

**ANALISIS SIDIK JARI DAUN ANTING-ANTING (*Acalypha Indica* L.)
MENGUNAKAN KLT BERDASARKAN PERBEDAAN GEOGRAFIS
KETINGGIAN PENGAMBILAN SAMPEL DI JAWA TIMUR**

SKRIPSI

**Oleh:
SULTONI
NIM. 18630091**



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

**ANALISIS SIDIK JARI DAUN ANTING-ANTING (*Acalypha Indica* L.)
MENGUNAKAN KLT BERDASARKAN PERBEDAAN GEOGRAFIS
KETINGGIAN PENGAMBILAN SAMPEL DI JAWA TIMUR**

SKRIPSI

**Oleh:
SULTONI
NIM. 18630091**

**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
2022**

**ANALISIS SIDIK JARI DAUN ANTING-ANTING (*Acalypha Indica* L.)
MENGUNAKAN KLT BERDASARKAN PERBEDAAN GEOGRAFIS
KETINGGIAN PENGAMBILAN SAMPEL DI JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:
SULTONI
NIM. 18630091

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 03 November 2022

Pembimbing I


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19730620 200604 2 002

Pembimbing II


Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 201903 2 009

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Rachmawati Wahid, M.Si
NIP. 19810814 200801 2 010

**ANALISIS SIDIK JARI DAUN ANTING-ANTING (*Acalypha Indica* L.)
MENGUNAKAN KLT BERDASARKAN PERBEDAAN GEOGRAFIS
KETINGGIAN PENGAMBILAN SAMPEL DI JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:
SULTONI
NIM. 18630091

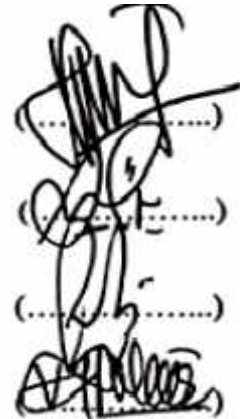
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 01 Desember 2022**

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

Ketua Penguji : Armeida Dwi Ridhowati Madjid, M.Si
NIP. 19890527 201903 2 016

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

Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 201903 2 009



Mengetahui,
Ketua Program Studi

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sultoni
NIM : 18630091
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia
Judul Penelitian : “Analisis Sidik Jari Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Menggunakan KLT Berdasarkan Perbedaan Geografis Ketinggian Pengambilan Sampel di Jawa Timur”

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

Malang, 12 Desember 2022
Yang Membuat Pernyataan



Sultoni
NIM. 18630091

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil‘alamin, dengan rasa syukur kepada Allah SWT penulis akhirnya telah menyelesaikan penulisan skripsi ini. Tanpa izin dan ridhonya, serta dukungan dari orang-orang sekitar, penulis tidak akan mampu menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan baik. Oleh sebab itu, penulis ingin mempersembahkan tulisan ini untuk :

1. Kedua orang tua, Bapak Sarman dan Ibu Dewi Rinata, kakek dan nenek serta adik yang selalu memberikan dukungan berupa tenaga, pikiran dan kasih sayang yang tak terhingga. Doa keluarga disetiap sujudnya yang menjadi sandaran dalam setiap langkah dan kesuksesan yang diraih penulis.
2. Ustadz Lathif dan semua guru mengaji dipondok pesantren Sulus yang ilmunya selalu melekat dan bermanfaat selama penulis menjalani pendidikannya.
3. Ibu Tik Ratna Arifah, S.Si dan semua guru TK Nawakartika, SDN Soco 1, MTsN 2 Paron, dan MAN 2 Ngawi yang telah mengajarkan ilmu dan memotivasi penulis untuk mengejar cita-cita dan impiannya.
4. Perangkat dan masyarakat desa Soco, desa Prambon, dan desa Bulu Sukomoro yang telah berkontribusi dalam kebutuhan perkuliahan, yang telah banyak membina penulis dalam hal kemasyarakatan dan kepedulian sosial.
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membimbing dan menyalurkan ilmunya. Khususnya ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, ibu Nur Aini, M.Si, dan ibu Anik Maunatin, M.P yang telah memberikan motivasi, arahan, dan bimbingan selama pelaksanaan penelitian.
6. Seluruh teman-teman SD, 3rd Akselerasi, Remason, dan Kimia angkatan 2018 (Krypton) yang telah menjadi bagian dalam perjuangan selama menjalani pendidikan.
7. Asatidz dan asatidzah Mushollah dan TPQ Nurul Huda beserta murid-murid TPQ dan masyarakat Jl.MT. Haryono Gg.VIC yang telah memberikan masukan dan pandangan tentang arti sebuah perjuangan.

MOTTO

وَلِكُلِّ وَّجْهَةٍ هُوَ مُوَلِّئُهَا فَاسْتَبِقُوا قِبَلَهَا ۚ إِنَّهَا يَوْمَئِذٍ تَكُونُ لِكُلِّ أُمَّةٍ مَّوْجِدًا وَمَا يَتَّبِعُهَا إِلَّا أَجْرٌ وَكَافٌ مُّكْرَمٌ
إِنَّ لِلَّهِ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ (البقرة : ١٤٨)

Artinya: “Dan setiap umat mempunyai kiblat yang dia menghadap kepadanya. Maka berlomba-lombalah kamu dalam kebaikan. Di mana saja kamu berada, pasti Allah akan mengumpulkan kamu semuanya. Sungguh, Allah Mahakuasa atas segala sesuatu”(QS. Al-Baqarah (2): 148).

“Kita tidak harus menjadi yang terbaik, tetapi kita harus berusaha menjadi yang terbaik”

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah robbil a'lamin, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah dan nikmat islam, iman, kesehatan, dan kecerdasan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “**Analisis Sidik Jari Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Menggunakan KLT Berdasarkan Perbedaan Geografis Ketinggian Pengambilan Sampel di Jawa Timur**”. Sholawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing umatnya dari masa kebodohan menuju masa yang terang benerang yaitu dengan memberikan suri tauladan yang baik berupa nilai-nilai kehidupan. Semoga kita termasuk umat yang mendapatkan syafa'atnya dihari kiamah. Amin.

Proses penulisan skripsi ini merupakan hasil bimbingan, motivasi, nasihat dan do'a dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak, Ibu, adik, dan seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan, perhatian, motivasi, dan do'a dalam penyelesaian penulisan skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan juga pengarahan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini
6. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Seluruh Laboran Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Segenap rekan-rekan seperjuangan Kimia, khususnya Angkatan 2018 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh pihak yang berkontribusi dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat penulis tuliskan satu-persatu.

Bersama dengan harapan, tujuan dan do'a semoga apa yang telah mereka berikan kepada penulis, mendapatkan balasan terbaik dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun akan penulis terima demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar besarnya bagi kita semua dan bagi generasi mendatang. Amiin.

Malang, 20 November 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	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
.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TIJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tumbuhan Anting-Anting	8
2.1.1 Morfologi Tumbuhan Anting-Anting	8
2.1.2 Klasifikasi Tumbuhan Anting-Anting	9
2.1.3 Kandungan Tumbuhan Anting-Anting	10
2.2 Senyawa Metabolit	11
2.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Daun Tumbuhan Anting-Anting	12
2.4 Teknik Metabolomik	14
2.5 Metode Kromatografi Lapis Tipis	15
2.6 <i>Preprocessing</i> Kromatogram Menggunakan <i>Image J</i>	17
2.7 Analisis Multivariat Metode PCA	18
2.8 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam	21
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Rancangan Penelitian	24
3.4 Tahapan Penelitian	24
3.5 Cara Kerja	25
3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Daun Tumbuhan Anting-anting	25
3.5.2 Penetapan Kadar Air Daun Anting-Anting	25

3.5.3 Ekstraksi Daun Anting-Anting Metode Ultrasonik	26
3.5.4 Pemisahan Senyawa Metabolit Menggunakan KLT	26
3.5.5 <i>Preprocessing</i> Kromatogram Menggunakan <i>Image J</i>	27
3.5.5.1 Membuat Kurva Densitogram	27
3.5.5.2 Menentukan Luas Area Puncak Densitogram	28
3.5.6 Analisis Statistik Multivariat PCA	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel	29
4.2 Analisis Kadar Air	30
4.3 Ekstraksi Ultrasonik Daun Anting-anting	30
4.4 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan KLT	31
4.5 Pengolahan Data Menggunakan <i>Image J</i> dan <i>Orange</i>	34
4.6 Analisis Multivariat PCA Menggunakan Orange	38
4.7 Integrasi Hasil Penelitian dengan Perspektif Al-Quran	42
BAB V PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Rendemen Hasil Ekstraksi Daun <i>Acalypha indica</i> L.	13
Tabel 4.1	Data Pengambilan Sampel Daun Anting-anting	29
Tabel 4.2	Hasil Analisis Kadar Air Serbuk Daun Anting-anting	30
Tabel 4.3	Data Nilai R_f dan Simpangan baku (SD)	33
Tabel 4.4	Data Hasil Analisis Rata-rata Nilai AUC	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tumbuhan Anting-Anting (<i>Acalypha indica</i> L.)	10
Gambar 2.2	Interpretasi Densitogram Menggunakan <i>Image J</i>	20
Gambar 2.3	Plot Hasil Analisis Diskriminan <i>P.niruri</i>	22
Gambar 4.1	Filtrat Hasil Ekstrak Daun <i>Acalypha indica</i> L.	31
Gambar 4.2	Pola Pemisahan Sidik Jari KLT	32
Gambar 4.3	Densitogram Hasil Pengolahan data dengan <i>Image J</i>	35
Gambar 4.4	Densitogram Hasil <i>Preprocessing</i> dengan <i>Orange 3.32</i>	36
Gambar 4.5	Score Plot Analisis PCA Daun <i>Acalypha indica</i> L.	39
Gambar 4.6	Linier Projection Analisis PCA <i>Acalypha indica</i> L.	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Rancangan Penelitian	57
Lampiran 2	Diagram Alir	58
	L.2.1 Preparasi Sampel	58
	L.2.2 Analisis Kadar Air	58
	L.2.3 Ekstraksi Ultrasonik Daun Anting-Anting	59
	L.2.4 Pemisahan Senyawa Menggunakan KLT	59
	L.2.5 Pengolahan Kromatogram Menggunakan <i>Image J</i>	60
	L.2.5.1 Pengolahan Kromatogram Menjadi Densitogram	60
	L.2.5.2 Penentuan Luas Area Puncak Densitogram.....	60
	L.2.6 Analisis Multivariat Menggunakan Metode PCA	61
Lampiran 3	Dokumentasi Penelitian	69
	L.3.1 Preparasi Sampel	69
	L.3.2 Analisis Kadar Air	69
	L.3.3 Ekstraksi Ultrasonik.....	69
	L.3.4 Pemisahan Menggunakan KLT	70
	L.3.5 <i>Processing</i> dengan <i>Image J</i>	70
	L.3.6 Analisis Multivariat PCA dengan <i>Orange 3.32</i>	72

ABSTRAK

Sultoni. 2022. **Analisis Sidik Jari Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Menggunakan KLT Berdasarkan Perbedaan Geografis Ketinggian Pengambilan Sampel di Jawa Timur**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing I : Elok Kamilah Hayati, M.Si

Pembimbing II : Nur Aini, M.Si

Kata kunci: *Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.), analisis sidik jari, kromatografi lapis tipis, kendali mutu, analisis multivariat PCA*

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) merupakan tumbuhan herbal dengan kandungan senyawa aktif yang melimpah dengan tipe dan kadar yang berbeda antar daerahnya, sehingga diperlukan suatu proses kendali mutu untuk mengontrol kualitas senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting dari daerah Malang, Ngawi, dan Banyuwangi melalui analisis sidik jari kromatografi yang diintegrasikan dengan metode kemometrik *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengetahui pengelompokan senyawa aktif tumbuhan anting-anting.

Ekstraksi daun anting-anting dilakukan dengan metode sonikasi berfrekuensi 42 kHz selama 20 menit menggunakan pelarut etil asetat. Pemisahan dilakukan menggunakan pelat KLT G₆₀F₂₅₄ dengan fase gerak sikloheksana : toluena : dietilamina (75:15:10). Pelat KLT divisualisasi menggunakan lampu UV 366 nm yang dilanjutkan dengan pengolahan pola menjadi densitogram menggunakan aplikasi *Image J*, yang kemudian dilakukan analisis multivariat PCA dengan aplikasi *Orange 3.32*.

Hasil pemisahan senyawa aktif daun anting-anting memunculkan noda sebanyak 12 noda pada ketiga sampel. Analisis multivariat PCA menunjukkan adanya pengelompokan terhadap masing-masing sampel dengan menjelaskan variasi total variabel data sebesar 98,5% (PC1 = 68,1%, PC2 = 30,4%). Berdasarkan hasil tersebut perbedaan ketinggian geografis pengambilan sampel berpengaruh terhadap kadar senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting yang dibuktikan dengan berbedanya nilai AUC pada masing-masing ekstrak sampel.

ABSTRACT

Sultoni. 2022. **Fingerprint Analysis of *Acalypha Indica* L. Using TLC Based on Geographical Differences in Altitude Sampling in East Java.** Thesis. Department of Chemistry. Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Supervisor : Elok Kamilah Hayati, M.Si

Supervisor II : Nur Aini, M.Si

Keywords : *Acalypha indica* L., fingerprint analysis, thin layer chromatography, quality control, PCA multivariate analysis

Acalypha indica L. is a plant that has been used by the community as a raw material for herbal medicines contains many active compounds with different type and level between regions. This study was conducted to control the quality of the active compounds of *Acalypha indica* L. from Malang, Ngawi, and Banyuwangi areas through chromatographic fingerprint analysis that was integrated with the Principal Component Analysis (PCA) to determine the grouping of the active compounds of the *Acalypha indica* L in different area.

The extraction of active compounds was carried out using a sonication at frequency 42 kHz for 20 minutes using ethyl acetate as a solvent. Separation of the active compounds was carried out using a TLC plate G₆₀F₂₅₄ with cyclohexane: toluene: diethylamine (75:15:10) as mobile phase. The TLC plate was visualized using at 366 nm UV lamp, followed by processing the pattern into a densitogram using the Image J application, then multivariate PCA analysis was performed with Orange 3.32.

