adalah salah satu fitur ekstraksi data multivariat yang banyak digunakan, ketika antar variabel terjadi korelasi. Metode PCA digunakan jika data yang ada memiliki jumlah variabel yang besar dan memiliki korelasi antar variabelnya komponen dari PCA dikarakterisasi dengan tiga bagian untuk melengkapi suatu data, yaitu (1) keragaman (*variance*) yang memaparkan berapa banyak informasi yang dapat digunakan pada PC, (2) *loading* yang memaparkan korelasi antara variable-variabel dalam setiap PC, dan (3) *scores* yang memaparkan sifat-sifat dari sampel (Ichzan, 2014).

PCA ini dapat mereduksi data yang berukuran besar menjadi komponen utama yang dapat mewakili struktur dan varians dalam data. Metode ini digunakan untuk melakukan pengenalan pola sehingga dapat mengelompokkan tanaman, walaupun data spektrum yang dihasilkan memiliki kemiripan. PCA memudahkan visualisasi pengelompokan data, evaluasi awal kesamaan antar kelompok atau kelas, dan menemukan faktor atau pola yang teramati melalui korelasi (Nuryani, 2015).

Penelitian sebelumnya yaitu oleh Fitriana, Suci A (2011) yang berjudul diferensiasi temulawak, kunyit, dan bangle berdasarkan interpretasi

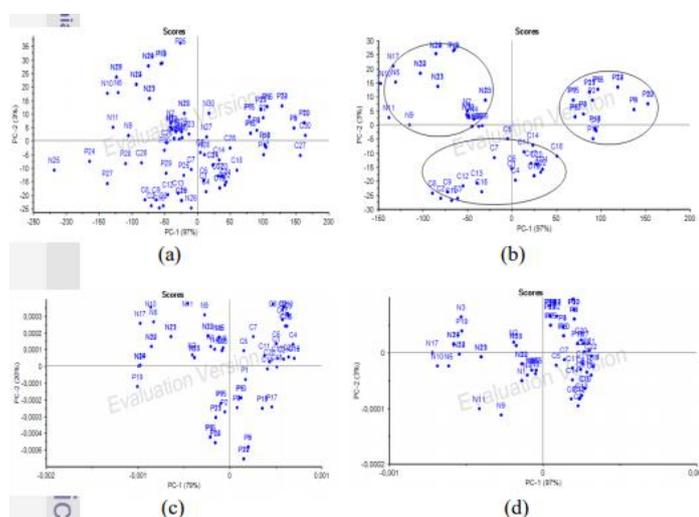
kromatografi lapis tipis menggunakan *image J*, hasil dari analisis PCA nya yaitu pada gambar 2.11.



Gambar 2.11. Score plot dua PC pertama dari nilai AUC temulawak, kunyit, dan bangle.

Hasil analisis PCA nya yaitu pengelompokkan terbaik untuk memisahkan tanaman temulawak, kunyit, dan bangle dimiliki oleh data nilai AUC dari densitogram pita KLT yang tanpa penyemprotan larutan pendeteksi pita komponen (Gambar d) dan data nilai AUC dari densitogram pita KLT dengan penyemprotan menggunakan larutan vanilina pada visualisasi sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm (Gambar e). Terlihat bahwa seluruh sampel pada masing-masing kelompok berada saling berdekatan. Kelompok tanaman dengan jenis yang sama berada saling berdekatan karena kemiripan sifat dan komposisi kimia yang dimilikinya.

Adapun penelitian Nuryani (2015) yang berjudul kendali mutu daun kumis kucing (*orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik, hasil analisis PCA nya yaitu



Gambar 2.12. Plot skor antara PC 1 dan PC 2 dengan perlakuan data asli (a), data asli dengan menghilangkan pencilan (b), *baseline*, *normalisasi*, *derivatif*, dan menghilangkan pencilan (c), dan *normalisasi*, *derivatif*, dan menghilangkan pencilan (d)

Hasil terbaik yaitu pada gambar B pada Plot skor pada Gambar 2.12 dengan perlakuan data asli dengan menghilangkan pencilan dapat memisahkan dan mengelompokkan sampel daun kumis kucing berdasarkan perbedaan daerah dengan baik yang mana sampel daun kumis kucing dari daerah yang sama mengelompok dan berdekatan karena memiliki kemiripan nilai reflektans.

2.7. Pepaya Sebagai Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Tumbuhan dan manusia itu sangat berkaitan erat dalam kehidupan. Banyak sekali manfaat yang didapatkan oleh manusia dari tumbuh-tumbuhan karena tumbuhan memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia. Manfaat tumbuhan sangat banyak diantaranya yaitu sebagai bahan makanan dan obat-obatan, hal ini menunjukkan bahwa segala apa yang tercipta ada manfaatnya dan itu semua merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah. seperti di dalam ayat al-Qur'an di jelaskan pada Surat an-Nahl ayat 11.

