



Artikel Penelitian

**ANALISIS SIDIK JARI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SECARA KEMOMETRIK DAUN TUMBUHAN ANTING-ANTING (*Acalypha Indica* L.) BERDASARKAN LOKASI TUMBUH**A.N Hidayaty<sup>1</sup>, E.K Hayati<sup>2</sup>

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia 65144

**INFO ARTIKEL****Riwayat Artikel**

Diterima 19 Juni 2023

Direvisi 21 Agustus 2023

Tersedia online 25 Maret 2024

\* Email korespondensi:

alfianitanurilhidayat@gmail.com

DOI: 10.18860/al.v12i1.22130

**ABSTRAK**

Anting-anting plant (*Acalypha indica* L.) is a tropical plant that contains many secondary metabolites, making it a common ingredient in traditional medicine. One of these secondary metabolites is influenced by the plant's growth location, thereby affecting the quality of the produced medicine. The aim of this research is to determine how the differences in growth locations (Tuban, Bojonegoro, and Ngawi) affect the content and secondary metabolites of the "anting-anting" plant. The method used in this study is Thin Layer Chromatography (TLC), followed by chemometric analysis using Principal Component Analysis (PCA) with Orange 3.32 software. The TLC separation resulted in 10 spots for samples from Tuban, 10 spots for samples from Bojonegoro, and 13 spots for samples from Ngawi. Densitogram data in ImageJ showed the same total peak count as the TLC separation results. Through PCA analysis, a total data variation of 91% was explained, with PC1 contributing 52.5% and PC2 contributing 38.5%. The clustering of the three samples was observed in four different quadrants based on the Area Under Curve (AUC) values. Linear projection indicated a strong contribution from each sample. Therefore, it can be concluded that the class and concentration of active compounds influence the "anting-anting" leaf extract based on the sample collection growth location.

Keywords: *Acalypha indica* L, Thin Layer Chromatography, clustering, PCA multivariate analysis, quality control.

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) adalah tumbuhan tropis yang banyak mengandung metabolit sekunder, sehingga dijadikan bahan pengobatan tradisional. Metabolit sekunder salah satunya dipengaruhi lokasi tumbuhnya, maka mempengaruhi kualitas obat yang dihasilkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana perbedaan lokasi tumbuh (Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi) mempengaruhi kandungan kadar dan metabolit sekunder dalam tumbuhan anting-anting. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Thin Layer Chromatography* (TLC) yang dilanjutkan dengan analisis kemometrik menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) perangkat lunak Orange 3.32. Hasil pemisahan KLT terdapat 10 bercak sampel dari Tuban, 10 bercak sampel dari Bojonegoro, 13 bercak sampel dari Ngawi. Data densitogram pada imageJ memiliki total puncak yang sama seperti hasil pemisahan KLT. Melalui analisis PCA, variasi total data dapat dijelaskan sebesar 91% dengan nilai PC1= 52,5% dan PC2= 38,5%. Hasil pengelompokan tiga sampel terdapat pada empat kuadran yang berbeda berdasarkan nilai *Area Under Curve* (AUC). *Linier projection* menunjukkan kontribusi yang kuat pada masing-masing sampel. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa golongan dan kadar senyawa aktif berpengaruh terhadap ekstrak daun tumbuhan anting-anting berdasarkan lokasi tumbuh pengambilan sampel.

Kata Kunci: *Acalypha indica* L, Kromatografi Lapis Tipis, pengelompokan, analisis multivariat PCA, kendali mutu

## 1. Pendahuluan

Tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) tumbuh di wilayah tropis yang kaya akan manfaat, termasuk penggunaannya sebagai tumbuhan obat tradisional. Tumbuhan anting-anting dimanfaatkan oleh Masyarakat setempat sebagai alternatif pengobatan untuk berbagai kondisi seperti diare, disentri, muntah darah, kencing darah, berak darah, dan gangguan pencernaan [1] karena ketersediaan yang melimpah. Golongan senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman anting, anting antara lain alkaloid, steroid atau terpenoid, tannin [2], triterpenoid [3], flavonoid, saponin, asam askorbat, dan kaemferol [4].

Senyawa aktif dalam tumbuhan anting-anting dipengaruhi oleh sejumlah faktor diantaranya: ketinggian lokasi tumbuh, variasi metode destilasi, umur tanah, iklim, dan usia panen [5] [6] [7]. Perbedaan lokasi tumbuh antara daerah dataran rendah dan dataran tinggi juga memiliki dampak terhadap unsur hara dalam tanah. Unsur hara pada daerah dataran rendah memiliki lebih banyak kadar senyawa aktif, disebabkan karena terdapat unsur hara yang tinggi [8],[9]. Ketinggian menjadi faktor penting dalam penelitian ini, karena lokasi tumbuh dapat memiliki pengaruh pada variasi kandungan senyawa aktif dalam sampel tumbuhan anting-anting. Sehingga, untuk dapat menjamin khasiat, mutu produk, dan keamanan obat herbal dibutuhkan kendali mutu pengontrol senyawa aktif tumbuhan anting-anting [10]. Senyawa aktif diisolasi dengan ekstraksi ultrasonik, pemilihan pelarut didasarkan penelitian [11] positif mengandung senyawa flavonoid dengan penetapan kadar tertinggi dalam pelarut etil asetat yang memiliki sifat semi polar. Akibatnya, senyawa-senyawa yang diekstraksi dapat bersifat polar maupun non polar.

