

Pengembangan Metode Analisis Hormon Tanaman Kelompok Auksin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Yusuf Eka Maulana^{1*}, Dewi Meliati Agustini¹, Dedi Kurnia Rahman Abdullah², Maulana Yusuf Alkandahri³

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Achmad Yani, Jl. Terusan Jendral Sudirman, Cimahi 40285

²Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung, Jl. Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192

³Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor 45363

*Penulis korespondensi: yusuf.eka69@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n1.14791>

Abstrak: Auksin merupakan salah satu kelompok hormon tanaman yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Analisis kandungan auksin pada tanaman sangat diperlukan di bidang pertanian untuk mengetahui pola pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis auksin menggunakan KCKT-UV. Analisis dilakukan terhadap tiga senyawa auksin, yaitu Asam Indol-3-Asetat (IAA), Asam Indol-3-Butirat (IBA) dan Asam 1-Naftalena Asetat (NAA). Pengembangan metode analisis meliputi tahap optimasi derivatisasi senyawa IAA, IBA dan NAA berdasarkan reaksi sililasi dan optimasi kondisi analisis hasil derivatisasi IAA, IBA dan NAA menggunakan KCKT-UV. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum derivatisasi IAA, IBA dan NAA adalah menggunakan pereaksi trimetilklorosilen (TMCS) pada suhu 25°C selama 30 menit. Validasi proses derivatisasi menggunakan KCKT-UV memiliki presisi dan linieritas yang memenuhi syarat dengan nilai % SBR ≤ 2 dan nilai rata-rata koefisien korelasi (r) 0,9998 serta konsentrasi terkecil IAA, IBA dan NAA yang masih dapat diderivatisasi adalah 0,05 mg/L.

Kata kunci: Asam Indol-3-Asetat (IAA), Asam Indol-3-Butirat (IBA), Asam 1-Naftalena Asetat (NAA), Reaksi Sililasi, KCKT-UV

Abstract: Auxin is one group of plant hormone that can affect plant growth. Analysis content of auxin in plants are indispensable in agriculture to determine the pattern of plant growth. This research aims to develop analytical methods of auxin using HPLC-UV. Analysis was performed on three auxin compounds, namely Acid Indol-3-acetate (IAA), Acid Indol-3-butyric (IBA) and 1-Naphthalene Acetic Acid (NAA). Development of analytical methods include optimization of derivatization IAA, IBA and NAA based on silylation reaction and optimization of analytical conditions derivatization results of IAA, IBA and NAA using HPLC-UV. The results showed that the optimum conditions derivatization IAA, IBA and NAA are using reagent trimethylchlorosilane (TMCS) at a temperature of 25°C for 30 minutes. Validation process of derivatization using HPLC-UV has the precision and linearity qualified with the value % SBR ≤ 2 and the average value of the correlation coefficient (r) 0,9998 and the smallest concentration of IAA, IBA and NAA can still be derivatized is 0,05 mg/L.

Keywords: Acid Indol-3-acetate (IAA), Acid Indol-3-butyric (IBA), 1-Naphthalene Acetic Acid (NAA), reaction Silylation, HPLC-UV

PENDAHULUAN

Hormon tumbuhan atau lebih sering disebut zat pengatur tubuh tumbuhan merupakan senyawa organik yang berperan penting dalam mengatur perkembangan, hambatan serta pergerakan tanaman. Terdapat lima kelompok utama hormone tumbuhan yaitu giberelin, auksin, sitokinin dan asam absisat (Gaspar *et al.* 1996). Pemberian hormone tumbuhan seperti auksin secara eksogen mutlak dilakukan untuk menghasilkan pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman yang lebih optimal (Annisah 2009). Pada saat ini untuk memaksimalkan hasil pertanian, petani memberikan secara eksogen asam indol-3-asetat (IAA), asam indol-3-butirat (IBA) dan asam 1-

naftalena asetat (NAA) yang termasuk dalam kelompok auksin (Ljung *et al.* 2001). Sementara di laboratorium auksin dapat dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Saat ini diperlukan pengembangan metode analisis kuantitatif yang lebih akurat untuk menentukan kadar hormon tumbuhan dalam jaringan tanaman, yang sangat penting untuk menjelaskan peran dan fungsi hormon tersebut dalam pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan (Birkemeyer *et al.* 2003).

