

Metabolite Profiling Famili Asteraceae (Kenikir, Bunga Matahari, Krisan) dengan Metode HPTLC dan Principal Component Analysis (PCA)

Metabolite Profiling of Asteraceae Family (Kenikir, Sunflower, Chrysanthemum) using HPTLC Method and Principal Component Analysis (PCA)

Roihatul Mutiah¹⁾, Amanda Milano Andiartama²⁾, Elok Kamilah Hayati³⁾

^{1,2}Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

³Program Studi Sarjana Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

*e-mail: roiha@farmasi.uin-malang.ac.id

ABSTRACT

Plants from the Asteraceae family in Indonesia have high bioactive potential due to their content of compounds such as lactones, alkaloids, and tannins. This study aims to analyze the metabolite profile of the leaves of kenikir, sunflower, and chrysanthemum from the Asteraceae family using a metabolomics approach. Leaf extracts were obtained through ultrasonic extraction with 96% ethanol and analyzed using High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC). Visualization was performed using a TLC Visualizer instrument and ImageJ software, resulting in densitograms. Metabolite profiling using HPTLC and PCA analysis has practical implications for strengthening quality control and phytochemical standardization through species authentication, metabolite marker identification, and ensuring product consistency of Asteraceae-based herbal preparations. The results showed differences in the number of nodas and colour intensity among samples. PCA results indicated that metabolite distributions clustered in different areas, with a total variation of 72.5% (PC1 = 56.5% and PC2 = 15.9%). Heatmap analysis showed that sunflower leaf extract had the highest intensity of active compounds, indicated by a darker red area due to the highest AUC value. This study demonstrated that there are differences in metabolite profiles among the three plants from the same family.

Keywords: *Metabolite Profile, Asteraceae, HPTLC, Principal Component Analysis*

ABSTRAK

Tanaman dari famili Asteraceae di Indonesia memiliki berbagai potensi bioaktif yang tinggi karena kandungan senyawa seperti lakton, alkaloid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis profil metabolit daun kenikir, bunga matahari, dan krisan yang berasal dari famili Asteraceae dengan pendekatan metabolomik. Ekstrak daun diperoleh melalui ekstraksi ultrasonik dengan etanol 96% dan dianalisis menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC). Visualisasi dilakukan dengan menggunakan instrumen *TLC Visualizer* dan perangkat lunak *ImageJ*, sehingga menghasilkan densitogram. Profil metabolit dengan HPTLC dan analisis PCA berimplikasi pada penguatan kontrol kualitas dan standarisasi fitokimia melalui autentikasi spesies, identifikasi marker metabolit, serta penjaminan konsistensi mutu produk herbal berbasis Asteraceae. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah noda dan intensitas warna antar sampel. Hasil PCA menunjukkan sebaran metabolit mengelompok pada area yang berbeda, dengan total variasi 72,5% (PC1 = 56,5% dan PC2 = 15,9%). Analisis *Heatmap* menunjukkan bahwa ekstrak daun bunga matahari memiliki intensitas senyawa aktif tertinggi, yang ditandai dengan area merah yang lebih pekat akibat nilai AUC tertinggi. Penelitian ini membuktikan bahwa terdapat perbedaan profil metabolit pada ketiga tanaman yang berasal dari famili yang sama.

Kata kunci: *Profil Metabolit, Asteraceae, HPTLC, Principal Component Analysis*

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai negara “megabiodiversitas” hayati yang tinggi, menempati peringkat ketiga dunia setelah Brazil dan Zaire. Keanekaragaman ini meliputi flora dan fauna, termasuk tumbuhan dari famili Asteraceae yang memiliki berbagai manfaat seperti obat, sayuran, dan hiasan. Famili ini mengandung senyawa bioaktif, seperti seskuiterpen, alkaloid, tanin, dan saponin, yang berpotensi sebagai agen farmakologis (Amal dkk., 2021; Simanjuntak, 2017).

Meskipun famili ini memiliki banyak anggota dengan kemiripan visual, namun profil metabolit yang dikandungnya sering kali berbeda. Hal ini telah dibuktikan melalui penelitian metabolomik terhadap sepuluh spesies Asteraceae di Brazil menggunakan UPLC-MS/MS, yang menunjukkan adanya variasi signifikan dalam kandungan senyawa kimia antar spesies. Analisis komponen utama (PCA) yang dilakukan mengidentifikasi dan mengelompokkan perbedaan kontribusi senyawa dalam tiap spesies (De Athayde et al., 2021).

Hingga saat ini, penelitian yang secara spesifik membandingkan profil metabolit dari spesies Asteraceae yang tumbuh di Indonesia masih terbatas, khususnya pada daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp.). Padahal, famili Asteraceae diketahui mengandung senyawa seskuiterpen lakton yang memiliki aktivitas biologis penting (Mutiah et al., 2017). Ketiga tanaman tersebut tidak hanya memiliki potensi farmakologis yang tinggi dan telah banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, tetapi juga menarik untuk diteliti lebih lanjut karena ketersediaan data ilmiah mengenai profil metabolitnya masih minim. Selain itu, penelitian ini merupakan kelanjutan dari riset peneliti sebelumnya, sehingga diharapkan dapat memperkuat dasar ilmiah dalam memahami variasi maupun kesamaan profil metabolit ketiga spesies tersebut serta mendukung upaya standarisasi fitokimia.