Analisis secara kuantitatif terhadap kendali mutu bahan baku obat herbal dibutuhkan pendekatan secara metabolomik, untuk mengetahui komposisi fitokimia dan mendeteksi profil metabolit berdasarkan perbedaan lokasi tumbuh [12]. Suatu metode metabolomik yang umum digunakan adalah pendekatan analisis sidik jari dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pemisahan dengan KLT merupakan metode pemisahan yang baik untuk standarisasi tumbuhan obat herbal [13]. Analisis KLT dapat memberikan informasi pada hasil pemisahan yang berkontribusi terhadap fase gerak dan fase diam yang dilihat dari jumlah dan intensitas warna tiap noda. Kemudian diperlukan analisis visualisasi dari bentuk gambar menjadi densitogram menggunakan ImageJ. Densitogram memiliki sumbu (x) yang mengartikan luas area dan sumbu (y) yang mengartikan *Retardation Factor (Rf)* [13]. Diperlukan analisis secara kemometrik menggunakan *Priciple Component Analysis (PCA)*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana faktor lokasi tumbuh mempengaruhi pengelompokan dan kandungan senyawa aktif dalam daun tumbuhan anting-anting dari tiga wilayah berbeda. Pendekatan ini melibatkan metode KLT yang dipadukan dengan analisis multivariat *Priciple Component Analysis (PCA)*.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: serbuk daun tumbuhan anting-anting (daerah Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi), pelarut etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ) (p.a, Merck), sikloheksana ( $C_6H_{12}$ ) (p.a, Merck), toluena ( $C_7H_8$ ) (p.a, Merck), dan dietilamina ( $(C_2H_5)_2NH$ ) (p.a, Merck).

### 2.2 Preparasi Daun Tumbuhan Anting-anting

Tumbuhan anting-anting diambil dari wilayah Tuban, Bojonegoro, dan Ngawi. Sampel daun diambil, dicuci, dan dipotong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan dengan oven, dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender, dan disaring menggunakan ayakan ukuran 80 mesh

### 2.3 Analisis Kadar Air

Cawan porselin dikeringkan dalam oven selama 30 menit menggunakan suhu  $105^{\circ}C$ . Diamkan cawan dalam desikator selama 30 menit dan timbang. Sampel daun anting-anting sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam cawan selama 3 jam dengan suhu  $105^{\circ}C$  hingga mencapai bobot konstan. Cawan didiamkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Kemudian dihitung dari persamaan 1 [14].

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\% \quad (1)$$

Note: berat cawan kosong (A), berat cawan dan sampel sebelum pengeringan (B), berat cawan dan sampel setelah pengeringan (C)

### 2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Tumbuhan Anting-anting

Serbuk sampel sampel daun tumbuhan anting-anting seberat 1 gram diekstraksi dengan metode sonikasi frekuensi 42kHz selama 20 menit, menggunakan pelarut etil asetat dalam perbandingan berat per volume 1:10 [13]. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring kedalam botol vial dan residu dibuang. Kemudian dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

## 2.5 Separasi Komponen Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Pelat silika G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> dengan ukuran 10x10 cm diberi tanda dengan jarak 1 cm dari tepi pelat atas dan bawah. Pelat silika kemudian diaktivasi menggunakan oven selama 30 menit pada suhu 105°C [12]. Fase gerak yang digunakan adalah sikloheksana: toluena: dietilamina dengan perbandingan v/v (7,5:1,5:1). Proses penjuanan selama 1 jam dilakukan untuk mencapai keseimbangan tekanan uap di dalam bejana [13]. Ekstrak daun tumbuhan anting-anting ditotolkan sebanyak 7 kali dan diulang sebanyak 5 kali menggunakan pipa kapiler 15 µL. Setelah itu, pengelusian dilakukan dalam bejana sampai fase gerak mencapai garis bagian atas pelat [15]. Dilakukan pengamatan dengan UV 366 nm dan didokumentasi menggunakan kamera (fuji mirrorless). Diamati tiap noda, dan dihitung *Retardation factor* (*Rf*) melalui persamaan 2.

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh pelarut}}{\text{Jarak tempuh senyawa}} \quad (2)$$

## 2.6 Pengolahan Data Dengan ImageJ dan Analisis PCA

Hasil dokumentasi (jpg) diolah secara kuantitatif dengan perangkat lunak ImageJ untuk mendapatkan luas area dari densitogram. Buka perangkat lunak ImageJ pilih *File-Open*, aktifkan menu *Rectangular*, dan pilih *Analyze-Gels-Select First Lane*. Pilih menu *Image-type-* dan *RGB colour* untuk mengatur kontras. Selanjutnya dipilih *Analyze-Gels-plot line*, sehingga didapatkan puncak densitogram. Kemudian bagian kurva di blok dengan mengaktifkan menu *Rectangular* dan pilih menu *Analyze-Tools-Analyze Line Graph* sehingga didapatkan koordinat (x) dan (y). Kemudian *Copy* dan *Paste* dalam *Microsoft Office Excel 2019* untuk pengolahan data lebih lanjut. Aktifkan menu *Straight*, tarik bagian bawah puncak dari satu ke bawah puncak yang lain dan diklik *Wand*. Pemberian *Highlight* di tiap-tiap puncak pada kurva dengan cursor yang mengarah di tengah-tengah puncak kurva sehingga muncul *Report* berupa luas area atau *Area Under Curve (AUC)* [12].

Nilai *AUC* yang sudah didapatkan kemudian dianalisis menggunakan *Principle Component Analysis (PCA)* dengan software Orange versi 3.35 (<https://orangedatamining.com/download/#windows>) pilih menu *File- Input Data bagian Categorical- Data Table- Preprocessing Spectra* lalu tarik menu *PCA* sehingga didapatkan presentase PC1 dan PC2. Untuk mendapatkan pengelompokan pilih menu *Score Plot*. Kemudian pilih *Linear Projection* untuk mendapat nilai tertinggi tiap titik *Rf* dari sampel tiga daerah [16].