Spektrometri massa merupakan alat yang banyak digunakan untuk analisis hormon tumbuhan, seperti hormon giberelin, auksin, sitokinin, dan asam absisat. Analisis hormon tumbuhan umumnya menggunakan

kromatografi gas-spektrometri massa (KG-SM) atau kromatografi cair-spektrometri massa (KC-SM) (Ljung *et al.* 2010). Saat ini, KG-SM dan KC-SM secara teknis merupakan metode terbaik untuk menganalisis hormon tumbuhan, karena metode ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Namun saat ini belum banyak penelitian yang menggunakan KG-SM dan KC-SM. Selain itu kendala yang dihadapi bagi peneliti yang telah menggunakan KG-SM dan KC-SM untuk analisis adalah biaya tinggi untuk penggunaan dan pemeliharaan. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) adalah pilihan lain untuk analisis IAA, IBA dan NAA, dengan biaya analisis yang relatif lebih rendah dibanding KG-SM atau KC-SM. Gugus indol pada struktur molekul IAA, IBA dan gugus benzen pada NAA dapat menyerap sinar ultraviolet, sehingga analisis senyawa tersebut dapat dilakukan KCKT dengan detektor ultraviolet. Pada derivatisasi auksin termasuk IAA, IBA dan NAA dapat menggunakan pereaksi alkilasi, asilasi dan sililasi untuk analisis pada KG-SM (Prinsen *et al.* 1995). Birkemeyer *et al.* (2003) melaporkan bahwa jenis pereaksi sililasi yang dapat digunakan untuk derivatisasi hormon tumbuhan adalah N-metil-N-(tert-butildimetilsilil)trifluoroasetamida (MTBSTFA), N-metil-N-(trimetilsilil)heptafluorobutilamida (MSHFBA), N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroasetamida (BSTFA), N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroasetamida (MSTFA), trimetilklorosilan (TMCS), dan heksametildisilazan (HMDS) dan N-trimetilsililimidazol (TSIM).

Pada penelitian ini dilakukan optimasi dan validasi derivatisasi IAA, IBA dan NAA menggunakan pereaksi sililasi yang biasanya digunakan untuk analisis KG-SM, yang selanjutnya akan dianalisis menggunakan KCKT-UV. Tahap optimasi derivatisasi meliputi jenis pereaksi, suhu dan waktu reaksi derivatisasi. Setelah didapatkan kondisi optimum derivatisasi, kemudian dilakukan tahapan validasi yang bertujuan untuk mendapatkan metode yang presisi, linier, dan spesifik.

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen laboratorium, dengan cara menderivatisasi IAA, IBA dan NAA menggunakan pereaksi sililasi di antaranya BSTFA dan MSTFA dengan berbagai variasi suhu dan waktu derivatisasi, serta menggunakan pereaksi TMCS dan HMDS dengan berbagai variasi waktu derivatisasi agar menghasilkan derivat yang optimum untuk selanjutnya dianalisis dengan teknik KCKT.

Standar dan Reagen

Standar IAA (CAS 87-51-4), IBA (CAS 133-32-4) dan NAA (CAS 86-87-3) dari Merck, Darmstadt, Jerman. Reagen yang digunakan yaitu TMCS (CAS 75-77-4, HMDS (CAS 999-97-3), MSTFA (CAS 24589-78-4) dari Sigma Aldrich, Steinheim, Jerman.

BSTFA (CAS 25561-30-2) dari Supelco North Horison Road, USA. Metanol dan asetonitril gradien KCKT dari Fischer chemical, India. Aquabides pro injeksi non pirogenik dari IKA Pharmindo Jakarta, Indonesia.

Preparasi Sampel

Larutan stok standar IAA, IBA dan NAA untuk penentuan kondisi optimum derivatisasi disiapkan dalam pelarut metanol dengan konsentrasi masing-masing 1000 mg/L. Kemudian standar IAA, IBA dan NAA dibuat larutan standar campuran dengan konsentrasi 10 mg/L.

Derivatisasi Sampel Dengan HMDS

Sebanyak 1 mL standar campuran 10 mg/L ditambahkan 30 μ L HMDS kemudian diderivatisasi dengan berbagai variasi waktu derivatisasi yaitu 15, 30, 45, 60, 90 dan 120 menit, sementara suhu derivatisasi pada 25°C (suhu ruang).

Derivatisasi Sampel Dengan TMCS

Sebanyak 1 mL standar campuran 10 mg/L ditambahkan 30 μ L TMCS kemudian diderivatisasi dengan berbagai variasi waktu derivatisasi yaitu 15, 30, 45, 60, 90 dan 120 menit, sementara suhu derivatisasi pada 25°C (suhu ruang).

