

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *Acalypha Indica L.* DENGAN
BERBAGAI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. SYAHRIL AL ASSYANDY
NIM. 19630098



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

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *Acalypha Indica L.* DENGAN
BERBAGAI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. SYAHRIL AL ASSYANDY
NIM. 19630098

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

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

ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *Acalypha Indica L.* DENGAN BERBAGAI PELARUT

SKRIPSI

Oleh :
MOCH. SYAHRIL AL ASSYANDY
NIM. 19630098

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal : 27 Desember 2024

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113 202321 1 028

Mengetahui,
Ketua Program Studi,



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

iii

ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *Acalypha Indica L.* DENGAN BERBAGAI PELARUT

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. SYAHRIL AL ASSYANDY
NIM. 19630098

Telah Dipertahankan Didepan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 27 Desember 2024

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

Anggota Penguji I : Rif'atul Mahmudah, M.Si.
NIP. 19830125 202321 2 020

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

Anggota Penguji III : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 202321 1 028

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi,



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

v

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Moch. Syahril Al Assyandy
NIM : 19630098
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak *Acalypha Indica L.*
Dengan Berbagai Pelarut

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

Malang, 29 Desember 2024
Yang membuat pernyataan




Moch. Syahril Al Assyandy
NIM. 19630098

MOTTO

*“Tetap semangat walaupun prosesnya lama, tapi yakin saja...
Kalau sudah berusaha dan berdo'a semua pasti berjalan dengan semestinya”*

*“Ingat hasil yang indah
Tidak terlahir dari langkah yang mudah”*

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil alamin, dengan rasa syukur kepada Allah Swt atas limpahan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Tanpa izin dan ridho-Nya serta dukungan orang-orang sekitar, penulis tidak akan mampu menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan baik. Oleh sebab itu, penulis ingin mempersembahkan tulisan ini untuk:

Panutanku, Ayahanda Abdul Manap Beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan sampai dengan bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik penulis, mendoakan, memberikan semangat dan motivasi tiada henti hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai sarjana.

Pintu surgaku, Ibunda tercinta Komariyah. Terimakasih sebesar-besarnya penulis berikan kepada beliau atas segala bentuk bantuan, nasihat, semangat dan doa yang diberikan selama ini. Terimakasih atas kesabaran dan kebesaran hati menghadapi penulis yang tiada henti hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai sarjana.

Untuk adikku tersayang, Dewi Lailatul Mafsunah. Terima kasih telah menjadi inspirasi bagi penulis dalam proses menempuh pendidikan di universitas selama ini, terima kasih atas doa dan kasih sayang yang diberikan kepada penulis. Tumbuh menjadi versi terbaik dari dirimu, saudariku.

Dengan penuh rasa syukur, saya mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, atas peran penting dalam perjalanan akademik saya. Bantuan, nasihat dan doa Ibu telah membantu saya mencapai prestasi ini.

Para dosen pembimbing yang telah sabar membimbing dan mengarahkanku dalam menyelesaikan penelitian ini dengan baik dan benar.

Untuk keluarga besar tercinta, yang sangat ingin melihat penulis sampai ke jenjang sarjana. Terimakasih atas do'a dan dukungan untuk penulis sehingga, penulis mampu menyelesaikan studinya hingga sarjana dengan baik.

Seluruh teman-teman Kimia angkatan 2019 (URANIUM) dan seluruh pihak yang memberikan bantuan kepada penulis namun tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih telah berperan selama proses penyelesaian skripsi ini.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

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 Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak *Acalypha Indica L.* Dengan Berbagai Pelarut**". 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 Prof. 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 dan selaku dosen penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk membagikan ilmu, memberikan masukan serta pengarahannya dalam proses penyusunan skripsi ini..
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, selaku wakil dekan AUPK yang telah senantiasa memberikan bimbingan dan arahan dengan sangat sabar dan ikhlas
5. Dosen pembimbing Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si yang telah senantiasa memberikan bimbingan dan arahan dengan sangat sabar dan ikhlas dalam penyusunan skripsi.
6. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku pembimbing agama yang telah membimbing dan memberi arahan dalam penyusunan skripsi.
7. Dosen Ibu Rifatul Mahmudah, M.Si. selaku dosen penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk membagikan ilmu, memberikan masukan serta pengarahannya dalam proses penyusunan skripsi ini.
8. Kedua orang tua yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam pengerjaan skripsi.
9. Teman-teman angkatan 2019 kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. 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.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 25 Desember 2024



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vii
MOTTO.....	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
ABSTRAK.....	xxiii
ABSTRACT.....	xxv
ملخص البحث.....	xxvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Anting-Anting (<i>A. indica L.</i>)	5
2.2 Ekstraksi Ultrasonik	6
2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	7
2.4 Analisis <i>Image J</i>	10
2.5 Analisis <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.2.1 Alat	15
3.2.2 Bahan	15
3.3 Rancangan Penelitian	15
3.4 Tahapan Penelitian.....	16
3.5 Cara Kerja	16
3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman Anting-Anting (<i>A. indica L.</i>)	16
3.5.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik	16
3.5.3 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis	16
3.5.4 Analisis Menggunakan <i>ImageJ</i>	17
3.5.5 Analisis Menggunakan PCA	18
BAB IV PEMBAHASAN	19
4.1 Preparasi Sampel.....	19
4.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik.....	20
4.3 Analisis Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis	22
4.4 Analisis Hasil KLT menggunakan <i>Image J</i>	28
4.5 Pengelompokan Sampel Tanaman Anting-Anting menggunakan PCA	31
BAB V PENUTUP	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39

LAMPIRAN..... 45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan anting-anting (<i>A. indica L.</i>).....	5
Gambar 2.2 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut etanol	9
Gambar 2.3 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut metanol	9
Gambar 2.4 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut etil asetat.....	10
Gambar 2.5 Densitogram setelah <i>preprocessing</i>	11
Gambar 2.6 Hasil pengelompokan berdasarkan analisis PCA <i>A. indica L.</i> dengan perbedaan lokasi pengambilan sampel Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi.....	13
Gambar 2.7 <i>Linear Projection</i> dari <i>A. indica L.</i> berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel.....	14
Gambar 4.1 Serbuk sampel tanaman anting-anting	20
Gambar 4.2 Serbuk sampel + etanol (A), serbuk sampel + n-heksana (B), serbuk sampel + kloroform (C), serbuk sampel + etil asetat (D).....	21
Gambar 4.3 Hasil ekstraksi sampel dengan pelarut setelah disaring n-heksana (A) Kloroform (B) etil asetat (C) etanol (D)	22
Gambar 4.4 Hasil pemisahan dengan KLT yakni : etanol (A) etil asetat (B) kloroform (C) n-heksana (D)	23
Gambar 4.5 Hasil KLT pelarut etanol (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 2 noda.....	23
Gambar 4.6 Hasil KLT pelarut etilasetat (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 3 noda.....	24
Gambar 4.7 Hasil KLT pelarut kloroform (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 6 noda.....	24
Gambar 4.8 Hasil KLT pelarut n-heksana (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 3 noda.....	24
Gambar 4.9 Densitogram hasil Image J diolah dengan Orange sebelum di <i>presprocessing</i>	28
Gambar 4.10 Densitogram hasil Image J diolah dengan Orange sesudah di <i>presprocessing</i>	29
Gambar 4.11 Score plot data PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0.....	31
Gambar 4.12 Heatmap hasil PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Hasil analisis rata – rata data AUC berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel.....	12
Tabel 4. 1 Hasil nilai Rf ekstrak A. Indica L. dari 4 Variasi Pelarut	26
Tabel 4. 2 Nilai AUC ekstrak A. Indica L. 4 variasi pelarut	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	45
Lampiran 2. Diagram Alir	46
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	49
Lampiran 4. Hasil Analisis ImageJ densitogram dan PCA.....	62

ABSTRAK

Al Assyandy, Moch. Syahril. 2024. **Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak *Acalypha Indica L.* Dengan Berbagai Pelarut.** Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Elok Kamilah Hayati, M.Si, Pembimbing II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Kata kunci : *Acalypha indica L.*, Ultrasonik, KLT, ImageJ, PCA

Acalypha indica L. merupakan salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat, di Indonesia dikenal sebagai tanaman anting-anting. Karena di dalamnya mengandung senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, triperpenoid dan steroid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui profil kromatografi lapis tipis senyawa aktif dalam *Acalypha indica L.* dengan empat pelarut. Proses ekstraksi pada *Acalypha indica L.* dilakukan dengan ekstraksi ultrasonik waterbath frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Menggunakan empat pelarut yakni etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan plat KLT G₆₀F₂₅₄ dengan menggunakan eluen sikloheksana : toluene : dietilamina (75:15:10). Kemudian plat divisualisasikan menggunakan lampu UV 366 nm dan dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan Image J dan analisis multivariat PCA. Pemanfaatan KLT dengan empat variasi pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda menghasilkan variasi intensitas warna dan jumlah noda yang beragam. Pada pelarut etanol ditemukan 2 noda, kloroform menunjukkan 6 noda, etil asetat menghasilkan 3 noda, dan n-heksana memunculkan 3 noda. Analisis multivariat menggunakan PCA menunjukkan pola pengelompokan yang jelas untuk setiap sampel, dengan total variasi sebesar 70% yang terbagi menjadi PC1 sebesar 42,7% dan PC2 sebesar 27%. Hasil visualisasi heatmap menunjukkan bahwa kloroform memiliki senyawa aktif dalam jumlah paling melimpah dibandingkan pelarut lainnya, yang ditandai dengan dominasi warna merah pada grafik.

ABSTRACT

Al Assyandy, Moch. Syahril. 2024. **Chemometric Analysis Based on TLC of *Acalypha Indica L.* Extracts with Various Solvents.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I : Elok Kamilah Hayati, M.Si, Supervisor II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Keywords: *Acalypha indica L.*, Ultrasonic, TLC, ImageJ, PCA

Acalypha indica L. is one of the plants that has medicinal properties, in Indonesia it is known as the earring plant. Because it contains active compounds of flavonoids, tannins, alkaloids, triperpenoids and steroids. The purpose of this study was to determine the thin layer chromatography profile of active compounds in *Acalypha indica L.* with four solvents. The extraction process in *Acalypha indica L.* was carried out by ultrasonic waterbath extraction at a frequency of 42 kHz for 20 minutes. Using four solvents, namely ethanol, ethyl acetate, chloroform, and n-hexane. Separation was carried out using a G₆₀F₂₅₄ TLC plate using cyclohexane: toluene: diethylamine (75:15:10) eluent. Then the plate was visualized using a 366 nm UV lamp and continued with data processing using Image J and PCA multivariate analysis. The utilization of TLC with four variations of solvents that have different polarity levels resulted in variations in color intensity and the number of spots. In the ethanol solvent, 2 spots were found, chloroform showed 6 spots, ethyl acetate produced 3 spots, and n-hexane displayed 3 spots. Multivariate analysis using PCA indicated a clear clustering pattern for each sample, with a total variation of 70% divided into PC1 at 42.7% and PC2 at 27%. The heatmap visualization results showed that chloroform contained the highest amount of active compounds compared to the other solvents, as indicated by the dominance of red color in the graph.

ملخص البحث

الأسيندي، موح. شهريل. ٢٠٢٤. تحليل كيميائي بناءً على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (KLT) لمستخلصات نبات *Acalypha indica* L. باستخدام مذيبات مختلفة. أطروحة. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانغ. المشرف الأول: إلوك كاميلاه حياتي، ماجستير العلوم. المشرف الثاني: أوكي باغاس براستيو، ماجستير التربية الإسلامية.

كايوردس: *Acalypha indica* L، بالموجات فوق الصوتية، KLT، ImageJ، PCA

Acalypha indica L. يُعدُّ واحدًا من النباتات التي تمتلك خصائص طبية، ويُعرف في إندونيسيا باسم نبات "أقراط الأذن". يحتوي النبات على مركبات فعالة مثل الفلافونويدات، والتانينات، والقلويدات، والتربينويدات، والستيرويدات. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد ملف كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمركبات الفعالة في *Acalypha indica* L. باستخدام أربعة مذيبات مختلفة. عملية استخلاص *Acalypha indica* L. باستخدام تقنية الاستخلاص بحمام مائي بالموجات فوق الصوتية بتردد ٤٢ kHz خلال ٢٠ دقيقة. تم استخدام أربعة مذيبات، وهي الإيثانول، والأسيتات الإيثيلية، والكلوروفورم، ون-هيكسان. أجريت عملية الفصل باستخدام ألواح KLT من نوع G60F254 باستخدام مزيج مذيب الإيثيلين مكوّن من سيكلوهيكسان: تولوين: ثنائي إيثيل أمين بنسبة (١٠:١٥:٧٥). تمت معاينة الألواح باستخدام مصباح UV ٣٦٦ nm و استمر في معالجة البيانات باستخدام برنامج Image J وتحليل متعدد المتغيرات PCA. إن استخدام KLT مع أربعة أنواع من المذيبات التي لها مستويات مختلفة من القطبية ينتج عنه اختلافات مختلفة في كثافة اللون وعدد البقع. في مذيب الإيثانول تم العثور على ٢ بقعة، بينما أظهر الكلوروفورم ٦ بقع، وأنتج الأسيتات الإيثيلية ٣ بقع، ون-هيكسان أنتج ٣ بقع. أظهر التحليل متعدد المتغيرات باستخدام PCA نمطًا واضحًا في تصنيف العينات، حيث بلغ إجمالي التباين ٧٠٪، تم توزيعه على ١ PC بنسبة ٤٢.٧٪ و ٢ PC بنسبة ٢٧٪. أظهرت نتائج التصور باستخدام خريطة الحرارة أن الكلوروفورم يحتوي على أكثر المركبات الفعالة مقارنة ببقية المذيبات، وهو ما تمثل في هيمنة اللون الأحمر على الرسم البياني.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acalypha indica L. adalah herba yang tumbuh di wilayah tropis seperti India, Asia Tenggara, Afrika, dan Amerika Selatan. Di Indonesia, *Acalypha indica* L., yang dikenal dengan sebutan tanaman kucing-kucingan atau anting-anting, merupakan gulma yang umumnya ditemukan di pinggir jalan, lereng gunung, lahan pertanian, maupun lapangan rumput. *Acalypha indica* L. memiliki manfaat dalam pengobatan tradisional, digunakan untuk mengatasi infeksi mikroba, gangguan pencernaan, gigitan ular, dan masalah kulit. Tanaman ini mengandung senyawa aktif seperti fenol, flavonoid, tanin, kumarin, alkaloid, dan saponin, yang berperan dalam sifat anti-kanker, anti-inflamasi, dan antidiabetik. (Ravi, dkk., 2021).

Allah Swt. menciptakan beraneka ragam tanaman dengan berbagai jenis dan bentuk. Salah satu tanaman ciptaan Allah Swt. yaitu *Acalypha indica* L. Bentuk, warna, dan rasa yang dimiliki tanaman *Acalypha indica* L. membuktikan betapa agung ciptaan Allah Swt. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam Q.S. asy-Syu'ara (26) ayat 7.

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

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

Ayat tersebut menjelaskan bahwasanya Allah Swt. telah menciptakan beraneka macam tumbuh-tumbuhan yang dapat dikonsumsi oleh seluruh makhluk hidup terutama manusia. Mengacu pada tafsir al-Mishbah, tumbuh-tumbuhan yang baik dapat ditafsirkan sebagai tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Tumbuhan bermanfaat dapat pula diartikan sebagai tumbuhan yang berkhasiat untuk mencegah maupun mengobati suatu penyakit. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup khususnya manusia adalah *A. Indica* L.

A. indica L. memiliki berbagai senyawa kimia aktif yang memiliki manfaat untuk kesehatan. Beberapa senyawa yang telah diidentifikasi dalam penelitian ini antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, tanin, dan terpenoid. Flavonoid, misalnya, dikenal memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, yang membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan (Khatun, dkk., 2022). Alkaloid dalam tanaman ini menunjukkan kemampuan untuk melawan bakteri, mengurangi peradangan, dan meredakan rasa sakit, sehingga berguna dalam mengobati infeksi dan nyeri (Sharma, dkk., 2019). Saponin juga berfungsi untuk melawan bakteri dan dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh serta menurunkan kadar kolesterol (Ghosh, dkk., 2017). Senyawa steroid yang ada dalam *A. Indica* L. diketahui memiliki efek mengurangi peradangan, sedangkan tanin berperan dalam mempercepat penyembuhan luka dan mengatasi masalah pencernaan (Kumar, dkk., 2020).

Terpenoid juga memiliki sifat antioksidan dan antibakteri, yang berkontribusi pada manfaat kesehatan tanaman ini (Dettmer, dkk., 2007).