Penelitian ini memiliki kebaruan (*novelty*) dalam membandingkan profil metabolit daun kenikir, bunga matahari, dan krisan yang berasal dari famili Asteraceae. Fokus utama penelitian ini adalah mengidentifikasi metabolit sekunder, yaitu senyawa yang dihasilkan tanaman dalam kondisi tertentu dan berperan penting dalam aktivitas biologis (Kusbiantoro & Purwaningrum, 2018). Metode yang digunakan adalah *metabolite profiling*, yang memungkinkan analisis kelompok senyawa tertentu yang terkait dengan jalur sintesis metabolit (Simamora & Wening, 2021). Pendekatan *metabolite profiling* memiliki cakupan yang cukup luas karena mampu memberikan gambaran menyeluruh mengenai keberagaman senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu sampel tanpa harus mengidentifikasi secara detail seluruh strukturnya. Metode ini tidak

hanya menekankan pada kuantifikasi, tetapi juga menyoroti pola kemiripan dan perbedaan antar-sampel sehingga dapat digunakan sebagai langkah awal dalam memahami kompleksitas kimiawi suatu tanaman. Urgensi penggunaan *metabolite profiling* terletak pada kemampuannya untuk memetakan variasi senyawa bioaktif yang berpotensi dikaitkan dengan aktivitas farmakologis maupun sebagai penanda kualitas. Hal ini penting mengingat metabolit sekunder, seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid, berperan besar dalam memberikan efek terapeutik serta dalam standarisasi bahan alam sebagai bahan baku obat. Dengan demikian, *metabolite profiling* dapat menjadi strategi kunci baik dalam penemuan kandidat senyawa obat baru maupun dalam menjamin konsistensi kualitas produk berbasis bahan alam.

Analisis dilakukan menggunakan teknik *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) dengan instrumen TLC Visualizer. Metode ini dipilih karena relatif sederhana, cepat, akurat, serta sangat sesuai untuk karakterisasi material alami dengan kompleksitas metabolit yang tinggi (Layly et al., 2023). Dibandingkan dengan teknik kromatografi lain, seperti HPLC atau GC-MS yang membutuhkan biaya tinggi, preparasi rumit, dan waktu analisis lebih panjang, HPTLC memiliki keunggulan dalam efisiensi, kemampuan analisis simultan banyak sampel, serta penyajian data visual berupa pola fingerprint yang mudah dibandingkan antarspesies. Meskipun sensitivitasnya tidak setinggi LC-MS atau NMR, HPTLC tetap unggul untuk tujuan *profiling* dan standarisasi awal bahan alam. Dalam penelitian ini, HPTLC digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan Retardation factor (Rf) dan luas area sampel, yang kemudian dianalisis dengan perangkat lunak ImageJ untuk memperoleh data kuantitatif. Selanjutnya, data diproses menggunakan analisis multivariat Principal Component Analysis (PCA) guna mengelompokkan komponen metabolit dari ketiga spesies. Pendekatan kombinatorik ini terbukti efektif dalam mengidentifikasi variasi kandungan metabolit pada berbagai famili tumbuhan, termasuk Asteraceae, Fabaceae, dan Rosaceae (Lee et al., 2020). Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi signifikan dalam eksplorasi potensi farmakologis famili Asteraceae, serta membuka peluang untuk pengembangan obat herbal berbasis tanaman lokal. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya memperkaya khazanah ilmiah, tetapi juga mendukung industri farmasi dalam menemukan kandidat obat baru, mengidentifikasi metabolisme senyawa, dan meningkatkan kontrol kualitas (Burhan dkk., 2020).

METODE

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan untuk melakukan penelitian ini terdiri dari pelarut etanol 96%, daun famili Asteraceae yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus*

annuus L.), dan krisan (*Chrysanthemum* Sp.) yang dianalisis menggunakan plat kaca HPTLC CAMAG berukuran 8×10 cm, eluen kloroform:metanol perbandingan 9:1 (MERCK), timbangan analitik digital (*Pioneer*), alat ekstraksi ultrasonik (*Soltec Sonica Ultrasonic Cleaner*), gelas ukur (*iwaki*), pipet tetes, gelas erlenmeyer (*iwaki*), kertas saring, corong kaca (*Herma*), batang pengaduk, sendok tanduk, botol kaca, botol vial, *chamber* (CAMAG), instrumen *moisture content analyzer*, instrumen *TLC Visualizer* (CAMAG), *microsyringe*, perangkat lunak *ImageJ* (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>), dan *website metaboanalyst 6.0* (<https://www.metaboanalyst.ca/>).

Preparasi Sampel

Daun dari keluarga Asteraceae (kenikir, bunga matahari, krisan) dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya, daun dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C hingga mencapai berat yang stabil. Seperti yang dinyatakan pada penelitian terdahulu, bahwa penerapan suhu 50°C menghasilkan daun kering yang menunjukkan warna hijau cerah, struktur jaringan yang khas, dan kandungan flavonoid, seperti yang ditentukan melalui HPTLC (Fahmi dkk., 2020) Selanjutnya, daun kering dihaluskan sampai konsistensi seragam tercapai, membentuk bubuk simplisia. Serbuk ini kemudian diayak dengan ayakan 90 mesh. Serbuk yang berhasil lolos ayakan digunakan sebagai sampel untuk diekstraksi, sedangkan serbuk yang tersisa digerus kembali hingga mencapai kehalusan yang diinginkan.

Analisis Kadar Air

Analisis Kadar Air Serbuk simplisia yang diperoleh dilakukan analisis untuk memastikan kadar airnya, dengan menggunakan alat kadar air untuk memastikan bahwa kadar airnya $\leq 10\%$. Pengujian dimulai dengan mengaktifkan alat hingga layar menunjukkan "*sample pan handler*" dan nilai numerik ditampilkan sebagai 0,000. Sekitar 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam wadah dan kemudian disegel. Perangkat diprogram untuk secara otomatis mengukur kadar air dan menampilkan hasilnya dalam bentuk persentase pada layar (Department Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Ekstraksi dengan *Ultrasonic Assisted Extraction*