Derivatisasi Sampel Dengan BSTFA

Sebanyak 1 mL standar campuran 10 mg/L ditambahkan 30 μ L BSTFA kemudian diderivatisasi dengan berbagai variasi waktu derivatisasi yaitu 60, 90 dan 120 menit dan berbagai variasi suhu derivatisasi yaitu 60, 90 dan 120°C.

Derivatisasi Sampel Dengan MSTFA

Sebanyak 1 mL standar campuran 10 mg/L ditambahkan 30 μ L MSTFA kemudian diderivatisasi dengan berbagai variasi waktu derivatisasi yaitu 60, 90 dan 120 menit dan berbagai variasi suhu derivatisasi yaitu 60, 90 dan 120°C.

Kondisi Analisis Menggunakan KCKT-UV

Analisis dilakukan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan sistem pemisahan menggunakan fasa terbalik yang dilengkapi detektor ultraviolet-tampak (Shimadzu LC-AT20), kolom C18 (ODS) 4,6 x 150 mm (GL Science-Japan). Fasa gerak yang digunakan yaitu 60% metanol dan 40% air berdasarkan hasil optimasi pencarian fasa gerak yang telah dilakukan. Laju alir fasa gerak diatur pada 0,5 mL/menit. Panjang gelombang yang digunakan pada sistem KCKT yaitu 224 nm berdasarkan pembacaan panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan. Sampel disaring menggunakan syringe filter 0,45 mikron kemudian diinjeksikan ke instrumen KCKT dengan volume injeksi 20 μ L selama 40 menit dengan kondisi pemisahan pada KCKT secara isokratik.

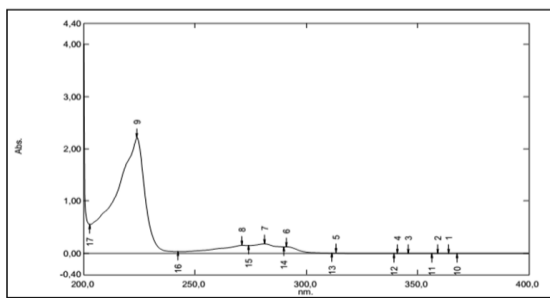
Validasi Proses Derivatisasi

Kondisi optimum proses derivatisasi kemudian divalidasi dengan parameter linieritas, presisi, batas deteksi dan batas kuantisasi serta konsentrasi terkecil standar campuran yang masih dapat diderivatisasi. Parameter linieritas dilihat dari nilai koefisien korelasi (r) yang didapatkan dari kurva kalibrasi standar, dengan nilai yang dipersyaratkan 0,98-1,02. Parameter presisi dilihat dari % simpangan baku relatif, dengan nilai yang dipersyaratkan %SBR > 2. Batas deteksi dan batas kuantisasi dihitung dari persamaan regresi linier yang didapat dari kurva kalibrasi standar. Sementara itu, konsentrasi terkecil standar campuran yang masih dapat diderivatisasi didapatkan dengan melakukan percobaan, sehingga didapatkan nilai konsentrasi terkecil.

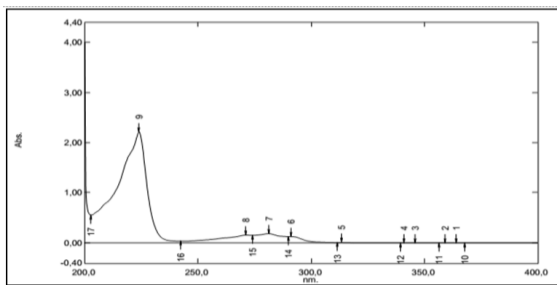
HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang Gelombang Maksimum

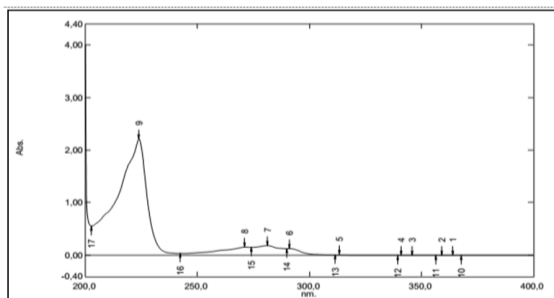
Dari hasil scanning panjang gelombang standar IAA, IBA dan NAA didapatkan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) 224 nm untuk IAA; 223,4 nm untuk IBA; dan 224 nm untuk NAA seperti yang terlihat pada Gambar 1.