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Preparasi Sampel Daun Tumbuhan Anting-anting

Sampel anting-anting diambil dari 3 daerah yaitu Desa Panyuran, Kecamatan Palang, Kabupaten Tuban, Desa Wirosobo, Kecamatan Kepohbaru, Kabupaten Bojonegoro, Desa Ngrayudan, Kecamatan Jogorogo, Kabupaten Ngawi. Untuk preparasi pengambilan sampel daun pada bagian yang masih utuh, tidak bolong dari tangkai yang berwarna hijau dan sehat sehingga banyak mengandung golongan senyawa aktif [17]. Simplisia dilakukan determinasi terlebih dahulu dengan tujuan untuk memastikan simplisia yang digunakan adalah benar [18]. Determinasi tumbuhan dilakukan di laboratorium fisiologi tumbuhan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Hasil determinasi tumbuhan menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah daun tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.) dari genus *Acalypha* dan famili *Euphorbiaceae*. Sampel daun tumbuhan anting-anting dari lokasi yang berbeda dengan kondisi geografis terdapat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data *Acalypha indica* setiap daerah pengambilan sampel

Daerah	Ketinggian (mdpl)	Lintang utara	Lintang selatan	WaktuPengambilan
Tuban	10 mdpl	112°4'48	6°53'52	31 Juli 2022
Bojonegoro	21 mdpl	112°03'28	7°10'47	1 Agustus 2022
Ngawi	59 mdpl	111°17'06	7°32'55	12 Mei 2022

Diperoleh hasil preparasi berupa serbuk sampel daerah Tuban dan Bojonegoro berwarna hijau sedangkan daerah Ngawi berwarna hijau agak kecoklatan. Perbedaan warna serbuk dari ketiga sampel diduga karena terdapat perbedaan senyawa aktif pada tiga sampel. Hal ini diperkuat oleh [19], yang menunjukkan hasil fitokimia senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *Acalypha indica* adalah alkaloid, aleuron, saponin, steroid, dan flavonoid.

### 3.2 Analisis Kadar Air Sampel Daun Tumbuhan Anting-anting

Proses analisis kadar air bertujuan untuk melakukan evaluasi terhadap ketahanan dan kualitas sampel terhadap potensi kerusakan yang dapat terjadi. Semakin tinggi kadar air dalam sampel semakin besar kemungkinan masuknya mikroba perusak [20]. Adapun hasil kadar air ketiga daerah terdapat pada Tabel 2.

**Tabel 2** Hasil kadar air *Acalypha indica* berdasarkan lokasi pengambilan sampel

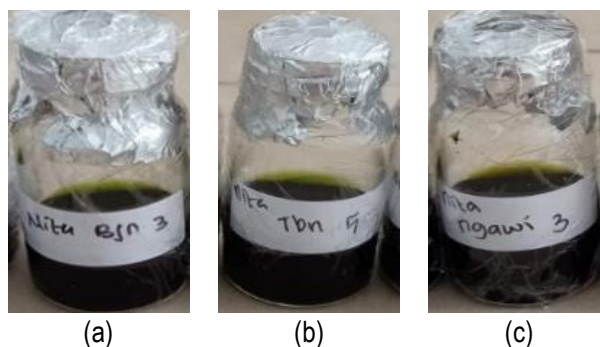
Daerah	Kadar Air (%)
Tuban	2,39 <sup>a</sup> ± 0,45
Bojonegoro	3,32 <sup>ab</sup> ± 0,04
Ngawi	6,31 <sup>b</sup> ± 0,40

Keterangan: Notasi subset yang berbeda (a, b) pada tiap kolom mengindikasikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar air ( $p < 0,05$ ) dengan hasil 3 kali ulangan

Hasil data pada (Tabel 2) mendapatkan serbuk sampel kurang dari 10%, dan nilai dengan notasi subset yang berbeda, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan antara daerah Tuban (a) dan Ngawi (b). Namun, sampel daerah Bojonegoro (ab) secara teori himpunan mengartikan suatu irisan. Sehingga, nilainya terdapat pada himpunan Tuban (a) dan Ngawi (b). (Tabel 2) menunjukkan nilai Standart Deviasi (SD) kurang dari nilai rata – rata, sehingga didapatkan tingkat kepresisian yang tinggi antar ulangan. Nilai SD yang dapat diterima dengan baik jika nilainya lebih rendah daripada nilai rata-rata, sehingga semakin kecil pula variasi data dan resiko yang dimiliki [21].

### 3.3 Ekstraksi Ultrasonik Sampel Daun Tumbuhan Anting-anting

Sampel daun *Acalypha indica* yang sudah berbentuk serbuk kemudian diekstraksi dengan menggunakan ekstraksi ultrasonik. Prinsip pada ekstraksi ultrasonik dimana terjadi pemecahan dinding sel menggunakan gelombang ultrasonik sehingga senyawa – senyawa pada sampel keluar, kemudian larut ke dalam pelarut. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan karakteristik semi polar.