Daun dari keluarga Asteraceae (kenikir, bunga matahari, krisan) diekstraksi dengan menggunakan metode ultrasonik (UAE) karena efisiensi dalam hal waktu dan penggunaan pelarut, sehingga menghasilkan ekstrak yang optimal. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 1:10 yaitu 0,5 gram serbuk daun diekstraksi dengan etanol 96% sebanyak 5 mL. Proses UAE dilakukan pada suhu 40°C, frekuensi 50 kHz, amplitudo 65%, dan siklus *pulse*

on/pulse off 10 detik (Nafisa et al., 2023). Proses ekstraksi dilakukan selama 20 menit, karena merupakan waktu yang paling optimal (Handayani dkk., 2016). Penelitian menunjukkan bahwa suhu 40°C adalah kondisi optimal untuk proses ekstraksi. Namun, memperpanjang durasi ekstraksi tidak menghasilkan peningkatan rendemen yang signifikan di luar titik kesetimbangan (Buanasari dkk., 2019). Serbuk simplisia ditimbang sebanyak lima kali ulangan, dimasukkan ke dalam botol kaca, dan disaring menggunakan corong kaca dan kertas saring untuk mendapatkan filtrat yang jernih, yang kemudian ditampung ke dalam botol vial (Prastyo & Rahayoe, 2018).

Identifikasi Profil Metabolit menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography*

Metabolite Profiling dilakukan dengan menotolkan sebanyak 10 µL ekstrak pada lempeng kaca HPTLC (8 cm x 10 cm). Plat dielusi menggunakan eluen kloroform:metanol (9:1) yaitu 9mL kloroform dan 1 mL methanol yang telah dijenuhkan selama 15-30 menit di dalam chamber hingga eluen mencapai batas atas. Penjenuhan dilakukan dengan menggunakan kertas saring yang dibasahi eluen untuk memastikan lingkungan uap jenuh tercapai secara merata. Kelembaban relatif selama proses pengembangan dijaga pada kisaran 40–60%, karena fluktuasi kelembaban dapat memengaruhi migrasi senyawa pada fase diam. Suhu ruangan juga dikontrol pada $25 \pm 2^\circ\text{C}$, mengingat suhu dapat memengaruhi viskositas pelarut dan kecepatan pergerakan fase gerak. Penotolan dilakukan sebanyak 5 kali untuk setiap sampel dengan jeda pengeringan antarnoda untuk menghindari difusi berlebihan. Setelah itu, plat dipindai menggunakan *TLC Visualizer* untuk mendeteksi noda pada semua lintasan dan menghitung nilai R_f . Setelah menghitung nilai R_f pada setiap noda, kemudian ditentukan nilai rata-rata dan standar deviasinya. Hasil nilai R_f dapat diterima jika standar deviasinya $\leq 0,05$ (Laksono & Hayati, 2021).

Analisis Data menggunakan *Image J*

Analisis data kromatogram dilakukan dengan memilih gambar lempeng HPTLC dalam format JPG melalui menu *Open File*. Setiap pola sidik jari kemudian ditandai menggunakan bidang penandaan (*preprocessing*). Untuk melanjutkan, menu *Analyze – Gels* dipilih, diikuti dengan pilihan *Select first line* atau *Select next line* untuk kotak berikutnya. Penyesuaian kecerahan dan kontras dilakukan melalui menu *Adjust* hingga diperoleh gambar noda yang jelas. Selanjutnya, menu *Analyze – Gels – Plot Lanes* dipilih untuk menampilkan kromatogram dari setiap pita TLC berdasarkan intensitas warna yang telah ditentukan. Ikon garis *Straight* diklik untuk menggambar garis dasar di bawah puncak, serta memastikan garis tersebut memotong dasar puncak. Ikon *Wand Tool* kemudian ditekan pada setiap puncak hingga diperoleh nilai Area Under Curve (AUC) yang diinginkan (Putri et al., 2018).

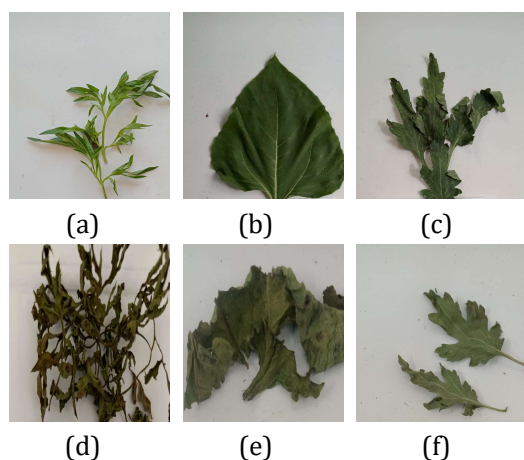
Perbandingan Profil Metabolit Senyawa menggunakan PCA

Profil metabolit dari ekstrak daun famili Asteraceae (kenikir, bunga matahari, krisan) dianalisis menggunakan platform *MetaboAnalyst* (Chong et al., 2019). Data awal berupa nilai AUC hasil pengolahan dengan perangkat lunak ImageJ disusun dalam Microsoft Excel dengan format *Comma-Separated Values* (.csv). Data kemudian diunggah ke *MetaboAnalyst* dengan format 'samples in rows (unpaired)'. Proses normalisasi dilakukan dengan metode *auto scaling* pada tahap *data scaling* untuk mengurangi variabilitas antar sampel. Selanjutnya, analisis multivariat dilakukan menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengevaluasi perbedaan dan kesamaan profil metabolit antarspesies. Validasi model PCA dilakukan melalui prosedur *cross-validation* internal yang tersedia pada *MetaboAnalyst* untuk menilai ketahanan dan reliabilitas model, sehingga hasil analisis dapat lebih dipercaya. Visualisasi dilakukan menggunakan *score plot* untuk menggambarkan pengelompokan sampel serta *heatmap* untuk melihat kedekatan profil metabolit berdasarkan intensitas warna (Chong et al., 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan daun tanaman keluarga Asteraceae (kenikir, bunga matahari, krisan) yang diambil dari Kota Batu. Daun yang digunakan adalah daun utuh, tidak berlubang, dan berwarna hijau segar untuk memastikan kandungan senyawa aktif masih optimal (Laut et al., 2020). Penyortiran dilakukan untuk meminimalisir kontaminasi mikroba dan memastikan kualitas simplisia yang baik dan seragam (Handoyo & Pranoto, 2020). Simplisia dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C untuk mengurangi kadar air, mencegah penurunan kualitas, dan memperpanjang umur simpan (Ariani et al., 2022). Pada Gambar 1 menunjukkan hasil pengeringan simplisia daun.