(A)



(B)



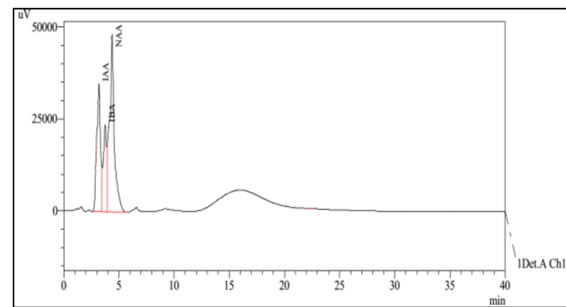
(C)

Gambar 1. Spektrum panjang gelombang maksimum standar (A) IAA, (B) IBA dan (C) NAA.

Waktu Retensi

Untuk mendapatkan waktu retensi dari IAA, IBA dan NAA. Standar campuran dengan konsentrasi 10 mg/L diinjeksikan pada KCKT dengan kondisi yang telah ditentukan sebelumnya dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2.

Dari data kromatogram tersebut di dapat waktu retensi IAA 3,160; IBA 3,729 dan NAA 4,132. Selain itu kromatogram dari IAA, IBA dan NAA saling bertumpuk dan tidak terpisah dengan baik.



Gambar 2. Kromatogram campuran IAA, IBA dan NAA

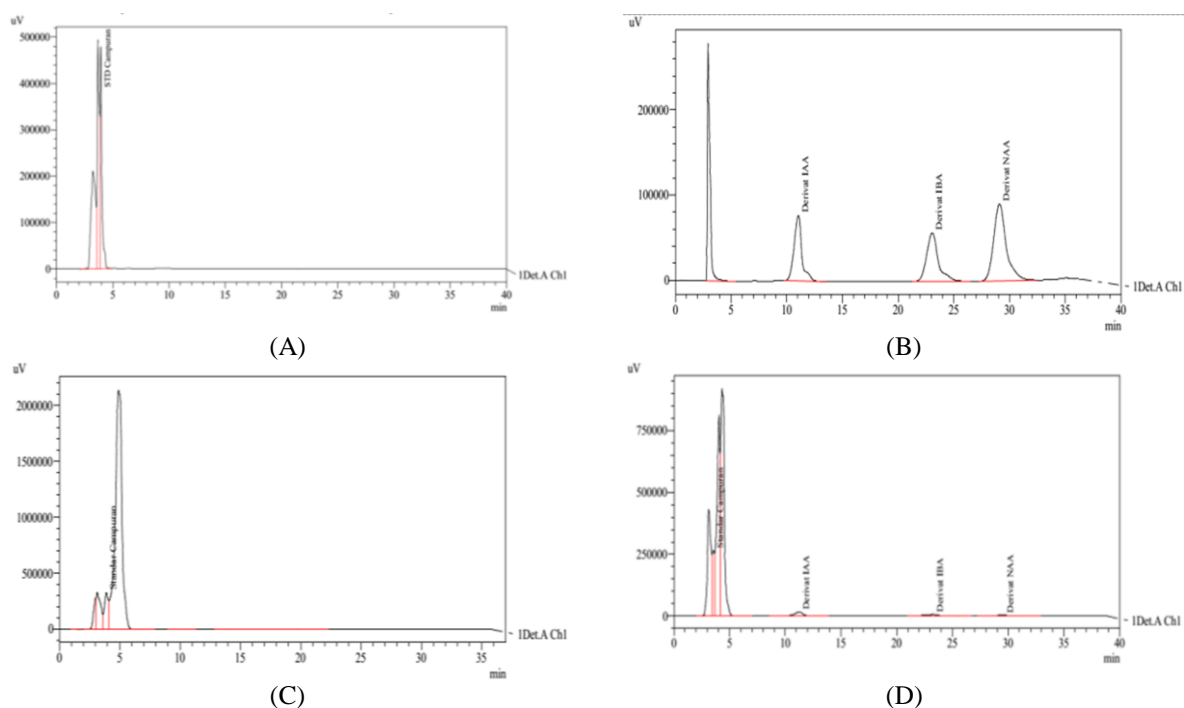
Kondisi Optimum Derivatisasi

Kondisi optimum derivatisasi didapatkan dengan cara mereaksikan standar campuran IAA, IBA dan NAA konsentrasi 10 mg/L dengan reagen penderivatisasi HMDS, TMCS, MSTFA dan BSTFA sesuai dengan cara preparasi sampel. Hasil reaksi kemudian dianalisis dengan KCKT dan kromatogramnya ditunjukkan pada Gambar 3. Di dapatkan hasil kondisi optimum reaksi dengan parameter hasil luas area kromatogram terbesar.

