

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *DAUN KERSEN*
(*Muntingia calabura L.*) DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. NURUL ILMY
NIM. 200603110078



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *DAUN KERSEN*
(*Muntingia calabura L.*) DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh:
MOCH. NURUL ILMY
NIM. 200603110078**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Univesitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibarhim 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
2026**

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK *DAUN KERSEN*
(*Muntingia calabura L.*) DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. NURUL ILMY
NIM. 200603110019

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 8 Juni 2026

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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



Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia
Al Ghani Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

iv

**ANALISIS KEMOMETRIK BERBASIS KLT EKSTRAK DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura L.*) DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
MOCH. NURUL ILMY
NIM. 200603110078

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 17 Juni 2026

Ketua Penguji	: <u>Dr. Tri Kustono Adi, S.Si, M.Sc. Ph.D</u>	(.....)
	NIP. 19710311 200312 1 002	
Anggota Penguji I	: <u>Rif'atul Mahmudah, M.Si</u>	(.....)
	NIP. 19830125 202321 2 020	
Anggota Penguji II	: <u>Dr. Elok Kamilah Hayati, M.Si</u>	(.....)
	NIP.19790620 200604 2 002	
Anggota Penguji III	: <u>Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I</u>	(.....)
	NIPPPK. 19890113 202321 1 028	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia



Muhammad Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Moch. Nurul Ilmy
NIM : 200603110078
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis Kemometrik Berbasis Klt Ekstrak Daun Kersen
(Muntingia calabura L.) dengan Variasi Pelarut

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

Malang, 24 Juni 2026
Yang membuat pernyataan,



Moch. Nurul Ilmy
NIM 200603110078

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah hirobbil alamin, puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan ridho-Nya kepada saya dalam mengerjakan tugas akhir ini, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar walaupun terdapat beberapa kendala tetapi dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Teristimewa kedua orang tua saya Bapak H. LAJI dan Ibu Hj. TUTIK SULISTYO UTAMI, dan keluarga besar HJL yang memberikan do'a, motivasi, dan dukungan penulis agar dapat menyelesaikan dengan cepat. Terimakasih atas yang kalian usahakan, semoga diberi Kesehatan, Panjang umur, dan keberkahan rezeki.

Bapak dan Ibu dosen Kimia UIN Malang, terkhusus untuk pembimbing, Ibu Dr. Elok Kamilah Hayati, M.Si. dan Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I yang bersedia membimbing, memberikan petunjuk dan arahan serta beberapa patah kata wejangan, sehingga menuntaskan karya ini. Kepadaanya penulis ucapkan beribu banyak terimakasih.

Kepada penguji Bapak Dr. Tri Kustono Adi, S.Si., M.Sc. Ph.D dan Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si. penulis mengucapkan banyak terimakasih telah memberikan banyak masukan hingga terwujudnya karya yang lebih baik dan sempurna.

Penulis ucapkan terima kasih kepada teman-teman yang telah membantu dalam proses menjalani penelitian. Terkhusus teman-teman satu kontrakan calon penghuni surga khususnya Fadli Nadjib Aprilian, Muhammad Faiz Fadhil, dan Maulana Taufiq teman terakhir selama di Malang yang telah menemani dan membantu penulis di saat penulis sedang hilang arah.

Terakhir penulis ucapkan terima kasih kepada seseorang yang pernah hadir dalam perjalanan penulis dan tidak dapat penulis sebut namanya. Kehadiran dan kepergian itu pada akhirnya menjadi bagian penting yang perlahan membentuk penulis menjadi pribadi yang lebih memahami arti pengalaman, pendewasaan, kesabaran, keikhlasan, serta menerima kehilangan sebagai bagian dari proses kehidupan. Segala yang pernah terjadi baik yang indah maupun yang menyakitkan, telah menjadi ruang belajar yang menguatkan penulis hingga berada pada titik ini. Terima kasih telah menjadi bagian dari cerita yang ikut menempa penulis dalam perjalanan pendewasaan ini. Pada akhirnya setiap orang ada masanya, dan setiap masa ada orangnya.

MOTTO

Terlambat bukan berarti gagal, dan cepat bukan berarti hebat. Setiap orang memiliki proses dan garis waktu yang berbeda.

Dibalik skripsi yang selesai, ada mahasiswa yang menolak menyerah meski teman-teman sudah diwisuda duluan.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Swt., atas rahmat, taufik dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal penelitian yang berjudul “Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) dengan Variasi Pelarut” dengan baik dan semaksimal mungkin. Shalawat dan salam tidak lupa selalu tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad saw. yang telah membawa kita,umatnya dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang melalui cahaya iman dengan pedoman Al-Qur'an dan Al-Hadits. Semoga kelak kita termasuk umat yang mendapatkan syafaatnya, Aamiin.

Penyusun menyadari bahwa penulisan rancangan proposal penelitian ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak yang terkait. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si., CARHRM, CRMP selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak Dr. Agus Mulyono, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak A. Ghanaim Fasya, M. Si, selaku Ketua Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Program Studi Kimia yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, dan bantuan dalam penyusunan proposal penelitian ini.
5. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I, selaku Dosen Pembimbing Agama Proposal Penelitian yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, dan bantuan dalam penyusunan proposal penelitian ini.
6. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam pengerjaan skripsi.
8. Semua pihak yang ikut terlibat dalam penyusunan skripsi baik dari dalam kampus maupun luar kampus.

Penulis menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu, penyusun dengan lapang hati mengaharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga rancangan penelitian ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Aaminnn.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 24 Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO.....	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
ABSTRAK.....	xxiii
ABSTRACT.....	xxv
مستخلص البحث.....	xxvii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Tanaman Kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	7
2.2 Ekstraksi Senyawa dengan Metode Ultrasonik.....	9
2.3 Pemisahan Senyawa menggunakan KLT	10
2.4 Validasi Metode Fingerprint KLT	11
2.5 Analisis Menggunakan <i>ImageJ</i>	11
2.6 Analisis Multivariat Menggunakan Metode <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	12
 BAB III METODE 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 Prosedur Penelitian	16
3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	16
3.5.2 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Metode Sonikasi	16
3.5.3 Pengujian Kadar Air Simplisia	16
3.5.4 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan KLT.....	17
3.5.5 Analisis Menggunakan <i>ImageJ</i>	18
3.5.6 Analisis Menggunakan PCA.....	18
 BAB IV HASIL DAN 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 Menggunakan <i>ImageJ</i> dan Orange	31

4.5 Pengelompokan Sampel Daun Kersen menggunakan PCA	37
BAB V PENUTUP	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil nilai Rf ekstrak <i>Muntingia calabura</i> L. dari 4 Variasi Pelarut.....	27
Tabel 4.2 Nilai AUC ekstrak <i>Muntingia calabura</i> L. 4 variasi pelarut	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.)	7
Gambar 2.2 Luas area puncak masing-masing gambar pita komponen standar kurkumin ..	12
Gambar 4.1 Serbuk sampel daun kersen	20
Gambar 4.2 Serbuk sampel + variasi pelarut.....	21
Gambar 4.3 Hasil ekstraksi sampel dengan pelarut setelah disaring	22
Gambar 4.4 Hasil pemisahan dengan KLT	23
Gambar 4.5 Hasil KLT pelarut etanol 70%	24
Gambar 4.6 Hasil KLT pelarut etanol didapatkan 4 noda	24
Gambar 4.7 Hasil KLT pelarut etil asetat didapatkan 4 noda	24
Gambar 4.8 Hasil KLT pelarut kloroform didapatkan 4 noda	25
Gambar 4.9 Hasil KLT pelarut N- heksana didapatkan 4 noda	25
Gambar 4.10 Densitogram hasil ImageJ sebelum dipresprocessing	32
Gambar 4.11 Densitogram hasil ImageJ sesudah dipresprocessing	32
Gambar 4.12 Score plot data PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0	37
Gambar 4.13 Heatmap hasil PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	57
Lampiran 2 Diagram Alir	58
Lampiran 3 Perhitungan.....	63
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian.....	70
Lampiran 5 Hasil Analisis PCA	84

ABSTRAK

Ilmy, M. N. 2026. **Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Variasi Pelarut**. *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Kata kunci: daun kersen, KLT, PCA, kemometrik

Penelitian ini bertujuan untuk menyusun pola fingerprint kromatogram Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) serta mengevaluasi pengelompokan variasi pelarut ekstraksi melalui analisis kemometrik Principal Component Analysis (PCA) dan menentukan validitas pemisahan kelompok berdasarkan data fingerprint KLT. Penelitian dilakukan pada sampel daun kersen yang diekstraksi menggunakan metode sonikasi, kemudian pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan KLT. Data hasil KLT diolah menggunakan ImageJ untuk memperoleh parameter kromatogram (berbasis area noda/AUC dan nilai R_f), selanjutnya dianalisis multivariat menggunakan PCA.

Berdasarkan pengamatan plat KLT pada UV 366 nm, ekstrak etanol 70% menunjukkan pemisahan yang kompleks dengan sejumlah noda utama yang terdeteksi pada variasi nilai R_f , yang mengindikasikan dominasi senyawa dengan kepolaran sedang hingga tinggi (berpotensi termasuk flavonoid dan fenolik). Integrasi data menggunakan pendekatan heatmap-klaster menunjukkan terbentuknya hubungan antar variabel/parameter berdasarkan korelasi intensitas noda terhadap nilai R_f . Analisis PCA menggunakan data AUC dari lima variasi pelarut menghasilkan total variansi terjelaskan sebesar 77,1%, serta memperlihatkan bahwa kelompok ekstrak etanol dan etanol 70% memiliki profil sidik jari kimia yang hampir identik (terletak pada area koordinat yang saling berhimpitan). Selain itu, pemetaan berbasis heatmap berhasil mengidentifikasi bahwa nilai R_f 4 merupakan penciri spesifik (biomarker) utama untuk kelompok etanol, sedangkan nilai R_f lainnya berperan sebagai pembeda untuk ekstrak etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Dengan demikian, variasi pelarut ekstraksi terbukti memberikan pengaruh signifikan terhadap komposisi senyawa yang dihasilkan, dan PCA mampu mengelompokkan ekstrak berdasarkan kesamaan pola fingerprint KLT secara efektif.

ABSTRACT

Ilmy, M. N. 2026. **TLC-Based Chemometric Analysis of Cherry Leaf Extract (*Muntingia calabura* L.) with Various Solvents**. *Thesis*. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Keyword: cherry leaves, TLC, PCA, chemometrics

This study aimed to develop a Thin Layer Chromatography (TLC) fingerprint pattern for cherry leaf extract (*Muntingia calabura* L.) and to enable grouping of extraction solvent variations through Principal Component Analysis (PCA) chemometric analysis and to determine the validity of group clipping based on TLC fingerprint data. The study was conducted on cherry leaf samples extracted using the sonication method, followed by separation of active compounds using TLC. TLC data were processed using ImageJ to obtain chromatogram parameters (based on spot area/AUC and R_f values), followed by multivariate analysis using PCA.

Based on TLC plate observations at UV 366 nm, the 70% ethanol extract showed complex visibility with a number of major spots detected at varying R_f values, indicating the dominance of compounds with medium to high polarity (potentially including flavonoids and phenolics). Data integration using a heatmap-cluster approach demonstrated the formation of relationships between variables/parameters based on the correlation of spot intensity with R_f values. PCA analysis using AUC data from five solvent variations yielded a total explained variance of 77.1%, and showed that the ethanol and 70% ethanol extract groups had almost identical chemical fingerprint profiles (located in overlapping coordinate areas). In addition, heatmap-based mapping successfully identified that the R_f 4 value was the main specific biomarker for the ethanol group, while the other R_f values played a role as differentiators for the ethyl acetate, chloroform, and n-hexane extracts. Thus, the variation in extraction solvents was proven to have a significant effect on the composition of the resulting compounds, and PCA was able to effectively group the extracts based on the similarity of TLC fingerprint patterns.

مستخلص البحث

إلمي محمد نورول. 2026. تحليل كيمومتري قائم على الكروماتوغرافيا السائلة (KLT) لمستخلص أوراق شجرة الكيرسن (*Muntingia Calabura L*). باستخدام مذيئات مختلفة. مقترح بحثي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في مالانغ. المشرفان: إيلوك كامبلا حياتي، ماجستير في العلوم، وأوكي باغاس براسيتيو، ماجستير في التربية.

الكلمات المفتاحية: أوراق الكرز، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، بصمة الإصبع الكيميائية، تحليل المكونات الرئيسية (PCA)، التحليل الكيمومتري.

يهدف هذا البحث إلى وضع نمط بصمة كروماتوغرام الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (KLT) لمستخلص أوراق الكيرسن (*Muntingia calabura L*). وتقييم تصنيف تباينات مذيئات الاستخلاص من خلال التحليل الكيميائي الإحصائي «تحليل المكونات الرئيسية» (PCA)، وتحديد صحة الفصل بين المجموعات استنادًا إلى بيانات بصمة KLT. أُجريت الدراسة على عينات من أوراق الكيرسن التي تم استخلاصها باستخدام طريقة المعالجة بالموجات فوق الصوتية، ثم تم فصل المركبات الفعالة باستخدام KLT. عُولجت بيانات نتائج KLT باستخدام برنامج ImageJ للحصول على معلومات الكروماتوغرام (استنادًا إلى مساحة البقعة/AUC وقيمة Rf)، ثم تم تحليلها تحليلًا متعدد المتغيرات باستخدام تحليل المكونات الرئيسية (PCA). استنادًا إلى ملاحظة لوحات KLT تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 366 نانومتر، أظهر مستخلص الإيثانول بنسبة 70% فصلًا معقدًا مع عدد من البقع الرئيسية التي تم الكشف عنها في تباين قيم Rf، مما يشير إلى هيمنة المركبات ذات القطبية المتوسطة إلى العالية (التي من المحتمل أن تشمل الفلافونويدات والمركبات الفينولية). وأظهر دمج البيانات باستخدام نهج الخريطة الحرارية-التجميعية تكوين علاقات بين المتغيرات/المعلومات بناءً على ارتباط شدة البقع بقيم Rf. أدى تحليل PCA باستخدام بيانات AUC من خمسة أنواع مختلفة من المذيئات إلى تفسير تباين إجمالي بنسبة 77,1%، كما أظهر أن مجموعتي مستخلص الإيثانول ومستخلص الإيثانول 70% تتمتعان بملف تعريف كيميائي متطابق تقريبًا (تقعان في منطقة إحدائيات متداخلة). بالإضافة إلى ذلك، نجح التخطيط القائم على خريطة الحرارة في تحديد أن قيمة Rf 4 هي السمات المميزة (العلامات الحيوية) الرئيسية لمجموعة الإيثانول، في حين تعمل قيم Rf الأخرى كعوامل تمييز لمستخلصات الإيثيل أسيتات والكلوروفورم وn-هكسان. وبالتالي، ثبت أن تنوع مذيئات الاستخلاص يؤثر بشكل كبير على تركيب المركبات الناتجة، وأن تحليل المكونات الرئيسية (PCA) قادر على تصنيف المستخلصات بناءً على تشابه أنماط بصمات KLT بشكل فعال.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara terbesar kedua yang memiliki keanekaragaman hayati cukup besar di dunia, yang terdiri dari 30.000 hingga 40.000 (Muchtaromah *et al.*, 2020). Dengan memanfaatkan bahan alam kita dapat melihat kekuasaan Allah SWT yang telah menciptakan segala macam isi di dunia, termasuk berbagai macam tumbuhan dengan manfaatnya. Al-Qur'an memerintahkan kita untuk menelaah secara mendalam ayat-ayat kauniyah yang berhubungan dengan tumbuh-tumbuhan, sebagaimana firman-Nya dalam Al-Qur'an Surah Luqman: 10.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رُبُوسًا أَن تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۚ وَأَنزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنبَتْنَا فِيهَا
مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *"Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik"* (QS. Luqman: 10).

Tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa kata "زَوْجٍ" yang memiliki arti yakni pasangan. Pasangan yang dimaksud merupakan pasangan tumbuh-tumbuhan dimana tumbuhan memiliki benang sari dan putik untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Sedangkan "كَرِيمٍ" yang memiliki arti baik. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat. Ayat di atas dapat disimpulkan bahwa Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan di muka bumi ini dengan berbagai manfaat, yakni selain indah untuk dilihat tumbuhan juga memiliki manfaat untuk obat-obatan. Hal ini terbukti nyata bahwasannya Firman Allah SWT di dalam Al-Qur'an adalah sebaik-baiknya kehidupan bagi seluruh umat manusia. Terdapat banyak tumbuhan yang bermanfaat sebagai sumber bahan obat-obatan (Shihab, 2020). Salah satu tumbuhan yang digunakan yaitu daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan spesies tanaman yang banyak ditemukan di daerah tropis, terutama di Indonesia. Tanaman ini biasanya tumbuh di alam liar, banyak ditemukan di pinggir jalan dan tempat-tempat yang kurang kondusif karena mempunyai kemampuan beradaptasi yang baik (Kurnia, 2020). Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki banyak khasiat, manfaat dan berbagai aktivitas biologis. Seperti, antimikroba (Arum *et al.*, 2012), antiseptik (Ilkafah, 2018), antidiabetes, antitumor, antidiabetes (Siddiqua *et al.*, 2010), dan antioksidan (Sadli *et al.*, 2015). Bagian buah dan daun dari tumbuhan ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat

sebagai obat tradisional, karena kandungan senyawa metabolitnya (Fatimah & Santoso, 2020).

Analisis kemometrik pada daun kersen (*Muntingia calabura L.*) diawali dengan ekstraksi menggunakan metode dengan variasi pelarut etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat. Metode ekstraksi sonikasi (ultrasonik) adalah metode yang menggunakan sinar gelombang ultrasonik dimana metode ini memiliki kelebihan ekstraksi lebih singkat, sederhana, efisiensi lebih tinggi, aman, penggunaan energi kecil dan mampu meningkatkan jumlah rendemen, rendemen yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan ultrasonik lebih besar dibandingkan metode maserasi (Kuldiloke, 2002; Widarta & Arnata, 2017; Ince *et al.*, 2013). Menurut Reddy *et al.* (2020) metode sonikasi (ultrasonik) direkomendasikan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dari bahan alam. Hal ini diperkuat oleh penelitian Hikmawanti *et al.* (2021) yang menggunakan variasi metode, yakni ekstraksi sonikasi, maserasi, dan soxhletasi pada penentuan kadar flavonoid daun katuk dengan kadar total flavonoid yang paling tinggi sebesar 12,05 mgQE/g menggunakan metode sonikasi.

Pemilihan variasi pelarut dalam penelitian ini didasarkan pada perbedaan tingkat polaritas masing-masing pelarut yang dapat memengaruhi kemampuan ekstraksi metabolit sekunder dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*) pelarut polar seperti etanol dan etanol 70% cenderung mengekstraksi senyawa fenolik, flavonoid, dan glikosida, sedangkan pelarut semi polar seperti etil asetat mampu melarutkan senyawa flavonoid aglikon dan beberapa alkaloid. Adapun pelarut nonpolar seperti n-heksana efektif untuk mengekstraksi senyawa lipid, steroid, dan terpenoid nonpolar (Do *et al.*, 2014). Kloroform sebagai pelarut semi nonpolar juga diketahui mampu menarik metabolit seperti alkaloid bebas dan beberapa turunan terpenoid. Variasi pelarut tersebut digunakan untuk menghasilkan fingerprint kromatogram yang berbeda sehingga dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan pendekatan kemometrik *Principal Component Analysis* (PCA).

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) menunjukkan bahwa sampel mengandung sejumlah senyawa kimia antara lain flavonoid (flavon, flavanon, flavan, dan biflavan), alkaloid, steroid/terpenoid, tanin dan saponin (Gurning *et al.*, 2021). Ekstrak daun kersen mengandung flavonoid, glikosida, saponin, dan alkaloid (Onkar *et al.*, 2012). Vonna *et al* (2021) telah melakukan penelitian pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terkandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Selain itu, Widjaya *et al* (2019) telah melakukan penelitian pada ekstrak etanol daun kersen memiliki kandungan fenol, flavonoid, terpenoid, tanin serta saponin, lalu ekstrak etil asetat memiliki kandungan flavonoid, fenol, saponin dan tanin, ekstrak n-heksan memiliki kandungan tanin, flavonoid dan fenol.

Pembentukan senyawa aktif pada daun kersen (*Muntingia calabura L.*) harus memenuhi persyaratan kualitas yang telah ditetapkan. Perbedaan komposisi kimia dan

kuantitas senyawa dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti kondisi lingkungan tumbuh yang meliputi iklim, media tanam, dan ketinggian tempat (Pribadi, 2009). Selain itu, perubahan pada metabolom (keseluruhan metabolit dalam suatu sampel) juga dipengaruhi oleh proses metabolik seperti anabolisme dan katabolisme, serta jalur biosintesisnya (Claudino *et al.*, 2007). Untuk mengidentifikasi keberagaman profil metabolit dalam suatu sampel, diperlukan metode analisis yang tepat. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk tujuan tersebut adalah metode metabolomik (Anissa, 2012). Pendekatan ini mampu mendeteksi kerusakan molekuler, membantu penemuan senyawa penanda (biomarker), dan bahkan digunakan dalam pengembangan metode diagnosis. Metabolomik dianggap sebagai metode analisis yang sangat kuat dan luas aplikasinya (Zhao dan Lin, 2014). Kelebihan metabolomik adalah kemampuannya dalam mengkuisisi data sehingga didapat data kuantitatif dari sampel (Blekherman, *et al.*, 2011). Terdapat tiga analisis yang digunakan dalam pendekatan metabolomik ini yaitu analisis target, analisis profiling dan analisis sidik jari (Warsito, 2018). Salah satu pendekatan metabolomik yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis sidik jari.

Analisis sidik jari pada hasil ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hal ini dikarenakan teknik kromatografi ini merupakan pilihan yang atraktif untuk analisis sidik jari tumbuhan obat, karena kelebihan penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode yang sederhana, biaya murah, kapasitas sampel yang besar, dan didapatkan hasil yang cepat (Vermaak *et al.*, 2010). Analisis sidik jari merupakan metode yang efektif untuk mengevaluasi dan mengendalikan kualitas multikomponen dari bahan baku obat herbal. Metode ini menghasilkan profil kromatografi yang merepresentasikan senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam sampel, yang kemudian ditampilkan dalam bentuk kromatogram sidik jari. Melalui kromatogram tersebut, karakteristik dan stabilitas suatu tanaman obat dapat diidentifikasi dengan lebih akurat (Zhao *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Fariestha (2018) menganalisis hasil ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), (A) metanol: etil asetat: kloroform 1:2:9; (B) metanol: etil asetat 5:1; (C) N-heksan: etil asetat 9,5:0,5 dan (D) metanol: etil asetat 1:8 yang diujikan pada plat KLT silika gel 60 F₅₂₄. Hasil analisa kromatografi lapis tipis yang terbaik didapatkan sebagai fase gerak yaitu penggunaan eluen metanol: etil asetat (1:8). Hasil kromatografi lapis tipis didapatkan 6 spot fragmen yang diamati melalui sinar UV 366 nm.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat memberikan informasi terkait hasil pemisahan senyawa berdasarkan jumlah dan intensitas warna noda, yang dipengaruhi oleh interaksi antara fase gerak dan fase diam. Berdasarkan hasil pengolahan kromatogram KLT menggunakan perangkat lunak image j, diperoleh data kuantitatif berupa nilai faktor retensi (*R_f*) dan luas area sampel. Data tersebut selanjutnya akan dianalisis dengan menggunakan analisis multivariat. Analisis multivariat merupakan teknik yang umum digunakan untuk

membedakan atau mendiskriminasi antar sampel. Salah satu metode yang sering digunakan dalam analisis ini adalah *Principal Component Analysis* (PCA), yaitu jenis analisis kemometrik yang menggabungkan teori matematika dan statistika untuk mengolah serta menginterpretasi data kimia secara efektif (Rohman., 2014). *Principal Component Analysis* (PCA) digunakan untuk memperoleh informasi yang khas, dengan cara mereduksi data dan mengekstrak informasi sehingga dapat diketahui perbedaan profil *fingerprint* antar sampel. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kartini, et al (2020) menyatakan bahwa analisis sidik jari kromatografi lapis tipis yang dikombinasikan menggunakan PCA (*Principal Component Analysis*) dapat membedakan perbedaan lokasi perolehan sampel daun *Orthosiphon stamineus*, dimana senyawa yang didapat tersebut memiliki nilai 0,0-0,1, 0,1 – 0,2, 0,2-0, dan 0,9-10 yang merupakan senyawa yang paling penting untuk pengelompokkan sampel.