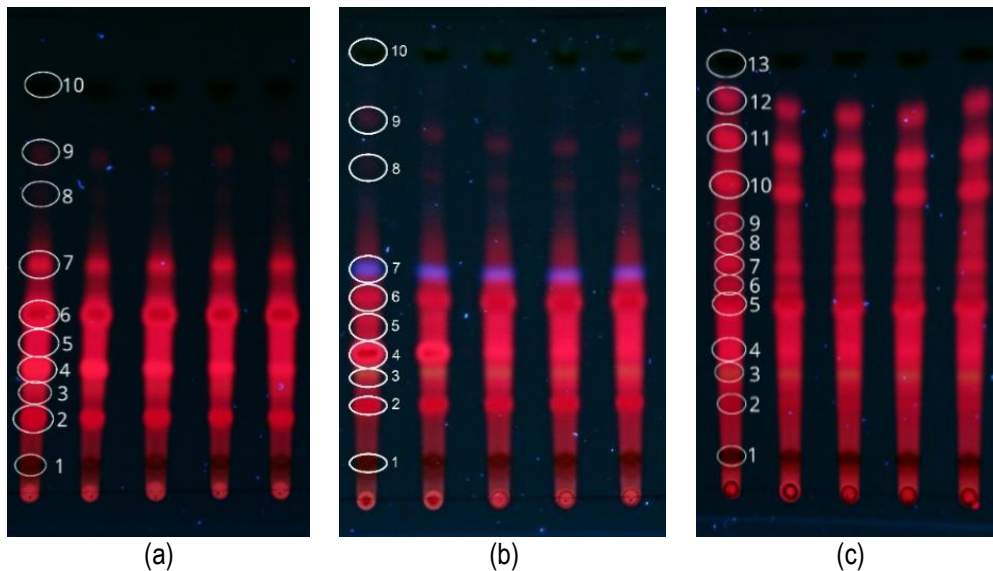
**Gambar 1.** Filtrat *Acalypha indica* dari daerah (a) Tuban; (b) Bojonegoro; (c) Ngawi

Pada Gambar 1 hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat adalah warna filtrat yang berbeda, sampel daerah Tuban dan Bojonegoro berwarna hijau tua pekat, sedangkan sampel daerah Ngawi berwarna hijau pekat agak kecoklatan. Perbedaan warna filtrat diduga karena memiliki perbedaan golongan senyawa aktif. Pada penelitian [2] warna ekstrak hijau tua pekat dengan pelarut etil asetat didapatkan golongan senyawa tanin, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Hasil ekstraksi sampel daun tumbuhan anting-anting Gambar 1 pada tiga daerah tidak terdapat perbedaan kekentalan filtrat, dan endapan. Hasil ekstraksi dihasilkan endapan yang sedikit, dan filtrat yang cenderung encer. Kemudian filtrat *Acalypha indica* digunakan ke tahap selanjutnya yaitu tahap pemisahan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

### 3.4 Separasi Komponen Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Filtrat hasil dari proses ekstraksi kemudian dipisahkan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Proses pemisahan pada KLT diawali dengan mengaktivasi pelat dalam oven untuk menguapkan kadar air yang masih tersisa, kemudian menjenuhkan *chamber* supaya tekanan uap didalam *chamber* sama sehingga eluen akan naik secara bersamaan ketika proses pengelusan. Adapun hasil pola pemisahan senyawa aktif daun *Acalypha indica* terdapat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 hasil pola pemisahan KLT memunculkan jumlah noda yang berbeda, ekstrak sampel daerah Tuban terdapat 10 noda, ekstrak sampel daerah Bojonegoro terdapat 10 noda, dan ekstrak sampel daerah Ngawi terdapat 13 noda. Untuk memperkuat masing – masing noda adalah noda yang sejenis maka diperlukan identifikasi nilai *Rf* dengan uji kepresisian menggunakan Standart Deviasi (SD), sehingga didapatkan 14 titik *Rf* yang tercantum pada (Tabel 3) Pada tiap – tiap daerah memiliki karakteristik titik *Rf* yang berbeda, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan komponen senyawa aktifnya. Perbedaan komponen senyawa aktif dikarenakan lokasi tumbuh, dan suhu yang berbeda [22], [23]. Nilai *Rf* yang didapatkan pada tiga daerah memiliki tingkat kepresisian yang tinggi dengan nilai Standart Deviasi (SD) berkisar antara 0,009 – 0,016. Hasil tersebut sudah memenuhi tingkat uji presisi dengan nilai  $\Delta Rf \leq 0,05$  [24].



**Gambar 2.** Hasil KLT dari *Acalypha indica* dengan 5 ulangan ekstraksi berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel (a) Tuban; (b) Bojonegoro; (c) Ngawi

Penelitian ini tidak dilakukan uji identifikasi senyawa, sehingga untuk mengetahui pola pemisahan, didasarkan atas sifat kepolaran yang terdistribusi terhadap fasa gerak dan fasa diam berdasarkan nilai *R<sub>f</sub>* yang terdapat pada (**Tabel 3**) Senyawa yang terdistribusi terhadap fasa diam bersifat polar dengan nilai *R<sub>f</sub>* yang kecil, dan senyawa yang terdistribusi terhadap fasa gerak bersifat semi polar sampai non polar dengan nilai *R<sub>f</sub>* yang sedang sampai besar. Hal tersebut terjadi karena jenis senyawa yang semakin mudah terdistribusi dalam fasa gerak, jarak pemisahan akan semakin jauh, dengan nilai *R<sub>f</sub>* yang semakin besar. Begitu pula sebaliknya [25].