The results of separating the active compounds from the leaves of *Acalypha indica* L. showed to 12 stains in the all samples. The results PCA multivariate analysis showed that there was a grouping of each sample by explaining the variation in the total data variables of 98.5% (PC1 = 68.1%, PC2 = 30.4%). The Analysis show that differences in geographical altitude for sampling affect the levels of active compounds in the leaves of the *Acalypha indica* L. as evidenced by the different AUC values in each sample extract.

مستخلص البحث

سلطاني. ٢٠٢٢. تحليل بصمات أوراق القرط (*Acalypha indica* L.) باستخدام بناءً على الاختلافات الجغرافية في أخذ عينات الارتفاع في جاوة الشرقية. اقتراحات. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المحاضر المشرفة: الوكيل كاميله هاياتي الماجستير
المشرفة الثني: نور عيني الماجستير

الكلمات الدالة: نبات القرط (*Acalypha indica* L.)، تحليل بصمات الأصابع، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، التحقق من صحة الطريقة، تحليل PCA متعدد المتغيرات.

نبات القرط (*Acalypha indica* L.) هو نبات استخدمه المجتمع كمواد خام للأدوية العشبية ذات الفوائد المختلفة مثل مضادات الجراثيم ومضادات الأكسدة ومضادات الإسهال ومضادات السكر ومضادات الملاريا وغيرها. تحتوي نباتات القرط على العديد من المركبات النشطة كيميائياً، لذا فإن ضمان سلامة هذه النباتات ومراقبة الجودة يعد عاملاً مهماً للغاية. تم إجراء هذا البحث للتحقق من صحة الطريقة من خلال معرفة ثبات البصمات الكروماتوغرافية ومظهرها بالإضافة إلى تجميع المستقلبات في تحليل TLC لمستخلص أوراق النمل (*Acalypha indica* L.).

تم إجراء استخلاص المستقلبات باستخدام الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية بتردد 42 كيلو هرتز لمدة ٢٠ دقيقة باستخدام أسيتات الإيثيل كمذيب. تم إجراء فصل المستقلبات الثانوية باستخدام صفيحة TLC من هلام السيليكا $G_{60}F_{254}$ مع سيكلو هكسان: تولوين: ثنائي إيثيل أمين (75:15:10) كمرحلة متحركة. لوحظ نمط البصمة باستخدام مصباح الأشعة فوق البنفسجية ٣٦٦ نانومتر. وفي الوقت نفسه، تم إجراء معالجة الكروماتوجرام باستخدام تطبيق *Image J* لتحديد منطقة الذروة لمنحنى مخطط الكثافة، والتي تم تحليلها بعد ذلك إحصائياً باستخدام طريقة تحليل المكونات الأساسية (PCA).

أسفرت نتائج فصل المركبات الفعالة عن أوراق (*Acalypha indica* L.) عن 12 بقعة في كل عينة. تظهر نتائج المعالجة المسبقة للصورة أنه سيكون هناك اختلافات في تركيز المركب الفعال في أوراق نبات القرط في نفس المكان مع عينات مختلفة، والتي تتأثر بحجم قطر البقعة وكذلك شدتها (PC1 = 60.1%, PC2 = 30.4%) 98.5%. كان تحليل PCA متعدد المتغيرات استناداً إلى قيمة AUC دون المعالجة المسبقة قادراً على شرح التباين الكلي لمتغيرات البيانات بنسبة.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan herbal merupakan suatu tumbuhan yang mengandung banyak senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai obat. Salah satunya yaitu tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.). Pemanfaatan tumbuhan anting-anting meliputi bagian daun, batang, dan akarnya. Tumbuhan ini banyak mengandung senyawa aktif terutama pada bagian daunnya. Daun anting-anting (*Acalypha Indica* L.) mempunyai efek farmakologis dalam pengobatan, diantaranya mengandung saponin, flavonoid (Zahidin, *et al.*, 2018), alkaloid (Hayati, dkk., 2012; Tukiran, dkk., 2014), steroid, fenol, tanin, dan glikosida jantung (Nkumah, *et al.*, 2016; Paindla, *et al.*, 2014). Senyawa aktif inilah yang menjadikan daun anting-anting sebagai obat antimalaria (Hayati, dkk., 2012), antibakteri (Batubara, *et al.*, 2016), antidiabetes (Masih, *et al.*, 2011).

Banyaknya manfaat dan khasiat tumbuhan sebagai obat ('sifa), menjadi bukti dari banyaknya nikmat yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia, termasuk pula adanya tumbuh-tumbuhan yang tumbuh subur di alam yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Hal ini sesuai sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Al-Isra [17]: 82 yang berbunyi:

وَنَزَّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ ۗ وَلَا يَزِيدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا {الاسراء: ٨٢}

Artinya:

“Dan kami turunkan dari al-Quran suatu yang menjadi penawar dan rahmat bagi orang-orang yang beriman dan Al-Qur’an itu tidaklah menambah kepada orang-orang yang alim selain kerugian” (Q.S. Al-Isra: 82).

Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. al-Isra ayat 82, menurut tafsir *al-Qurtubi*, lafadz *min* memiliki arti *dari* yang menunjukkan permulaan dari suatu tujuan penciptaan yang dilanjutkan dengan penyebutan *Sifa'* yang memiliki arti *penawar* juga berimplikasi pada pengetahuan manusia dalam memperhatikan serta menjaga kesehatan jiwa dan raganya. Pada penelitian ini penyebutan tumbuhan yang mempunyai posisi sebagai penawar dapat berimplikasi terhadap pengetahuan manusia melalui identitas dan zat yang terkandung di dalamnya, sehingga manusia dapat memanfaatkannya secara cerdas. Hal tersebut tentu sangat berguna bagi manusia dan makhluk hidup lainnya.

Adanya kandungan senyawa aktif yang melimpah menjadikan tumbuhan anting-anting berpotensi sebagai bahan baku obat herbal terstandar (Pelkonen, dkk., 2012). Untuk menjadikan tumbuhan anting-anting sebagai obat herbal terstandar, maka diperlukan suatu tahap kendali mutu untuk mengontrol kualitas dari tumbuhan anting-anting sebagai bahan baku obat herbal melalui konsistensi senyawa aktif yang terkandung di dalamnya (Putri, dkk., 2018), sehingga dapat menjamin keamanan, khasiat dan mutu produk obat herbal yang dihasilkan (Efferth dan Greten, 2012).

Pengendalian mutu untuk menjamin manfaat dan khasiat obat herbal tentunya tergantung pada kandungan senyawa aktif dari bahan bakunya (Indriani, 2013). Sedangkan kandungan senyawa aktif tumbuhan herbal dipengaruhi oleh banyak faktor, baik faktor intrinsik yaitu Gen dan usia tumbuhan, maupun faktor ekstrinsik seperti geografis ketinggian, suhu, dan tekanan udara (Laily, dkk., 2012). Selain itu, proses budidaya, pemanenan, dan pengolahan pasca panen akan sangat berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktifnya. Perbedaan kandungan

senyawa aktif kimia juga dipengaruhi oleh bagian-bagian dari tumbuhan itu sendiri, baik dari akar dengan daun atau dengan kulit batang (Singh, *et al.*, 2010).

Banyak informasi telah menyebutkan bahwa perbedaan ketinggian dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif pada tumbuhan herbal. Informasi tersebut didasarkan pada penelitian Laily dkk., (2012), bahwa perbedaan geografis ketinggian mempengaruhi proses metabolisme tumbuhan, sehingga morfologi dan senyawa yang dihasilkan berbeda. Hasil tersebut diperkuat kembali oleh penelitian Anissa, (2012), yang menemukan adanya perbedaan jumlah dan komposisi senyawa aktif pada kunyit dengan daerah ketinggian berbeda, yang sebagian besar metabolit hasil identifikasi berasal dari turunan terpenoid. Penelitian Katuuk dkk., (2019), juga menyatakan “bahwa ketinggian mempengaruhi senyawa aktif pada daun gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.), dengan tidak ditemukannya kandungan saponin pada dataran rendah 320 mdpl, sedangkan pada dataran menengah 700 mdpl ditemukan kandungan saponin”.

Senyawa aktif dalam tumbuhan anting-anting dapat diisolasi menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Metode ini lebih efektif untuk digunakan karena murah, rendemen tinggi, dan dapat mengurangi penggunaan pelarut organik serta waktu yang dibutuhkan singkat (Handayani, 2016). Pemilihan metode ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Safitri, (2018), melalui optimasi ekstraksi ultrasonik pada tumbuhan anting-anting dengan variasi pelarut dan variasi lama waktu ekstraksi dihasilkan pelarut etil asetat dengan waktu ekstraksi 20 menit pada frekuensi 42 kHz merupakan kondisi optimum untuk ekstraksi.

Pengujian ekstrak untuk mengetahui informasi mengenai kualitas senyawaan aktif dari daun tumbuhan anting-anting dapat dilakukan dengan suatu teknik metabolomik (Kim, *et al.*, 2011). Teknik metabolomik dapat menganalisis secara kuantitatif maupun struktural dengan mendeteksi ratusan metabolit dan menunjukkan perbedaan komposisi fitokimia berdasarkan perbedaan jenis dan daerah tanam, sehingga sering digunakan untuk pengendalian mutu bahan baku obat herbal (Ravi, *et al.*, 2017).

Salah satu teknik metabolomik yang sering digunakan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kelebihan analisis KLT yaitu dapat memberikan informasi tentang profil komponen kimia melalui jumlah spot, intensitas dan warna kromatogram, sehingga dapat secara langsung dianalisis secara visual (Sudberg, *et al.*, 2010), selain itu biaya yang dibutuhkan rendah, sederhana, kapasitas sampel besar, dan perolehan hasil yang cepat (Vermaak, *et al.*, 2010). Menurut penelitian Fadhillah, (2016), hasil analisis ekstrak tumbuhan anting-anting dengan KLT menggunakan pelarut etil asetat dan eluen berupa sikloheksana : toluena : dietilamina (75 : 15 : 10), menunjukkan adanya 4 noda yang muncul.

Hasil pemisahan KLT diolah menggunakan Aplikasi *Image J*, yang akan memberikan informasi kuantitatif berupa intensitas noda, nilai R_f dan luas area peak masing-masing noda yang muncul. Data tersebut dapat dianalisis secara kemometrik dengan metode *Principal Component Analysis* (PCA) (Munawar, 2020), dengan mereduksi data kompleks menjadi data yang lebih sederhana.

Studi mengenai identifikasi senyawa aktif daun anting-anting melalui integrasi metode *Image J* dengan *Principal Component Analysis* (PCA) belum

dilakukan. Namun, penelitian mengenai pengaruh perbedaan geografis terhadap kandungan senyawa aktif menggunakan PCA telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, seperti pada penelitian Anissa (2012), mengenai identifikasi metabolomik pengelompokan PCA pada kunyit (*Curcuma longa*) dari daerah berbeda, menunjukkan adanya pengelompokan senyawa aktif untuk kunyit Sukabumi dan Karanganyar sedangkan tidak mengelompok untuk sampel kunyit dari daerah lain.

Berdasarkan penjasandi atas, maka pada penelitian ini akan dilakukan suatu identifikasi senyawa aktif daun anting-anting (*Acalypha indica* L.) dari tiga daerah yang berbeda (Malang ± 559 mdpl, Ngawi ± 509 mdpl dan Banyuwangi ± 431 mdpl), melalui pengolahan hasil pemisahan KLT menggunakan Aplikasi *Image J* dan interpretasi data secara kemometrik PCA dengan Aplikasi *Orange 3.32*, sehingga dihasilkan model pengelompokan daun tumbuhan anting-anting berdasarkan komposisi dan jumlah kandungan senyawa aktifnya.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah berdasarkan latar belakang diatas adalah :

1. Bagaimana pengaruh geografis ketinggian terhadap komposisi senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) menggunakan metode *Digitally Enhanced Thin Layer Chromatography* (DETLC) ?
2. Bagaimana model pengelompokan daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) dari tiga daerah berbeda berdasarkan profil komposisi senyawa aktif melalui metode *Principal Component Analysis* (PCA) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yang telah dilakukan adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh geografis ketinggian terhadap komposisi senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) berdasarkan analisis menggunakan metode DETLC.
2. Untuk mengetahui pengelompokan metabolit daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) berdasarkan perbedaan daerah pengambilan sampel melalui metode *Principal Component Analysis* (PCA).

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Sampel adalah daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang diambil dari dataran tinggi, Malang ± 559 mdpl, Ngawi ± 509 mdpl, dan Banyuwangi ± 431 mdpl.
2. Proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 40 °C.
3. Metode ekstraksi adalah metode ultrasonik.
4. Metode pemisahan senyawa aktif dilakukan menggunakan analisis sidik jari kromatografi lapis tipis (KLT).
5. Eluen yang digunakan adalah sikloheksana : toluena : dietilamina dengan perbandingan (75 mL : 15 mL : 10 mL).
6. Hasil kromatogram diolah dengan menggunakan aplikasi *Image J*.
7. Metode pengelompokan senyawa metabolit adalah metode *Principal Component Analysis* (PCA) menggunakan aplikasi *Orange versi 3.32*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai pengaruh geografis ketinggian tempat tumbuh dari tumbuhan anting-anting terhadap komposisi dan kualitas senyawa aktifnya, sehingga melalui penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatan tumbuhan anting-anting sebagai bahan baku obat herbal yang berperan aktif dalam menyembuhkan berbagai penyakit terutama pada pengendalian mutu bahan baku obat herbal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Anting-Anting

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di pinggir jalan, lereng gunung, lahan pertanian, maupun lapangan rumput dan termasuk tumbuhan gulma. Tumbuhan ini memiliki rasa pahit, sejuk, dan bersifat adstringen. Bagian yang digunakan adalah daun, akar, tangkai, dan bunga (Kirom dan Ramadhania, 2017). *Acalypha indica* sudah dikenal di berbagai negara, baik di benua Afrika maupun Asia, seperti Thailand, Pakistan, Sri Lanka dan di sebagian besar barat dan selatan Afrika timur laut, termasuk Somalia, Ethiopia dan daerah lainnya. Tumbuhan ini juga dapat ditemukan di sebagian besar negara tropis dan beriklim sedang di Asia, Eropa dan wilayah Amerika Utara dan Selatan (Dineshkumar, *et al.*, 2010).