Berdasarkan uraian di atas penelitian ini menggunakan sampel daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi dengan frekuensi 42 kHz yang menggunakan variasi pelarut (etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, dan etil asetat). Hasil ekstraksi kemudian dianalisis metabolomik menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Untuk memperjelas hasil data, dilakukan pengolahan data menggunakan perangkat lunak ImageJ. Selanjutnya, analisis kemometrik dengan metode *Principal Component Analysis* (PCA) dengan web *MetaboAnalyst 6.0*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pola fingerprint kromatogram KLT ekstrak daun *Muntingia calabura L.* menggunakan variasi pelarut ekstraksi?
2. Bagaimana pengelompokkan ekstrak berdasarkan hasil analisis kemometrik menggunakan metode *Principal Component Analysis* (PCA)?
3. Bagaimana validitas pemisahan kelompok ekstrak berdasarkan data fingerprint kromatogram KLT?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk pola fingerprint kromatogram KLT ekstrak daun *Muntingia calabura L.* menggunakan variasi pelarut ekstraksi.
2. Untuk mengetahui pengelompokkan ekstrak berdasarkan hasil analisis kemometrik menggunakan metode *Principal Component Analysis* (PCA).
3. Untuk mengetahui validitas pemisahan kelompok ekstrak berdasarkan data fingerprint kromatogram KLT.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Sampel yang digunakan adalah tanaman Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diambil di Kota Malang.
2. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode sonikasi dengan frekuensi 42 kHz.
3. Variasi pelarut yang digunakan adalah etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat.
4. Pemisahan senyawa aktif dilakukan menggunakan metode analisis sidik jari KLT.
5. Hasil kromatogram diolah dengan menggunakan aplikasi ImageJ.
6. Mengolah data secara kemometrik dilakukan dengan metode *Principal Component Analysis* (PCA) dengan web *MetaboAnalyst 6.0*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menghasilkan pengetahuan baru mengenai Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Variasi Pelarut (etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat) menggunakan metode sonikasi dengan frekuensi 42 kHz.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan pohon asli Amerika Tengah. Kersen dapat tumbuh dengan baik di tanah yang buruk dan tanaman ini mudah dijumpai di pinggir jalan. Nama tanaman ini beragam di beberapa daerah, antara lain kerukup siam (Malaysia), *jamaican cherry* (Inggris), talok (Jawa), ceri (Kalimantan) dan lain-lain (Ilkafah, 2018). Tanaman ini merupakan pohon hijau yang tingginya mencapai 3 - 12 m. Bagian daun berbentuk lonjong bulat, menuju puncak semakin tajam, tepinya bergigi kecil dengan panjang 4 - 15 cm dan lebar 1 - 6 cm. Bagian bunga berukuran kecil yaitu terdiri dari kelopak dan jumlahnya sekitar 5 pasang. Bagian bunga terdiri dari banyak benang sari yang menyebar dan kepala sari yang berwarna kuning. Sedangkan bagian buah berbentuk bulat kecil berwarna hijau hingga merah pucat dan tersebar banyak pada pohon (Putri dan Fatmawati, 2019). Daun Kersen dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Menurut Tjitrosoepomo (1991) klasifikasi kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Malvales/Columniferae
Suku	: Elaeocarpaceae
Genus	: <i>Muntingia</i>
Spesies	: <i>Muntingia calabura</i> L.

Manfaat daun kersen telah lama digunakan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan pengobatan, antara lain batuk, sakit kuning, dan asam urat (Isnarianti *et al.*, 2013). Daun kersen (*Muntingia calabura* L) sudah sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat luka bakar dengan cara ditumbuk secukupnya dan ditempelkan secara langsung ke daerah luka bakar atau dengan cara merebus daun kersen dan air rebusannya digunakan untuk membersihkan luka (Handayani *et al.*, 2016). Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung phytosterols, triterpene, glikosida, phenols, flavonoid, tannin, karbohidrat, alkaloid, quinine, dan saponin (Peter *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid pada daun kersen memiliki aktivitas seperti antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan (Kuo *et al.*, 2014). Daun kersen juga mengandung senyawa volatile seperti muntingone, β myrenone, β -sitosterol, syringic acid, dan vanillic acid (Manokari dan Shekhawat, 2019).

Daun kersen (*Muntingia calabura* L) merupakan tanaman yang kaya akan kandungan senyawa aktif dan manfaatnya. Allah SWT. Menciptakan alam semesta beserta isinya tidak ada yang sia-sia dan segala ciptaan-Nya semata-mata hanya untuk makhluk-Nya. Semua yang diciptakan Allah SWT memiliki manfaat yang harus diteliti agar dapat memberikan manfaat bagi manusia. Alam semesta yang diciptakan-Nya memiliki manfaat, sebagaimana tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat sebagai obat-obatan.

Allah SWT. Menciptakan berbagai jenis tumbuhan untuk kemaslahatan umat manusia. Sebagaimana firman Allah SWT. Dalam Q.S. Al-A'raf (58) yang berbunyi:

﴿وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبَثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكْدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ﴾

Artinya:

“Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur” (Q.S. Al-A'raf : 58).

Dalam tafsir Al-Misbah “بِإِذْنِ رَبِّهِ” dalam arti “dengan seizin Allah” dapat dipahami arti, karena mendapatkan anugrah khusus dari Allah serta diizinkan untuk meraih yang terbaik. Berbeda dengan yang lain, yang hanya diperlakukan dengan perlakuan umum yang berkaitan dengan hukum-hukum alam yang menyeluruh. Dari firman-firman Allah SWT, manusia diberi bekal untuk selalu bersyukur dan berfikir. Semua yang diciptakan Allah SWT memiliki manfaat yang harus diteliti agar dapat memberikan manfaat bagi manusia. Telah ada fakta-fakta tentang ilmiah yang ditemukan dan dengan perantara manusia. Fakta tersebut dapat dibuktikan dengan cara melakukan eksperimen. Melakukan eksperimen merupakan salah satu perbuatan amal saleh. Terdapat banyak tumbuhan yang bermanfaat sebagai sumber bahan obat-obatan (Shihab, 2020).

2.2 Ekstraksi Senyawa dengan Metode Ultrasonik

Ekstraksi merupakan suatu proses yang melibatkan perpindahan suatu konstituen padat atau cair ke dalam cairan lain yaitu pelarut. Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Pada kontak dua fase, zat terlarut terdifusi dari fase padat ke fase cair sehingga terjadi pemisahan dari komponen padat (Wassil, 1955; Sudjadi, 1988). Ekstraksi merupakan salah satu cara untuk dapat mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.). Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah ekstraksi ultrasonik.

Metode sonikasi adalah proses kimia dengan menggunakan teknologi sonik atau suara pada frekuensi sangat tinggi (<20 KHz) yang disebut ultrasonik. Prinsip metode sonikasi adalah memanfaatkan gelombang suara (ultrasonik) yang menggunakan frekuensi tinggi dalam mereaksikan suatu campuran zat. Ketika suatu larutan diiradiasi dengan gelombang ultrasonik, maka dalam larutan tersebut terjadi tumbukan antar partikel penyusun larutan yang bertekanan tinggi (Lestari *et al.*, 2012). Gelombang ultrasonik merupakan gelombang mekanik longitudinal yang tidak dapat didengar oleh telinga manusia karena memiliki frekuensi tinggi, dapat merambat dalam medium padat, cair, dan gas. Metode sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi di atas 20 KHz (20.000 Hz) (Wisnuwijaya, 2017).

Metode sonikasi digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu materi menggunakan prinsip pemecahan reaksi intramolekul hingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano (Peshkoysky *et al.*, 2013). Metode sonikasi memiliki dua prinsip utama dimana merupakan kelebihan dari metode ini dari pada metode yang lain. Kelebihan dari metode ini diantaranya yaitu proses kavitasi dan efek mekanik, dapat meningkatkan efisiensi serta mengurangi waktu ekstraksi (Ince, 2012). Efek kavitasi merupakan efek yang disebabkan karena gelombang ultrasonik. Ketika gelombang tersebut ditembakkan pada medium cair akan menyebabkan terbentuknya gelembung-gelembung. Gelembung akan dipecah didekat dinding sel yang menyebabkan terbentuknya gelombang kejut dengan cairan, sehingga dinding sel akan pecah dan menyebabkan komponen aktif keluar dan bercampur dengan pelarut (Cintas *et al.*, 2005). Keunggulan dari metode sonikasi ultrasonik yakni dapat mempercepat reaksi, meningkatkan jumlah rendemen kasar (Handayani *et al.*, 2016), pelarut yang dibutuhkan sedikit (Turrini *et al.*, 2018), suhu yang lebih rendah dapat meminimalisir senyawa target (Quiroz *et al.*, 2019). Terdapat beberapa penelitian ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode sonikasi yang dilakukan, diantaranya yang dilakukan oleh Hikmawanti *et al.* (2021) yang mengekstrak daun katuk menggunakan variasi metode ekstraksi yakni maserasi, soxhletasi, dan sonikasi menghasilkan rendemen terbaik pada metode sonikasi dengan rendemen 12, 05 mg QE/g. Selain itu, Ayu Candraningsih *et al.*, (2022) melakukan penelitian ekstrak daun kersen menggunakan metode sonikasi ultrasonik dengan panjang gelombang 40 kHz. Hasil rendemen yang

didapatkan sebesar 34,1%. waktu ekstraksi 30 menit, dan frekuensi ultrasonik 42 kHz. Dari proses tersebut diperoleh rendemen ekstrak sebesar 17,8%. Nilai rendemen ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif dalam mengekstraksi komponen terlarut dari matriks beras hitam.

2.3 Pemisahan Senyawa menggunakan KLT

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan yang dapat digunakan untuk berinteraksi dengan lingkungan, yang memiliki fungsi untuk memproteksi tumbuhan dari mikroorganisme seperti virus bakteri dan jamur selain itu juga berfungsi untuk menyerap sinar UV. Untuk menganalisa metabolit sekunder tersebut dapat digunakan pendekatan berupa teknik fingerprint. Teknik analisis sidik jari yaitu pendekatan berdasarkan pola sehingga dapat mengungkapkan semua senyawa yang terdeteksi dalam tumbuhan. Analisis sidik jari digunakan untuk memantau komponen kimia dalam tumbuhan (Sudrajat *et al.*, 2020). Teknik tersebut merupakan teknik analisa untuk mengklasifikasi secara cepat dengan tujuan tidak mengklasifikasi metabolit satu persatu melainkan membandingkan pola fingerprint yang berubah dalam sistem biologisnya (Wolfender *et al.*, 2014). Untuk menganalisis profil metabolik senyawa aktif menggunakan fingerprint dapat dibantu dengan metode kromatografi lapis tipis KLT untuk membandingkan komponen-komponen dalam suatu ekstrak.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen diantara dua fasa gerak dan fasa diam yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Prinsip kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari suatu senyawa yang memiliki kecenderungan dari molekul larut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat dipermukaan (Hendayana, 2006). Kromatografi lapis tipis melibatkan 2 fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa diamnya berupa silika gel yang berfungsi sebagai permukaan penjerap, penyangga, atau lapisan zat cair. Fasa geraknya berupa eluen yang sesuai untuk memisahkan komponen senyawa yang diinginkan (Gritter, *et al.*, 1991). KLT memiliki keunggulan yang meliputi proses yang sederhana, biaya rendah, kapasitas sampel yang besar, hasil analisis yang cepat, dan kemampuan memberikan resolusi pemisahan yang baik (Chaudhari *et al.*, 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 *et al.*, 2019). Pemilihan sistem pelarut disesuaikan dengan senyawa aktif yang akan diperoleh. Pada penotolan sampel dilakukan dengan menggunakan pipa kapiler pada bagian tepi plat kromatografi, sehingga didapatkan noda dari proses pemisahan KLT yang dapat dilihat langsung, tetapi juga dapat menggunakan reagen penyemprotan untuk memperlihatkan

bercak suatu zat. Analisis noda pada plat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV atau fluorosensi atau dengan kalorimeter dengan reagen kromogenik (khopkar, 2010). Identifikasi senyawa yang terpisah pada lapisan tipis dapat diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm yang ditentukan dengan nilai *Rf*. Secara kuantitatif, pemisahan diukur melalui nilai *Rf* atau *retention factor*, dua senyawa dengan nilai *Rf* sama pada suhu, fase gerak dan fase diam yang sama dapat diprediksikan sebagai senyawa yang identik namun untuk dapat memastikan, diperlukan data pendukung lain seperti deteksi bercak pada sinar (Day & Underwood, 2002). Nilai *Rf* nya menggunakan persamaan 2.1 sebagai berikut.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}} \dots\dots\dots(2.1)$$

Nilai *Rf* dihitung untuk penentuan dugaan jenis senyawa dengan membandingkan jarak bercak dengan jarak tempuh larutan eluen. Senyawa dengan nilai *Rf* yang tinggi menandakan memiliki kepolaran yang lebih rendah dan sebaliknya (Gandjar dan Rohman, 2007). Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan fase diam yang bersifat polar sehingga senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam dan akan menghasilkan nilai *Rf* yang lebih rendah. Hasil penelitian dari Fadhila (2016) pada tumbuhan anting-anting dengan ekstrak etil asetat menggunakan variasi eluen antara lain kloroform : metanol (9,5:0,5), kloroform : n-heksana (2:1), n-heksana : etil asetat : etanol (30:2:1), toluene : etil asetat : dietilamin (7:2:1) dan sikloheksana : toluene : dietilamin (75:15:10), berdasarkan hasil tersebut yang menunjukkan eluen terbaik yaitu pada perbandingan sikloheksana : toluene : dietilamin (75:15:10) karena mendapatkan senyawa alkaloid yang terpisah dengan baik pada 4 noda dengan nilai *Rf* sebesar 0,35; 0,65; 0,78; dan 0,89.

2.4 Validasi Metode Fingerprint KLT

Bukti formal bahwa suatu metode sesuai untuk digunakan adalah dengan melakukan validasi metode. Validasi metode ini perlu dilakukan agar metode yang dikembangkan dapat digunakan dalam mengevaluasi kualitas dan stabilitas tanaman. Parameter yang digunakan dalam validasi metode adalah stabilitas, presisi, ketegaran, dan spesifitas. Fokus dari validasi metode secara kualitatif dengan metode KLT yaitu nilai *Rf*, profil sidik jari, dan warna zona pita (Reich dan Schibli, 2006).

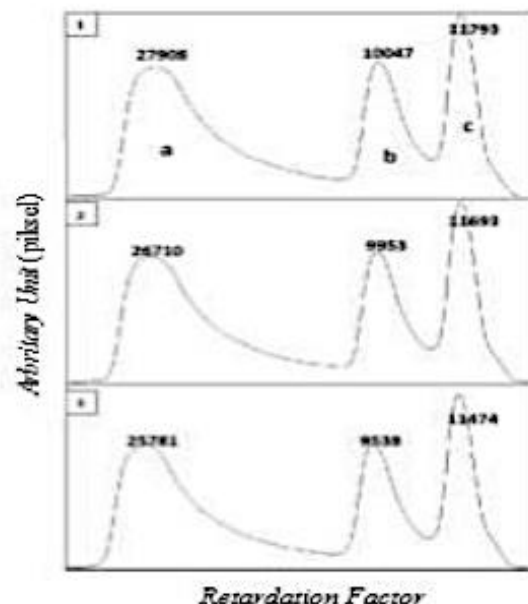
2.5 Analisis Menggunakan ImageJ

Salah satu software yang mengembangkan sistem teknologi pengolahancitra gambar menjadi kromatogram yaitu software *ImageJ*. Software *ImageJ* merupakan pengolahan gambar berbasis Java yang telah dikembangkan di *National Institute of Health* (Kurniawan et

al., 2011). *ImageJ* merupakan program untuk memproses dan menganalisis gambar secara digital yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan, biologi maupun fisika. Kelebihan utama *ImageJ* adalah dapat mengubah data kualitatif (seperti gambar) menjadi data kuantitatif yang bisa disajikan dalam bentuk grafik. Banyak sekali fitur-fitur yang dapat dilakukan dengan *ImageJ*. Fitur-fitur yang umum digunakan yaitu kuantifikasi fraksi area fibrosis, mengukur ketebalan dinding arteri, hitung jumlah sel, dan analisis densitometri band elektroforesis (Halim, 2019).

ImageJ mampu melakukan manipulasi kontras citra, filtering, menghitung area dan nilai piksel dari suatu ROI. *ImageJ* dapat menampilkan histogram dan profil dari citra yang dianalisis (Apriantoro *et al.*, 2018). *Image J* membantu *stacks* dan *hyperstacks*, serangkaian gambar yang ditampilkan dengan suatu jendela dan multi urutan, sehingga memerlukan waktu operasi, seperti pembacaan berkas gambar yang dapat ditunjukkan secara parrarel dengan operasi lainnya. Selain itu, aplikasi ini dapat menghitung nilai area dan piksel dari suatu gambar yang diinginkan, dapat membuat profil dari densitogram dan garis kurva. (Fitrianti, 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fitrianti (2011) menggunakan software *ImageJ* dari hasil gambar plat KLT mengenai tiga komponen yang terdeteksi dalam larutan standar kurkumin yaitu kurkumin, dimetoksikurkumin dan bisdimetoksikurkumin dengan visualisasi sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.



Gambar 2.2 Luas area puncak dari masing-masing gambar pita komponen standar kurkumin

2.6 Analisis Multivariat Menggunakan Metode *Principal Component Analysis* (PCA)

Metode kemometrik digunakan untuk menemukan korelasi statistika yang telah diketahui dari hasil sampel, ilmu tersebut mengaplikasikan ilmu-ilmu tentang matematika, statistika dan logika untuk mengolah data hasil penelitian secara kimia (Rohman *et al.*,

2021). Terdapat berbagai analisa kemometrik yang digunakan untuk menganalisa metabolit sekunder salah satunya metode *Principlel Component Analysis* (PCA). PCA (*Principal Component Analysis*) sebagai metode analisis multivariat yang digunakan untuk menyederhanakan data dengan cara mentransformasikan variabel-variabel awal menjadi variabel baru yang lebih sedikit. Meskipun jumlah variabelnya berkurang, metode ini tetap dapat mempertahankan sebagian besar informasi atau variasi dari data asli, sehingga memudahkan proses analisis tanpa kehilangan informasi penting (Haq *et al.*, 2023). Metode PCA memiliki tujuan untuk menyederhanakan sesuatu yang diamati (data yang besar) menjadi dimensi yang sederhana dengan cara mereduksi variabel menjadi lebih sederhana tanpa menghilangkan variabel yang asli (Pratiwi *et al.*, 2013).

Principal Component Analysis (PCA) merupakan metode statistik multivariat yang digunakan untuk menyederhanakan data berdimensi besar menjadi beberapa komponen utama tanpa menghilangkan informasi penting dalam data. Metode PCA mampu mengelompokkan sampel berdasarkan kemiripan karakteristik metabolit melalui reduksi dimensi data multivariat sehingga pola hubungan antar sampel dapat divisualisasikan secara lebih sederhana (Bro & Smilde, 2014). PCA bekerja dengan mentransformasikan variabel asli menjadi variabel baru yang disebut *principal component* (PC). *Principal component* pertama (PC1) memiliki variasi terbesar dalam data, sedangkan *principal component* kedua (PC2) memiliki variasi terbesar kedua dan bersifat ortogonal terhadap PC1. Secara matematis, PCA diperoleh melalui perhitungan matriks kovarians yang kemudian menghasilkan *eigenvalue* dan *eigenvector*. *Eigenvalue* menunjukkan besarnya variasi yang dijelaskan oleh suatu komponen utama, sedangkan *eigenvector* menunjukkan kontribusi masing-masing variabel terhadap pembentukan komponen tersebut (Jolliffe dan Cadima, 2016). Dalam analisis kemometrik, PCA digunakan untuk:

- Mengelompokkan sampel berdasarkan kemiripan profil metabolit
- Mengidentifikasi variabel dominan
- Menentukan pola hubungan antar sampel
- Memvisualisasikan perbedaan data melalui score plot dan loading plot

Score plot menunjukkan distribusi sampel berdasarkan *principal component*, sedangkan loading plot menunjukkan kontribusi masing-masing variabel terhadap pemisahan kelompok.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober 2025 di Laboratorium Kimia Analitik Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi ayakan 90 mesh, spatula, oven, waterbath, klem statif, gelas arloji, gelas beaker 50 mL, gunting, blender, loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, kaca arloji, penjepit kayu, botol vial, pipet ukur (5 dan 10 mL), pipet volume 1 mL, corong gelas, kertas saring, batang pengaduk, botol semprot, bola hisap, plat silika gel G₆₀F₂₅₄, chamber, lampu UV 366 nm, aplikasi *ImageJ*, dan *metaboAnalyst*.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diambil di Perumahan Tidar Kota Malang, etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat, dan aquades.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Tahapan awal yang dilakukan yaitu pengambilan sampel tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang berlokasi di Perumahan Tidar Kota Malang. Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) dideterminasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu untuk memastikan keaslian spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan spesies *Muntingia calabura* L. Daun kersen sebelum di proses ekstraksi, daun kersen dibersihkan dengan dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven. Kemudian sampel kering dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 90 mesh sehingga diperoleh sampel berupa serbuk halus. Serbuk yang diperoleh akan diekstrak menggunakan metode sonikasi dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit menggunakan variasi pelarut (etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat). Selanjutnya hasil ekstraksi sonikasi disaring dan didapatkan filtratnya yang merupakan ekstrak kasar senyawa tanaman daun kersen. Hasil ekstrak kasar yang dihasilkan akan dilanjutkan tahap pemisahan senyawa aktif

menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil kromatogram kemudian dianalisis menggunakan aplikasi *imageJ* dan metode PCA.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel.
2. Preparasi sampel tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.).
3. Ekstraksi sampel menggunakan metode sonikasi dengan frekuensi 42 kHz.
4. Pemisahan senyawa aktif menggunakan KLT.
5. Analisis data menggunakan perangkat lunak ImageJ .
6. Analisis Multivariat menggunakan metode PCA.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dicuci dengan air terlebih dahulu untuk membersihkan kotoran pada daun kersen. Kemudian daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven. Setelah kering, seluruh bagian yang telah dipotong tersebut dihaluskan menggunakan blender sampai membentuk serbuk. Kemudian serbuk diayak menggunakan ayakan mesh 90 mesh, sehingga diperoleh sampel berupa serbuk halus daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). Sampel tersebut selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup.

3.5.2 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Metode Sonikasi

Ekstraksi sampel pada daun tanaman daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan ekstraksi ultrasonik. Dimana ekstraksi dilakukan menggunakan variasi pelarut (etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, etil asetat) selama 20 menit dengan frekuensi 42 kHz. Tahap ekstraksi dilakukan dengan ditimbang 1 gram serbuk sampel daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dan dilarutkan dalam 10 mL pelarut (etanol, etanol 70%, kloroform, n-heksana, dan etil asetat). Campuran tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer dan diekstraksi menggunakan ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Selanjutnya hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Kemudian ekstrak yang dihasilkan disimpan dalam botol vial.

3.5.3 Pengujian Kadar Air Simplisia

Pengujian kadar air simplisia dilakukan menggunakan metode gravimetri. Sebanyak 2 gram simplisia daun kersen dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah ditimbang sebelumnya, kemudian dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot konstan. Persentase kadar air dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = ((W1 - W2) / W1) \times 100\%$$

Keterangan: W1 = berat simplisia sebelum pemanasan

W2 = berat simplisia setelah pemanasan

Pengujian kadar air dilakukan untuk memastikan stabilitas simplisia dan meminimalkan pengaruh kadar air terhadap hasil ekstraksi.

