

**ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA TANAMAN
ANTING – ANTING (*Acalypha indica* L.) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT POLAR DAN PENGENALAN POLA SECARA
KEMOMETRIK**

SKRIPSI

**oleh:
NADIA AMALIA ADILA
NIM. 17630016**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA TANAMAN
ANTING – ANTING (*Acalypha indica* L.) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT POLAR DAN PENGENALAN POLA SECARA
KEMOMETRIK**

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

**oleh:
NADIA AMALIA ADILA
NIM. 17630016**

**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
2024**

**ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA TANAMAN
ANTING – ANTING (*Acalypha Indica* L.) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT POLAR DAN PENGENALAN POLA SECARA
KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh:
Nadia Amalia Adila
NIM. 17630016

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 Juni 2024

Pembimbing I


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

Pembimbing II


Ahnaf Hanapi, M.Sc
NIP. 19851225 202321 1 021

Mengetahui,
Ketua Program Studi,

Rachmawati Sangsih, M.Si
NIP. 198108 1 100801 2 010



**ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PADA TANAMAN
ANTING – ANTING (*Acalypha indica* L.) BERDASARKAN VARIASI
PELARUT POLAR DAN PENGENALAN POLA SECARA
KEMOMETRIK**

SKRIPSI

**Oleh:
NADIA AMALIA ADILA
NIM. 17630016**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Juni 2024**

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

(.....)

**Anggota Penguji I : Rifatul Mahmudah, M.Si
NIP. 19830125 202321 2 020**

(.....)

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

(.....)

**Anggota Penguji III : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIP. 19851225 202321 1 021**

(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nadia Amalia Adila

NIM : 17630016

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Analisis Kromatografi Lapis Tipis pada Tanaman Anting-Anting
(*Acalypha indica* L.) Berdasarkan Perbedaan Variasi Pelarut
Polar dan Pengenalan Pola secara Kemometrik

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

Malang, 26 Juni 2024

Yang membuat pernyataan,



Nadia Amalia Adila
NIM. 17630016

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah *robabil '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 Edy Afan dan Ibu Laili Kartikawati 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. Rekan kerja saya M. Sururi Alfaruq baik dalam kuliah ataupun organisasi lainnya.
3. Saudara-saudara saya di keluarga besar yang selalu memberi semangat dan segala bentuk dukungan, nasihat, do'a serta teruntuk sepupu yang tidak bisa saya sebut satu per satu.
4. 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.
5. Teman-teman seperjuangan saya yaitu Analitik Squad, Sahambat, 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.
6. Dan persembahan terakhir adalah teruntuk semua dan siapapun yang selalu menanyakan kapan saya lulus, alhamdulillah saya sudah bisa menyelesaikan ini semua.

MOTTO

**JALANI SEMUANYA SAMPAI MERASA LELAH. SETELAH ITU
ISTIRAHAT DENGAN PIKIRAN KOSONG.**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan proposal penelitian skripsi ini. Proposal penelitian yang telah penulis susun ini berjudul **“Analisis Kromatografi Lapis Tipis pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Berdasarkan Perbedaan Variasi Pelarut Polar dan Pengenalan Pola secara Kemometrik”**. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita dari kegelapan menuju kemenangan yakni Addinul Islam.

Penulis menyadari dalam penyusunan proposal penelitian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak yang telah membantu berupa bimbingan dan do'a, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan proposal penelitian skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.A. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dosen pembimbing Ibu Elok Kamila Hayati, M.Si yang telah senantiasa memberikan bimbingan dan arahan dengan sangat sabar dan ikhlas dalam penyusunan skripsi.
5. Bapak Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing agama yang telah membimbing dan memberi arahan dalam penyusunan skripsi.
6. Kedua orang tua yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam pengerjaan skripsi.
7. Teman-teman sahabat,serta seluruh keluarga besar KSR PMI Unit UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Teman-teman angkatan 2017 kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Semua pihak yang ikut terlibat dalam penyusunan skripsi baik dari dalam kampus maupun luar kampus.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi diri sendiri dan orang lain. Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis butuhkan agar senantiasa dapat menjadi yang lebih baik kedepannya.

Malang, Maret 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN	iii
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	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Anting-Anting.....	7
2.2 Ekstraksi Ultrasonik	8
2.3 Kromatografi Lapis Tipis	11
2.4 Analisis <i>ImageJ</i>	15
2.5 Analisis Principal Component Analysis (PCA)	18

BAB III METETOLOGI PENELITIAN.....	22
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	22
3.2 Alat dan Bahan.....	22
3.2.1 Alat.....	22
3.2.2 Bahan	22
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Tahap Penelitian.....	23
3.5 Cara Kerja	23
3.5.1 Preparasi Sampel	23
3.5.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik.....	24
3.5.3 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	25
3.5.4 Analisis Menggunakan ImageJ.....	26
3.5.5 Analisis Menggunakan PCA.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Preparasi Sampel.....	28
4.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik.....	29
4.3 Analisis Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	33
4.4 Analisis Hasil KLT menggunakan Image J	37
4.5 Pengelompokan Sampel Tanaman Anting-Anting menggunakan PCA.....	40
4.6 Integrasi hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	42
BAB V PENUTUP.....	45
5.1 KESIMPULAN	45
5.2 SARAN	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi tanaman anting-anting menurut Chekuri dkk., (2016)	7
Tabel 2.2 Kandungan kimia dan efek farakologis tanaman anting-anting (Duke, 2009).	8
Tabel 2.3 Senyawa aktif tanaman anting-anting dan titik didihnya (Adawiyah, 2018)	10
Tabel 2.4 Hasil rendemen ekstrak tanaman anting-anting	10
Tabel 2.5 Hasil data KLT dan nilai Rf	14
Tabel 4.1 Nilai rendemen ekstrak tanaman anting-anting.....	32
Tabel 4.2 Hasil nilai Rf ekstrak tanaman anting-anting	36
Tabel 4.3 Nilai AUC ekstrak tanaman anting-anting	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman anting-anting (<i>Acalypha Indica L.</i>)	8
Gambar 2. 2 Hasil ekstrak kasar pada pelarut polar	13
Gambar 2. 3 Noda sinensetin pada pelat KLT pada λ 254 nm dan 366 nm standar sinensetin (a), Cigombong (b), Nagrak (c), dan Pacet (d)	16
Gambar 2. 4 Kromatogram sampel pepaya hawai Bogor dan Magetan berdasarkan variasi waktu penotolan	17
Gambar 2. 5 Score Plot nilai AUC sampel biji pepaya dari Bogor dan Magetan	20
Gambar 4. 1 Serbuk Sampel Tanaman Anting-Anting	29
Gambar 4. 2 Serbuk Sampel dengan masing-masing Variasi Pelarut Polar (etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, auqades dari kanan ke kiri) ...	30
Gambar 4. 3 Hasil Ekstrak Kasar Tanaman Anting-Anting	31
Gambar 4. 4 Proses Penotolan Ekstrak Kasar Sampel pada Plat KLT.....	33
Gambar 4. 5 Hasil Proses Elusi pada Plat KLT	34
Gambar 4. 6 gambar Hasil KLT dan UV Vis	35
Gambar 4. 7 contoh penandaan plat	38
Gambar 4. 8 kromatogram ekstrak tanaman anting-anting.....	38
Gambar 4. 10 Score plot dari nilai AUC sampel ekstrak tanaman anting-anting.....	40
Gambar 4. 11 Heat mapekstrak tanaman anting-anting.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	51
Lampiran 2. Diagram Alir	52
Lampiran 3. Perhitungan Pelarut	55
Lampiran 4. Analisis ImageJ	56
Lampiran 5. Analisis PCA	56
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	57

ABSTRAK

Adila, Nadia Amalia. 2024. **Analisis Kromatografi Lapis Tipis Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*) Berdasarkan Variasi Pelarut Polar Dan Pengenalan 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: Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*), Kromatografi Lapis Tipis, ImageJ, PCA

Berbagai macam tanaman herbal dan obat-obatan telah banyak ditemukan di Indonesia. Salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat adalah tanaman anting-anting. *Acalypha indica l.* mengandung metabolit sekunder yang berguna untuk mengobati infeksi pada mata, gangguan pernapasan, rematik, masalah kulit dan dapat menurunkan kadar gula darah pada manusia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pola kromatogram sidik jari pada tanaman anting-anting berdasarkan variasi pelarut polar dan setelahnya dianalisis menggunakan PCA untuk mengetahui pengelompokan senyawa dari tanaman tersebut.

Metode yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik selama 20 menit dengan frekuensi 42 kHz menggunakan pelarut etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air. Analisis sidik jari menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen sikloheksana : toluena : dietilamin (75:15:10). Noda plat KLT yang dihasilkan dianalisis membentuk kromatogram sidik jari menggunakan *software* ImageJ dan dilakukan analisis PCA berbantu *software* MetaboAnalyst guna menghasilkan interpretasi data yang sederhana.

Pemisahan dengan KLT menghasilkan noda pada pelarut etanol 96% sebanyak 5 noda. Pada etanol 70% dan 50% sebanyak 2 noda serta pada etanol 30% dan aquades hanya menghasilkan 1 noda. Hal ini disertai dengan intensitas warna yang muncul semakin pudar dari etanol 96% ke aquades. Pada analisis hasil PCA terdapat pengelompokan dari interpretasi variasi total sebesar 94,1% (PC1=63,1% dan PC2=31%). Hasil analisis heatmap menunjukkan etanol 96% memiliki kadar senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan pelarut lain yang ditandai dengan berwarna merah paling pekat.

ABSTRACT

Adila, Nadia Amalia. 2024. **Thin-layer chromatographic analysis of indian nettle plants (*Acalypha indica L.*) based on polar solvent variation and chemometric recognition.** Thesis. Department of Chemistry. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I : Elok Kamilah Hayati, M.Si, Supervisor II : Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc.

Keywords: Indian nettle plant (*Acalypha Indica L.*), thin layer chromatography, ImageJ, PCA

Various kinds of herbs and medicines have been found in Indonesia. One of the medicinal plants that has many benefits is *Acalypha indica l.* Contains secondary metabolites that are useful for treating eye infections, respiratory disorders, rheumatism, skin problems and can lower blood sugar levels in humans. The purpose of this study was to determine the fingerprint chromatogram pattern in Indian nettle plant based on variations in polar solvents and afterwards analyzed using PCA to determine the grouping of compounds from these plants.

The method used was ultrasonic extraction for 20 min with a frequency of 42 kHz using solvents 96% ethanol, 70% ethanol, 50% ethanol, 30% ethanol, and water. Fingerprint analysis using thin-layer chromatography with a eluent cyclohexane: toluene: diethylamine (75:15:10). The resulting TLC plate stains were analyzed to form a fingerprint chromatogram using ImageJ software and PCA analysis assisted by MetaboAnalyst software to produce simple data interpretation to be a groups.

Separation with TLC produced stains on 96% ethanol solvent as many as 5 stains. In 70% ethanol and 50% as many as 2 stains and in 30% ethanol and aquades only produce 1 stain. This is accompanied by the intensity of the color that appears fading from 96% ethanol to aquades. In the analysis of the PCA results, there was a grouping of the interpretation of the total variation of 94.1% (PC1=63.1% and PC2=31%). The results of heatmap analysis showed that 96% ethanol had more active compound levels than other solvents which were characterized by the most intense red color.

عادلا، نادية عملية. 2024. التحليل الكروماتوجرافي للطبقة الرقيقة في الأقراط (*Acalypha indica L.*) بناء على اختلافات المذيبات القطبية والتعرف الكيميائي. بحث جامعي. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير، المشرف الثاني: أحمد هنابي، الماجستير

الكلمة الرئيسية: أقراط (*Acalypha indica L.*)، كروماتوغرافيا طبقة رقيقة،

PCA، ImageJ

تم العثور على أنواع مختلفة من النباتات العشبية والأدوية على نطاق واسع في إندونيسيا. واحدة من النباتات الطبية التي لها فوائد عديدة هي نبات القرط *Acalypha indica l.* يحتوي على مستقبلات ثانوية مفيدة لعلاج التهابات العين واضطرابات الجهاز التنفسي والروماتيزم ومشاكل الجلد ويمكن أن تخفض مستويات السكر في الدم لدى البشر. الغرض من هذه الدراسة هو تحديد نمط كروماتوجرام بصمات الأصابع في نباتات القرط بناء على اختلافات المذيبات القطبية ثم تحليلها باستخدام **PCA** لتحديد مجموعة المركبات من النباتات.

الطريقة المستخدمة هي الاستخراج بالموجات فوق الصوتية لمدة 20 دقيقة بتردد 42 كيلو هرتز باستخدام مذيبات الإيثانول، و 70٪ إيثانول، و 50٪ إيثانول، و 30٪ إيثانول، وماء. استخدم تحليل بصمات الأصابع كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة مع الهكسان الحلقي: التولوين: ثنائي إيثيلين (75:15:10). تم تحليل بقع لوحة **KLT** الناتجة لتشكيل كروماتوجرام بصمات الأصابع باستخدام برنامج **ImageJ** وتم إجراء تحليل **PCA** بمساعدة برنامج تحليل ميتابو لإنتاج تفسير بسيط للبيانات.

أنتج الفصل مع **KLT** بقعا على مذيب الإيثانول بنسبة 96٪ يصل إلى 5 بقع. في 70 ٪ من الإيثانول و 50 ٪ ما يصل إلى 2 بقع وفي 30 ٪ من الإيثانول و أكوادس تنتج فقط 1 وصمة عار. ويرافق ذلك شدة اللون الذي يبدو يتلاشى من 96٪ إيثانول إلى أكواد. في تحليل نتائج **PCA**، كان هناك تجميع لتفسير الاختلاف الكلي بنسبة 94.1٪ ($1PC = 63,1$ ٪ و $2 PC = 31$ ٪). أظهرت نتائج تحليل خريطة الحرارة أن 96٪ من الإيثانول يحتوي على مستويات مركب أكثر نشاطا من المذيبات الأخرى التي تميزت باللون الأحمر الأكثر كثافة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acalypha indica Linn atau tanaman anting-anting atau akar kucing merupakan gulma liar yang ditemukan tersebar luas di wilayah tropis seperti di Amerika, Afrika dan Asia (Islam dkk, 2019). Menurut Chekuri dkk (2020), gulma ini merupakan tanaman obat penting dengan sejumlah khasiat bagi kesehatan manusia. Ekstrak daun, batang dan akar tanaman ini telah digunakan dalam terapi konvensional dan tradisional untuk berbagai gangguan, seperti infeksi pada mata, gangguan pernapasan, rematik, masalah kulit dan dapat menurunkan kadar gula darah pada manusia. Sesuai dengan QS. Sad ayat 27 yang berbunyi:.

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَلِكُمْ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ
كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

27. Kami tidak menciptakan langit dan bumi serta apa yang ada di antara keduanya secara sia-sia. Itulah anggapan orang-orang yang kafur. Maka, celakalah orang-orang yang kafur karena (mereka akan masuk) neraka.

Dalam surat Sad ayat 27 menjelaskan bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu di dunia ini tidak ada yang sia-sia. Allah SWT menciptakan seluruh isi bumi dan langit ini dengan tujuan mereka Menyembah-Nya dan Mengesakan-Nya. Semua ciptaan itu penuh kelimpahan karunia dan fungsinya masing-masing. Apabila terdapat seseorang yang tidak beranggapan demikian, maka orang tersebut dalam keadaan yang celaka. Artinya seseorang tersebut tidak beriman atau tidak percaya kepada Allah SWT dengan apa-apa yang ada di dunia ini. Salah satu bentuk iman kepada Allah SWT adalah percaya bahwa penciptaan tumbuh-tumbuhan yang

ada di bumi memiliki peran dan fungsinya masing-masing, termasuk diciptakannya tanaman *Acalypha Indica Linn* yang memiliki banyak manfaat bagi manusia.

Kandungan senyawa yang terdapat pada tumbuhan anting-anting yaitu meliputi aleuron, steroid, alkaloid, saponin dan flavonoid (Handayani, 2018). Hasil identifikasi fitokimia ekstrak daun ditemukan adanya saponin, tanin dan minyak atsiri. Hasil uji fitokimia pada daun *acalypha indica* menunjukkan adanya acaindinin, aurantiamid, korilagin, asam ferulik, resin dan triasetonamid (Chekuri dkk., 2020). Pada batangnya mengandung flavonoid (glikosida kaempferol) (Kumar dan Pandey, 2013), dan daunnya mengandung minyak atsiri, steroid, dan triterpenoid (Dalimartha, 2010), asam askorbat, β -sitosterol, fiber, quercetin, dan kaemferol (Duke, 2009). Kandungan metabolit sekunder inilah yang menjadikan daun tanaman anting-anting digunakan secara luas dalam pengobatan konvensional dan tradisional oleh masyarakat untuk mengobati berbagai gangguan.