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

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

Ayat diatas mengandung makna bahwa Allah SWT telah menciptakan tumbuhan yang mempunyai manfaat begitu besar bagi manusia, salah satunya yaitu sebagai obat-obatan, yang mana hal itu merupakan anugerah dari Allah yang harus kita pelajari dan kita manfaatkan. Allah menciptakan beragam jenis buah yang

setiap buah memiliki khas tersendiri dari segi rasa, aroma meski tumbuh di tanah yang sama dengan air yang sama Allah menciptakan tanaman ini dan memperlihatkannya kepada manusia agar mereka mengambil hikmah dan mensyukurinya (Harun, 2004).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-November 2021 di Laboratorium Kimia Analitik 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, neraca analitik, pipet ukur, erlenmeyer, pipet tetes, bola hisap, corong gelas, kertas saring, batang pengaduk, *chamber*, spatula, oven, botol semprot, pipa kapiler, ekstraktor ultrasonik, kamera dslr 4000D, aplikasi orange.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji pepaya, etanol analis merk merck, air, HCl analis merk *merck*, aquades, plat KLT silika gel F254 merk *merck*, methanol analis merk *merck*, kloroform analis merk *merck*.

3.3 Rancangan Penelitian

Pertama diambil biji pepaya dicuci bersih dan dikeringanginkan serta dihaluskan, selanjutnya diayak dengan ayakan ukuran 90 *mesh*. Serbuk kasar kemudian dilakukan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut terbaik yaitu etanol : air : HCl selama 30 menit. Ekstraksi ultrasonik yang digunakan memiliki frekuensi

42 KHz pada suhu kamar. Hasil ekstraksi disaring dan filtratnya merupakan ekstrak kemudian dilakukan analisis menggunakan kromatografi lapis tipis dengan variasi waktu penotolan 0, 30, 60, dan 90 menit. Setelah dilakukan analisis variasi penotolan dipilih waktu yang terbaik, kemudian dilanjutkan dengan analisis pengamatan UV variasi waktu 0, 30, 60 dan 90 menit kemudian dilakukan pengolahan hasil spot KLT dengan aplikasi *image J* dan klasifikasi PCA menggunakan aplikasi orange.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel.
2. Ekstraksi menggunakan ultrasonik.
3. Analisis menggunakan kromatografi lapis tipis dengan variasi waktu penotolan 0, 30, 60 dan 90 menit dan pengamatan UV 0, 15, 30 dan 60 menit
4. Pengolahan plat KLT dengan *image J*
5. Klasifikasi Sampel Biji Pepaya dengan PCA

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Sebanyak 600gr sampel biji pepaya dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel, dicuci dengan air sampai bersih, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di rumah kaca. Sampel biji pepaya di haluskan sampai terbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 90 *mesh* hingga menghasilkan serbuk halus, kemudian serbuk disimpan dalam wadah plastik.

3.5.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik

Ekstraksi dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan cara diambil 1 gr serbuk, kemudian dilarutkan dalam pelarut etanol : air : HCl (89:10:1) dengan total 10 ml, sampel dimasukkan dalam botol kaca dan dilakukan ekstraksi ultrasonik selama 30 menit pada frekuensi 42 KHz pada suhu kamar.

3.5.3 Analisis Metode dengan Kromatografi Lapis Tipis

3.5.3.1 Persiapan Plat KLT

Plat silika Gel F254 sebagai fase diamnya dengan ukuran 10 x 10 cm yang dapat dipotong sesuai kebutuhan. Plat silika Gel F254 diberi garis tepi atas dengan jarak 1 cm untuk mengetahui batas akhir elusi dan batas tepi bawah dengan jarak 1 cm untuk menentukan titik awal penotolan, selanjutnya plat silika Gel F254 diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya.

3.5.3.2. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Sebelum dilakukan pengelusian, kloroform : metanol (85:15) dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu. Setiap campuran fase gerak dimasukkan ke dalam chamber, kemudian ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 60 menit. Penjenuhan dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

3.5.3.3. Analisis Analit Selama Kromatografi

Pelat 10 x 10 cm diberi garis dengan jarak 1 cm dari masing-masing tepi. Sebanyak 20 totolan ekstrak biji pepaya diaplikasikan sebagai bercak di bagian tepi

kiri bawah pelat (1 cm dari tiap tepi). pelat kemudian dikembangkan dalam chamber hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. setelah pengembangan, pelat diangkat dan dikeringkan. pelat kemudian diputar 90° ke kanan lalu dilakukan pengembangan yang kedua kalinya menggunakan fase gerak dengan komposisi sama namun baru disiapkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari garis awal. pelat lalu diamati dibawah sinar UV dan didokumentasi kemudian hitung *R_f*.

3.5.3.4. Analisis Metode Berdasarkan Variasi Waktu Penotolan

Waktu yang digunakan dalam analisis variasi waktu penotolan yaitu langsung 0, 30, 60, dan 90 menit. Pertama ekstrak ditotolkan sebanyak 20 totolan menggunakan pipa kapiler pada plat KLT, dikeringanginkan lalu dielusi. Kemudian ekstrak ditotolkan lagi sebanyak 20 totolan pada plat KLT dikeringanginkan, didiamkan selama 30 menit, didiamkan selama 60 menit, dan didiamkan selama 90 menit. Selanjutnya plat yang sudah didiamkan variasi waktu penotolan dilakukan pengelusian. Plat KLT dimasukkan dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, *chamber* ditutup rapat hingga fase geraknya mencapai jarak batas tepi atas plat dan terakhir plat diangkat, dikeringanginkan, hasil terbaik digunakan pada pengamatan UV.

