

SKRIPSI

PERBANDINGAN PROFIL KIMIA EKSTRAK DAUN DAN BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L) YANG DIANALISIS MENGUNAKAN HPTLC DENGAN PENDEKATAN *PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS* (PCA)

COMPARISON OF CHEMICAL PROFILE OF MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L) LEAVES AND MENGGUDU FRUIT ANALYSED USING HPTLC BY PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) APPROACH

Disusun dan diajukan oleh

TAUFIK KHOERUN
N111 15 341



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR
2021**

**PERBANDINGAN PROFIL KIMIA EKSTRAK DAUN DAN BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIANALISIS
MENGUNAKAN HPTLC DENGAN PENDEKATAN PRINCIPAL
COMPONENT ANALYSIS (PCA)**

**COMPARISON OF CHEMICAL PROFILE OF MENGKUDU (*Morinda
citrifolia* L.) LEAVES AND MENGKUDU FRUIT ANALYSED USING
HPTLC BY PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA)**

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**TAUFIK KHOERUN
N111 15 341**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

PERBANDINGAN PROFIL KIMIA EKSTRAK DAUN DAN BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIANALISIS
MENGUNAKAN HPTLC DENGAN PENDEKATAN PRINCIPAL
COMPONEN ANALYSIS (PCA)


TAUFIK KHOERUN

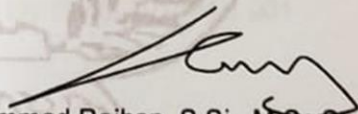
N111 15 341

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada tanggal 20 Agustus 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI
PERBANDINGAN PROFIL KIMIA EKSTRAK DAUN DAN BUAH
MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L) YANG DIANALISIS
MENGGUNAKAN HPTLC DENGAN PENDEKATAN *PRINCIPAL*
***COMPONENT ANALYSIS* (PCA)**

COMPARISON OF CHEMICAL PROFILE OF MENGGUDU
(*Morinda citrifolia* L) LEAVES AND MENGGUDU FRUIT ANALYSED
USING HPTLC BY *PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS* (PCA)
APPROACH

Disusun dan diajukan oleh:


TAUFIK KHOERUN
N111 15 341

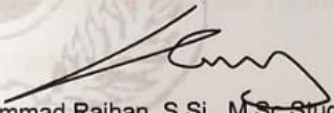
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 15 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan


Menyetujui,


Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Plt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Firzan Nafu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Taufik Khoerun

NIM : N11115341

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulisan saya berjudul Perbandingan Profil Kimia Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) yang Dianalisis Menggunakan HPTLC dengan Pendekatan Principal Component Analysis (PCA) adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Agustus 2021

Yang menyatakan,



Taufik Khoerun

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur kehadiran Allah SWT. Tuhan yang maha mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuknya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis dengan tulus menghaturkan banyak terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Farmasi Univeristas Hasanuddin .
2. Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si.,Apt. Selaku penasihat akademik sekaligus pembimbing utama dalam penelitian serta bapak Muhammad Raihan, S.Si, M.Sc. Stud., Apt. Selaku pembimbing pendamping atas keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu dan pikirannya dalam memberikan pengarahan, bimbingan, saran, nasehat serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt dan bapak Muh. Aswad, S.Si., M.Si. Ph.D., Apt. Selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan nasehat yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Bapak dan dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang tidak bisa disebutkan satu persatu, atas segala bimbingan dan ilmu serta bantuan yang diberikan selama menempuh pendidikan.

Demikian pula penulis menyampaikan terimakasih kepada seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terkhusus bagi teman angkatan penulis "PO15ON", Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), dan Himpunan Mahasiswa Islam (HMI) Komisariat Farmasi. Terimakasih atas segala kerja sama, waktu, pengalaman, kebersamaan dan kekompakannya dalam melakukan setiap proses pembelajaran dan berbagi ilmu.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan dari kedua orang tua tercinta ayahanda Khoerun, ibunda Tanipah serta saudara-saudara penulis Ridwan Khoerun dan Umaeroh.

Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, 2021

Taufik Khoerun

ABSTRAK

TAUFIK KHOERUN. *Perbandingan Profil Kimia Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang Dianalisis Menggunakan HPTLC dengan Pendekatan Principal Component Analysis (PCA).* Dibimbing oleh Dra. Rosany Tayeb M.Si.,Apt. dan Muhammad Raihan S.Si., M.Sc.Stud., Apt.