2.1.1 Morfologi

Tumbuhan anting-anting memiliki morfologi tegak dengan beberapa cabang tegak, batangnya bertrikoma, daunnya tunggal, bertangkai panjang (0,02-12,00 cm), bentuk daun bundar telur hingga belah ketupat (2 –9 cm × 1 –5 cm), tepi daun beringgit hingga bergerigi, tipis dan halus, dan duduk daun tersusun spiral. Bunganya merupakan bunga majemuk bulir, unisek, terletak pada ketiak daun dan ujung cabang, dan memiliki braktea. Bunga betina lebih pendek, tegak, dan jorong dibanding bunga jantan. Buahnya merupakan buah kapsul, kecil, dikelilingi braktea, bijinya oval, halus, berwarna coklat muda (Saha and Azhar, 2011).

Ciri-ciri fisik dari daun anting-anting yaitu memiliki bentuk daun bulat lonjong titik letak daun pada tumbuhan berselang-seling. Bentuk ujung dan pangkal daun berbentuk lancip sedangkan pada bagian pinggir daun berbentuk bergerigi. Biasanya panjang daun tumbuhan anting-anting yaitu 2,5 cm hingga 8 cm serta lebar sekitar 1,5 cm hingga 3,5 (Saha and Azhar, 2011).

2.1.2 Klasifikasi

Tumbuhan anting-anting dalam taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut (Chekuri, *et al.*, 2020):

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Sub kingdom: Tracheobiontai (Tumbuhan berpembuluh)
Super Devisi : Sperrmatophyta (Menghasilkan biji)
Devisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida / Dicotyledone (dikotil)
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Euphorbiales
Familia : Euphorbiaceae
Genus : *Acalypha*
Spesies : *Acalypha indica* Linn



Gambar 2.1 Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.) (Kirom dan Ramadhania, 2017)

2.1.3 Manfaat dan Kandungan Daun Tumbuhan Anting-Anting

Pemanfaatan tumbuhan anting-anting berkaitan dengan kandungan kimianya. Secara fitokimia tumbuhan anting-anting mengandung senyawa saponin dan tanin, batangnya mengandung glikosida kaempferol (Kumar and Pandey, 2013), dan daunnya mengandung flavonoid (Zahidin, *et al.*, 2018; Alam, *et al.*, 2017), alkaloid (Hayati, dkk., 2012; Tukiran, dkk., 2014), steroid (Nkumah, *et al.*, 2016), saponin, tanin, *catachols* (Kirom dan Ramadhania, 2017), triterpenoid, asam askorbat, β -sitosterol, fiber, quercetin, dan kaemferol, serta asam ferulat (Amarnath, *et al.*, 2014).

Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan tujuan agar manusia dapat mengolah dan memanfaatkannya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Az-Zumar ayat 21 yang berbunyi:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ ۙ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ ۙ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ۗ ثُمَّ
يَهْبِطُ فَتَرَاهُ مَوضِعًا ۙ ثُمَّ يَجْعَلُهُ ۙ حُطَامًا ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِّأُولِي الْأَبْصَارِ ۙ {الزمر: ٢١}

Artinya:

“Apakah engkau tidak memperhatikan, bahwa Allah menurunkan air dari langit, lalu diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi, kemudian dengan air itu ditumbuhkan-Nya tanam-tumbuhan yang bermacam-macam warnanya, kemudian menjadi kering, lalu engkau melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sungguh, pada yang demikian itu terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal sehat”(QS. az-Zumar: 21).

Sebagaimana pada firman Allah SWT pada ayat QS. Az-Zumar ayat 21 yang menyatakan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tubuh-tumbuhan. Menurut tafsir *al-Qurtubi* Kata *zar'an* yang artinya tumbuh-tumbuhan, *mukhtalifan* yang artinya bermacam-macam, dan *alwanuhu* yang artinya warna.

Ayat ini bermakna bahwa tumbuhan yang tumbuh di bumi ini ada bermacam-macam dengan warna, bentuk, rasa, dan manfaat yang berbeda yang saling unggul mengungguli. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat pelajaran yang berharga bagi *ulil albab*. Adanya perbedaan dari warna dan rasa memungkinkan bahwa kandungan senyawa aktif yang terdapat pada suatu tumbuhan juga berbeda-beda sehingga dapat dijadikan menjadi berbagai macam obat-obatan.

Berdasarkan kandungan senyawanya daun tumbuhan anting-anting dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Pada beberapa penelitian mengenai khasiat daun anting-anting, tumbuhan ini memberikan efek farmakologi sebagai antikanker (Amarnath, *et al.*, 2014; Sanseera, *et al.*, 2012), antioksidan (Joy, *et al.*, 2010; Teklani and Perera, 2016), antibakteri (Batubara, *et al.*, 2016) dan antiinflamasi (Evangeline, *et al.*, 2015).

2.2 Senyawa Metabolit

Senyawa metabolit terbagi menjadi dua yaitu adalah senyawa metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak yang digunakan oleh tumbuhan untuk pertumbuhannya, dan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid atau terpenoid, saponin, dan tanin. Senyawa aktif mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan seperti suhu, iklim, maupun gangguan hama (Titis, dkk., 2013). Senyawa aktif merupakan senyawa hasil metabolisme yang tidak semua makhluk hidup memilikinya dan ditemukan dalam jumlah sedikit (Katuuk, dkk., 2019). Faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa aktif antara lain faktor internal seperti gen dan usia tumbuhan dan faktor eksternal seperti, iklim, suhu, cahaya, kelembaban, pH, kesuburan

tanah, dan ketinggian tempat (Katuuk, dkk., 2019).

Adanya perbedaan ketinggian dan kondisi lingkungan antara wilayah dataran rendah dan dataran tinggi berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif tumbuhan. Pada penelitian Estu dan Irwanto, (2008), melaporkan bahwa kadar senyawa aktif *Narcissus bulbs (galantamine)* tertinggi terdapat pada umbi yang tumbuh pada ketinggian ± 1.250 mdpl ($63,59 \mu\text{g/g}$) dan terendah terdapat pada ketinggian ± 350 mdpl ($8,163 \mu\text{g/g}$). Perbedaan tersebut dimungkinkan karena intensitas sinar matahari di daerah dataran tinggi lebih rendah dibandingkan daerah dataran rendah sehingga stomata pada daun cenderung lebih lebar karena daun akan merespon lingkungan dengan memperbesar penangkapan cahaya matahari dan memperbesar penguapan yang terjadi begitupun sebaliknya (Safrina dan Priyambodo, 2018).

2.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa pada Daun Tumbuhan Anting-Anting

Ekstraksi ultrasonik merupakan cara untuk mengisolasi dan memisahkan komponen senyawa aktif pada tumbuhan anting-anting dengan bantuan gelombang ultrasonik (Sholihah, dkk., 2017). Gelombang tersebut akan menimbulkan suatu gelembung kavitasi yang dapat mempercepat proses dialisis sel (pemecahan sel) dengan cara memperbesar ukuran pori pori pada dinding sel (Thompson dan Doraiswamy, 1999). Kelebihan metode ini diantaranya yaitu waktu yang lebih singkat dan efisien (Garcia dan Castro, 2004), rendemen relatif banyak jika dibandingkan dengan metode maserasi (Zou, dkk., 2014) dengan presentase rendemen sebesar 57,51% (Rosyidah, 2016), dan penggunaan pelarut yang sedikit (Winata dan Yunianta, 2015).

Etil asetat digunakan sebagai pelarut pada penelitian ini untuk proses ekstraksi ultrasonik. Etil asetat termasuk salah satu pelarut semipolar yang mudah diuapkan, memiliki toksisitas rendah, dan higroskopis rendah (Wardhani dan Sulistyani, 2012). Penggunaan etil asetat sebagai pelarut pada penelitian ini didasarkan pada penelitian Hayati, *et al.*, (2019), yang melakukan optimasi ekstraksi ultrasonik pada senyawa alkaloid dengan variasi pelarut dan waktu ekstraksi yang menghasilkan pelarut dan waktu ekstraksi optimum adalah etil asetat dengan waktu ekstraksi selama 20 menit, dimana waktu ekstraksi tidak mempengaruhi jumlah spot yang terbentuk.

Hasil tersebut diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Safitri (2018), yang menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen terbesar dengan waktu ekstraksi ultrasonik selama 20 menit yaitu sebesar 9,442%. Pada penelitian tersebut menggunakan variasi pelarut etil asetat, etanol, dan metanol dengan perbandingan antara sampel dengan pelarut masing-masing adalah 1:10 (b/v). Adapun hasil rendemen dapat diamati pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Rendemen hasil ekstraksi daun tumbuhan anting-anting menggunakan ekstraksi ultrasonik (%) (Qariati, 2018)

Waktu Ekstraksi	Jenis Pelarut yang digunakan		
	Metanol (%)	Etanol (%)	Etil Asetat (%)
10 menit	4,817	4,131	8,264
20 menit	4,623	4,803	9,442
30 menit	3,795	3,562	9,084

Berdasarkan tabel 2.1 dapat diketahui bahwa pelarut yang lebih efektif untuk mengekstrak daun tumbuhan anting-anting adalah dengan menggunakan

pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi selama 20 menit. Hal ini dikarenakan waktu 20 menit merupakan waktu optimum untuk menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang lebih besar. Sehingga dapat diduga bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan anting-anting bersifat semipolar (Hayati, dkk., 2012).

2.4 Teknik Metabolomik

Teknik metabolomik merupakan teknik dengan analisis *high-throughput* yang mengkuantifikasi dan mengidentifikasi metabolit dalam sel, jaringan dengan berat molekul 100-1,000 (Lee, *et al.*, 2017). Tahapan analisis metabolomik terdiri dari preparasi sampel, analisa dengan berbagai instrumen, pengolahan data, dan analisis data (Putri, dkk., 2013). Waktu, tempat, dan metode pengambilan sampel akan sangat mempengaruhi keterulangan hasil analisa. Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai sampel juga akan mempengaruhi komposisi metabolit yang terdeteksi. Sebagaimana diketahui, variabilitas biologis lebih besar dibandingkan variabilitas analisis, bahkan ketika dilakukan kontrol terhadap proses pengambilan dan preparasi sampel (Whittmann, *et al.*, 2004).

Kelebihan pendekatan metabolomik adalah mampu mengakuisisi data, sehingga diperoleh data kuantitatif yang mampu memprediksi data dengan berbagai metode analisa. Terdapat tiga pendekatan yang dapat digunakan dalam analisis metabolomik, yaitu: (1) analisis tertarget (analisis kuantitatif dan kualitatif terhadap sejumlah metabolit target yang telah ditentukan sebelumnya), (2) *metabolite profiling* (menganalisis semua metabolit yang ada dalam sampel baik yang telah maupun yang belum pernah teridentifikasi) (Ravi, *et al.*, 2017), (3) *metabolite fingerprinting* (menganalisis pola sidik jari semua komponen senyawa

dalam sampel untuk membedakan kelompok sampel yang ada, namun tidak mempersyaratkan identifikasi senyawa-senyawa tersebut) (Blekherman, *et al.*, 2011). Pada penelitian ini akan digunakan teknik metabolomik berupa *metabolite fingerprinting* dengan pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

2.5 Pemisahan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen menggunakan fase diam berupa plat dengan lapisan bahan adsorben (Sudarmadji, 2007). Prinsip kromatografi lapis tipis adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan distribusinya terhadap fasa diam dan fasa geraknya (eluen). Kecepatan gerak senyawa tergantung pada kecenderungan sifat kepolaran dengan fase diam atau fase gerak (Wulandari, 2011).

Analisis sidik jari KLT dapat dianalisis secara kualitatif, yaitu dengan melihat profil hasil pemisahan berdasarkan jumlah, posisi, warna, intensitas serta R_f (*reterdation factor*) spot yang dihasilkan. Kelebihan KLT yaitu mudah dilakukan, sederhana, biaya operasional rendah karena komponen sampel dan standar diujikan dalam waktu yang sama, penggunaan pelarut yang sedikit, selektif dan sensitif, serta kromatogramnya dapat diamati secara visual (Syafi'i, dkk., 2018).

Komponen dikatakan memiliki nilai keterpisahan antar spot yang baik apabila nilai resolusinya ($>1,5$) (Syafi'i, dkk., 2018). Nilai R_f ditentukan menggunakan persamaan 2.1 (Hammado dan Illing, 2013).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \dots \dots \dots (2.1)$$

Nilai R_f dipengaruhi oleh struktur senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen, dan jumlah cuplikan. Nilai R_f memiliki rentang antara 0,25–0,85 (Wulandari, 2011).

Proses penotolan pada pelat KLT termasuk faktor yang mempengaruhi jumlah spot yang terbentuk serta pola pemisahan suatu senyawa. Jumlah totalan sedikit akan dapat menghasilkan jumlah spot yang sedikit, hal ini karena kurangnya sampel yang ditotolkan sehingga tidak membentuk suatu noda dengan baik. Jika jumlah sampel yang ditotolkan terlalu banyak, akan mengakibatkan noda tidak terpisah melainkan akan bergabung dengan spot lain sehingga nilai resolusi akan menurun (Jayanti, dkk., 2015). Adapun hasil pemisahan yang baik yaitu noda yang dihasilkan tidak berekor, dan pemisahan antar nodanya jelas (Syafi'i, dkk., 2018).

Komposisi eluen yang berbeda akan memberikan jumlah pita yang berbeda pula, hal ini karena adanya perbedaan tingkat kepolaran pelarut untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam sampel (Syafi'i, dkk., 2018). Eluen sikloheksan : toluena : dietil amin (75 : 15 : 10) yang digunakan sebagai fasa gerak pemisahan senyawa alkaloid pada tumbuhan anting-anting menghasilkan pemisahan yang baik dengan menghasilkan empat noda yang terpisah secara sempurna (Fadhilah, 2016; Safitri, 2018). Eluen sikloheksan : toluena : dietilamin dengan perbandingan 75 : 15 : 10 merupakan eluen semi polar yang condong kearah nonpolar. Penambahan dietil amin akan menambah kepolaran sikloheksana dan toluena yang cenderung bersifat non-polar.