Pembentukan senyawa aktif bermanfaat dalam tanaman ini dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti suhu, kadar karbon dioksida, intensitas cahaya, serta kelembapan dan kandungan garam di tanah. Selain itu, stres lingkungan seperti kekeringan, serangan hama, dan faktor keturunan tanaman juga mempengaruhi jumlah serta jenis senyawa yang dihasilkan. (Pant, dkk., 2021). Perbedaan ketinggian tempat tumbuh tanaman dapat memengaruhi kondisi seperti ketersediaan nutrisi, kelembapan, intensitas sinar matahari, dan suhu. Faktor-faktor ini, baik secara langsung maupun tidak akan berdampak pada proses metabolisme tanaman, terutama pada tanaman obat karena berhubungan dengan produksi zat-zat aktif yang bermanfaat. Kekurangan nutrisi penting, baik yang dibutuhkan dalam jumlah besar (makro) maupun kecil (mikro), juga bisa mengganggu pertumbuhan tanaman (Prihamantoro dan Indriani, 2001).

Dalam penelitian produk alami seperti *A. Indica L.*, pendekatan metabolomik sering digunakan untuk mempelajari berbagai senyawa kecil (metabolit) yang terkandung di dalamnya. Metabolomik memungkinkan peneliti untuk memahami komposisi senyawa bioaktif secara menyeluruh dan terperinci, serta mendeteksi metabolit yang sudah dikenal (*targeted*) maupun senyawa baru yang belum teridentifikasi (*untargeted*) (Krastanov, 2010; Tugizimana, dkk., 2019; Sévin, dkk., 2015). Pendekatan ini semakin banyak digunakan untuk menjaga kualitas dan standardisasi produk-produk herbal di seluruh dunia (Yeung L., 2018), termasuk *A. indica L.* Analisis metabolomik dapat dilakukan dengan metode yang disebut pemprofilan metabolit (*metabolite profiling*), yang merupakan cara untuk mengidentifikasi dan mempelajari berbagai senyawa kecil (metabolit) yang terdapat dalam sampel, seperti jaringan tumbuhan atau darah, guna memahami komposisi dan fungsinya (Dettmer, dkk., 2007).

Salah satu teknik yang sering digunakan dalam analisis metabolit adalah Kromatografi Lapisan Tipis (KLT). Teknik ini memisahkan komponen dalam campuran menggunakan lapisan tipis adsorben pada substrat, di mana pelarut bergerak membawa komponen dengan kecepatan yang berbeda (Snyder, dkk., 2012). Kelebihan KLT adalah biayanya yang rendah, metode yang sederhana, kapasitas sampel yang besar, dan hasil yang cepat (Vermaak, dkk., 2010). Misalnya, dalam penelitian oleh Fadhilah (2016), ekstrak *A. Indica L.* dianalisis menggunakan KLT dengan pelarut etil asetat dan eluen sikloheksana: toluena: dietilamina (75:15:10), yang menunjukkan adanya empat noda pada pelat, menandakan adanya pemisahan beberapa komponen dalam ekstrak tanaman tersebut.

Analisis KLT dapat memberikan informasi pada hasil pemisahan yang berkontribusi terhadap fase gerak dan fase diam yang dilihat dari jumlah dan intensitas warna tiap noda. Kemudian diperlukan analisis visualisasi dari bentuk gambar menjadi densitogram menggunakan ImageJ. Densitogram memiliki sumbu (*x*) yang mengartikan luas area dan sumbu (*y*) yang mengartikan *Retardation Factor* (Rf). Diperlukan analisis secara kemometrik

menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana faktor lokasi tumbuh mempengaruhi pengelompokan dan kandungan senyawa aktif dalam daun tumbuhan *A. Indica L.* dari tiga wilayah berbeda. Pendekatan ini melibatkan metode KLT yang dipadukan dengan analisis multivariat PCA (Hidayaty dan Hayati, 2024). Pada penelitian Hidayaty dan Hayati (2024). Hasil pengelompokan pada PCA yang menunjukkan bahwa ekstrak sampel dari daerah Tuban dan Bojonegoro berada pada kuadran yang berbeda dan saling berjauhan mengindikasikan adanya perbedaan komposisi kimia antara kedua sampel tersebut. Perbedaan ini bisa disebabkan oleh perbedaan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak yang mungkin dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti tanah, iklim, ketinggian, atau kondisi pertumbuhan yang berbeda di kedua daerah tersebut.

Penelitian ini bertujuan menganalisis perbedaan senyawa aktif dalam ekstraksi *A. indica L.* dari Kabupaten Pasuruan menggunakan empat pelarut: etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana dengan metode ultrasonik. Di antara pelarut ini, etanol dan etil asetat merupakan pelarut polar, sedangkan kloroform dan n-heksana adalah pelarut non-polar. Setelah ekstraksi, senyawa yang dihasilkan akan dianalisis menggunakan kromatografi lapisan tipis (KLT) untuk menghasilkan profil kromatogram yang diolah dengan perangkat lunak ImageJ untuk mengukur intensitas dan variasi senyawa. Hasil analisis akan dievaluasi melalui analisis komponen utama (PCA) untuk mengidentifikasi keragaman profil berdasarkan jenis pelarut, yang memiliki kapasitas berbeda dalam mengekstrak senyawa polar dan non-polar. Pendekatan ini diharapkan menghasilkan informasi komprehensif mengenai potensi senyawa aktif *A. indica L.* yang dipengaruhi oleh pelarut dalam proses ekstraksi, serta memahami keberagaman senyawa aktif yang diekstraksi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana analisis ekstraksi pola kromatogram sidik jari tanaman *A. indica L.* berdasarkan variasi pelarut dengan KLT?
- b. Bagaimana pengelompokan Senyawa tanaman *A. indica L.* Menggunakan PCA berdasarkan variasi pelarut?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengidentifikasi pola kromatogram sidik jari tanaman *A. indica L.* dengan variasi pelarut.
- b. mengelompokkan senyawa tanaman *A. indica L.* berdasarkan variasi pelarut menggunakan PCA.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Sampel yang digunakan adalah tanaman *A. Indica L.* yang diambil di daerah Kabupaten Pasuruan.
- b. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik frekuensi 42 kHz pada suhu ruang.
- c. Variasi pelarut yang digunakan (etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana).
- d. Metode pemisahan senyawa aktif dilakukan menggunakan analisis sidik jari KLT.
- e. Hasil kromatogram diolah dengan menggunakan aplikasi ImageJ.
- f. Metode Mengolah data secara kemometrik dengan *Principal Component Analysis* (PCA) dengan web *MetaboAnalyst 6.0*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah agar dapat dapat memberikan informasi tentang identifikasi senyawa bioaktif dalam ekstrak *A. Indica L.* menggunakan KLT, spektrofotometri UV-Vis, dan kemometrika (PCA). Penelitian ini juga akan membantu dalam memilih pelarut optimal untuk ekstraksi, menambah pengetahuan di bidang fitokimia dan kimia analitik, serta memberikan kontribusi bagi industri farmasi dan herbal dalam mengembangkan produk yang lebih efektif. Metode PCA yang digunakan akan meningkatkan efisiensi analisis data, memungkinkan identifikasi pola dan hubungan kompleks dengan cepat. Selain itu, penelitian ini akan memberikan wawasan tentang sifat dan potensi bioaktif daun *A. Indica L.*, serta berfungsi sebagai referensi penting bagi mahasiswa dan peneliti dalam bidang terkait.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anting-Anting (*A. indica* L.)

Acalypha indica, atau yang dikenal dengan nama lokal anting-anting, merupakan tanaman yang memiliki berbagai penggunaan tradisional dalam pengobatan di banyak negara, termasuk India, Sri Lanka, dan Indonesia. Di India, tanaman ini sering dijadikan subjek penelitian dalam konteks pengobatan Ayurveda dan fitokimia, mengingat kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid dan saponin (Singh Dkk., 2016). *A. indica* L. merupakan gulma yang sering ditemukan di pinggir sungai, rerumputan, dan di pinggir jalan (Sulistyaningsih dkk., 2017). Ciri-ciri tanaman ini cukup khas. Daun *A. indica* L. berbentuk bulat hingga menyerupai belah ketupat, dengan tepi bergerigi dan ujung runcing. Daun ini tersusun berseling di sepanjang batang, dan tanaman ini umumnya memiliki tinggi antara 30 hingga 50 cm. Batangnya tegak dan berbulu halus. Bunganya kecil dan muncul di ketiak daun serta di ujung cabang, membentuk bunga majemuk bulir. Buahnya berbentuk kapsul kecil yang dikelilingi oleh braktea, dengan biji oval berwarna coklat muda (Kirom dan Ramadhania, 2017).

Klasifikasi tanaman anting-anting adalah sebagai berikut (Kartesz, 2000):

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobiontai (berpembuluh)
Superdevisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Devisi	: Magnoliophyte (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida / Dicotyledonae (dikotil)
Sub-kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha indica</i> Linn



Gambar 2.1 Tumbuhan Anting-anting (*A. indica* L.)

Tanaman anting-anting memiliki banyak senyawa bioaktif yang dapat bermanfaat bagi kesehatan. Beberapa senyawa utama yang terkandung di dalamnya meliputi alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan steroid. Selain itu, tanaman ini juga mengandung triterpenoid dan seskiterpen, yang terkenal memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan. Di antara flavonoid

yang ditemukan dalam *A. indica* L. adalah quercetin, kaempferol, dan rutin, yang diketahui memiliki potensi sebagai agen antikanker dan antimikroba (Chakraborty dkk., 2023; Chekuri dkk., 2020; Chandragiri, 2016).

A. indica L. telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Tanaman ini sering dimanfaatkan untuk mengatasi batuk, sembelit, dan rematik. Berdasarkan penelitian terbaru oleh Jena dkk. (2021), senyawa-senyawa aktif yang diisolasi dari tanaman ini memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antimikroba. Ekstrak metanol dari tanaman ini terbukti efektif melawan mikroorganisme patogen, terutama karena kandungan flavonoid dan alkaloidnya yang tinggi (Chakraborty dkk., 2023). Selain itu, ekstrak etanol dari tanaman ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan (Chekuri dkk., 2020), sementara ekstrak kloroform dari daun tanaman ini memiliki potensi sebagai agen antimalaria (Chandragiri, 2016).

2.2 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan padatan maupun cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan suatu komponen lainnya dalam campuran (Sholihah, dkk, 2017). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam (Harboune, 1987). Faktor yang berpengaruh pada efisiensi proses ekstraksi antara lain pengadukan, jenis, pelarut, waktu rendemen, ukuran partikel dan juga lama waktu yang digunakan dalam proses ekstraksi (Rosenthal, 1996).

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi dengan penamabatan energi melalui gelombang ultrasonik dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat menimbulkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih maksimal. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz). Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan dengan berbagai aplikasi (McClements, 1995). Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik yaitu meningkatnya transfer massa yang disebabkan gelombang akustik ultrasonik. Ketika gelombang akustik merambat dalam suatu cairan berisi bahan yang akan diekstrak, getaran ultrasonik berkecepatan tinggi akan menyebabkan medium yang dilewati bergetar. Proses getaran akan memberikan perpindahan massa terhadap pelarut dan sampel yang akan mempengaruhi proses ekstraksi. Proses getaran tersebut akan menghasilkan gelembung kavitasi pada dinding sel tanaman, ketika gelembung kavitasi pecah akan meningkatkan pori-pori dinding sel dan mengakibatkan pecahnya dinding sel tanaman sehingga akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan (Thompson dan Doraiswamy, 1999).

Ekstraksi ultrasonik memiliki beberapa kelebihan yang membuatnya menarik. Pertama, proses ini sangat cepat, sehingga menghemat waktu. Kedua, cara ini menggunakan lebih sedikit energi dibandingkan metode lain, yang bisa mengurangi biaya. Ketiga, jumlah pelarut yang diperlukan juga lebih sedikit, menghasilkan produk yang lebih murni dan meningkatkan jumlah hasil (yield). Dengan bantuan gelombang ultrasonik, ekstraksi senyawa organik dari tanaman dan biji-bijian menjadi lebih efisien. Gelombang ini dapat memecah dinding sel dari bahan yang diekstraksi, sehingga kandungan di dalamnya bisa keluar dengan lebih mudah (Ardianti dan Kusnadi, 2014; Mason, 1990).

Proses ekstraksi ultrasonik melibatkan gelombang ultrasonik yang mengenai sampel, menyebabkan tegangan mekanik yang mengakibatkan sampel terpecah menjadi partikel-partikel kecil. Gelombang ini juga menghasilkan efek kavitasi, yaitu pembentukan gelembung-gelembung mikro akibat perubahan tekanan yang terjadi selama proses ekstraksi. Efek kavitasi ini disebabkan oleh fluktuasi tekanan yang ditimbulkan oleh gelombang ultrasonik, sehingga menghasilkan gelembung yang kemudian runtuh dan menciptakan gelombang kejut. Proses ini meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa dari sampel (Torres dkk., 2017).

Dalam penelitian ini, digunakan beberapa jenis pelarut untuk mengekstraksi senyawa bermanfaat dari *A. indica L.*, atau tanaman anting-anting. Etil asetat adalah pelarut yang baik karena mudah menguap dan tidak berbahaya (Fitriani, N., dan Supriyanto, 2020). Dalam penelitian oleh Laksono dan Hayati (2021), ekstraksi daun *A. indica L.* dilakukan dengan pelarut etil asetat secara ultrasonik selama 20 menit. Pelarut ini bersifat semipolar, efektif melarutkan senyawa semipolar seperti alkaloid. Perbandingan sampel dengan pelarut adalah 1:10 (b/v), menghasilkan pola pemisahan alkaloid yang jelas. Hasil ekstraksi menghasilkan ekstrak berwarna hijau kehitaman. Sedangkan menurut penelitian Qoriati (2018), ekstraksi ultrasonik tanaman anting-anting dilakukan pada frekuensi 42 kHz dan suhu ruangan. Rendemen ekstrak meningkat seiring waktu ekstraksi, dari 3,390% pada 10 menit menjadi 4,192% pada 30 menit menggunakan etanol sebagai pelarut.

2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan yang memanfaatkan perbedaan distribusi molekul dari berbagai komponen di antara dua fase, yaitu fase gerak (eluen) dan fase diam (plat silika) yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda (Sasmito dkk., 2020). Menurut Brown dkk. (2015), KLT adalah jenis kromatografi planar yang menggunakan lapisan tipis sebagai fase diam, yang dapat berupa pelat kaca, aluminium, atau plastik, sementara fase gerak terdiri dari cairan yang bergerak melintasi permukaan fase diam. Prinsip kerja KLT didasarkan pada pergerakan pelarut yang melewati permukaan datar, di mana komponen campuran akan berpindah dengan kecepatan yang berbeda-beda. Kecepatan migrasi ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kelarutan, adsorpsi, ukuran molekul, muatan, dan proses elusi (Thompson dkk., 2018).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang termasuk dalam kategori kromatografi cair-padat. Pada metode ini, fase diam terdiri dari partikel berbutir yang diletakkan di atas penyangga seperti pelat kaca, logam, atau bahan lainnya yang sesuai (Hernández dkk., 2020). KLT menjadi salah satu pilihan populer dalam pengendalian mutu tanaman obat karena keunggulannya yang meliputi proses yang sederhana, biaya rendah, kapasitas sampel yang besar, hasil analisis yang cepat, dan kemampuan memberikan resolusi pemisahan yang baik (Chaudhari dkk., 2018). Pemisahan dalam KLT dilakukan melalui beberapa tahap dengan menggunakan berbagai eluen yang memiliki tingkat kepolaran berbeda, untuk memperoleh pelarut yang efektif dalam memisahkan komponen serta menghasilkan noda yang jelas (Lee dkk., 2019). Selama analisis, bercak yang terbentuk pada pelat KLT dipantau di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm (Zhang dkk., 2021). Beberapa faktor dapat mempengaruhi hasil KLT, terutama kestabilan senyawa, yang harus terjaga baik sebelum elusi (di pelat) maupun setelah elusi (saat visualisasi) agar hasil analisis tetap akurat (Patel dkk., 2022). Waktu tunggu yang lama dalam proses analisis dapat menyebabkan perubahan pada spot yang ada di pelat (Kumar dkk., 2017). Kestabilan senyawa dapat diindikasikan dengan tidak adanya perubahan jumlah, posisi, warna, atau intensitas spot selama jeda waktu tersebut (Sari dkk., 2018).