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan tanaman berkhasiat yang banyak tersedia di Indonesia dan dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Menurut beberapa penelitian senyawa yang terkandung dalam buah mengkudu yaitu scopoletin memiliki khasiat sebagai anti hipertensi, anti alergi dan anti radang. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan profil kimia beberapa ekstrak buah dan daun mengkudu (*M. Citrifolia* L.) berdasarkan perbedaan jenis pelarut yang dianalisis secara HPTLC dan dikelompokkan dengan pendekatan Principal Component Analysis (PCA). Sampel daun dan buah mengkudu diekstraksi dengan beberapa pelarut berbeda yaitu aseton, etanol 96%, dan N-heksan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dan diperoleh %rendamen tertinggi pada daun muda pelarut etanol 96% sebesar 1,092%, daun tua pelarut N-heksan sebesar 0,742%, pada buah muda pelarut aseton sebesar 3,97%, buah tua pelarut etanol 96% sebesar 5,7%. Profil KLT menggunakan fase diam silica gel 60 F254 dan fase gerak N-heksan:etil asetat (3:1). Profil KLT menunjukkan adanya senyawa scopoletin. Analisis HPTLC serta FT-IR dikelompokkan menggunakan metode Principal Component Analysis (PCA). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak daun tua dan daun muda tidak memiliki perbedaan yang signifikan, pada ekstrak di setiap sampel menunjukkan bahwa pelarut aseton dan etanol 96% memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan N-Heksan menunjukkan hasil yang berbeda.

Kata kunci: Mengkudu, *Morinda citrifolia* L., Metode HPTLC, PCA.

ABSTRACT

TAUFIK KHOERUN. *Comparison of chemical profile of mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) leaves and mengkudu fruit analysed using HPTLC by principal component analysis (PCA) approach.* Supervised by Dra. Rosany Tayeb M.Si., Apt. and Muhammad Raihan S.Si., M.Sc.Stud., Apt.

Noni (*Morinda citrifolia* L.) is a nutritious plant that is widely available in Indonesia and is used in everyday life. According to several studies, the compounds contained in noni fruit, namely scopoletin have properties as anti-hypertensive, anti-allergic and anti-inflammatory. This study aims to compare the chemical profiles of several noni (*M. Citrifolia* L.) fruit and leaf extracts based on different types of solvents analyzed by HPTLC and grouped by the Principal Component Analysis (PCA) approach. Leaf and noni fruit samples were extracted with several different solvents, namely acetone, 96% ethanol, and N-hexane. Extraction was carried out using the maceration method and the highest% rendement was obtained on young leaves of 96% ethanol solvent at 1.092%, old leaves with N-hexane solvent by 0.742%, for young fruit with acetone solvent by 3.97%, old fruit with 96% ethanol solvent. by 5.7%. The TLC profile used a stationary phase of silica gel 60 F254 and a mobile phase of N-hexane: ethyl acetate (3: 1). TLC profile shows the presence of scopoletin compounds. HPTLC analysis and FT-IR were grouped using the Principal Component Analysis (PCA) method. From the results of the study it can be concluded that the old leaf extract and old leaf does not have a significant difference, the extract in each sample shows that the acetone and ethanol 96% solvent has a significant difference, while N-hexane shows different results.

Keywords: Mengkudu, *Morinda citrifolia* L., HPTLC method, PCA.

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II. 1 Uraian Lengkap Tanaman Mengkudu.....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Mengkudu	4
II.1.2 Morfologi Tanaman Mengkudu	4
II.1.3 Kandungan Kimia.....	5
II.1.4 Kegunaan Tanaman	5
II.2 Simplisia.....	6
II.3 Ekstraksi	6
II.4 KLT Densitometri (HPTLC)	12
II.5 Spektrofotometri.....	13
II.5.1 Pengertian Spektrofotometri	13
II.5.2 Cara Kerja Spektrofotometri.....	14
II.5.3 Spektroskopi FT-IR	16
II.6 Principal Component Analysis	17