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: "Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala." (HR. Muslim)

Hadits di atas mengisyaratkan diizinkannya seseorang Muslim mengobati penyakit yang dideritanya. Sebab, setiap penyakit pasti ada obatnya. Jika obat yang digunakan tepat mengenai sumber penyakit, maka dengan izin Allah SWT penyakit tersebut akan hilang dan orang yang sakit akan mendapatkan kesembuhan. Meski demikian, kesembuhan dapat terjadi dalam waktu yang tidak singkat, jika penyebab penyakitnya belum diketahui atau obatnya belum ditemukan.

Senyawaan tanaman anting-anting dapat dipisahkan dengan menggunakan metode ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi adalah ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik dalam prosesnya menggunakan bantuan gelombang ultrasonik dimana terjadi pembentukan gelembung-gelembung kavitasi yang membantu terjadinya interaksi antara pelarut dengan sampel ekstraksi (Melechi, dkk., 2006). Ekstraksi memiliki faktor-faktor yang mempengaruhi antara lain suhu, lama ekstraksi, jenis pelarut, ukuran partikel, pH media ekstraksi, jumlah ekstraksi dan degradasi senyawa selama ekstraksi (Savova, dkk. 2007). Berdasarkan penelitian Safitri (2018), dilakukan optimasi ekstraksi ultrasonik tanaman anting-anting dengan pelarut etanol diperoleh hasil yang paling optimum dengan lama ekstraksi 20 menit menghasilkan rendemen 4,803%. Sedangkan penelitian Qoriati (2018) menyatakan bahwa ekstraksi tanaman anting-anting dengan pelarut etanol menghasilkan nilai rendemen sebesar 4,192% dalam waktu 30 menit. Pada penelitian ini variabel yang akan diteliti adalah faktor pelarut. Pelarut yang akan di gunakan adalah pelarut etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air. Dimana empat pelarut tersebut akan mempengaruhi profil metabolit yang terbentuk, yang akan berakibat pada hasil aktivitas kandungan senyawa aktif yang akan diekstrak nanti.

Standarisasi bahan baku seperti kualitas tanaman obat yang belum terkontrol dapat dilakukan dengan metode pendekatan metabolomik. Metabolomik adalah analisis *high throughput* yang berkaitan dengan kuantifikasi dan identifikasi metabolit molekul kecil (100-1.000 nm) dalam sel, jaringan, atau cairan (Lee dkk., 2007). Secara garis besar proses metabolomik memiliki dua teknik dasar untuk mengekstraksi sampel yaitu teknik kromatografi dan teknik spektroskopi (Vernocchi, dkk. 2012). Dalam penggunaan teknik tersebut memiliki kelebihan dan

kekurangan masing-masing. Teknik kromatografi merupakan metode primer karena proses kalibrasi menggunakan bahan standar murni, sedangkan pada spektroskopi menggunakan analisis sekunder dengan menggunakan bahan lain sebagai pembanding (Shoemaker, dkk. 1967). Penggunaan metode kromatografi lebih sederhana, cepat dan efektif dalam menganalisis sampel seperti bahan mentah dan produk lainnya (Altenau, 1966).

Kromatografi merupakan metode dalam analisis sidik jari yang dapat mengevaluasi dan melakukan kontrol kualitas multikomponen dari bahan baku obat herbal, salah satunya adalah kromatografi lapis tipis (Zhao, 2018). KLT (*Thin Layer Chromatography*) menurut Wulandari, dkk., (2011) memiliki keunggulan mudah digunakan, biaya lebih rendah, alat yang sederhana, kapasitas sampel yang besar, jumlah pelarut sedikit dan hasil yang cepat. Hasil yang diperoleh juga dapat digunakan untuk mendeteksi pemalsuan bahan yang digunakan dalam suatu produk obat herbal (Ankli, dkk., 2008). Beberapa penelitian terkait analisis senyawa aktif pada tumbuhan dengan metode KLT seperti analisis biji pepaya (*Carica Papaya L.*) (Nikmah, 2022); analisis biji anggur bali (*Vitis vinifera L. Alphonso Lavalle*) (Cholifah, 2022); kendali mutu daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus*) (Nuryani, 2015). Sehingga kromatografi lapis tipis ini sangat efektif digunakan dalam penelitian ini untuk mengetahui pola senyawa yang akan diidentifikasi menggunakan ImageJ.

Berdasarkan dari hasil keluaran KLT yaitu berupa faktor retensi (Rf), yang kemudian dilakukan olah data menggunakan ImageJ dimana *software* ini merupakan suatu piranti lunak yang dapat mengubah citra dari bentuk pita menjadi bentuk kromatogram. Data dari kromatogram ini berupa nilai AUC. Nilai AUC

(*Area Under Curve*) adalah nilai luas area di bawah kurva puncak kromatogram. Data nilai AUC yang kemudian digunakan untuk melakukan pengenalan pola sehingga dapat mengelompokkan tanaman dengan metode *Principle Component Analysis* (PCA). Setiap data akan diklasifikasikan dan hasilnya akan ditampilkan dalam bentuk *Scare Plot* berdasarkan nilai AUC-nya, semakin dekat satu titik dengan yang lainnya, semakin besar kemiripan diantara nilai AUC dari pita komponen sampel. Proses PCA ini dapat dilakukan dengan bantuan *software* MetaboAnalyst. Penelitian Ilmiah (2022) tentang analisis PCA dari ekstraksi tanaman anting-anting dengan KLT memiliki hasil pola pengelompokkan yang baik.

Oleh karena itu, berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, maka penelitian ini dilakukan dengan ekstraksi tanaman anting-anting menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut polar (etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air). Kemudian dilakukan pemisahan senyawa aktif menggunakan KLT dengan eluen Sikloheksana : Toluena : Dietilamin (75:15:10). Dari proses tersebut menghasilkan pola pemisahan dari sampel yang kemudian akan diolah menggunakan ImageJ, sehingga menghasilkan sebuah data kuantitatif yang akan diuji menggunakan PCA berbantu *software* MetaboAnalyst agar bisa mengelompokkan sampel berdasarkan variasi pelarut polar..

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini ialah :

1. Bagaimana pola kromatogram sidik jari pada tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) berdasarkan variasi pelarut polar?

2. Bagaimana pengelompokkan senyawa tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) berdasarkan variasi pelarut polar menggunakan PCA?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini ialah :

1. Mengetahui pola kromatogram sidik jari pada tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) berdasarkan variasi pelarut polar.
2. Mengetahui pengelompokkan senyawa tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) berdasarkan variasi pelarut polar menggunakan PCA

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Sampel yang digunakan ialah tanaman anting- anting (*Acalypha indica L.*) yang berasal dari Banyuwangi
2. Pelarut yang digunakan ialah etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air
3. Mengolah data secara kemometrik dengan *Principal Component Analysis* (PCA) dengan web MetaboAnalyst.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan dapat mengetahui manfaat dari tanaman herbal anting-anting (*Acalypha indica L.*). Serta diharapkan dapat mengetahui informasi dari profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) senyawa aktif pada tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) dengan menggunakan pelarut yang konsentrasi kepolarnya berbeda yakni etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anting-Anting

Tanaman anting-anting mengandung senyawa turunan saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid (Rahmah, 2018) dan senyawa lainnya menjadikan tanaman ini berpotensi sebagai tumbuhan afrodisiaka (Yasmin, dkk. 2013). Tumbuhan afrodisiaka memiliki kandungan senyawa yang mampu menstimulasi nafsu atau kekuatan seksual pada hewan jantan, dengan mempengaruhi hormonal yaitu hormon reproduksi seperti testosteron. Hormon testosteron merupakan hormon yang masuk ke dalam aliran darah berfungsi mengatur pertumbuhan karakteristik seksual sekunder jantan dan libido (Widyaatmoko, 2000). Tanaman anting-anting memiliki sifat farmakologi (Ameilia, 2018) yang bermanfaat bagi hewan seperti kucing.

Tabel 2.1 Klasifikasi tanaman anting-anting (Chekuri dkk., 2016)

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Familia	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Achalypha Indicha</i>

Tanaman ini merupakan tanaman herba tahunan, tegak dengan beberapa cabang tegak. Batangnya bertrikoma, daunnya tunggal, bertangkai panjang, bentuk daun bundar telur hingga belah ketupat, 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 (Kirom dan Ramadhania, 2017).



Gambar 2. 1 Tanaman anting-anting (*Acalypha Indica* L.)

Tabel 2.2 Kandungan kimia dan efek farakologis tanaman anting-anting (Duke, 2009).

Kandungan Kimia	Efek Farmakologis
Fiber, asam askorbat	Antidiabetik
Asam askorbat	AntiAGE, β Glucoronidase Inhibitor
Asam askorbat, β -sitosterol, β - D-glucoside	Hipoglikemia
Tanin, Kaempferol, asam askorbat	Antioksidan
Tanin	Xanthin Oxidase Inhibitor
Kaempferol	5 lipoxygenase Inhibitor

Hasil identifikasi fitokimia ekstrak daun ditemukan adanya saponin, tanin dan minyak atsiri. Hasil uji fitokimia pada daun *Acalypha indica* menunjukkan adanya acaindinin, aurantiamid, korilagin, asam ferulik, resin dan triasetonamid (Chekuri dkk., 2020). Kandungan metabolit sekunder inilah yang menjadikan daun tanaman anting-anting digunakan secara luas dalam pengobatan konvensional dan tradisional oleh masyarakat.

2.2 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (pelarut) sebagai separating agent. Ekstraksi padat-cair; solut dipisahkan dari padatan pembawanya menggunakan pelarut cair. Ekstraksi cair-cair, solut dipisahkan dari cairan pembawa (diluen) menggunakan pelarut cair. Campuran diluen dan pelarut ini adalah heterogen (immiscible, tidak saling campur). Pemilihan pelarut menjadi sangat penting, dipilih pelarut yang memiliki sifat antara lain pelarut dapat melarutkan solut tetapi sedikit atau tidak melarutkan diluen, pelarut tidak mudah menguap pada saat ekstraksi, pelarut mudah dipisahkan dari solut, sehingga dapat dipergunakan kembali dan pelarut tersedia dipasaran dan tidak mahal (Lesty, 2011).

Ultrasonik merupakan metode ekstraksi non termal yang dapat meningkatkan laju transfer massa serta memecahkan dinding sel dengan banyaknya microcavity sehingga akan mempersingkat waktu proses dan mengoptimalkan penggunaan pelarut. Peningkatan kecepatan kontak antara ekstrak dan solven menyebabkan peningkatan penetrasi cairan menuju dinding sel dan melepas komponen sel (Shirsath, dkk.. 2012). 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 (Thompson, dkk. 1999). Beberapa kelebihan lain metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) adalah dapat mengeluarkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak (Babaei, dkk., 2006), penggunaan

pada temperatur rendah (suhu ruang) dapat mengurangi kehilangan panas, dan mencegah hilangnya atau menguapnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Dolatowski, dkk., 2007).

Tabel 2.3 Senyawa aktif tanaman anting-anting dan titik didihnya (Adawiyah, 2018)

Pelarut	Senyawa	Titik didih (°C)
Etanol	Flavonol	316,5
	Sterol	233
	Polifenol	640-650
	Flavonoid	75
Etanol, air	Tanin	218
	Alkaloid	363
	Terpenoid	155-200
Air	Antosianin	100
	Saponin	158
	Lektin	149
	Pelipeptida	155-165

Pada penelitian Qoriati (2018) dilakukan ekstraksi tanaman anting-anting dengan metode ekstraksi ultrasonik frekuensi 42 kHz pada suhu ruangan. Saat ekstraksi perbandingan berat sampel : volume pelarut (b/v) adalah 1:10 dengan lama ekstraksi (10, 20, dan 30 menit) ditunjukkan hasil sebagai berikut.

Tabel 2.4 Hasil rendemen ekstrak tanaman anting-anting

Perlakuan	Rata-rata rendemen (%) \pm SD
Etanol 10 menit	3,390 \pm 0,2413
Etanol 20 menit	3,575 \pm 0,3303
Etanol 30 menit	4,192 \pm 0,0931

Menggunakan metode ekstraksi dapat menghasilkan rendemen lebih besar daripada metode maserasi karena gelombang ultrasonik mempercepat pecahnya dinding sel akibat kavitasi dan dapat mengekstrak banyak senyawa dalam waktu yang lebih cepat. Dalam penelitian Fauziyah, dkk (2022) melakukan ekstraksi bunga telang menggunakan metode maserasi, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), dan

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE), dimana hasil rendemen yang paling tinggi sebesar 69,286% menggunakan metode ultrasonik.

2.3 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen (Lesty, 2011). KLT adalah yang metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai (Lesty, 2011).

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam chamber. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual)

atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Lesty, 2011).

Pemilihan eluen merupakan faktor yang paling berpengaruh pada sistem KLT. Eluen dapat terdiri dari satu pelarut atau campuran dua sampai enam pelarut. Campuran pelarut harus saling sampur dan tidak ada tanda-tanda kekeruhan (Lesty, 2011). Pada KLT, identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai R_f dibandingkan R_f standar. Nilai R_f umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan R_f relatif yaitu nilai R_f noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama (Lesty, 2011).

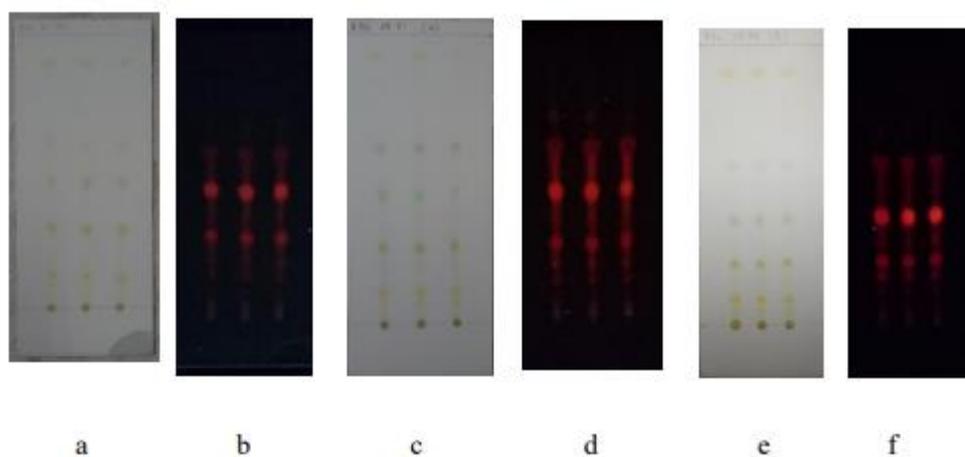
$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi analit}}{\text{Jarak migrasi eluen}} = \frac{Z_s}{Z_f}$$

Metode pemisahan berdasarkan polaritas, senyawa-senyawa terpisah karena perbedaan polaritas. Afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak tergantung kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak (like dissolve like). Analit akan cenderung larut dalam fase dengan polaritas sama. Analit akan berpartisipasi diantara dua fase yaitu fase padat-cair dan fase cair-cair. Ketika analit berpartisipasi antara fase padat dan cair faktor utama pemisahan adalah adsorpsi. Sedangkan bila analit berpartisipasi antara fase cair dan fase cair, faktor utama pemisahan adalah kelarutan. Prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase padat dan fase cair biasa disebut dengan adsorpsi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi adsorpsi. Sedangkan prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase cair dan fase cair

disebut dengan partisi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi cair (Lesty, 2011).

Pemunculan warna noda pada plat KLT berwarna merah bata dibawah lampu UV 366 nm dan berwarna kehitaman di bawah lampu UV 254 nm, ini menunjukkan adanya senyawa aktif. Warna noda yang tampak dibawah sinar UV disebabkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat ausokrom pada noda tersebut. Gugus kromofor adalah gugus yang menyerap radiasi elektromagnetik (sinar UV) dan memiliki ikatan rangkap tak jenuh, sedangkan gugus ausokrom adalah gugus yang terikat pada gugus kromofor sehingga pita absorpsi akan tergeser ke panjang gelombang yang lebih besar dan intensitasnya akan naik.