Dari data Tabel 1 terlihat bahwa kondisi optimum derivatisasi IAA, IBA dan NAA adalah menggunakan pereaksi sililasi, yaitu dengan menggunakan TMCS pada suhu 25°C (suhu ruang) selama 30 menit dengan indikasinya adalah luas area terbesar yaitu 4.408.011 untuk IAA, 5.543.149 untuk IBA dan 10.978.150 untuk NAA.

Kesesuaian Sistem Standar Tanpa Melalui Proses Derivatisasi

Untuk mengetahui pemisahan standar campuran tanpa melalui proses derivatisasi, standar IAA, IBA dan NAA dibuat campuran dengan konsentrasi 10 mg/L kemudian diinjeksikan ke instrumen KCKT. Berdasarkan standar acuan kromatogram USP (United States Pharmacopeia 30, NF 25, 2007), data kromatogram standar campuran tanpa derivatisasi memiliki puncak kurang baik dilihat dari parameter kondisi analisis kromatografi seperti resolusi (R_s), faktor kapasitas (K'), lempeng teoritis (N) dan faktor ikutan (T), seperti pada Gambar 4 dan Tabel 2.



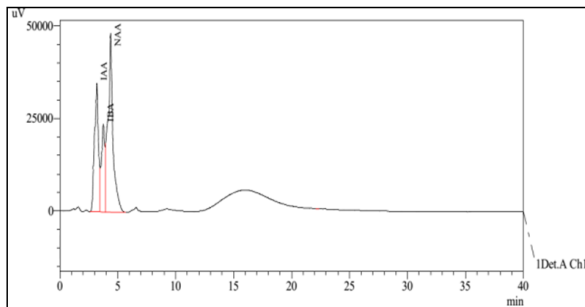
Gambar 3. Kromatogram standar campuran IAA, IBA dan NAA hasil derivatisasi. (A) derivatisasi dengan HMDS, (B) derivatisasi dengan TMCS, (C) derivatisasi dengan dengan MSTFA dan (D) derivatisasi dengan BSTFA.

Tabel 1. Luas area hasil derivatisasi standar IAA, IBA dan NAA dengan HMDS dan TMCS dengan berbagai varisasi waktu derivatisasi.

Reagen/Kondisi Derivatisasi	Waktu (menit)	Luas Area		
		Derivat IAA	Derivat IBA	Derivat NAA
HMDS (25°C)	15	-	-	-
	30	-	-	-
	45	-	-	-
	60	-	-	-
	90	-	-	-
	120	-	-	-
TMCS (25°C)	15	3746335	4147165	7092812
	30	4408011	5543149	10978150
	45	3807605	4185034	8654216
	60	3749005	4030728	8991169
	90	3581811	3891289	8689681
	120	3746246	4040003	9217965
Reagen/Kondisi Derivatisasi	Suhu (°C)	Luas Area		
		Derivat IAA	Derivat IBA	Derivat NAA
MSTFA (60 menit)	60	-	-	-
	90	-	-	-
	120	-	-	-
MSTFA (90 menit)	60	-	-	-
	90	-	-	-
	120	-	-	-
MSTFA (120 menit)	60	-	-	-
	90	-	-	-
	120	-	-	-
BSTFA (60 menit)	60	794230	496282	214225
	90	775611	419008	203941
	120	779665	494278	201206
BSTFA (90 menit)	60	1056320	676180	366893
	90	725358	432455	308684
	120	763750	447163	241069
BSTFA (120 menit)	60	420342	261080	173078
	90	599345	375595	230106
	120	510297	344913	241751

Tabel 2. Data kromatogram standar campuran IAA, IBA dan NAA.

Senyawa	K' (K'≥2)	Lempeng Teoritis (N≥1000)	Resolusi (Rs≥1,5)	Faktor Ikutan (T≤1,5)
IAA	0	390,056	0	0
IBA	0,174	406,123	0,798	0
NAA	0,372	1180,591	1,009	0



Gambar 4. Kromatogram standar campuran IAA, IBA dan NAA.