Gambar 1. Preparasi Sampel Daun Keluarga Asteraceae Contoh Preparasi Daun dari Famili Asteraceae: (a) kenikir segar (*Cosmos caudatus* Kunth), (b) bunga matahari segar (*Helianthus annuus* L.) (c) krisan segar (*Chrysanthemum* sp), (d) kenikir kering, (e) bunga matahari kering, (f) krisan kering

Simplisia kemudian digiling hingga halus untuk memperbesar luas kontak dengan pelarut dan mempercepat laju ekstraksi (Asworo & Widwastuti, 2023). Preparasi menghasilkan serbuk simplisia dengan karakteristik warna berbeda, yaitu bunga matahari dan daun krisan berwarna hijau tua, sedangkan kenikir berwarna hijau muda. Perbedaan warna tersebut dapat dipengaruhi oleh karakteristik morfologi alami masing-masing spesies serta kemungkinan perbedaan waktu atau usia panen. Pada penelitian ini, fokus utama lebih ditekankan pada perbandingan kandungan senyawa aktif antar spesies, sehingga faktor waktu atau usia panen belum diperhitungkan secara khusus karena sampel tidak dibudidayakan secara mandiri. Hal ini menjadi catatan penting untuk penelitian selanjutnya agar dapat dilakukan standarisasi umur tanaman dan kondisi panen guna memperoleh hasil yang lebih terkontrol.

Analisis Kadar Air

Pengujian kadar air simplisia perlu dilakukan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam simplisia kering. Kadar air dapat mempengaruhi kualitas simplisia, seperti lebih mudah terkontaminasi oleh mikroorganisme dan menyebabkan kerusakan fisik pada simplisia (Wijaya & Noviana, 2022). Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian kadar air dari ketiga sampel.

Tabel 1. Kadar Air Sampel Daun dari Famili Asteraceae yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

Sample	Kadar Air (%)
Serbuk Simplisia Daun Kenikir	7%
Serbuk Simplisia Daun Bunga Matahari	5,73%
Serbuk Simplisia Daun Krisan	8,6%

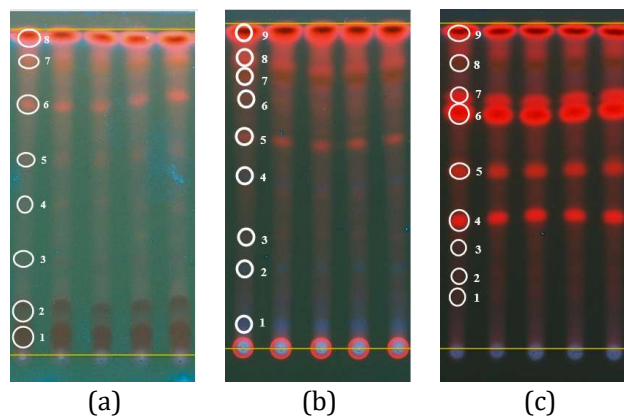
Hasil penetapan kadar air dari ketiga sampel pada tabel di atas adalah $\leq 10\%$, dimana hal ini sesuai dengan persyaratan kadar air yang baik untuk simplisia agar tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak kandungan senyawa kimia dalam simplisia. Hal ini dimungkinkan berkaitan dengan metode pengeringan menggunakan oven. Simplisia yang dikeringkan dengan oven memiliki kadar air yang lebih rendah dibandingkan dengan simplisia yang dikeringkan dengan sinar matahari (Wijaya & Noviana, 2022). Hal ini tentu menjelaskan alasan simplisia serbuk pada penelitian ini memiliki kadar air yang sudah sesuai dengan persyaratan.

Ekstraksi dengan *Ultrasonic Assisted Extraction*

Hasil ekstraksi dari ketiga sampel berupa ekstrak cair atau filtrat yang menunjukkan warna yang berbeda. Sampel daun bunga matahari dan daun krisan berwarna hijau agak tua, sedangkan daun kenikir berwarna hijau muda. Perbedaan warna filtrat ini diduga karena adanya perbedaan kandungan senyawa aktif pada ketiga sampel tersebut (Hidayaty & Hayati, 2024). Penggunaan ekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* lebih efisien dikarenakan membutuhkan suhu yang lebih rendah, pelarut yang lebih sedikit, dan waktu yang lebih singkat. Hasil filtrat dari ketiga sampel ini digunakan untuk tahap selanjutnya, yaitu pemisahan dengan HPTLC.

Identifikasi Profil Metabolit menggunakan *High Performance Thin Layer Chromatography*

Pemisahan filtrat dari tiga sampel tanaman yang termasuk dalam famili Asteraceae dilakukan dengan menggunakan TLC dengan plat kaca CAMAG HPTLC. Pemilihan plat ini didasarkan pada ketahanannya yang tinggi, transparansi, stabilitas panas, dan efisiensi pemisahan yang lebih baik dibandingkan dengan plat aluminium atau plat konvensional.



Gambar 2. Hasil HPTLC Daun Famili Asteraceae Dengan Ekstraksi 5x Replikasi (a) kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), (b) bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), (c) krisan (*Chrysanthemum* sp)

Pemisahan senyawa dengan HPTLC menunjukkan jumlah noda yang berbeda pada setiap sampel, terlihat pada Gambar 2. Ekstrak daun kenikir memiliki 8 noda, sedangkan ekstrak bunga matahari dan daun krisan masing-masing memiliki 9 noda. Penelitian ini tidak melakukan uji identifikasi senyawa, sehingga pola pemisahan didasarkan pada kepolaran dan nilai R_f (Tabel 2). Senyawa polar dengan nilai R_f kecil terdistribusi pada fasa diam, sedangkan senyawa semi-polar hingga non-polar dengan nilai R_f besar terdistribusi pada fasa gerak. Semakin mudah senyawa terdistribusi di fasa gerak, jarak pemisahannya semakin jauh, dan nilai R_f meningkat (Hidayaty & Hayati, 2024).