Pada penelitian Safitri (2018) dilakukan ekstraksi kasar tanaman anting-anting dengan pelarut etanol kemudian dilakukan KLT menggunakan eluen sikloheksana:toluena:dietilamin (75:15:10) dengan hasil sebagai berikut



Gambar 2. 2 Hasil ekstrak kasar pada pelarut polar

Keterangan :

- a. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 10 menit tanpa lampu UV
- b. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 10 menit menggunakan lampu UV 366 nm

- c. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 20 menit tanpa lampu UV
- d. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 20 menit menggunakan lampu UV 366 nm
- e. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 30 menit tanpa lampu UV

Berdasarkan hasil KLT ekstrak tanaman tersebut didapatkan nilai Rf sebagai berikut

Tabel 2.5 Hasil data KLT dan nilai Rf

Lama Ekstraksi (Menit)	Nomor Noda	Rf			Rerata Rf \pm SD	Rerata Resolusi \pm SD
		U1	U2	U3		
10	1	0.281	0.281	0.281	0.281 ± 0	1.23 ± 0.043
	2	0.463	0.463	0.463	0.463 ± 0	1.04 ± 0.039
	3	0.600	0.600	0.600	0.600 ± 0	
20	1	0.269	0.269	0.269	0.269 ± 0	1.67 ± 0.163
	2	0.444	0.444	0.444	0.444 ± 0	1.40 ± 0.059
	3	0.606	0.606	0.606	0.606 ± 0	
30	1	0.219	0.219	0.219	0.219 ± 0	1.20 ± 0.044
	2	0.375	0.375	0.375	0.375 ± 0	1.56 ± 0.062
	3	0.506	0.506	0.506	0.506 ± 0	

Keakuratan dalam metode kromatografi lapis tipis dapat dilihat melalui simpangan nilai baku Rf yang dihasilkan, dengan syarat nilai simpangan baku Rf sebesar 0,02. Pada gambar di atas didapatkan nilai simpangan baku sebesar 0. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil tersebut akurat. Keakuratan yang dihasilkan dalam tahap ini belum dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawaan yang didapat. Akan tetapi dari nilai Rf dapat menduga senyawa aktif yang diperoleh berupa tanin, resin, terpenoid, flavonoid, chrysin, hesperetin, galangin, kaempferol, alkaloid, steroid, 3,4-Dehydro-L-proline, saponin. Selain itu, hasil nilai Rf dapat berbeda-beda dalam setiap penelitian. Salah satu faktor pembedanya adalah ekstrak kasar yang dihasilkan, dimana masih kemungkinan memiliki pengotor yang dapat mempengaruhi nilai Rf.

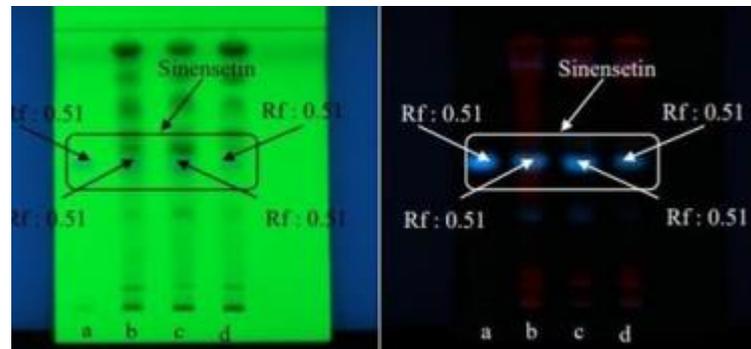
2.4 Analisis *ImageJ*

ImageJ ialah suatu piranti lunak untuk mengolah gambar yang berbasis program Java dan mudah didapatkan secara bebas untuk kalangan umum. Program ini dikembangkan oleh *resrarch services branch (RSB), national institute of mental health (NIMH)*, bagian dari *national institute of mental heaalth (NIH)*, Bethesda, Maaryland, USA . *ImageJ* bisa menampilkan, memproses, mengedit, menyimpan, menganalisa, serta mencetak 8-bit, 16-bit, dan 32-bit.

ImageJ ialah suatu piranti lunak yang bisa mengubah citra dari bentuk pita menjadi bentuk densitogram. *ImageJ* juga bisa 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. Selain itu, dapat menghasilkan titik-titik yang berdekatan sepanjang garis lurus dengan nilai korelasi mendekati 1 dan stabil.

Penelitian sebelumnya yaitu oleh Fitriani (2011) yang berjudul diferensiasi temulawak, kunyit, dan bangle berdasarkan interpretasi kromatografi lapis tipis menggunakan *ImageJ*. Ada parameter yang penting dalam analisis menggunakan *ImageJ* yaitu penandaan pita yang berfungsi untuk memunculkan densitogram masing- masing komponen. Penandaan ini bertujuan menghasilkan nilai AUC yang dapat mewakili keseluruhan pita komponen yang ada untuk tiap penotolan. Pelebaran pada kotak penanda dari ukuran kotak awal tidak terlalu mempengaruhi nilai AUC tetapi perbedaan tinggi sangat mempengaruhi nilai AUC, yaitu nilai yang jauh menurun. Semakin besar konsentrasi komponennya, semakin tinggi puncak yang dihasilkan karena intensitas warna gambar yang semakin terang.

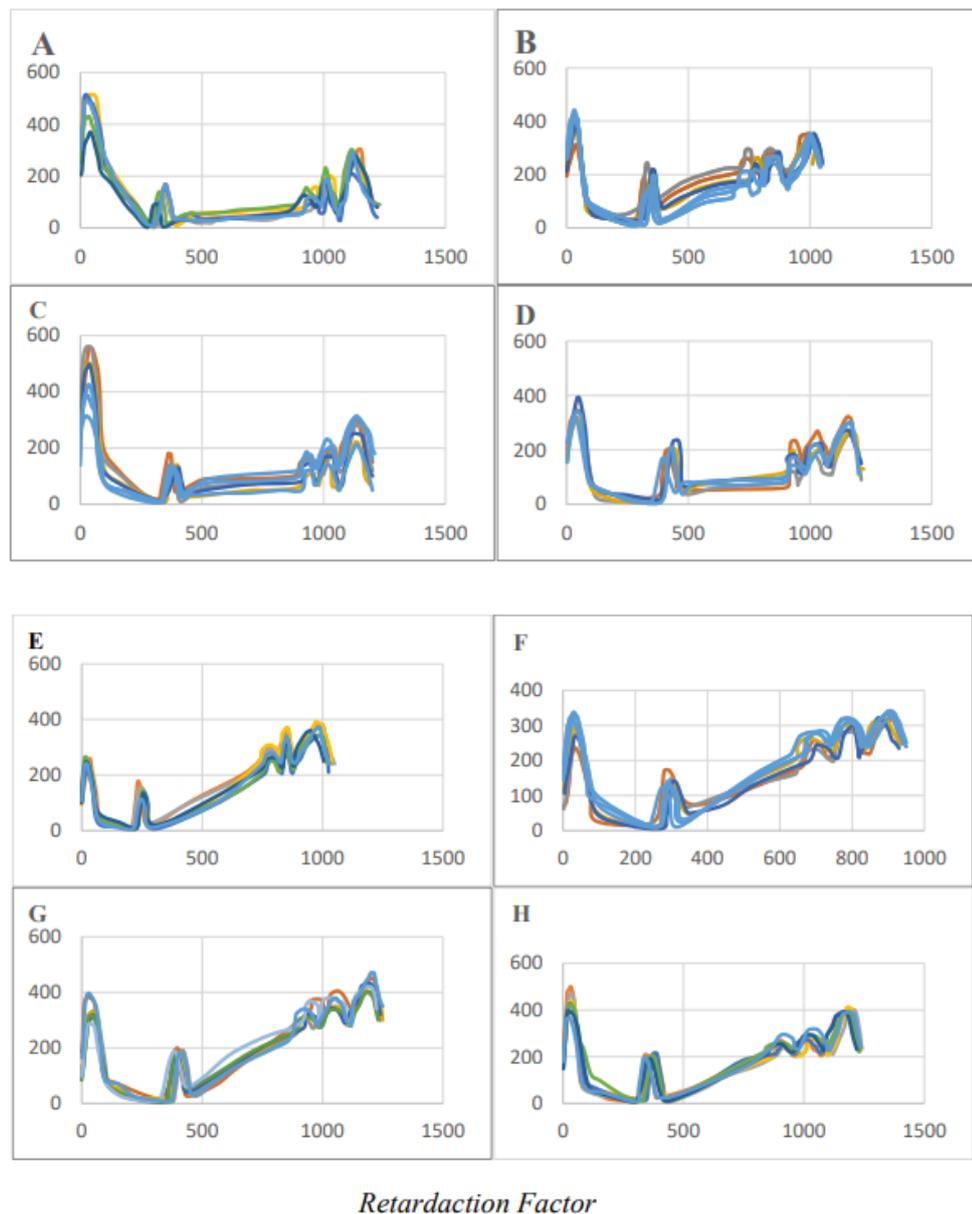
Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nuryani (2015) mengenai kendali mutu daun kumis kucing (*orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik, hasil dari *ImageJ* yaitu :



Gambar 2. 3 Noda sinensetin pada pelat KLT pada λ 254 nm dan 366 nm standar sinensetin (a), Cigombong (b), Nagrak (c), dan Pacet (d)

Gambar di atas menunjukkan noda pola pelat KLT yang sama dari 3 daerah yang berbeda. Hal ini menandakan jenis senyawa yang sama pada daun kumis kucing daerah Cigombong, Nagrak, dan Pacet, namun hanya berbeda intensitas atau jumlahnya. Oleh karena itu, semakin tinggi nilai AU, semakin besar konsentrasi senyawa yang diperoleh. Hasil tersebut juga membuktikan bahwa secara kimia terdapat perbedaan mutu daun kumis kucing berdasarkan perbedaan daerah.

Penelitian yang dilakukan Nikmah (2022) hasil keluaran analisis biji pepaya (*Carica papaya l.*) berdasarkan variasi waktu penotolan menggunakan KLT, diubah menjadi kromatogram dengan bantuan *ImageJ*



Gambar 2. 4 Kromatogram sampel pepaya hawai Bogor dan Magetan berdasarkan variasi waktu penotolan

Keterangan :

- a,e) Hasil Uji Stabilitas Waktu Penotolan Bogor, Magetan (0 Menit)
- b,f) Hasil Uji Stabilitas Waktu Penotolan Bogor, Magetan (30 Menit)
- c,g) Hasil Uji Stabilitas Waktu Penotolan Bogor, Magetan (60 Menit)
- d,h) Hasil Uji Stabilitas Waktu Penotolan Bogor, Magetan (90 Menit)

Hasil kromatogram bertujuan untuk menunjukkan bahwa sampel memiliki perbedaan pada setiap perlakuan dan begitu juga intensitas yang dihasilkan.

2.5 Analisis Principal Component Analysis (PCA)

Principal Component Analysis atau disebut juga Transformasi Karhunen-Loeve adalah teknik yang digunakan untuk menyederhanakan suatu data, dengan cara mentransformasi linear sehingga terbentuk sistem koordinat baru dengan variasi maksimum (Munir, 2004). PCA dapat digunakan untuk mereduksi dimensi suatu data tanpa mengurangi karakteristik data tersebut secara signifikan (Cahyadi, 2007). Metode ini mengubah dari sebagian besar variabel asli yang saling berkorelasi menjadi satu himpunan variabel baru yang lebih kecil dan saling bebas (tidak berkorelasi lagi).

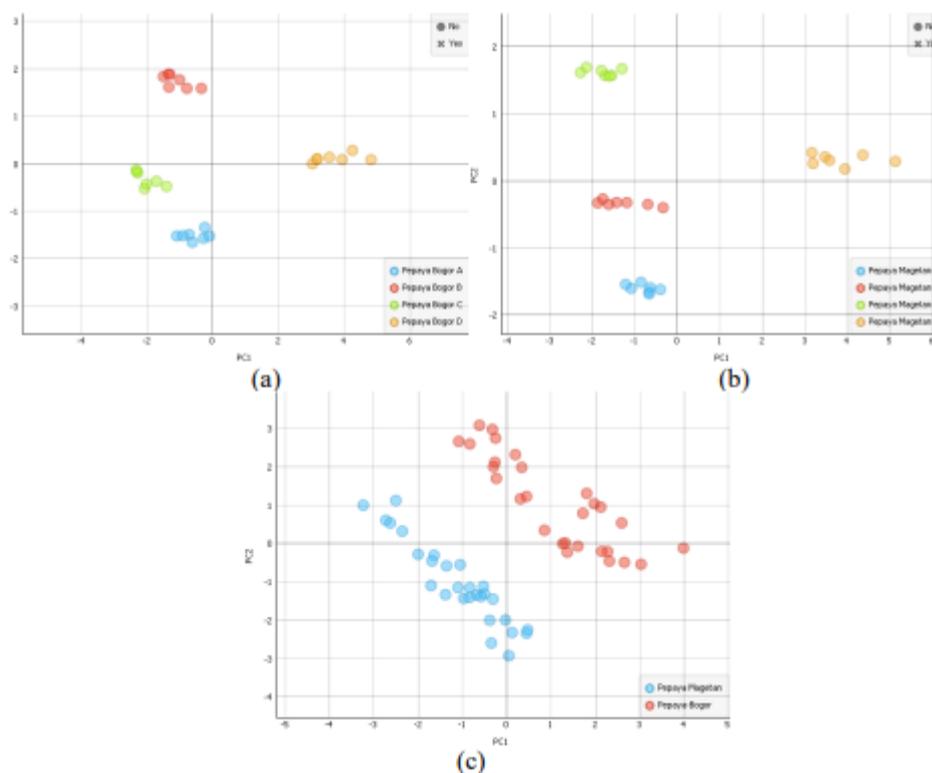
Prinsip dasar dari algoritma *Principal Component Analysis* adalah mengurangi satu set data namun tetap mempertahankan sebanyak mungkin variasi dalam set data tersebut. Secara matematis *Principal Component Analysis* mentransformasikan sebuah variabel yang berkorelasi ke dalam bentuk yang bebas tidak berkorelasi. *Principal Component* adalah bentuk proyeksi transformasi linier dari variabel data. *Principal Component* satu dengan yang lain tidak saling berkorelasi dan diurutkan sedemikian rupa sehingga *Principal Component* yang pertama memuat paling banyak variasi dari data set. Sedangkan *Principal Component* yang kedua memuat variasi yang tidak dimiliki oleh *Principal Component* pertama.

Tujuan dari PCA adalah untuk mereduksi dimensi yang besar dari ruang data (observed variables) menjadi dimensi yang lebih kecil dari ruang fitur (*independent variable*), yang dibutuhkan untuk mendiskripsikan data lebih sederhana (Pratiwi dan Harjoko, 2013). Tujuan khusus *Principal Component Analysis* (PCA) yaitu (Mishra, dkk., 2017) :

1. ekstrak informasi paling penting dari tabel data;
2. kompres ukuran kumpulan data dengan hanya menyimpan informasi penting ini;
3. menyederhanakan deskripsi kumpulan data; Dan
4. Menganalisis struktur pengamatan dan variabel.
5. Kompres data, dengan mengurangi jumlah dimensi, tanpa banyak kehilangan informasi.
6. Teknik ini digunakan dalam kompresi gambar

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 dataspektrum 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). Selain itu, PCA digunakan untuk mengetahui kedekatan antar sampel data keseluruhan dari AUC yang terdapat dalam tanaman ating-anting, PCA juga digunakan untuk mereduksi data yang berukuran besar menjadi komponen utama yang dapat mewakili struktur dan varians dalam data (Miller dan Miller 2000). Metode ini digunakan untuk melakukan pengenalan pola sehingga dapat mengelompokkan tanaman berdasarkan pendekatan variasi kepolaran pelarut, *score plot* dengan menggunakan dua buah PC, dimana PC yang pertama biasanya paling berguna karena kedua PC ini menggambarkan variasi terbesar dari data.

Penelitian yang dilakukan oleh Nikmah (2022) setelah didapat nilai AUC berdasarkan hasil plat KLT yang diubah menjadi kromatogram, dianalisis menggunakan metode PCA untuk membuat pola kelompok



Gambar 2. 5 Score Plot nilai AUC sampel biji pepaya dari Bogor dan Magetan

Gambar *score plot* di atas menunjukkan bahwa tanaman yang berdekatan memiliki kemiripan sifat dan komposisi kimia yang di milikinya. Pada penelitian ini semakin dekat satu titik dengan yang lainnya semakin besar kemiripan diantara nilai AUC-nya. Hasil membuktikan bahwa sampel dengan jenis yang sama, akan tetapi tempat pengambilan berbeda maka senyawa yang didapat sama akan tetapi kadar yang dimiliki senyawa bisa berbeda (Fitrianti, 2011). Nikmah (2022) menyimpulkan bahwa tanaman dengan jenis yang sama berasal dari daerah yang berbeda, bisa memiliki senyawa yang sama tetapi bisa memiliki kadar yang berbeda, hal ini

dimungkinkan ada beberapa faktor yang mungkin berpengaruh pada mutu tanaman herbal seperti spesies, waktu panen, bagian tanaman yang digunakan, dan perlakuan pasca panen.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2024 sampai Mei 2024 di Laboratorium Kimia Analitik Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, blender, oven, loyang dan ayakan 90 mesh, botol ekstraksi, kertas saring, corong gelas, gelas pengaduk, gelas arloji, plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄, oven, loyang, pipa kapiler, chamber, spatula, botol vial, pipet ukur, bola hisap, pipet tetes, alat semprot, cutter, penggaris, ultrasonik dan Camera

3.2.2 Bahan

Adapun bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.), etanol pure, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, aquades, sikloheksana, toluena, dietilamin, dan plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode kualitatif. Pertama diambil tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) dan dikeringanginkan serta dihaluskan dengan menggunakan blender. Selanjutnya diayak dengan ukuran 90 mesh.