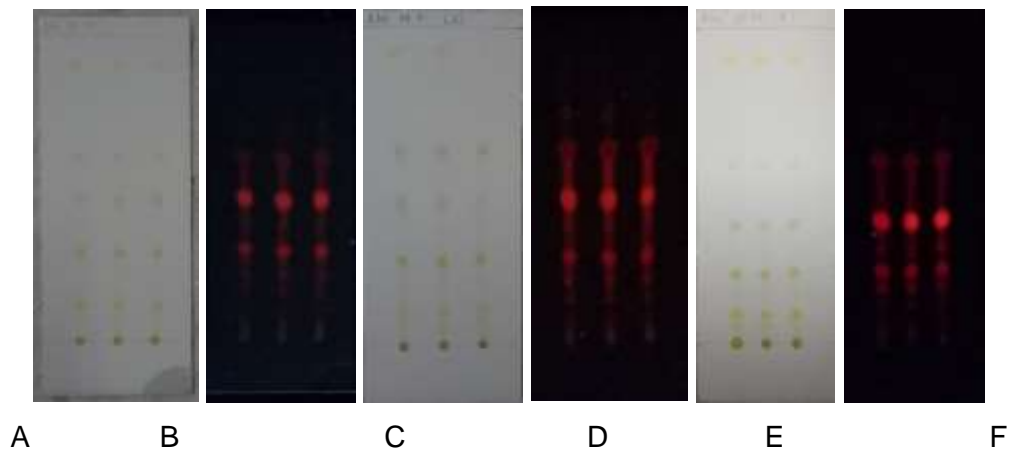
Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat dihitung dengan menggunakan R_f (Retardation factor):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}} \quad (1)$$

Harga R_f dipengaruhi oleh struktur kimia senyawa, sifat adsorben, jenis eluen, serta jumlah sampel yang digunakan (Harborne, 1998). Menurut Stahl (1969), senyawa dengan nilai R_f yang lebih besar biasanya memiliki kepolaran lebih rendah, dan sebaliknya. Hal ini disebabkan oleh fase diam yang bersifat polar, di mana senyawa polar akan lebih kuat tertahan pada fase tersebut, sehingga menghasilkan nilai R_f yang lebih rendah

Eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa alkaloid dalam penelitian oleh Fadhilah (2016) pada tanaman anting-anting dengan ekstrak etil asetat adalah sikloheksana : toluena : dietilamin dengan perbandingan (75:15:10). Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa alkaloid dapat terpisah dengan baik, menghasilkan empat noda dengan nilai R_f masing-masing 0,35; 0,65; 0,78; dan 0,89. Hal ini juga didukung oleh penelitian Safitri (2018) yang menggunakan eluen yang sama, menunjukkan pemisahan yang efektif untuk senyawa alkaloid.

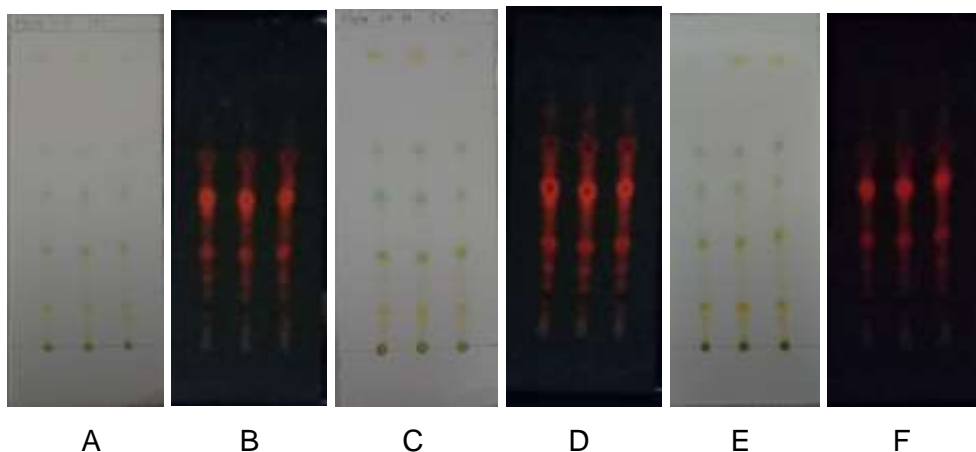
Dalam penelitian Safitri (2018), dengan menggunakan tanaman anting-anting, dihasilkan pola KLT sebagai berikut:



Gambar 2.2 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut etanol

Keterangan:

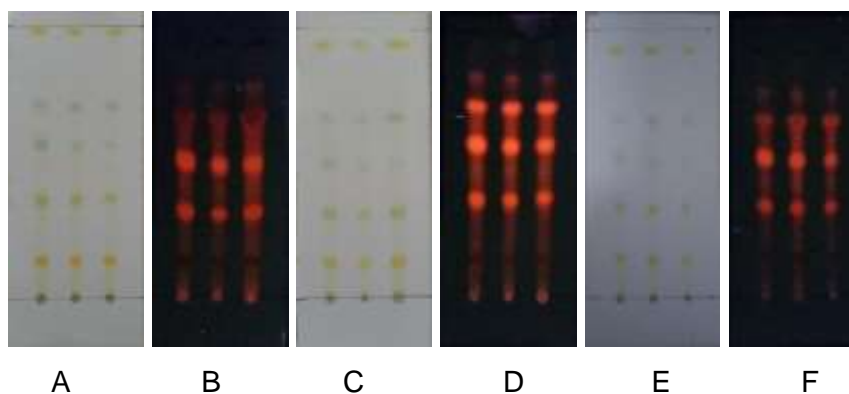
- A. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 10 menit tanpa lampu UV
- B. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 10 menit menggunakan lampu UV 366 nm
- C. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 20 menit tanpa lampu UV
- D. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 20 menit menggunakan lampu UV 366 nm
- E. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 30 menit tanpa lampu UV
- F. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 30 menit menggunakan lampu UV 366 nm



Gambar 2.3 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut metanol

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
- F. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 30 menit menggunakan lampu UV 366 nm



Gambar 2.4 Hasil KLT ekstrak kasar dengan pelarut etil asetat

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.
- 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
- F. Hasil KLT ekstrak kasar dengan lama ekstraksi 30 menit menggunakan lampu UV 366 nm

Pada penelitian Safitri (2018), pemisahan KLT pada tanaman anting-anting dengan variasi pelarut menunjukkan hasil berbeda, diperoleh hasil sebagai berikut:

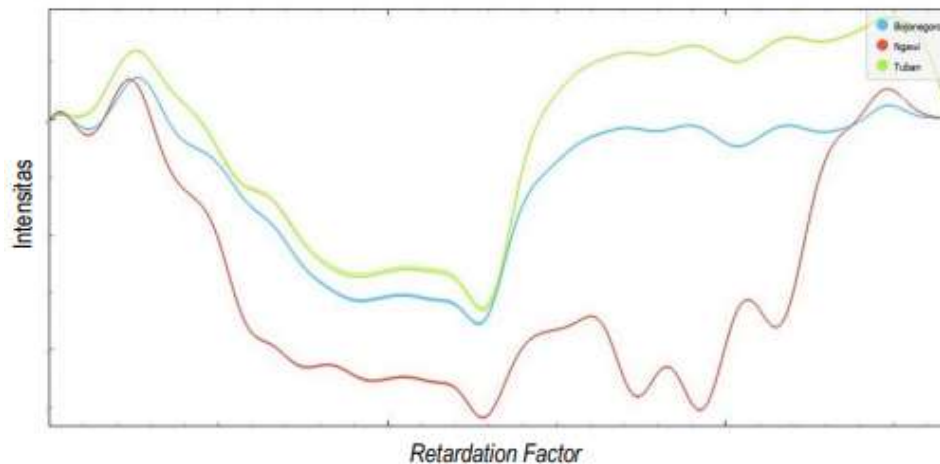
1. Etanol: Menghasilkan 3 noda dengan warna merah bata di bawah UV 366 nm. Nilai Rf bervariasi antara 0,269 hingga 0,606, dan nilai resolusi terbaik ditemukan pada lama ekstraksi 20 menit dengan nilai di atas 1,25
2. Metanol: Menghasilkan 3 noda. Nilai Rf berkisar antara 0,294 hingga 0,600, dengan resolusi terbaik pada ekstraksi selama 10 menit.
3. Etil Asetat: Menghasilkan 4 noda dengan warna merah yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Nilai Rf bervariasi antara 0,313 hingga 0,763, dengan resolusi di atas 1,25. Hasil terbaik ditemukan pada lama ekstraksi 20 menit,

Ketiga pelarut memberikan pola KLT yang berbeda, dengan etil asetat menunjukkan pemisahan senyawa alkaloid paling baik.

2.4 Analisis *Image J*

ImageJ adalah perangkat lunak pengolah gambar berbasis Java yang banyak digunakan dalam penelitian ilmiah dan dapat diunduh secara gratis. Salah satu aplikasi utamanya adalah dalam analisis data yang dihasilkan dari kromatografi lapis tipis (KLT). KLT adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan komponen dalam campuran, dan *ImageJ* sangat membantu dalam menganalisis hasil pemisahan tersebut. Dengan kemampuan untuk menangani gambar 8-bit, 16-bit, dan 32-bit, *ImageJ* memungkinkan peneliti untuk melakukan analisis yang mendalam terhadap pita yang dihasilkan oleh KLT.

Hasil pemisahan dengan menggunakan KLT, kemudian diolah dengan software *ImageJ* yang bertujuan untuk mendapatkan nilai AUC. Untuk mendapatkan hasil densitogram yang baik, maka dilakukan *preprocessing* dengan menggunakan software *ImageJ*. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan software, adapun prosesnya meliputi proses *smoothing*, normalisasi, *baseline correction*. Preprocessing tujuannya untuk mengubah data menjadi lebih baik supaya mudah dibaca, sehingga mendapatkan nilai intensitas (AU), didapatkan juga nilai luas area atau *Area Under Curve* (AUC) yang menunjukkan konsentrasi komponen dari setiap noda yang muncul pada pelat KLT. (Hidayaty dan Hayati, 2024).



Gambar 2.5 Densitogram setelah *preprocessing*

Pada penelitian (Hidayaty dan Hayati, 2024) hasil pemisahan yang ditampilkan mencerminkan ekstrak sampel dari daerah Tuban dan Bojonegoro, yang menunjukkan kesamaan, sehingga diduga memiliki komponen senyawa aktif yang serupa. Namun, densitogram ekstrak dari daerah Ngawi menunjukkan hasil yang berbeda. Semakin tinggi intensitas warna pada gambar, semakin tinggi puncak yang dihasilkan, yang mengindikasikan bahwa konsentrasi komponen juga meningkat. Dalam penelitian ini, total persentase AUC untuk Tuban adalah 40%, Bojonegoro 36%, dan Ngawi 24%. Kesimpulan ini menunjukkan bahwa semakin rendah lokasi pengambilan sampel, semakin besar kadar kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak.

Tabel 2. 1 Hasil analisis rata – rata data AUC berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel

Titik Rf	Nilai AUC (Area Under Curve)		
	Tuban	Bojonegoro	Ngawi
1	53.484,96	50.529,08	60.241,00
2	67.669,90	-	-
3	57.122,02	80.564,52	8.208,12
4	81.575,27	10.446,52	13.558,45
5	46.699,57	86.329,17	24.596,35
6	67.853,06	38.322,17	21.585,76
7	74.744,70	48.240,61	12.478,34
8	33.033,05	70.671,63	22.638,11
9	-	-	9.651,41
10	67.706,52	-	20.683,04
11	-	-	33.109,74
12	96.748,61	33.583,37	38.737,95
13	83.428,43	43.758,80	-
14	72.395,19	50.595,06	-

Dari tabel tersebut menunjukkan nilai Rf dan *Area Under Curve* (AUC) untuk tiga lokasi, yaitu Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi. Di Tuban, nilai AUC tertinggi tercatat sebesar 96.748,61 pada titik Rf ke-12, meskipun terdapat variasi yang cukup signifikan dan beberapa titik tidak memiliki data. Sementara itu, di Bojonegoro, nilai AUC tertinggi mencapai 86.329,17 pada titik Rf ke-5, juga dengan beberapa titik lainnya yang tidak memiliki data. Ngawi menunjukkan nilai AUC yang lebih rendah, dengan nilai tertinggi 60.241,00 pada titik Rf pertama, dan beberapa titik lainnya pun tidak memiliki data. (Hidayaty dan Hayati, 2024).

2.5 Analisis *Principal Component Analysis* (PCA)

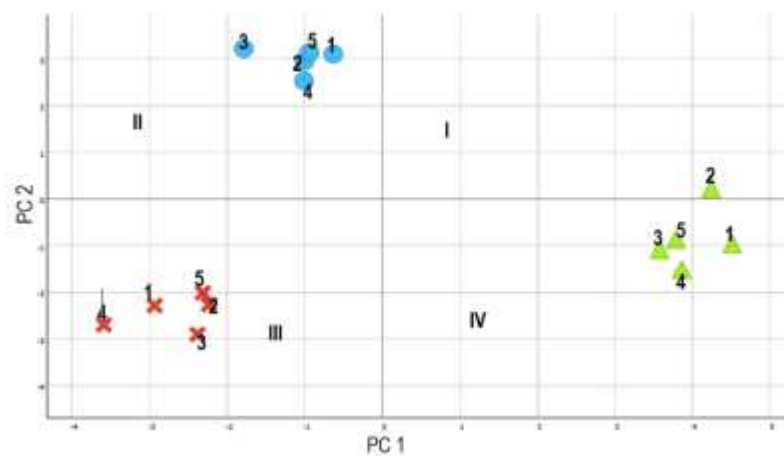
Principal Component Analysis (PCA) adalah teknik analisis multivariat yang digunakan untuk merangkum struktur data kompleks dan memperlihatkan variasi antar sampel (Johnson dan Wichern, 2018). Dengan menciptakan variabel baru dari data yang ada, PCA memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi perbedaan di antara sampel-sampel yang berbeda (Harris, 2017). Fungsi utama PCA adalah untuk membedakan setiap sampel, yang ditunjukkan melalui pembentukan kelompok pada komponen utama tertentu (Anderson dkk., 2019).

Prinsip dasar PCA (*Principal Component Analysis*) adalah untuk menyederhanakan data yang kompleks dengan mengidentifikasi komponen utama yang menjelaskan variasi dalam

data. PCA mencari kombinasi linier dari variabel yang ada untuk membentuk komponen utama, di mana komponen pertama (PC1) menyimpan sebagian besar informasi, dan komponen kedua (PC2) menyimpan informasi tambahan. Dengan demikian, PCA membantu mengurangi dimensi data tanpa kehilangan informasi penting, membuat analisis menjadi lebih mudah dan jelas (Husna, 2021).

Hasil dokumentasi (jpg) diolah secara kuantitatif dengan perangkat lunak *ImageJ* untuk mendapatkan luas area dari densitogram. Buka perangkat lunak *ImageJ* pilih *File-Open*, aktifkan menu *Rectangular*, dan pilih *Analyze-Gels-Select First Lane*. Pilih menu *Image-type-dan RGB colour* untuk mengatur kontras. Selanjutnya dipilih *Analyze-Gels-plot line*, sehingga didapatkan puncak densitogram. Kemudian bagian kurva di blok dengan mengaktifkan menu *Rectangular* dan pilih menu *Analyze-Tools-Analyze Line Graph* sehingga didapatkan koordinat (x) dan (y). Kemudian *Copy* dan *Paste* dalam *Microsoft Office Excel 2019* untuk pengolahan data lebih lanjut. Aktifkan menu *Straight*, tarik bagian bawah puncak dari satu ke bawah puncak yang lain dan diklik *Wand*. Pemberian *Highlight* di tiap-tiap puncak pada kurva dengan kursor yang mengarah di tengah-tengah puncak kurva sehingga muncul *Report* berupa luas area atau *Area Under Curve* (AUC). (Hidayaty dan Hayati, 2024).

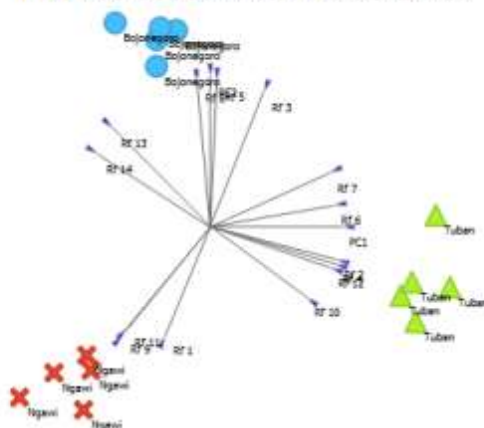
Hasil pengelompokan yang didapat dari analisis PCA dalam penelitian Hidayaty dan Hayati (2024) adalah sebagai berikut:



Gambar 2.6 Hasil pengelompokan berdasarkan analisis PCA *A. indica L.* dengan perbedaan lokasi pengambilan sampel Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi

Berdasarkan gambar 2.6 menunjukkan pengelompokan analisis PCA yang berbeda dari dugaan awal. Meskipun ekstrak sampel daerah Tuban dan Bojonegoro diharapkan memiliki kesamaan dalam warna filtrat, jumlah noda, dan densitogram, pengelompokan PCA menunjukkan bahwa kedua ekstrak terletak di kuadran yang berbeda dan berjauhan. Hal ini mengindikasikan bahwa golongan senyawa aktif dalam ekstrak sampel dari kedua daerah tersebut kemungkinan berbeda (Hidayaty dan Hayati, 2024).