Uji Kesesuaian Sistem Standar Melalui Proses Derivatisasi

Untuk mengetahui pemisahan standar campuran yang melalui proses derivatisasi dengan TMCS, sebanyak 1 mL standar campuran 10 mg/L diderivatisasi dengan kondisi optimum yang didapat pada optimasi derivatisasi standar dengan TMCS, yaitu pada suhu ruang selama 30 menit. Hasil derivatisasi kemudian dianalisis dengan KCKT dan data yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 3.

Untuk mengetahui pemisahan standar campuran yang melalui proses derivatisasi dengan BSTFA, sebanyak 1 ml standar campuran 10 mg/L sebanyak 1 mL diderivatisasi dengan kondisi optimum yang didapat pada optimasi derivatisasi standar dengan BSTFA, yaitu diderivatisasi pada suhu 90°C selama 60 menit. Hasilnya ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Data kromatogram standar campuran hasil derivatisasi TMCS.

Senyawa	K' (K'≥2)	Lempeng Teoritis (N≥1000)	Resolusi (Rs≥1,5)	Faktor Ikutan (T≤1,5)
Derivat IAA	3,941	1621,235	11,062	1,241
Derivat IBA	9,435	3066,673	8,828	1,429
Derivat NAA	12,222	4160,581	3,542	1,391

Tabel 4. Data kromatogram standar campuran hasil derivatisasi BSTFA

Senyawa	K' (K'≥2)	Lempeng Teoritis (N≥1000)	Resolusi (Rs≥1,5)	Faktor Ikutan (T≤1,5)
Derivat IAA	2,601	1100,037	4,445	0,816
Derivat IBA	6,446	1411,556	6,266	1,205
Derivat NAA	8,462	1679,925	2,349	1,211

Dari data kromatogram hasil derivatisasi TMCS dan BSTFA didapatkan harga lempeng teoritis (N) dari masing-masing puncak standar hasil derivat lebih besar dari 1000, hal ini menunjukkan bahwa efisiensi kolom yang digunakan cukup tinggi, nilai Resolusi $R_s \geq 1,5$, tailing factor ≤ 1 dan faktor kapasitas berada dalam rentang 2-10. Dengan demikian kromatogram derivat IAA, IBA dan NAA hasil derivatisasi dengan kondisi optimum yang didapat untuk pereaksi BSTFA disimpulkan memenuhi syarat berdasarkan standar acuan kromatogram USP (*United States Pharmacopeia* 30, NF 25, 2007). Kemudian jika dilihat dari pemisahan senyawa-senyawa hasil derivat pada Tabel 3 dan Tabel 4, terdapat perbedaan waktu retensi yang berbeda jauh dengan derivat standar. Perbedaan ini dipengaruhi oleh sifat kepolaran senyawa-senyawa tersebut setelah mengalami proses derivatisasi. Hal ini terjadi karena masuknya gugus trimetilsilil dari pereaksi TMCS ataupun BSTFA pada senyawa IAA, IBA dan NAA. Akibatnya IAA, IBA, dan NAA dalam bentuk derivatnya akan bersifat lebih non-polar. Hasil derivat IAA, IBA dan NAA terikat lebih lama di kolom non-polar (fasa diam). Karena terikat lebih lama dalam kolom, waktu retensinya juga akan bergeser menjadi lebih lama dibandingkan dengan standar yang tanpa melalui tahap derivatisasi.

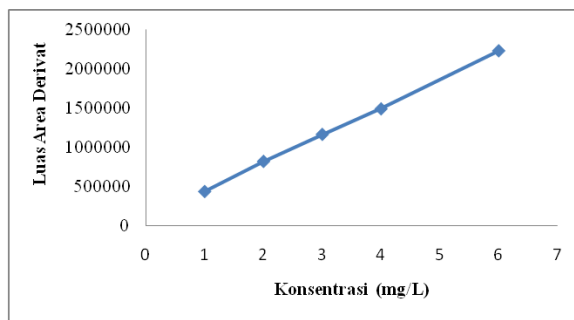
Validasi Kondisi Optimum Proses Derivatisasi