Serbuk kasar kemudian dilakukan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, aquades selama 20 menit. Ekstraksi ultrasonik yang digunakan memiliki frekuensi 42 KHz pada suhu kamar. Selanjutnya disaring dan filtratnya merupakan ekstrak kasar senyawa tanaman anting-anting. Ekstrak kasar tanaman anting-anting dipisahkan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil kromatogram kemudian dianalisis menggunakan *ImageJ* dan PCA.

3.4 Tahap Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. preparasi sampel tanaman anting-anting.
2. Ekstraksi senyawa tanaman anting-anting dengan ultrasonik dengan lama ekstraksi 20 menit dan variasi pelarut (etanol absolute 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, aquades).
3. Metode pemisahan kromatografi lapis tipis berdasarkan perbedaan pelarut dengan menggunakan eluen Sikloheksana : Toluena : Dietilamin (75:15:10).
4. Analisis profil senyawa tanaman anting-anting menggunakan KLT.
5. Analisis menggunakan *ImageJ*
6. Analisis menggunakan PCA dengan *software* *MetaboAnalyst*

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) diambil dari kota Banyuwangi daerah Purwoharjo. Kemudian semua tanaman anting - anting yang telah diambil dari beberapa tempat di campur. Tanaman anting-anting sebanyak

1 kg dicuci dengan air terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran dengan tumbuhan. Kemudian tanaman anting-anting dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven. Selanjutnya tanaman anting-anting dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk, kemudian serbuk diayak dengan ayakan mesh 90 mesh dan disimpan dalam wadah plastik

3.5.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik

Senyawa tanaman anting-anting diekstrak menggunakan ekstraksi ultrasonik selama 20 menit dengan frekuensi 42 KHz menggunakan lima variasi pelarut yaitu etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, aquades. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan cara diambil 1 gr serbuk sebanyak 5 untuk pelarut etanol, 5 untuk pelarut etanol 70%, 5 untuk pelarut etanol 50%, 5 untuk pelarut etanol 30%, 5 untuk pelarut aquades. Dilakukan dengan 5 kali pengulangan. Kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, aquades. Perbandingan antara berat : volume yang digunakan 1:10 (Handayani, 2016). Selanjutnya dimasukkan kedalam erlenmeyer / botol kaca dan dilakukan ekstraksi ultrasonik pada frekuensi 42 KHz dan sesuai dengan suhu kamar selama 20 menit. Kemudian disaring hasil ekstraksi dengan kertas saring sehingga didapat filtrat ekstrak tanaman anting-anting. Filtrat yang didapat di evaporasi menggunakan rotasi vakum evaporator. Ekstrak yang didapat dikemas dengan botol vial. Dan dihitung rendemennya.

3.5.3 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

3.5.3.1 Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa ekstrak tanaman anting-anting dilakukan dengan menggunakan plat silika G₆₀F₂₅₄ sebagai fase diamnya dengan ukuran 8 x 10 cm. Kemudian diberi garis pada tepi bawah dengan jarak 1 cm untuk mengetahui batas elusi dan batas tepi bawah dengan jarak 1 cm untuk menentukan titik awal penotolan. Selanjutnya plat silika G₆₀F₂₅₄ diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kelembaban air.

3.5.3.2 Persiapan fase Gerak (Eluen)

Sebelum dilakukan pengelusian, eluen dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu. Setiap campuran fase gerak dimasukkan ke dalam Chamber, kemudian ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 30 menit. Penjenuhan dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana. Eluen yang digunakan yaitu sikloheksana : toluena : dietilamin dengan perbandingan 75 : 15 : 10 (Fadhilah, 2016)

3.5.3.3 Proses Elusi

Ekstrak ditotolkan sebanyak 5 totolan (pada tempat yang sama) pada tiap variasi pelarut menggunakan pipa kapiler pada plat selanjutnya dielusi dengan fase gerak, plat tersebut dimasukkan dalam Chamber yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian Chamber ditutup rapat hingga fase geraknya mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Selanjutnya plat diangkat dan dikeringkan. Kemudian noda pada plat silika G₆₀F₂₅₄ hasil

dari KLT diamati menggunakan UV 366 nm. Dan diamati warna noda yang dihasilkan. Kemudian di dokumentasi dengan kamera Canon EOS 600D.

3.5.4 Analisis Menggunakan ImageJ

Gambar profil KLT hasil dokumentasi dengan kamera yang sudah berupa file (JPEG/PNG) diolah dengan software image J. Gambar yang akan diolah dapat dibuka dengan menekan “*File*”, “*Open*” dan dipilih gambar yang diinginkan. Gambar plat KLT ditandai dalam bentuk kotak penanda yang disediakan oleh Image J penandaan yang disamakan pada semua pola sidik jari merupakan tahap preprocessing, cara penandaannya dengan digunakan icon berebentuk kotak (Rectangular). Setelah itu, dipilih menu “*Analyze*”, “*Gels*”, dan “*Select first line*” atau dipilih “*Select next line*” untuk pita berikutnya jika pita yang akan diolah lebih dari satu. Selanjutnya, dipilih kembali menu “*Analyze*”, “*Gels*”, dan “*Plot lane*”, yang akan menampilkan kromatogram dari masing-masing gambar pita KLT sesuai intensitas warna yang diberikan. Pada masing-masing dasar puncak kromatogram yang dihasilkan, dibuat baseline menggunakan icon berbentuk garis “*Straight*” kemudian menekan icon berbentuk tongkat “*Wand tool*” pada daerah puncak tersebut, sehingga akan dihasilkan nilai AUC yang diinginkan secara otomatis. Proses *smoothing* dilakukan dengan memilih menu “*process-smooth*” atau menekan “*Ctrl-Shift-S*” pada gambar mentah plat KLT untuk memperhalus bentuk densitogram yang di hasilkan (Fitrianti, 2011).

3.5.5 Analisis Menggunakan PCA

Data dari *ImageJ* yaitu nilai AUC masuk di Excel, kemudian di analisis hasil intepretasi dari metode PCA (*Principal Component Analysis*). Dengan bantuan web *metaboanalyst*, tahap awal dibuka web *metaboanalyst* kemudian pilih “*click here to start*” kemudian pilih “*statistical analysis (one factor)*”. Setelah itu unggah data yang akan dianalisis dalam file bentuk “.csv”, pilih format “*samples in row (unpaired)*” kemudian klik “*submit*” dan tunggu prosesnya beberapa saat. Ketika muncul halaman data processing information, pilih “*proceed*” dan tunggu proses beberapat saat. Pada halaman normalization overview pilih “*auto scalling*” bagian data scalling kemudian klik “*normalize*” dan tunggu prosesnya, setelah itu klik “*view result*” dan akan muncul hasil dari normalisasi data. Kembali pada halaman normalization overview klik “*proceed*” kemudian akan dialihkan ke halaman select an analysis path to explore. Klik “PCA” pilih “*score plot*” atau “*2D score plot*”

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi dilakukan dengan pencucian tanaman anting-anting dengan air mengalir untuk memisahkan kotoran dengan tumbuhan agar tidak mempengaruhi hasil ekstraksi. Tanaman anting-anting yang dipotong kecil-kecil untuk memudahkan dalam proses ekstraksi dimana zat terlarut bereaksi dengan pelarut dan menghasilkan lebih banyak filtrat. Semakin luas permukaan atau semakin kecil ukuran partikel sampel maka akan berpengaruh dengan hasil ekstraksi dan lama proses ekstraksi, hal tersebut terjadi karena adanya kontak antara sampel dengan pelarut akan semakin besar (Antari, dkk. 2015). Penggunaan oven dalam proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sampel sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Selain itu pengurangan kadar air dapat menghentikan proses enzimatik sehingga dapat mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Keberadaan air dalam sampel dapat memicu pertumbuhan kapang dan mikroba lainnya. Selama bahan masih memiliki kandungan air yang tinggi beberapa enzim tertentu dalam sel akan menguraikan senyawa aktif, meskipun setelah selnya dalam keadaan mati (Handoyo dan Pranoto, 2020). Suhu yang tinggi memang mempercepat proses pengeringan akan tetapi seringkali bahan baku/sampel yang digunakan masih ada yang belum kering sempurna. Sebaliknya, jika suhu pengeringan terlalu rendah prosesnya akan berjalan lambat dan berpotensi adanya jamur dan mikroba yang berkembang. Sehingga secara umum suhu yang efektif untuk pengeringan berkisar kurang dari 60-70°C (Gunawan dan Mulyani, 2004; Handoyo dan Pranoto, 2020).



Gambar 4. 1 Serbuk Sampel Tanaman Anting-Anting

Sampel yang telah kering berwarna hijau-kecoklatan dan tekstur halus. Berbeda dengan warna asalnya sebelum dikeringkan berwarna hijau cerah dan teksturnya halus. Hal ini dipengaruhi oleh suhu dan waktu yang dibutuhkan saat proses pengeringan. Menurut Nugroho dan hariono (2022) pengeringan tepung okra dengan oven pada suhu tertentu tidak mengubah warna okra secara signifikan akibat waktu pengeringan yang singkat dan suhu yang rendah. Jika menurut Handoyo dan Pranoto (2020) dalam proses pengeringan daun mimba pada suhu tertentu menghasilkan daun yang masih berwarna hijau cerah, akan tetapi proses pengeringan yang tidak merata dapat merubah warna akibat adanya degradasi klorofil dari warna hijau menjadi hijau-kecoklatan. Proses pengayakan serbuk anting-anting bertujuan untuk menyamakan ukuran serbuk sampel, sehingga interaksi antara zat terlarut dengan pelarut lebih besar. Penyimpanan dalam wadah plastik bertujuan agar tidak merusak kandungan metabolit sekundernya.

4.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik dapat mengeluarkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak (Babaei, dkk., 2006), penggunaan pada temperatur rendah dapat mengurangi kehilangan panas, dan mencegah hilangnya atau menguapnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Dolatowski, dkk., 2007). Selain itu,

dapat mempercepat proses ekstraksi, meningkatkan rendemen yang dihasilkan dibandingkan dengan ekstraksi konvensional, menggunakan suhu yang rendah, dan volume pelarut yang sedikit (Mittal, dkk. 2017).

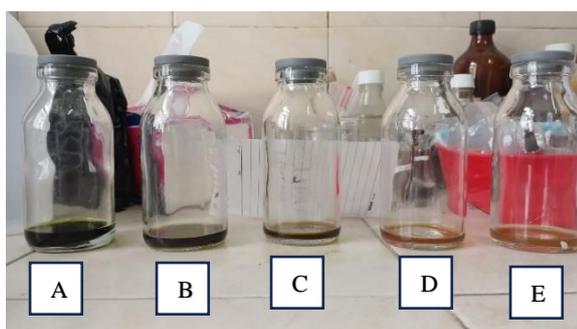
Serbuk tanaman anting-anting dicampur masing-masing pelarut polar dengan perbandingan 1:10 (*b/v*). Etanol sebagai pelarut pada sampel karena memiliki sifat polar. Konsentrasi etanol berpengaruh terhadap komponen bioaktif, semakin tinggi konsentrasi etanol semakin tinggi juga komponen bioaktif yang dihasilkan (Widarta dan Arnata, 2015 dalam Yasa, dkk. 2019). Menurut Deglas (2019), etanol dan air digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat. Kandungan metabolit yang terkandung pada ekstrak tanaman sangat dipengaruhi oleh metode dan kepolaran pelarut yang digunakan saat ekstraksi. Variasi kepolaran pelarut akan mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan, komposisi fitokimia dan uji aktivitasnya (Buhian dkk., 2016).



Gambar 4. 2 Serbuk sampel + aquades (a), serbuk sampel + etanol 30% (b), serbuk sampel + etanol 50% (c), serbuk sampel + etanol 70% (d), serbuk sampel + etanol 96% (e)

Serbuk sampel yang bercampur dengan masing-masing pelarut disajikan dalam Gambar 4.2 dimana jika dilihat secara fisik terdapat perbedaan dari sebelum dicampurkan. Etanol dan aquades memiliki warna cairan yang sama yaitu bening, akan tetapi memiliki bau yang bertolak belakang. Etanol berbau khas alkohol yang

menyengat, sedangkan aquades tidak memiliki bau. Perubahan sifat fisik yang terjadi dimana Gambar 4.2 dari (a) terlihat serbuk sampel tidak bercampur dengan pelarut aquades sama halnya dengan gambar 4.2 (b) yang tidak bercampur dengan etanol 30%. Sedangkan gambar 4.2 (c), (d), (e) terlihat semakin larut dengan pelarutnya, sehingga warna campuran semakin berwarna hijau pekat. Hasil ekstraksi selama 20 menit disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat ekstrak tanaman anting-anting.



Gambar 4. 3 Hasil Ekstrak Kasar Tanaman Anting-Anting dengan masing-masing pelarut: etanol 96% (a), etanol 70% (b), etanol 50% (c), etanol 30% (d), aquades (e)

Ekstrak yang didapat dikemas dengan dengan botol vial. Ekstrak kasar tanaman anting-anting yang didapat bervariasi warna dan kadarnya. Gambar 4.3 (a) terlihat ekstrak kasar berwarna hijau sangat pekat hampir kehitaman dan jumlah kadarnya paling banyak. Gambar 4.3 (b) dan (c) masih berwarna hijau tetapi sudah mulai terlihat kecoklatan dan kadarnya semakin berkurang, gambar 4.3 (d) dan (e) terlihat berwarna hijau kecoklatan dengan kadarnya yang sangat sedikit. Hal ini menunjukkan semakin polar pelarut yang digunakan, maka semakin sedikit ekstrak kasar yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Yasa, dkk (2019) hasil rendemen ekstrak daun sirih terbesar pada pelarut etanol 90%. Menurut Trifani 2012 dalam Wendersteyt, dkk 2021, etanol digunakan sebagai pelarut

karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat. Dilakukan perhitungan rendemen sebagai penunjuk bahwa semakin tinggi jumlah produk yang dihasilkan, maka semakin efektif prosedur yang digunakan (Rosida, dkk. 2018).

Tabel 4.1 Nilai rendemen ekstrak tanaman anting-anting

Pelarut	Rendemen (%)
Etanol 96%	5.348 ^b
Etanol 70%	3.691 ^b
Etanol 50%	2.923 ^a
Etanol 30%	1.197 ^a
Aquades	1.357 ^a

Keterangan: Nilai yang didampingi notasi yang berbeda “a” dan “b” menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Bnt $\alpha < 0.05$

Pelarut yang digunakan memiliki masing-masing rendemen dengan persentase yang berbeda. Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% memiliki hasil rendemen paling tinggi sebesar 5,348% dan etanol 30% memiliki nilai rendemen paling rendah yaitu 1,197%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terekstrak sebagian besar bersifat polar akan tetapi tidak terlalu terlarut sampai pada pelarut yang sangat polar. Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, dimana menurut Safitri (2018) rendemen dengan pelarut etanol 96% didapatkan sebesar 9,442%, Qoriati (2021) ekstrak etanol 96% tanaman anting-anting memiliki rendemen 4,803%. Hasil rendemen yang bervariasi dapat diakibatkan oleh ekstrak kasar tanaman yang diperoleh. Ekstrak kasar masih

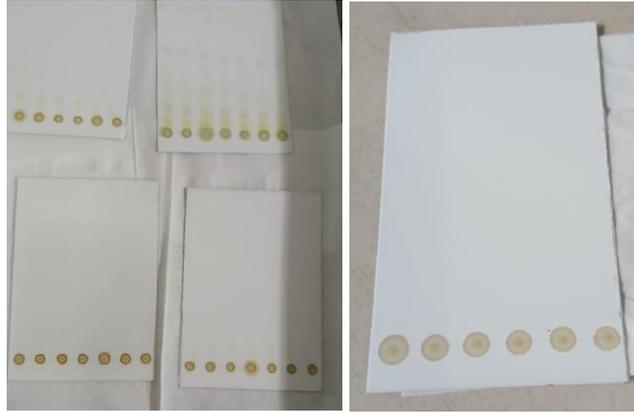
memungkinkan memiliki senyawa-senyawa pengotor yang mempengaruhi hasil rendemen. Selain itu faktor suhu dan waktu berperan penting dalam proses ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ultrasonik terjadi interaksi antara suhu dan waktu. Apabila suhu yang digunakan tinggi, maka proses ekstraksi dapat lebih cepat. Sebaliknya jika suhu lebih rendah, maka pelarut akan membutuhkan waktu lebih lama untuk berdifusi (Vardanega, dkk, 2014).