Hasil *linear projection* dengan software orange



Kadar tertinggi (✓) pada tiap Rf dari ekstrak sampel tiga daerah hasil *linear projection*

Daerah	Rf 1	Rf 2	Rf 3	Rf 4	Rf 5	Rf 6	Rf 7	Rf 8	Rf 9	Rf 10	Rf 11	Rf 12	Rf 13	Rf 14
Tuban		✓		✓		✓	✓			✓		✓		
Bojonegoro			✓		✓			✓					✓	✓
Ngawi	✓								✓		✓			

Gambar 2.7 Linear Projection dari *A. indica L.* berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel

Analisis yang lebih mendalam terhadap pengelompokan dilakukan melalui proses linear projection. Gambar 2.7 menunjukkan hasil linear projection yang mengasumsikan bahwa kontribusi yang kuat dari tiga daerah pengambilan sampel menggambarkan nilai kadar tertinggi terhadap titik Rf. Sampel dari daerah Tuban memberikan kontribusi terbesar, yang berbanding lurus dengan tingginya kadar senyawa aktif. Hal ini disebabkan oleh lokasi pengambilan sampel di daerah Tuban yang berada pada dataran terendah (± 10 mdpl) dengan suhu yang tinggi. (Hidayaty dan Hayati, 2024).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 sampai Desember 2024 di laboratorium Kimia Analitik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan untuk preparasi sampel diantaranya loyang, oven, gunting, blender kaca, ayakan 90 mesh dan spatula. Sedangkan alat untuk ekstraksi antara lain waterbath, klem statif, gelas arloji, gelas beaker 50 mL, neraca analitik, botol vial dengan tutup, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, pipet volume 1 mL, corong gelas, batang pengaduk, kertas saring, botol semprot dan bola hisap. Proses pemisahan dilakukan dengan menggunakan pelat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄, micropipette, chamber, dan oven. Tahap deteksi membutuhkan lampu UV 366 nm kamera, yang kemudian diidentifikasi menggunakan Aplikasi Image J dan *MetaboAnalyst* untuk analisis PCA.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.), yang diperoleh dari daerah Pasuruan. Bahan yang digunakan etanol, etil asetat, kloroform, n-heksana dan plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode kualitatif. Pertama diambil tanaman anting-anting (*A. indica* L.) dan dikeringanginkan serta dihaluskan dengan menggunakan blender. Selanjutnya diayak dengan ukuran 90 mesh. Serbuk kasar kemudian dilakukan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana, 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 Tahapan Penelitian

penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel Tanaman Anting-Anting (*A. indica L.*),
2. Ekstraksi ultrasonik tumbuhan anting-anting dengan berbagai pelarut dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit.
3. Pemisahan komponen senyawa dengan menggunakan (KLT) dengan eluen (sikloheksana : toluena : dietilamina) dengan perbandingan 75 : 15: 10.
4. Analisis profil senyawa tanaman anting-anting menggunakan KLT.
5. Analisis menggunakan ImageJ dan orange data mining 3.38.0.
6. Analisis menggunakan PCA dengan *software MetaboAnalyst 6.0*.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman Anting-Anting (*A. indica L.*)

Tanaman anting-anting (*A. indica L.*) diambil dari Kab.Pasuruan daerah Kec. Prigen. 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 (*Acalypha indica L.*) diekstrak menggunakan metode ekstraksi ultrasonik selama 20 menit pada frekuensi 42 KHz dengan empat pelarut berbeda, yaitu etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Sebanyak 1 gram serbuk tanaman digunakan untuk setiap pelarut, dan dilakukan 5 kali pengulangan untuk masing-masing pelarut. Serbuk dilarutkan dalam 10 ml pelarut dengan perbandingan berat 1:10 (w/v) (Handayani, 2016). Campuran tersebut ditempatkan dalam erlenmeyer atau botol kaca dan diekstraksi menggunakan ultrasonik pada frekuensi 42 KHz di suhu kamar selama 20 menit. Setelah ekstraksi selesai, filtrat dipisahkan menggunakan kertas saring untuk memperoleh ekstrak tanaman anting-anting. Ekstrak yang dihasilkan langsung disimpan dalam botol vial tanpa dilakukan penguapan dan tanpa penghitungan rendemen.

3.5.3 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

3.5.3.1 Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa ekstrak tanaman anting-anting dilakukan menggunakan plat silika G₆₀F₂₅₄ sebagai fase diam dengan ukuran 6.5 x 10 cm. Garis ditarik pada tepi bawah plat

dengan jarak 1 cm untuk menentukan batas elusi serta titik awal penotolan. Pada setiap plat, dilakukan 5 penotolan dengan jarak antar titik sebesar 1 cm. Mengingat terdapat 4 pelarut yang berbeda, total dibutuhkan 4 plat silika. Setelah proses elusi, panjang hasil pemisahan diukur dari titik awal penotolan hingga batas pelarut yang dicapai, yaitu 8 cm. Jarak ini mencerminkan efektivitas pemisahan senyawa oleh pelarut, yang dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kecepatan penguapan, konsentrasi senyawa, dan jenis pelarut yang digunakan. Sebelum digunakan, plat silika G₆₀F₂₅₄ diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kelembaban.

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 50 µL pada titik yang sama untuk setiap pelarut menggunakan micropipette. Plat kemudian dielusi dengan fase gerak, di mana plat tersebut dimasukkan ke dalam ruang (chamber) yang berisi fase gerak yang telah jenuh. Chamber ditutup rapat hingga fase gerak mencapai ketinggian 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Setelah proses elusi selesai, plat diangkat dan dikeringkan. Noda pada plat silika G60F254 hasil kromatografi lapisan tipis (KLT) diamati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm untuk mengevaluasi warna noda yang dihasilkan. Selanjutnya, pemotretan dilakukan di bawah sinar UV, dan hasil observasi tersebut didokumentasikan menggunakan 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 berbentuk 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 beberapa 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 PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa daun tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica L.*) yang berasal dari tiga daerah berbeda di Jawa Timur yaitu tumbuhan anting-anting dari Desa Sukodono, Kecamatan Prigen, Kabupaten Pasuruan. Preparasi tanaman anting-anting dimulai dengan mencucinya menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Selanjutnya, tanaman tersebut dipotong menjadi bagian yang lebih kecil untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Dengan memperkecil ukuran partikel, luas permukaan yang bersentuhan dengan pelarut meningkat, memungkinkan reaksi yang lebih cepat dan efisien antara zat terlarut dan pelarut, serta menghasilkan filtrat yang lebih banyak dalam waktu yang lebih singkat. Oleh karena itu, langkah-langkah preparasi yang tepat sangat penting untuk mencapai hasil ekstraksi yang optimal (Pratiwi dkk., 2018). Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (oven) akan memberikan produk yang lebih baik. Sinar ultraviolet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan. Proses pengeringan yang terjadi pada oven yaitu panas yang diberikan pada bahan pangan dalam sebuah oven dapat melalui radiasi dari dinding oven, konveksi dan sirkulasi udara panas dan melalui konduksi melalui wadah tempat bahan pangan diletakkan. Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat. (Mulita dan Tanggasari, 2024).

Penggunaan oven dalam proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada sampel, sehingga dapat mencegah pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Proses ini juga menghentikan aktivitas enzimatis yang dapat merusak kualitas simplisia. Kehadiran air dalam sampel berpotensi memicu pertumbuhan kapang dan mikroba lainnya. Oleh karena itu, pengeringan yang efektif sangat penting untuk memastikan stabilitas senyawa aktif, terutama ketika kadar air masih tinggi, di mana enzim tertentu dapat menguraikan komponen aktif meskipun sel-selnya sudah mati (Winangsih dkk., 2013). Suhu yang tinggi dapat mempercepat proses pengeringan, namun seringkali bahan baku atau sampel yang digunakan masih belum kering sepenuhnya. Di sisi lain, jika suhu pengeringan terlalu rendah, prosesnya akan berlangsung lambat dan dapat menyebabkan perkembangan jamur serta mikroba. Oleh karena itu, secara umum, suhu yang dianggap efektif untuk pengeringan berkisar antara 50-65°C, yang dapat menjaga kualitas bahan sambil meminimalkan risiko kontaminasi mikroba (Sari dan Prasetyo, 2019; Widyastuti dan Setyowati, 2021).



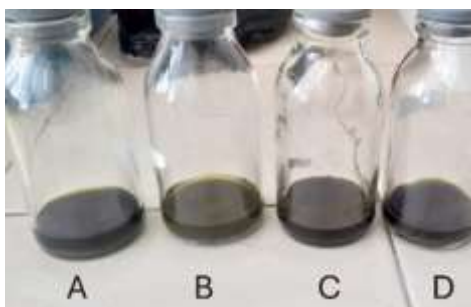
Gambar 4.1 Serbuk sampel tanaman anting-anting

Sampel yang telah melalui proses pengeringan menunjukkan perubahan warna menjadi hijau-kecoklatan dengan tekstur yang halus. Berbeda dengan kondisi awalnya yang berwarna hijau cerah dan juga memiliki tekstur halus. Perubahan ini dipengaruhi oleh suhu dan durasi pengeringan yang diterapkan. Menurut Pramono dan Setiawan (2021), pengeringan tepung singkong pada suhu tertentu tidak menyebabkan perubahan warna yang signifikan, hal ini disebabkan oleh waktu pengeringan yang singkat dan suhu yang relatif rendah. Di sisi lain, Supriyanto dan Wulandari (2020) mengungkapkan bahwa dalam proses pengeringan daun bayam pada suhu tertentu, daun tersebut masih dapat mempertahankan warna hijau cerah. Namun, jika pengeringan tidak dilakukan secara merata, dapat terjadi perubahan warna akibat degradasi klorofil, yang mengakibatkan warna berubah dari hijau menjadi hijau-kecoklatan. Selain itu, proses pengayakan serbuk anting-anting bertujuan untuk menyamakan ukuran serbuk sampel, sehingga meningkatkan interaksi antara zat terlarut dan pelarut. Penyimpanan dalam wadah plastik juga penting untuk menjaga agar tidak merusak kandungan metabolit sekundernya.

4.2 Ekstraksi dengan Ultrasonik

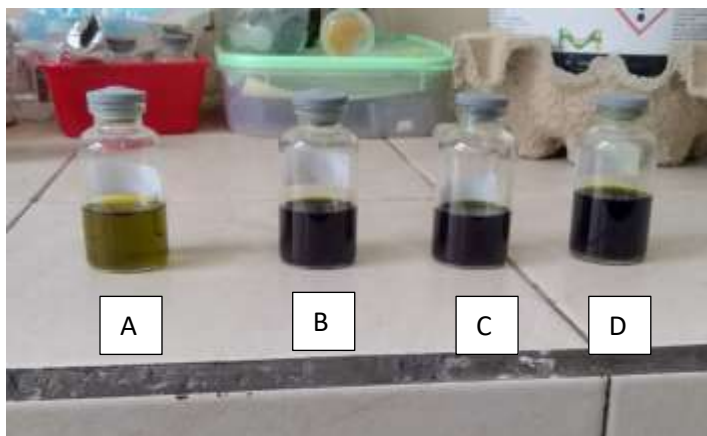
Ekstraksi ultrasonik telah menjadi metode yang populer dalam mendapatkan ekstrak dari bahan alami karena kemampuannya untuk meningkatkan rendemen dan mempercepat proses ekstraksi. Metode ini menggunakan gelombang ultrasonik untuk menciptakan kavitasasi dalam pelarut, yang membantu memecah dinding sel dan melepaskan senyawa aktif ke dalam larutan (Adhiksana dkk., 2017). Penggunaan suhu rendah selama proses ini juga membantu menjaga stabilitas senyawa sensitif terhadap panas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode ultrasonik dapat menghasilkan kualitas ekstrak yang lebih baik dibandingkan dengan metode konvensional (Zhu dkk., 2016).

Serbuk tanaman anting-anting dicampur masing-masing pelarut dengan perbandingan 1:10 (b/v). Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi tanaman sangat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Etanol adalah pelarut polar yang umum digunakan karena kemampuannya untuk melarutkan senyawa polar dan semi-polar, serta memiliki sifat yang tidak beracun. Penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol, semakin banyak komponen bioaktif yang dapat diekstraksi (Yasa dkk., 2019). Etil asetat, sebagai pelarut semi-polar, efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa seperti flavonoid dan terpenoid, yang memiliki titik didih lebih rendah (Kumar dkk., 2021). Di sisi lain, kloroform adalah pelarut non-polar yang digunakan untuk mengekstrak senyawa non-polar seperti lipid dan steroid, memberikan variasi dalam komposisi ekstrak (Dolatowski dkk., 2007). N-heksana juga merupakan pelarut non-polar yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa hidrokarbon. Pemilihan jenis pelarut yang tepat sangat penting karena dapat mempengaruhi jumlah dan komposisi fitokimia serta aktivitas biologis dari ekstrak tanaman; variasi kepolaran pelarut akan berdampak pada efektivitas ekstraksi dan potensi senyawa bioaktif yang dihasilkan (Buhian dkk., 2016; Setyantoro dkk., 2022).



Gambar 4.2 Serbuk sampel + etanol (A), serbuk sampel + n-heksana (B), serbuk sampel + kloroform (C), serbuk sampel + etil asetat (D)

Serbuk sampel yang dicampur dengan empat pelarut berbeda: etanol (A), n-heksana (B), kloroform (C), dan etil asetat (D). Setiap pelarut memiliki ciri khas, seperti bau yang berbeda. Etanol berbau seperti alkohol, n-heksana seperti minyak tanah, kloroform beraroma manis tajam, dan etil asetat seperti pelarut cat. Awalnya, semua pelarut berwarna bening. Setelah dicampur dengan serbuk sampel, warnanya berubah. Pada Gambar 4.2 (A) dan (B), campuran terlihat lebih terang dengan sedikit endapan. Sementara pada Gambar 4.2 (C) dan (D), campuran terlihat lebih pekat dan berwarna hijau gelap, menunjukkan serbuk larut lebih baik. Proses ekstraksi dilakukan selama 20 menit, lalu campuran disaring untuk mendapatkan cairan hasil ekstrak tanaman anting-anting.



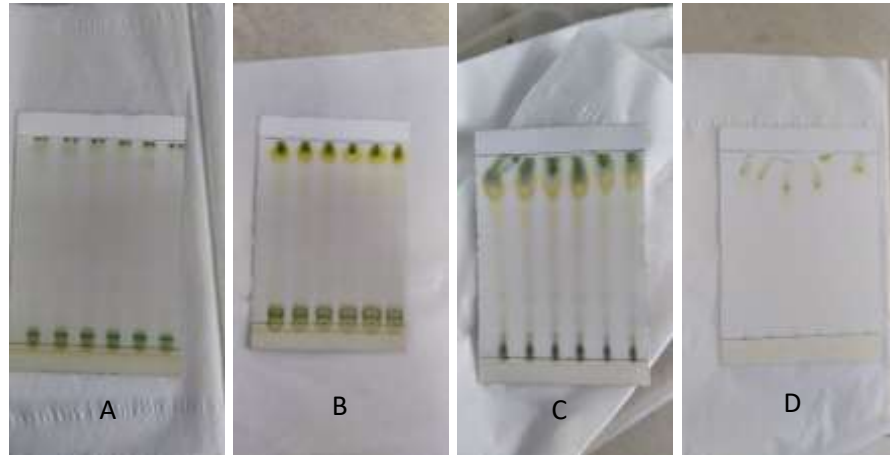
Gambar 4.3 Hasil ekstraksi sampel dengan pelarut setelah disaring n-heksana (A) Kloroform (B) etil asetat (C) etanol (D)

Adapun hasil warna yang diperoleh dari ekstraksi pada Gambar 4.3 menunjukkan hasil ekstraksi daun *Acalypha indica L.* menggunakan empat jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (A), kloroform (B), etil asetat (C), dan etanol (D). Ekstrak n-heksana (A) berwarna kuning, menunjukkan bahwa pelarut non-polar ini mengekstraksi senyawa lipofilik seperti lipid atau terpenoid (Handa Dkk., 2008). Kloroform (B) dan etil asetat (C) menghasilkan warna gelap, yang mengindikasikan kemampuan pelarut semi-polar untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid atau fenolik (Sasidharan Dkk., 2011). Sementara itu, ekstrak etanol (D) berwarna hijau gelap, mencerminkan sifat polar etanol yang mendukung ekstraksi senyawa polar seperti alkaloid, tannin, atau glikosida (Das Dkk., 2010). Perbedaan warna pada ekstrak mencerminkan variasi metabolit yang terekstraksi dari *Acalypha indica L.*, sesuai dengan sifat kepolaran pelarut yang digunakan.