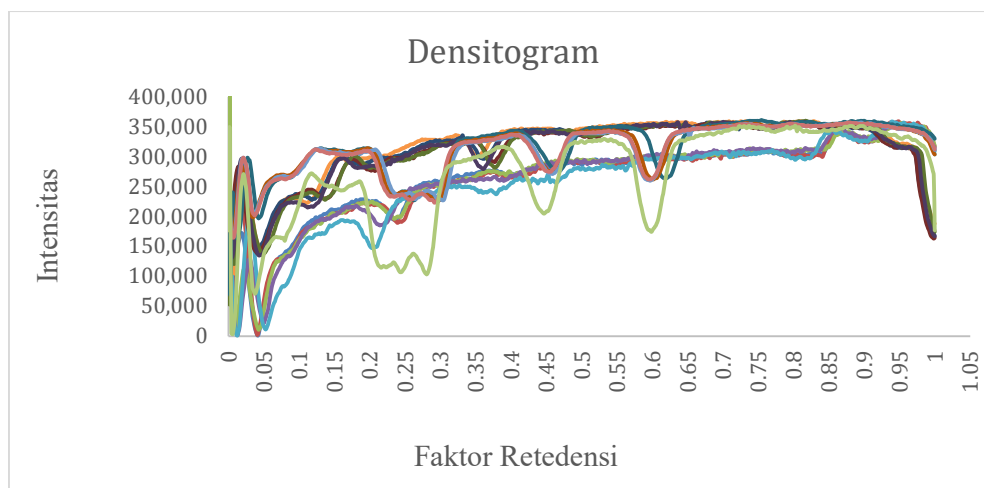
Tabel 2. Nilai Rf Sampel Daun dari Famili Asteraceae yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

Noda	Rf			Rata-Rata	Standar Deviasi
	Kenikir	Bunga Matahari	Krisan		
1	0,060	0	0,158	0,109	0,054
2	0	0,090	0	0,090	0,003
3	0,149	0	0,199	0,174	0,026
4	0	0,248	0	0,248	0,003
5	0,259	0	0,288	0,273	0,017
6	0	0,394	0,404	0,399	0,007
7	0	0,516	0	0,516	0,029
8	0,523	0,637	0,548	0,569	0,051
9	0,605	0	0,711	0,658	0,057
10	0,770	0,772	0,743	0,761	0,015
11	0,848	0,830	0	0,839	0,013
12	0,968	0,907	0,962	0,946	0,029
13	0	0,969	0,989	0,9792	0,011

Untuk memastikan kesamaan noda, nilai Rf dihitung dengan uji presisi menggunakan standar deviasi (SD). Hasilnya, diperoleh 13 noda Rf dengan karakteristik yang berbeda pada setiap sampel yang mencerminkan variasi kandungan senyawa aktif, ditunjukkan pada Tabel 2. Perbedaan ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan tumbuh, perlakuan pascapanen, suhu, kondisi tanah, naungan dan waktu panen (Wahyuni et al., 2020). Nilai Rf pada ketiga sampel memiliki SD antara 0,003-0,057 yang menunjukkan presisi yang tinggi. Dengan $\Delta Rf \leq 0,05$, maka kesamaan posisi bercak pada setiap sampel dapat dipastikan (Laksono & Hayati, 2021).

Analisis Data Kromatogram Menggunakan *Image J*

Gambar 2 plat HPTLC kemudian diproses dengan *aplikasi ImageJ* untuk mengubah gambar noda menjadi data kromatogram sehingga diperoleh nilai AUC. *ImageJ* digunakan untuk mengubah nilai noda menjadi densitogram berdasarkan intensitas warnanya. Dari pengolahan data nilai intensitas dengan menggunakan aplikasi *ImageJ*, didapatkan hasil pengolahan gambar plat HPTLC berupa data kromatogram yang menunjukkan adanya perbedaan dari ketiga sampel. Hal ini dimungkinkan karena kandungan senyawa aktif yang berbeda meskipun ketiga sampel berasal dari famili yang sama. Semakin curam puncak yang dihasilkan, maka semakin tinggi nilai konsentrasi komponen senyawa aktifnya, begitu pula sebaliknya (Hidayaty & Hayati, 2023).



Gambar 3. Densitogram ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

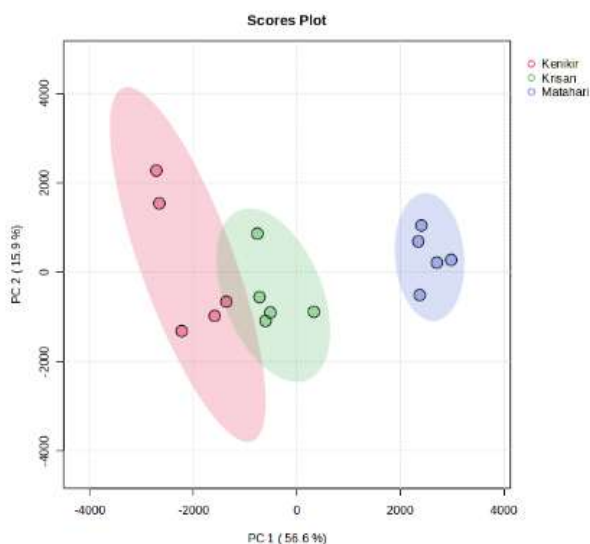
Data AUC yang dihasilkan pada Gambar 3 di atas menunjukkan bahwa semakin besar nilai AUC, maka semakin banyak kandungan senyawa aktifnya. Semakin tinggi puncak yang dihasilkan, semakin besar pula konsentrasi komponennya, dikarenakan intensitas warna pada gambar yang semakin cerah, begitu pula sebaliknya (Hidayaty & Hayati, 2024). Dari Gambar 3 tersebut untuk memudahkan pengolahan maka dilakukan proses untuk mendapatkan nilai AUC dengan menggunakan *software imagej*, sehingga dihasilkan data pada Tabel 3. Pada Tabel 3 dapat dilihat hasil dari nilai AUC dari ke-13 noda pada ketiga sampel. Nilai AUC belum bisa membuktikan pengelompokan, sehingga perlu pengolahan dengan PCA.