4.3 Analisis Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Penggunaan KLT bertujuan untuk memisahkan senyawa dalam ekstrak dan untuk menentukan jumlah komponen yang terpisah berdasarkan hasil spot. Plat silika G₆₀F₂₅₄ yang digunakan karena silika gel ini mampu berfluoresensi dengan baik pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Plat silika diaktivasi dengan cara dioven untuk menghilangkan kelembaban air. Fadhillah (2016) eluen yang digunakan yaitu sikloheksana : toluena : dietilamin dengan perbandingan 75 : 15 : 10 berperan sebagai fasa gerak yang bersifat non polar. Penjenuhan fase gerak (eluen) dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

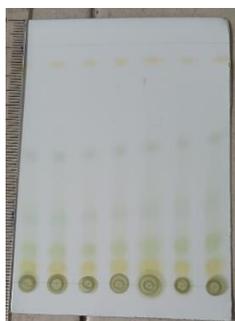


Gambar 4. 4 Proses elusi ekstrak kasar sampel pada plat KLT

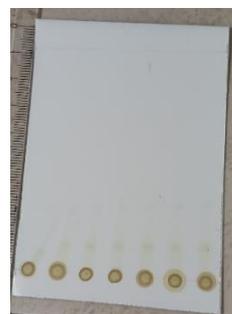


Gambar 4. 5 Hasil pemisahan dengan KLT

Hasil pemisahan dengan KLT nampak noda-noda yang terbentuk dalam masing-masing plat KLT. Noda yang terbentuk merupakan senyawa aktif tertentu dari ekstrak kasar. Perbedaan warna noda yang dihasilkan menandakan senyawa aktif yang berbeda-beda. Pengamatan dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm dilakukan untuk menampakkan lempeng KLT yang akan berfluoresensi dan menampakkan bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam sehingga bercak mudah dideteksi (Gandjar dan Rohman, 2007).

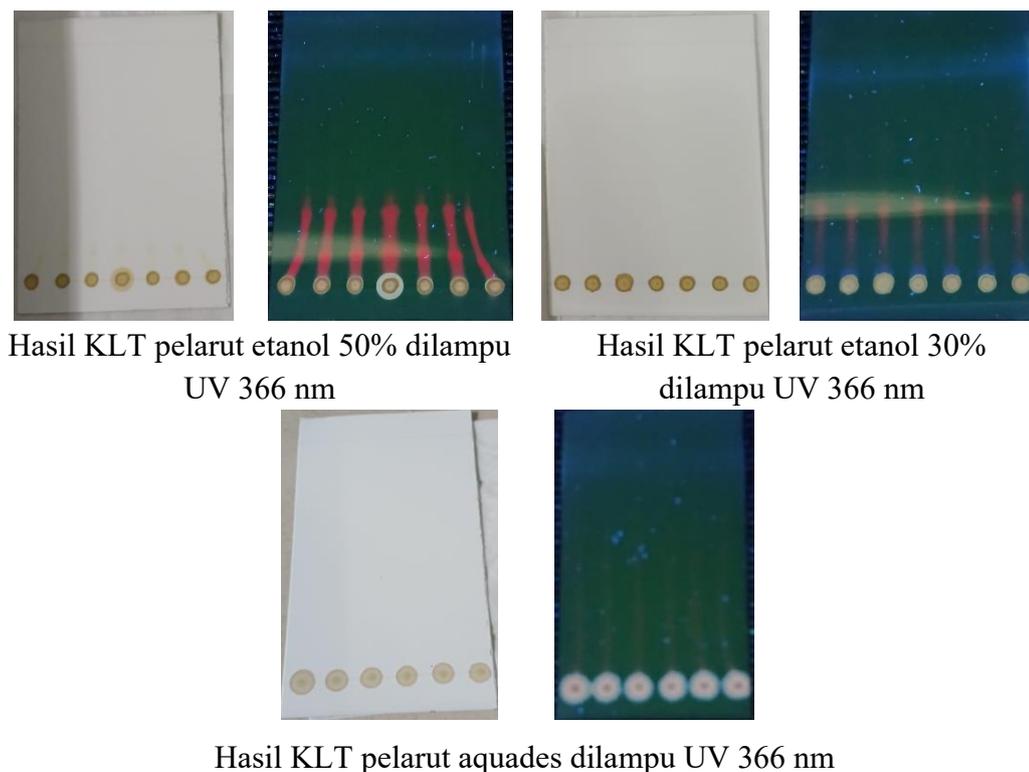


Hasil KLT pelarut etanol 96% dilampu
UV 366 nm



Hasil KLT pelarut etanol 70%
dilampu UV 366 nm





Gambar 4. 6 Hasil KLT dilampu UV 366 nm

Identifikasi pada gambar 4.6 pelarut etanol 96% terlihat memiliki lima noda. Hal ini berbanding jauh dengan hasil KLT gambar 4.6 etanol 30% dan aquades, dimana noda yang dihasilkan hanya satu pada setiap pengulangan dan hampir tidak terlihat serta gambar 4.6 pelarut etanol 70% dan etanol 50% hanya menghasilkan dua noda saja. Selain itu, intensitas dan jumlah noda yang dihasilkan semakin berkurang. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat kepolaran suatu pelarut, maka senyawa yang tertahan dalam fasa diam akan semakin sedikit. Sehingga senyawaan dalam ekstrak tanaman anting-anting akan terbawa oleh fasa gerak. Hal ini juga dipengaruhi oleh fluoresensi warna yang dihasilkan, dimana energi emisi yang dipancarkan pada saat kembali ke energi dasar sangatlah kecil. Warna noda yang tampak mengalami fluoresensi dimana emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen ketika elektron yang tereksitasi dari keadaan dasar ke keadaan

terekstasi. Setelah elektron terekstasi kembali ke keadaan dasar sehingga terjadi perbedaan energi emisi yang menyebabkan perbedaan fluoresensi warna yang dihasilkan tiap noda (Zahro, 2011). Hasil pemisahan yang terbaik dilihat dari banyaknya noda yang terpisah, bentuk noda yang bulat, tidak berekor, dan pemisahan antara ulangan satu dengan ulangan yang lain relatif sejajar. Menurut Markham (1998), pemisahan yang bagus adalah yang menghasilkan senyawa dengan jumlah yang optimal, noda tidak berekor, dan pemisahan nodanya jelas.

Perhitungan nilai Rf dan resolusi dari masing-masing spot digunakan untuk menunjukkan senyawa yang ada. Apabila nilai Rf sama atau tidak jauh berbeda, maka dapat dikatakan bahwa noda pembandingnya memiliki karakteristik yang sama. Hal ini diperkuat dengan dilakukan uji kepresisian menggunakan nilai *Standar Deviasi (SD)*.

Tabel 4.2 Hasil nilai Rf ekstrak tanaman anting-anting

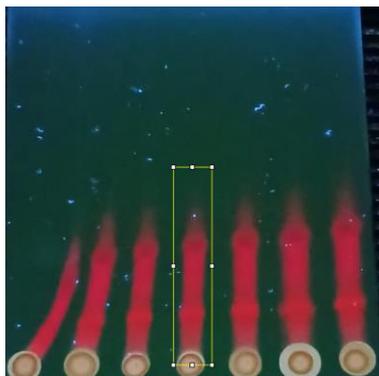
PELARUT	NODA	NILAI RF					SD	RERATA RF
		ULANGAN						
		1	2	3	4	5		
ETANOL 96	1	0.0625	0.0625	0.075	0.075	0.075	0.006847	0.07
	2	0.125	0.1375	0.15	0.1625	0.1625	0.016298	0.1475
	3	0.2625	0.275	0.2875	0.3125	0.325	0.025921	0.2925
	4	0.525	0.5375	0.55	0.575	0.5875	0.025921	0.555
	5	0.925	0.925	0.925	0.925	0.925	0	0.925
ETANOL 70	1	0.1125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.00559	0.1225
	2	0.2625	0.275	0.275	0.275	0.2875	0.008839	0.275
ETANOL 50	1	0.1	0.1125	0.1125	0.125	0.1125	0.008839	0.1125
	2	0.275	0.275	0.275	0.2875	0.2875	0.006847	0.28
ETANOL 30	1	0.35	0.35	0.3625	0.3625	0.3625	0.006847	0.3575
AQUADES	1	0.1375	0.125	0.1375	0.125	0.1375	0.006847	0.1325

Berdasarkan tabel 4.2 memaparkan nilai Rf pada masing-masing sampel dengan SD berkisar 0,0064-0,0318. Nilai SD yang diperoleh menunjukkan bahwa setiap daerah memiliki tingkat kepresisian yang tinggi dimana menurut Reich dan Schibli

(2008) nilai $SD R_f \leq 0,05$ maka masih memenuhi syarat keberterimaan. Keberagaman nilai R_f yang didapatkan menunjukkan adanya perbedaan komponen senyawa aktif. Senyawa dengan nilai R_f yang besar memiliki kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal ini dapat terjadi karena fasa diam bersifat polar, sehingga senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam dan menghasilkan nilai R_f yang kecil (Maulana, 2018). Sesuai dengan kemampuan etanol dalam berpenetrasi ke dalam dinding sel, dimana semakin mudah pelarut memecah dinding sel maka semakin besar nilai rendemen dan nilai R_f yang dihasilkan.

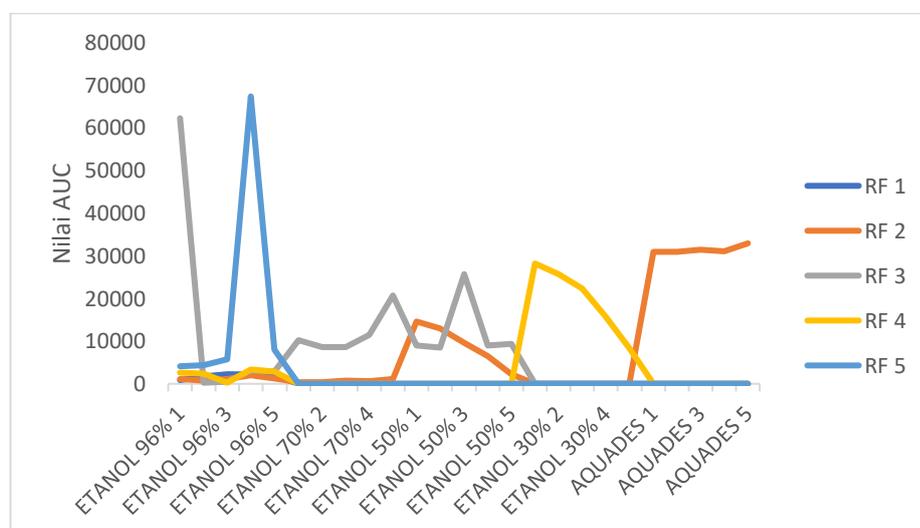
4.4 Analisis Hasil KLT menggunakan Image J

Hasil dari KLT dilanjutkan dengan pengolahan gambar plat KLT menggunakan aplikasi image J, mengubah noda menjadi sebuah data dalam bentuk kromatogram kemudian dari data kromatogram diketahui nilai AUC nya. Noda dari beberapa pelarut memiliki pola kromatogram yang hampir sama, akan tetapi jumlah puncak yang dihasilkan berbeda, hal ini memungkinkan karena jenis senyawa pada sampel tanaman anting-anting sama, namun hanya berbeda tingkat kepolarannya dan intensitasnya. Penandaan noda pada gambar bertujuan menghasilkan nilai AUC yang dapat mewakili keseluruhan pita komponen yang ada untuk tiap penotolan yang kemudian diolah dalam bentuk kromatogram.



Gambar 4. 7 Contoh penandaan plat

Berdasarkan pengujian yang dilakukan untuk tiap ukuran kotak yang berbeda dapat menyebabkan hasil ukuran AUC yang berbeda pula, sedangkan pelebaran kotak penanda dari ukuran kotak awal tidak terlalu mempengaruhi nilai AUC tetapi perbedaan tingginya sangat mempengaruhi nilai AUC. Ukuran kotak penanda sebenarnya tidak terlalu berpengaruh terhadap nilai AUC, tetapi apabila batas kotak pinggirannya sampai mengenai atau bahkan memotong gambar pita yang dianalisis maka ukuran densitogramnya akan berubah sehingga nilai AUC-nya berkurang. Untuk mencegah hal tersebut maka ukuran kotak penanda simetris dengan pita KLT dan konsisten di setiap pengulangannya.



Gambar 4. 8 Kromatogram ekstrak tanaman anting-anting

Pengolahan gambar KLT berupa kromatogram pada gambar 4.8 menunjukkan bahwa etanol 96% noda keempat memiliki nilai AUC paling tinggi pada Rf 5 dari kelima ekstrak sampel yang ada didapatkan hasil yang berbeda. Hal ini dapat diduga bahwa memiliki perbedaan komponen senyawa aktif akibat adanya perbedaan sifat kepolaran dari masing-masing pelarut. Semakin curam puncak yang dihasilkan, maka menunjukkan semakin tinggi nilai konsentrasi dari komponen senyawa aktifnya dan ini juga berlaku sebaliknya.

Hasil dari nilai AUC membuktikan bahwa variasi kepolaran pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap intensitas warna, yang mana pada sampel tanaman anting-anting mengalami penurunan intensitas dari etanol 96% ke aquades. Hal ini berarti apabila semakin polar suatu fasa diam maka semakin intensitas warna spot pada KLT akan semakin menurun, sehingga berpengaruh terhadap nilai AUC dimana nilainya akan semakin menurun. Adapun hasil nilai AUC yang didapatkan, yakni:

Tabel 4.3 Nilai AUC ekstrak tanaman anting-anting

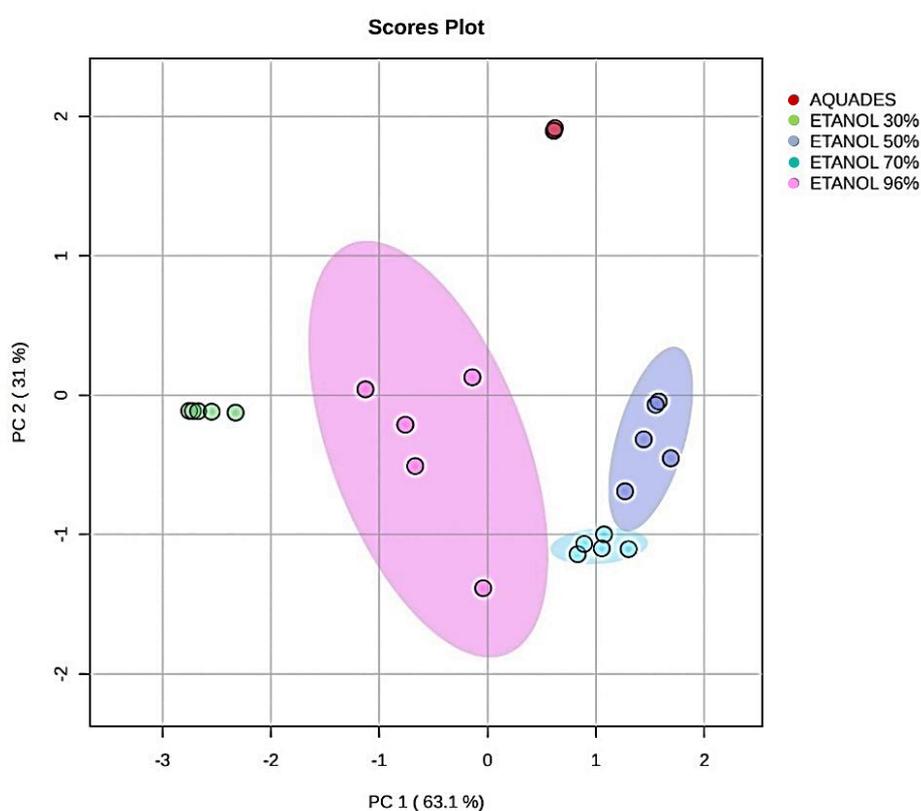
PELARUT	NODA	NILAI AUC					RERATA AUC
		U1	U2	U3	U4	U5	
ETANOL 96%	1	911.062	1793.104	2203.79	2209.983	1945.134	1812.6146
	2	1140.305	775.426	1177.083	1974.962	1187.255	1251.0062
	3	62248.34	245.506	452.698	3072.054	2918.175	13787.354
	4	2572.719	2431.569	190.213	3382.347	2858.761	2287.1218
	5	4172.397	4304.569	5798.146	67356.61	8013.317	17929.0082
ETANOL 70%	1	315.577	423.577	787.891	621.284	1175.79	664.8238
	2	10178.2	8664.309	8598.258	11472.45	20755.4	11933.7238
ETANOL 50%	1	14532.6	12998.12	9646.016	6435.731	2197.054	9161.9038
	2	8968.309	8521.309	25647.96	8929.309	9348.966	12283.17
ETANOL 30%	1	28198.79	25649.06	22362.45	15675.89	8368.51	20050.9394
AQUADES	1	30898.87	30963.77	31467.07	31023.72	32924.09	31455.5028

Nilai AUC yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin besar nilai AUC, maka intensitas atau kadar senyawa aktif semakin banyak juga. Nilai AUC

dipengaruhi oleh nilai Rf. Apabila nilai Rf besar, maka nilai AUC juga besar. Begitu pula sebaliknya. Dalam tahap ini masih belum terlihat jelas pola sidik jari terhadap variasi pelarut polar, sehingga data yang ada perlu dilakukan pengolahan kembali dengan menggunakan metode PCA yang diharapkan dapat menginterpretasi data secara jelas sehingga dapat menunjukkan bahwa adanya perbedaan dalam setiap variasi pelarut polar.