4.3 Analisis Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

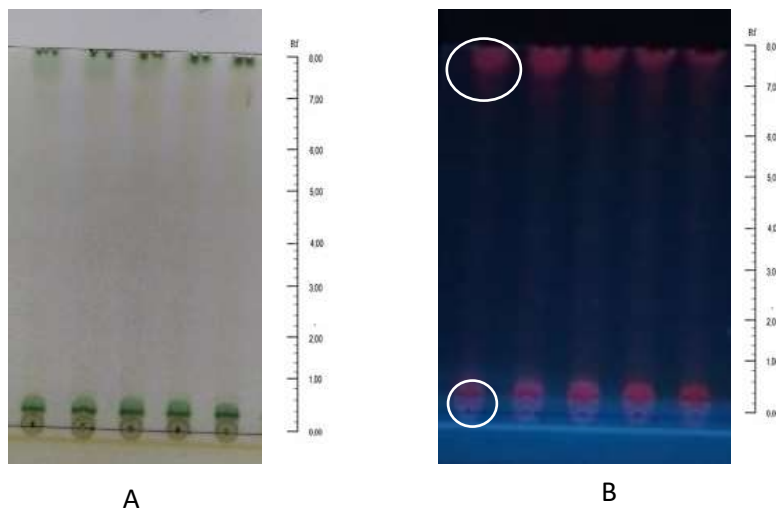
Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik yang efektif untuk memisahkan komponen-komponen dalam ekstrak tanaman dan mengidentifikasi jumlah komponen yang terpisah berdasarkan pola bercak yang terbentuk. Dalam penelitian ini, plat silika G₆₀F₂₅₄ dipilih karena kemampuannya berfluoresensi ketika terpapar sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Fase gerak yang digunakan berupa campuran eluen sikloheksana (75%), toluena (15%), dan dietilamin (10%), yang memiliki sifat non-polar dengan sedikit komponen polar, menjadikannya cocok untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan polaritas. Sikloheksana dan toluena berperan dalam melarutkan senyawa non-polar, sementara dietilamin, meskipun polar, memiliki sifat semipolar yang memungkinkan interaksi dengan senyawa polar tanpa mengubah dominasi non-polar dalam campuran. Proses pemisahan dilakukan dengan penjuanan fase gerak untuk menyeimbangkan tekanan uap dalam bejana, memastikan proses elusi berjalan optimal. Sampel diekstraksi sebanyak 50 μ L dan ditotolkan pada plat KLT sebanyak enam kali untuk

setiap variasi pelarut yang digunakan. Setelah pengamatan bercak pada hasil elusi yang membutuhkan waktu sekitar 30 menit, proses ini dilanjutkan dengan pengeringan plat untuk memperoleh pemisahan yang jelas. Berikut ini adalah hasil plat KLT yaitu:

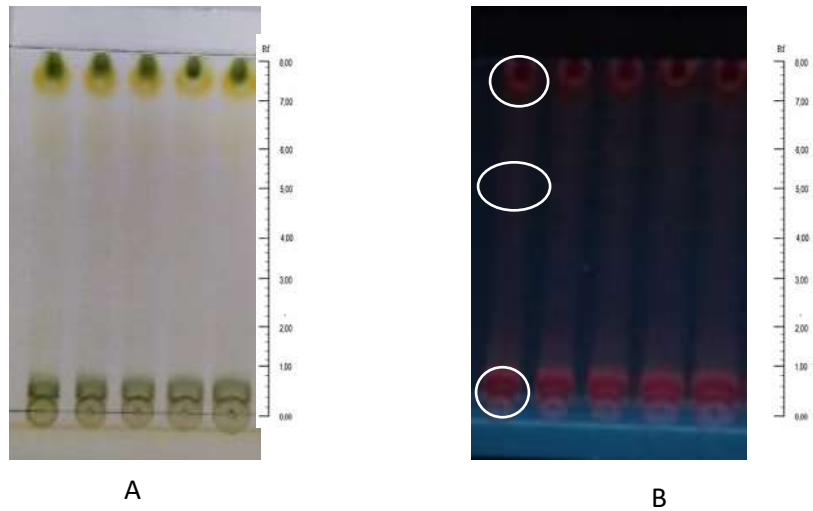


Gambar 4.4 Hasil pemisahan dengan KLT yakni : etanol (A) etil asetat (B) kloroform (C) n-heksana (D)

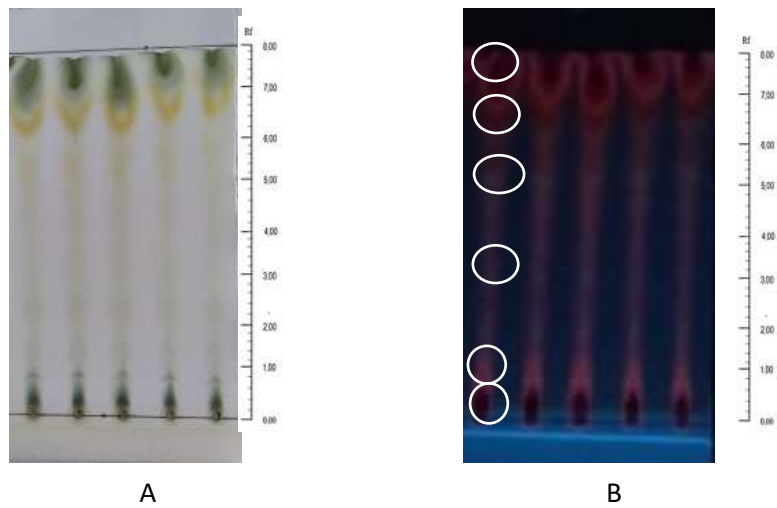
Pada proses pemisahan menggunakan KLT, terbentuk berbagai noda pada setiap plat KLT yang diamati. Noda-noda tersebut menunjukkan adanya senyawa aktif tertentu yang terkandung dalam ekstrak kasar. Perbedaan warna pada noda yang terbentuk mengindikasikan jenis senyawa aktif yang berbeda. Pengamatan dilakukan dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, yang memungkinkan lempeng KLT menunjukkan fluoresensi dan memperlihatkan bercak yang gelap atau bercak berfluoresensi terang di atas dasar yang memiliki fluoresensi seragam, sehingga memudahkan deteksi noda tersebut (Gandjar dan Rohman, 2007). Adapun hasil pemisahan KLT pada tiap variasi pelarut yang diperoleh yakni:



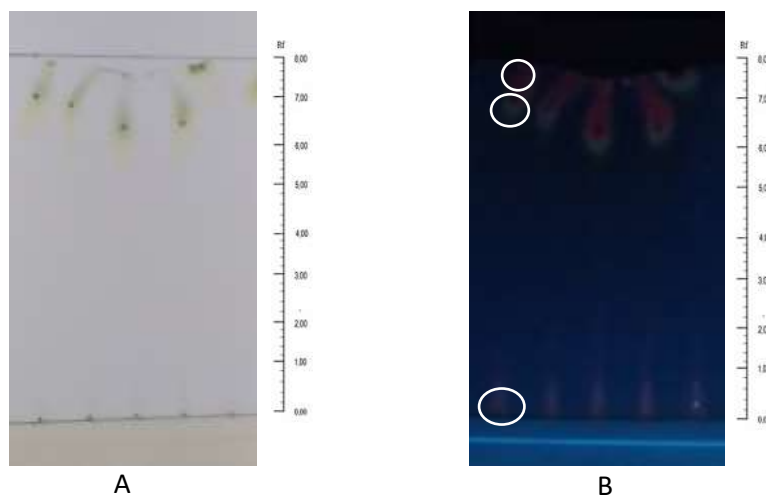
Gambar 4.5 Hasil KLT pelarut etanol (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 2 noda



Gambar 4.6 Hasil KLT pelarut etil asetat (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 3 noda



Gambar 4.7 Hasil KLT pelarut kloroform (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 6 noda



Gambar 4.8 Hasil KLT pelarut n-heksana (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 3 noda

Hasil pemisahan senyawa dalam ekstrak *Acalypha indica* L. menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pelarut etanol, etilasetat, kloroform, dan n-heksana menunjukkan variasi jumlah noda yang dihasilkan, yang mencerminkan pengaruh kepolaran pelarut terhadap kemampuan pemisahan senyawa. Pada pelarut etanol (Gambar 4.5), dua noda terdeteksi setelah pengamatan di bawah sinar UV 366 nm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan etanol sebagai pelarut, meskipun polar, hanya mampu memisahkan senyawa dengan kepolaran tinggi, sehingga senyawa polar cenderung terbawa oleh fasa gerak dan tidak tertahan dalam fasa diam. Sementara itu, pelarut etilasetat (Gambar 4.6), yang memiliki kepolaran sedang, juga menghasilkan tiga noda, tetapi intensitas dan kualitas noda lebih baik dibandingkan etanol. Dengan pelarut ini, senyawa yang memiliki polaritas menengah lebih terlihat, meskipun jumlah noda masih terbatas. Hasil yang paling signifikan terlihat pada penggunaan pelarut kloroform (Gambar 4.7), di mana enam noda terdeteksi. Kloroform, yang bersifat kurang polar, memungkinkan pemisahan senyawa nonpolar dan semi-polar dalam ekstrak, menghasilkan noda yang lebih banyak dan lebih jelas. Dengan kloroform, senyawa yang memiliki afinitas rendah terhadap fasa diam dapat tertahan cukup lama, sehingga memungkinkan pemisahan yang lebih baik. Pada pelarut n-heksana (Gambar 4.8), hasil menunjukkan adanya tiga noda yang terdeteksi, mirip dengan etanol dan etilasetat. Namun, n-heksana, yang sangat nonpolar, cenderung hanya membawa senyawa nonpolar, sementara senyawa polar tidak terdeteksi karena afinitasnya yang rendah terhadap pelarut ini. Analisis menunjukkan bahwa kepolaran pelarut sangat berpengaruh terhadap jumlah senyawa yang terpisah. Semakin tinggi tingkat kepolaran pelarut, semakin sedikit senyawa yang tertahan di fasa diam, sehingga jumlah noda yang terlihat berkurang. Selain itu, intensitas dan warna noda yang terlihat di bawah sinar UV juga dipengaruhi oleh fluoresensi, di mana emisi cahaya terjadi saat elektron kembali ke keadaan dasar setelah tereksitasi. Warna yang terlihat mencerminkan energi emisi yang dilepaskan, dengan variasi warna menunjukkan perbedaan sifat senyawa dalam ekstrak. Menurut Zahro (2011), fluoresensi ini dipengaruhi oleh struktur molekul senyawa yang berbeda, yang mengakibatkan variasi warna dan intensitas noda. Berdasarkan kriteria Markham (1998), pemisahan KLT yang baik harus menghasilkan noda yang bulat, tidak berekor, serta pemisahan antar noda yang jelas dan konsisten di setiap pengulangan. Dalam penelitian ini, hasil terbaik diperoleh dengan pelarut kloroform karena jumlah noda yang terpisah paling banyak, dengan bentuk noda yang lebih jelas dibandingkan pelarut lainnya. Dengan demikian, kloroform dianggap sebagai pelarut yang paling efektif untuk pemisahan senyawa dalam ekstrak *A. indica* L.. Pemilihan pelarut yang sesuai sangat penting dalam analisis kimia, terutama untuk mendapatkan hasil pemisahan senyawa yang optimal dan representatif.

Perhitungan nilai R_f dan resolusi setiap noda membantu mengidentifikasi senyawa. Jika nilai R_f -nya mirip, berarti noda pembanding memiliki karakteristik yang serupa. Kesimpulan ini bisa diperkuat dengan uji presisi menggunakan Standar Deviasi (SD).

Tabel 4. 1 Hasil nilai Rf ekstrak A. Indica L. dari 4 Variasi Pelarut

Pelarut	Nilai Rf										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Etanol 1	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,96
Etanol 2	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,97
Etanol 3	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	0,97
Etanol 4	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	0,96
Etanol 5	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,97
Etil asetat 1	-	0,11	-	-	-	-	0,78	-	-	0,95	-
Etil asetat 2	-	0,11	-	-	-	-	-	0,80	-	-	0,96
Etil asetat 3	-	0,11	-	-	-	-	0,78	-	-	-	0,97
Etil asetat 4	-	0,11	-	-	-	-	0,78	-	-	-	0,99
Etil asetat 5	-	0,12	-	-	-	-	-	0,80	-	-	0,97
Kloroform 1	0,08	-	0,22	-	0,39	0,64	-	0,80	0,89	-	-
Kloroform 2	0,09	-	0,22	-	0,37	0,64	-	0,82	-	0,90	-
Kloroform 3	0,08	-	0,25	-	0,38	0,65	-	0,82	-	0,91	-
Kloroform 4	0,07	-	-	0,27	0,40	0,65	-	0,83	-	0,90	-
Kloroform 5	0,07	-	-	0,26	0,40	-	0,7	0,83	-	0,95	-
N-heksana 1	-	0,11	-	-	-	-	-	-	0,86	0,91	-
N-heksana 2	0,10	-	-	-	-	-	-	0,85	0,87	-	-
N-heksana 3	0,09	-	-	-	-	-	0,76	0,80	-	-	-
N-heksana 4	-	0,11	-	-	-	-	0,78	0,83	-	-	-
N-heksana 5	-	0,12	-	-	-	-	-	-	-	0,94	0,97
Rata-rata	0,0875	0,1106	0,2288	0,2635	0,38633	0,6458	0,7610	0,8174	0,8706	0,9229	0,9719
Standar Deviasi	0,01169	0,00334	0,01495	0,01025	0,01329	0,00921	0,04118	0,01642	0,01596	0,02281	0,00808

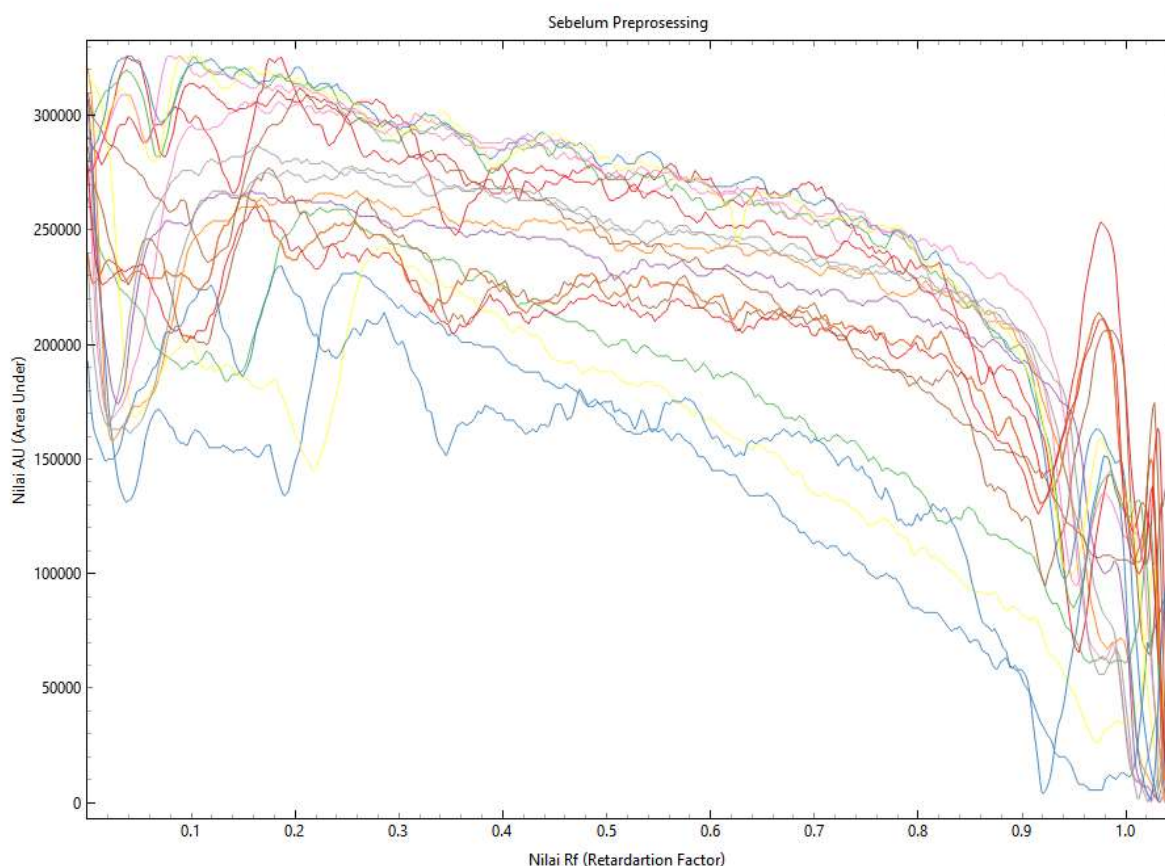
Pada diatas tabel 4.1 menunjukkan hasil analisis ekstrak tanaman *A. indica L.* menggunakan empat jenis pelarut yang berbeda: etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Analisis ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk melihat sejauh mana senyawa dalam ekstrak dapat bergerak pada media tertentu, yang diukur dengan nilai Rf (retardation factor). Nilai Rf ini pada dasarnya menunjukkan seberapa jauh senyawa tertentu bisa "berjalan" selama proses pemisahan, tergantung pada sifat pelarut yang digunakan. Misalnya, pelarut etanol yang bersifat polar (seperti air) cenderung bekerja dengan baik untuk melarutkan senyawa polar seperti flavonoid atau alkaloid. Pada tabel, noda pertama di ekstrak etanol memiliki nilai Rf rendah, sekitar 0,10, yang artinya senyawa ini tidak bergerak jauh. Sebaliknya, noda ke-11 dengan nilai Rf 0,97 menunjukkan senyawa yang lebih larut dalam etanol, sehingga bergerak lebih jauh.