3.5.3.5. Analisis Berdasarkan Variasi Waktu Pengamatan UV

Hasil variasi waktu penotolan yang stabil/ terbaik dilanjutkan dengan analisis pengamatan UV variasi waktu 0, 30, 60 dan 90 menit. Pertama ekstrak ditotolkan sebanyak 20 totolan pada plat, dikering anginkan, dielusi dan langsung

dilakukan pengamatan dibawah lampu UV 254 nm kemudian didiamkan selama 30 menit, didiamkan selama 60 menit, dan didiamkan selama 90 menit dibawah lampus sinar UV 254 selama waktu tunggu didokumentasikan, diamati perubahan intensitas warna, kemudian diamati noda noda dengan dan dihitung nilai *R_f*.

3.5.4. Pengolahan Plat KLT dengan *image J*

Gambar yang akan diolah dapat dibuka dengan menekan “*File*”, “*Open*”, dan dipilih gambar yang diinginkan. Nilai AUC ditentukan dengan menampilkan terlebih dahulu densitogram dari masing-masing gambar pita KLT. Tahap-tahap yang perlu dilakukan terlebih dahulu, yaitu penandaan gambar pita KLT yang akan diolah menggunakan icon berbentuk kotak (rectangular). Setelah itu, dipilih menu “*analyze*”, “*gels*”, dan “*select first line*”. Selanjutnya, dipilih kembali menu “*analyze*”, “*gels*”, dan “*plot lane*”, yang akan menampilkan kromatogram dari masing-masing gambar pita KLT sesuai intensitas warna yang diberikan.

3.5.5. Klasifikasi Sampel Biji Pepaya dengan PCA

Data dari *image J* yaitu nilai AUC masuk di Excel, kemudian buka aplikasi orange, tarik widget “*file*” kemudian klik 2 kali untuk membuka dan pilih file yang akan digunakan, tarik garis dari widget “*file*” dan pilih “*data table*” klik 2 kali untuk memastikan data sudah benar, tarik garis dari “*data table*” dan pilih “*PCA*” klik 2 kali untuk melihat PCA dan klik normalisasi kemudian tarik garis dari “*PCA*” dan pilih “*Score Plot*” klik 2 kali untuk melihat hasilnya.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

1. Hasil Profil senyawa aktif pada biji pepaya pada variasi waktu penotolan yaitu pada biji pepaya bogor hasil terbaik yaitu pada waktu tunggu hingga 60 menit dan pada biji pepaya magetan hasil terbaik hingga menit ke 60.
2. Hasil profil senyawa aktif pada biji pepaya pada variasi waktu pengamatan UV yaitu pada biji pepaya bogor hasil terbaik yaitu pada waktu tunggu hingga 60 menit dan pada biji pepaya magetan hasil terbaik hingga menit ke 60.
3. Hasil dari pengolahan hasil KLT menggunakan aplikasi imageJ yaitu nilai AUC, pada variasi waktu penotolan pada biji pepaya bogor dan biji pepaya magetan nilai AUC stabil hingga menit ke 60 dan mengalami penurunan pada menit ke 90, begitu juga pada variasi waktu pengamatan UV nilai AUC pada biji pepaya bogor dan biji pepaya magetan stabil hingga menit ke 60 dan mengalami penurunan pada menit ke 90 sehingga pengaruh waktu penotolan dan pengamatan UV yaitu ketika intensitas warna pada KLT berkurang maka nilai AUCnya juga akan menurun.
4. Hasil analisis dengan PCA menggunakan aplikasi orange yaitu pada variasi penotolan sampel biji Bogor terdapat 3 pengelompokan, pada biji pepaya Magetan 3 pengelompokan, dan pada variasi waktu pengamatan UV pada sampel biji pepaya Bogor memiliki 3 pada biji pepaya magetan memiliki 4 pengelompokan. Setiap pengelompokan menunjukkan bahwa adanya kedekatan atau persamaan nilai.