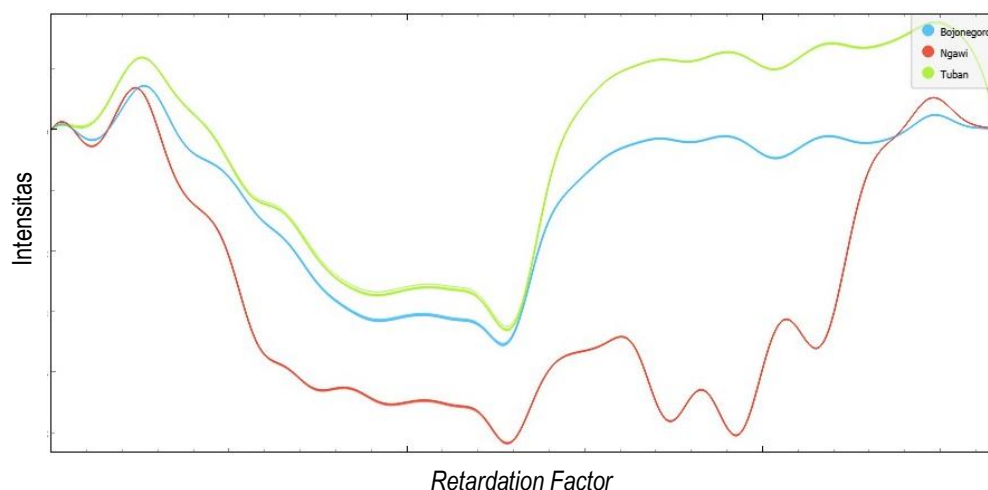
**Tabel 3** Nilai *R<sub>f</sub>* dari sampel *Acalypha indica* berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel

Noda	Nilai <i>R<sub>f</sub></i>			Rata-rata	Standar Deviasi
	Sampel Tuban (10 noda)	Sampel Bojonegoro (10 noda)	Sampel Ngawi (13 noda)		
1	0,062	0,0064	0,066	0,066	0,007
2	0,158	-	-	0,158	0,013
3	0,190	0,174	0,172	0,178	0,012
4	0,272	0,334	0,268	0,291	0,032
5	0,292	0,302	0,286	0,300	0,013
6	0,372	0,38	0,38	0,370	0,010
7	0,434	0,418	0,428	0,427	0,012
8	0,464	0,454	0,476	0,464	0,016
9	-	-	0,526	0,526	0,005
10	0,584	-	0,578	0,581	0,011
11	-	-	0,644	0,644	0,005
12	0,688	0,692	0,694	0,691	0,006
13	-	0,762	0,762	0,762	0,010
14	-	0,882	0,884	0,883	0,009

\*Nilai *R<sub>f</sub>* dari 0,06-0,291 (lebih polar), 0,300-0,581 (semi polar), 0,644-0,883 (lebih nonpolar)

### 3.5 Analisis Hasil KLT menggunakan ImageJ dan Orange

Hasil pemisahan dengan menggunakan KLT, kemudian diolah dengan software *ImageJ* yang bertujuan untuk mendapatkan nilai *AUC*. Untuk mendapatkan hasil densitogram yang baik, maka dilakukan *preprocessing* dengan menggunakan software *ImageJ*. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan software *orange*, adapun prosesnya meliputi proses *smoothing*, *normalisasi*, *baseline correction* [26]. *Preprocessing* tujuannya untuk mengubah data menjadi lebih baik supaya mudah dibaca, sehingga mendapatkan nilai intensitas (AU), didapatkan juga nilai luas area atau *Area Under Curve* (*AUC*) yang menunjukkan konsentrasi komponen dari setiap noda yang muncul pada pelat KLT.



**Gambar 3.** Densitogram setelah *preprocessing*

Hasil pengolahan yang terdapat pada Gambar 3 menyatakan densitogram ekstrak sampel daerah sampel daerah Tuban dengan ekstrak sampel daerah Bojonegoro hampir sama sehingga keduanya diduga memiliki kesamaan komponen senyawa aktif. Namun, pada ekstrak sampel daerah daerah Ngawi didapatkan hasil densitogram yang berbeda. Pada Gambar 3 didapatkan hasil yang menyatakan bahwa semakin tinggi intensitas warna maka akan semakin tinggi puncak yang dihasilkan. Seperti pada penelitian [26] yang menyatakan bahwa semakin tinggi puncak yang dihasilkan dikarenakan intensitas warna pada gambar yang semakin cerah, semakin besar pula konsentrasi komponen dan juga sebaliknya. Pada Tabel 4 didapatkan nilai *AUC* dengan total presentase daerah Tuban 40%, Bojonegoro 36%, dan Ngawi 24%. Hasil total presentase menyimpulkan bahwa, semakin rendah lokasi pengambilan sampel maka semakin besar kadar kandungan senyawa aktif.

**Tabel 4** Hasil analisis rata – rata data *AUC* berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel

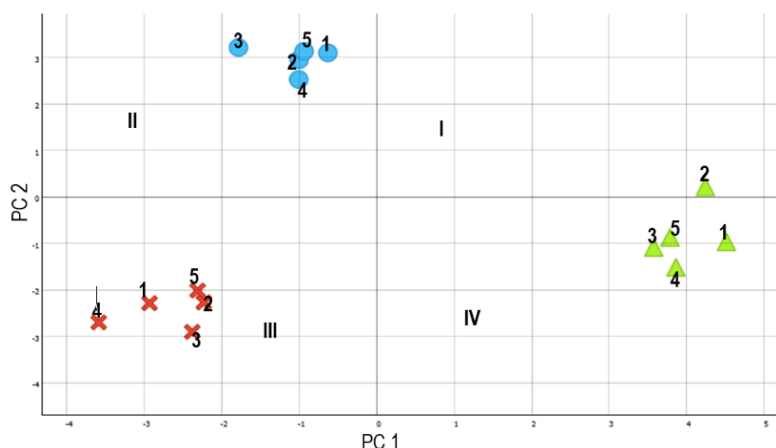
Titik <i>Rf</i>	Nilai <i>AUC</i> (Area Under Curve)		
	Tuban	Bojonegoro	Ngawi
1	53.484,96	50.529,08	60.241,00
2	67.669,90	-	-
3	57.122,02	80.564,52	8.208,12
4	81.575,27	10.446,52	13.558,45
5	46.699,57	86.329,17	24.596,35
6	67.853,06	38.322,17	21.585,76
7	74.744,70	48.240,61	12.478,34
8	33.033,05	70.671,63	22.638,11
9	-	-	9.651,414
10	67.706,52	-	20.683,04
11	-	-	33.109,74
12	96.748,61	33.583,37	38.737,95
13	-	83.428,43	43.758,80
14	-	72.395,19	50.595,06