Pada penelitian ini metode KLT digunakan hanya untuk menunjukkan komponen yang terdapat dalam ekstrak sampel, yang nantinya informasi ini dapat

digunakan untuk memastikan perbedaan konsentrasi komponen sampel, sehingga hasil gambar kromatogram dapat diinterpretasikan dalam bentuk densitogram menggunakan piranti lunak *Image J* (Auliana, 2011). Untuk proses dokumentasi pelat kromatogram sebaiknya dilakukan sebelum 60 menit setelah pengeringan, hal ini didasarkan pada penelitian Laksono, (2020), yang melakukan uji visualisasi variasi waktu, yang menunjukkan bahwa analit stabil selama 60 menit jeda waktu tunggu dengan tidak adanya perubahan kromatogram yang nyata.

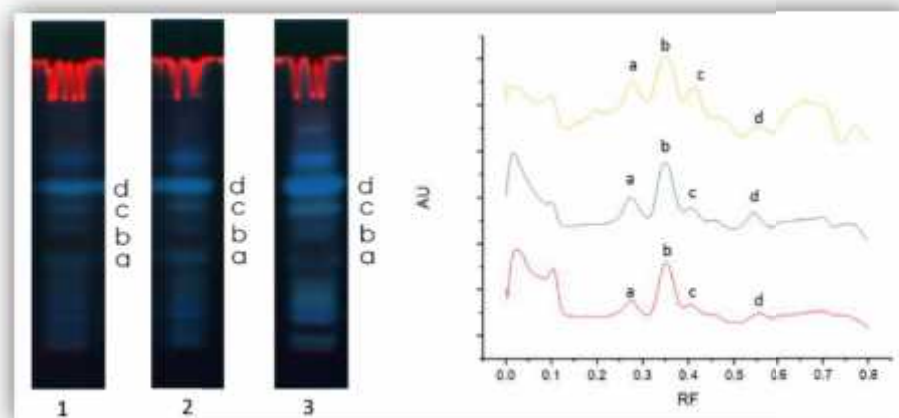
2.6 Preprocessing Data Kromatogram Menggunakan *Image J*

Peranti lunak *Image J* merupakan suatu program yang berbasis *Java* dengan fungsi untuk menampilkan, mengolah, mengedit, memproses, dan menganalisa gambar. Piranti lunak ini akan mengubah gambar dari spot atau band kromatogram ke densitogram yang dapat digunakan untuk analisis data secara semikuantitatif. Prinsip dari *Image J* yaitu mengkonversi suatu gambar kromatogram menjadi data terkuantifikasi dengan memanfaatkan kemampuan berpendar dari pelat KLT (fluorosensi). Sehingga warna dan intensitas yang dihasilkan akan memberikan korelasi dengan faktor retensi (R_f), dimana masing-masing puncak akan memberikan informasi yang komprehensif tentang sidik jari (Putri, dkk., 2018).

Terdapat beberapa proses pengolahan yang perlu diperhatikan dalam menggunakan *Image J* diantaranya penandaan gambar spot KLT, proses *smoothing*, dan normalisasi densitogram. Sehingga diperoleh nilai AUC yang lebih konsisten untuk setiap pengulangan (Auliana, 2011). Berdasarkan penelitian Auliana, (2011), yang melakukan differensiasi terhadap 3 tumbuhan berbeda

menggunakan *Image J*, menunjukkan bahwa proses *smoothing* gambar mentah KLT dengan dokumentasi menggunakan UV 366 nm dan UV 254 nm berturut-turut adalah 9 dan 8 kali, dengan penarikan garis *baseline* pada titik terendah puncak densitogram.

Beberapa percobaan seperti pada penelitian Putri, dkk., (2018), melaporkan bahwa analisis kromatogram hasil pemisahan senyawa dalam daun Wungu menggunakan *Image J* menunjukkan bahwa perbedaan usia panen yaitu usia 1 bulan, 2 bulan, dan 3 bulan, memberikan nilai *Area Under Curve* (AUC) berbeda yang berpengaruh terhadap komponen senyawa, yang mana jumlah konsentrasi optimal berada pada usia yang lebih muda yang dapat diamati melalui puncak c dan puncak d pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Interpretasi dengan *Image J* (—) usia 1 bulan, (—) usia 2 bulan, (—) usia 3 bulan dibawah lampu UV 366 nm (Putri, dkk., 2018)

2.7 Analisis Multivariat Metode *Principal Component Analysis* (PCA)

Metode *Principal Component Analysis* (PCA) merupakan suatu metode pemodelan bilinear yang berguna untuk mereduksi dimensi data yang diamati

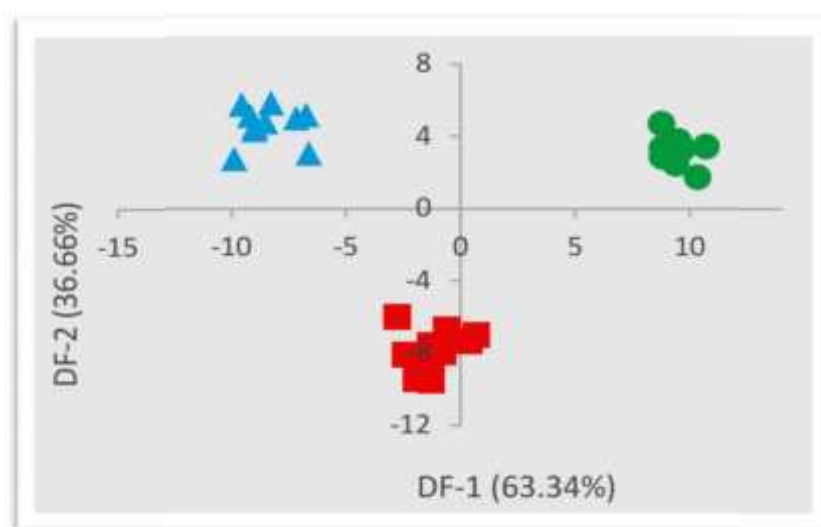
dengan meminimalisir informasi yang hilang (Chew, et. al., 2004). Teknik PCA merupakan teknik interpretasi multivariat yang digunakan untuk meringkas struktur dari data kompleks sekaligus menunjukkan keberagaman varians cara sampel dapat dibedakan dari sampel lain dengan menciptakan variabel baru berdasarkan data yang sudah ada (Jolliffe, et al., 2016). Fungsi utama penggunaan PCA untuk membedakan tiap sampel yang ditunjukkan dengan terbentuknya kelompok pada PC tertentu (Putri, dkk., 2018).

Prinsip dasar dari analisis PCA (*principal components analysis*) yaitu mencari informasi mengenai komponen utama (PC) yang merupakan kombinasi linier dari peubah asli dan menunjukkan jumlah variasi dari data. Ketika variabel yang diukur menunjukkan kontribusi sistematis paling besar, maka akan dikelompokkan pada (PC1) dan kontribusi kedua akan dikelompokkan pada (PC2). Berdasarkan variasi tersebut akan diperoleh suatu informasi dari suatu data dengan menghilangkan multikolinieritas dari data yang ada (Munawar, 2020).

Analisis PCA dapat mengelompokkan sampel berdasarkan perbedaan daerah sumber serta menentukan senyawa metabolit yang berkaitan erat dengan sifat bioaktivitasnya. Penelitian yang berkaitan telah dilakukan oleh Wahyuni, et al., (2020), melaporkan bahwa analisis sidik jari KLT yang dikombinasikan dengan analisis kemometrik memberikan perbedaan profil sidik jari *P. niruri* dibandingkan dengan *P. debilis* dan *P. Urinaria*, yang mana *P. niruri* memiliki dua pita karakteristik (R_f 0,71 dan 0,77) yang berbeda.

Terdapat banyak perangkat lunak (Aplikasi) yang dapat digunakan untuk analisis multivariat PCA. Aplikasi tersebut merupakan perangkat lunak statistik yang secara spesifik digunakan untuk menganalisis data multivariat. Adapun

gambar plot hasil analisis kemometrik pada ketiga tumbuhan yang memiliki kekerabatan yang dekat (*P. niruri*, *P. debilis* dan *P. urinaria*) adalah sebagai berikut.



Gambar 2.3 Plot hasil analisis diskriminan dari *P.niruri* (●), *P.debilis* (▲), dan *P.urinaria* (■) (Wahyuni, *et al.*, 2020)

Berdasarkan pada Gambar 2.3 Pengelompokan masing-masing spesies menggunakan dua variabel pertama fungsi (DF) dengan varians untuk DF-1 = 63,34% dan DF-2 = 36,66% di plot DA, yang menjelaskan 100% dari total varians faktor diskriminan dan tingkat klasifikasi yang benar adalah 100%. Hasil ini membuktikan bahwa analisis kemometrik berhasil membedakan tiga spesies *Phyllanthus* yang berkerabat dekat (Wahyuni, *et al.*, 2020). Diketahui bahwa kuadran I dan II menunjukkan kontribusi positif terhadap PC2. Kuadran II memiliki kontribusi positif terhadap PC1 maupun PC2. Kuadran III memiliki kontribusi positif terhadap PC1, akan tetapi negatif pada PC2. Untuk kuadran IV berkontribusi negatif baik pada PC1 maupun PC2 (Saidan *et.al*, 2015).

2.8 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan alam semesta dengan kekuasaan dan keagungannya secara sistematis. Mulai dari struktur alam semesta, beserta semua makhluk yang menempati alam semesta ini. Allah SWT juga telah menciptakan semua yang dibutuhkan oleh makhluknya berupa energi, materi kehidupan, serta ruang dan waktu dalam ukuran yang sangat menakjubkan (Muftikah, 2019). Salah satu ciptaan Allah SWT yang sangat bermanfaat untuk kehidupan adalah adanya tumbuh-tumbuhan yang tumbuh di bumi sehingga manusia, hewan, serta makhluk hidup lain dapat memanfaatkannya. Sebagaimana firman Allah dalam Q.S. Taha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا
مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ {طه: ٥٣}

Artinya:

“(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan”(Q.S. Taha (20): 53).

Menurut tafsir *Al-Maraghi* banyak sekali jenis tumbuhan yang dapat hidup di bumi ini dengan adanya air hujan yang masing-masing memiliki kemuliaan dari Allah SWT. Ada tumbuhan yang tergolong tumbuhan tingkat rendah yaitu tumbuhan yang tidak jelas bagian akar, batang dan daunnya, dan tumbuhan tingkat tinggi, yakni tumbuhan yang dapat dibedakan akar, batang dan daunnya secara jelas. Selain itu, Allah SWT juga menyertakannya dengan berbagai manfaat, warna, aroma, dan bentuk yang sebagian cocok untuk manusia

dan sebagiannya lagi lebih cocok untuk binatang. Tumbuhan yang termasuk tumbuhan tingkat tinggi salah satunya yaitu tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.). Tumbuhan anting-anting telah banyak dimanfaatkan bagian daun, batang, dan akarnya sebagai obat. Hal ini juga sesuai dengan firman Allah SWT yang tercantum dalam Q.S. Al-Syu'ara ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ {الشورى: ٧}

Artinya :

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Q.S. Al-Syu'ara (26): 7)

Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Berdasarkan tafsir *al-Qurtubi* dalam ayat tersebut kata *zauj* memiliki arti *berpasang-pasangan* dan *karim* memiliki arti *baik* dan *mulia*. bermakna bahwa Allah SWT menciptakan jenis tumbuhan dengan warna, bentuk, dan rasa yang berbeda meskipun tumbuh di daerah yang sama, dengan maksud agar manusia dapat memilah dan menggunakannya dengan sebaik mungkin, baik sebagai makanan maupun sebagai obat-obtan dari berbagai penyakit. Anugerah Allah SWT inilah yang harus dipelajari dan dimanfaatkan sesuai perintah-Nya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 16 Juni 2022 sampai 16 Juli 2022 di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan untuk preparasi sampel diantaranya loyang, oven, gunting, blender kaca, ayakan 100 mesh dan alat untuk analisis kadar air antara lain penjepit kayu, cawan porselen, dan spatula. Sedangkan alat untuk ekstraksi antara lain sonikator jarum, gelas arloji, gelas beaker 50 mL, neraca analitik, botol vial dengan tutup, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, pipet volume 1 mL, corong gelas, batang pengaduk, kertas saring, botol semprot dan bola hisap. Proses pemisahan dilakukan dengan menggunakan pelat KLT silika gel $G_{60}F_{254}$, pipa kapiler, *chamber*, dan oven. Tahap deteksi membutuhkan lampu UV 366 nm, yang kemudian diidentifikasi menggunakan Aplikasi *Image J* dan *Orange versi 3.32* untuk analisis *PCA*.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini diantaranya serbuk daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.), pelarut etil asetat p.a., sikloheksana, toluena, dan dietilamina p.a.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian terdiri dari 2 tahap, yaitu tahap pendahuluan dan tahap utama. Tahap pendahuluan mencakup preparasi sampel yang meliputi proses pengeringan, penghalusan, analisis kadar air, dan pembuatan ekstrak daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) dari daerah Malang, Ngawi dan Banyuwangi, serta pemisahan senyawa aktif menggunakan KLT. Sedangkan Tahap utama mencakup (1) Analisis komponen senyawa aktif pada daun tumbuhan anting-anting berdasarkan hasil sidik jari KLT dengan bantuan perangkat lunak *Image J*, (2) Analisis multivariat dengan metode PCA menggunakan bantuan Aplikasi *Orange versi 3.32* serta (3) Identifikasi hasil pengelompokan PCA profil metabolit daun tumbuhan anting-anting.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pengambilan dan preparasi sampel daun anting-anting dari daerah Malang, Ngawi, dan Banyuwangi.
2. Penetapan kadar air daun tumbuhan anting-anting.
3. Ekstraksi ultrasonik tumbuhan anting-anting dengan pelarut etil asetat dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit.
4. Pemisahan komponen senyawa dengan menggunakan (KLT) dengan eluen (sikloheksana : toluena : dietilamina) dengan perbandingan 75 : 15: 10.
5. Pengolahan hasil pemisahan KLT menggunakan *Aplikasi Image J*.
6. Analisis multivariat (PCA) menggunakan *Aplikasi Orange versi 3.32*.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) diambil dari 3 daerah, yaitu Malang, Ngawi, dan Banyuwangi. Sampel dipisahkan antara bagian batang, daun, dan akarnya. Daun anting-anting dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 6 jam. Daun yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh, sehingga diperoleh sampel berupa serbuk halus dengan warna hijau kecokelatan. Sampel tersebut disimpan ke dalam wadah tertutup (Kumalasari, 2019; Laksono, 2020).