Tabel 3. Rata-rata AUC dari Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

RF	AUC (AREA UNDER CURVE)		
	KENIKIR	BUNGA MATAHARI	KRISAN
1	2500,8704	0	1644,1256
2	0	990,3102	0
3	1830,6772	0	1330,5476
4	0	1735,007	0
5	2262,859	0	1639,8162
6	0	1294,1366	1866,3436
7	0	1294,8924	0
8	1136,1888	1704,9924	1943,0646
9	1639,09	0	920,19360
10	1728,1562	1718,2190	1313,2228
11	327,8816	1264,4232	0
12	1471,2678	999,8752	1264,8182
13	0	1222,7140	1319,6648

Perbandingan Profil Metabolit Senyawa menggunakan PCA

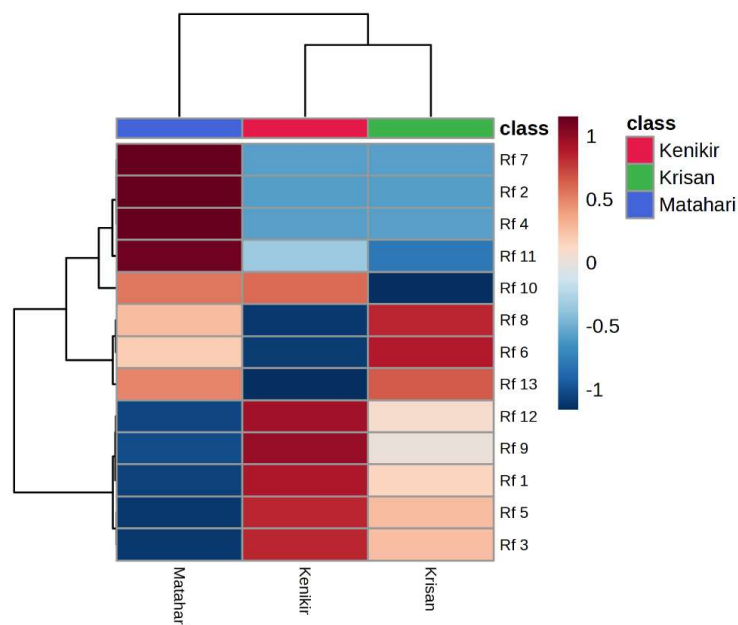
Pada Tabel 3 menyajikan nilai AUC dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp) yang kemudian diolah menggunakan metode PCA dengan bantuan perangkat lunak *imagej*. PCA digunakan untuk mereduksi atau menyederhanakan data, sehingga data yang kompleks dapat diubah menjadi lebih mudah dianalisis. Proses ini dilakukan dengan mengurangi jumlah variabel dalam matriks data awal dan menggantinya dengan variabel baru yang disebut komponen utama. Meskipun jumlah variabel berkurang, komponen utama ini tetap mempertahankan setidaknya 70% dari total variasi data asli, sehingga informasi penting dalam data tidak hilang selama proses reduksi (Hidayaty & Hayati, 2024).



Gambar 4. *Score Plot* Sampel Daun Famili Asteraceae yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

Pada Gambar 4 tersebut, *skorplot* menunjukkan pola pengelompokan dari ketiga sampel yang digunakan. PCA mampu mengelompokkan senyawa yang terekstrak pada ketiga sampel berdasarkan nilai AUC-nya. Dalam hal ini, cukup melakukan visualisasi secara langsung dengan menggunakan sinar UV (Hidayaty & Hayati, 2024). Semakin dekat titik-titik tersebut satu sama lain, maka semakin besar kemiripan nilai AUC-nya. Hasil *scoreplot* menunjukkan pengelompokan yang berpengaruh sebesar 72,5%. Hal ini diperoleh dari total variasi PC1 = 56,6% dan PC2 = 15,9%, dan diperoleh masing-masing replikasi pada kelompok sampel yang sama cenderung mengelompok berdekatan. Jika dilihat pada gambar hasil *score plot* secara keseluruhan, kelompok sampel daun kenikir dan daun krisan memiliki hubungan yang lebih dekat dibandingkan dengan kelompok sampel daun bunga matahari. Hal ini disebabkan oleh kemiripan

nilai AUC antara sampel daun kenikir dan daun krisan yang memiliki kemiripan lebih banyak dibandingkan dengan sampel daun bunga matahari, yang berarti kandungan senyawa pada daun kenikir memiliki kemiripan yang lebih banyak, baik dari segi jenis senyawa maupun kadarnya dengan daun krisan dibandingkan dengan daun bunga matahari. Hal ini diperkuat dalam penelitian terdahulu, bahwa daun kenikir kaya akan senyawa aktif flavonoid, alkaloid, flavanon, fenolik, flavon, polifenol, saponin, tanin dan minyak atsiri (Kharismanda et al., 2021), bunga matahari mengandung senyawa seperti siskuitergen lakton, monoterpen, diterpen, alkaloid, dan fenol, serta daun krisan (*Chrysanthemum segetum*) mempunyai senyawa fenolik dan flavonoida (Rumanti et al., 2023). Sehingga semakin memperkuat bahwa terdapat perbedaan senyawa metabolit sekunder dapat mempengaruhi hasil pengelompokannya, walaupun berasal dari jenis famili yang sama. Hal ini seperti pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan sampel tanaman anting-anting berbeda daerah menunjukkan bahwa walaupun memiliki kesamaan warna filtrat dan jumlah noda akan tetapi jika pada pengelompokan PCA berbeda, maka diduga golongan senyawa aktifnya berbeda (Hidayaty & Hayati, 2024).