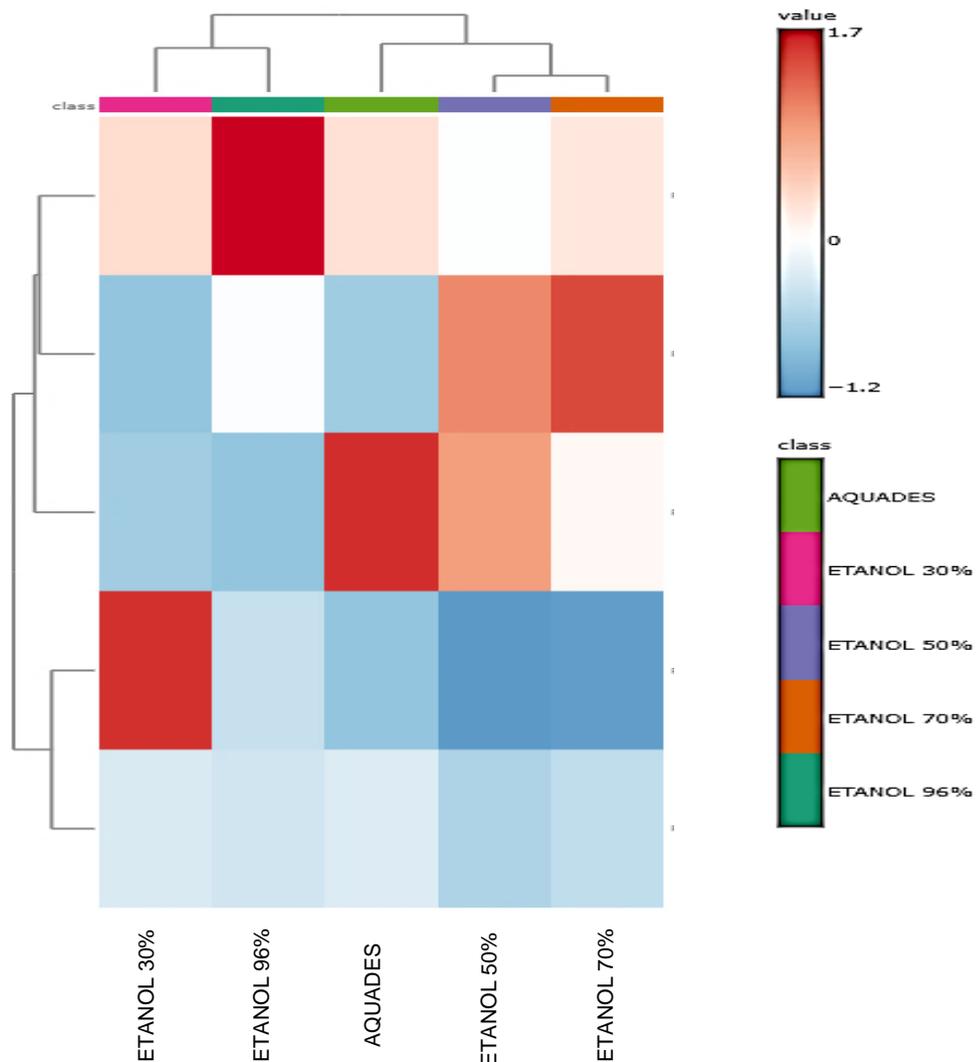
4.5 Pengelompokan Sampel Tanaman Anting-Anting menggunakan PCA

Hasil PCA memerlukan pengaturan tertentu untuk dapat melihat dengan jelas pengelompokannya. Dalam penelitian ini digunakan pengaturan tambahan berupa *normalize by median* dan log data transformasi, sehingga dihasilkan kelompok sebagai berikut:



Gambar 4. 9 Score plot dari nilai AUC sampel ekstrak tanaman anting-anting

Pada Gambar 4.9 menunjukkan *score plot* dari nilai AUC berdasarkan variasi pelarut polar. Plot tersebut dapat memperlihatkan pola pengelompokan dari kelima pelarut polar yang digunakan, semakin dekat satu titik dengan yang lainnya semakin besar kemiripan diantara nilai AUCnya. PC yang dihasilkan mampu menjelaskan 94,1% dari variasi total (PC1=63,1% dan PC2=31%). Pengelompokan yang sangat berdekatan bahkan hampir menjadi satu plot adalah aquades. Sedangkan pengelompokan pada etanol 70%, etanol 50%, dan etanol 30% masih dapat terlihat masing-masing pengulangannya. Berbeda dengan lainnya, etanol 96% terlihat sangat menyebar. Akan tetapi jika dilihat secara keseluruhan, kelompok aquades sangat jauh dari daerah pelarut-pelarut etanol. Hal ini dipengaruhi oleh nilai AUC dimana lebih banyak kemiripan antara pelarut etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, dan etanol 30%. Menurut Fitrianti (2011) kelompok tanaman yang berdekatan memiliki kemiripan sifat dan komponen senyawa aktif yang dimiliki. Penelitian ini menunjukkan semakin dekat satu titik dengan titik lainnya, maka semakin besar kemiripan diantara nilai AUCnya. Sehingga dapat dibuktikan bahwa sampel dengan jenis yang sama, akan tetapi pelarut yang digunakan memiliki sifat kepolaran yang berbeda, maka senyawa yang didapat sama akan tetapi kadar yang dimiliki senyawa bisa berbeda. Untuk lebih jelasnya juga dapat dilihat pada gambar 4.11 dimana pada Rf 5 pelarut etanol 96% memiliki daerah berwarna lebih merah dari yang lainnya. Bagian yang berwarna merah menandakan semakin tinggi intensitasnya dalam hal ini berupa senyawa aktifnya.



Gambar 4. 10 Heat map ekstrak tanaman anting-anting

4.6 Integrasi hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Penelitian ini mengkaji tentang analisis metode dalam tanaman anting-anting dengan memvariasikan pelarut polar dalam kromatografi lapis tipis. Analisis metode disini yaitu mencari suatu kondisi dimana senyawa sejauh mana bisa mempertahankan karakteristiknya dalam artian stabil. Dalam Al-Qur'an Allah telah menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakannya pasti sudah di ukur dengan serapi- rapinya, sebagaimana dalam Q.S al-Furqan ayat 2.

الَّذِي لَهُ مَلِكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

2. (Yaitu Zat) yang milik-Nyalah kerajaan langit dan bumi, (Dia) tidak mempunyai anak, dan tidak ada satu sekutu pun dalam kekuasaan(-Nya). Dia telah menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan sesuatu dan menetapkan ukurannya dengan serapi-rapinya, yang artinya segala sesuatu yang Allah ciptakan, kondisi atau fenomena apapun pasti sudah terukur dengan tepat, begitupun dalam penelitian ini suatu kondisi akan mencapai kondisi yang stabil bahkan dengan kepolaran pelarut yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil senyawa aktif tanaman anting-anting mendapatkan hasil terbaik pada pelarut etanol p,a, Dalam Q.S. Yasiin ayat 38.

وَالشَّمْسُ تَجْرِي لِمُسْتَقَرٍّ لَهَا ذَلِكَ تَقْدِيرُ الْعَزِيزِ الْعَلِيمِ

38. (Suatu tanda juga atas kekuasaan Allah bagi mereka adalah) matahari yang berjalan di tempat peredarannya. Demikianlah ketetapan (Allah) Yang Mahaperkasa lagi Maha Mengetahui.

Ayat di atas menjelaskan bahwa matahari berjalan ditempat peredarannya, dan Allah lah yang memiliki ketetapan dan kehendak atas semuanya. Menurut tafsir al-maraghi bahwa matahari beredar mengelilingi poros peredarannya yang tetap, matahari melakukan rotasi atau berputar pada dirinya sendiri pada sumbunya kira kira 200 mil per detik, sungguh Allah maha berkuasa yang mampu mengendalikan makhluk makhluknya. Demikian juga pada penelitian ini semua kondisi atau proses pemisahan pada KLT dapat memperoleh hasil dalam kondisi yang telah ditetapkan dan terukur. Dan yang terakhir yaitu pada Q.S. al-Imran ayat 191.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ
وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بٰطِلًا سُبْحٰنَكَ فِتْنٰنَا عَذَابَ النَّارِ

191. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka.

Ayat tersebut terdapat kata yaitu “Ya Tuhan kami, tidaklah engkau menciptakan semua ini sia-sia” artinya semua ciptaan Tuhan di dunia ini tidak ada yang sia sia, termasuk dalam penelitian ini yaitu tanaman anting-anting. Tanaman anting-anting ini ternyata kaya akan manfaat seperti digunakan sebagai obat salah satunya yaitu dapat menurunkan kadar gula darah (Chekuri, dkk. 2020).

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

1. Pola kromatogram sidik jari pada tanaman anting-anting dengan variasi pelarut polar yaitu etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan aquades menunjukkan sampel memiliki pola yang hampir sama akan tetapi berbeda pada kadar dan intensitasnya. Noda yang dihasilkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5 noda. Pada etanol 70% dan 50% sebanyak 2 noda serta pada etanol 30% dan aquades hanya menghasilkan 1 noda. ini disertai dengan intensitas warna yang muncul semakin pudar dari etanol 96% ke aquades.
2. Hasil analisis dengan PCA menggunakan aplikasi MetaboAnalyst yaitu pada variasi pelarut polar terdapat 5 pengelompokan yang didapatkan dari interpretasi variasi total sebesar 94,1% (PC1=63,1% dan PC2=31%). Setiap pengelompokan menunjukkan bahwa adanya kedekatan atau persamaan nilai. Hasil analisis heatmap menunjukkan etanol 96% memiliki kadar senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan pelarut lain yang ditandai dengan berwarna merah pekat.

5.2 SARAN

Pengujian untuk KLT pada penelitian ini perlu menggunakan KLT densitometer untuk proses pemisahan yang optimal dan mengetahui identifikasi senyawa yang dihasilkan, 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.

DAFTAR PUSTAKA

- Altenau, A.G. (1966), CHROMATOGRAPHY AS AN ANALYTICAL TOOL. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 137: 335-359. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1966.tb49762.x>
- Ameilia, A. (2018). Khasiat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica*. L). *Majalah Farmasetika*, 3(1), 7–11.
- Ankli, A., Reich, E., Steiner, M. (2008). Rapid High Performance Thin LayerChromatographic Method For Detection Of 5% Adulteration Of BlackCohosh With *Cimicifuga Foetida*, *C. Heracleifolia*, *C. Dahurica*, or *C.Americana*. *Journal of AOAC International*, 91(6): 1257-1264
- Antari, N.M.R.O., N.M. Wartini, dan S. Mulyani. 2015. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak warna alami buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 3(4) : 30-40.
- Babaei R, Jabbari A, Yamini Y. 2006. Solid - Liquid Extraction of Fatty Acids of Some Variety of Iranian Rice in Closed Vessel in The Absence and Presence of Ultrasonic Waves. *Asian J Chem*. 18(1):57–64
- Buhian, W. P. C. et al. (2016) ‘Bioactive metabolite profiles and antimicrobial activity of ethanolic extracts from *Muntingia calabura* L. leaves and stems’, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), pp. 682–685. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.06.006.
- Cahyadi, Daniel. 2007. *Ekstraksi dan Kemiripan*. Universitas Indonesia.
- 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.
- Cholifah, Dwi Novianti Nur. 2022. Analisis kemometrik menggunakan PCA pada prorfil kromatografi lapis tipis biji anggur bali didasarkan perbedaan letak geografis. Skripsi.
- Dalimartha, 2010. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda. Anggota IKAPI.
- David P. Shoemaker, Carl W. Garland, Joseph W. Nibler,. 1967. *Experiments In Physical Chemistry*, Second Edition. New York, America. McGraw-Hill.
- Deglas, Welly. 2019. Pengaruh lama perendaman dan konsentrasi etanol terhadap rendemen pada pembuatan minyak esensial kulit buah jeruk pontianak. *Teknologi Pangan Volume 10, No. 2, Halaman 92-99*

- Dolatowski ZJ, Stadnik J, Stasiak D. Applications of Ultrasound in Food Technology. *Acta Sci Pol, Technol Aliment.* 2007;6(3):89–99.
- Dongrui Zhao, Dongmei Shi, Jinyuan Sun, Anjun Li, Baoguo Sun, Mouming Zhao, Feng Chen, Xiaotao Sun, Hehe Li, Mingquan Huang, Fuping Zheng. 2018. Characterization of key aroma compounds in Gujinggong Chinese Baijiu by gas chromatography–olfactometry, quantitative measurements, and sensory evaluation. *Food Research International*, Volume 105:612-627
- Duke, J.A. 2009. List of chemicals of *Acalypha australis* L. In; *Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. Available online at <http://sun.arsgrin.gov:8080/npgspub/xsql/plantdisp.xsql?taxon=406>
- Fauziyah Rizka, Widyasanti Asri, Rosalinda S. 2022. Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Sisa Pelarut dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Kimia Padjadjaran*, Vol. 1: 18-25
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gunawan, D., dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Handayani S, Kadir A, Masdiana. 2018. Profil Fitokimia dan pemeriksaan Farmakognostik Daun Anting-anting (*Acalypha indica* L.). *JFFI* 5: 258-265.
- Handoyo, Diana Lady Yunita dan Pranoto, M. Eko. 2020. Pengaruh Variasi Suhu Pengerangan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, Vol 1, No 2, Juni 2020: 45-54
- Ilmiyah, Izzatul. 2022. Analisis Kemometrik Menggunakan Pca (Principal Component Analysis) Pada Profil Kromatografi Lapis Tipis Daun Anting-Anting (*Acalypha Indica* L) Berdasarkan Variasi Pengerangan. Skripsi.
- Islam MS, Ara H, Ahmad KI, Uddin MM. 2019. A Review on Medicinal Uses of Different Plants of Euphorbiaceae Family. *UPRA3* 4:45-49
- Kumar, S., Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. Volume 2 013, Article ID 162750
- Lee, K. M., Jeon, J. Y., Lee, B. J., Lee, H. and Choi, H. K. 2017. Application of Metabolomics to Quality Control of Natural Product Derived Medicines. *Biomol Ther.* 25(6): 559–568.
- Lesty, Wulandari. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember : PT. Taman Kampus Presindo.
- Maulana M. 2018. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*zizipus spina cristi* L.) berdasarkan variasi pelarut. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknolohi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Melecchi, M.I.S., Peres, V.L., Saffia, J., Abad, F.C., Jacques, R.A., Martinez, M.M., Oliveira, E.C. & Caramao, E.B. 2006. Comparison of Soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and vitamin E from piper *Gaudichaudianum* Kunth. *Journal of Chromatography*. 1105(1-2), 115-118
- Miller JC, Miller JN. 2000. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Ed ke-4 Harlow: Pearson Education
- Mittal R, Tavanandi HA, Mantri VA, Raghavarao KS. 2017. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macroalgae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta). *Ultrasonics Sonochemistry*. 38: 92-103.
- 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. Universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nugroho, Samuel Abdiel dan Hariono, Budi. 2022. Pengaruh Suhu dan Waktu Proses Pengeringan Terhadap Sifat Fisik dan Kimia Tepung Okra (*Abelmoschus Esculentus L. Moench*). *JOFE : Journal of Food Engineering* | E-ISSN. 2810-0824 Vol. 1 No. 4 Oktober 2022 Hal. 171-183
- Nuryani, 2015. Kendali Mutu Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*) Menggunakan Pengolahan Citra Dan Teknik Pengenalan Pola Secara Kemometrik. Skripsi
- Kirom, Hamid Saeful dan Ramadhania, Zelika Mega. 2017. Review Artikel: Aktivitas Biologis Tanaman Kumis Kucing (*Acalypha Indica L.*). *Farmaka*. Vol. 5, No. 3
- Pratiwi, D. E., dan Harjoko, A. 2013. Implementasi pengenalan wajah menggunakan PCA (Principal Component Analysis). *IJEIS* Vol. 3, No. 2, October 2013: 175–184
- Qiro'ati, Yani. 2018. Optimasi Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Kadar Alkaloid Total Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahmah, F. T. (2018). Uji Toksisitas tanaman anting-anting (*Acalypha indica L.*) hasil ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut lama ekstraksi. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim
- Rosida and Diyan RAA. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Kulit Buah Pisang (*Musa acuminata Colla*). *Seminar Nasional Farmasi Jember*, Jember, 2015:26