3.5.4 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan KLT

Proses pemisahan senyawa aktif dengan metode KLT dilakukan dengan beberapa persiapan diantaranya:

3.5.4.1 Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa aktif tanaman daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dilakukan dengan menggunakan plat silika gel G₆₀F₂₅₄ sebagai fase diamnya, jarak 1 cm sebagai posisi penotolan sampel, dan 1 cm pada bagian tepi atas sebagai batas dari proses elusi. Sebelum digunakan, plat silika diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 100°C selama 30 menit.

3.5.4.2 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).

3.5.4.3 Penotolan Sampel

Ekstrak daun kersen dengan variasi pelarut ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah plat, penotolan dilakukan menggunakan micropipette. Ekstrak ditotolkan sebanyak 6 kali pada titik yang sama untuk setiap pelarut.

3.5.4.4 Proses Elusi

Plat kemudian dielusi dengan fase gerak, di mana plat KLT dimasukkan dalam chamber yang berisi fasa gerak yang telah jenuh. Chamber ditutup rapat hingga larutan pengembang (eluen) mencapai batas garis tepi atas pada plat. Setelah proses elusi selesai, plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan cara dianginanginkan.

3.5.4.5 Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika hasil KLT, kemudian diamati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda yang tampak ditandai

dengan pensil dan diamati kembali dibawah sinar UV. Kemudian didokumentasikan hasil yang didapatkan.

3.5.5 Analisis Menggunakan *ImageJ*

Hasil dokumentasi dari hasil KLT yang berupa file (JPEG/PNG) akan diolah menggunakan *software imageJ*. 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).

3.5.6 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

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa daun tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.) yang di ambil di Perumahan Tidar Kota Malang, Kecamatan Pisang candi, Kota Malang. Preparasi tanaman kersen 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 *et al.*, 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 enzimatik 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 *et al.*, 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 daun kersen

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 kersen 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 *et al.*, 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 *et al.*, 2016).

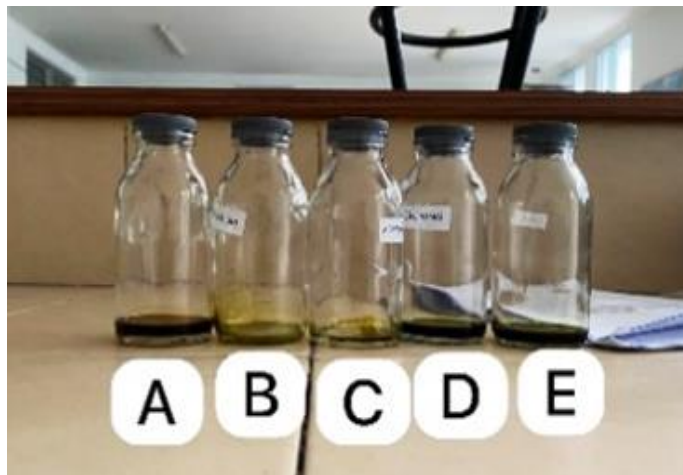
Serbuk daun kersen dicampur masing-masing pelarut dengan perbandingan 1:10 (b/v). Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi tanaman sangat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Etanol adalah pelarut polar yang umum digunakan karena kemampuannya untuk melarutkan senyawa polar dan semi-polar, serta memiliki sifat yang tidak beracun. Penelitian

menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol, semakin banyak komponen bioaktif yang dapat diekstraksi (Yasa *et al.*, 2019). Etil asetat, sebagai pelarut semi-polar, efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa seperti flavonoid dan terpenoid, yang memiliki titik didih lebih rendah (Kumar *et al.*, 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 *et al.*, 2007). N-heksana juga merupakan pelarut nonpolar 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 *et al.*, 2016; Setyantoro *et al.*, 2022).



Gambar 4.2 Serbuk sampel + etanol (A), N-heksana (B), kloroform (C), etil asetat (D), etanol 70% (E)

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 daun kersen.



Gambar 4.3 Hasil ekstraksi sampel dengan pelarut setelah disaring etanol (A), N-heksana (B), kloroform (C), etil asetat (D), etanol 70% (E)

Adapun hasil warna yang diperoleh dari ekstraksi pada Gambar 4.3 menunjukkan hasil ekstraksi daun kersen (*Muntingia calabura* 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 *et al.*, 2008). Kloroform (B) dan etil asetat (C) menghasilkan warna gelap, yang mengindikasikan kemampuan pelarut semi-polar untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid atau fenolik (Sasidharan *et al.*, 2011). Sementara itu, ekstrak etanol (D) berwarna hijau gelap, mencerminkan sifat polar etanol yang mendukung ekstraksi senyawa polar seperti alkaloid, tannin, atau glikosida (Das *et al.*, 2010). Perbedaan warna pada ekstrak mencerminkan variasi metabolit yang terekstraksi dari *Muntingia calabura* L. sesuai dengan sifat kepolaran pelarut yang digunakan.

Senyawa yang terekstrak akan terbagi berdasarkan tingkat kepolaran pelarutnya (prinsip *like dissolve like*). Pada pelarut N-Heksana (A) mengekstrak senyawa non-polar seperti lemak, lilin, klorofil, minyak atsiri (terpenoid), steroid, dan senyawa fenolik non-polar. Sedangkan pada pelarut kloroform (B) mengekstrak senyawa semi-polar hingga non-polar seperti lipid, flavonoid tertentu, kumarin, dan alkaloid bebas. Pelarut etil asetat (C) mengekstrak senyawa semi-polar seperti flavonoid (aglikon), tanin, dan beberapa alkaloid. Pelarut ini paling optimal untuk menarik senyawa dengan polaritas menengah. Pelarut etanol (D) merupakan pelarut polar (universal) yang mengekstrak senyawa polar dan semi-polar seperti glikosida, flavonoid (glikosida), tanin, dan saponin.

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

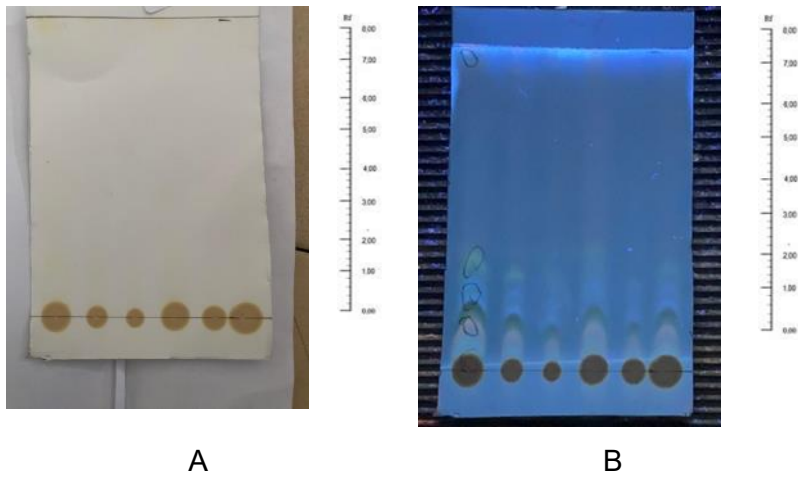
terpisah berdasarkan pola bercak yang terbentuk. Dalam penelitian ini, plat silika G₆₀F₂₅₄ dipilih karena kemampuannya berfluoresensi ketika terpapar sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Fase gerak yang digunakan berupa campuran eluen sikloheksana (75%), toluena (15%), dan dietilamin (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 penjenjuran fase gerak untuk menyeimbangkan tekanan uap dalam bejana, memastikan proses elusi berjalan optimal.

Sampel diekstraksi sebanyak 5 µL dan ditotolkan pada plat KLT sebanyak enam totol, 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:

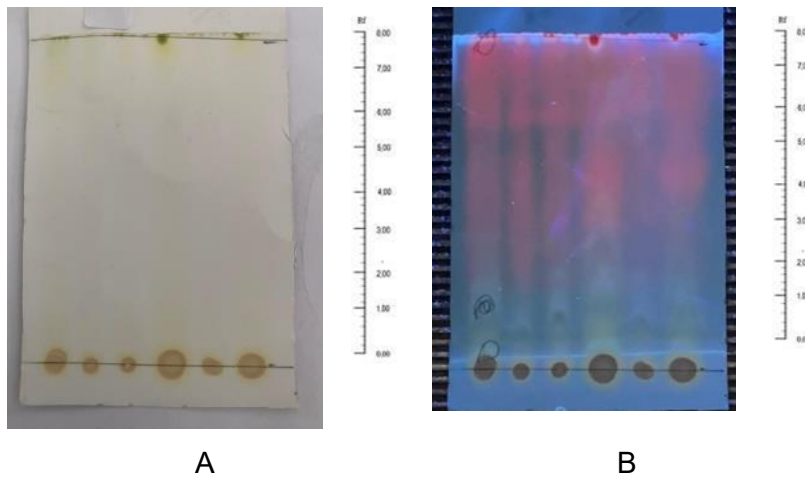


Gambar 4.4 Hasil pemisahan dengan KLT yakni : etanol 70% (A), etanol (B), etil asetat (C), kloroform (D), N-heksana (E)

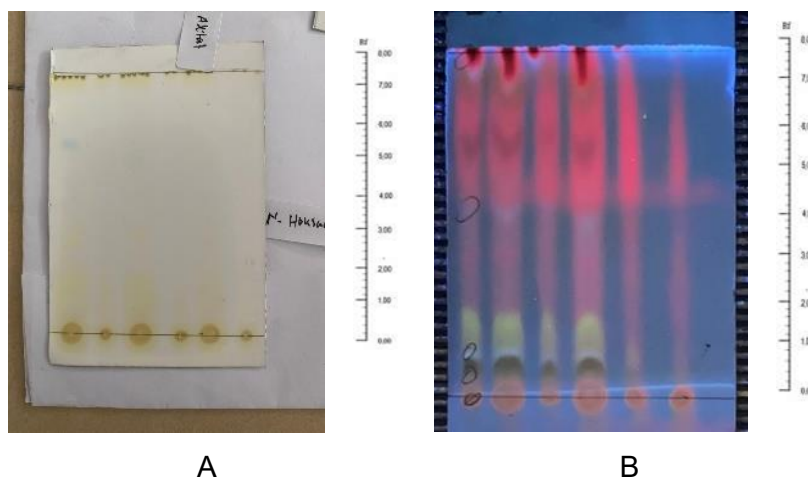
Pada proses pemisahan menggunakan KLT, terbentuk berbagai noda pada setiap plat KLT yang diamati. Noda-noda tersebut menunjukkan adanya senyawa aktif tertentu yang terkandung dalam ekstrak kasar. Perbedaan warna pada noda yang terbentuk mengindikasikan jenis senyawa aktif yang berbeda. Pengamatan dilakukan 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:



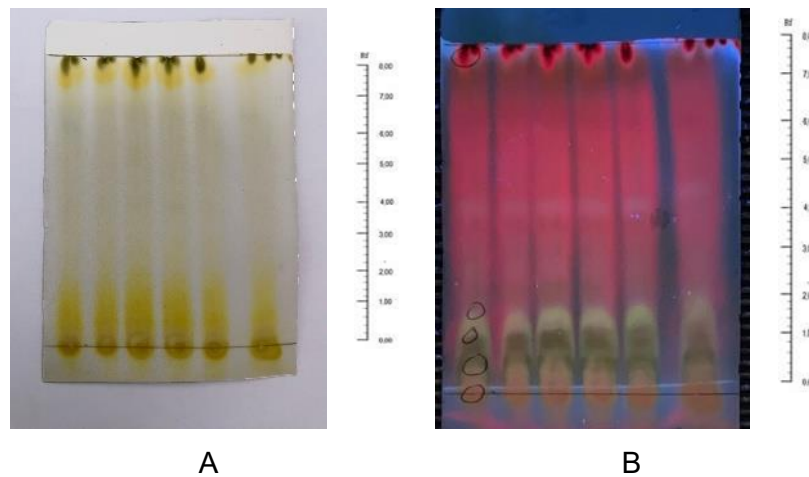
Gambar 4.5 Hasil KLT pelarut etanol 70% (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 5 noda



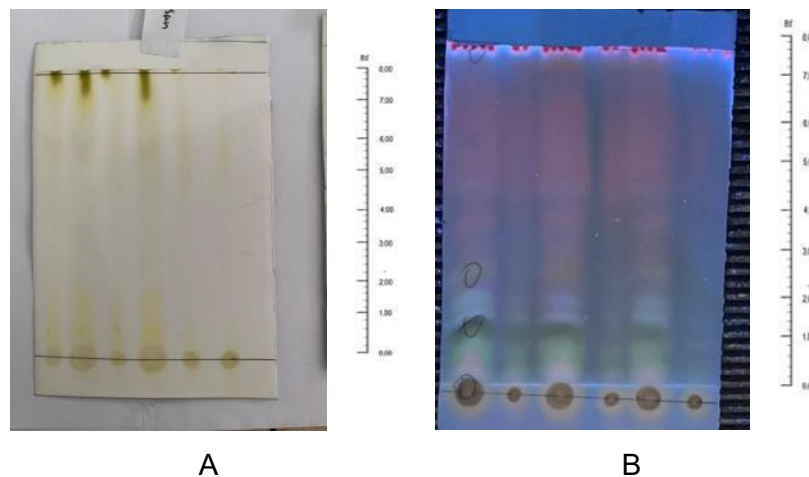
Gambar 4.6 Hasil KLT pelarut etanol (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 4 noda



Gambar 4.7 Hasil KLT pelarut etil asetat (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 4 noda



Gambar 4.8 Hasil KLT pelarut kloroform (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 4 noda



Gambar 4.9 Hasil KLT pelarut N- heksana (A) sebelum dibawah sinar lampu UV 366 nm dan (B) sesudah dibawah sinar lampu UV 366 nm didapatkan 4 noda

Hasil pemisahan senyawa dalam ekstrak *Muntingia calabura L.* menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pelarut etanol 70% dan 99%, 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 dan 4.6), lima noda etanol 70% dan empat noda etanol 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 n-heksana (Gambar 4.9), hasil menunjukkan adanya empat noda yang terdeteksi, mirip dengan etanol dan etil asetat. Namun, n-heksana, yang sangat nonpolar, cenderung hanya membawa senyawa nonpolar, sementara senyawa polar tidak

terdeteksi karena afinitasnya yang rendah terhadap pelarut ini. (Gambar 4.7), di mana empat noda terdeteksi. Etil asetat yang memiliki kepolaran sedang, juga menghasilkan empat 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 4.8), di mana empat 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. 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 daun kersen (*Muntingia calabura* 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 *Muntingia calabura* L. dari 4 Variasi Pelarut

Pelarut	Nilai Rf								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Etanol 70% 1		0.15		0.25	0.337		0.625		
Etanol 70% 2				0.237	0.375				
Etanol 70% 3		0.125							
Etanol 70% 4				0.25					
Etanol 70% 5			0.2						
Etanol 70% 6				0.212					
Etanol 99% 1			0.187		0.312	0.512	0.712		
Etanol 99% 2			0.187			0.5			
Etanol 99% 3			0.187		0.375	0.487			
Etanol 99% 4	0.1		0.187						
Etanol 99% 5				0.225	0.3	0.5			
Etanol 99% 6		0.125							
N-heksana 1	0.062	0.137				0.752			0.987

N-heksana 2		0.125				0.75	0.875	
N-heksana 3	0.087						0.887	
N-heksana 4		0.125				0.75	0.875	
N-heksana 5	0.062							
N-heksana 6								0.9
Etil asetat 1			0.187		0.312	0.512	0.712	
Etil asetat 2			0.187			0.5		
Etil asetat 3			0.187		0.375	0.487		
Etil asetat 4	0.1		0.187					
Etil asetat 5				0.225	0.3	0.5		
Etil asetat 6		0.125						
Kloroform 1		0.112	0.187	0.25				0.987
Kloroform 2	0.1		0.187		0.312			0.937
Kloroform 3	0.1		0.2		0.312			0.937
Kloroform 4		0.125	0.2		0.325			0.937
Kloroform 5		0.125	0.2					0.937

Kloroform 6		0.125		0.25					0.937
Rata rata	0.0872857	0.1271818	0.1907143	0.237375	0.3304545	0.5277778	0.7098	0.879	0.944875
Standar deviasi	0.0179138	0.0094108	0.0060945	0.0150612	0.0304019	0.084547	0.0510705	0.0069282	0.0289652

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan hasil analisis ekstrak tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan menggunakan pelarut etanol 70%, etanol 99%, etil asetat, kloroform, dan n-heksana menunjukkan perbedaan pola pemisahan yang ditandai oleh variasi nilai *Rf*. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa setiap pelarut memiliki kemampuan yang berbeda dalam melarutkan dan memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut polar, seperti etanol, cenderung mengekstraksi senyawa polar sehingga menghasilkan nilai *Rf* yang relatif rendah, sedangkan pelarut non-polar seperti kloroform dan n-heksana menghasilkan nilai *Rf* yang lebih tinggi karena lebih efektif melarutkan senyawa non-polar. Etil asetat sebagai pelarut semi-polar mampu mengekstraksi senyawa dengan rentang kepolaran yang lebih luas sehingga menghasilkan variasi nilai *Rf* yang cukup besar. Perbedaan nilai *Rf* pada KLT dipengaruhi oleh interaksi senyawa dengan fase diam dan fase gerak yang berkaitan erat dengan sifat kepolaran senyawa dan pelarut yang digunakan (Poole, 2012).

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan pelarut etanol 70%, etanol 99%, etil asetat, n-heksana, dan kloroform menghasilkan sembilan kelompok nilai *Rf* dengan rata-rata berkisar antara 0,087–0,945. Perbedaan nilai *Rf* menunjukkan bahwa senyawa dalam ekstrak memiliki tingkat kepolaran yang beragam sehingga menghasilkan pola migrasi yang berbeda pada fase diam silika gel. Pelarut polar, seperti etanol 70% dan etanol 99%, cenderung mengekstraksi senyawa polar yang ditunjukkan oleh nilai *Rf* rendah hingga sedang (0,100–0,712), sedangkan pelarut non-polar, seperti n-heksana dan kloroform, menghasilkan nilai *Rf* yang lebih tinggi hingga mencapai 0,987, mengindikasikan keberadaan senyawa non-polar yang memiliki afinitas lebih besar terhadap fase gerak. Etil asetat sebagai pelarut semi-polar menunjukkan pola pemisahan yang berada di antara kedua kelompok pelarut tersebut. Menurut Poole (2012), nilai *Rf* dipengaruhi oleh interaksi antara senyawa, fase diam, dan fase gerak, sehingga perbedaan kepolaran pelarut akan menentukan kemampuan pemisahan senyawa pada KLT.

Nilai *Rf* ekstrak etanol 99% dan etil asetat terlihat identik pada seluruh pengulangan, yaitu menghasilkan pola nilai *Rf* yang sama pada setiap kelompok noda (0,100; 0,125; 0,187; 0,225; 0,300–0,312; 0,375; 0,487–0,512; dan 0,712). Kesamaan ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdeteksi pada kedua ekstrak memiliki karakteristik migrasi yang sama pada sistem KLT yang digunakan. Namun, kesamaan nilai *Rf* tidak serta-merta menunjukkan bahwa etanol 99% dan etil asetat mengekstraksi senyawa yang identik secara keseluruhan. Nilai *Rf* hanya menggambarkan posisi migrasi senyawa pada lempeng KLT dan dapat dipengaruhi oleh interaksi antara senyawa, fase diam, dan fase gerak. Senyawa yang berbeda masih mungkin memiliki nilai *Rf* yang sama apabila memiliki polaritas dan afinitas yang serupa terhadap sistem kromatografi yang digunakan (Poole, 2012). Secara kimia, etanol 99% merupakan pelarut polar protik, sedangkan etil asetat termasuk pelarut semi-polar aprotik. Meskipun berbeda tingkat kepolarannya, kedua pelarut masih mampu

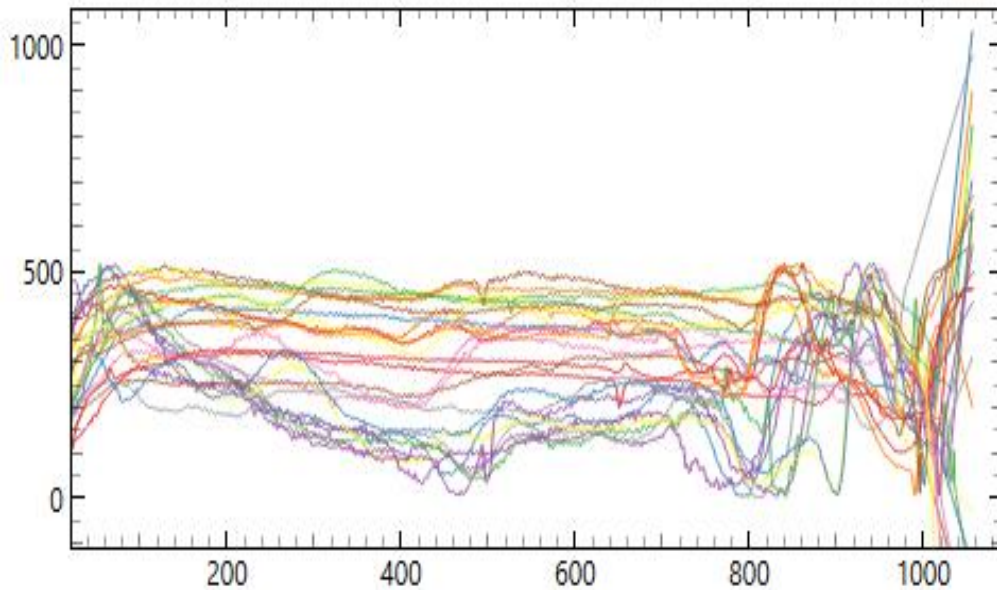
melarutkan kelompok metabolit sekunder tertentu, seperti flavonoid aglikon, fenol, dan beberapa terpenoid semi-polar. Oleh karena itu, kemiripan profil KLT yang diperoleh diduga menunjukkan bahwa kedua pelarut mengekstraksi komponen dominan yang sama atau memiliki karakteristik kepolaran yang serupa (Sherma, 2013).

Hasil perhitungan standar deviasi (SD) nilai R_f menunjukkan kisaran 0,006–0,085. Sebagian besar kelompok nilai R_f memiliki $SD \leq 0,05$, yang mengindikasikan bahwa hasil pengukuran memiliki tingkat presisi dan keterulangan yang baik. Nilai SD yang rendah menunjukkan bahwa variasi antarulangan relatif kecil sehingga posisi noda yang dihasilkan pada lempeng KLT cenderung konsisten. Menurut Reich dan Schibli (2006), nilai ΔR_f yang tidak melebihi 0,05 menunjukkan reproduksibilitas metode yang baik dan dapat digunakan untuk identifikasi awal senyawa. Namun, pada kelompok nilai R_f ke-6 diperoleh SD sebesar 0,085 yang menunjukkan variasi pengukuran lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Variasi tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan kondisi pengembangan kromatogram, ketidaktepatan penotolan sampel, atau kesalahan dalam pengukuran jarak migrasi noda. Meskipun demikian, secara keseluruhan hasil analisis menunjukkan tingkat presisi yang memadai sehingga data nilai R_f dapat dianggap cukup andal untuk menggambarkan profil senyawa dalam ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

4.4 Analisis Menggunakan ImageJ 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 *Muntingia calabura* 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.