5.2. Saran

1. Pengujian untuk KLT pada penelitian ini perlu menggunakan KLT densitometer untuk mengurangi tailling/berekor selain itu bisa juga dengan menggunakan chamber dengan penanganan otomatis sehingga mengurangi naik turunnya nilai Rf pada pengulangan dan juga TLC Scanner untuk mengetahui nilai AUC nya langsung sehingga hasilnya lebih valid.
2. Penelitian lanjutan yaitu perlu dilakukannya analisis sidik jari meliputi uji spesifitas, uji ketegaran bejana, uji ketegaran jarak pengembangan dll.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, H. 2011. Pola Sidik Jari Kromatogram KLT untuk Identifikasi Keragaman Kualitas Jahe Merah. *Skripsi*. IPB
- Chew KK, Khoo MZ, Mg SY, Thoo YY, Wan Aida, WM, Ho CW. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of orthosiphon stamineus extracts. *Int. Food Res. J.* 18 (4): 1472-14435
- Davis, William S. 1983. *Systems Analysis and Design : A Structured Approach*. Addison-Wesley Publishing Company.
- Day, J. R. A. dan A. L. Underwood. 1996. Analisis Kimia Kuantitatif. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1995b, *Farmakope Indonesia*, edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, pp.735-737.
- Dewi, Resvina. 2013. Bioaktivitas Buah Kawista (*Limonia Acidissima*) Bima Dan Penentuan Sidik Jarinya Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*
- Effendi, A. 2016. Analisis Sidik Jari dan Autografi Antioksidan Meniran Hijau (*Phyllanthus Niruri*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. IPB
- Fatimah, Nurul. 2018. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Daun Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga*). *Skripsi*. IPB
- Febrianto, Mochammad Rizqy. 2021. Profil Senyawa Aktif Pada Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Didasarkan Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Ultrasonik pada Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*
- Fitrianti, Suci A. 2011. Diferensiasi Temulawak, Kunyit, Dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan Image J. *Skripsi*
- Hartuti, Sri dan Muhammad Dani Supardan. 2013. Optimasi Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Untuk Produksi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Menggunakan Response Surface Methodology (Rsm). *AGRITECH*, 33(4).
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hendro M.G., Adji T.B., Setiawan, N.A. 2012. Penggunaan Metodologi Analisa Komponen Utama (PCA) untuk Mereduksi Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Penyakit Jantung Koroner.

- Ichzan, A.M. 2014. Pemprofilan Kandungan Metabolit Sekunder Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa dan Kemometrik. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Jannah, Miftahul. 2016. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Batang Dan Daun Brotowali. *Skripsi*.
- Kalsasin, Deriva Dwi. 2014. Pemanfaatan Perasan Biji Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Mencegah Infestasi Argulus Pada Ikan Maskoki (*Carassius auratus*). *Skripsi*. Universitas Airlangga.
- Kumalasari, Rani. 2019. Stabilitas Alkaloid Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting Anting (*Acalypha indica L.*) Secara Kromatografi Lapis Tipis Berdasarkan Waktu Pengamatan UV dan Kelembaban.
- Kunarto, Bambang., dkk. 2019. Optimasi Ekstraksi Berbantu Gelombang Ultrasonik pada Biji Melinjo Kerikil (*Gnetum gnemon L.*, 'Kerikil') Menggunakan Response Surface Methodology. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 8 (3).
- Kunle OF, Egharevba HO, Ahmadu PO. 2012. Standardization of herbal medicine a review. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 4(3):101-112
- Laila, Kholifatul. 2019. Stabilitas Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting Hasil Ekstraksi Ultrasonik Secara KLT Variasi Waktu Penotolan dan Pengamatan UV. *Skripsi*
- Lesty, Wulandari. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember : PT. Taman Kampus Presindo.
- Martiasih, dkk., Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Streptococcus Pyogenes*. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Martono, Yohannes., dkk. Analisis Sidik Jari Kromatogram Stevia Rebaudiana Secara Hierachial Cluster Analysis (Hca) Dan Principal Component Analysis (Pca). *Traditional Medicine Journal*. Vol. 21(1)
- Masruroh, Reza. 2021. Uji Kestabilan Senyawa Asetogenin dalam Plat Silika dan Ekstrak Kasar berdasarkan Ekstraksi Ultrasonik pada Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*)
- Miller JC, Miller JN. 2000. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Ed ke-4 Harlow:Pearson education.
- Ninik, dkk., 2018. Uji Aktivitas Antikanker Biji Pepaya (*Carica Papaya Semen L*) Pada Hewan Coba Mencit Dengan Carcinoma Mamae. *LPPM. UNESA*

- Nuryani, 2015. Kendali Mutu Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus*) Menggunakan Pengolahan Citra Dan Teknik Pengenalan Pola Secara Kemometrik. *Skripsi*
- Oktaviantari D E, dkk., 2019. Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemutih Pembersihwajah Pada Tiga Klinik Kecantikan Di Bandar Lampung Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri Uv-Vis. *JURNAL ANALIS FARMASI*. Volume 4, No. 2
- Oktofani, L A dan Jhons F S. 2019. Potensi Tanaman Pepaya (*Carica Papaya*) sebagai Antihelminik. *Majority*. Volume. 8, Nomor. 1
- Pangesti, dkk., 2013. "Sweet Papaya Seed Candy" Antibacterial *Escherichia Coli* Candy With Papaya Seed (*Carica Papaya L.*). *PELITA*, Volume VIII, Nomor 2.
- Reich E, Schibli A, 2006. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medical Plants*. New York (US):Thieme
- Reich E, Schibli A, 2008. Validation of high-performance thin layer chromatographic methods for the identification of botanical in a cGMP environment. *J. AOAC International* 91:13-19
- Rohman, 2009, *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Rohman, A. 2014. *Statistika dan Kemometrika Dasar dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rosenthal, A., D. L. Pyle, dan K. Niranjan. 1996. *Aqueous and Enzymatic Processes for Edible Oil Extraction*. New York: University of Reading.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Septiani, R. 2012. Pemprofilan Metabolit Rimpang Temulawak Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sherma, J., and, Fried B., 1996, *Handbook of Thin Layer Chromatography*, 2nd Edition. Marcel Dekker.
- Sukrisna A, 2018. Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Sebagai Biopestisida Hama Ulat Pada Tanaman Sawi Hijau (*Brassica Juncea L.*)
- Stahis, D., Myron, D. 2009. Principal Component Analysis of Precipitation in Thessaly Region (*Central Greece*). *Global NEST Journal*. 11 (4): 467-476.