Gambar 5. *Heatmap* Sampel Daun Famili Asteraceae yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), dan krisan (*Chrysanthemum* sp)

Pada Gambar 5, hasil *heatmap* menunjukkan bahwa pita dengan nilai Rf 2 dan 4 dari ekstrak daun bunga matahari memiliki area berwarna lebih merah dibandingkan dengan area lainnya. Warna merah yang lebih intens menggambarkan tingginya intensitas sinyal, yang mengindikasikan kandungan senyawa metabolit yang lebih tinggi. Namun, kesimpulan bahwa ekstrak daun bunga matahari memiliki kandungan senyawa aktif tertinggi tidak hanya didasarkan

pada intensitas warna, tetapi juga diperkuat dengan data kuantitatif nilai AUC yang diperoleh dari analisis HPTLC (Tabel 3). Hasil perbandingan nilai AUC menunjukkan bahwa ekstrak daun bunga matahari memiliki rata-rata intensitas senyawa lebih tinggi dibandingkan kenikir dan krisan. Untuk memastikan ketahanan hasil tersebut, perbedaan nilai AUC dianalisis secara statistik sehingga dapat dipastikan apakah variasi antarspesies signifikan atau hanya akibat variasi teknis. Dengan demikian, *heatmap* berfungsi sebagai representasi visual yang mendukung data numerik pada Tabel 3, dan secara keseluruhan menegaskan adanya perbedaan profil metabolit di antara ketiga spesies. Temuan ini sejalan dengan penelitian Wahyuni et al. (2020), yang melaporkan bahwa variasi kandungan senyawa aktif antarspesies maupun antarindividu dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan tumbuh, perlakuan pascapanen, serta kondisi penyimpanan (Wahyuni et al., 2020).

Sampel daun dari tiga tanaman famili Asteraceae, yaitu kenikir, bunga matahari, dan krisan, menunjukkan profil metabolit yang berbeda berdasarkan hasil pemisahan pada plat HPTLC. Perbedaan tersebut terlihat dari jumlah dan warna noda yang muncul, yang selanjutnya dikonfirmasi melalui analisis *densitogram* menggunakan ImageJ serta didukung oleh hasil PCA yang menampilkan tiga pengelompokan jelas sesuai jenis tanaman, dan *heatmap* dengan intensitas warna yang bervariasi. Meskipun berasal dari famili yang sama, perbedaan profil tersebut menunjukkan adanya variasi dalam kandungan dan intensitas metabolit sekunder. Selain perbedaan visual, nilai **R_f** dari masing-masing noda dapat memberikan petunjuk awal mengenai kemungkinan jenis senyawa yang terkandung. Misalnya, senyawa flavonoid umumnya memiliki nilai **R_f** yang relatif rendah hingga sedang pada fase normal karena sifatnya yang cukup polar, sedangkan terpenoid atau senyawa lipofilik lain cenderung menunjukkan nilai **R_f** lebih tinggi akibat polaritas yang rendah. Dengan demikian, pengaitan nilai **R_f** tertentu dengan kelompok metabolit potensial dapat mendukung penelusuran awal terhadap senyawa bioaktif yang relevan secara farmasi. Namun, untuk memastikan identitas dan aktivitas biologis dari senyawa pada posisi **R_f** spesifik tersebut, diperlukan eksplorasi lanjutan menggunakan instrumen analisis yang lebih resolatif, seperti LC-MS, sehingga penelitian ke depan tidak hanya membandingkan profil metabolit antar-sampel, tetapi juga mengaitkannya dengan potensi aktivitas farmakologis.

KESIMPULAN

Analisis profil metabolit ekstrak daun famili Asteraceae (kenikir, bunga matahari, dan krisan) menunjukkan adanya perbedaan jumlah serta intensitas noda. Daun kenikir menghasilkan delapan noda, sedangkan daun bunga matahari dan krisan masing-masing menghasilkan sembilan noda dengan intensitas warna yang lebih terang. Hasil skorplot memperlihatkan terbentuknya tiga kelompok dengan variasi total sebesar 72,5% (PC1 = 56,6% dan PC2 = 15,9%).

Pada heatmap, ekstrak daun bunga matahari menunjukkan kadar senyawa aktif paling tinggi, ditandai dengan warna merah yang lebih pekat dibandingkan daun kenikir dan krisan. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun berasal dari famili yang sama, profil metabolit antar spesies dapat berbeda. Data nilai Rf yang diperoleh dalam penelitian ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan menggunakan LC-MS guna mengidentifikasi senyawa spesifik dan mengeksplorasi potensi aktivitas biologisnya terhadap penyakit tertentu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang atas dukungan fasilitas dan dana dalam melakukan riset kolaboratif dosen dan mahasiswa dalam pelaksanaan penelitian ini dengan nomer kontrak penelitian 0483/FKIK/03/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Amal, S., Gunarti, N. S., Soebakti, K. P., Mahdalena, D. G., Fadhillah, N. N., & Hidayah, H. (2021). Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Beberapa Tumbuhan Famili Asteraceae. *Majalah Farmasetika*, 6, 32–41.
- Ariani, N., Musiam, S., Niah, R., & Febrianti, D. R. (2022). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience*, 9(1), 40–47. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2). <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Buanasari, Febrianto, Y., Cholifah, & Chakim, A. (2019). Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif dari Bahan Alam. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, Oktober, 2(1), 106–112.
- Burhan, A., Megawati, M., Tumiwa, A. M., Syahrini, R., & Marwati, M. (2020). Metabolite Profiling of Temelekar Root (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex. K. Heyne) Using Chemometric Methods Profil Metabolit Akar Temelekar (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Dengan Metode Kemometrik. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 5(1), 19–23.
- Chong, J., Wishart, D. S., & Xia, J. (2019). Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, 68(1). <https://doi.org/10.1002/cpbi.86>
- de Athayde, A. E., de Araujo, C. E. S., Sandjo, L. P., & Biavatti, M. W. (2021). Metabolomic analysis among ten traditional “Arnica” (Asteraceae) from Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 265. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113149>
- Department Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *FARMAKOPE HERBAL INDONESIA EDISI II 2017 KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA 615.1 Ind f* (II). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fahmi, N., Herdiana, I., & Rubiyanti, R. (2019). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Daun Pulutan (*Urena lobata* L.). *Media Informasi*, 15(2), 165–169. <https://doi.org/10.37160/bmi.v15i2.433>
- Handayani, H., Sriherfyna, & Yunianta, Y. (2016). *Antioxidant Extraction of Soursop Leaf with Ultrasonic Bath (Study of Material: Solvent Ratio and Extraction Time)*. 4(1), 262–272.
- Handoyo, D. L. Y., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) The Effect of Drying Temperature Variation on The Simplicia Of Mimba Leaf (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54.