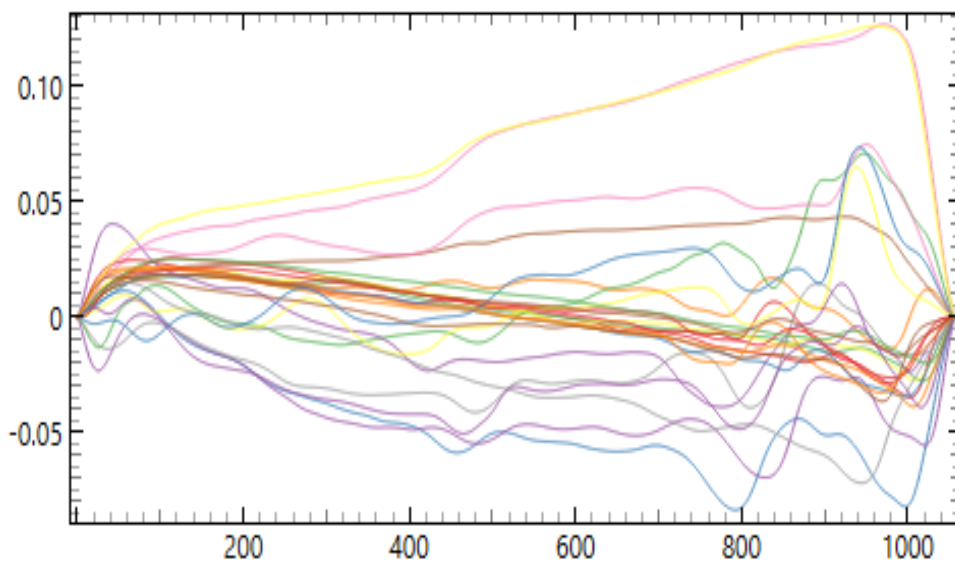
Sebelum preprocessing



Gambar 4.10 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 4.0. 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.

Sesudah di preprocessing



Gambar 4.11 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 daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dari 4 variasi pelarut sebagai berikut:

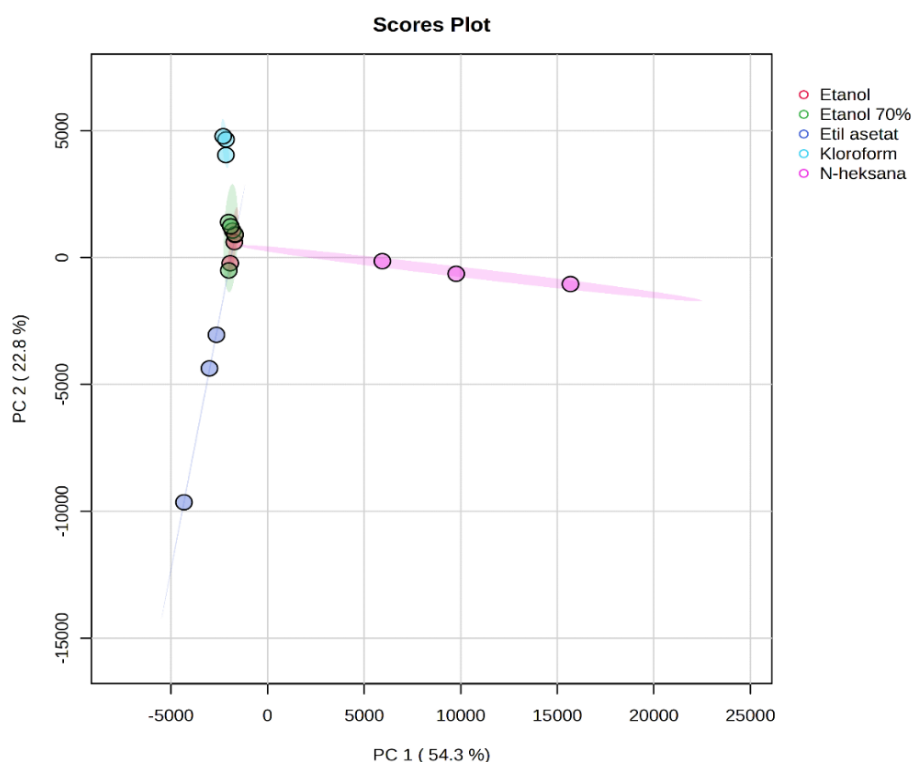
Tabel 4.2 Nilai AUC ekstrak *Muntingia calabura* L. 4 variasi pelarut

Pelarut	NILAI AUC								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Etanol 70% 1	0	208.192	0	365.385	210.899	0	164.728	0	0
Etanol 70% 2	0	0	0	6102.811	1149.719	0	0	0	0
Etanol 70% 3	0	3480.497	0	0	0	0	0	0	0
Etanol 70% 4	0	0	0	4256.095	0	0	0	0	0
Etanol 70% 5	0	0	0	1662.012	0	0	0	0	0
Etanol 70% 6	0	0	3623.397	0	0	0	0	0	0
Etanol 99% 1	0	0	290.728	0	116.485	201.971	274.263	0	0
Etanol 99% 2	0	0	1312.062	0	0	2860.974	0	0	0
Etanol 99% 3	0	0	1617.326	0	428.598	908.648	0	0	0
Etanol 99% 4	3196.024	2640.782	0	0	0	0	0	0	0
Etanol 99% 5	0	0	0	2537.983	316.163	100.021	0	0	0
Etanol 99% 6	0	590.234	0	0	0	0	0	0	0
N-heksana 1	17911.46	462.263	0	0	0	481.012	0	0	591.891
N-heksana 2	0	3625.347	0	0	0	0	559.406	246.335	0

N-heksana 3	11738.83	0	0	0	0	0	0	1054.719	0
N-heksana 4	0	451.305	0	0	0	0	321.627	269.627	0
N-heksana 5	7827.338	0	0	0	0	0	0	0	0
N-heksana 6	0	0	0	0	0	0	0	0	498.698
Etil asetat 1	0	0	6349.631	0	1322.305	325.971	576.284	0	0
Etil asetat 2	0	0	12433.36	0	0	2338.054	0	0	0
Etil asetat 3	0	0	4524.347	0	1659.731	1355.619	0	0	0
Etil asetat 4	12474.53	0	2010.225	0	0	0	0	0	0
Etil asetat 5	0	0	0	583.163	123.092	386.991	0	0	0
Etil asetat 6	0	273.092	0	0	0	0	0	0	1230.347
Kloroform 1	0	528.071	1610.527	424.556	0	0	0	0	997.113
Kloroform 2	680.042	0	1455.104	0	1097.477	0	0	0	9955.007
Kloroform 3	5226.447	0	3771.903	0	2590.388	0	0	0	3377.225
Kloroform 4	0	3690.468	1533.376	0	896.205	0	0	0	6460.246
Kloroform 5	0	3831.004	719.042	0	0	0	0	0	2608.205
Kloroform 6	0	3793.79	0	237.799	0	0	0	0	5001.075

4.5 Pengelompokan Sampel Daun Kersen menggunakan PCA

Principal Component Analysis (PCA) 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 variabelvariabel 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

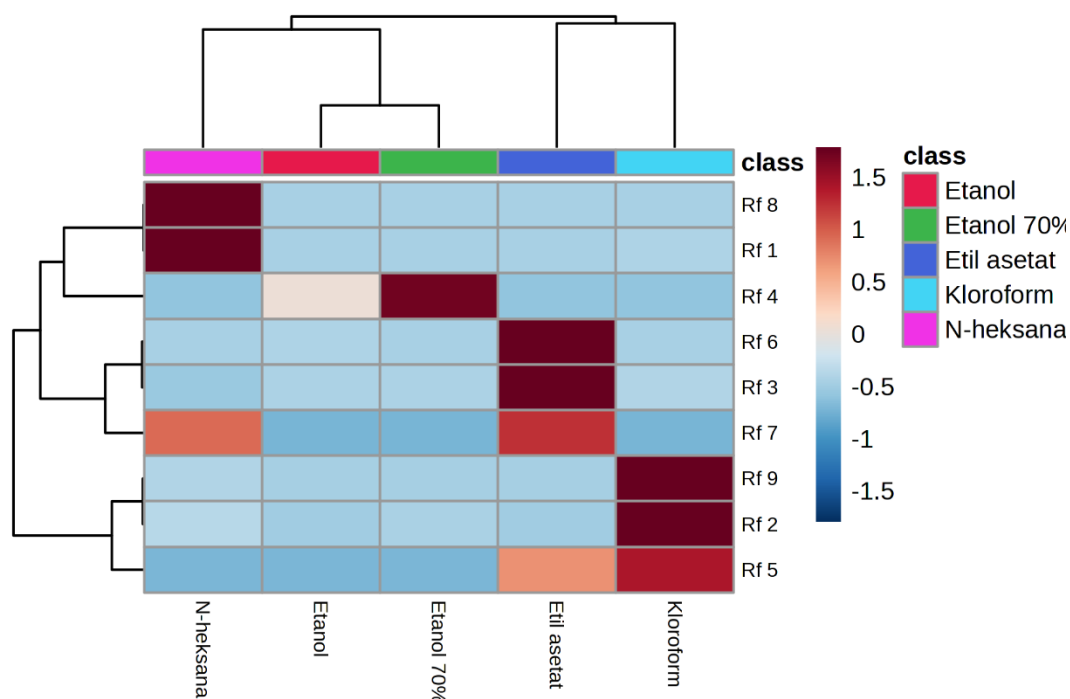


Gambar 4.12 Score plot data PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0

Analisis profil metabolit daun kersen (*Muntingia calabura*) dilakukan melalui pendekatan sidik jari (*fingerprinting*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang diintegrasikan dengan analisis kemometrika untuk melihat pengaruh variasi pelarut terhadap komposisi senyawa yang dihasilkan. Berdasarkan pengamatan visual pada plat KLT di bawah lampu UV 366 nm, ekstrak etanol 70% menunjukkan pemisahan yang kompleks dengan munculnya beberapa noda utama yang memiliki intensitas pendaran beragam. Penggunaan sistem fase gerak sikloheksana : toluena : dietil amin (75:15:10) memberikan pemisahan yang cukup tajam dengan noda-noda yang dominan berada pada area nilai R_f rendah hingga menengah, yang mengindikasikan bahwa ekstrak ini kaya akan senyawa dengan tingkat kepolaran sedang hingga tinggi seperti golongan flavonoid dan fenolik.

Data kualitatif tersebut kemudian diperkuat secara statistik melalui analisis komponen utama atau *Principal Component Analysis* (PCA) untuk memetakan pola pengelompokan berdasarkan jenis pelarut ekstraksi. Hasil *scores plot* menunjukkan bahwa dua komponen utama mampu menjelaskan total variansi data dengan tingkat akurasi yang tinggi, yakni sebesar 77,1% yang terdiri dari PC1 54,3% dan PC2 22,8%. Dari plot tersebut, terlihat adanya pemisahan klaster yang sangat jelas, di mana kelompok ekstrak etanol dan etanol 70% terletak saling berhimpitan atau tumpang tindih (*overlap*). Fenomena ini membuktikan bahwa profil metabolit yang ditarik oleh kedua konsentrasi pelarut etanol tersebut hampir identik. Sebaliknya, ekstrak etil asetat, kloroform, dan n-heksana terpisah jauh dari klaster etanol di sepanjang sumbu PC1 dan PC2, dengan n-heksana yang menunjukkan sebaran horizontal kontras yang mencerminkan perbedaan karakteristik senyawa non-polar secara signifikan.

Untuk mendalami hubungan antara noda spesifik dengan pengelompokan pelarut tersebut, dilakukan analisis *heatmap* yang dikombinasikan dengan *Hierarchical Clustering Analysis* (HCA). Berdasarkan peta panas yang dihasilkan, dapat diidentifikasi noda spesifik yang menjadi penciri (*biomarker*) untuk setiap kelompok pelarut. Noda pada Rf 4 teridentifikasi sebagai penciri utama untuk kelompok etanol dan etanol 70%, yang ditunjukkan dengan intensitas warna merah pekat pada kolom tersebut, sehingga memberikan alasan ilmiah mengapa kedua pelarut ini mengelompok rapat pada plot PCA. Di sisi lain, noda pada Rf 3 dan Rf 6 menjadi pembeda utama untuk ekstrak etil asetat, sementara Rf 1 dan Rf 8 menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi pada pelarut non-polar seperti n-heksana. Secara keseluruhan, integrasi data KLT, PCA, dan *heatmap* ini secara konsisten menunjukkan bahwa polaritas pelarut ekstraksi berperan krusial dalam menentukan komposisi sidik jari kimia ekstrak daun kersen yang dihasilkan.

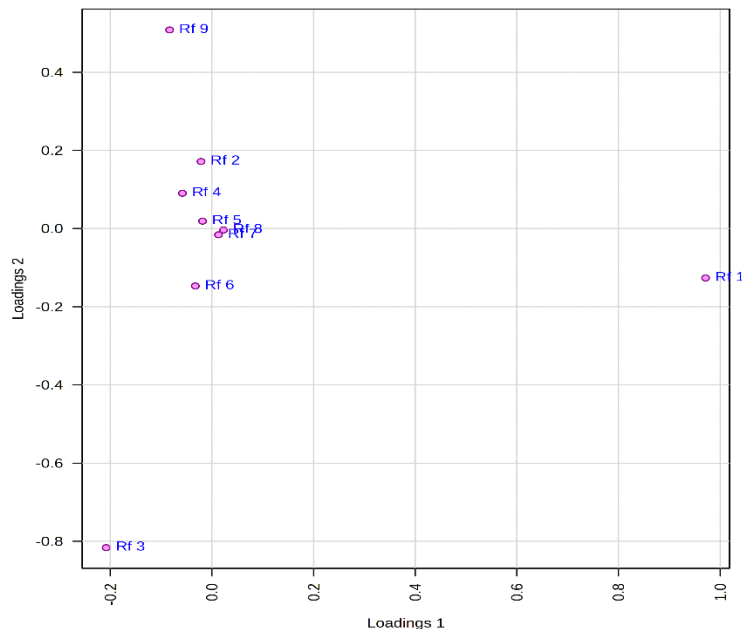


Gambar 4.13 Heatmap hasil PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0

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 -0,5 (biru).

Analisis pemetaan panas atau *heatmap* memberikan visualisasi yang sangat detail mengenai distribusi intensitas metabolit daun kersen pada setiap nilai Rf terhadap variasi pelarut ekstraksi yang digunakan. Melalui gradasi warna pada peta tersebut, di mana warna merah pekat merepresentasikan intensitas noda yang tinggi dan warna biru menunjukkan intensitas rendah atau ketiadaan noda, dapat diidentifikasi senyawa-senyawa yang berperan sebagai penciri spesifik (*biomarker*) bagi masing-masing kelompok pelarut. Kelompok ekstrak etanol dan etanol 70% menunjukkan pola pendaran yang sangat serupa, terutama pada noda dengan nilai Rf 4 yang ditandai dengan warna merah paling pekat dibandingkan kelompok pelarut lainnya. Konsistensi pola pada kolom tersebut menjelaskan alasan teknis mengapa kedua ekstrak ini selalu mengelompok rapat pada analisis statistik lainnya, karena keduanya memiliki efektivitas yang sama dalam menarik senyawa polar target dari daun kersen.

Diferensiasi profil kimia terlihat semakin nyata pada kelompok pelarut non-polar dan semi-polar lainnya yang membentuk kluster berbeda. Ekstrak etil asetat dicirikan oleh noda pada Rf 6 dan Rf 3 yang memiliki intensitas lebih tinggi dibandingkan pelarut lain, sedangkan pelarut n-heksana menunjukkan profil yang sangat unik dengan dominasi noda pada Rf 8 dan Rf 1. Analisis klastering hirarki atau dendrogram yang terdapat pada bagian atas *heatmap* secara otomatis menyatukan etanol dan etanol 70% ke dalam satu cabang kluster utama, yang kemudian terpisah secara signifikan dari cabang kluster kloroform dan n-heksana. Hal ini membuktikan bahwa *heatmap* berhasil memvalidasi hubungan kekerabatan profil kimia tanaman kersen secara visual berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, di mana noda-noda spesifik pada nilai Rf tertentu menjadi pembeda utama antara kelompok ekstrak polar, semi-polar, dan non-polar.



Gambar 4.14 Loading plot hasil PCA menggunakan Metaboanalyst 6.0

Berdasarkan analisis komponen utama (*Principal Component Analysis/PCA*) yang dilakukan terhadap data profil kromatografi lapis tipis (KLT), *loading plot* (Gambar X) digunakan untuk mengidentifikasi variabel atau nilai *Retention Factor* (Rf) yang memberikan kontribusi paling signifikan terhadap pemisahan sampel pada *scores plot*. Komponen Utama 1 (PC1) dan Komponen Utama 2 (PC2) mampu menangkap pola variabilitas data yang dihasilkan oleh profil metabolit seluruh sampel. Sebaran titik variabel pada *loading plot* menunjukkan bahwa tidak semua nilai Rf memiliki kontribusi yang setara dalam merepresentasikan keragaman kimia sampel, melainkan terdapat beberapa nilai Rf spesifik yang bertindak sebagai penciri utama atau kandidat kuat *biomarker*.

Pada dimensi PC1, variabel Rf 1 menunjukkan posisi yang paling ekstrem di ujung kanan plot dengan nilai *loading* yang mendekati 1.0, sementara variabel lainnya cenderung mengumpul di sekitar garis netral (nol). Hal ini mengindikasikan bahwa Rf 1 merupakan variabel pembeda paling dominan yang menyusun PC1, sehingga senyawa dengan nilai Rf tersebut dapat diklaim sebagai *biomarker* utama yang memisahkan kelompok sampel pada kuadran positif PC1.

Di sisi lain, pemisahan pada dimensi PC2 dikendalikan secara kontras oleh variabel Rf 9 dan Rf 3. Variabel Rf 9 memiliki nilai *loading* positif yang tinggi (sekitar 0.5), yang menunjukkan kontribusi kuatnya terhadap sampel-sampel yang berada di area atas *scores plot*. Sebaliknya, Rf 3 terletak pada area negatif ekstrem dengan nilai *loading* mencapai -0.8, menjadikannya sebagai *biomarker* negatif atau penciri khusus bagi kelompok sampel yang terpisah di bagian bawah *scores plot*. Kedekatan variabel lain seperti Rf 2, Rf 4, Rf 5, Rf 6, Rf 7, dan Rf 8 di sekitar pusat koordinat (nilai nol) menunjukkan bahwa fraksi atau senyawa-senyawa tersebut memiliki variabilitas yang rendah antar-sampel dan tidak bersifat diskriminatif.

Secara keseluruhan, hasil analisis *loading plot* ini berhasil memperkuat klaim bahwa Rf 1, Rf 3, dan Rf 9 merupakan metabolit kunci (*biomarker*) yang bertanggung jawab penuh atas perubahan atau perbedaan profil kimia di antara sampel yang diuji. meskipun variabel Rf 1, Rf 3, dan Rf 9 menunjukkan nilai *loading* yang ekstrem pada ujung-ujung komponen utama, keberadaan Rf 4 sebagai *biomarker* yang telah teridentifikasi secara signifikan pada analisis *heatmap* sebelumnya tetap didukung oleh model PCA ini. Pada *loading plot* (Gambar X), **Rf 4** berada pada area kuadran positif PC2 bersama dengan Rf 2 dan Rf 9.

Perbedaan visual ini terjadi karena *heatmap* bekerja berdasarkan klusterisasi intensitas absolut (kelimpahan) metabolit yang secara spesifik membedakan kelompok sampel tertentu secara *pari-passu*, sedangkan *loading plot* PCA mengukur kontribusi variabel terhadap total varians keseluruhan model geometris. Posisi Rf 4 yang berada di arah PC2 positif menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki kontribusi spesifik yang searah dengan Rf 9 dalam mencirikan sampel tertentu. Kombinasi dari kedua analisis ini—di mana *heatmap* menegaskan signifikansi diskriminatifnya pada level sampel dan PCA menunjukkan arah polaritas distribusinya pada PC2—secara kuat memvalidasi bahwa Rf 4 merupakan *biomarker* penting, khususnya dalam membedakan fraksi atau kelompok sampel yang terpisah di area atas *scores plot*.

Penelitian ini berfokus pada analisis metode ekstraksi daun kersen 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.

جُتُوبِهِمْ وَعَلَىٰ وَفُؤَادًا قِيَامًا اللَّهُ يَذْكُرُونَ الَّذِينَ الْأَلْبَابِ لِأُولَىٰ لآيَاتِ وَالنَّهَارِ اللَّيْلِ وَالْأَرْضِ السَّمَاوَاتِ خُلُقِ فِي نَّ
 النَّارِ عَذَابٍ قَبِيْلًا سُبْحَانَكَ بَاطِلًا هَذَا خَلَقْتَ مَا رَبَّنَا وَالْأَرْضِ السَّمَاوَاتِ خُلُقِ فِي وَيَتَفَكَّرُونَ

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.

Dalam **Tafsir Al-Misbah** karya **M. Quraish Shihab**, penjelasan mengenai Q.S. Ali 'Imran ayat 190-191 menekankan pada keserasian antara fungsi **akal (fikir)** dan **hati (zikir)**. M. Quraish Shihab menjelaskan bahwa ayat ini merupakan seruan bagi manusia untuk menjadi *Ulul Albab*—orang yang memiliki akal murni dan mendalam. Penjelasan lafadz dalam ayat tersebut, kata **الْأَلْبَابِ لِأُولَىٰ** 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 daun kersen (*Muntingia calabura* L.), yang awalnya tampak biasa, namun ternyata memiliki berbagai khasiat penting, seperti menurunkan kadar gula darah (Chekuri *et al.*, 2020), sifat antibakteri (Batubara *et al.*, 2016), antioksidan (Teklani dan Perera, 2016), antikanker (Amarnath *et al.*, 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. Pola *fingerprint* kromatogram KLT ekstrak daun (*Muntingia calabura* L.) pada variasi pelarut ekstraksi menunjukkan adanya perbedaan profil noda/bercak (berdasarkan hasil pengamatan di bawah UV 366 nm). Ekstrak etanol 70% memperlihatkan pemisahan yang kompleks dengan beberapa noda utama dan dominasi noda pada rentang *Rf* rendah hingga menengah, yang mengindikasikan adanya senyawa dengan kepolaran sedang–tinggi. Selain itu, variasi pelarut menghasilkan beberapa nilai *Rf* dengan rentang yang lebar, menandakan komposisi senyawa yang terekstraksi berbeda-beda sesuai polaritas pelarut.
2. Pengelompokan ekstrak dengan PCA menghasilkan bahwa kelompok ekstrak etanol dan etanol 70% memiliki profil sidik jari kimia yang hampir identik (ditunjukkan oleh posisi yang saling berhimpitan pada area koordinat/score plot PCA). Model PCA juga memberikan total variansi terjelaskan sebesar 77,1% untuk menggambarkan variasi data antar kelompok berdasarkan fingerprint KLT.
3. Validitas pemisahan kelompok ekstrak berdasarkan data *fingerprint* KLT diperkuat melalui integrasi analisis berbasis *fingerprint*, dimana pemetaan *heatmap* mengidentifikasi bahwa *Rf* 4 merupakan penciri spesifik (biomarker) utama untuk kelompok etanol, sedangkan nilai *Rf* lainnya berperan sebagai pembeda untuk kelompok ekstrak etil asetat, kloroform, dan n-heksana.