- Safitri, Elsa W. 2018. Optimasi Variasi Pelarut dan Variasi Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Savova, M., T. Kolusheva, A. Stourza, and I. Seikova. 2007. The use of group contribution method for predicting the solubility of seed polyphenol of *vitis vinifera* l. in solvent mixtures. *Journal of the university of chemical technology and metallurgy*. 42(3);295-300.
- Shirsath SR, Sonawane SH, G. P. (2012). Intensification of Extraction of Natural Products Using Ultrasonic Irradiations. *A Review of Current Status. Chem Eng Process Process Intensif*, 53, 10–23.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cep.2012.01.003>
- Thompson, dkk., 1999. Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 38 1215-1249
- Yasa, I Gede Tirta., Nengah Kencana Putra, Anak Agung Istri Sri Wiadnyani. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruitz & Pav) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (Mae). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* ISSN: 2527-8010 (ejournal) Vol. 8, No. 3, 278-284
- Yasmin, Cut., Eriani, Kartini., dan Sari, W. (2013). Efek Ekstrak Etanol Akar Anting-Anting (*Acalypha indica*) Terhadap Libido Mencit. *JURNAL KEDOKTERAN YARSI*, 21(1), 027–032.
<https://media.neliti.com/media/publications/104501-ID-efek-ekstrak-etanol-akar-anting-anting-a.pdf>
- Vardanega, Renata., Santos, Diego T., Meireles, M. A. A. (2014). Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 88–95.
<https://doi.org/https://doi.org/10.4103%2F0973-7847.134231>
- Vernocchi, P., Lucia Vannini, Davide Gottardi, Federica Del Chierico, Diana I. Serrazanetti, Maurice Ndagijimana and Maria E. Guerzoni. 2012. Integration of datasets from different analytical techniques to assess the impact of nutrition on human metabolome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Vol. 2(156)
- Wendersteyt, Novira Vita, Defny S Wewengkang, Surya Sumantri Abdullah. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Typhimurium* Dan *Candida Albicans*. *Pharmacon– Program Studi Farmasi, Fmipa, Universitas Sam Ratulangi*, Volume 10 Nomor 1.

LAMPIRAN

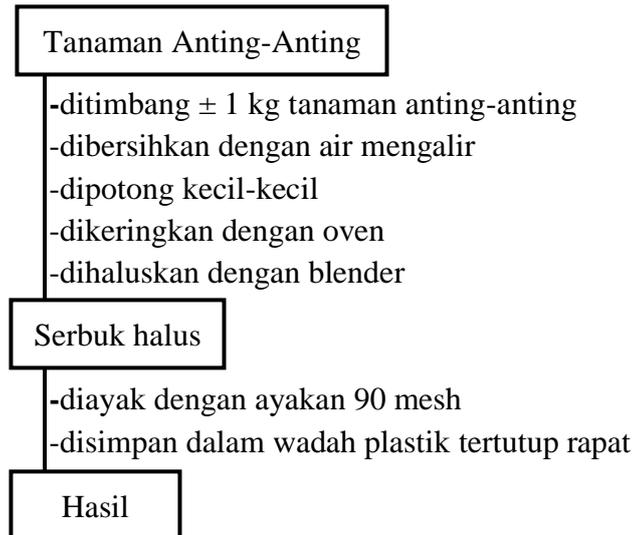
Lampiran 1. Rancangan Penelitian

1.1 Rancangan Penelitian

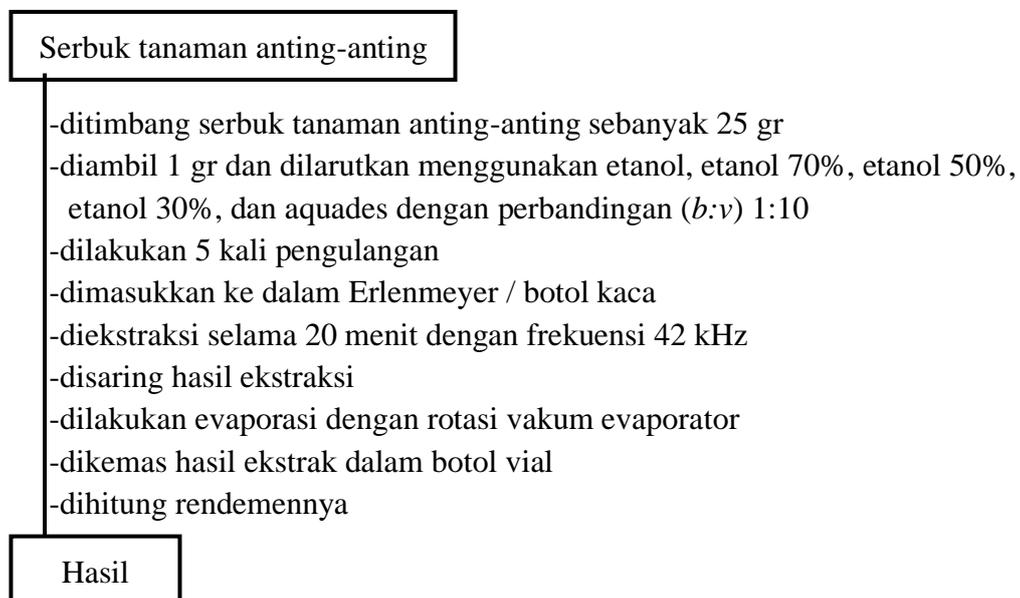


Lampiran 2. Diagram Alir

2.1 Preparasi Sampel



2.2 Ekstraksi Ultrasonik



2.3 Stabilitas Analit selama Kromatografi Lapis Tipis

2.3.1 Persiapan Plat KLT

Plat Silika G₆₀F₂₅₄

- dipotong plat silika dengan ukuran 8 x 10 cm
- diberi garis batas atas dan bawah masing-masing 1 cm
- diaktivasi plat dengan oven pada suhu 105°C selama 3 menit

Hasil

2.3.2 Persiapan Fasa Gerak (Eluen)

Chamber

- dimasukkan 10 mL eluen sikloheksana : toluene : dietilamin (75 : 15 : 10)
- dijenuhkan selama 30 menit

Hasil

2.3.3 Proses Elusi

Ekstrak Kasar

- ditotolkan ekstrak sebanyak 10 totolan pada tiap variasi pelarut
- dimasukkan plat ke dalam *chamber* yang berisi eluen
- ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga fasa gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak
- diangkat dan dikeringkan plat kemudian foto sebelum dan sesudah
- diamati di bawah sinar UV 254 dan 366 nm
- didokumentasikan dengan kamera dan dihitung R_f

Hasil

2.4 Pengolahan Plat KLT menggunakan Image J

Gambar Plat KLT

- dibuka aplikasi Image J yang telah diinstal
- dibuka gambar yang akan diolah dengan klik "*file*", "*open*", dan pilih gambar yang diinginkan
- ditandai gambar pita KLT yang akan diolah menggunakan ikon berbentuk kotak (*rectangular*)
- dipilih "*analyze*", "*gels*", dan "*select first line*"
- dipilih Kembali menu "*analyze*", "*gels*", dan "*plot line*", yang akan menampilkan densitogram dari masing-masing gambar pita KLT sesuai intensitas warna yang diberikan

Hasil

2.5 Analisis Korelasi dengan PCA

Data

- diketik dengan excel data dari Image J
- dibuka web *MetaboAnalyst* dan pilih "*click here to start*"
- dipilih "*statistical analysis (one factor)*"
- diunggah data yang akan dianalisis dalam bentuk file ".csv"
- dipilih format "*samples in row (unpaired)*" dan klik "*submit*"
- dipilih "*proceed*" pada halaman *data processing information*

Normalization Overview

- dipilih "*auto scalling*" pada bagian data scalling kemudian klik "*normalize*"
- dipilih "*view result*" dan Kembali pada halaman *normalization overview*
- dipilih "*proceed*" dan akan dialihkan ke halaman *select an analysis path to explore*
- dipilih "PCA" dan klik "*score plot*" atau "*2D score plot*"

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan Larutan Ekstraksi

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1}$$

- $V_1 = \frac{70\% \times 10 \text{ ml}}{96\%}$
 $V_1 = 7.29 \sim 7.3 \text{ ml}$
- $V_1 = \frac{50\% \times 10 \text{ ml}}{96\%}$
 $V_1 = 5,2 \text{ ml}$
- $V_1 = \frac{30\% \times 10 \text{ ml}}{96\%}$
 $V_1 = 3.125 \sim 3.1 \text{ ml}$

Isi labu ukur 10 ml dengan 7,3 ml etanol 96% kemudian tambahkan aquades hingga tanda batas. dilakukan hal yang sama pada pembuatan pelarut yang lain sesuai dengan perhitungan volume yang dibutuhkan.

3.2 Perhitungan Pembuatan Eluen sikloheksana:toluene:dietilamin (75:15:10)

$$\text{Sikloheksana: } \frac{7.5}{10} \times 10 \text{ ml} = 7.5 \text{ ml}$$

$$\text{Toluene: } \frac{1.5}{10} \times 10 \text{ ml} = 1.5 \text{ ml}$$

$$\text{Dietilamin: } \frac{1.0}{10} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

3.3 Perhitungan %rendemen

Rendemen simplisia tanaman anting-anting

- %rendemen = $\frac{\text{berat simplisia akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$
- Etanol 96% = $\frac{0.0536}{\frac{1.0021}{0.0370}} \times 100\% = 5,348\%$
- Etanol 70% = $\frac{1.0024}{\frac{0.0293}{0.0120}} \times 100\% = 3.690\%$
- Etanol 50% = $\frac{0.0293}{\frac{1.0021}{0.0120}} \times 100\% = 2.920\%$
- Etanol 30% = $\frac{0.0120}{\frac{1.0021}{0.0120}} \times 100\% = 1.197\%$
- Aquades = $\frac{0.0136}{1.0021} \times 100\% = 1.357\%$

3.4 Perhitungan nilai Rf

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi analit}}{\text{Jarak migrasi eluen}} = \frac{Z_s}{Z_f}$$

Zf	Zs					
8	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7
8	1	1.1	1.2	1.3	1.3	1.4
8	2.1	2.2	2.3	2.5	2.6	2.8
8	4.2	4.3	4.4	4.6	4.7	4.9
8	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4
8	0.9	1	1	1	1	1.1
8	2.1	2.2	2.2	2.2	2.3	2.4
8	0.8	0.9	0.9	1	0.9	0.7
8	2.2	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2
8	2.8	2.8	2.9	2.9	2.9	3.1
8	1.1	1	1.1	1	1.1	

- Noda 1 ulangan 1

$$R_f = \frac{0.5}{8} = 0.0625$$

- Noda 2 ulangan 1

$$R_f = \frac{1}{8} = 0.125$$

- Noda 3 ulangan 1

$$R_f = \frac{2.1}{8} = 0.2625$$

3.5 Perhitungan Nilai Rf dan SD

PELARUT	NODA	NILAI RF					SD	RERATA RF
		ULANGAN						
		1	2	3	4	5		
ETANOL 96	1	0.0625	0.0625	0.075	0.075	0.075	0.006847	0.07
	2	0.125	0.1375	0.15	0.1625	0.1625	0.016298	0.1475
	3	0.2625	0.275	0.2875	0.3125	0.325	0.025921	0.2925
	4	0.525	0.5375	0.55	0.575	0.5875	0.025921	0.555
	5	0.925	0.925	0.925	0.925	0.925	0	0.925
ETANOL 70	1	0.1125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.00559	0.1225
	2	0.2625	0.275	0.275	0.275	0.2875	0.008839	0.275
ETANOL 50	1	0.1	0.1125	0.1125	0.125	0.1125	0.008839	0.1125
	2	0.275	0.275	0.275	0.2875	0.2875	0.006847	0.28
ETANOL 30	1	0.35	0.35	0.3625	0.3625	0.3625	0.006847	0.3575

AQUADES	1	0.1375	0.125	0.1375	0.125	0.1375	0.006847	0.1325
---------	---	--------	-------	--------	-------	--------	----------	--------

3.6 Perhitungan Nilai AUC

PELARUT	NODA	NILAI AUC					RERATA AUC
		U1	U2	U3	U4	U5	
ETANOL 96%	1	911.062	1793.104	2203.79	2209.983	1945.134	1812.6146
	2	1140.305	775.426	1177.083	1974.962	1187.255	1251.0062
	3	62248.337	245.506	452.698	3072.054	2918.175	13787.354
	4	2572.719	2431.569	190.213	3382.347	2858.761	2287.1218
	5	4172.397	4304.569	5798.146	67356.612	8013.317	17929.0082
ETANOL 70%	1	315.577	423.577	787.891	621.284	1175.79	664.8238
	2	10178.2	8664.309	8598.258	11472.451	20755.401	11933.7238
ETANOL 50%	1	14532.602	12998.116	9646.016	6435.731	2197.054	9161.9038
	2	8968.309	8521.309	25647.957	8929.309	9348.966	12283.17
ETANOL 30%	1	28198.785	25649.057	22362.451	15675.894	8368.51	20050.9394
AQUADES	1	30898.865	30963.773	31467.066	31023.723	32924.087	31455.5028