### 3.6 Data Hasil Dengan Analisis Multivariat PCA (Principle Componen Analysis)

Pada (Tabel 4) merupakan nilai *AUC* tiga daerah yang kemudian diolah dengan PCA menggunakan software orange. PCA bertujuan untuk mereduksi data sehingga membuat data menjadi lebih sederhana. Jumlah variabel dalam suatu matriks dengan cara dikurangi sehingga mendapatkan variabel baru, akan tetapi tetap memuat minimal 70% menyerap varian data asli [27]. Hasil analisis multivariat PCA pada Gambar 4 menunjukkan suatu pengelompokan yang mampu menjelaskan 91% yang berpengaruh. Sehingga, terdapat 91% data yang berkontribusi dalam menjelaskan PC dari variasi total (PC1= 52,5%, PC2= 38,5%), dan didapatkan saling berdekatnya pengelompokan pada ulangan sampel di daerah yang sama. Pada Gambar 4 sudah secara jelas menunjukkan bahwa tanpa melakukan identifikasi golongan senyawa terhadap pelat KLT, PCA mampu mengelompokkan senyawa yang terekstrak pada tumbuhan anting – anting dari ketiga

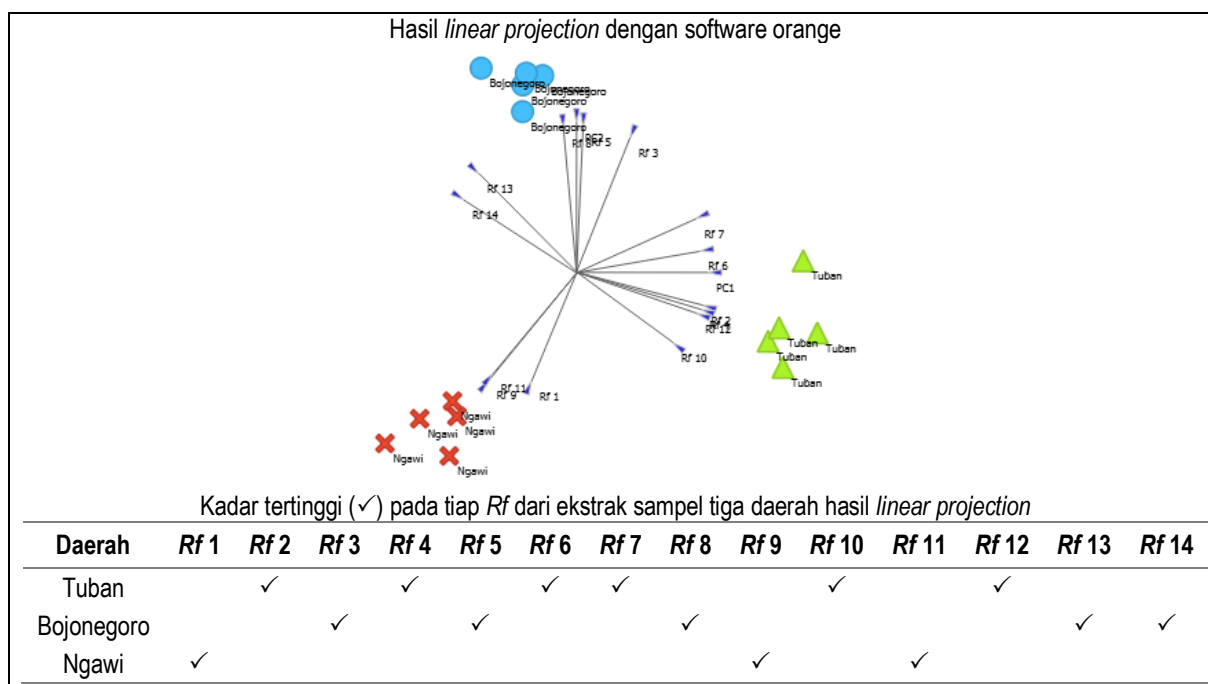
daerah yang berbeda berdasarkan nilai *AUC*-nya. Dalam hal ini, cukup melakukan visualisasi secara langsung dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

Pada Gambar 4 menyatakan sumbu X adalah PC 1 dan sumbu Y adalah PC 2, sehingga didapatkan ekstrak sampel daerah Tuban terdapat di kuadran I dan IV, dengan nilai matriks korelasi ulangan 1 sampai 5 sumbu X dan Y bernilai (4.18, -1.1); (3.73, 0.16); (3.36, -0.77); (3.79, -1.19); (3.57, -0.68). Pada ekstrak sampel daerah Bojonegoro terdapat di kuadran II, dengan nilai matriks korelasi ulangan 1 sampai 5 sumbu X dan Y bernilai (-1.08, 3.15); (-1.09, 3.20); (-1.17, 3.08); (-1.13, 3.09); (-1.14, 2.97). Pada ekstrak sampel daerah Ngawi terdapat di kuadran III, dengan nilai matriks korelasi ulangan 1 sampai 5 sumbu X dan Y bernilai (-2.57, -1.92); (-2.46, -2.51); (-2.76, -2.78); (-2.93, -2.62); (-2.27, -2.03). [24] menyatakan sampel yang berada pada kuadran yang saling berdekatan memiliki karakteristik yang sama, dan semakin jauh jarak antar sampel maka semakin sedikit kesamaan yang dimiliki.