BAB III.....	18
METODE PENELITIAN.....	18
III.1 Alat dan Bahan	18
III.2 Cara Kerja.....	18
III.2.1 Penyiapan Sampel Penelitian	18
III.2.2 Ekstraksi sampel.....	19
III.2.3 Analisis Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis	19
III.2.4 Pengukuran dengan HPTLC.....	19
III.2.5 Pengukuran dengan FT-IR.....	20
III.2.4 Principal Component Analysis (PCA).....	20
III.2.4 Analisis Data, Pembahasan dan Kesimpulan	20
BAB IV	21
HASIL DAN PEMBAHASAN	21
IV.1 Ekstraksi Sampel.....	21
IV.2 Profil HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)	23
IV.3 Profil Spektroskopi FT-IR.....	25
BAB IV	28
KESIMPULAN DAN SARAN	28
IV.1 Kesimpulan.....	28
IV.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persen rendemen hasil ekstraksi sampel daun dan buah mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.)	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram profil HPTLC daun dan buah mengkudu	23
2. PCA Score HPTLC	24
3. PCA Score FT-IR	26
4. PCA Loading HPTLC	38
5. PCA Loading FT-IR	38
6. Simplisia Daun Mengkudu	39
7. Maserasi Sampel Daun Mengkudu	39
8. Maserasi Sampel Buah Mengkudu	39
9. Elusi Pada Lempeng KLT	39
10. Hasil KLT UV 366 nm	39
11. Hasil KLT UV 254 nm	39
12. TLC Scanner	40
13. FTIR	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	34
2. Tabel Hasil HPTLC	35
3. Tabel Hasil FT-IR	36
4. PCA Loadings	38
5. Dokumentasi Kegiatan	39

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tumbuhan memiliki kapasitas untuk mensintesis berbagai molekul organik yang disebut metabolit sekunder. Metabolit sekunder tidak hanya diperlukan sel (organisme) untuk hidup, tetapi berperan dalam interaksi sel (organisme) dengan lingkungannya, memastikan keberlanjutan keberadaan organisme dalam ekosistemnya. Pembentukan metabolit sekunder terjadi pada organ, jaringan dan sel khusus. Senyawa ini sering berbeda antara individu dari populasi tanaman yang sama dalam hal jumlah dan jenisnya. Metabolit sekunder digunakan terutama sebagai bahan kimia seperti obat-obatan, rasa, wewangian, insektisida, dan pewarna oleh manusia karena nilai ekonomi yang besar (Pagare, 2015).

Salah satu tumbuhan yang banyak tersedia di Indonesia dan dikenal masyarakat dengan berbagai khasiat dengan presentasi penggunaan tumbuhan obat hingga 11,17 % yaitu mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Mengkudu dikenal berkhasiat sebagai obat rematik, anti infeksi, anti racun dan anti aging (FOHAI, 2017; Fikri, 2015). Bagian yang sering digunakan dari mengkudu yaitu buah (FOHAI, 2017). Beberapa senyawa aktif telah diidentifikasi dari buah mengkudu ini antara lain skopoletin, polisakarida, asam askorbat, β -karoten, l-arginin, proxironin, dan proxeroninase (Sjabana dan Bahalwan, 2002). Selain buah mengkudu, daun mengkudu juga

dilaporkan memilikikandungan saponin, flavonoid, polifenol, tanin, dantriterpen. Senyawa *scopoletin* merupakan salah satu senyawa utama dari mengkudu yang digunakan sebagai anti hipertensi, anti bakteri, anti alergi dan anti radang (Fikri, 2015).

Daun dan buah mengkudu diduga memiliki kandungan yang berbeda berdasarkan umur atau kematangannya, Dalam Penelitian Nirawati (2016) diketahui memiliki kemampuan daya hambat yang berbeda terhadap Bakteri *Escherichia coli*. oleh karena itu perlu dilakukan penelitian membandingkan daun muda dengan daun tua serta buah muda dengan buah matang yang dilakukan menggunakan HPTLC untuk menganalisis senyawa secara fitokimia. Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (HPTLC) adalah salah satu bentuk kromatografi lapis tipis (TLC) dengan efisiensi dan deteksi yang lebih baik. Teknik Ini adalah metode analitik yang kuat dan sesuai untuk menganalisis senyawa secara kualitatif dan kuantitatif. HPTLC memiliki kemampuan untuk menganalisis ekstrak kasar yang mengandung senyawa multikomponen. Selain itu, HPTLC memiliki proses pemisahan yang mudah diikuti terutama dengan senyawa berwarna, menghasilkan output yang tinggi, menghemat waktu, dan analisis biaya rendah yang cepat serta mudah dilakukan. (Bandamedi & Kishore, 2018).