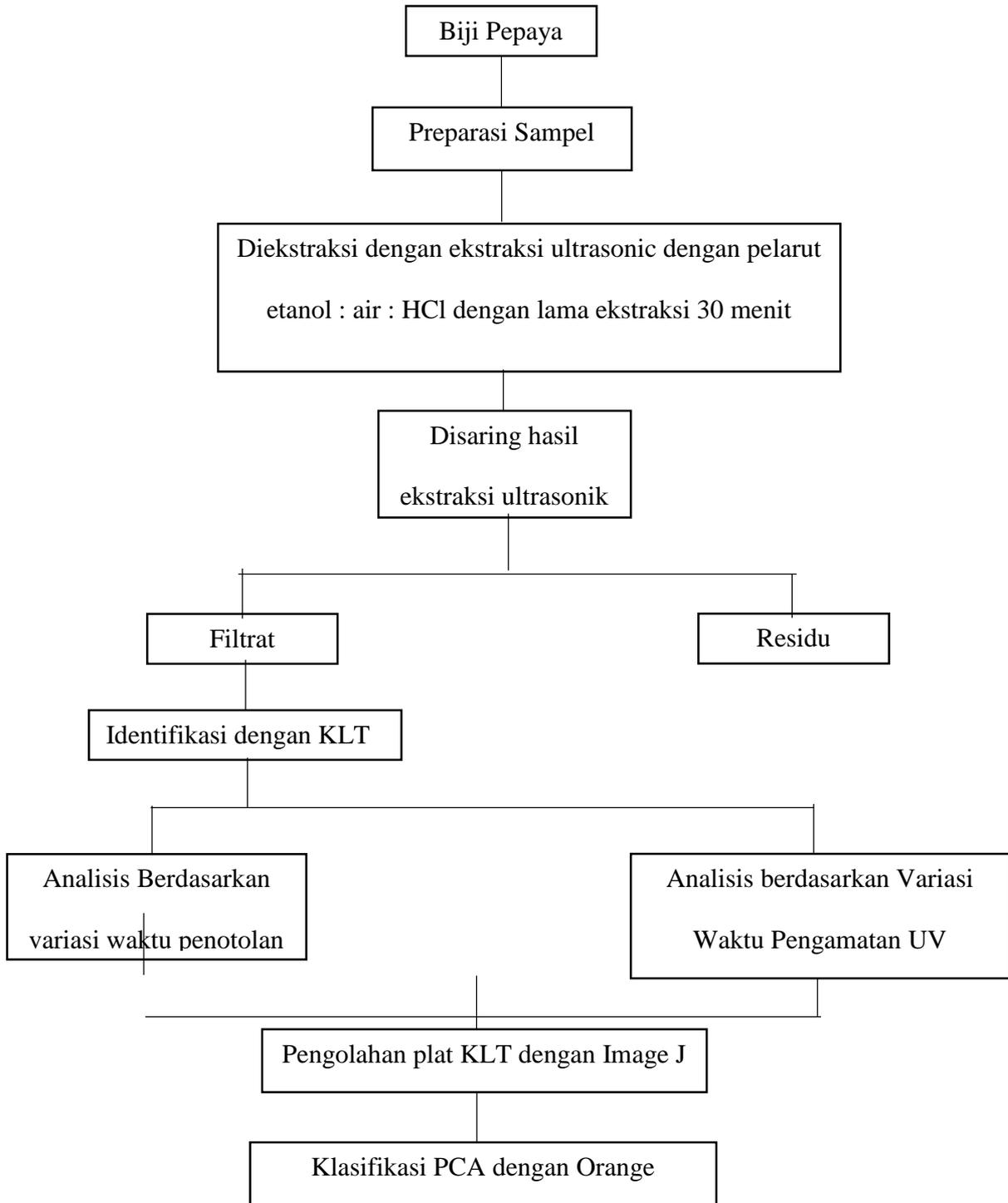
Thompson, dkk., 1999. Sonochemistry : Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 38 : 1215-1249

Trivana, L dan Steivie K., 2015. Identifikasi Komponen Hasil Hidrolisis VCO dengan Kromatografi Lapis Tipis. *B. Palma*. Vol. 16, No. 2