**Gambar 4.** Hasil pengelompokan berdasarkan analisis *PCA Acalypha indica* dengan perbedaan lokasi pengambilan sampel (▲) Tuban (●) Bojonegoro (×) Ngawi

Pada Gambar 4 menunjukkan pengelompokan pada *PCA* yang berbeda terhadap dugaan awal. Dugaan awal menyatakan ekstrak sampel daerah Tuban dan Bojonegoro memiliki kesamaan hasil warna filtrat, jumlah noda, dan densitogram. Hasil warna filtrat, jumlah noda, dan densitogram yang sama mengasumsikan terdapat kesamaan senyawa aktif, akan tetapi hasil pengelompokan pada *PCA* menunjukkan ekstrak sampel daerah Tuban dan Bojonegoro terdapat pada kuadran yang berbeda dan saling berjauhan. Diduga golongan senyawa aktif pada ekstrak sampel daerah Tuban dan Bojonegoro berbeda.



**Gambar 5.** *Linear Projection* dari *Acalypha indica* berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel (▲) Tuban (●) Bojonegoro (×) Ngawi

Analisis yang lebih dalam terhadap pengelompokan terdapat pada proses selanjutnya yaitu *linear projection*. Pada Gambar 5 hasil *linear projection* mengasumsikan bahwa, kontribusi yang kuat dari tiga daerah pengambilan sampel menggambarkan nilai kadar yang paling tinggi terhadap titik *Rf*. Titik *Rf* yang banyak berkontribusi adalah pada sampel daerah Tuban, banyaknya kontribusi berbanding lurus dengan tingginya kadar senyawa aktif. Hal ini dikarenakan lokasi pengambilan sampel daerah Tuban berada pada dataran yang paling rendah ( $\pm 10$  mdpl) dengan suhu yang tinggi. Seperti pada penelitian [22] didapatkan identifikasi kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan, diketahui pada daerah dataran rendah Semarang ( $\pm 4$  mdpl) dengan suhu yang lebih tinggi memiliki kandungan aktivitas antioksidan dan fenolik yang relatif tinggi, jika dibandingkan dengan dataran tinggi kopeng ( $\pm 1350$  mdpl).

#### 4. Kesimpulan

Pada pemisahan senyawa aktif ekstrak daun tumbuhan anting-anting didapatkan jumlah noda yang berbeda dengan hasil 14 *Rf*. Pada sampel daerah Tuban terdapat 10 noda, sampel daerah Bojonegoro terdapat 10 noda, dan sampel daerah Ngawi terdapat 13 noda. Selain itu, kadar yang didapatkan juga berbeda. Analisis multivariat *PCA* juga menjelaskan terdapat 91% data yang berkontribusi dalam menjelaskan PC dari variasi total (PC1= 52,5%, PC2= 38,5%). Berdasarkan hasil tersebut, membuktikan bahwa perbedaan lokasi tumbuh berpengaruh terhadap jumlah dan kadar senyawa aktif dengan terdapat perbedaan kontribusi pada *linear projection*.

Diharapkan kedepannya pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas dan analisis hasil menggunakan LC-MS (*Liquid chromatography–mass spectrometry*). Sehingga, diperoleh dugaan senyawa penciri dan berkorelasi terhadap aktivitas tertentu.

#### Daftar Pustaka

- [1] A. Hariana, *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*, Seri Agris. Jakarta: Penebar Swadaya, 2005.
- [2] E.K., Hayati, A. Jannah, & R. Ningsih, "Identifikasi senyawa dan aktivitas antimalaria in vivo ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting (*Acalypha indica*, L.)", *Molekul*, vol. 7, no.1, pp.20-32, 2012.
- [3] F.T., Rahma, "Uji Toksisitas Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut Dan Lama Ekstraksi", Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2018.
- [4] H.S., Kirom, & Z.M. Ramadhania, "Review Artikel: Aktivitas Biologis Tumbuhan Kucing-Kucingan (*Acalypha Indica* L.)", *Farmaka*, vol. 15, no. 3, 2017.
- [5] E. Astuti, R. Sunarminingsih, U. Anggara Jenie<sup>3</sup>, S. Mubarika, & Sismindari, "Pengaruh Lokasi Tumbuhan, Umur Tanaman Dan Variasi Jenis Destilasi Terhadap Komposisi Senyawa Minyak Atsiri Rimpang Curcuma Mangga Produksi Beberapa Sentra di Yogyakarta (Impact Of Growing Sites, Plant Ages And Variance Of Distillation Types To Curcuma Mangga Essential Oil Composition Of Several Areas Production In Yogyakarta)", *J. Manusia Dan Lingkungan*, vol. 21, no.3, 2014.
- [6] K. Kartini, N. I. E. Jayani, M. A. Hadiyat, & C. Avanti, "Thin Layer Chromatography Fingerprinting and Clustering of *Orthosiphon stamineus* Benth. from Different Origins", *Pharmacognosy Journal*, vol. 12, no. 1, pp. 1683-1691. 2020.
- [7] Y.A., Gustina, "Analisis Kandungan Flavonoid Pada Berbagai Usia Panen Tanaman Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm. F.) Secara Spektrofotometri", Skripsi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, 2017.
- [8] B.L., Mpapa, "Analisis Kesuburan Tanah Tempat Tumbuh Pohon Jati (*Tectona grandis* L.) pada Ketinggian yang Berbeda", *Jurnal Agrista*, vol. 20, no. 3, pp.135– 139, 2016.
- [9] M. Salim, Yahya, Sitorus, H. Ni'mah, & Marini, "Hubungan Kandungan Hara Tanah dengan Produksi Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman Duku (*Lansium domesticum* Corr var *Duku*) dan Potensinya sebagai Larvasida", *Jurnal Vektor Penyakit*, vol. 10, no. 1, pp.11–18, 2016.
- [10] T. Efferth, H.J. Greten, "Quality Control for Medicinal Plants", *Medicinal and Aromatic Plants*, vol.1, no.7, pp. 2167-0412, 2012, doi: 10.1088/1751-8113/44/8/085201.
- [11] N. Ketut and L. Puspa, "Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) The Effect of Different Types of Solvents on Total Levels of Flavonoid Extract (*Annona muricata* L.) Abstrak," vol. 001, 2023.
- [12] W. Tri, M. Saharah, Z. Arif, and M. Rafi, "Thin Layer Chromatographic Fingerprint and Chemometrics Analysis for Identification of *Phyllanthus niruri* from its Related Species," vol. 03, no. 3, pp. 47–52, 2020.