3.5.2 Penetapan Kadar Air

Cawan porselin dikeringkan pada suhu 105 °C selama 30 menit lalu didinginkan di dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Sebanyak 1 g sampel daun anting-anting halus dimasukkan ke dalam cawan dan dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 jam sampai diperoleh bobot konstan, kemudian didinginkan di dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Kadar air ditentukan melalui Persamaan 3.1 dan dilakukan uji ANOVA: (Anissa, 2012; Putri, dkk., 2018)

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \quad \dots\dots\dots \text{(Persamaan 3.1)}$$

Keterangan:

A = Berat sampel awal (g)

B = Berat sampel setelah dikeringkan (g)

3.5.3 Ekstraksi Daun Anting-Anting dengan Ultrasonik

Ekstraksi senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik. Tahap ekstraksi dilakukan sebanyak 7 kali ulangan untuk setiap sampel. Langkah pertama yaitu menimbang 1 g serbuk daun anting-anting, yang kemudian dilarutkan dalam 10 mL etil asetat di dalam gelas beaker 50 mL (Handayani, 2016). Sampel diekstraksi menggunakan sonikator dengan frekuensi sebesar 42 kHz pada suhu kamar selama 20 menit (Safitri, 2018). Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh filtrat kasar. Filtrat dipindahkan ke dalam botol vial dan ditutup rapat.

3.5.4 Pemisahan Senyawa Metabolit Menggunakan KLT

Pemisahan senyawa aktif daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) dilakukan dengan menggunakan pelat silika G₆₀F₂₅₄ ukuran 10 x 10 cm yang telah diberi garis tepi atas dan tepi bawah dengan jarak 1 cm (Kumalasari, 2019; Laksono, 2020). Pelat KLT diaktivasi pada suhu 105 °C selama ±30 menit (Wahyuni, *et al.*, 2020). Fasa gerak (eluen) yang digunakan adalah campuran sikloheksana: toluena: dietilamina dengan perbandingan (75 : 15: 10) yang telah dijenuhkan selama 1 jam (Fadhilah, 2016).

Ekstrak kasar sampel diaplikasikan pada pelat silika gel G₆₀F₂₅₄ dengan volume 0,25 mL menggunakan syringe 15 µL (Wahyuni, *et al.*, 2020). Setiap satu kali penotolan dibiarkan mengering dengan sendirinya (Kumalasari, 2019). Pelat dielusi di dalam chamber sampai fase geraknya mencapai batas tepi atas (8cm) dengan keadaan tertutup rapat. Pelat diangkat dan dikeringanginkan,

kemudian dideteksi menggunakan sinar UV 366 nm (Laksono, 2020). Dokumentasi dilakukan dengan menggunakan alat kamera DSLR Canon 750D. Dihitung nilai Rf hasil pemisahan pada ekstrak tumbuhan anting-anting asal Malang, Ngawi, dan Banyuwangi (Putri, dkk., 2018).

3.5.5 Preprocessing Kromatogram menggunakan Piranti Lunak *Image J*

3.5.5.1 Membuat Kurva Densitogram dari Kromatogram

Kromatogram yang dihasilkan dari analisis sidik jari KLT kemudian diolah menggunakan perangkat lunak *Image J*. Langkah yang perlu dilakukan yaitu dibuka *Aplikasi Image J* lalu dipilih menu *File-Open*. Dipilih gambar kromatogram yang telah di *save* (.jpg). Menu *Rectangular* diaktifkan lalu diblok pada gambar target yang akan dianalisis, dipilih menu *Analyze-Gels-Select First Lane*. Gambar diatur kontrasnya dengan cara memilih menu *Image-type* dan dipilih *RGB colour*, lalu dipilih menu *Adjust* dan diatur *Brightness* dan *Contrast* sesuai kebutuhan sampai didapat gambar titik yang jelas. Untuk memunculkan kurva densitogram pilih kembali menu *Analyze-Gels-plot line*. Kurva densitogram ini akan menunjukkan jumlah pita yang terdapat pada pelat KLT. Diubah kurva menjadi *Line Graph* dengan cara diaktifkan menu *Rectangular* lalu diblok bagian kurva, kemudian dipilih menu *Analyze-Tools-Analyze line graph* sehingga akan muncul tampilan kurva dalam bentuk kurva *Xycoordinat*. Diubah gambar menjadi informasi dalam bentuk angka. Dipilih menu *copy* kemudian *Paste* pada piranti lunak *Microsoft Word Excel* untuk pengolahan kurva selanjutnya (Putri, dkk., 2018; Wahyuni, *et al.*, 2020).

3.5.5.2 Menentukan Luas Puncak Kurva Densitogram

Menentukan luas puncak densitogram, dibuka kurva densitogram pada *Image J* kemudian dipilih salah satu puncak kurva dan dipilih menu *Straight* diaktifkan lalu ditarik bagian dasar puncak ujung satu ke ujung lainnya (jika terdapat beberapa puncak kurva buat garis dasar pada masing-masing puncak kurva), kemudian menu *Wand* diaktifkan. Masing-masing daerah puncak kurva diberi *Highlight* dengan mengarahkan kursor pada daerah kurva yang dipilih tersebut sehingga muncul informasi mengenai luas puncak (Putri, dkk, 2018).

3.5.6 Analisis Multivariat Menggunakan Metode PCA

Analisis Multivariat *Principal Component Analysis* (PCA) dilakukan menggunakan Aplikasi *Orange* versi 3.32. Analisis diawali dengan membuka Aplikasi *Orange* dan kemudian diinput data *AUC* dari microsoft excel hasil *Image J*. Caranya yaitu dipilih menu *file – input data excel (categorical) - data table - preprocessing spectre - Principal Component Anlysis*. Dimasukkan variabel pengelompokan (*correlations variable*) yang diinginkan. Dipilih *Scatter plot* dan *linier projection* serta analisis lainnya yang dibutuhkan. Disimpan hasil analisis dalam bentuk *.png*. Dianalisis output hasil PCA (*scores* dan *loading*) (Qirom dkk, 2020).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa daun tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang berasal dari tiga daerah berbeda di Jawa Timur yaitu tumbuhan anting-anting dari Desa Ngrayudan, Kecamatan Jogorogo, Kabupaten Ngawi, dan tumbuhan Anting-anting dari desa Pandansari, Kecamatan Jabung, Kabupaten Malang, serta tumbuhan anting-anting dari desa Kajarharjo, Kecamatan Kalibaru, Kabupaten Banyuwangi.

Sampel daun yang diambil untuk preparasi adalah bagian daun yang masih utuh dengan tujuan untuk menjaga konsistensi perlakuan. Daun Anting-anting dicuci untuk menghilangkan pengotor seperti tanah dan serangga yang masih menempel. Sampel kemudian dikeringkan untuk meningkatkan daya simpannya. Daun yang telah kering selanjutnya dihaluskan untuk mempermudah terjadinya dialisis sel oleh pelarut saat proses ekstraksi berlangsung. Hasil preparasi daun anting-anting berupa serbuk halus yang memiliki warna kuning kecoklatan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Pemisahan senyawa aktif daun anting-anting dari daerah Malang, Ngawi, dan Banyuwangi menggunakan metode DETLC menghasilkan jumlah noda yang sama, yaitu sebanyak 12 noda dengan nilai keterulangan (Standard Deviasi) berkisar antara 0,001 -0,005.

Analisis PCA mampu menjelaskan variasi pengelompokan total sebesar 98,5% (PC1= 68,1%, PC2 = 30,4%) dari variabel keseluruhan yang membuktikan bahwa analisis multivariat PCA mampu membedakan ketiga sampel pada masing-masing ulangan yang menunjukkan adanya pengelompokan pada ketiga sampel dengan daerah asal dan kondisi geografis ketinggian yang berbeda.

5.2 Saran

Sebaiknya proses pengambilan gambar kromatogram saat visualisasi sinar UV 366 nm dilakukan dengan menggunakan alat yang terkalibrasi seperti TLC Scanner sehingga hasil akan lebih konsisten dan lebih akurat. Selain itu, metode DETLC diharapkan kedepannya dilanjutkan dengan uji PLSDA dan diintegrasikan dengan alat FT-IR dan LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, A.N., Bintari, S.H. and Mubarak, I. (2017). Penentuan Konsentrasi Minimum Ekstrak Daun Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Sebagai Antibakteri Pada *Staphylococcus aureus*. *Life Science*. 6(1): 34-39.
- Amarnath, K., Dhanabal, J., Agarwal, I., & Seshadry, S. (2014). Cytotoxicity Induction by Ethanolic Extract of *Acalypha indica* Loaded Casein-chitosan Microparticles in Human Prostate Cancer Cell Line In Vitro. *Biomedicine & Preventive Nutrition*. 4(3): 445-450. doi:10.1016/j.bionut.2013.03.00.
- Anissa. 2012. Kajian Metabolomic Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa*) Menggunakan Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa. *Skripsi*. Bogor: Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor.
- Anuradha VE, Jaleel CA, Salem MA, Gomathinayagam M, Panneerselvam R. 2010. Plant growth regulators induced changes in antioksidant potential and andrographolide content in *Andrographis paniculata* Wall ex Nees. *Pestic Biochem Physiol*. 98:312-316.
- Azis, R. & Akolo, I.R. 2019. Kandungan Antioksidan dan Kadar Air Pada The Daun *Mangifera indica* Mangga Quini. *Journal of Agriteck Science*, 3(1): 1-9.
- Batubara, I., Wahyuni, W.T. and Firdaus, I. (2016). Utilization of Anting-Anting (*Acalypha indica*) Leaves as Antibacterial. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 3(1): 1-6.
- Baum, C. F. 2006. *An Introduction to Modern Econometrics Using Stata*. Texas: Stata Press.
- Blekhherman G, Laubenbacher R, Cortes DF, Mendes P, Torti FM, Akman S, Torti SV, and Shulaev V. (2011). Bioinformatics tools for cancer metabolomics. *Metabolomics*. 7. 329-343. doi:10.1007/s11306-010-0270-3.
- Cameron, D. K., & Wang, Y.-J. (2006). Application of Protease and High-Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Degermed Corn Flour. *Cereal Chemistry Journal*, 83(5), 505–509. doi:10.1094/cc-83-05.
- Chekuri, S., Lingfa, L., Panjala, S., Sai Bindu, K. C. and Anupalli, R. R. 2020. *Acalypha indica* L. an Important Medicinal Plant: A Brief Review of its Pharmacological Properties and Restorative Potential. *European Journal of Medicinal Plants*. 31(11): 1-10. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2020/v31i1130294>.

- Chozin, A., Sumardjo, Poerwanto, R., Purbayanto, A., Khomsan, A., Fauzi, A., Toharmat, T., Hardjanto. (2019). *Pembangunan Pedesaan dalam Rangka Peningkatan Kesejahteraan Masyarakat*. IPB taman Kencana Bogor: IPB Press. *of BioSciences, Alternative and Holistic Medicine (IJBSAHM)*. 1(2):27-32.
- Efferth T and Greten HJ. (2012). Quality Control for Medicinal Plants. *Medicinal and Aromatic Plants*. 1(7): 2167-0412.
- Evangeline, S., Sundaram, V., Pathy Manian R., KulanthaiveluK, Balasundaram S. (2015). Antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of *Acalypha indica* and *Terminaliachebula*: An In-vitroanalysis. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 6:180.
- Estu D and Irwanto R. R. (2008). Eksplorasi Habitat Bakung Putih (*Crinum asiaticum* L.) Untuk Mendapatkan Kadar Galantamin Pada Ketinggian Tempat Berbeda. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*. 9 .80-9.
- Fadhilah, U. S. (2016). Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat dan Ekstraksi Kasar Alkaloid Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) sebagai Antimalaria Pada Parasit *Plasmodium Falciparum*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Faradisa, E., Agus, F. (2021). Beberapa Tumbuhan Obat di dalam Al-Quran Ditinjau dari Perspektif Sains. *Jurnal Ilmu Pendidikan dan Ilmu Sosial*. 3(1). <https://ejournal.stitpn.ac.id/index.php/nusantara>.
- Fatchurrozak, Suranto, Sugiyarto. (2013). Pengaruh Ketinggian Terhadap Kandungan Vitamin C dan Zat Antioksidan Pada Buah *Carica pubescens*. *El-Vino*. 1(1), hal 24-31
- Garcia, J.L.L.& Castro, M.D.L. (2004). Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal Chromatography*. A1034: 237-242.
- Handayani, S., Kadir, A., Masdiana. (2016). Profil Fitokimia dan Pemeriksaan Farmakognostik Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol. 5 (1).
- Hayati, E. K., Armeida, D. R. M., & Yuliani, D. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Alkaloids from *Acalypha indica*: Solvent and Extraction Time Variaton. *AIP Conference Proc*. 2120. <https://doi.org/10.1063/1.5115764>.
- Hayati, E. K. (2012). Konsentrasi Total SenyawaAntosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) : Pengaruh Temperatur dan pH. *Kimia*, 6(2), 138-147.

- Hayati, E. K., Jannah, A. & Ningsih, R. (2012). Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Penelitian*. 7(1): 20-32.
- Indriani, Susi. (2013). *Quality of Herbal Medicine Plants and Traditional Medicine*. Tropical Biopharmaca Research Center.
- Estu D and Irwanto R R 2008 Eksplorasi Habitat Bakung Putih (*Crinum asiaticum* L.) Untuk Mendapatkan Kadar Galantamin Pada Ketinggian Tempat Berbeda *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi* 9 80-9
- Jayanti, R. 2015. Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba. (2015). Analisis Kualitatif Bahan Kimia Obat (BKO) Glibenklamid dalam Sediaan Jamu Diabetes yang Beredar Dipasaran. (ISSN 2460-6472): 651.
- Jolliffe, I. T., and Cadima, J. (2016). Principal Component Analysis: A Review and Recent Development. *Phil. Trans. R. Soc. A* 374:20150202. <http://dx.doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>.
- Joy B, Mathew M, Awaad A, Govil J, Singh V. (2010). Anti-oxidant studies and chemical investigation of ethanol extract of *Acalypha indica* Linn. *Drug Plants*. 1:261-279.
- Katuuk, Rino, H.H., Wanget, S.A., Tumewu, P. (2019). Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Studi Agroteknologi*. Universitas Sam Ratulangi Manado. <https://doi.org/10.35791/cocos.v1i4.24162>.
- Kim, E. J., Kwon, J., Park, S. H., Park, C., Seo, Y.-B., Shin, H.-K., Hwang, G.-S. (2011). Metabolite Profiling of *Angelica gigas* from Different Geographical Origins Using ¹H-NMR and UPLC-MS Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(16), 8806–8815. doi:10.1021/jf2016286.
- Kirom, H. S. & Ramadhania, Z. M. (2017). Review Artikel: Aktivitas Biologis Tumbuhan Kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Farmaka*. Vol. 15 (3). <https://doi.org/10.24198/jf.v15i3.13838>.
- Kumalasari, Rani. 2019. Stabilitas Alkaloid Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Secara Kromatografi Lapis Tipis Berdasarkan Waktu Pengamatan UV dan Kelembaban. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kumar, S., Pandey, A.K., (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 20(13).

- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 20(13). 1–16. doi:10.1155/2013/162750.
- Laily, A.N., Suranto, Sugiyarto. (2012). Characteristics of *Carica pubescens* of Dieng Plateau Central Java according to its morphology, antioxidant and protein pattern. *Nusantara Bioscience*. 4(1): 16-21. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n040104>.
- Laksono, M.T., (2020). Analisis Sidik Jari Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Lee, K.-M., Jeon, J.-Y., Lee, B.-J., Lee, H., & Choi, H.-K. (2017). Application of Metabolomics to Quality Control of Natural Product Derived Medicines. *Biomolecules & Therapeutics*. 25(6): 559–568. doi:10.4062/biomolther.2016.249.
- Lipsy, P. (2010). *Thin Layer Chromatography Characterization of The Active Ingredients in Excedrin and Anacin*. USA: Department of Chemistry and Chemical Biology. Stevens Institute of Technology.
- Masih, M., Banerjee, T., Banerjee, B. and Anita, P.A.L. (2011). Antidiabetic activity of *Acalypha indica* Linn. on normal and alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(3): 1-4.
- Muftikah, Dewi, Munirrotul. (2019). Tumbuhan Obat Perspektif Al-Quran (Kajian Tafsir Sains Al-Jawahir Fi Tafsir Al-Quran Al-Karim). *Skripsi*. Institut Agama Islam Negeri Salatiga.
- Munawar, A.A. 2020. *Analisis Data Multivariat Menggunakan The Unscrambler X*. Syiah Kuala University Press.
- Nata, A., (2012). *Tafsir Ayat-ayat Pendidikan*. Jakarta: Rajawali Press.
- Nkumah, O.C., Esther, A.E., Adimonyemma, R.N., Cletus, N.O. and Iroka, C.F. (2016). Preliminary phytochemical screening on the leave, stem and root of *Acalypha Indica*. *The Pharmaceutical and Chemical Journal*. 3(3): 8-1.
- Nuryani. (2015). Kendali Mutu Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*) Menggunakan Pengolahan Citra Dan Teknik Pengenalan Pola Secara Kemometrik. *Jurnal IPB*.
- Paindla, P., dan Mamidala, E. (2014). Phitochemical and Chromatographic Studies in the Leaves Extract of *Acalypha indica*. *Online International Interdisciplinary Research Journal, {Bi-Monthly}*, 4(1): 104-110.

- Pelkonen, O., Pasanen, M., Lindon, J. C., Chan, K., Zhao, L., Deal, G., Fan, T.-P. (2012). Omics and its potential impact on R&D and regulation of complex herbal products. *Journal of Ethnopharmacology*. 140(3), 587–593. doi:10.1016/j.jep.2012.01.035.
- Pratiwi, D., Prastiwi, E. A., & Safitri, M. (2015). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Etil Asetat Herba Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Farmagazine*, 2(1), 16-23.
- Putri, S.A., Heryanto, R., Rohaeti, E., (2018). Spektrofotometer Quali-Vis dan Kemometrika Untuk Klasifikasi Kualitas Daun Wungu (*Graptophyllum pictum*). *Jurnal Jamu Indonesia*. 3(3): 89-101.
- Putri, S. P., Yamamoto, S., Tsugawa, H., & Fukusaki, E. (2013). Current metabolomics: Technological advances. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 116(1), 9–16. doi:10.1016/j.jbiosc.2013.01.004.
- Qirom, A.K.K., Lia, M., Kusriani, R.H. (2020). HPLC Fingerprint Analysis Ekstrak dan Produk Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria*(Christine)Roscoe). *Jurnal Farmasi Galenika*. Vol. 4. P-ISSN 2406-9299.
- Qoriati, Y. (2018). Optimasi Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Kadar Alkaloid Total pada Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ravi, S., Shanmugam, B., Subbaiah, G. V., Prasad, S. H., & Reddy, K. S. (2017). Identification of Food Preservative, Stress Relief Compounds by GC–MS and HR-LC/Q-TOF/MS; Evaluation of Antioxidant Activity of *Acalypha indica* leaves Methanolic Extract (in vitro) and Polyphenolic Fraction (In vivo). *Journal of Food Science and Technology*. 54(6). 1585–1596. doi:10.1007/s13197-017-2590-z.
- Reich , E., and Schibli, A. (2006). Validation of High Performance Thin Layer Chromathographic Methods for Identification of Botanical in a cGMP Environment. *J. AOAC Internasional*. 91:13-20.
- Rosyidah, H. 2016. Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.) Sebagai Herba Antimalaria. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Safitri, E.W. (2018). Optimasi Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid pada Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) Serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Safrina, D., dan Priyambodo, W. J. (2018). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Pengeringan Terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (*Iresine herbstii*). *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 15(3), 147. <http://dx.doi.org/10.21082/jpasca.v15n3.2018.147-154>.
- Saha, R., Ahmed, A. (2011). Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Acalyphus Indica* Linn: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Research*. 1918;2:1900-1904.
- Saidan, N.H., Hamil, M. S. R., Memon, A. H., Abdelbari, M. M., Hamdan, M. R., Suryati, K.M., Majid, A.M.S.A, Ismail, Z. (2015). Selected Metabolites profiling of *Orthosiphon stamineus* Benth leaves extracts combined with chemometrics analysis and correlation with biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15:350. DOI 10.1186/s12906-015-0884-0.
- Sanseera, D., Niwatananun, W., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., Baramee, A., Trisuwan, K. and Pyne, S.G. (2012). Antioxidant and anticancer activities from aerial parts of *Acalypha indica* Linn. *CMU. J. Nat. Sci.* 11(2): 157-166.
- Setyawati. (2021). Secondary Metabolites of Turmeric and Ginger on Various Altitudes and Soil Characteristics. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci* 724012020.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian AlQur'an*. Jakarta: Lantera Hati.
- Sholihah, M. A., Ahmad, U., & Budiastira, I. W. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis. *Jurnal keteknik pertanian*, 5(2).
- Silalahi, M., Nisyawati, Walujo, E.B., Supriatna, J., And Mangunwardoyo, W. (2015). The local knowledge of medicinal plants trader and diversity of medicinal plants in the Kabanjaha traditional market, North Sumatra, Indonesia. *Journal of Ethno pharmacology*. 175: 432-443. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.009>.
- Singh, S.K., Jha, S. K., Chaudhary, Yadava, R. D. S., Rai, S.B. (2010). Quality control of herbal medicines by using spectroscopic techniques and multivariate statistical analysis. *Phram Biol*.48:134-141.
- Soares PK, Burns RE, Scarminio IS. (2007). Statistical mixture design-principal component optimization for selective compound extraction from plant material. *J Separation Sci*. 30: 3302-3310.
- Soares, P. K., Bruns, R. E., & Scarminio, I. S. (2007). Statistical mixture design – principal component optimization for selective compound extraction

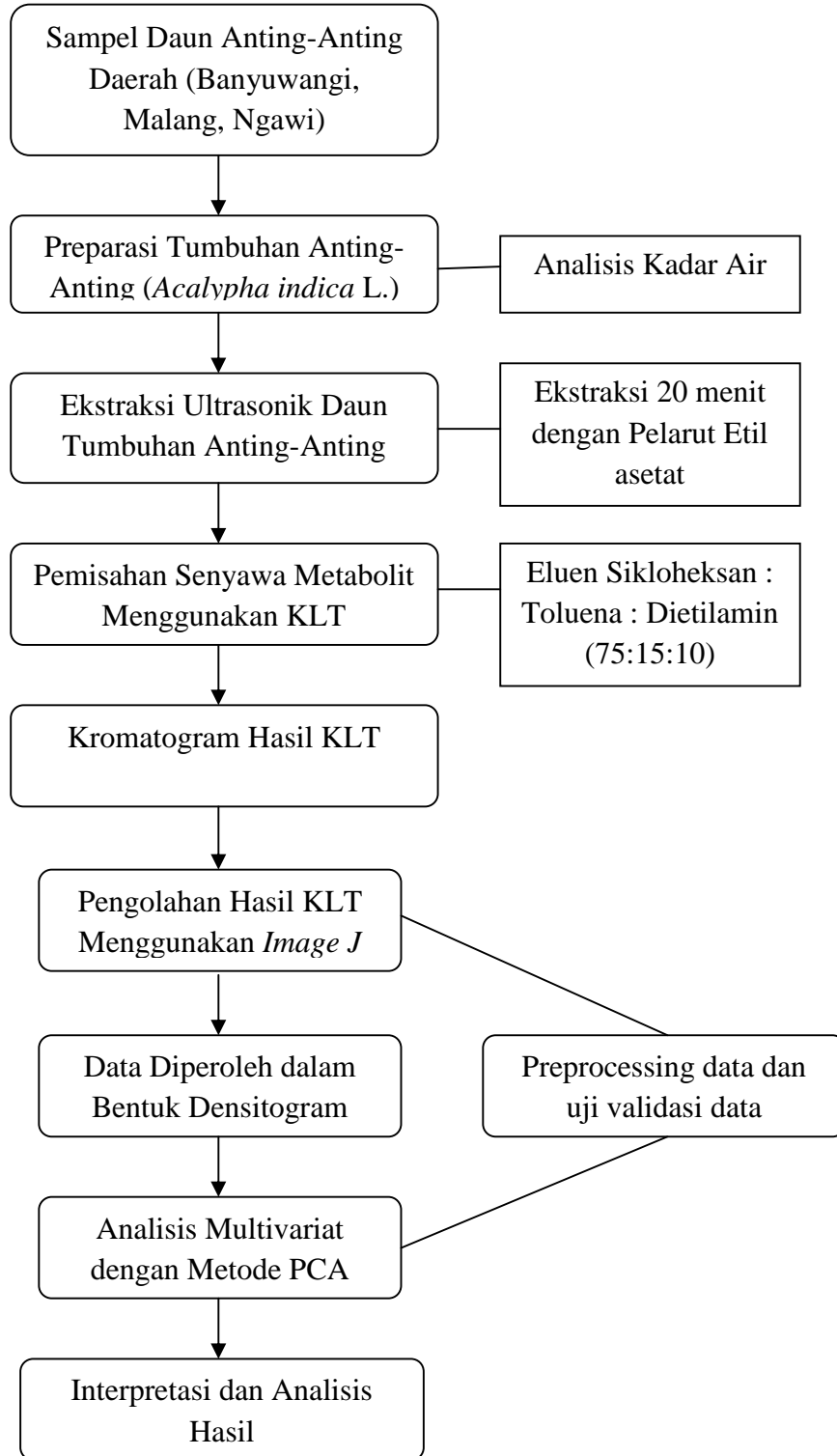
from plant material. *Journal of Separation Science*. 30(18). 3302–3310. doi:10.1002/jssc.200700236.

- Spangenberg, B., Poole, C. F., & Weins, C. (2011). *Quantitative Thin-Layer Chromatography*. doi:10.1007/978-3-642-10729-0.
- Sudarmadji, S. (2007). *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty:Yogyakarta.
- Sudberg S, Sudberg EM, Terrazas J, Sudberg S, Patel K, Pineda J, Fine B. (2010). Fingerprint Analysis and Application of HPTLC for Determination of Identity and Quality of Botanical form Industry Perspective. *J AOAC Int.* 93(5):1367-75. PMID: 21140645.
- Syafi'i, M., Eti, R., Wulan, T. W., Mohamad, R., Dewi, A. S., (2018). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*). *Jurnal Jamu Indonesia*. 3(3): 109-115.
- Tanaka K, Li F, Morikawa K, Nobukawa T, Kadota S. (2011). Analysis of biosynthetic fluctuations of cultured *Taxus* seedling using a metabolomic approach. *Phytochemistry* 72: 1760-1766.
- Tanaka, K., Li, F., Morikawa, K., Nobukawa, T., & Kadota, S. (2011). Analysis of Biosynthetic Fluctuations of Cultured *Taxus* Seedlings Using a Metabolomic Approach. *Phytochemistry*. 72(14-15): 1760–1766. doi:10.1016/j.phytochem.2011.06.
- Teklani, P.W.N.N. and Perera, B.G.K. (2016). The Important Biological Activities And Phytochemistry of *Acalypha indica*. *Int J Res Pharm Sci*. 6(1): 30-35.
- Titis, M. B. M., E. Fachriyah, dan D. Kusriani. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem. Info*.1(1):196 – 201.
- Thompson, L. H. & Doraiswamy, L. K. (1999). Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 38:1215-1249.
- Tukiran, S. & Hidayanti, N. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Heksana, Kloroform, dan Metanol pada Tumbuhan Andong (*Cordyline fruticosae*), Anting-anting (*Acalypha indica*), dan Alang-alang (*Imperata cylindrical*). *Jurnal Chemical*. 2(1): 1-6.
- Vermaak, I., Hamman, J. H., & Viljoen, A. M. (2010). High Performance Thin Layer Chromatography as a Method to Authenticate Hoodia Gordonii Raw Material and Product. *South African Journal of Botany*. 76(1), 119–124. doi:10.1016/j.sajb.2009.09.011.