5.2 Saran

Untuk pengembangan penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan identifikasi lebih lanjut terhadap noda-noda penciri yang telah ditemukan menggunakan metode instrumen yang lebih sensitif seperti LC-MS atau GC-MS guna mengetahui struktur molekul senyawa aktif tersebut secara pasti. Selain itu, perlu dilakukan uji aktivitas biologis secara *in vitro* maupun *in vivo* pada masing-masing fraksi pelarut untuk mengkorelasikan profil metabolit yang terlihat pada *heatmap* dengan potensi farmakologisnya. Peneliti selanjutnya juga disarankan untuk mengeksplorasi variasi fase gerak lainnya guna meningkatkan resolusi pemisahan pada noda dengan nilai *Rf* yang berdekatan agar diperoleh data sidik jari kimia yang lebih mendetail.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiksana, A. et al. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi Bahan Alam. *Jurnal Rekayasa Proses*, 11(1), 12–18.
- Amarnath, S. et al. (2014). Anticancer potential of *Muntingia calabura* L. leaves against selected cancer cell lines. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(2), 324–330.
- Anissa. (2012). *Kajian Metabolomik Rimpang Kunyit Menggunakan Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa* (Skripsi tidak diterbitkan). Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.
- Aprianoro, B. et al. (2018). Analisis Citra Digital untuk Kuantifikasi Densitas Band Menggunakan Software ImageJ. *Jurnal Fisika Medik*, 3(2), 45–51.
- Arum, Y. P., Supartono, & Sudarmin. (2012). Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Unnes Chemical Journal*, 1(2), 26–33.
- Ayu Candraningsih, A., Ismiyati, I., Fithriyah, N. H., & Hendrawati, T. Y. (2022). Proses Pengeringan Dan Ekstraksi Ultrasonik Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Antioksidan Potensial. *Jurnal Teknologi*, 14(2), 247–254.
- Batubara, I. et al. (2016). Antibacterial activity of cherry leaves (*Muntingia calabura* L.) extract against dental caries-causing bacteria. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(3), 280–287.
- Blekherman, G. et al. (2011). Bioinformatic approaches in metabolomics. *Briefings in Bioinformatics*, 12(2), 122–136.
- Bro, R., & Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *Analytical Methods*, 6(9), 2812–2831.
- Buhian, W. P. et al. (2016). Phytochemical screening and biological activities of *Muntingia calabura* L. extracts using different solvents. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 5(4), 210–215.

- Chaudhari, S. et al. (2018). Thin-layer chromatography in phytochemistry: An overview of current trends. *Journal of Planar Chromatography*, 31(4), 255–266.
- Chekuri, S. et al. (2020). Antidiabetic and phytochemical evaluation of *Muntingia calabura* L. leaf extracts. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 1–11.
- Cintas, P. et al. (2005). Power ultrasound in organic synthesis: Moving from cavitation effects to synthetic applications. *Chemical Reviews*, 105(12), 4321–4346.
- Claudino, W. M. et al. (2007). Metabolomics: Available Results, Current Research Projects in Breast Cancer, and Future Applications. *Journal of Clinical Oncology*, 25(20), 2840–2846.
- Das, K. et al. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant extracts as antimicrobial agents: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12), 1181–1188.
- Day, R. A., & Underwood, A. L. (2002). *Analisis Kimia Kuantitatif* (Edisi Keenam). Jakarta: Erlangga.
- Do, Q. D. et al. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
- Dolatowski, Z. J. et al. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 15–29.
- Fadhila, N. (2016). *Pemisahan Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L.) Menggunakan Variasi Eluen KLT* (Skripsi tidak diterbitkan). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fariestha, G. A. K. (2018). *Fraksi Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen* (Skripsi tidak diterbitkan). Denpasar: Universitas Udayana.
- Fatimah, S., & Santoso, B. (2020). Karakteristik metabolit sekunder ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sebagai herbisida nabati. *Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 34–42.

- Fitrianti, S. A. (2011). *Diferensiasi Temulawak, Kunyit dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan ImageJ* (Skripsi tidak diterbitkan). Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J., Bobbitt, J. M., & Schwarting, A. E. (1991). *Pengantar Kromatografi* (Edisi Kedua). Bandung: Penerbit ITB.
- Gurning, K., Simanjuntak, H. A., Purba, H., Situmorang, R. F. R., Barus, L., & Silaban, S. (2021). Determination of Total Tannins and Antibacterial Activities Ethanol Extraction Seri (*Muntingia calabura* L.) Leaves. *Journal of Physics: Conference Series*, 1811, 012111, 1–5.
- Halim, H. (2019). Pemanfaatan Software ImageJ dalam Analisis Densitometri Band Hasil Elektroforesis Gel. *Jurnal Bioteknologi Laboratorium*, 4(1), 18–24.
- Handa, S. S. et al. (2008). *An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science and High Technology.
- Handayani, S., Kadir, A., & Masdiana. (2018). Profil Fitokimia dan Pemeriksaan Farmakognostik Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 246–252.
- Haq, M. A., Purnomo, W., & Setiawan, N. Y. (2023). Analisis Clustering Topik Survey menggunakan Algoritme K-Means (Studi Kasus: Kudata). *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*, 7(3), 1201–1208.
- Hendayana, S. (2006). *Kimia Pemisahan: Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & Vernanda, V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 55–63.
- Ilkafah. (2018). Efektivitas Salep Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Tikus Putih. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah*, 3(1), 45–52.

- Ince, A. E. et al. (2013). Comparison of microwave and ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from plant materials. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 482–488.
- Isnarianti, R., Wahyudi, I. A., & Puspita, R. M. (2013). *Muntingia calabura* L. Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(3), 59–63.
- Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: A review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 374(2065), 20150202.
- Kartini, Dewi, E. R., Ahmad, F., Jayani, N. I. E., Hidayat, M. A., & Avanti, C. (2020). Thin Layer Chromatography Fingerprint and Clustering of *Orthosiphon stamineus* Benth. From Different Origin. *Pharmacon J*, 12(1), 18–26.
- Khopkar, S. M. (2010). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press.
- Kuldiloke, J. (2002). *Effect of Ultrasound, Microwave and Conventional Heating on Phytochemical Components of Selected Fruits and Vegetables* (Doctoral dissertation). Technical University of Berlin, Berlin.
- Kumar, S. et al. (2021). Extraction solvents choice for phytochemical profiling and antioxidant activities of tropical medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1–14.
- Kuo, W. H. et al. (2014). Flavonoids from *Muntingia calabura* L. and their anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*, 145, 847–853.
- Kurnia, D. (2020). Tanaman Kersen: Adaptabilitas, Morfologi, dan Potensi Farmakologis. *Jurnal Biologi Tropis*, 8(2), 112–119.
- Kurniawan, A. et al. (2011). Aplikasi Citra Digital Menggunakan Java dan ImageJ dalam Analisis Kualitatif Laboratorium. *Jurnal Informatika Modern*, 5(2), 77–83.
- Lee, S. et al. (2019). Solvent system optimization for thin-layer chromatography fingerprinting of herbal extracts. *Journal of Chromatographic Science*, 57(6), 512–520.

- Lestari, P. et al. (2012). Pengaruh Radiasi Gelombang Ultrasonik terhadap Laju Reaksi Kimia Larutan Organik. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15(3), 94–99.
- Manokari, M., & Shekhawat, M. S. (2019). Volatile compounds profiling of *Muntingia calabura* L. leaves using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(4), 1012–1020.
- Markham, K. R. (1998). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Muchtaromah, B., Wahyudi, D., Ahmad, M., & Annisa, R. (2020). Nanoparticle characterization of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* as a basic of nanotechnology on Jamu Subur Kandungan Madura. *Pharmacognosy Journal*, 12(5), 1152–1159.
- Mulita, R., & Tanggasari, D. (2024). Komparasi Metode Pengeringan Oven dan Sinar Matahari Langsung terhadap Kadar Air dan Mutu Simplisia Daun Herbal. *Jurnal Teknologi Pangan*, 8(1), 44–51.
- Onkar, P., Bangar, J., & Karodi, R. (2012). Evaluation of Antioxidant Activity of Traditional Formulation Giloy satva and Hydroalcoholic Extract of The *Curculigo orchioides* Gaertn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 209–213.
- Peter, M. et al. (2020). Phytochemical screening and biological activity of *Muntingia calabura* leaves: A review. *International Journal of Botany Studies*, 5(3), 154–161.
- Peshkovsky, A. S. et al. (2013). Scalable industrial-scale ultrasonic processing of liquids. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 245–251.
- Poole, C. F. (2012). *Thin-Layer Chromatography: A Useful Tool for the Separation of Plant Metabolites*. Amsterdam: Elsevier.
- Pramono, S., & Setiawan, B. (2021). Pengaruh Suhu Pengeringan Oven terhadap Perubahan Fisikokimia Tepung Umbi-Umbian. *Jurnal Agroindustri*, 11(2), 89–97.
- Pratiwi, D. et al. (2013). Aplikasi Principal Component Analysis (PCA) untuk Reduksi Dimensi Variabel Penilaian Kinerja Karyawan. *Jurnal Statistika Unair*, 2(1), 12–19.

- Pratiwi, L., Fudholi, A., & Martien, R. (2018). Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Menggunakan Variasi Ukuran Partikel dan Pelarut. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 7(4), 233–241.
- Pribadi, E. R. (2009). Pasokan dan Permintaan Tanaman Obat Indonesia serta Arah Penelitian dan Pengembangannya. *Perspektif*, 8(1), 52–64.
- Putri, A., & Fatmawati, D. (2019). Kajian Morfologi dan Klasifikasi Pohon Kersen (*Muntingia calabura* L.) di Area Urban. *Jurnal Sains Hayati*, 4(1), 22–29.
- Quiroz, F. et al. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from native plants at low temperatures. *Industrial Crops and Products*, 134, 110–118.
- Reddy, N. et al. (2020). Ultrasonic extraction parameters for flavonoids recovery from plant matrices: A review. *Separation and Purification Technology*, 251, 117325.
- Reich, E., & Schibli, A. (2006). *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York: Thieme Medical Publishers.
- Rohman, A. (2014). *Kemometrika dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rohman, A. et al. (2021). The deployment of chemometrics in combination with chromatography for authentication of herbal medicines. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12(4), 332–339.
- Sadli, M. et al. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Klinis*, 2(3), 101–108.
- Sari, N., & Prasetyo, E. (2019). Optimasi Suhu dan Waktu Pengeringan Simplisia Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Menggunakan Cabinet Dryer. *Jurnal Keteknikaan Pertanian*, 7(2), 145–152.
- Sasidharan, S. et al. (2011). Extraction, isolation and phytochemical screening of bioactive compounds from plant extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.

- Setyantoro, A. et al. (2022). Efek Kepolaran Variasi Pelarut Organik pada Ekstraksi Metabolit Sekunder Daun Muntingia. *Jurnal Kimia Terapan*, 9(2), 88–95.
- Sherma, J. (2013). Review of thin-layer chromatography in pesticide analysis: 2010–2012. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36(19), 2715–2737.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* (Volume 2, Cetakan I). Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. (2020). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* (Volume 11, Cetakan Baru). Jakarta: Lentera Hati.
- Siddiqua, A. et al. (2010). Antioxidant, antidiabetic, and antitumor activities of *Muntingia calabura* L. leaves. *Indian Journal of Pharmacology*, 42(4), 220–224.
- Singh, R. (2012). Ethnomedicinal applications and pharmacological profile of *Muntingia calabura* L.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(3), 599–606.
- Sudjadi. (1988). *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sudrajat, D. et al. (2020). KLT-Fingerprint Analysis: Sebuah Pendekatan Komprehensif dalam Penentuan Autentisitas Obat Bahan Alam. *Jurnal Fitofarmaka Nasional*, 7(2), 74–81.
- Supriyanto, & Wulandari, S. (2020). Pengaruh Degradasi Klorofil terhadap Mutu Visual Pengeringan Sayuran Daun. *Jurnal Pascapanen*, 17(1), 15–23.
- Teklani, H., & Perera, B. (2016). In vitro antioxidant activities of different fractions of *Muntingia calabura* leaf extract. *International Journal of Phytomedicine*, 8(2), 241–248.
- Tjitrosoepomo, G. (1991). *Taksonomi Tumbuhan: Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Turrini, F. et al. (2018). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from plant matrices: Mini eco-solvent consumption. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11(4), 450–459.

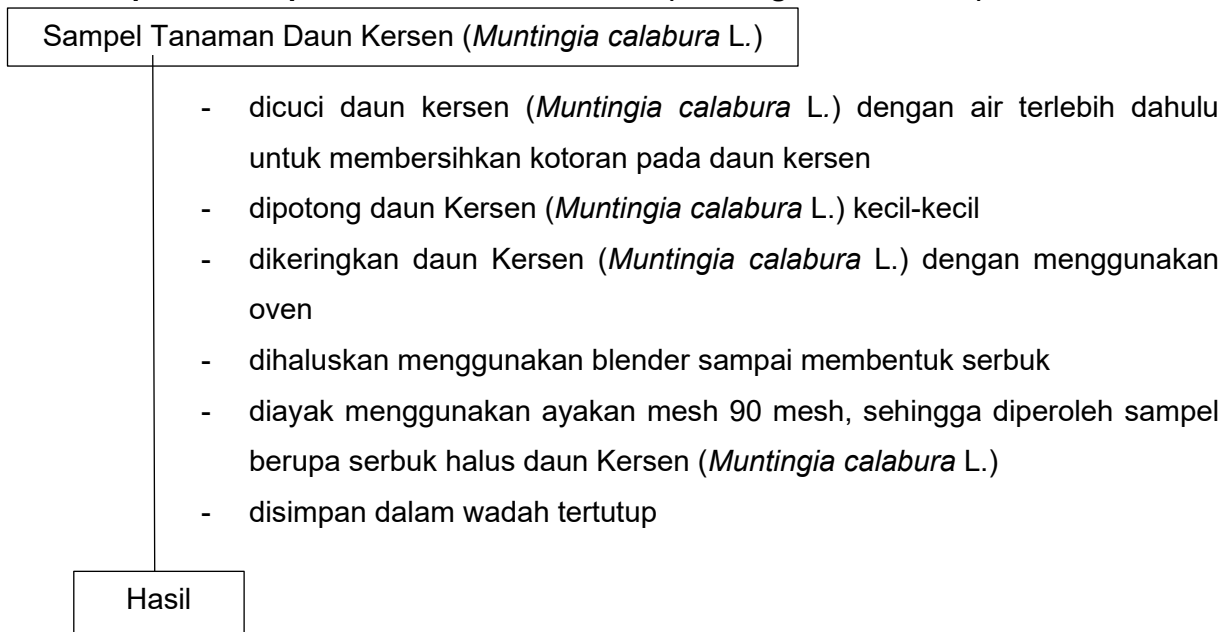
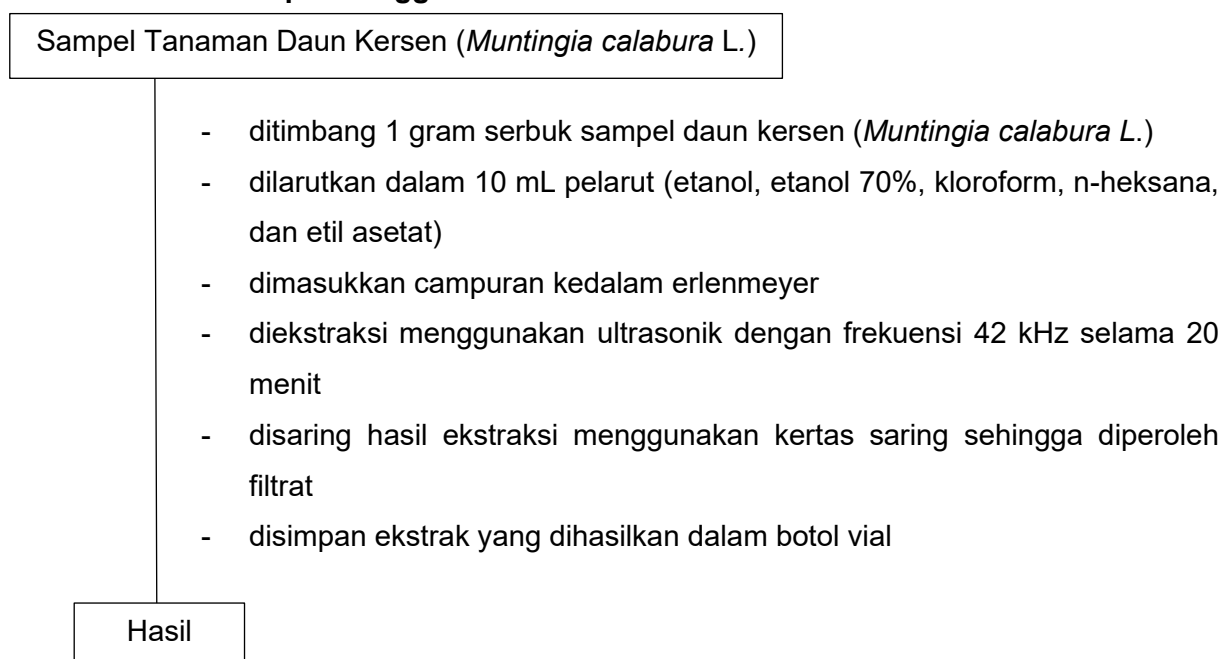
- Vermaak, I., Hamman, J. H., & Viljoen, A. M. (2010). High-performance thin-layer chromatography as a method to authenticate *Hoodia gordonii* raw material and products. *South African Journal of Botany*, 76(1), 119–124.
- Vonna, A., Desiyana, L. S., Hafsyari, R., & Illian, D. N. (2021). Analisis Fitokimia dan Karakterisasi dari Ekstraksi Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Bioseluler*, 5(1), 8–12.
- Warsito, H. (2018). *Metabolomik Pangan: Teori, Analisis Sidik Jari dan Profiling*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Wassil, B. (1955). *Introduction to Chemical Engineering Extraction Process*. New York: McGraw-Hill.
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik: Pengaruh Waktu dan Suhu. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3), 121–126.
- Widjaya, S., Bodhi, W., & Yudistira, A. (2019). Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan, Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Cersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmacon*, 8(2), 315–323. doi:10.35799/pha.8.2019.29297.
- Widyastuti, R., & Setyowati, H. (2021). Pengaruh Metode Pengeringan Oven dan Angin terhadap Kadar Air dan Kandungan Flavonoid Total Simplisia Herbal. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 160–167.
- Winangsih, et al. (2013). Pengaruh Langkah Pengeringan Terhadap Mutu dan Stabilitas Kandungan Flavonoid pada Simplisia Daun Kedewatan. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(1), 56–62.
- Wisnuwijaya, R. (2017). *Prinsip Dasar Instrumentasi Ultrasonikasi dan Penerapannya di Laboratorium Kimia*. Jakarta: UI Press.
- Wolfender, J. L. et al. (2014). Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. *Journal of Chromatography A*, 1362, 53–64.

- Yasa, I. W. S. et al. (2019). Efek konsentrasi pelarut etanol pada yield dan kadar polifenol ekstrak bahan alam. *Jurnal Kimia dan Pendidikan*, 4(2), 102–110.
- Zahro, F. (2011). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Berfluoresensi pada Ekstrak Metanol Tumbuhan Obat* (Skripsi tidak diterbitkan). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Zhao, L., Chaoyu, H., Zhen, S., Bingren, X., & Linghua, M. (2005). Fingerprint Analysis of *Psoralea corylifolia* L. By HPLC and LC-MS. *Journal of Chromatography B*, 821(1), 62–64.
- Zhao, Y. Y., & Lin, R. C. (2014). UPLC-MS application in disease biomarker discovery: The discovery in proteomics to metabolics. *Chemico-Biological Interactions*, 215, 7–16.
- Zhao, Z. et al. (2018). Multi-component chemical fingerprinting of herbal medicines using thin-layer chromatography: A review. *Phytochemical Analysis*, 29(4), 321–333.
- Zhu, Z. et al. (2016). Effects of ultrasound-assisted extraction on the yield and antioxidant activity of polyphenols from plant matrices. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 411–418.
- Widjaya, S., Bodhi, W. dan Yudistira, A. (2019) “Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan, Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura*L.) Dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT),” *Pharmacon*, 8(2), hal. 315. doi: 10.35799/pha.8.2019.29297.
- Zhao, L., Chaoyu, H., Zhen, S., Bingren, X., Linghua, M. 2005. Fingerprint Analysis of *Psoralea Corylifolia* L. By HPLC and LC-MS. *Journal of Chromatography*, 821: 62-64.
- Zhao, Y. Y. and Lin, R. C. 2014. UPLC-MS application in disease biomarker discovery: The discovery in proteomics to metabolics. *ChemicoBiological Interactions*, Elsevier. Volume 215: 7-16.

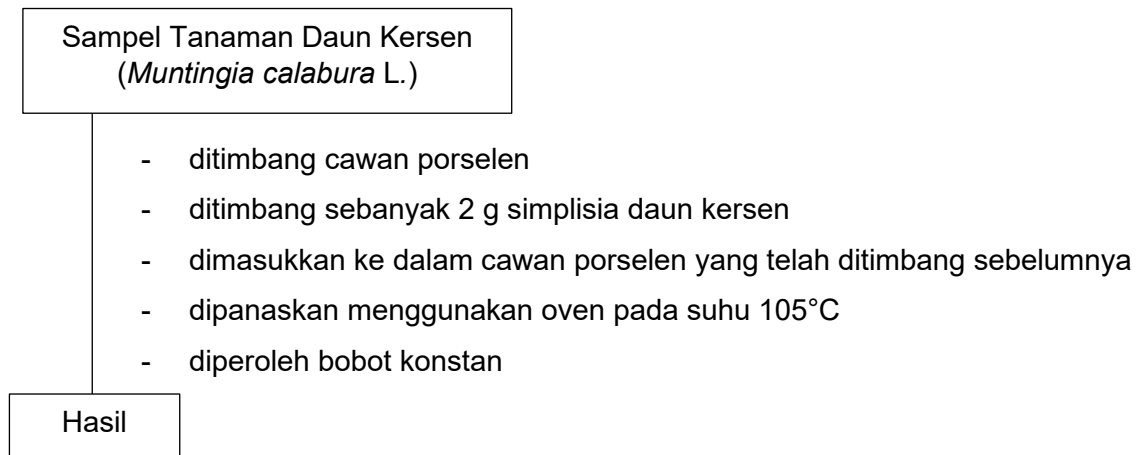
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian



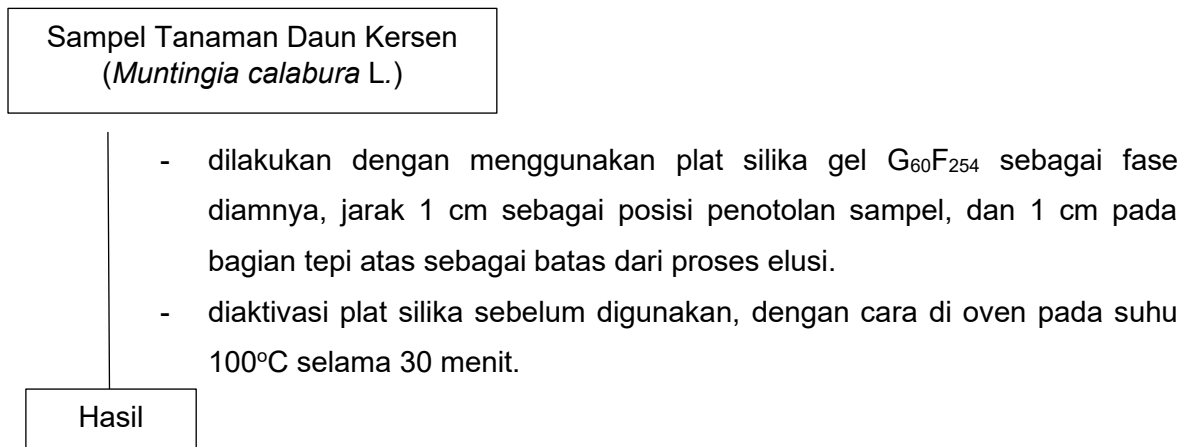
Lampiran 2 Diagram Alir**L.2.1 Preparasi Sampel Tanaman Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)****L.2.2 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Metode Sonikasi**