Analisis data dapat diolah dengan pendekatan *Principal Component Analysis* agar dapat menurunkan beberapa variabel laten dengan membuat kombinasi linear menggunakan kriteria tertentu dari variabel aslinya. (Gad et al, 2012). Pendekatan yang ditargetkan dengan mengintergrasikan

HPTLC dengan PCA dimungkinkan untuk membedakan sampel dengan ketepatan yang baik dan dalam waktu singkat (Maldini et al,2019). Oleh karena itu, berdasarkan uraian tersebut maka akan dilakukan penelitian mengenai perbandingan profil kimia ekstrak daun dan buah mengkudu (*M.citrifolia* L.) yang dianalisis menggunakan HPTLC dengan pendekatan principal component analysis (PCA).

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengelompokan ekstrak buah dan daun mengkudu (*M. citrifolia* L.) yang dianalisis berdasarkan profil kimia menggunakan HPTLC dengan pendekatan Principal Component Analysis (PCA) ?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk membandingkan profil kimia beberapa ekstrak buah dan daun mengkudu (*M. citrifolia* L.) berdasarkan perbedaan jenis pelarut yang dianalisis secara HPTLC dan dikelompokkan dengan pendekatan Principal Component Analysis (PCA).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Uraian Lengkap Tanaman Mengkudu

II.1.1 Klasifikasi Tanaman Mengkudu

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dikotyledone
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: Morinda
Jenis	: <i>M. citrifolia</i>

II.1.2 Morfologi Tanaman Mengkudu

Morinda citrifolia atau dalam bahasa Indonesia dikenal dengan nama mengkudu dan memiliki nama umum noni adalah pohon yang dapat mencapai tinggi 3-8 meter, akar tunggang, kulit kayu keabu-abuan atau coklat kekuningan, Daun berbentuk lonjong-lanset dengan panjang sekitar 15-50 cm dan lebar 5-17 cm, saraf daun menyirip, tangkai daun memiliki Panjang sekitar 0,5-2,5 cm.

Sedangkan Kepala bunga berbentuk bulat dengan panjang 1-4cm, beraroma harum, Mahkota berbentuk corong, panjang hingga 1,5 cm berwarna putih putih dan didalamnya terdapat benang sari. Buah berbentuk bulat sinkarp, berukuran 3-10 x 2-3 cm dan berbiji, buah mengkudu mulai berwarna hijau, berubah menjadi kuning lilin, memiliki bau yang tidak

menyenangkan, Rasanya hambar, busuk atau berbau busuk, terutama saat matang menjadi putih dan jatuh dari pohon. Bijinya dapat bertahan lebih dari setahun di air asin dan masih berkecambah. (Sreenivasulu, 2015)

II.1.3 Kandungan Kimia

Berdasarkan review yang telah dilakukan Assi *et al* 2015 pada isolasi senyawa fitokimia dari mengkudu (*M. citrifolia*) pada daun mengkudu memiliki senyawa *Americanin A*, *proline*, *leucine*, *cysteine*, *methionine*, *glycine*, *histidine*, *isolucine*, *glutamic acid*, *phenylalanine*, *serine*, *threonine*, *trptophan*, *tyrosine*, *arginine* *valine*, *quercetin-3-O-β-D-Glucopyranoside*, *Quercetin-3-O-a-L-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-D-glucopyranoside*, *Ursolic acid*, *b-sitosterol*, *Citrifolinoside B*, *Scopoletin* dan *Kaempferolm3-O-b-D-glucopyranosyl-(1-2)-a-Lrhamnopyranosyl-(1-6)-b-D-galactopyranoside*.

Sedangkan buah mengkudu memiliki kandungan kimia berupa Octanoic (caprylic) acid, Hexanoic acid, Caproic acid, Vitamin C, Vitamin E, Niacin, Manganese, Selenium, Asperulosidic acid, Quercetin, 2,6-di-O-(b-D-glucopyranosyl 1-O-octanoyl-b-Dglucopyranose, 6-O-(b-D-glucopyranosyl-1-O-octanoyl-b-Dglucopyranose, Damnacanthal, Americanin A.

II.1.4 Kegunaan Tanaman

Tanaman mengkudu mempunyai banyak kegunaan dan beberapa bagian tanaman telah diteliti dapat digunakan sebagai pengobatan yaitu daun, buah dan akar mengkudu (assi, et al 2015). Tanaman mengkudu

memiliki aktivitas farmakologi antitumor, kemoprotektif, anti psikotik, anti depresi, mencegah arteriosclerosis, penyakit jantung, hipertensi, disfungsi kognitif, diabetes dan menjaga kesehatan (Ali, et al 2016).