3.6 Perhitungan ANOVA Rendemen

Anova: Single Factor

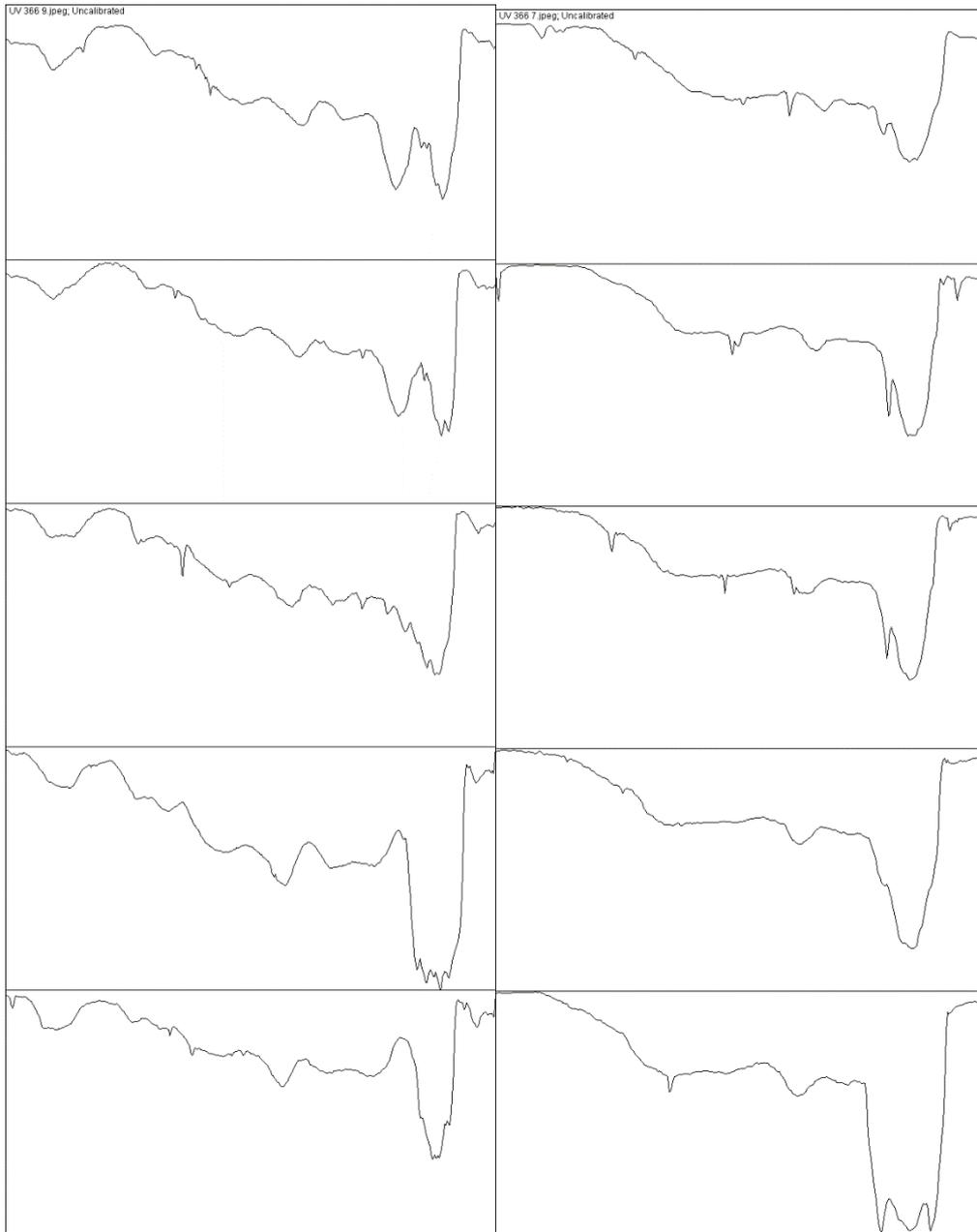
SUMMARY

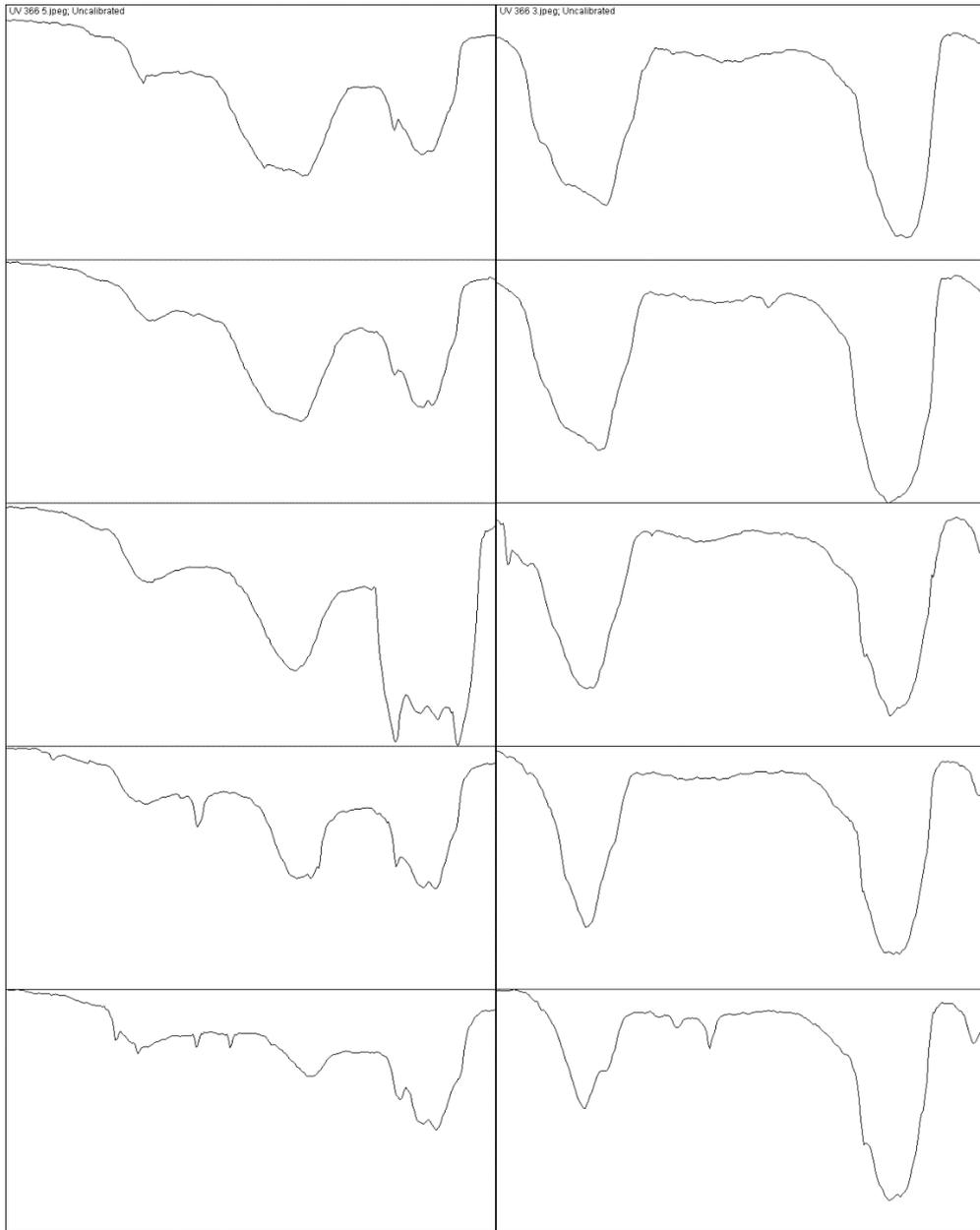
Groups	Count	Sum	Average	Variance
Perlakuan	5	15	3	2.5
Rendemen	5	14.516	2.9032	2.97498

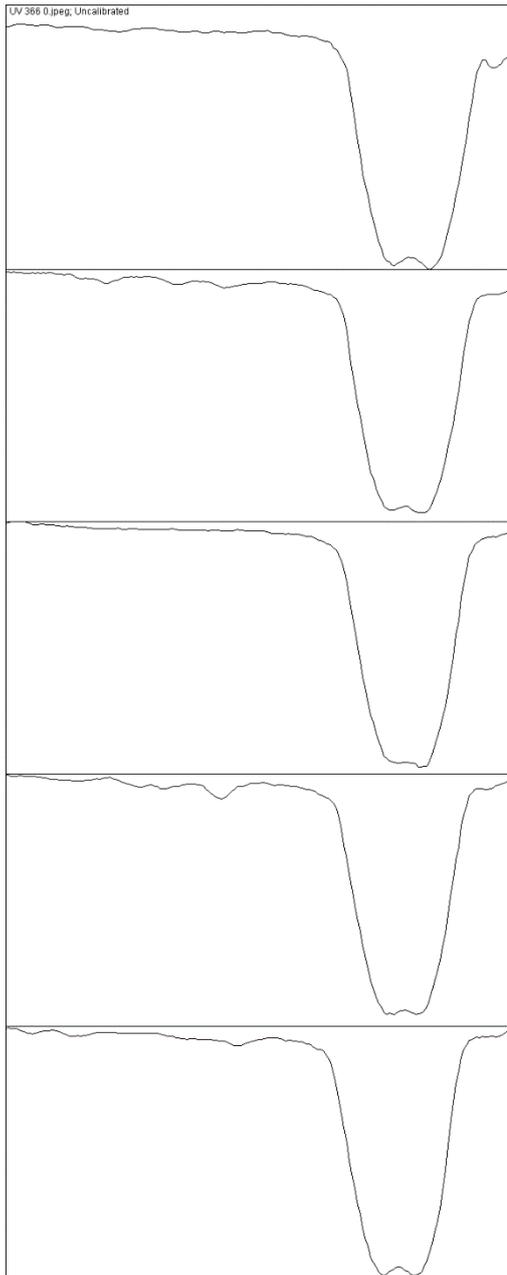
ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.02342	1	0.02342	0.00855	0.92857	5.31765
Within Groups	21.8999	8	2.73749	7	1	5
Total	21.9233	9				

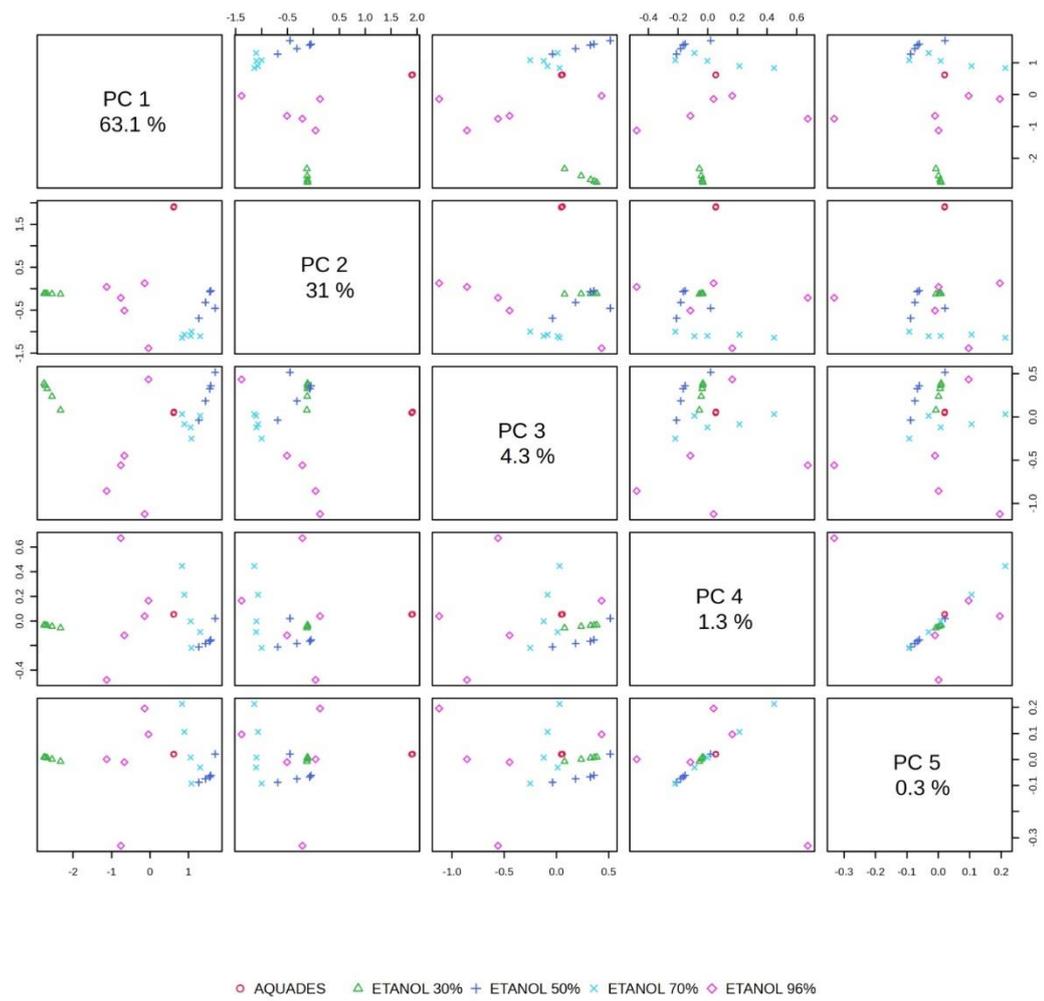
Lampiran 4. Analisis ImageJ

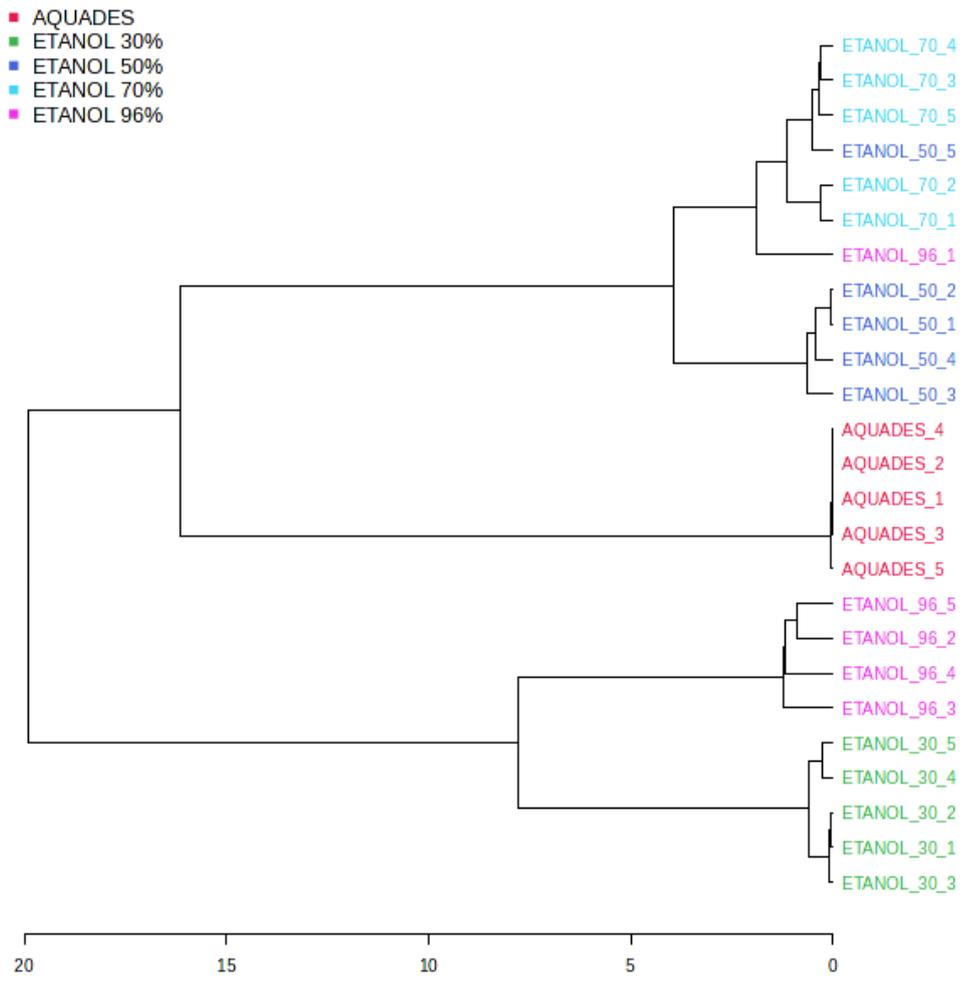


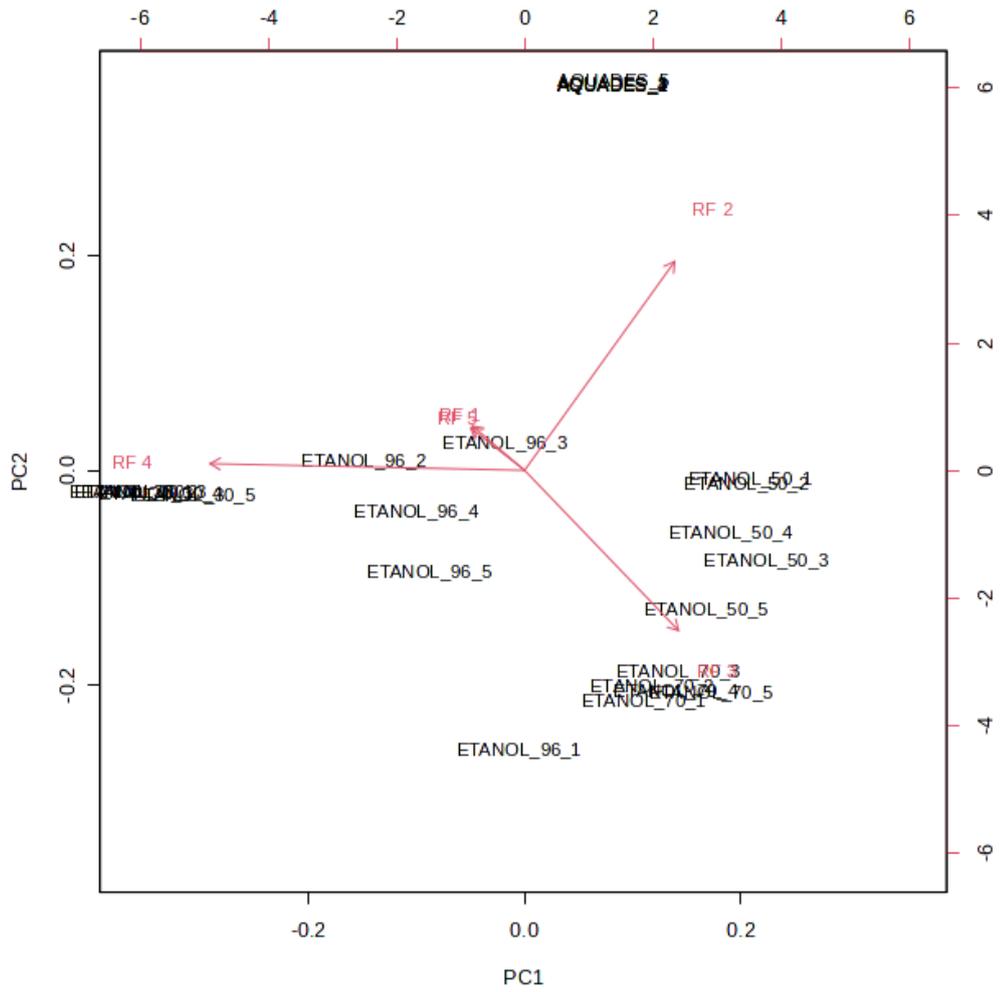




Lampiran 5. Analisis PCA







Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

6.1 Preparasi Sampel



6.2 Ekstraksi Ultrasonik



6.3 Kromatografi lapis Tipis