L.2.3 Pengujian Kadar Air Simplisia

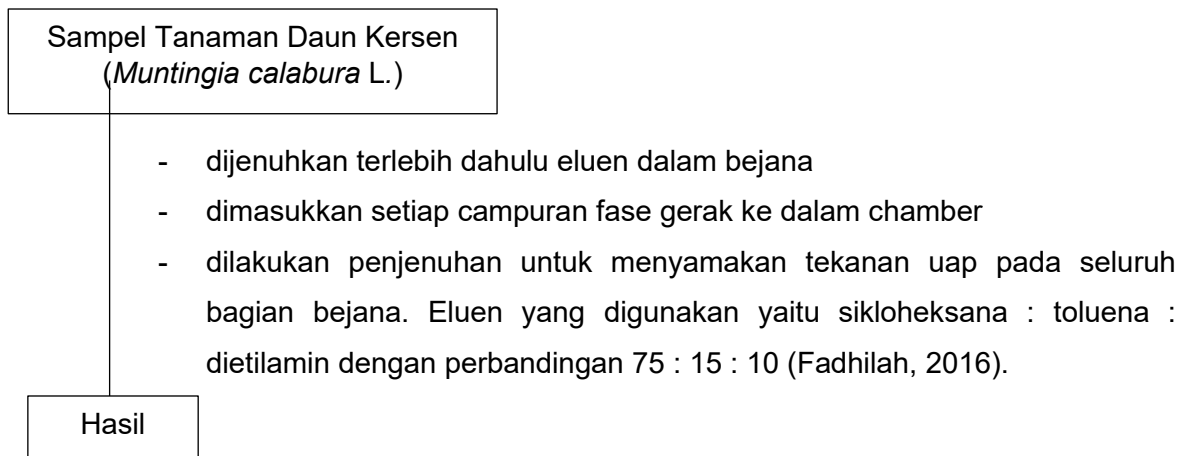


L.2.4 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan KLT

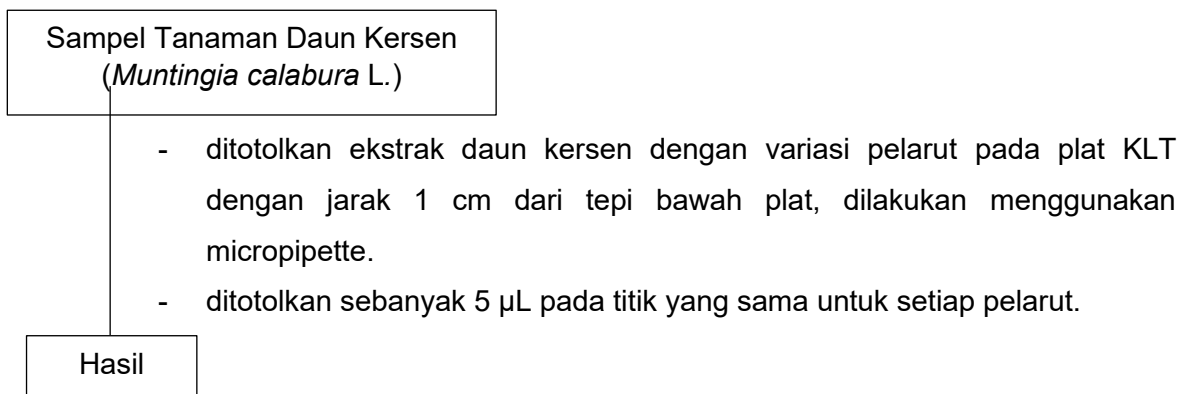
L.2.4.1 Persiapan Plat KLT



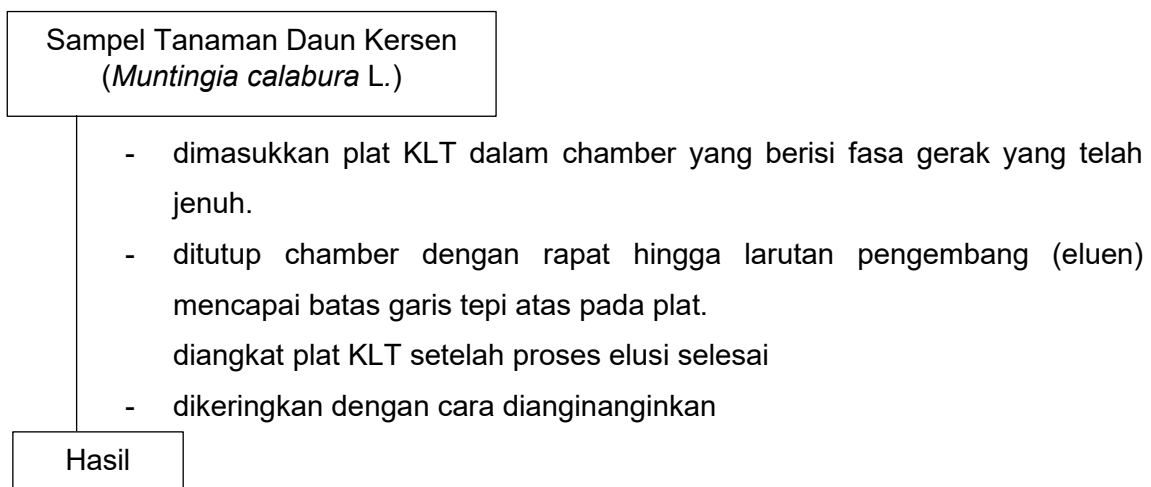
L.2.4.2 Persiapan Fase Gerak



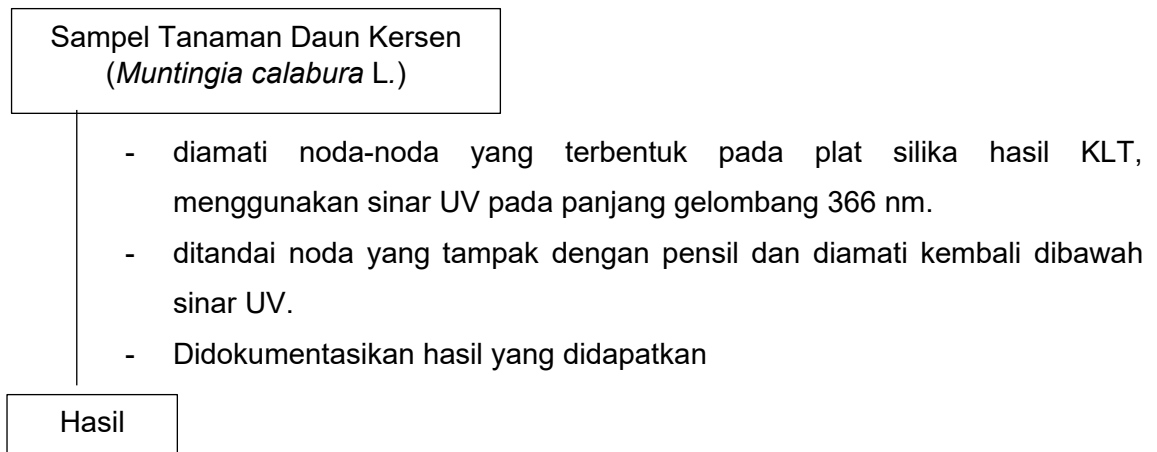
L.2.4.3 Penotolan Sampel



L.2.4.4 Proses Elusi



L.2.4.5 Identifikasi Noda



L.2.5 Analisis Menggunakan *ImageJ*

Sampel Tanaman Daun Kersen
(*Muntingia calabura* L.)

- diolah hasil KLT yang berupa file (JPEG/PNG) menggunakan *software* *imageJ*
- diolah dengan menekan "*File*", "*Open*" dan dipilih gambar yang diinginkan
- ditandai gambar plat KLT dalam bentuk kotak penanda yang disediakan oleh *ImageJ* penandaan yang disamakan pada semua pola sidik jari merupakan tahap preprocessing, cara penandaannya dengan digunakan icon berbentuk kotak (Rectangular)
- dipilih menu "*Analyze*", "*Gels*", dan "*Select first line*" atau dipilih "*Select next line*" untuk pita berikutnya jika pita yang akan diolah lebih dari satu.
- dipilih kembali menu "*Analyze*", "*Gels*", dan "*Plot lane*", yang akan menampilkan kromatogram dari masing-masing gambar pita KLT sesuai intensitas warna yang diberikan
- dibuat baseline menggunakan icon berbentuk garis "*Straight*"
- ditekan icon berbentuk tongkat "*Wand tool*" pada daerah puncak tersebut, sehingga akan dihasilkan nilai AUC yang diinginkan secara otomatis
- dilakukan proses *smoothing* dengan memilih menu "*process-smooth*" atau menekan "*Ctrl-Shift-S*" pada gambar mentah plat KLT untuk memperhalus bentuk densitogram yang di hasilkan

Hasil

Lampiran 3 Perhitungan

L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol 70%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$96\% \times V_1 = 70\% \times 200 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{70\% \times 200 \text{ mL}}{96\%}$$

$$V_1 = 145,84 \text{ mL}$$

Pembuatan larutannya adalah dipipet 40 mL aquades dalam labu ukur 200 mL. Kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 145,84 mL secara perlahan dan ditandabatkan.

L.3.2 Perhitungan Rf KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

L.3.2.1 Etanol 70%

- Pengulangan 1

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{2,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,337 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 4} = \frac{5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,625 \text{ cm}$$

- Pengulangan 2

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,237 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,375 \text{ cm}$$

- Pengulangan 3

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

- Pengulangan 4

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 \text{ cm}$$

- Pengulangan 5

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,2 \text{ cm}$$

- Pengulangan 6

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,212 \text{ cm}$$

L.3.2.2 Etanol 99%

- Pengulangan 1

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,312 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 3} = \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,512 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 4} = \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,712 \text{ cm}$$

- Pengulangan 2

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \text{ cm}$$

- Pengulangan 3

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,375 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 3} = \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,487 \text{ cm}$$

- Pengulangan 4

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{0,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,1 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

- Pengulangan 5

$$R_f \text{ Noda 1} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,225 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{2,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,3 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 3} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \text{ cm}$$

- Pengulangan 6

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

L.3.2.3 N-Heksana

- Pengulangan 1

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,062 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{1,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,137 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,762 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 4} = \frac{7,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,987 \text{ cm}$$

- Pengulangan 2

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,875 \text{ cm}$$

- Pengulangan 3

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,087 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,887 \text{ cm}$$

- Pengulangan 4

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 13} = \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,875 \text{ cm}$$

- Pengulangan 5

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,062 \text{ cm}$$

- Pengulangan 6

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \text{ cm}$$

L.3.2.4 Etil Asetat

- Pengulangan 1

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,312 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,512 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 4} = \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,712 \text{ cm}$$

- Pengulangan 2

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \text{ cm}$$

- Pengulangan 3

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,375 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,487 \text{ cm}$$

- Pengulangan 4

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{0,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,1 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm}$$

- Pengulangan 5

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,225 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 2} = \frac{2,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,3 \text{ cm}$$

$$\text{Rf Noda 3} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \text{ cm}$$

- Pengulangan 6

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

L.3.2.5 Kloroform

- Pengulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Rf Noda 1} &= \frac{0,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,112 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 2} &= \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 3} &= \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 4} &= \frac{7,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,987 \text{ cm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 2

$$\begin{aligned} \text{Rf Noda 1} &= \frac{0,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,1 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 2} &= \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,187 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 3} &= \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,312 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,937 \text{ cm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 3

$$\begin{aligned} \text{Rf Noda 1} &= \frac{0,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,1 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 2} &= \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,2 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 3} &= \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,312 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,937 \text{ cm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 4

$$\begin{aligned} \text{Rf Noda 1} &= \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 2} &= \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,2 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 3} &= \frac{2,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,325 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,937 \text{ cm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 5

$$\begin{aligned} \text{Rf Noda 1} &= \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 2} &= \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,2 \text{ cm} \\ \text{Rf Noda 3} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,937 \text{ cm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 6

$$\text{Rf Noda 1} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,125 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 2} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 \text{ cm}$$

$$R_f \text{ Noda 3} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,937 \text{ cm}$$

Pelarut	Nilai Rf (cm)			
	Noda 1	Noda 2	Noda 3	Noda 4
Etanol 70% 1	0,15	0,25	0,337	-
Etanol 70% 2	0,237	0,375	-	-
Etanol 70% 3	0,125	-	-	-
Etanol 70% 4	0,25	-	-	-
Etanol 70% 5	0,2	-	-	-
Etanol 70% 6	0,212	-	-	-
Etanol 99% 1	0,187	0,312	0,512	0,712
Etanol 99% 2	0,187	0,5	-	-
Etanol 99% 3	0,187	0,375	0,487	-
Etanol 99% 4	0,1	0,187	-	-
Etanol 99% 5	0,225	0,3	0,5	-
Etanol 99% 6	0,125	-	-	-
N-Heksana 1	0,062	0,137	0,762	0,987
N-Heksana 2	0,125	0,75	0,875	-
N-Heksana 3	0,087	0,887	-	-
N-Heksana 4	0,125	0,75	0,875	-
N-Heksana 5	0,062	-	-	-
N-Heksana 6	0,9	-	-	-
Etil Asetat 1	0,187	0,312	0,512	0,712
Etil Asetat 2	0,187	0,5	-	-
Etil Asetat 3	0,187	0,375	0,487	-
Etil Asetat 4	0,1	0,187	-	-

Etil Asetat 5	0,225	0,3	0,5	-
Etil Asetat 6	0,125	-	-	-
Kloroform 1	0,112	0,187	0,25	0,987
Kloroform 2	0,1	0,187	0,312	0,937
Kloroform 3	0,1	0,2	0,312	0,937
Kloroform 4	0,125	0,2	0,325	0,937
Kloroform 5	0,125	0,2	0,937	-
Kloroform 6	0,125	0,25	0,937	-
Rata-Rata	0,1748	0,3509	0,5575	0,8887
Standar Deviasi	0.146608	0,207279	0.240824	0.121621

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

4.1 preparasi sampel



Dikeringkan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dan kemudian di haluskan dan di saring dengan ayakan 90 mesh

4.2 ekstraksi dan ultrasonik



Ditimbang serbuk *Muntingia calabura* L. sebanyak 1 mg



Ditambahkan pelarut sebanyak 10 mL Pada botol yang berisi serbuk *Muntingia calabura* L.



Dilakukan ultrasonic serbuk + pelarut menggunakan waterbath selama 20 menit



Dilakukan penyaringan

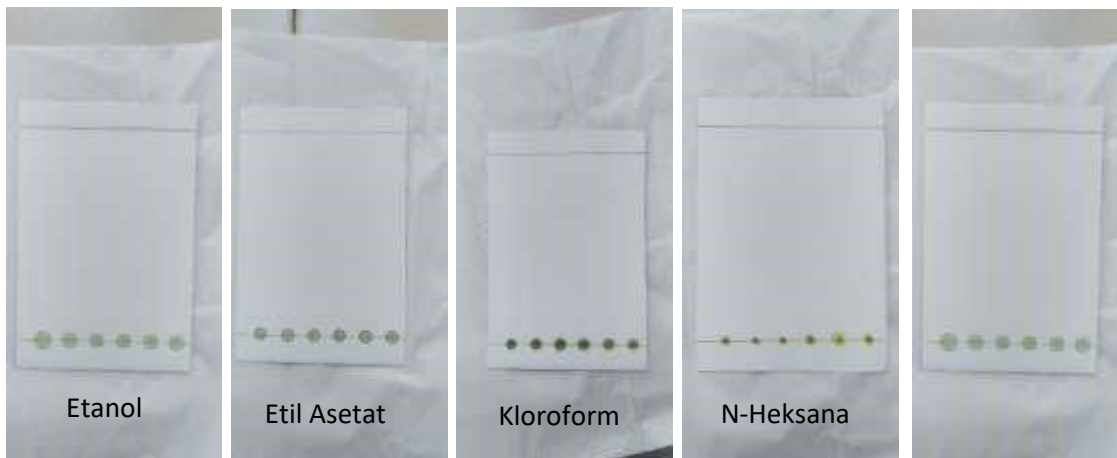


Filtrat ekstrak pelarut etanol 70%, etanol, etil asetat, kloroform, dan N-heksana.

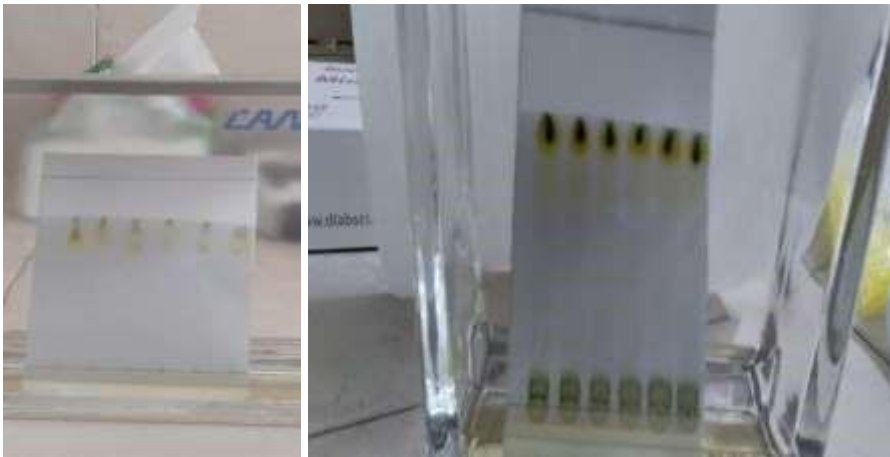
4.3 Analisis profil senyawa daun kersen menggunakan KLT



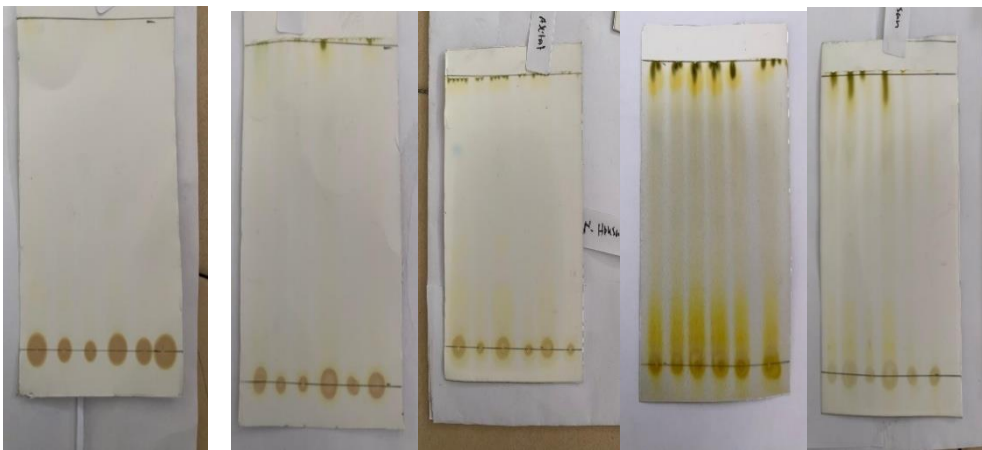
Disiapkan plat KLT



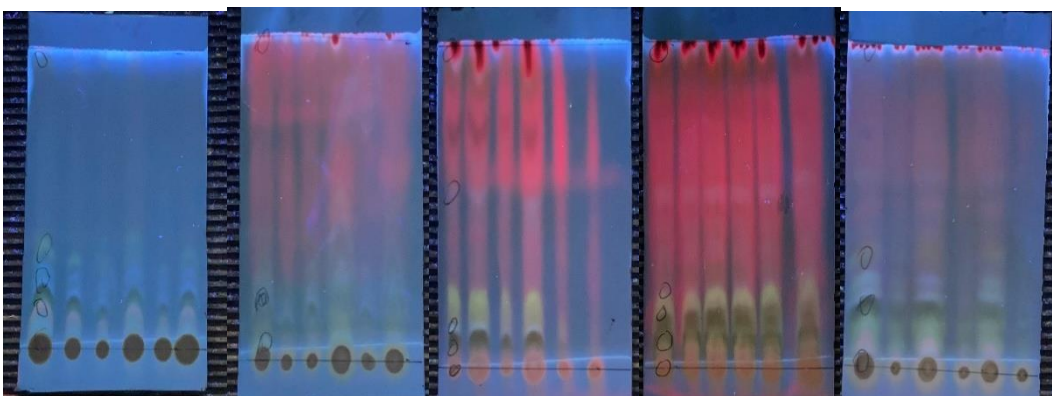
Ditotolkan ekstrak pelarut pada plat KLT



Dielusi selama 30 menit



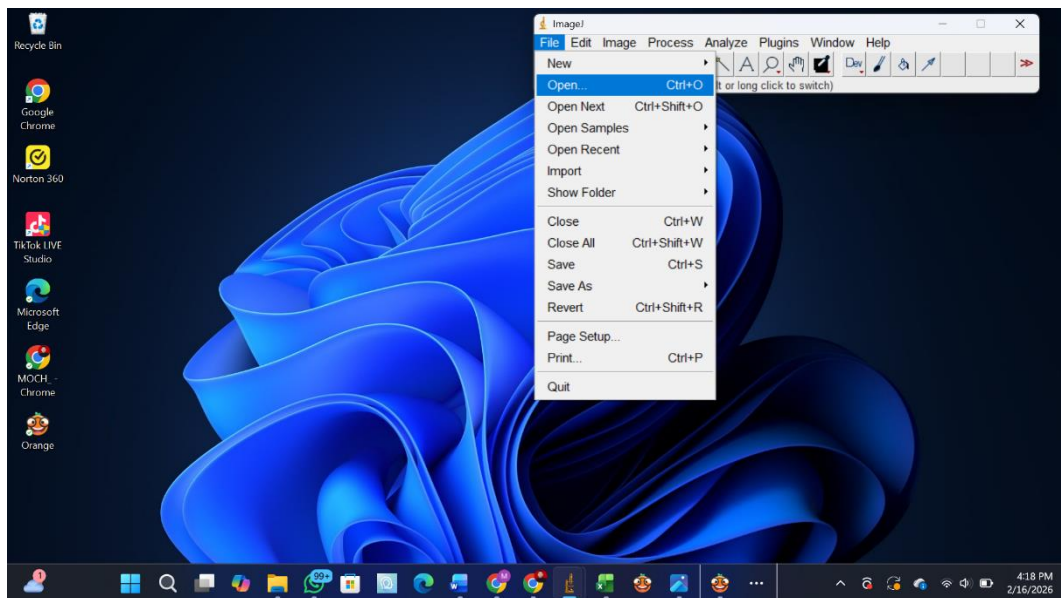
Diangkat plat KLT dari elusi dan dikeringkan



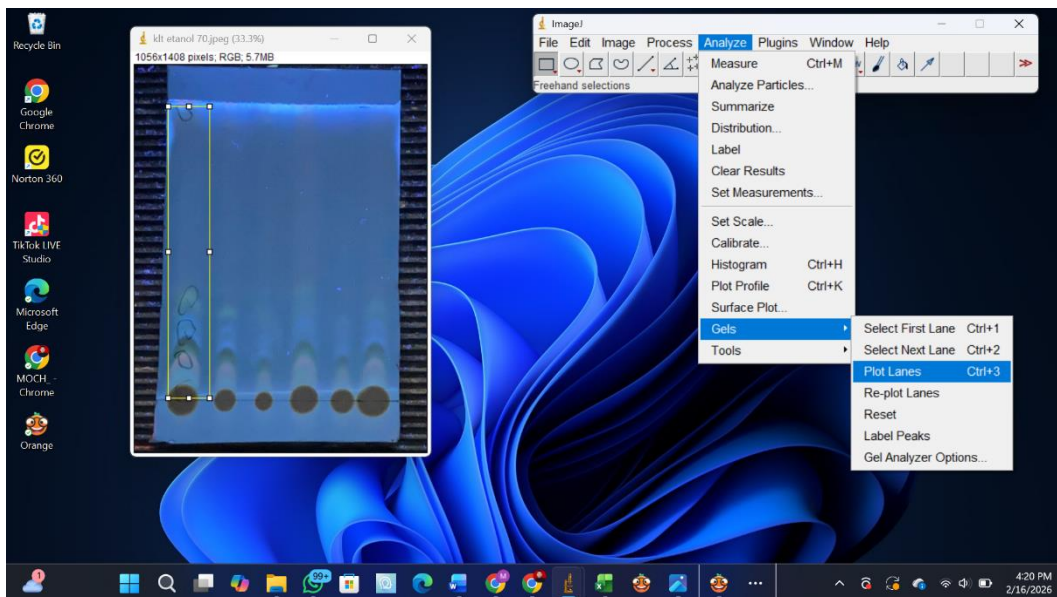
Disinari plat KLT dan dihitung noda san ditandai