Untuk pelarut etil asetat, yang bersifat semi-polar (antara polar dan non-polar), hasilnya menunjukkan bahwa senyawa tertentu bergerak lebih jauh, dengan nilai Rf rata-rata berkisar antara 0,11 hingga 0,97. Hal ini menunjukkan pelarut ini efektif untuk senyawa semi-polar seperti fenol. Kloroform, yang bersifat non-polar (lebih seperti minyak), menghasilkan variasi Rf yang cukup besar, dari 0,08 hingga 0,91, menunjukkan bahwa pelarut ini baik untuk senyawa non-polar seperti terpenoid atau steroid. Sementara itu, n-heksana, pelarut yang juga non-polar, menunjukkan kemampuan yang mirip, dengan nilai Rf tertinggi mencapai 0,94, yang menunjukkan pelarut ini cocok untuk senyawa lemak atau hidrokarbon.

Secara keseluruhan, tabel ini menunjukkan bahwa setiap pelarut memiliki kemampuan yang berbeda untuk memisahkan senyawa dalam ekstrak tanaman. Data seperti ini penting untuk memahami jenis senyawa apa saja yang terkandung dalam tanaman *A. indica L.* dan bagaimana senyawa tersebut bisa dimanfaatkan, misalnya sebagai obat herbal. Nilai rata-rata Rf dan standar deviasi (SD) juga memberikan informasi penting tentang keakuratan dan konsistensi hasil pengukuran, memastikan bahwa analisis ini dapat diandalkan. (Pavia Dkk., 2015; Harborne, 1998). Untuk memastikan bahwa setiap noda yang terdeteksi merupakan jenis senyawa yang serupa, dilakukan analisis nilai Rf menggunakan uji presisi melalui perhitungan Standar Deviasi (SD). Berdasarkan hasil analisis, ditemukan 11 nilai Rf yang tertera pada Tabel 4.1. Masing-masing dari 4 pelarut yang digunakan menghasilkan nilai Rf yang berbeda, menunjukkan adanya variasi senyawa aktif yang diekstrak. Perbedaan ini disebabkan oleh sifat kepolaran masing-masing pelarut, yang mempengaruhi jenis senyawa yang dapat larut dan bergerak dalam proses kromatografi. Nilai SD dari keempat pelarut tersebut berkisar antara 0,00 hingga 0,05, mengindikasikan bahwa hasil pengukuran memiliki tingkat presisi yang tinggi. Nilai ini telah memenuhi kriteria uji presisi dengan batas maksimal ΔRf sebesar 0,05 (Reich & Schibli, 2006), yang menunjukkan bahwa data yang diperoleh dapat diandalkan dan memiliki tingkat keterulangan yang baik.

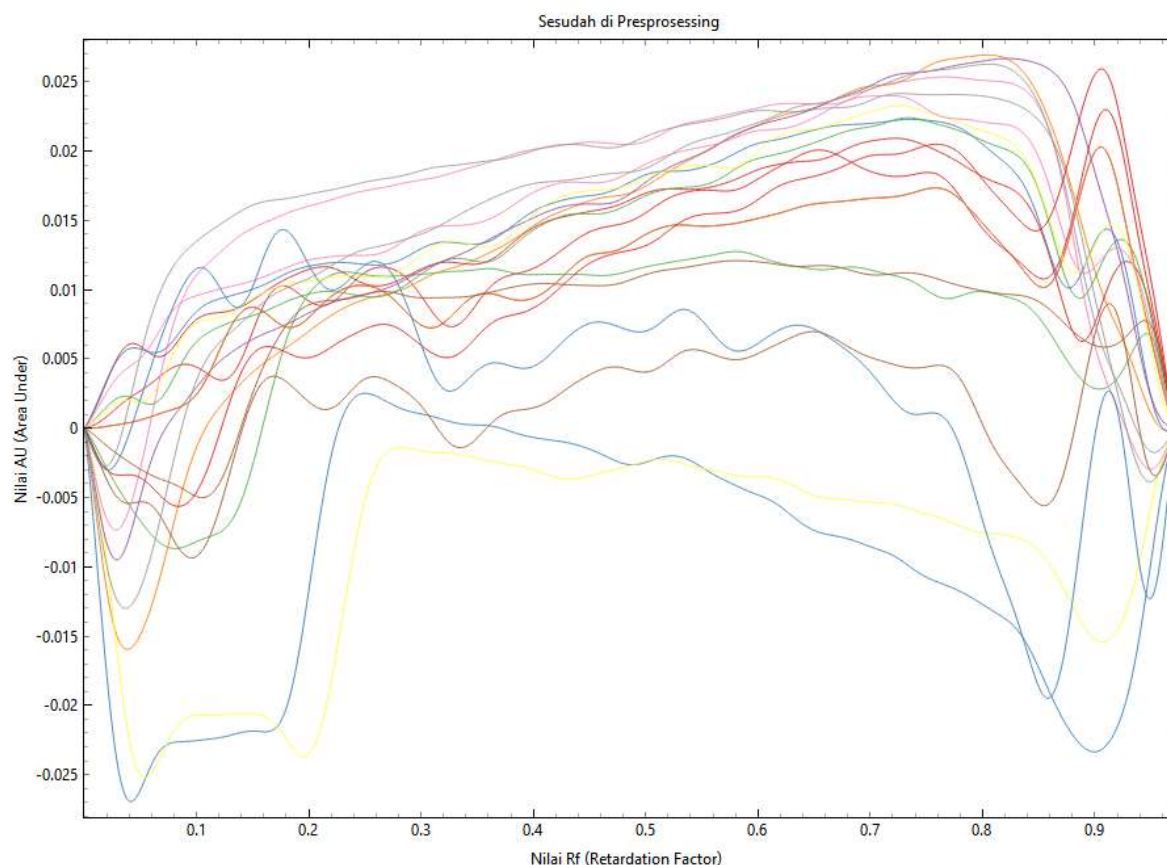
4.4 Analisis Hasil KLT menggunakan Image J dan Orange

Setelah pemisahan menggunakan KLT, gambar plat KLT diproses dengan aplikasi ImageJ untuk mengubah noda menjadi data kromatogram. Dari kromatogram tersebut, dihitung nilai AUC (*Area Under the Curve*). Noda yang terbentuk dari berbagai pelarut menunjukkan pola kromatogram yang serupa, namun jumlah puncak yang terbentuk bervariasi. Perbedaan ini disebabkan oleh adanya senyawa yang sama dalam sampel tanaman *A. Indica L.*, tetapi dengan tingkat kepolaran dan intensitas yang berbeda. Penandaan noda bertujuan untuk menghasilkan nilai AUC yang mewakili komponen pita pada setiap penotolan, yang kemudian diolah menjadi kromatogram untuk analisis lebih lanjut.



Gambar 4.9 Densitogram hasil Image J diolah dengan Orange sebelum di *preprocessing*

Gambar densitogram pertama yang diperoleh masih mengandung banyak gangguan (noise) sehingga sulit untuk diinterpretasi secara langsung. Untuk itu, dilakukan serangkaian proses pra-pengolahan data menggunakan perangkat lunak Orange Data Mining 3.380. Proses *smoothing* diterapkan untuk menghaluskan kurva data dan mengurangi noise. Selanjutnya, dilakukan *baseline correction* agar puncak-puncak pada kurva yang memiliki nilai area yang hampir sama dapat sejajar pada sumbu jarak. Terakhir, proses *normalisasi* dilakukan untuk menyesuaikan rentang nilai intensitas sehingga lebih mudah dibandingkan. Dengan langkah-langkah ini, diharapkan dapat memperoleh data densitogram yang lebih bersih dan representatif untuk analisis lebih lanjut.



Gambar 4.10 Densitogram hasil Image J diolah dengan Orange sesudah di *preprocessing*

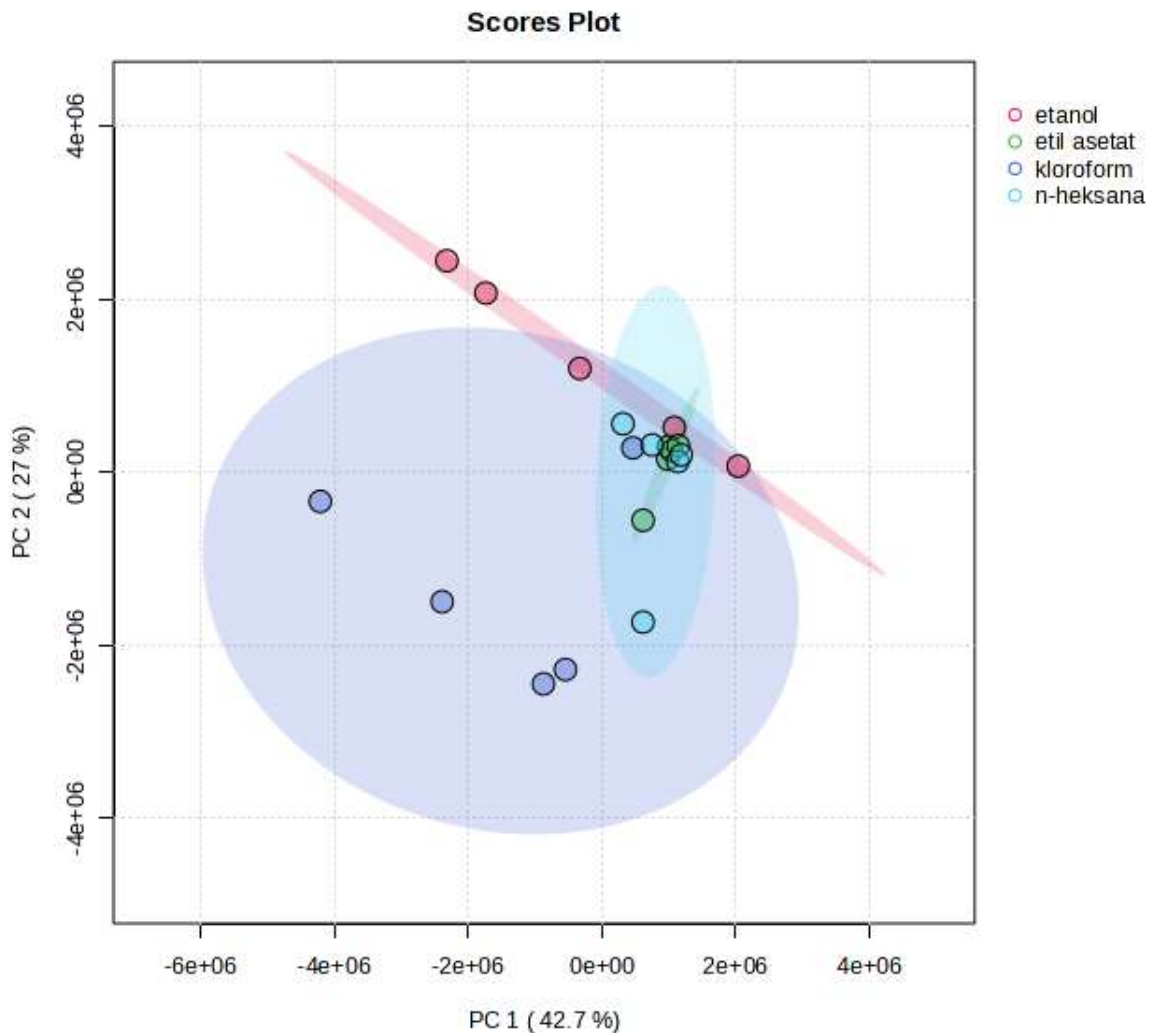
Pada proses selanjutnya setelah di *preprocessing* pada densitogram bertujuan untuk memudahkan penentuan baseline puncak dan normalisasi intensitas agar rentang nilai menjadi seragam (Fitrianti, 2011). Setelah *preprocessing*, densitogram menunjukkan perbedaan yang lebih jelas dengan *baseline* yang baik. Puncak yang lebih tinggi mencerminkan nilai intensitas (AU) dan luas area atau *Area Under Curve* (AUC) yang lebih besar, yang berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa aktif (Nuryani, 2015). Grafik hasil penelitian menunjukkan hubungan antara nilai Rf (sumbu x) dan AUC (sumbu y), di mana puncak yang lebih tinggi menggambarkan intensitas dan konsentrasi komponen yang lebih besar pada sampel. Kecerahan warna juga menjadi indikator konsentrasi senyawa, sebagaimana dijelaskan oleh Fitrianti (2011), yang menyatakan bahwa intensitas warna berkorelasi dengan konsentrasi. Nilai rata-rata AUC digunakan untuk mengevaluasi kualitas dan konsentrasi senyawa dalam sampel secara akurat. Namun, meskipun *preprocessing* menghasilkan data intensitas dan AUC, analisis ini belum mampu mengidentifikasi pola sidik jari yang signifikan terhadap variasi pelarut. Oleh karena itu, diperlukan analisis lanjutan menggunakan metode Principal Component Analysis (PCA) untuk menginterpretasikan data secara lebih mendalam dan menentukan perbedaan antar variasi pelarut. Adapun hasil data nilai dari AUC ekstrak *A. indica L.* dari 4 variasi pelarut sebagai berikut:

Tabel 4. 2 Nilai AUC ekstrak A. Indica L. 4 variasi pelarut

pelarut	Nilai AUC (Area Under Curve)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Etanol 1	3.351.305	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.145.627
Etanol 2	4.069.841	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.250.506
Etanol 3	-	3.777.426	-	-	-	-	-	-	-	-	1.223.042
Etanol 4	-	2.301.770	-	-	-	-	-	-	-	-	1.402.749
Etanol 5	1.625.991	-	-	-	-	-	-	-	-	-	987.335
Etil asetat 1	-	379.263	-	-	-	-	204.556	-	-	942.749	-
Etil asetat 2	-	180.263	-	-	-	-	-	175.021	-	-	728.920
Etil asetat 3	-	135.314	-	-	-	-	88.607	-	-	-	579.627
Etil asetat 4	-	335.263	-	-	-	-	92.728	-	-	-	482.627
Etil asetat 5	-	577.092	-	-	-	-	-	210.849	-	-	783.627
Kloroform 1	552.456	-	597.335	-	490.335	913.577	-	256.213	3.525.820	-	-
Kloroform 2	274.678	-	1.009.113	-	694.234	370.042	-	303.799	-	3.293.355	-
Kloroform 3	2.127.184	-	434.213	-	615.841	296.920	-	51.192	-	3.307.012	-
Kloroform 4	284.870	-	-	1.127.698	105.899	465.163	-	133.263	-	2.998.355	-
Kloroform 5	4.323.569	-	-	726.991	768.820	-	954.648	263.213	-	3.223.234	-
N-Heksana 1	-	2.405.569	-	-	-	-	-	-	82.607	2.119.719	-
N-Heksana 2	291.092	-	-	-	-	-	-	168.799	1.603.527	-	-
N-Heksana 3	786.991	-	-	-	-	-	842.355	2.069.134	-	-	-
N-Heksana 4	-	521.092	-	-	-	-	93.314	1.837.598	-	-	-
N-Heksana 5	-	1.276.284	-	-	-	-	-	-	-	585.749	2.040.962
Rata- rata	1.768.798	1.188.934	680.220	927.345	535.026	511.426	379.368	546.908	1.737.318	2.352.882	1.062.502

4.5 Pengelompokan Sampel Tanaman Anting-Anting menggunakan PCA

PCA (Principal Component Analysis) adalah metode yang digunakan untuk menyederhanakan data dari penelitian, sehingga lebih mudah dipahami tanpa menghilangkan informasi penting. Metode ini bekerja dengan cara menghapus hubungan antara variabel-variabel yang ada, lalu mengubahnya menjadi variabel baru yang tidak saling berhubungan. Hasil dari proses ini adalah nilai-nilai yang disebut komponen utama (PC) (Fitrianti, 2011). Dalam analisis PCA ini, data yang digunakan berasal dari nilai Area Under Curve (AUC) yang diambil dari empat jenis pelarut yang berbeda.