- [13] M. T., Laksono "Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Anting-Anting (*Acalypha indica* L.)", *Alchemy: Journal of Chemistry*, vol. 9, no. 2, pp. 54-62, 2021.
- [14] S. Novianti, A. Arisandi, "Analisis Kosentrasi Kadar Lemak, Protein, Serat Dan Karbohidrat Alga Coklat (*Sargassum Crassifolium*) Pada Lokasi Yang Berbeda", *Juvenil:Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, vol. 2, no. 1, pp. 32-38, 2021.
- [15] R. Kumalasari, "Stabilitas Alkaloid Ekstrak Etil Asetat Tanaman AntingAnting (*Acalypha Indica* L.) Secara Kromatografi Lapis Tipis Berdasarkan Waktu Pengamatan Uv dan Kelembaban", Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2019.
- [16] I.R. Hikmah, & R.N. Yasa, "Perbandingan Hasil Prediksi Diagnosis pada Indian Liver Patient Dataset (ILPD) dengan Teknik Supervised Learning Menggunakan Software Orange", *Jurnal Telematika*, vol. 16, no. 2, pp. 69-76, 2021.
- [17] M.M. Laut, N. Ndaong, F. Amalo, L. Toha, & H.U. Deta, "Profil Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Anting–Anting (*Acalypha indica* Linn) Di Kota Kupang. Ntt, *Jurnal Kajian Veteriner*, vol. 8, no. 2, pp. 153-163, 2020.
- [18] R. Fauzi, A. Fatmawati, Emelda, "Efek Anti diare Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Pada Mencit Putih Jantan", *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, vol. 6, no.1, pp. 35-39, 2020.
- [19] S. Handayani, A.K. Masdiana, "Profil Fitokimia dan Pemeriksaan Farmakognostik Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.)", *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, vol. 5, no. 1, pp. 258-265, 2018
- [20] J.K. Gulo, & M.P. Nasution, "Uji Antibakteri Formulasi Sediaan Sabun Cuci Tangan Ekstrak Etanol Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*", *Journal of Health and Medical Science*, pp. 68-75, 2022.
- [21] F. R. Rosalina, "Penguujian Strategi Momentum Pada SahamSaham Winners Yang Terdaftar Di Bursa Efek Indonesia Periode 2013- 2017," Unika Soegijapranata, Semarang, 2019.
- [22] D. S. Utomo, E. Betty, and E. Kristiani, "Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid , Fenolik , Klorofil , Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda ( *Stachytarpheta Jamaicensis* ) The Effect of Growth Location on Flavonoid , Phenolic , Chlorophyll , Carotenoid and Antiox," vol. 22, no. 2, 2020.
- [23] I. Gouvinhas, R. Pinto, R. Santos, M.J. Saavedra, & A.I. Barros, "Enhanced Phytochemical Composition And Biological Activities Of Grape (*Vitis Vinifera* L.) Stems Growing In Low Altitude Regions", *Scientia Horticulturae*, 265, 109248, 2020.
- [24] C. Nisa, P. Saputra, & E. Setiawati, "Pengembangan dan Validasi Metode Uji Cadmium (Cd) pada Air Permukaan Secara Spektrometri Serapan Atom Nyala", *Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Standardisasi*, Vol. 2020, pp. 249-258, Badan Standardisasi Nasional, 2021.
- [25] S.Y. Era, L. Eka, & I.N.K. Widjaja, "Pengaruh Variasi Kepolaran Fase Gerak Aseton-diklorometana: Metanol-asam Asetat terhadap% Distribusi (+)-Katekin dari Gambir dengan Metode Kromatografi Cair Vakum", *Jurnal Farmasi Udayana*, vol. 1, no. 1, 279706, 2012.
- [26] S.A. Fitriani, "Diferensiasi Temulawak, Kunyit, dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan ImageJ", Skripsi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, 2011.
- [27] J. Supranto, "*Analisis Multivariat: Arti Dan Interpretasi*", Cetakan Pertama, Jakarta: PT. Rineka Cipta, 2004.