II.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-anginin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain. Suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Farmakope Herbal, 2011).

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut yang dipisahkan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia dari dalam tanaman. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan terjadinya difusi. Proses ini terus berlangsung hingga tercapai keseimbangan konsentrasi zat aktif di luar dan di dalam sel (Ditjen POM, 1986).

Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi disebut dengan ekstrak. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati, hewani dengan menggunakan

pelarut tertentu, kemudian hampir semua atau semua pelarut diuapkan hingga diperoleh massa atau serbuk (Depkes, 1995).

Metode ekstraksi dibagi menjadi 2, yaitu metode ekstraksi dingin dan panas. Ekstraksi secara panas antara lain refluks, soklet, infus, dekokta, destilasi uap air, sedangkan ekstraksi secara dingin antara lain perkolasi dan maserasi (Ditjen POM, 2000)

a. Metode dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang sederhana. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel simplisia. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel.

Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari sambil sesekali diaduk untuk mempercepat proses pelarutan analit. Ekstraksi dilakukan berulang kali sehingga analit terekstraksi secara sempurna yang ditandai dengan pelarut yang digunakan tidak berwarna lagi. Proses ini disebut dengan remaserasi. (Ditjen POM, 1986)

Keuntungan cara ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan, sedangkan kerugiannya ialah pengerjaan yang membutuhkan waktu yang lama dan memerlukan banyak pelarut(Ditjen POM, 1986).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut secara perlahan-lahan pada sampel dalam suatu perlokator. Pada metode ekstraksi ini, pelarut ditambahkan secara terus menerus, sehingga proses ekstraksi selalu menggunakan pelarut baru. Pola penambahan pelarut yang dilakukan adalah menggunakan pola penetesan pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau dilakukan dengan penambahan pelarut dalam jumlah besar secara berkala (Leba, 2017).

Proses ekstraksi dilakukan hingga analit dalam sampel terekstraksi secara sempurna. Tanda bahwa semua analit telah terekstraksi secara sempurna adalah pelarut yang digunakan tidak berwarna. Untuk memastikan bahwa semua analit telah terekstraksi dengan sempurna dapat dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) atau spektrofotometri UV. Indikasi bahwa semua analit telah terekstrak ditandai dengan tidak adanya noda/spot pada pelat KLT. Sedangkan pada spektrofotometri UV ditandai

dengan tidak adanya puncak/peak pada kromatogram (Leba, 2017).

b. Metode Panas

1. Refluks

Ekstraksi dengan metode refluks digunakan untuk simplisia dengan kandungan zat aktif yang tahan terhadap pemanasan. Alat refluks ini terbuat dari bahan gelas dimana bagian tengahnya dilengkapi dengan lingkaran gelas yang berbentuk spiral atau bola. Untuk mengekstraksi bahan dimasukkan kedalam labu alas bulat bersama cairan penyari kemudian dipanaskan. Cairan penyari ini akan mendidih sesuai dengan titik didihnya, menguap dan berkondensasi pada kondensor, lalu turun kembali pada labu dan sekaligus mengekstraksi kembali. Proses ini berlangsung secara berkesinambungan sampai bahan tersari sempurna. Pengerjaan ini dilakukan sebanyak 3-5 kali (Depkes, 1995).

2. Sokletasi

Sokletasi merupakan salah satu metode ekstraksi menggunakan alat bernama soklet. Pada metode ini, pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila ekstraksi telah selesai, maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut

yang digunakan adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah. (Leba, 2017).

Sokletasi dilakukan dengan cara pemanasan pelarut, uap pelarut yang dihasilkan mengalami pendinginan dalam kondensor dan secara kontinu akan membasahi sampel dan secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa analit. Proses ini berlangsung terus menerus. Pelarut yang digunakan dapat diuapkan kembali dan dipisahkan dari analit. Sokletasi dapat dihentikan dengan cara menghentikan pemanasan (Leba, 2017).