LAMPIRAN

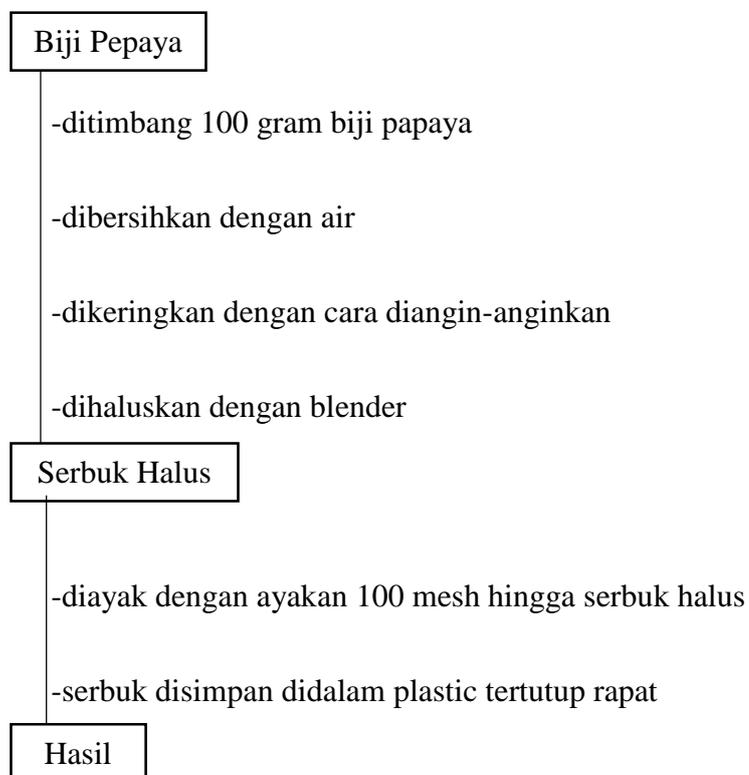
Lampiran 1. Rancangan Penelitian

1.1. Rancangan Penelitian

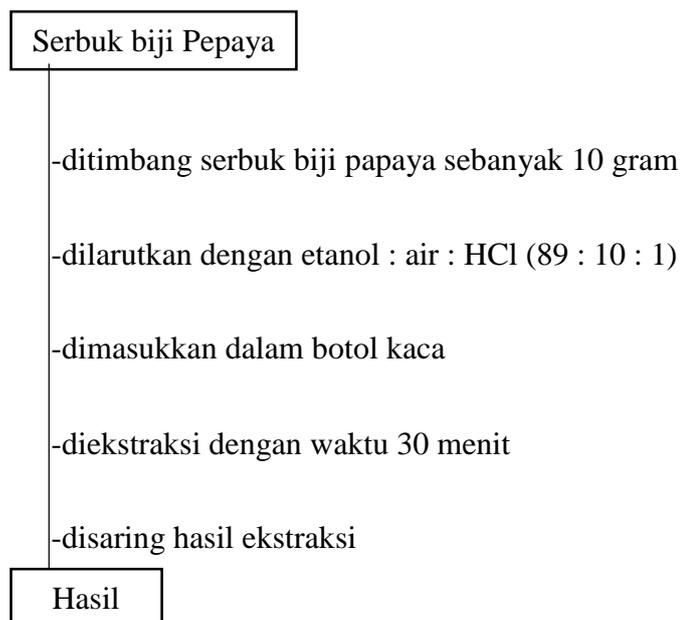


Lampiran 2. Diagram Alir

2.4 Preparasi Sampel

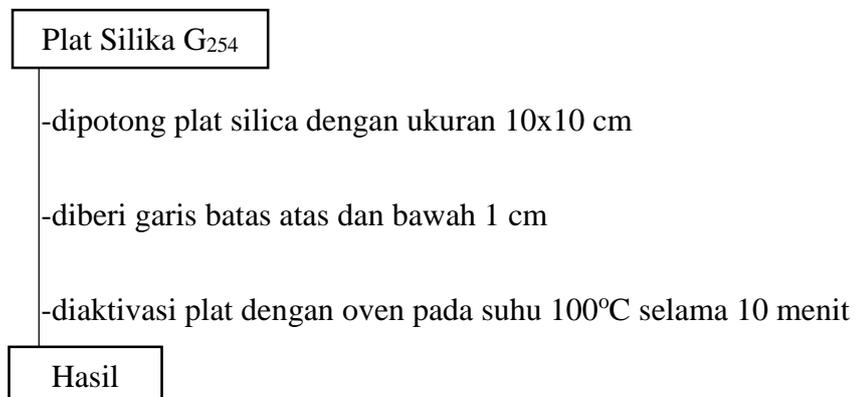


2.2. Ekstraksi dengan Ultrasonik

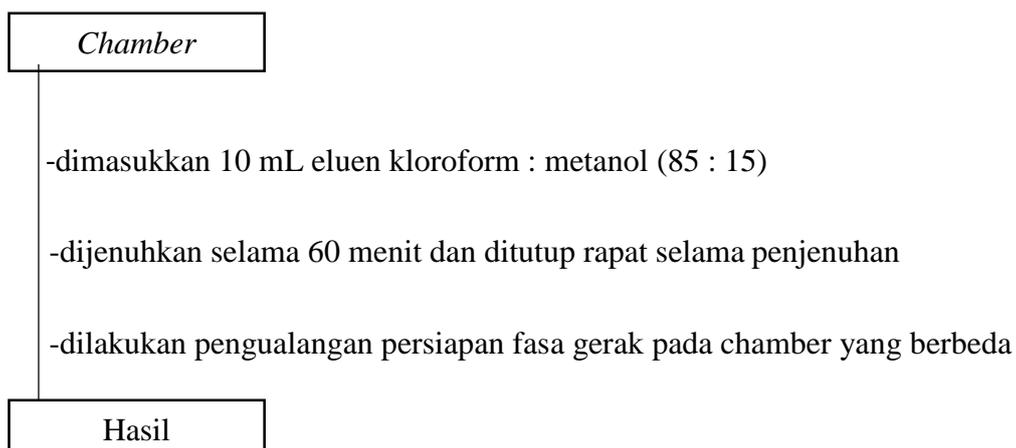


2.3. Stabilitas Analit Selama Kromatografi Lapis Tipis

2.3.1. Persiapan Plat KLT



2.3.2. Persiapan Fasa Gerak (Eluen)



2.3.3. Proses Elusi

Ekstrak Kasar

- ditotolkan Ekstrak sebanyak 20 totol tepi kiri bawah pelat tersebut
- dimasukkan plat ke dalam bejana pengembang yang berisi eluen
- ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak
- diangkat dan keringanginkan pelat kemudian Didokumentasi sebelum dan sesudah