4.4 Analisis menggunakan ImageJ dan Orange data mining 4.0

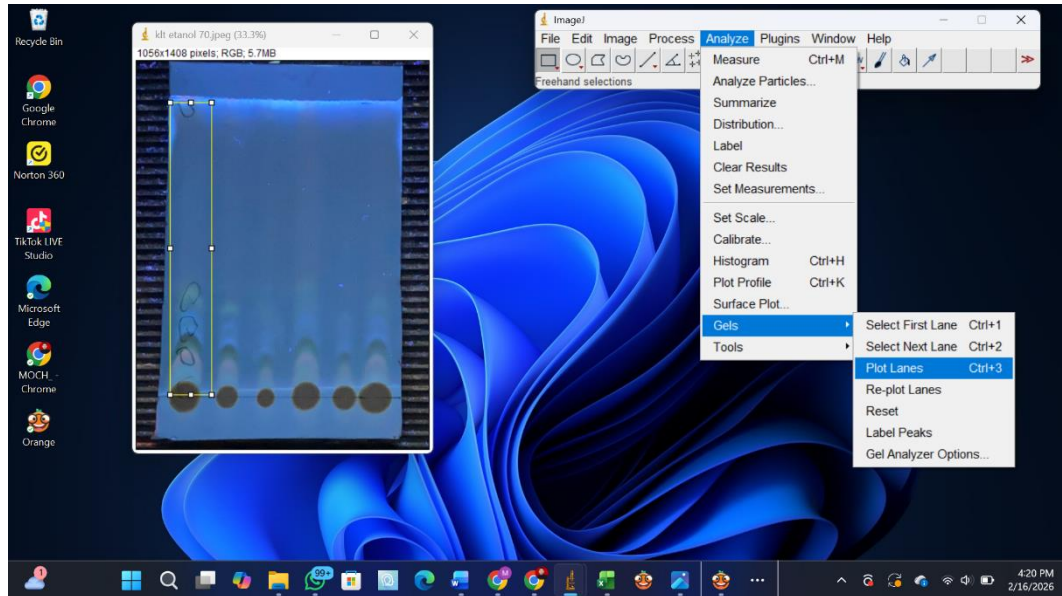
- a. Buka *Software Image J*, klik “File”, “Open” kemudian Pilih dokumen gambar yang diinginkan dan klik “open”



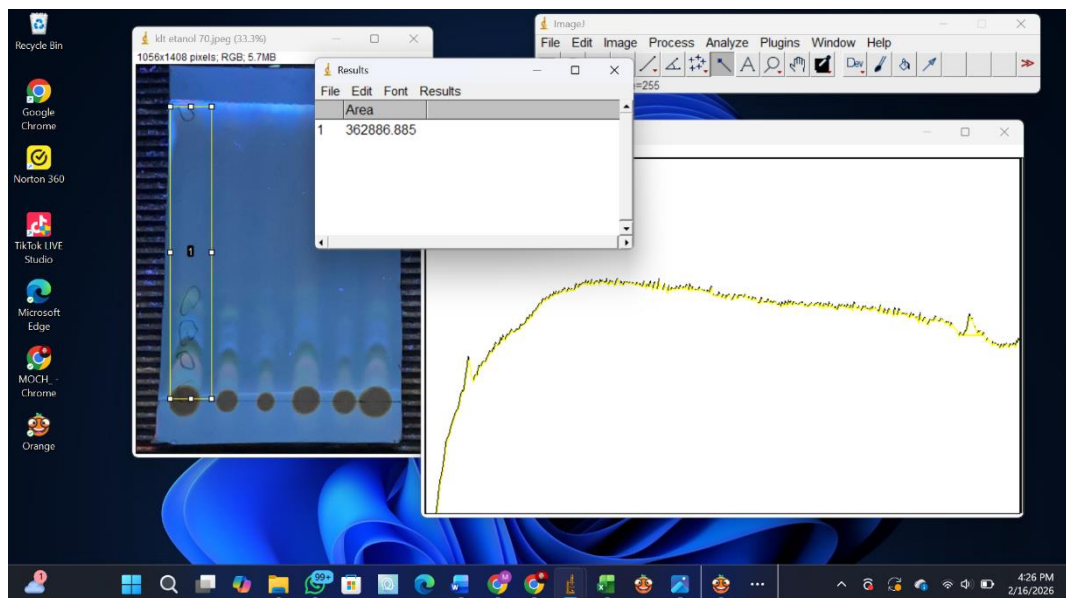
- b. Pilih icon kotak “Rectangular” dan sesuaikan dengan pita yang akan diolah



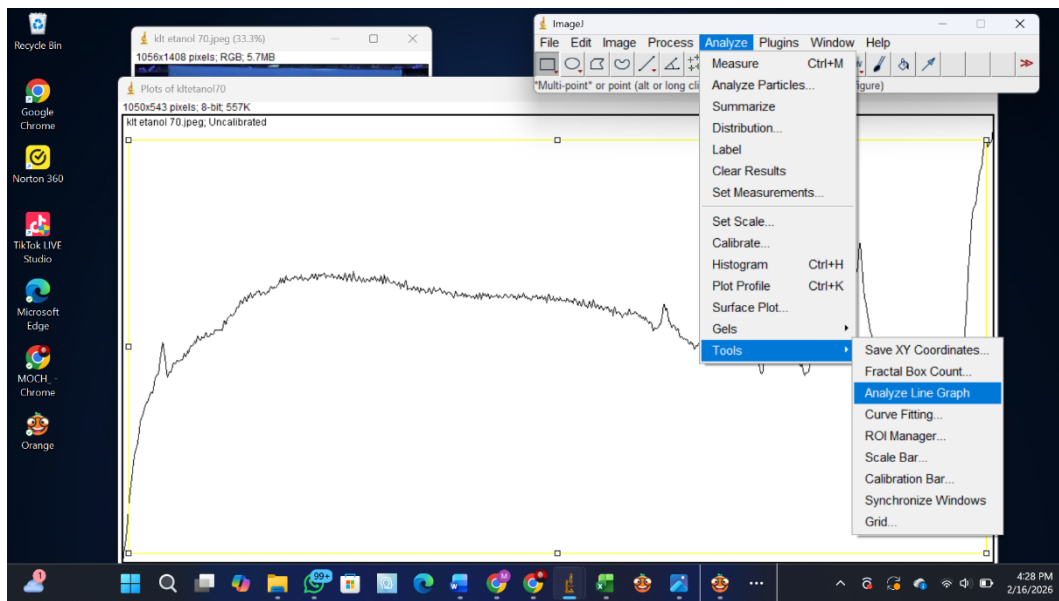
- c. Pilih icon kotak “Rectangular” dan sesuaikan dengan pita yang akan diolah Pilih “Analyze”, “Gels”, dan “Select first lane” selanjutnya Pilih “Analyze”, “Gels” dan “Plot lanes”



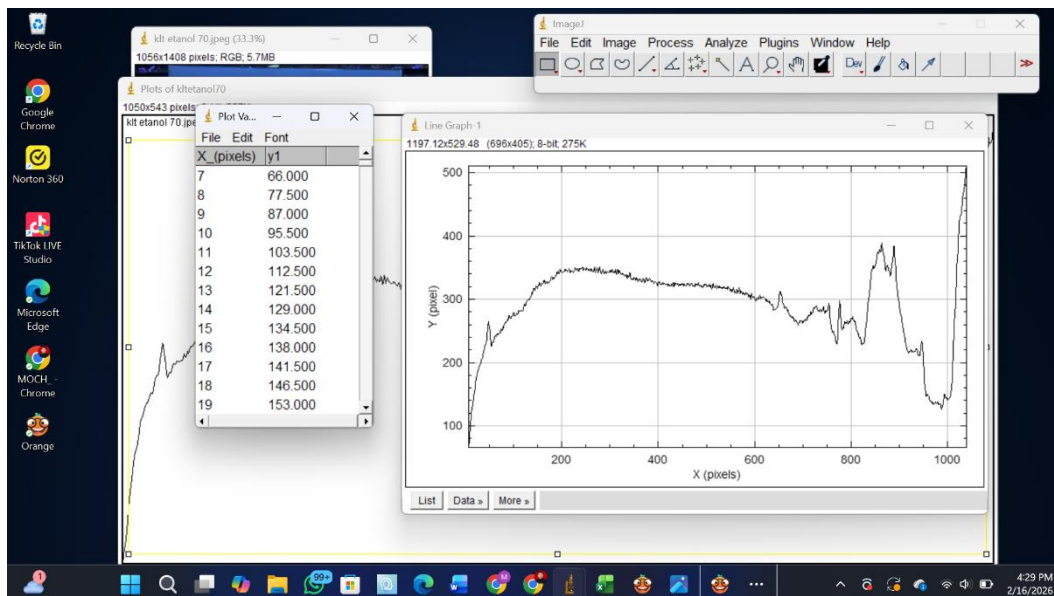
- d. Buat *Baseline* menggunakan icon berbentuk garis “*Straight*” kemudian menekan icon berbentuk tongkat “*Wand tool*” pada daerah puncak tersebut



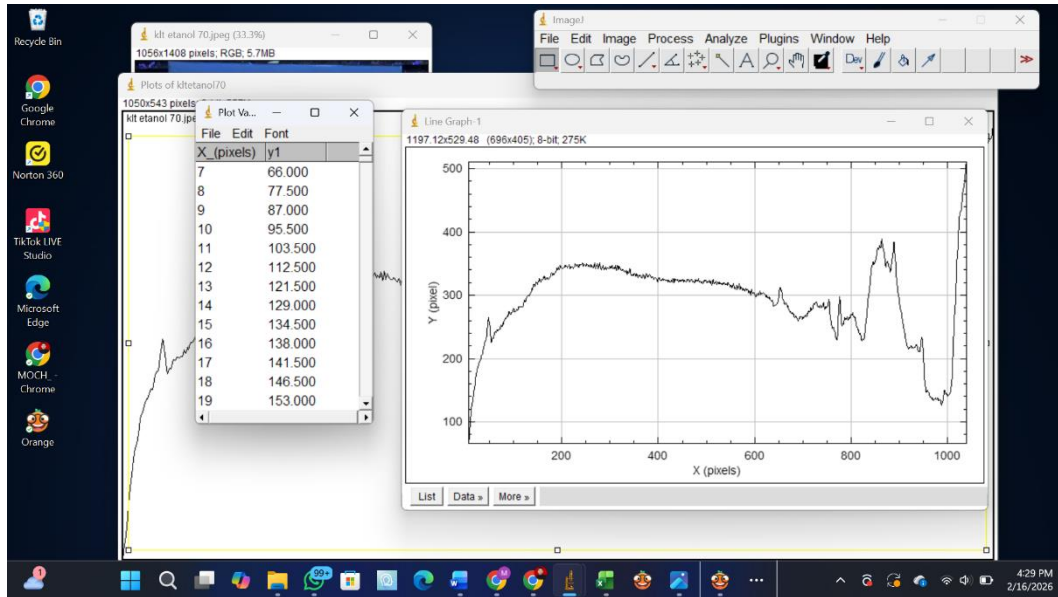
- e. Pindahkan nilai AUC (*Area Under Curve*) ke file Microsoft Excel dan Ulangi step a sampai dengan step e



- f. Blok seluruh densitogram dengan menggunakan icon “*Reactangular*” Klik “*Analyze*”, “*Tools*”, dan “*Analyze line graph*”



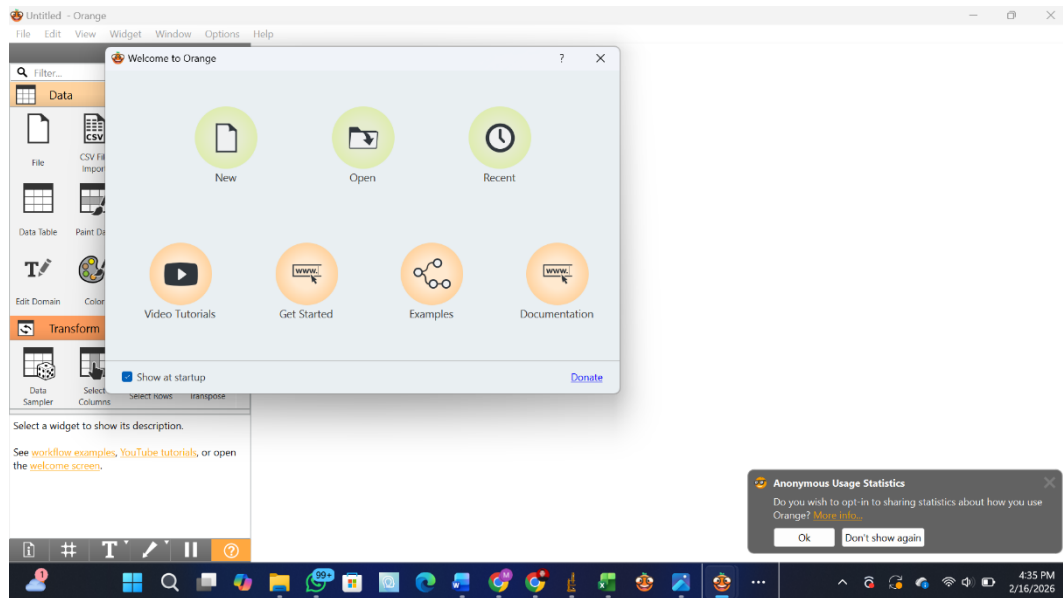
g. Klik “List” dan didapatkan nilai AU (Area Under)



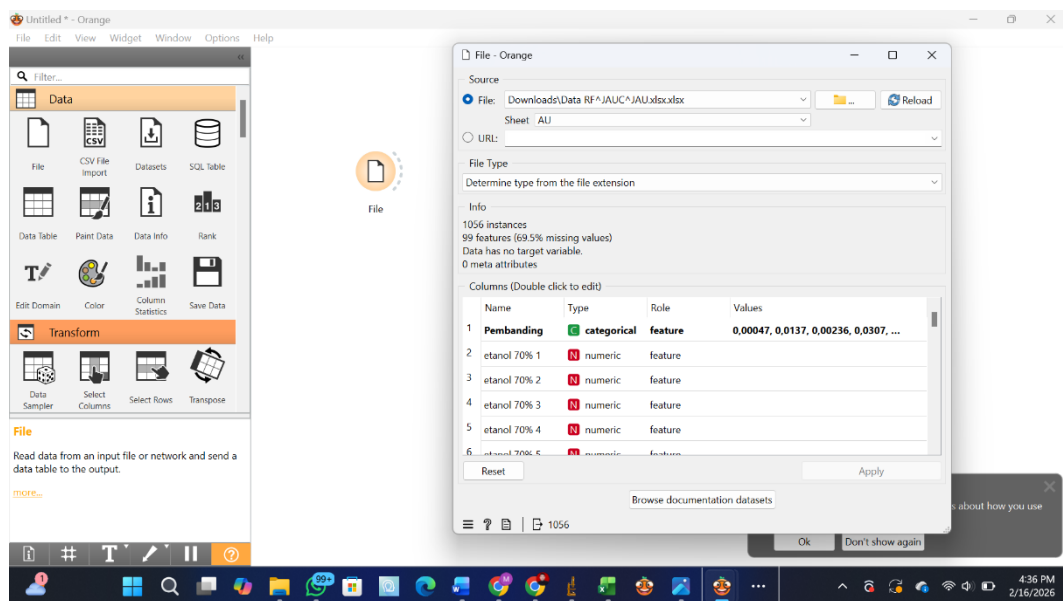
h. Pindahkan nilai AU (Area Under) ke dalam Microsoft Office

The screenshot shows a Microsoft Excel spreadsheet with a large table of data. The table has 26 columns and 26 rows of data. The columns are labeled with dates and times, and the rows contain numerical values. The data is organized into a grid that spans the entire visible area of the spreadsheet.

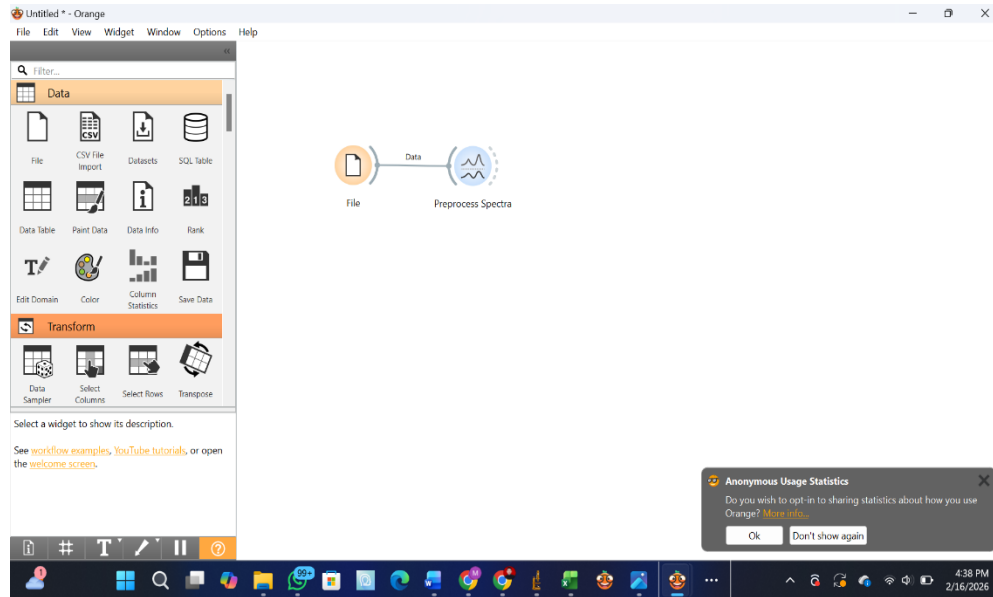
i. Buka software Orange data mining 4.0



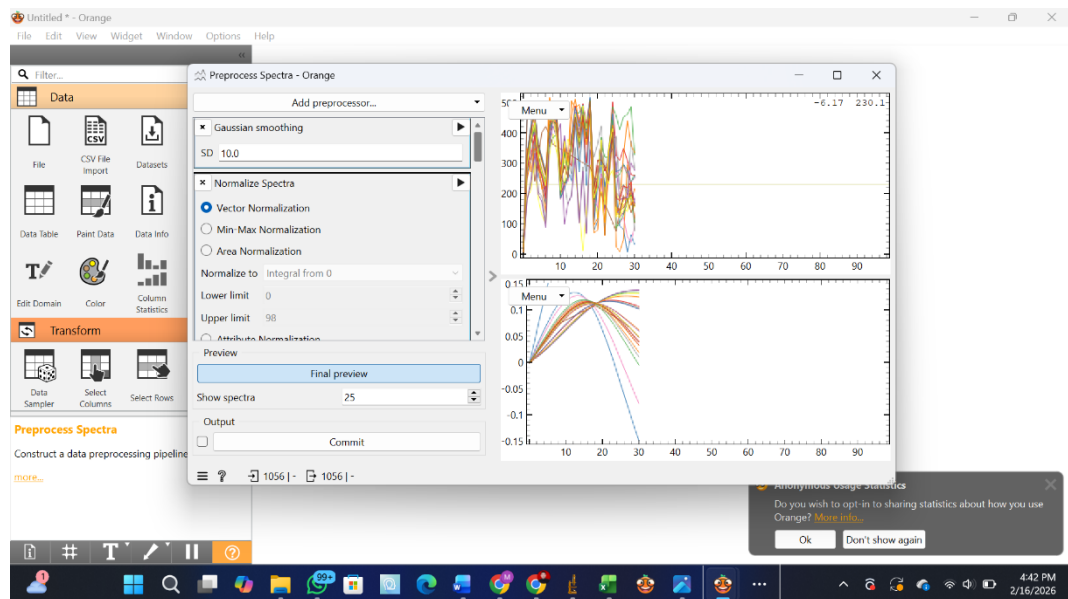
j. Pilih icon “File”, klik dua kali dan pilih file berbentuk Microsoft Excel yang berisi nilai AU untuk diolah datanya



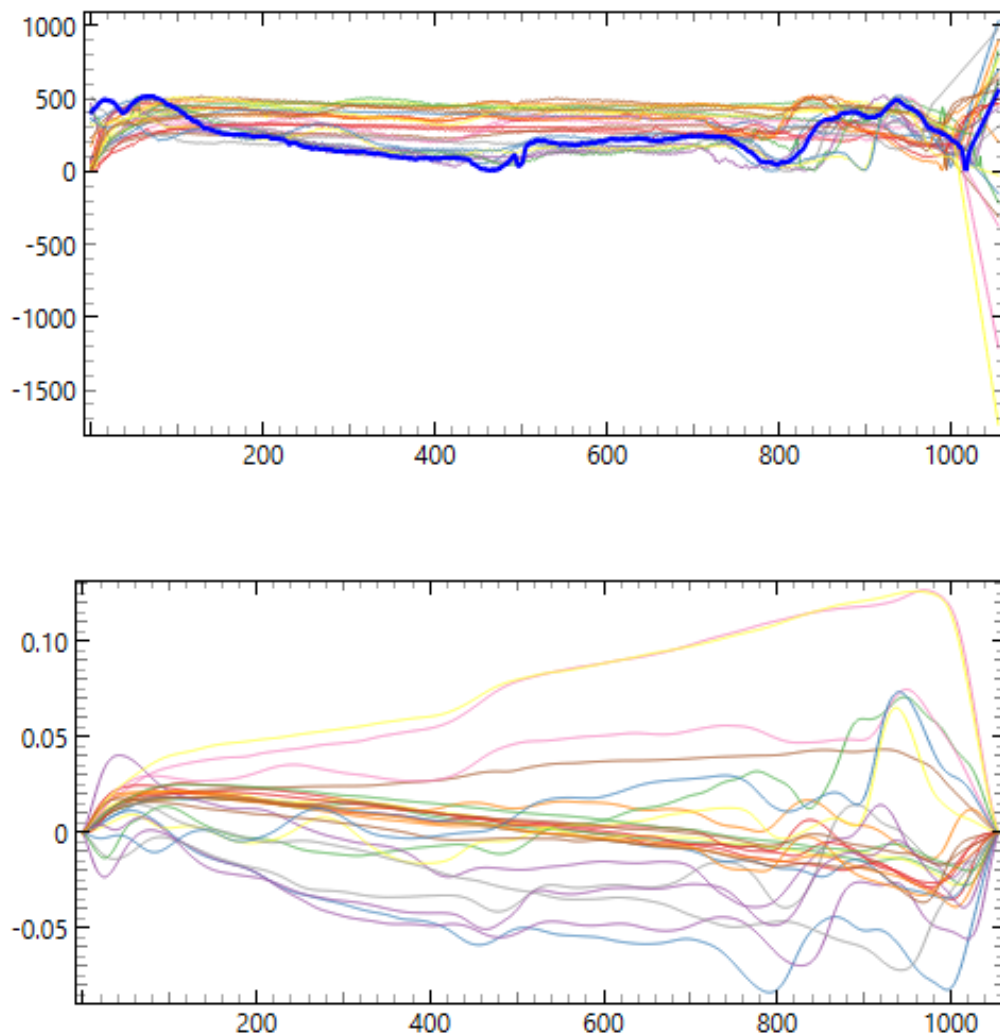
k. Tarik widget “File” dan pilih “Preprocess Spectra”



l. Klik “Add preprocessor”, “Gaussian smoothing”, “Normalize spectra”, and klik “Baseline correction”