Peralatan yang digunakan dalam sokletasi terdiri dari kondensor, sokletm labu alas bulat dan pemanas. Soklet terdiri dari timbal, pipa F dan sifon. Kondensor berfungsi sebagai pendingin untuk memepercepat proses pengembunan, timbal berfungsi sebagai wadah untuk menyimpan sampel, pipa F berfungsi sebagai saluran bagi uap pelarut yang dipanaskan pada labu alas bulat ke kondensor, sifon berfungsi untuk perhitungan siklus, bila larutan pada sifon penuh dan jatuh kedalam labu alas bulat maka dihitung sebagai satu siklus. Labu alas bulat berfungsi sebagai wadah pelarut, sedangkan pemanas berfungsi untuk memanaskan pelarut (Leba, 2017).

3. Digesti

Digesti adalah meserasi kinetik (dengan pengadukan berulang) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruang (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°C-50°C Metode digesti memiliki keuntungan yaitu kemampuan cairan penyari untuk melarutkan zat diinginkan menjadi lebih besar dan memiliki pengaruh sama dengan pengadukan, kekentalan pelarut berkurang yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan batas, serta akibat koefisien difusi yang berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Pada umumnya kelarutan zat akan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu (Depkes, 2000)

4. Infusa

Infusa adalah cara penyarian simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infusa dibuat dengan cara simplisia dengan derajat halus yang cocok dicampur dengan air secukupnya, kemudian dipanaskan dalam tangas air selama 15 menit dihitung mulai suhu di dalam panci sampai 90°C, sambil sesekali diaduk. Infus diserkai selagi panas melalui kain flannel. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambahkan air panas

secukupnya melalui ampas sampai diperoleh volume yang dikehendaki (Depkes, 1995).

5. Dekok

Dekok merupakan modifikasi dari infusa dekenal dengan nama dekok yaitu infus dengan waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

II.4 KLT Densitometri (HPTLC)

Suatu senyawa yang telah dipisahkan secara kromatografi lapis tipis biasanya dilakukan analisis kuantitatif dengan densitometri langsung pada lempeng KLT. Densitometri atau TLC *Scanner* merupakan metode analisis instrumental yang berdasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit. Alat ini dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Prinsip dasar teknik densitometri ini adalah radiasi elektromagnetik (REM) dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan (umumnya UV/visible dari panjang gelombang 190-800 nm) yang bergerak sepanjang zona kromatografi yang sebelumnya telah ditentukan atau sementara radiasi dilakukan lapisan KLT digerakkan oleh motor pengatur gerakan lempeng (Rohman,2009). Untuk memilih panjang gelombang yang cocok sistem memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton dan rekorder (Mulia, 2006).

Berkas pada lapisan tipis dikuantisasi secara spektroskopi dengan transmisi atau pemantulan. Pada model transmisi, lapisan dilewati oleh berkas sinar dan energi yang ditransmisikan di ukur. Pada model

pemantulan, sinar disorotkan pada lapisan dan berkas sinar yang dipantulkan diukur. Dari hasil penentuan interaksi REM dengan noda kromatogram akan didapatkan antara lain : spektrum UV-Vis atau spektrum flourosensi dan area kromatogram yang ditentukan pada panjang gelombang maksimum. Dengan demikian analisis kualitatif dan analisis kuantitatif terhadap noda analit pada plat KLT dapat terakomodir dengan metode KLT-Densitometri (Mulia, 2006).

Gangguan utama pada sistem serapan adalah fluktuasi latar belakang yang dapat dikurangi dengan beberapa cara misalnya dengan menggunakan alat berkas ganda, sistem transmisi dan pantulan secara bersamaan atau sistem dua panjang gelombang. Pada model pemantulan, dapat digunakan sinar tampak maupun ultraviolet (Wall Peter, 2005).

II.5 Spektrofotometri

II.5.1 Pengertian Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang sering digunakan untuk menganalisis suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. (Triyati, 1985).

Spektrofotometer UV-VIS sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa berdasarkan absorbansi foton. Persyaratan kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia didasarkan pada acuan ISO 17025, *Good Laboratory Practice* (GLP) atau rekomendasi dari *farmakope* (Irawan, 2019).

Metode Spektrofotometri Ultra-violet dan Sinar Tampak telah banyak diterapkan untuk penetapan senyawa-senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil (Skoog & West, 1971)

II.5.2 Cara Kerja Spektrofotometri

Prinsip kerja spektrofotometri yakni berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh suatu larutan. Jumlah cahaya atau energi radiasi yang diserap memungkinkan pengukuran jumlah zat penyerap dalam larutan secara kuantitatif (Skoog & West, 1971).