- diputar 90° pelat kekiri kemudian dilakukan pengembangan untuk kedua kalinya menggunakan fase gerak dengan komposisi sama namun dengan kondisi baru disiapkan
- ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak
- diangkat dan keringanginkan pelat
- didokumentasikan sebelum dan sesudah
- diamati dibawah sinar UV 366 nm dan dihitung Rf

Hasil

2.3.4. Analisis Berdasarkan Variasi Waktu Penotolan

Ekstrak Kasar

- ditotolkan sebanyak 20 totol pada plat KLT
- didiamkan dengan variasi waktu penotolan 0, 30, 60 dan 90 menit
- dielusi dengan eluen
- dihentikan elusi jika eluen telah mencapai garis batas atas
- dikeringanginkan
- hasil yang stabil dilanjutkan dengan variasi pengamatan UV

Hasil

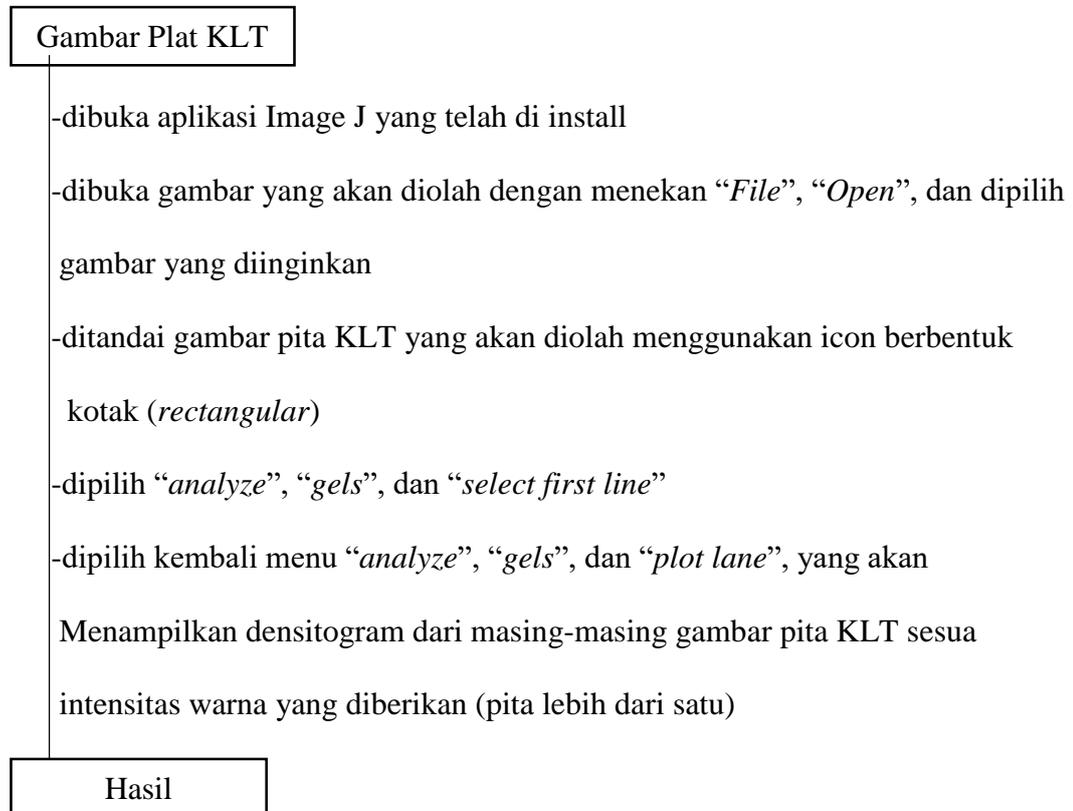
2.3.5. Analisis Berdasarkan Waktu Pengamatan UV