- Wahyuni, W. T., Saharah, M., Arif, Z., & Rafi, M. (2020). Thin Layer Chromatographic Fingerprint and Chemometrics Analysis for Identification of *Phyllanthus niruri* from its Related Species. *Journal of the Indonesian Chemical Society*. 3(1), 47. <https://doi.org/10.34311/jics.2020.03.1.47>.
- Wardhani, L. K., & Sulistyani, N. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) moq.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 1-6.
- Whittmann, J. D., Etter, R. J., & Smith, F. (2004). The Relationship between Regional and Local Species Diversity in Marine Benthic Communities: a Global Perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(44), 15664-15669.
- Winata, E.W. dan Yunianta. (2015). Ekstraksi Antosianin Buah Murbei (*Morus alba* L.) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu dan Rasio Bahan : Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 773-783.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember : PT. Taman Kampus Presindo.
- Yi-Zhang, Z., Li, H., Yun, Y., Ma, P., Yi, L., Ren, D., Lu, H. (2018). Chemometrics in Instrumental Analysis of Complex Systems-in Honor and Memory of Yi-Zeng Liang. *Journal of Chemometrics*, e3095. doi:10.1002/cem.3095.
- Zahidin, N.S., Zulkifli, R.M., Muhamad, I.I., Ya'akob,H., Nur,H., Shariff, A.H.M. and Saidin, S. (2018). Preliminary Study of Potential Herbal Tea, *Acalypha indica* and Comparison with Domestic Tea in Malaysia Market. *Food Science and Technology*. 6(1): 41-45. DOI: 10.13189/fst.2018.060105.
- Zalukhu, L. D. S. (2017). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Zou, T.-B., Xia, E.-Q., He, T.-P., Huang, M.-Y., Jia, Q., & Li, H.-W. (2014). Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules*, 19(2), 1411–1421. doi:10.3390/molecules19021411.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Preparasi Sampel

Tumbuhan Anting-Anting

- Dipetik sampel tumbuhan anting-anting dataran tinggi daerah Banyuwangi, Malang, dan Ngawi
- Dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dari kotoran
- Dikeringkan sampel menggunakan oven pada suhu 40 °C.
- Dipisahkan bagian akar, daun, dan batang tumbuhan anting-anting
- Ditimbang masing-masing sampel daun anting-anting sebanyak ± 1 kg
- Dipotong daun anting-anting menjadi potongan kecil
- Dicuci potongan daun menggunakan air mengalir
- Dikeringkan daun anting-anting.
- Dihaluskan daun anting-anting menggunakan blender

Serbuk Kasar Daun Anting-Anting

- Diayak menggunakan ayakan 90 mesh
- Disimpan sampel serbuk halus di dalam wadah tertutup

Serbuk Halus Daun Anting-Anting

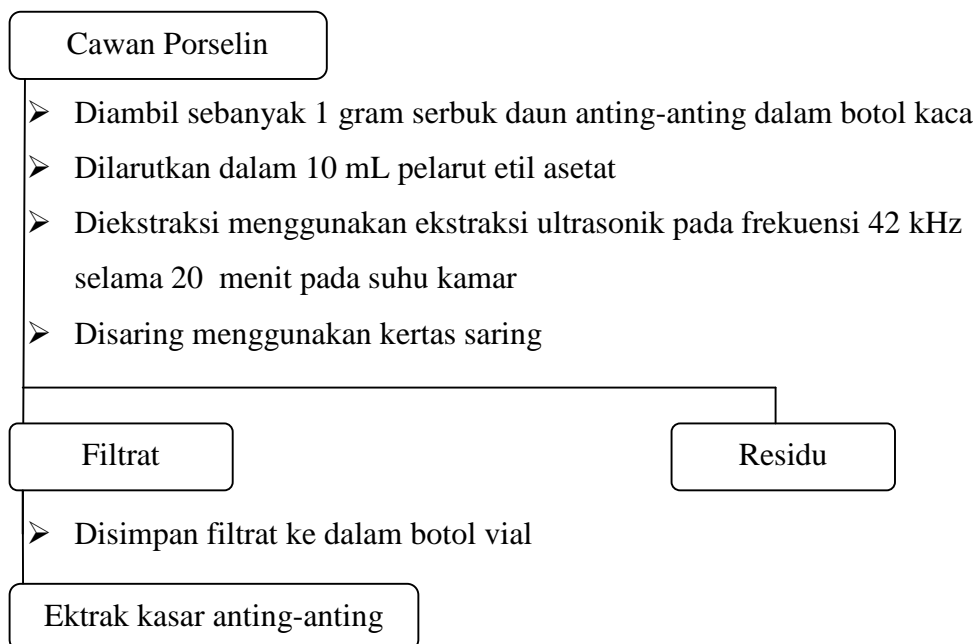
L.2.2 Analisis Kadar Air

Cawan Porselin

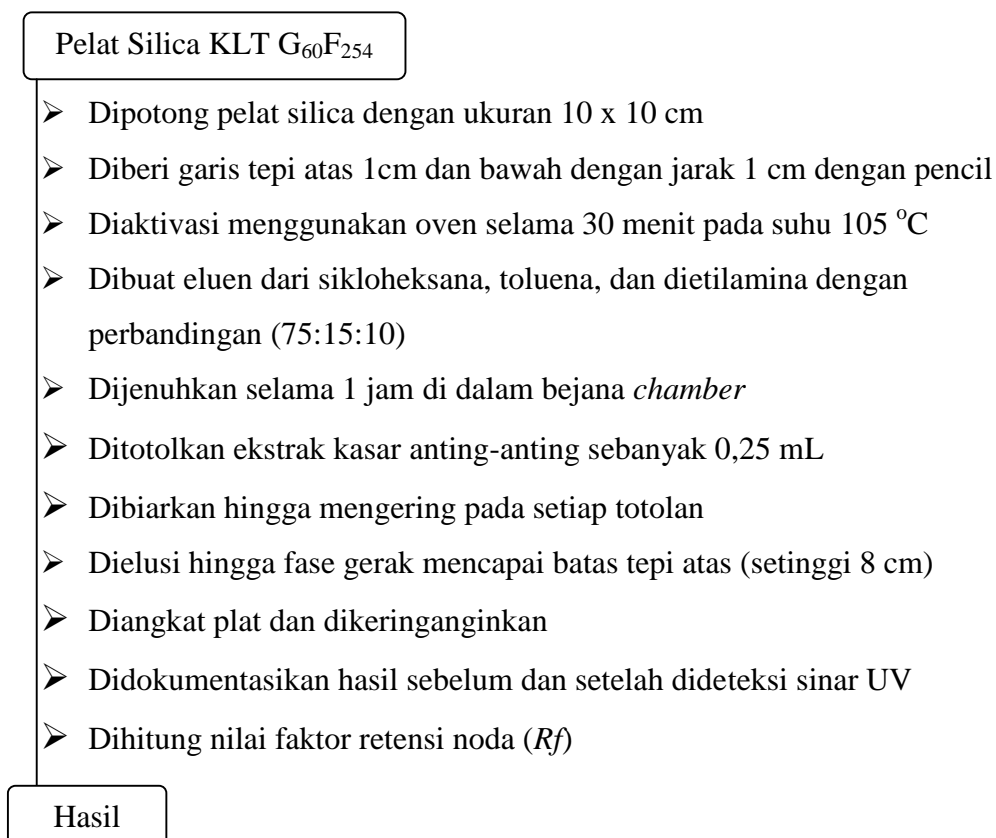
- Dikeringkan cawan Porselin dalam oven pada suhu 105 °C - 30 menit
- Didinginkan dalam desikator selama 30 menit
- Ditimbang bobot cawan porselin kosong
- Dimasukkan 1 g sampel daun anting-anting halus ke dalam cawan.
- Dipanaskan pada oven dengan suhu 105 °C selama 3 jam sampai konstan.
- Didinginkan dalam desikator selama 30 menit
- Ditimbang bobot cawan+sampel serbuk yang telah kering
- Ditentukan kadar air, Anova Tukey HSD

Hasil

L.2.3 Ekstraksi Daun Anting-Anting dengan Ultrasonik



L.2.4 Pemisahan Senyawa Metabolit Menggunakan KLT



L.2.5 Pengolahan Kromatogram Menggunakan *Image J*

L.2.5.1 Pengolahan Kromatogram Menjadi Densitogram

Kromatogram Hasil Pemisahan

- Dibuka program perangkat lunak *Image J* pilih menu *open*
- Dilakukan impor data kromatogram dalam bentuk .jpg.
- Diaktifkan menu *Rectangular* lalu diblok gambar yang dianalisis
- Dipilih menu *Analyze-Gels-Select First Lane*
- Diatur Tingkat kontras dan kecerahan gambar dengan memilih *image-type* dan *RGB colour-adjust-* diatur *briggthness* dan *contrast*
- Dipilih kembali menu *Analyze-Gels-plot line*

Kurva Densitogram

- Diaktifkan menu *Rectangular* dan diblok bagian kurva
- Dipilih menu *Analyze-Tools-Analyze line graph*

Kurva Xycoordinat

- Dipilih menu *copy*
- Dipaste di Aplikasi *Microsoft Word Excell*

Hasil

L.2.5.2 Menentukan Luas Puncak Kurva Densitogram

Kurva Densitogram

- Dibuka kurva densitogram
- Dipilih salah satu puncak kurva
- diaktifkan menu *Straight* dan ditarik bagian dasar puncak satu ke puncak lainnya
- Diaktifkan menu *Wand* dan dihighlight pada masing-masing daerah

Informasi Luas Puncak

L.2.6 Analisis Multivariat PCA Menggunakan *Orange 3.32*

Data Hasil *Image J*

- Dibuka Aplikasi *Orange 3.32*
- Dipilih menu *File- input data excel -Preprocess spectra- PCA- Score plot*
- Dilakukan validasi melalui *test and score- SVM- Confusion matrix*
- Dipilih *linier projection graph* sesuai kebutuhan
- Disimpan komponen PCA hasil pengolahan
- Dianalisis output hasil *preprocessing* dengan *Orange*