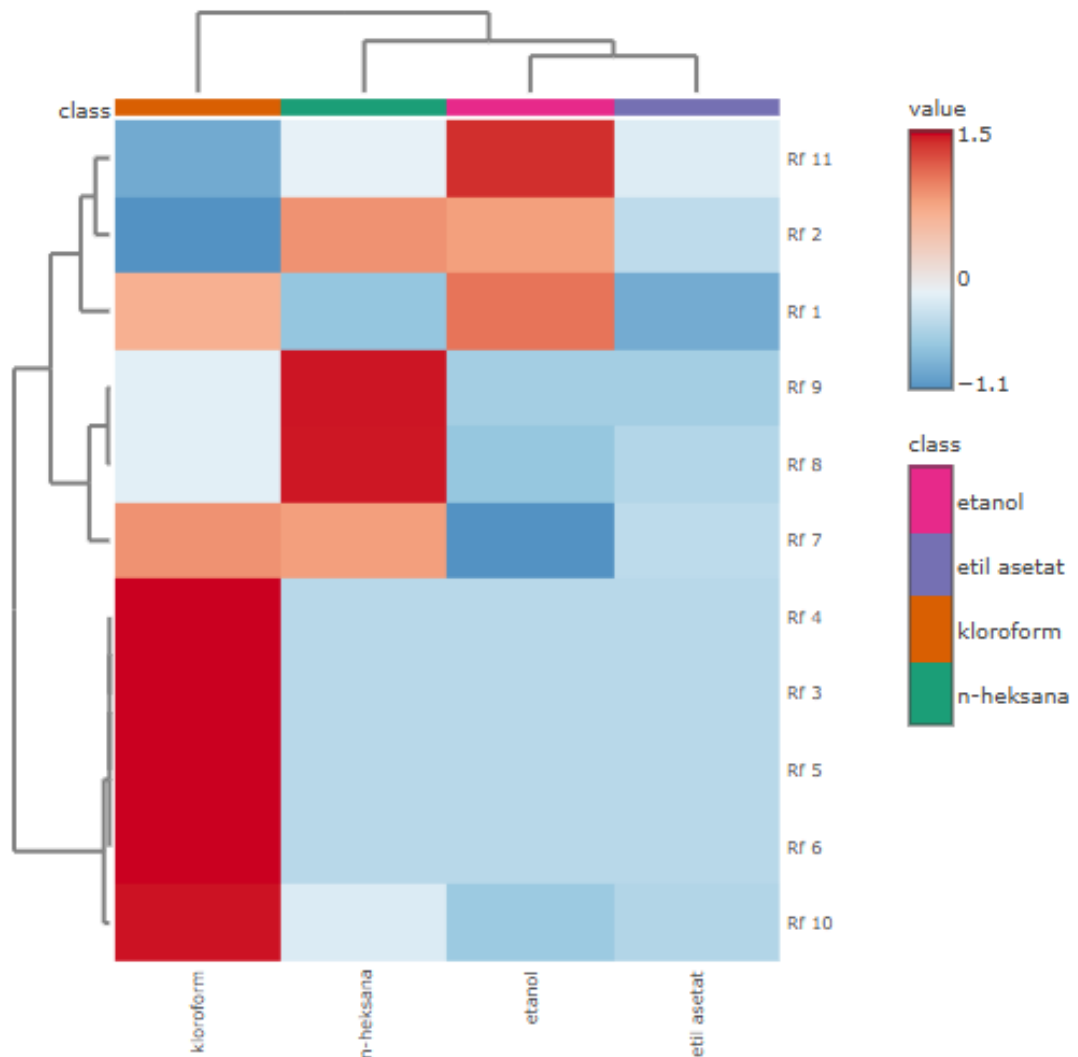
Gambar 4.11 Score plot data PCA menggunakan *Metaboanalyst 6.0*

Grafik *Scores Plot* yang ditampilkan di atas adalah hasil analisis *Principal Component Analysis* (PCA), yang digunakan untuk mengeksplorasi pola dan perbedaan dalam ekstrak tanaman *Acalypha indica L.* menggunakan empat pelarut yang berbeda: kloroform, etanol, etil asetat, dan n-heksana. PCA adalah teknik statistik multivariat yang menyederhanakan data dengan menggabungkan banyak variabel menjadi beberapa komponen utama, yang menjelaskan sebagian besar variasi dalam dataset (Jolliffe, 2002). Dalam hal ini, komponen

pertama (PC1) menjelaskan 42,7% dari variasi, sedangkan komponen kedua (PC2) menjelaskan 27%, yang berarti kedua komponen ini mencakup hampir 70% dari variasi total data. Gambar 4.11 menunjukkan bagaimana berbagai pelarut (etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana) memengaruhi jenis senyawa yang diekstrak dari *A. indica L.* Setiap titik mewakili hasil ekstraksi dengan pelarut tertentu, di mana titik yang berdekatan menunjukkan komposisi senyawa yang mirip, sedangkan yang berjauhan mengindikasikan perbedaan kandungan senyawa. Pelarut etanol (merah) menghasilkan ekstrak yang terkonsentrasi di satu area, menandakan kecenderungannya mengekstrak senyawa polar dengan komposisi seragam. Etil asetat (hijau) berada di antara etanol dan kloroform, menunjukkan kemampuan mengekstrak senyawa polar dan non-polar secara seimbang. Kloroform (biru tua) memiliki titik-titik yang tersebar luas, menandakan variasi senyawa non-polar yang diekstrak lebih beragam. Sementara itu, n-heksana (biru muda) menunjukkan titik yang terpisah jauh dari kelompok lain, mengindikasikan pelarut ini sangat efektif untuk senyawa non-polar spesifik. Sumbu horizontal (PC1) yang menyumbang 42,7% dari variasi total mencerminkan perbedaan utama dalam sifat kepolaran senyawa yang diekstraksi, dengan senyawa non-polar diekstraksi oleh n-heksana dan kloroform berada di sisi kanan, sedangkan senyawa polar yang diekstraksi oleh etanol berada di sisi kiri. Sumbu vertikal (PC2), yang menyumbang 27% variasi, kemungkinan mencerminkan faktor tambahan, seperti ukuran molekul atau kelarutan senyawa dalam pelarut.

Pada penelitian ini pemisahan mungkin kurang optimal jika terdapat masalah dengan sistem eluen (campuran pelarut) atau saat melakukan analisis menggunakan teknik seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pemilihan eluen yang kurang tepat dapat menyebabkan senyawa tidak terpisah dengan baik, misalnya jika eluen terlalu polar atau terlalu non-polar, sehingga tidak ada perbedaan jarak (R_f) yang cukup antara senyawa-senyawa dalam campuran. Selain itu, kesalahan teknis saat menjalankan KLT, seperti tidak memastikan lapisan tipis kering sempurna sebelum berjalan, pengaplikasian sampel yang terlalu tebal atau tidak merata, serta ruang elusi yang tidak tertutup rapat, dapat memengaruhi hasil pemisahan. pengambilan gambar hasil KLT menunjukkan bahwa kualitas visual dari hasil pemisahan senyawa kurang memadai. Ketidakjelasan gambar dapat disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk pencahayaan yang tidak optimal, penggunaan perangkat pengambilan gambar yang kurang berkualitas, atau teknik pengambilan gambar yang tidak tepat. Kualitas gambar yang buruk dapat mengakibatkan kesulitan dalam mengidentifikasi dan menganalisis noda yang terbentuk, sehingga menghambat interpretasi data yang akurat. Oleh karena itu, untuk mencapai hasil yang lebih baik, sangat penting untuk memilih eluen yang sesuai dengan sifat kimia senyawa yang ingin dipisahkan dan memastikan bahwa teknik KLT dilakukan dengan benar dan konsisten. Selain itu, perbaikan dalam pengambilan gambar, seperti peningkatan pencahayaan, penggunaan perangkat berkualitas tinggi, dan penerapan teknik pengambilan gambar yang tepat, juga diperlukan untuk meningkatkan kualitas visual hasil pemisahan.

Masalah-masalah ini dapat menyebabkan titik-titik pada grafik PCA terlihat terlalu berdekatan, yang menunjukkan kurangnya kemampuan pelarut dan metode pemisahan untuk mengekstrak atau memisahkan senyawa tertentu dengan baik. Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, sangat penting untuk memilih eluen yang sesuai dengan sifat kimia senyawa yang ingin dipisahkan dan memastikan teknik KLT dilakukan dengan benar dan konsisten.



Gambar 4.12 Heatmap hasil PCA menggunakan *Metaboanalyst 6.0*

Pada gambar 4.12 menunjukkan heatmap dengan analisis tingkatan klastering, yang menggambarkan hubungan antara beberapa parameter atau variabel berdasarkan nilai korelasinya. Sumbu vertikal menampilkan "Rf" (kemungkinan faktor retensi dalam kromatografi), sementara sumbu horizontal mencantumkan berbagai sampel atau parameter yang diuji. Warna dalam heatmap merepresentasikan tingkat intensitas atau konsentrasi, dengan gradasi dari biru (nilai rendah) hingga merah (nilai tinggi). Di sebelah kanan, terdapat bar warna sebagai panduan, menunjukkan rentang nilai dari -1.1 (biru) hingga 1.5 (merah).

Klaster di bagian atas dan samping menunjukkan hubungan atau kesamaan antara variabel, di mana variabel yang berada lebih dekat secara bertingkat dalam dendrogram memiliki pola yang lebih mirip.

Pada gambar heatmap diatas menunjukkan konsentrasi senyawa aktif pada berbagai nilai Rf untuk empat jenis pelarut: etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Konsentrasi senyawa aktif diwakili oleh skala warna, di mana merah pekat menunjukkan konsentrasi tinggi, putih menunjukkan konsentrasi netral, dan biru menunjukkan konsentrasi rendah. Pada Rf 11, n-heksana memiliki konsentrasi netral (putih), sementara pada Rf 1, Rf 3, Rf 4, Rf 5, Rf 6, dan Rf 10, konsentrasi senyawa aktifnya rendah (biru). Sebaliknya, pada Rf 2 dan Rf 7, n-heksana menunjukkan konsentrasi sedang (merah pucat), dan pada Rf 8 serta Rf 9, konsentrasi menjadi tinggi (merah pekat), menunjukkan efektivitasnya dalam mengekstraksi senyawa tertentu. Etanol menunjukkan konsentrasi tinggi pada Rf 1, Rf 2, dan Rf 11, mengindikasikan efektivitasnya dalam mengekstraksi senyawa tertentu di titik tersebut. Namun, pada Rf 3, Rf 4, Rf 5, Rf 6, Rf 8, Rf 9, dan Rf 10, etanol menunjukkan konsentrasi rendah (biru), sedangkan pada Rf 7, warnanya biru mencolok, menunjukkan konsentrasi sangat rendah. Kloroform menunjukkan konsentrasi rendah (biru) pada Rf 2 dan Rf 11, sementara pada Rf 8 dan Rf 9, konsentrasinya netral (putih), mengindikasikan pelarut ini kurang efektif untuk mengekstraksi senyawa tertentu pada nilai-nilai tersebut. Namun, kloroform memiliki konsentrasi sedang pada Rf 1 dan Rf 7 (merah pucat), serta dominan menunjukkan konsentrasi tinggi pada Rf 3, Rf 4, Rf 5, Rf 6, dan Rf 10, menjadikannya efektif untuk senyawa non-polar. Sementara itu, etil asetat didominasi oleh warna biru, menunjukkan konsentrasi senyawa aktif yang rendah di sebagian besar nilai Rf, kecuali pada Rf 11, di mana konsentrasinya netral (putih).

Meskipun etil asetat didominasi oleh warna biru, yang menunjukkan konsentrasi senyawa aktif rendah, sebenarnya pelarut ini memiliki potensi besar sebagai pelarut untuk senyawa aktif. Etil asetat adalah pelarut semi-polar yang mampu mengekstraksi berbagai senyawa polar dan non-polar, sehingga seharusnya menunjukkan konsentrasi senyawa aktif yang lebih tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian yang menunjukkan bahwa etil asetat memiliki kemampuan mengekstraksi metabolit sekunder seperti flavonoid dan alkaloid lebih baik dibandingkan pelarut lain karena sifatnya yang berada di antara polar dan non-polar, sehingga dapat berinteraksi dengan berbagai jenis senyawa aktif (Sasidharan Dkk., 2011). Faktor lain yang memengaruhi kinerja etil asetat adalah kelarutannya yang baik terhadap senyawa dengan polaritas sedang, yang sering ditemukan dalam ekstrak tumbuhan. Namun, hasil senyawa aktif yang lebih baik pada heatmap ini justru diperlihatkan oleh kloroform, yang banyak menunjukkan warna merah. Hal ini mengindikasikan bahwa kloroform mampu mengekstraksi senyawa aktif dalam jumlah lebih banyak dibandingkan pelarut lainnya, terutama untuk senyawa non-polar, sehingga terlihat mendominasi pada beberapa nilai Rf tertentu.

Penelitian ini berfokus pada analisis metode ekstraksi tanaman anting-anting dengan menggunakan variasi pelarut polar dan non-polar melalui kromatografi lapis tipis. Tujuan dari analisis ini adalah untuk menentukan kondisi optimal yang memungkinkan senyawa tetap stabil dan mempertahankan karakteristiknya. Dalam konteks ini, penting untuk diingat bahwa ilmu pengetahuan dan teknologi merupakan manifestasi dari tanggung jawab manusia sebagai khalifah untuk memakmurkan bumi. Dalam Tafsir 'Ilmi, dijelaskan bahwa bagi seorang Muslim, ilmu pengetahuan dan teknologi seharusnya digunakan sebagai alat untuk mengelola bumi, bukan untuk merusaknya. Pengetahuan yang telah terbukti secara empiris selalu sejalan dengan ajaran Al-Qur'an. Namun, pengetahuan yang masih bersifat teoritis kadang terlihat bertentangan dengan isi Al-Qur'an. Dalam situasi seperti ini, para peneliti seharusnya tidak hanya berhenti pada tahap uji coba penelitian, tetapi juga berusaha untuk mencapai tingkat pemahaman yang lebih dalam (*ulul-albāb*), yang mendorong kita untuk merenungkan ciptaan Allah dan memahami tanda-tanda-Nya di alam semesta. Oleh karena itu, penelitian yang dilakukan tidak hanya harus fokus pada hasil praktis, tetapi juga harus mempertimbangkan nilai-nilai spiritual dan etika yang terkandung dalam ajaran agama, sehingga dapat memberikan manfaat yang lebih luas bagi umat manusia dan lingkungan, sebagaimana diungkapkan dalam Q.S Ali Imran (3) ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ فِيمَا وُقُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا تُسَبِّحُكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : *"Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, serta pergantian malam dan siang, terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. Yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, dan dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), 'Ya Tuhan kami, tiada Engkau ciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.'"*

Dalam Q.S. Ali Imran (3) ayat 190-191, Allah mengajak umat manusia untuk merenungkan penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang sebagai tanda kebesaran-Nya. Quraish Shihab menekankan bahwa ayat ini menunjukkan pentingnya pemikiran rasional dan dzikir kepada Allah dalam berbagai keadaan (Shihab, 2002). Perenungan ini mengarah pada kesadaran bahwa penciptaan tidak sia-sia dan memiliki tujuan yang lebih besar. Oleh karena itu, ilmu pengetahuan dan iman harus berjalan beriringan, di mana pemahaman ilmiah dapat memperkuat spiritualitas dan tanggung jawab kita dalam mengelola bumi secara berkelanjutan dan ramah lingkungan.