Sampel Stabil Hasil Penotolan

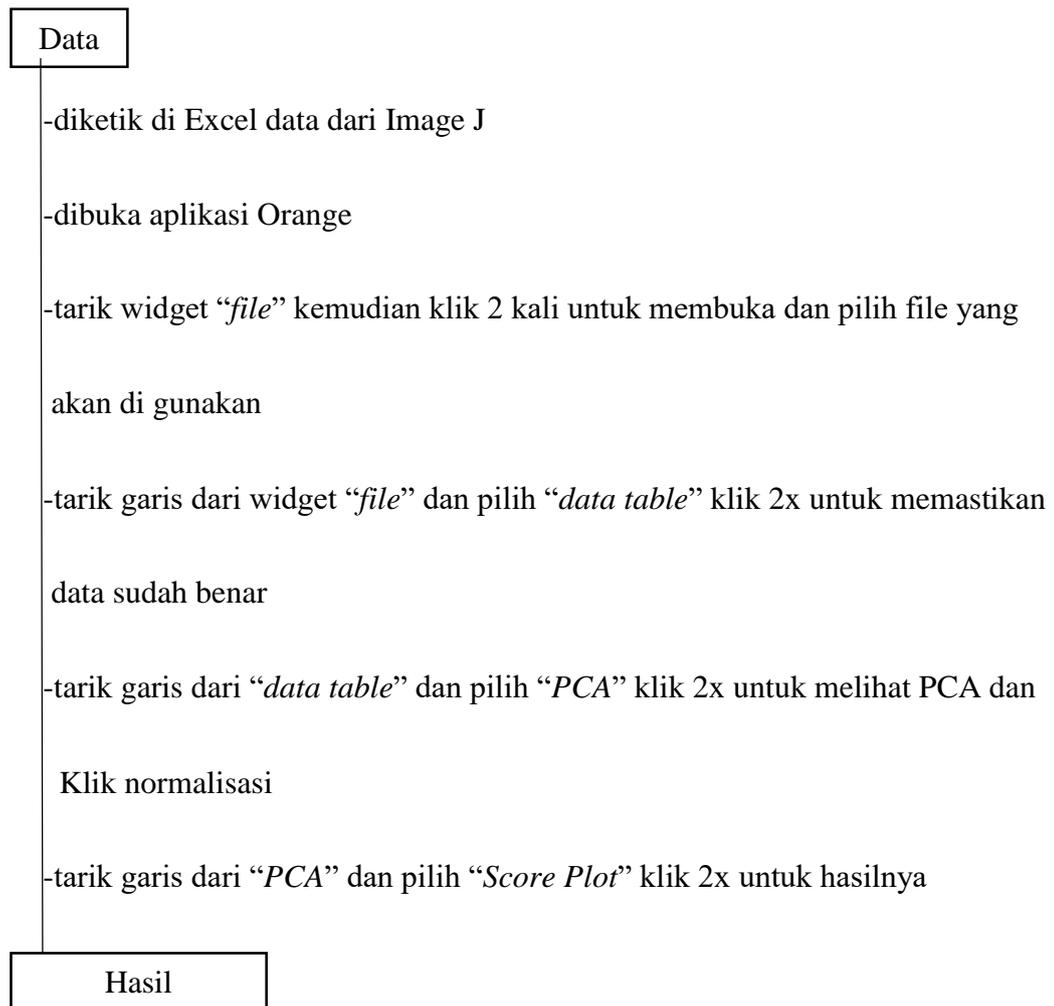
- didiamkan plat dengan variasi pengamatan UV 0, 30, 60 dan 90 menit
- diamati dibawah lampu UV 366 nm
- diamati perubahan intensitas warna
- ditandai noda yang tampak menggunakan pensil
- diukur jarak tempuh setiap noda
- dihitung nilai Rf pada masing-masing noda.

Hasil

2.4. Pengolahan plat KLT menggunakan Image J



2.5. Analisis Korelasi dengan PCA



Lampiran 3. Perhitungan Pelarut

3.1. Pembuatan Larutan Ekstraksi Etanol : Air : HCl (89 : 10 : 1)

$$\text{Etanol} : \frac{89}{100} \times 10 \text{ ml} = 8,9 \text{ ml}$$

$$\text{Air} : \frac{10}{100} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{HCl} : \frac{1}{100} \times 10 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

3.2 Pembuatan Larutan Pengembang

$$\text{Kloroform} : \frac{8,5}{10} \times 10 \text{ ml} = 8,5 \text{ ml}$$

$$\text{Metanol} : \frac{1,5}{10} \times 10 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$