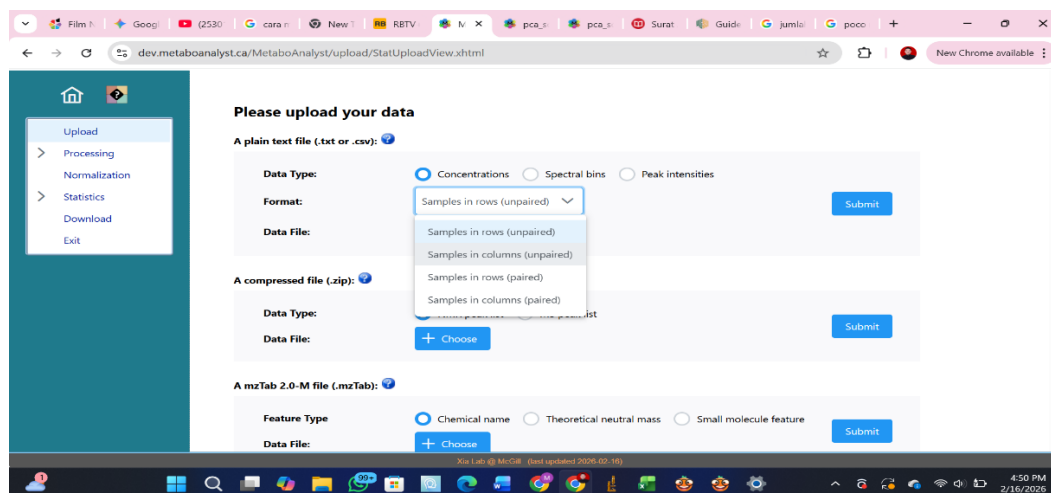


m. didapatkan hasil grafik sebelum dan sesudah preprocessing

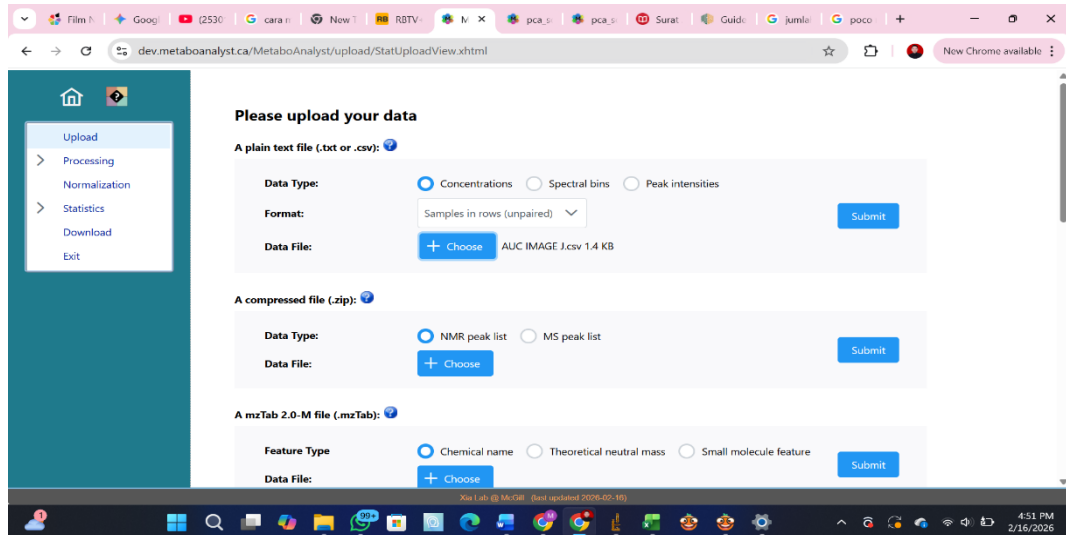


4.5 Analisis menggunakan PCA dengan *software MetaboAnalyst 6.0*

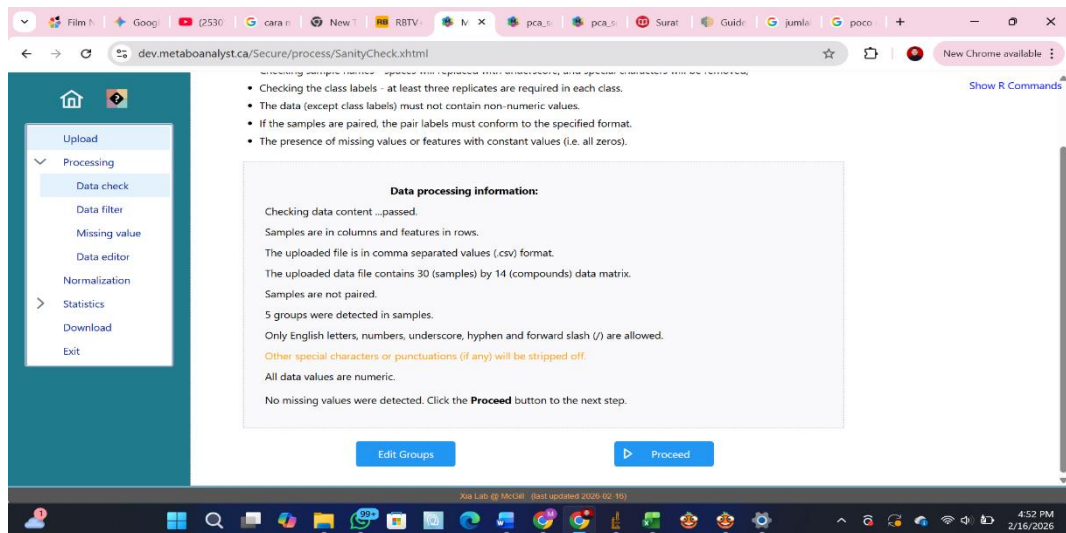
a. Buka aplikasi di web google



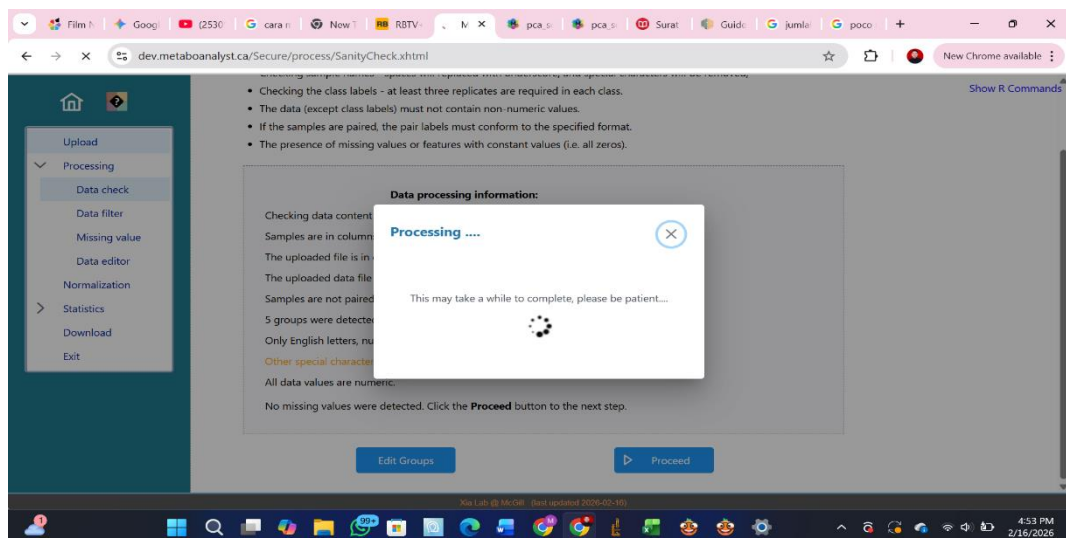
b. Klik pada “Format”, pilih “Samples in columns (unpaired)”



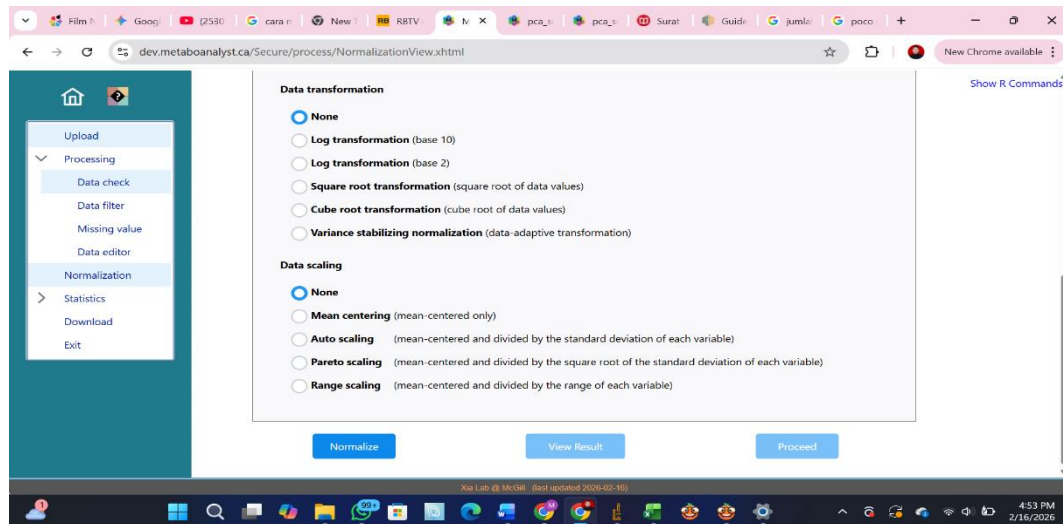
c. Klik “Choose”, pilih file excel data AUC, lalu klik “Submit”



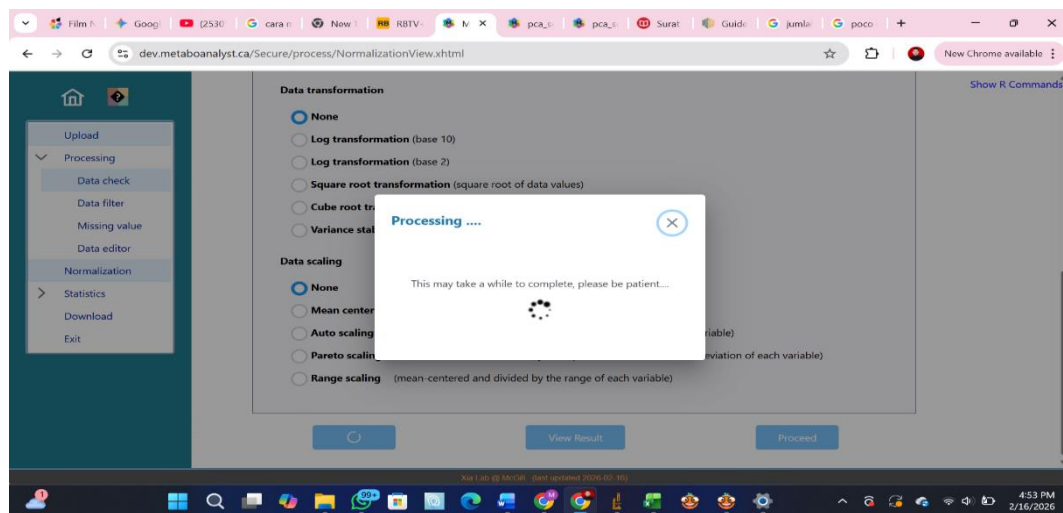
d. Klik “proceed”



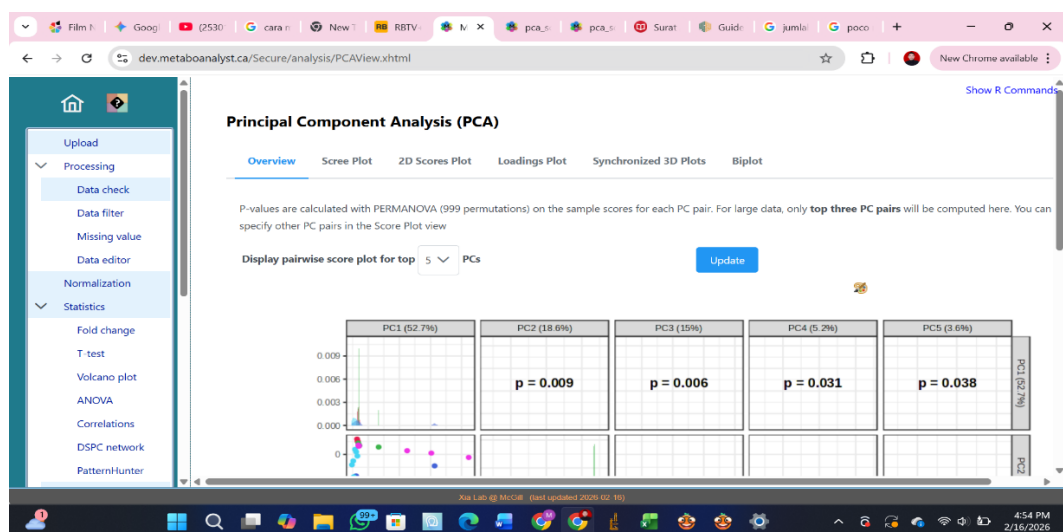
e. Klik “Normalize”



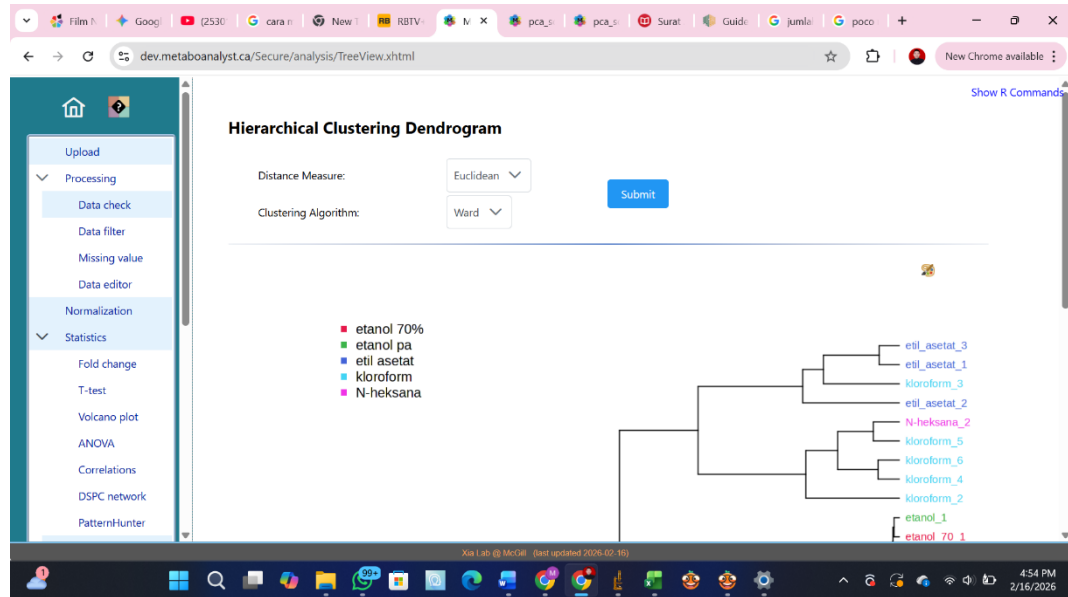
f. Klik “proceed”



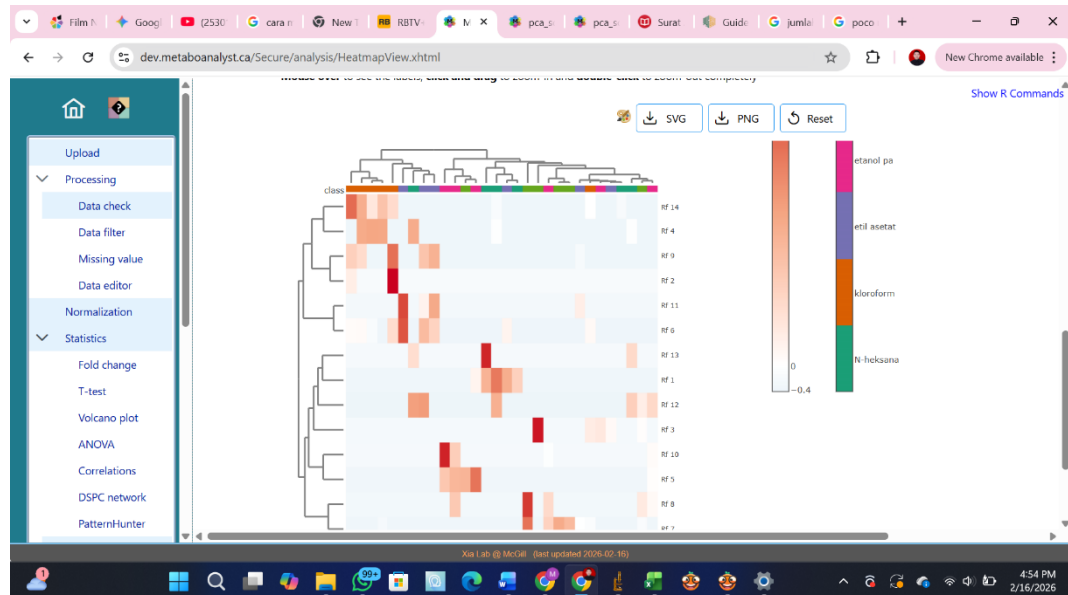
g. Didapatkan data “Scree plot”, “Loading plot”, “Synchronized 3D plots”, dan “Biplot”



h. Didapatkan data grafik dendrogram

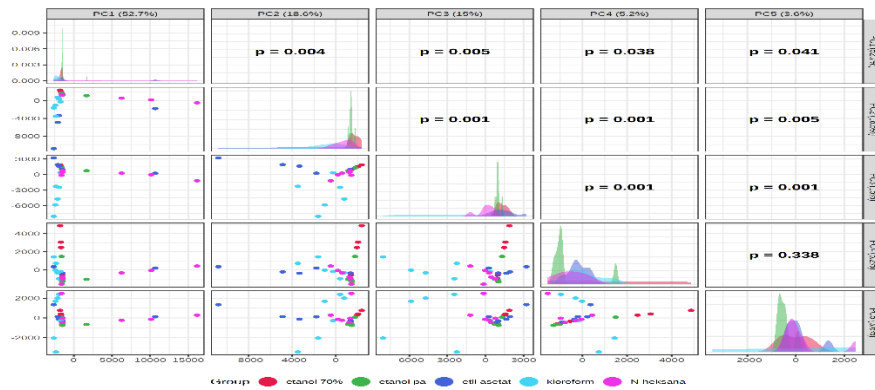


i. Didapatkan data grafik heatmap

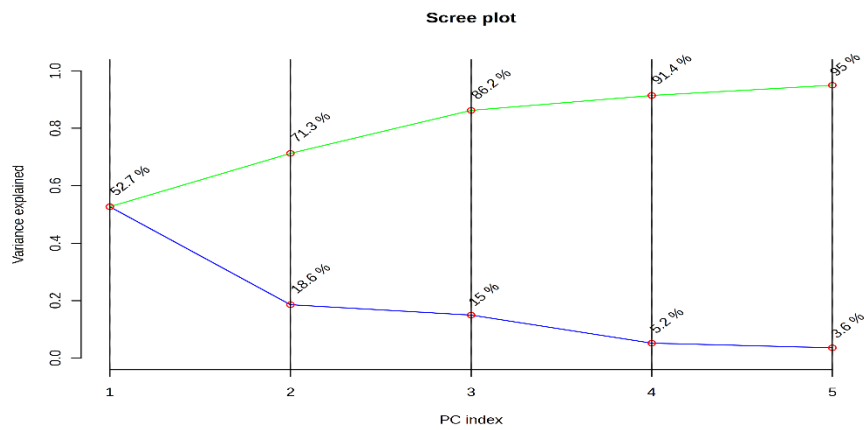


Lampiran 5. Hasil Analisis PCA

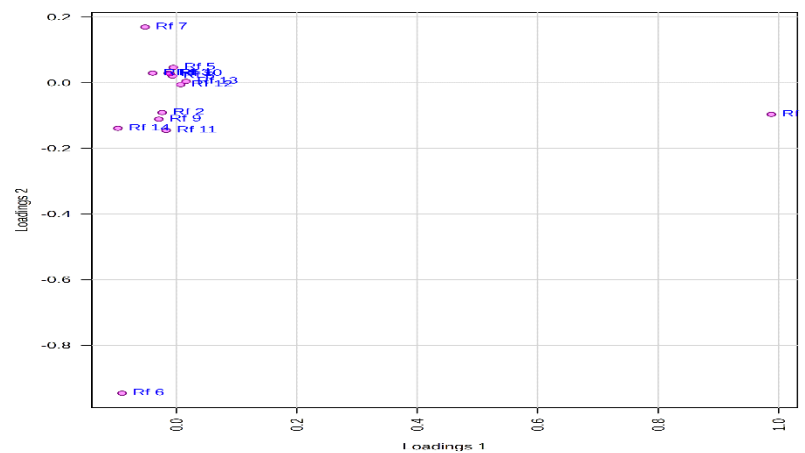
1. Overview



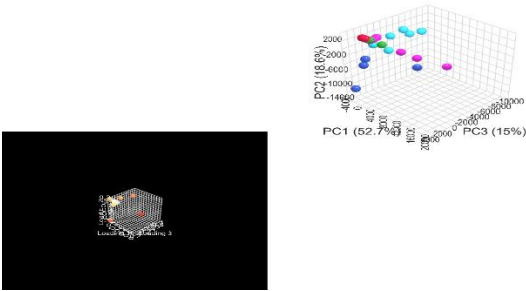
2. Screenplot



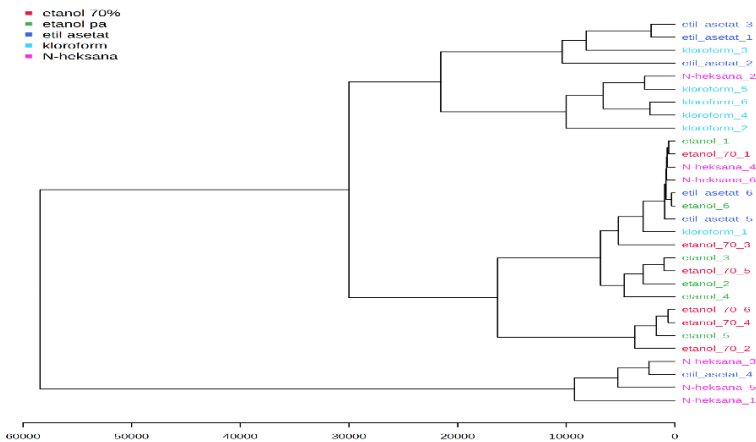
3. Loading plots



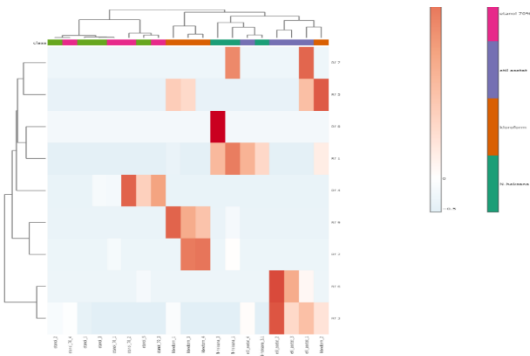
4. Synchronized 3D Plots



5. Dendrogram



6. Heatmap



Lampiran 6. Rancangan Anggaran Penelitian

Nama / NIM	Moch. Nurul Ilmy / 200603110078
Nama Dosen Pembimbing	Dr. Elok Kamilah Hayati, M.Si
Judul Skripsi	Analisis Kemometrik Berbasis KLT Ekstrak Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>) dengan Variasi Pelarut

Rancangan Anggaran Penelitian

No	Uraian	Merk	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah	Sumber Dana	Tempat Pembelian
1	Etanol	Merck	200 mL	65.000	130.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
2	Etanol 70%	Merck	200 mL	70.000	140.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
3	Kloroform	Merck	200 mL	75.000	150.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
4	n-Heksana	Merck	200 mL	75.000	150.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
5	Etil Asetat	Merck	200 mL	65.000	130.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
6	Aquades	-	10 ltr	2.000	20.000	Mandiri	Panadia Laboratorium
7	Kertas Saring	Whatman	10 Buah	7.000	70.000	Mandiri	Nurra Gemilang
8	Plat Silika gel G ₆₀ F ₂₅₄	-	1 Buah	135.000	135.000	Mandiri	Nurra Gemilang
Total					925.000		

Lampiran 7. Bukti Konsultasi Skripsi