Metode Spektrofotometri bekerja berdasarkan pada hukum *Lambert-Beer*. Hukum tersebut menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya Tampak, Ultra-violet dan cahaya-cahaya lain yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan. Hukum ini secara sederhana dapat dinyatakan dalam rumus berikut:(Skoog & West, 1971).

$$A = abc$$

Dimana : A = Absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Secara garis besar Spektrofotometer terdiri dari 4 bagian (Gandjar, 2007).

1. Sumber Lampu

Sumber lampu pada Spektrofotometer harus memiliki pancaran radiasi yang stabil. Ada beberapa lampu yang digunakan yaitu, lampu deuterium yang digunakan pada daerah panjang gelombang UV (190-359 nm) dan halogen kuarsa untuk daerah *visible* (350-900 nm)

2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang berfungsi untuk mengatur cahaya polikromatis menjadi beberapa komponen panjang gelombang tertentu (monokromatis) yang berbeda (terdispersi).

3. Kuvet

Kuvet Spektrofotometer adalah suatu wadah yang digunakan sebagai tempat sampel atau cuplikan yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa, plexiglass, kaca, plastic dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1 x 1 cm dan tinggi 5 cm. Pada pengukuran di daerah UV dipakai kuvet kuarsa atau plexiglass. Sedangkan kuvet dari kaca tidak dapat dipakai sebab kaca mengabsorpsi sinar UV.

4. Detektor

Peranan detektor adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang, detector akan mengubah cahaya menjadi sinyal listrik yang selanjutnya akan ditampilkan oleh penampil data dalam bentuk jarum penunjuk atau angka digital.

II.5.3 Spektroskopi FT-IR

Analisis menggunakan spektra inframerah berdasarkan cahaya tampak terdiri dari beberapa range frekuensi elektromagnetik yang berbeda dimana setiap frekuensi bisa dilihat sebagai warna yang berbeda. Radiasi inframerah juga memiliki beberapa range frekuensi. Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (*mid-infrared*) yaitu pada panjang gelombang 2,5-50 μm atau bilangan gelombang 4000 – 200 cm^{-1} (Dachriyanus. D, 2004).

Energi yang dihasilkan oleh radiasi ini akan menyebabkan vibrasi atau getaran pada molekul. Pita absorpsi inframerah sangat khas dan spesifik untuk setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi. Metode ini sangat berguna untuk mengidentifikasi senyawa organik dan organometalik. Sebagai sumber cahaya yang umum digunakan adalah lampu *tungsten*, *Nanost glowers*, atau *glowbars*. Dispersi spektrofotometer inframerah menggunakan monokromator, yang berfungsi untuk menyeleksi panjang gelombang (Dachriyanus. D, 2004).

Jika suatu frekuensi tertentu dari radiasi inframerah dilewatkan pada sampel suatu senyawa organik maka akan terjadi penyerapan frekuensi oleh senyawa tersebut. Detektor akan mendeteksi senyawa frekuensi yang dilewatkan (Dachriyanus. D, 2004). Banyaknya frekuensi yang melewati senyawa (yang tidak diserap) akan diukur sebagai persen transmisi. Persen transmisi 100 berarti ada frekuensi IR yang diserap oleh senyawa. Pada kenyataannya, frekuensi yang diserap dan memberikan suatu

transmitan sebanyak 95%. Transmitan 5% berarti bahwa hampir seluruh frekuensi yang dilewatkan diserap oleh senyawa. Serapan yang sangat tinggi akan memberikan informasi penting tentang ikatan dalam senyawa (Dachriyanus. D, 2004).

II.6 Principal Component Analysis (PCA)

Analisis Komponen Utama (Principal Component Analysis) adalah analisis multivariate yang merubahvariable-variabel asal yang saling berkorelasi menjadi variabel-variabel baru yang tidak saling berkorelasi dengan mereduksi sejumlah variabel tersebut sehingga mempunyai dimensi yang lebih kecil namun dapat menerangkan sebagian besar keragaman variable aslinya (Johnson dan Wichern, 2002).

Pada pengujian kemometrik bahan alam yang menggunakan metode spektroskopi FT-IR, Analisis Komponen utama (Principal Component Analysis) dapat diterapkan. Keuntungan dari Analisis ini adalah dapat memberikan identifikasi produk alami dengan cepat karena menghindari prosedur ekstraksi atau pemurnian yang lama (Bunaciudkk.,2011).