Hasil

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

L.3.1 Preparasi Sampel



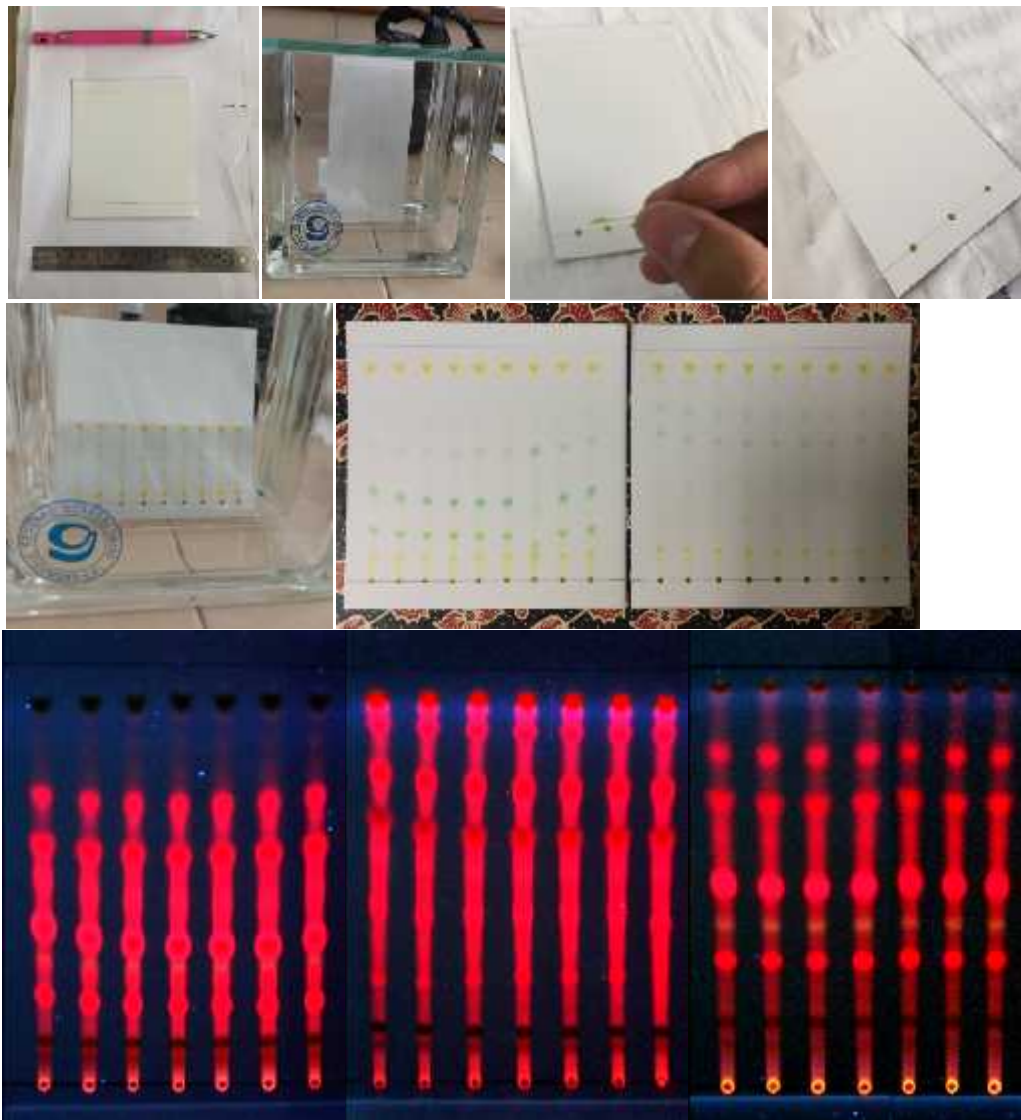
L.3.2 Analisis Kadar Air



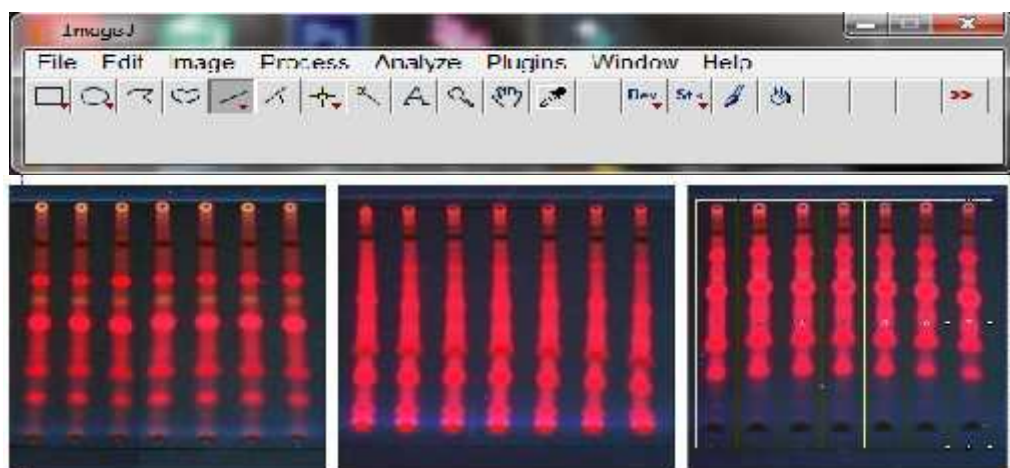
L.3.3 Ekstraksi Ultrasonik



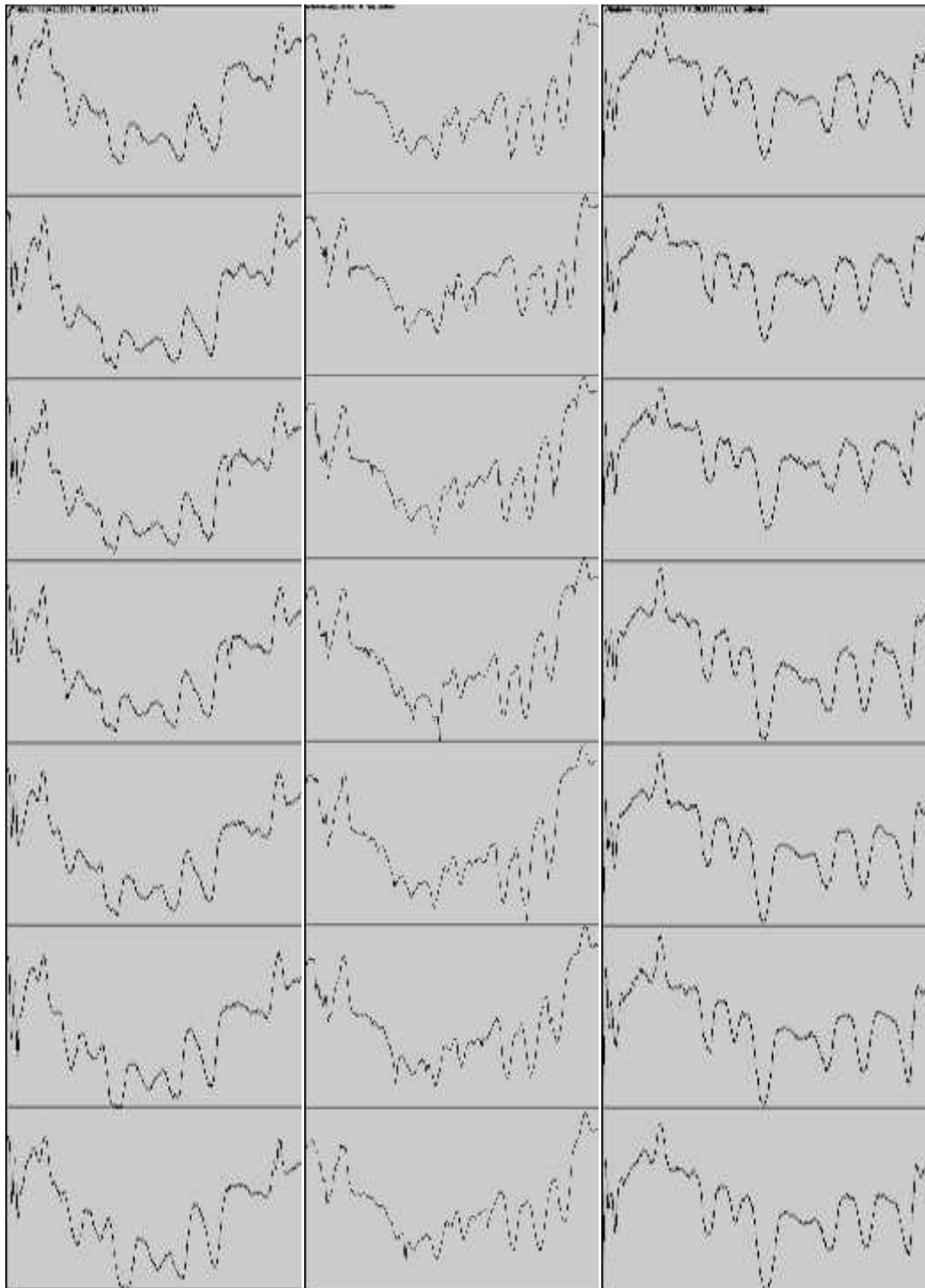
L.3.4 Pemisahan Menggunakan KLT



L.3.5 Preprocessing *Image J*



- Hasil processing dari kromatogram menjadi densitogram



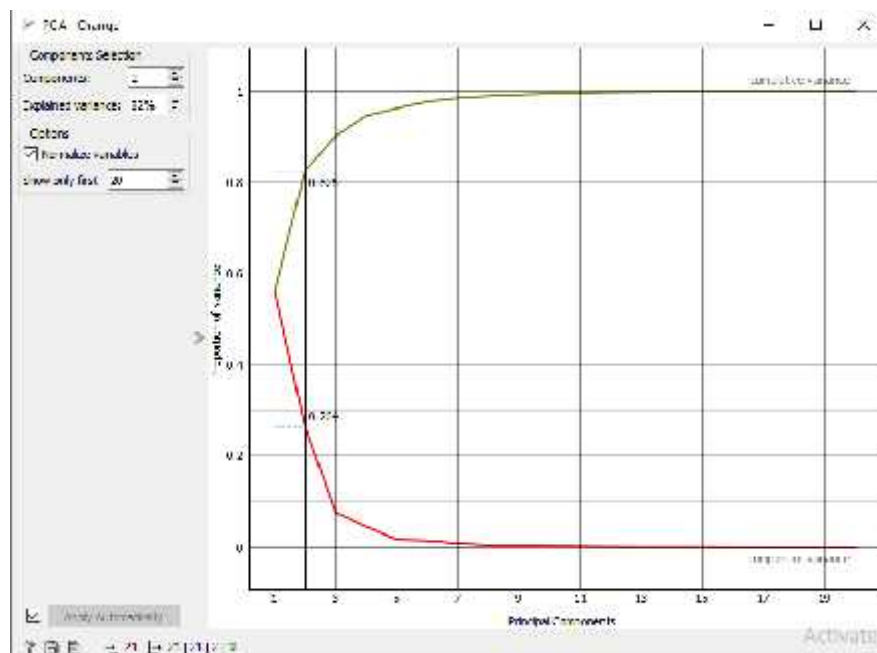
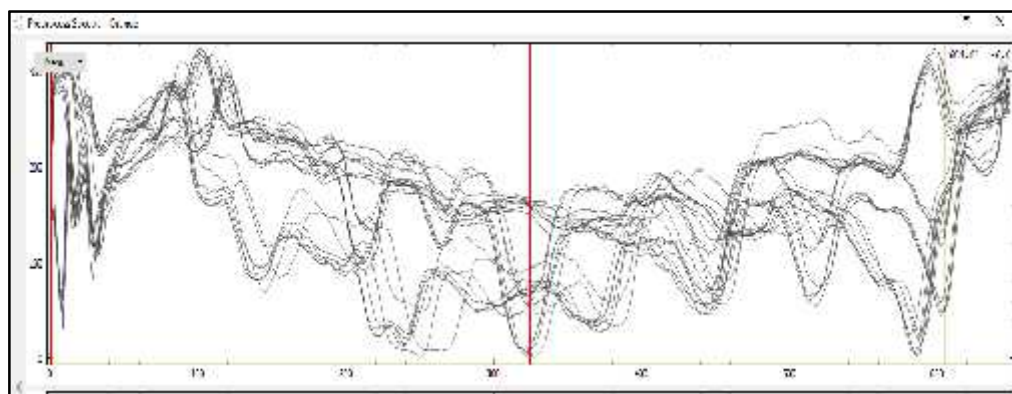
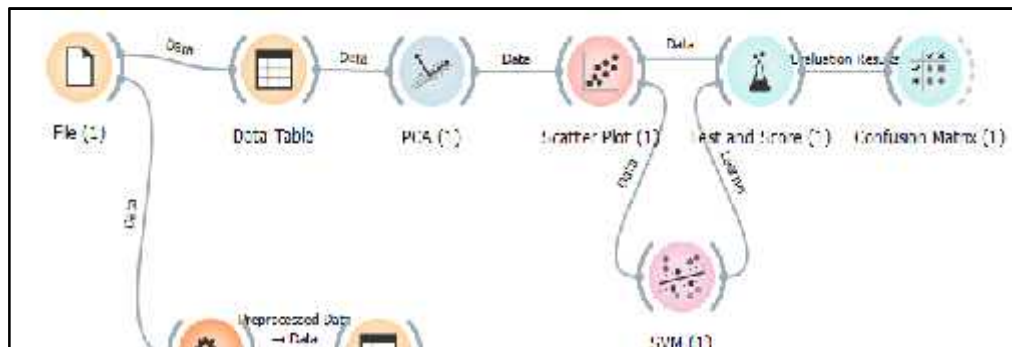
(Malang)

(Ngawi)

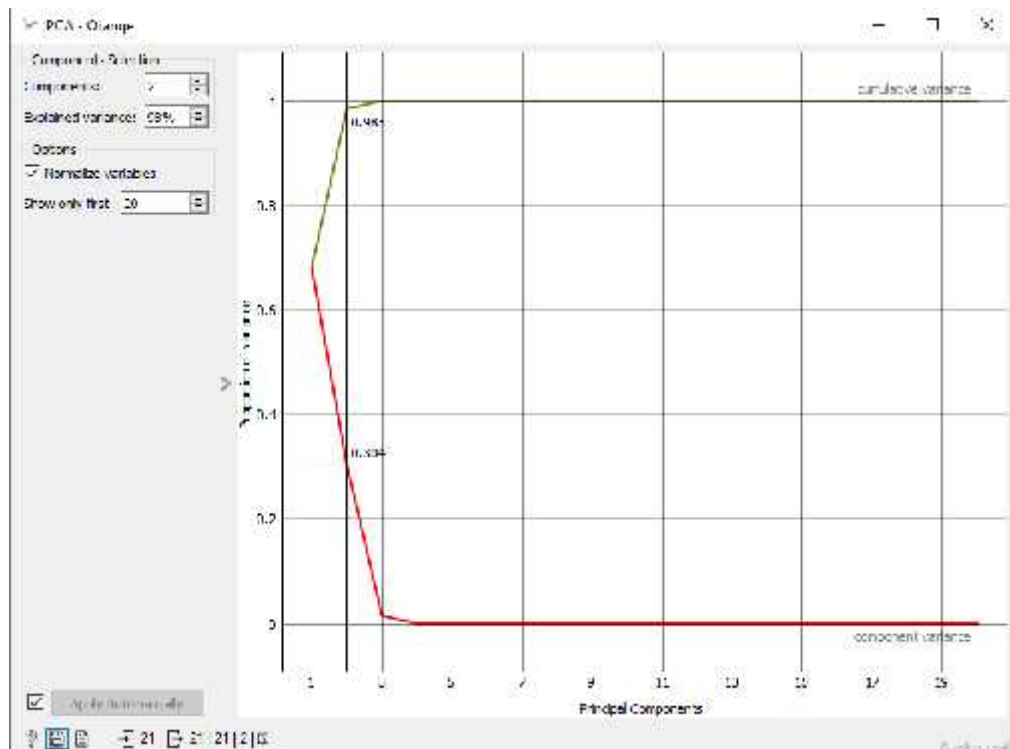
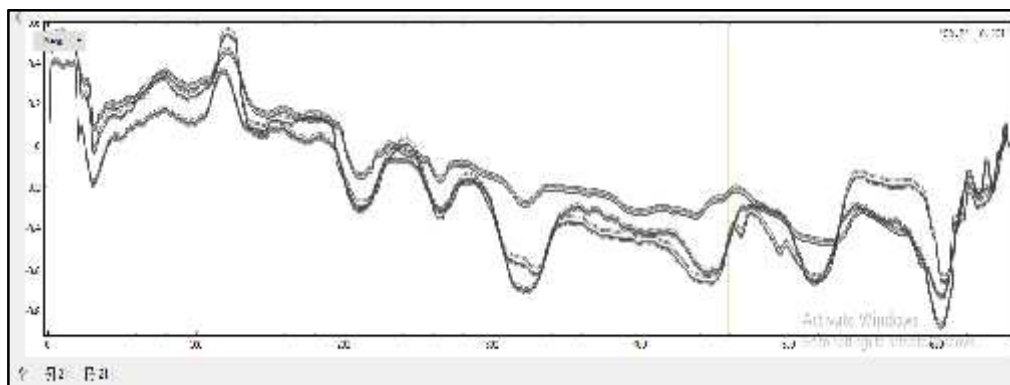
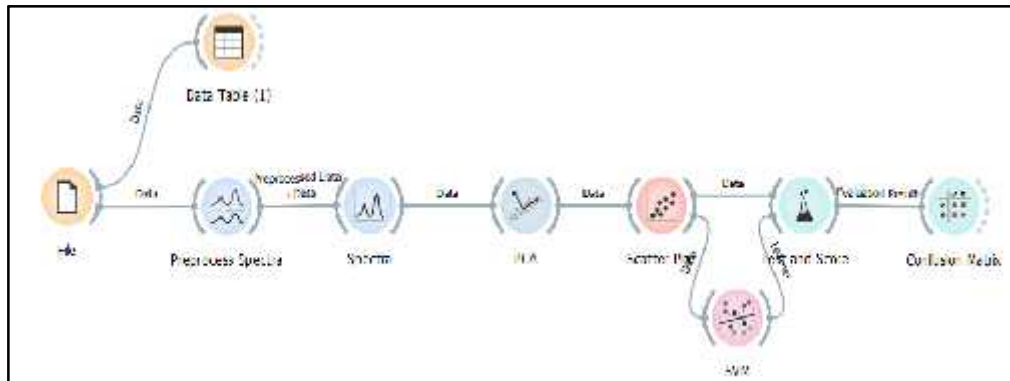
(Banyuwangi)

	Predicted				
	B	M	N		
B	7	0	0	7	
M	0	7	0	7	
N	0	0	7	7	
z	7	7	7	7	21

L.3.6 Analisis Multivariat PCA dengan Aplikasi *Orange 3.32*



(Tanpa Preprocessing)



(Dengan Preprocessing)