Penjelasan lafadz dalam ayat tersebut, kata *لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ* artinya "tanda-tanda" (ayat) mengacu pada bukti kebesaran Allah yang dapat ditemukan dalam ciptaan-Nya, baik yang tampak jelas maupun yang tersembunyi. "Ulul albāb" adalah sebutan untuk orang-orang yang memiliki akal sehat dan kemampuan untuk berpikir secara mendalam, yang mampu

merenungkan fenomena alam sebagai bentuk tanda kekuasaan Allah. Mereka yang termasuk dalam kelompok ini tidak hanya memikirkan tentang alam semesta, tetapi juga memahami bahwa segala sesuatu yang ada memiliki tujuan dan manfaat yang lebih besar dalam rencana Ilahi. Pemikiran ilmiah yang tajam dan dzikir yang mendalam akan memperkuat keimanan, menjadikan manusia lebih bertanggung jawab dalam menjaga bumi sebagai amanah dari Allah.

Penelitian ini mengenai tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.), yang awalnya tampak biasa, namun ternyata memiliki berbagai khasiat penting, seperti menurunkan kadar gula darah (Chekuri, dkk., 2020), sifat antibakteri (Batubara dkk., 2016), antioksidan (Teklani dan Perera, 2016), antikanker (Amarnath dkk., 2014), serta kegunaannya untuk mengobati sakit gigi, infeksi telinga, rematik, dan luka bakar (Singh, 2012). Temuan ini mengingatkan kita bahwa segala ciptaan Allah penuh dengan manfaat dan hikmah yang terkandung di dalamnya. Hikmah yang dapat diambil adalah bahwa Allah Swt. menciptakan tumbuhan dengan berbagai manfaat untuk kehidupan manusia, yang mengundang umat untuk mengkaji dan menggali ilmu pengetahuan baru. Dalam upaya ini, teknologi berperan sebagai alat pendukung untuk mengatasi keterbatasan akal manusia, sehingga hasil yang lebih maksimal dapat tercapai. Dengan demikian, hubungan antara manusia, agama, sains, dan teknologi terjalin dalam satu kesatuan yang saling melengkapi. Semua ini menunjukkan bahwa Allah Swt. menguasai segala sesuatu sesuai dengan kehendak-Nya, sehingga setiap ciptaan-Nya berjalan dengan seimbang dan teratur, memberikan manfaat bagi kehidupan manusia dan alam semesta.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemisahan senyawa dalam ekstrak *Acalypha indica L.* menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sangat dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Etanol, sebagai pelarut polar, menghasilkan dua noda yang mencerminkan kemampuannya dalam memisahkan senyawa polar. Etil asetat, pelarut semi-polar, menghasilkan tiga noda, menunjukkan kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa dengan kepolaran menengah. Kloroform, pelarut kurang polar, menghasilkan enam noda, menandakan pemisahan senyawa non-polar dan semi-polar yang lebih baik. n-heksana, pelarut non-polar, hanya menghasilkan tiga noda, menunjukkan kemampuan memisahkan senyawa non-polar. Seluruh pelarut menunjukkan tingkat kepresisian tinggi dengan nilai $SD \leq 0,05$. Noda yang dihasilkan mencerminkan sifat kepolaran senyawa aktif: semakin tinggi nilai R_f , senyawa cenderung lebih non-polar, sedangkan nilai R_f yang rendah menunjukkan senyawa lebih polar. Hasil terbaik diperoleh dengan kloroform, yang menunjukkan pemisahan paling efektif dan jelas. Namun, perlu diingat bahwa pemisahan senyawa dengan KLT pada penelitian ini masih memiliki beberapa kelemahan, yaitu proses KLT yang manual dan eluen yang digunakan tidak sepenuhnya sesuai dengan sifat senyawa yang diinginkan.
2. Pada analisis PCA yang dilakukan menggunakan web *Metaboanalyst 6.0* berhasil memberikan interpretasi yang jelas berdasarkan variasi pelarut, dengan total variasi mencapai 70%, terdiri dari PC1 sebesar 42,7% dan PC2 sebesar 27%. Namun, perlu diingat bahwa total variasi yang mencapai 70% ini tidak sepenuhnya mencerminkan hasil pemisahan yang optimal, karena proses KLT yang digunakan pada penelitian ini masih memiliki beberapa kelemahan, seperti pemisahan kurang baik yang dapat mempengaruhi hasil analisis PCA. Oleh karena itu, hasil analisis PCA ini perlu diinterpretasikan dengan hati-hati dan mempertimbangkan keterbatasan proses KLT yang digunakan. Pada hasil penelitian ini analisis *heatmap* menunjukkan bahwa kloroform memiliki konsentrasi senyawa aktif tertinggi di antara pelarut lainnya, yang ditandai dengan adanya warna merah yang paling banyak menunjukkan kadar senyawa yang lebih tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa kloroform adalah pelarut yang paling efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dari *A. indica L.*

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk mengoptimalkan proses Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan memperbaiki komposisi eluen dan teknik pengambilan foto. Pemilihan eluen yang tepat sangat penting untuk meningkatkan pemisahan senyawa, di mana pelarut polar seperti etanol cocok untuk senyawa polar, sedangkan pelarut non-polar seperti heksana lebih baik untuk senyawa non-polar. Kombinasi pelarut juga dapat digunakan untuk hasil yang lebih baik. Dalam hal teknik pengambilan gambar, penting untuk memastikan pencahayaan yang optimal, menggunakan lampu UV yang sesuai untuk meningkatkan kontras antara noda dan latar belakang. Penggunaan perangkat kamera berkualitas tinggi dengan resolusi yang memadai, serta menjaga konsistensi dalam jarak dan sudut pengambilan gambar, akan membantu dalam analisis perbandingan. Selain itu, penyemprotan reagen seperti ninhidrin dan Dragendorff dapat meningkatkan visibilitas senyawa yang terpisah. Ninhidrin, yang bereaksi dengan asam amino, menghasilkan warna ungu yang jelas, sehingga memudahkan identifikasi senyawa tersebut. Sementara itu, reagen Dragendorff digunakan untuk mendeteksi alkaloid, memberikan warna oranye atau coklat yang mencolok. Dengan langkah-langkah ini, diharapkan KLT dapat dilakukan lebih efektif dan menghasilkan data yang lebih akurat untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiksana, A., Supriyadi, S., & Setyawan, A. (2017). Ultrasonic extraction of bioactive compounds from plants: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3351-3360.
- Anderson, M. J., Gorley, R. N., & Clarke, K. R. (2019). PERMANOVA + for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E Ltd.
- Amarnath, G., Mallikarjuna, G., Reddy, K. S., & Sudhakar, G. (2014). *Anticancer activity of Acalypha indica L.* *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(5), 45-50.
- Ardianti, N. T., & Kusnadi, J. (2014). Efektivitas ekstraksi senyawa bioaktif menggunakan ultrasonikasi. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(2), 102-109.
- Batubara, I., Darusman, L. K., & Wibowo, A. C. (2016). *Antibacterial properties of Acalypha indica L. extracts.* *International Journal of Microbiology Research*, 8(3), 25-30.
- Brown, M., Davis, T., & Thomas, R. (2015). Introduction to planar chromatography. *Chromatography Journal*, 6(3), 123-130.
- Buhian, M., dkk. (2016). "Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Hasil Ekstraksi." *Journal of Phytochemistry*.
- Chakraborty, A., Banerjee, S., & Das, S. (2023). Flavonoids in *Acalypha indica L.* and their pharmacological applications. *Journal of Ethnopharmacology*, 300(1), 114-126.
- Chaudhari, R., Joshi, M., & Singh, P. (2018). Thin layer chromatography: A tool for quality control in herbal products. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 2319-2325.
- Chekuri, L., Kumar, P., & Reddy, G. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of ethanol extracts from *Acalypha indica L.* *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(5), 45-52.
- Das, S., Saha, S., & Saha, S. (2010). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Acalypha indica L.* *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), 45-50.
- Dettmer, K., Aronov, P. A., & Hammock, B. D. (2007). Terpenoids: A diverse class of natural products with anti-inflammatory and antibacterial properties. *Journal of Natural Products*, 70(5), 923-931.
- Dolatowski, Z., dkk. (2007). "Effect of ultrasound on the extraction of essential oils." *Food Chemistry*.
- Fadhilah, S. (2016). Analisis alkaloid dalam ekstrak daun *Acalypha indica L.* menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmu Kimia*, 12(2), 45-51.
- Fitrianti. (2011). Analisis Densitogram pada Kromatografi Lapis Tipis. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Fitriani, N., & Supriyanto, Y. (2020). Etil asetat sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi bahan alam. *Jurnal Kimia Indonesia*, 8(4), 124-130.

- Ghosh, D., Biswas, S., & Mitra, A. (2017). Saponins: A natural way to boost immunity and fight cholesterol. *Journal of Medicinal Chemistry*, 10(2), 100-110.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. United Nations Industrial Development Organization (UNIDO).
- Handayani, S. (2016). Optimasi ekstraksi senyawa aktif dari *Acalypha indica* L. menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 45-52.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne, J. B. (1998). *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerbit ITB.
- Hernández, M., López, J., & Pérez, A. (2020). Thin layer chromatography: A comprehensive review. *Analytical Chemistry Review*, 35(4), 102-118.
- Hidayaty, R., & Hayati, S. (2024). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Secara Kemometrik Daun Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) Berdasarkan Lokasi Tumbuh. *Alchemy : Journal of chemistry*, 12(1), 59-67.
- Husna, L. (2021). Pengenalan teknik analisis multivariat: PCA dan aplikasinya dalam analisis data. *Jurnal Statistika*, 10(3), 134-142.
- ImageJ. (n.d.). Retrieved from <https://imagej.nih.gov/ij/>
- Jena, P., Das, S., & Nayak, S. (2021). Antioxidant and antimicrobial potential of bioactive compounds from *Acalypha indica* L.. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(4), 72-80.
- Johnson, R. A., & Wichern, D. W. (2018). *Applied Multivariate Statistical Analysis* (6th ed.). Pearson.
- Jolliffe, I. T. (2002). *Principal Component Analysis* (2nd ed.). Springer.
- Kartesz, J. T. (2000). *A Synonymized Checklist of the Vascular Flora of the United States, Canada, and Greenland* (2nd ed.). North Carolina Botanical Garden.
- Khatun, M., Rahman, M. M., & Hossain, M. S. (2022). Phytochemical and pharmacological properties of *Acalypha indica* L.: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 16(1), 1-10.
- Krastanov, A. (2010). Metabolomics: A new approach to the study of plant secondary metabolites. *Journal of Plant Physiology*, 167(1), 1-10.
- Kirom, M., & Ramadhania, P. (2017). Morfologi dan klasifikasi tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) di Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 5(2), 89-95.
- Kumar, D., dkk. (2021). "Ultrasonic Assisted Extraction of Anthocyanins from Banana Blossom." *International Journal of Food Science & Technology*.
- Kumar, A., Singh, D., & Verma, R. (2017). Factors affecting chromatographic stability in thin layer chromatography. *Chromatography Techniques*, 9(1), 57-65.

- Kumar, S., Raj, M., & Mishra, P. (2020). Role of tannins in wound healing and gastrointestinal disorders. *Journal of Herbal Medicine*, 6(3), 120-130.
- Lee, S., Park, H., & Kim, J. (2019). Eluent selection in thin layer chromatography for separation of herbal components. *Journal of Chromatographic Science*, 57(7), 345-352.
- Mason, T. J. (1990). *Sonochemistry: The uses of ultrasound in chemistry*. London: The Royal Society of Chemistry.
- McClements, D. J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 6(9), 293-299.
- Mulita, A., & Tanggasari, D. (2024). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Menggunakan Oven terhadap Mutu Kerupuk Rumput Laut. *Nutriology: Jurnal Pangan, Gizi, Kesehatan*, 5(1), 20-30.
- M. T., Laksono (2021). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Anting-Anting (*Acalypha indica* L.), *Alchemy: Journal of Chemistry*, 9(2). 54-62,.
- Nuryani. (2015). Pengaruh Konsentrasi Senyawa Aktif terhadap Intensitas Puncak pada Densitogram. Yogyakarta: Penerbit Universitas Gadjah Mada.
- Patel, R., Mehta, P., & Shah, N. (2022). Stability issues in TLC: The impact of sample storage and analysis timing. *Journal of Chromatographic Research*, 11(2), 215-223.
- Pant, A., Singh, R., & Kumar, S. (2021). Environmental factors influencing the production of bioactive compounds in medicinal plants: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(2), 89-97.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2015). *Introduction to Spectroscopy*. Edisi ke-5. Cengage Learning.
- Pramono, E., & Setiawan, A. (2021). Pengaruh Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Kualitas Tepung Singkong. *Jurnal Teknologi Pangan*, 14(2), 50-58.
- Prihamantoro, E., & Indriani, Y. (2001). Peranan nutrisi makro dan mikro dalam pertumbuhan tanaman obat di Indonesia. *Jurnal Pertanian Indonesia*, 7(1), 30-38.
- Qoriati, Y. (2018). Optimasi Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Kadar Alkaloid Total pada Tumbuhan Anting- Anting (*Acalypha indica* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ravi, S., Kumar, V., Rani, S., & Singh, P. (2021). Phytochemical and pharmacological properties of *Acalypha indica* L.: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(5), 234-245.
- Rosenthal, I. (1996). *Ultrasound in food processing: Recent advances*. San Diego: Academic Press.
- Reich, E., & Schibli, A. (2006). *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York: Thieme Medical Publishers

- Safitri, E.W. (2018). Optimasi Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid pada Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*) Serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sari, D. R., & Prasetyo, A. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Kualitas Produk Pangan. *Jurnal Teknologi dan Keamanan Pangan*, 10(3), 100-110.
- Sasmito, B., Widodo, W., & Hartono, E. (2020). Kromatografi lapis tipis: Prinsip dasar dan aplikasinya dalam pemisahan senyawa alam. *Jurnal Kimia Indonesia*, 7(1), 50-58.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation, and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1-10.
- Setyantoro, M. E., dkk. (2022). "The Effect of Ultrasonic Extraction on the Phytochemical Content of Corn Hair." *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*.
- Sévin, D. C., Fuhrer, T., Zamboni, N., & Sauer, U. (2015). Nontargeted metabolomics in studying microbial physiology and interactions. *Annual Review of Microbiology*, 69, 313-329.
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* (Jilid 2). Jakarta: Lentera Hati.
- Sharma, N., Singh, V., & Gupta, P. (2019). Alkaloid-rich plants and their medicinal uses: A comprehensive review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 20-30.
- Singh, V. (2012). *Traditional uses of Acalypha indica L. in treating various ailments*. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 22-28.
- Singh, V., & Kumar, A. (2016). "Phytochemical and pharmacological review of *Acalypha indica*." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 1-8.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2012). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. John Wiley & Sons.
- Stahl, E. (1969). *Thin layer chromatography: A laboratory handbook*. Springer-Verlag.
- Supriyanto, A., & Wulandari, D. (2020). Pengaruh Suhu Pengeringan terhadap Kualitas Daun Bayam. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 9(3), 22-30.
- Teklani, H., & Perera, L. (2016). *Antioxidant properties of Acalypha indica L. extracts*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(7), 610-615.
- Thompson, L. H., & Doraiswamy, L. K. (1999). Ultrasound in chemical processing: A review. *Chemical Engineering Science*, 54(9), 2829-2845.

- Thompson, L., Bae, K., & Jordan, S. (2018). Fundamentals of planar chromatography. *Journal of Chromatography*, 23(2), 94-102.
- Torres, A., Roca, L., & Güell, R. (2017). Cavitation effects on the efficiency of ultrasonic extraction. *Journal of Ultrasonics*, 79, 102-111.
- Tugizimana, F., Piater, L., & Dubery, I. (2019). Metabolomics in plant stress responses: A review. *Plant Stress Biology*, 16(4), 345-360.
- Vermaak, I., Viljoen, A. M., & Lindström, S. W. (2010). Chromatographic techniques for the isolation of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2443-2457.
- Widyastuti, T., & Setyowati, E. (2021). Pengaruh Suhu Pengeringan terhadap Kualitas dan Keamanan Bahan Pangan. *Jurnal Ilmu Pangan dan Gizi*, 8(2), 75-84.
- Weimer, B. C., & Słupsky, C. M. (2013). Visualization of Bioactive Compounds Using Heatmap Techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(25), 7957–7968.
- Yasa, I. N., dkk. (2019). "Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Hasil Ekstraksi." *Jurnal Farmasi*.
- Yeung, L. (2018). The role of metabolomics in the standardization of herbal medicines. *Phytotherapy Research*, 32(4), 559-567.
- Zhang, Q., Wang, Y., & Liu, L. (2021). TLC visualization techniques in herbal product analysis. *Journal of Herbal Medicine*, 15(2), 76-85.