- Hidayaty, A. N., & Hayati, E. K. (2024). ALCHEMY : JOURNAL OF CHEMISTRY INFO ARTIKEL ABSTRAK. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 12, 59–67. <https://doi.org/10.18860/al.v12i1.22130>
- Kharismanda, K., Biologi, Y. J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., & Surabaya, N. (2021). *Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun, Batang, dan Bunga Tanaman Kenikir (Cosmos sulphureus) terhadap Mortalitas Larva Plutella xylostella*. 10(2), 146–152. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index146>
- Kusbiantoro, D., & Purwaningrum. (2018). Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat. *Kultivasi*, 17, 544–549.
- Laksono, M. T., & Hayati, E. K. (2021). ALCHEMY : JOURNAL OF CHEMISTRY Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 9, 54–62.
- Laut, M. M., Ndaong, N., Amalo, F., Toha, L., & Deta, H. U. (2020). PROFIL FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAUN ANTING – ANTING (*ACALYPHA INDICA* LINN) DI KOTA KUPANG, NTT. *JURNAL KAJIAN VETERINER*, 8(2), 153–163. <https://doi.org/10.35508/jkv.v8i2.3075>
- Layly, S. F., Hisyamuddin, I., Anjani, S. D., Putri, H. A., Dewi, N., Anggrayni, R., Cahyani, A. N., Seran, M., Seran, A. A., Seran, I. C., & Ningsih, A. W. (2023). Studi Fitokimia Dan Farmakologi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Aristatus*) Sebagai Antikanker. *FARMESTRA: Jurnal Pelayanan Dan Teknologi Kefarmasian Indonesia*, 01(01), 1–9.
- Lee, S., Oh, D. G., Singh, D., Lee, J. S., Lee, S., & Lee, C. H. (2020). Exploring the metabolomic diversity of plant species across spatial (leaf and stem) components and phylogenic groups. *BMC Plant Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2231-y>
- Mutiah, R., Badiah, R., Hayati, E. K., Widyawaruyanti, A., Malik, M. M., & Malang, I. (2017). Activity of Antimalarial Compounds from Ethyl Acetate Fraction of Sunflower Leaves (*Helianthus annuus* L.) against *Plasmodium falciparum* Parasites 3D7 Strain. In *Asian J. Pharm. Tech* (Vol. 7, Issue 2). www.asianpharmaonline.org
- Nafisa, S., Noor, S. U., Azkannufus, A., & Noviani, Y. (2023). *Kosmos kaudatus* Kunth. Formulasi Nanosuspensi Ekstrak Daun Herbal, Karakterisasi, dan Pendekatan Terhadap Sitotoksitas Sel Kanker Payudara MCF-7 (Formulasi Nanosuspensi Herbal Ekstrak Daun *Kosmos kaudatus* Kunth. 21(2), 284–292. www.onlinedoctranslator.com
- Prastyo, P., & Rahayoe, A. S. (2018). *INDONESIAN JOURNAL OF LABORATORY* 23. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1, 24–28.
- Putri, S. A., Heryanto, R., & Rohaeti, E. (2018). Spektrofotometer Quali-Vis dan Kemometrika untuk Klasifikasi Kualitas Daun Wungu (*Graptophyllum pictum*). *Jurnal Jamu Indonesia*, 3(3), 89–101.
- Rumanti, R. M., Nasution, R. H., & Naldi, J. (2023). Uji antibakteri gel hand sanitizer ekstrak etanol bunga krisan (*Chrysanthemum segetum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Prima Medika Sains*, 5(1), 21–24. <https://doi.org/10.34012/jpms.v5i1.3595>
- Simamora, A. N., & Wening, S. (2021). KAJIAN METABOLIT SEBAGAI PENDUKUNG PROGRAM PEMULIAAN KELAPA SAWIT. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 26(3), 162.
- Simanjuntak, H. A. (2017). POTENSI FAMILI ASTERACEAE SEBAGAI OBAT TRADISIONAL DI MASYARAKAT ETNIS SIMALUNGUN KABUPATEN SIMALUNGUN PROVINSI SUMATERA UTARA Potential Family Asteraceae as a Traditional Medicine In The Ethnic Society Simalungun Province North Sumatera. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 4(1), 11–18. <http://ojs.uma.ac.id/index.php/biolink>
- Wahyuni, W. T., Saharah, M., Arif, Z., & Rafi, M. (2020). Thin Layer Chromatographic Fingerprint and Chemometrics Analysis for Identification of *Phyllanthus niruri* from its Related Species. *Journal of the Indonesian Chemical Society*, 3(1), 47. <https://doi.org/10.34311/jics.2020.03.1.47>
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2).