Linieritas

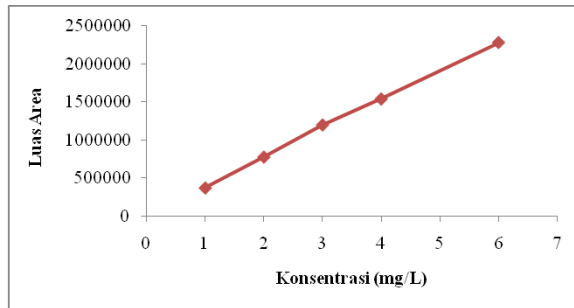
Linieritas yang ditentukan adalah pada saat proses derivatisasi. Standar IAA, IBA dan NAA diderivatisasi dengan kondisi optimum derivatisasi yang telah didapat pada proses sebelumnya, yaitu menggunakan pereaksi TMCS pada suhu 25°C (suhu ruang) selama 30 menit. Didapatkan nilai koefisien korelasi (r^2) dari masing-masing standar, yaitu r^2 IAA sebesar 0,9994, r^2 IBA sebesar 0,9987, dan r^2 NAA sebesar 0,9997. Hasil ini menunjukkan bahwa proses derivatisasi berjalan dengan linier, seperti terlihat pada Gambar 5.

Presisi

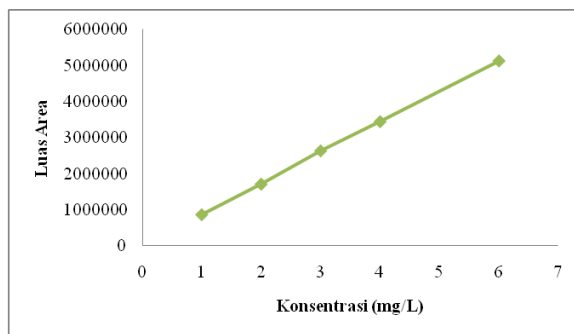
Presisi yang ditentukan adalah pada saat proses derivatisasi. Standar IAA, IBA dan NAA dengan konsentrasi masing-masing 4 mg/L diderivatisasi dengan kondisi optimum derivatisasi yang telah didapat pada proses sebelumnya, yaitu menggunakan pereaksi TMCS pada suhu 25°C (suhu ruang) selama 30 menit, seperti terlihat pada Gambar 6.



(A)

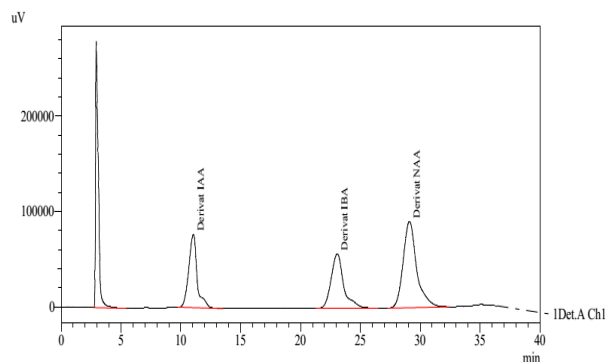


(B)



(C)

Gambar 5. Kurva baku linieritas (A) derivat IAA, (B) derivat IBA, (C) derivat NAA dengan TMCS



Gambar 6. Kromatogram standar campuran 4 mg/L IAA, IBA dan NAA hasil derivatisasi TMCS.

Berdasarkan data Tabel 5 terlihat bahwa telah terpenuhi persyaratan nilai % SBR hasil derivat IAA, IBA dan NAA, dimana hasil nilai % SBR dari masing-masing derivat $\leq 2\%$. Hasil ini menunjukkan bahwa proses derivatisasi berjalan dengan stabil pada kondisi derivatisasi yang digunakan.

Tabel 5. Hasil uji presisi derivat IAA, IBA dan NAA berdasarkan hasil kromatogram standar campuran 4 mg/L IAA, IBA dan NAA hasil derivatisasi TMCS.

Pengulangan Derivatisasi	Luas Area Derivat IAA	Luas Area Derivat IBA	Luas Area Derivat NAA
1	1576323	1597039	3660573
2	1552065	1593309	3627120
3	1560321	1612748	3634195
4	1534719	1582046	3751419
5	1594830	1577414	3689905
Rata-rata	1563651	1592511	3672642
Std. Deviasi	22995,08	13857,41	50497,31
% SBR	1,47	0,87	1,37

Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Hasil batas deteksi dan batas kuantisasi derivat IAA, IBA dan NAA didapatkan dari kurva kalibrasi derivat IAA, IBA dan NAA.

Parameter	Derivat IAA	Derivat IBA	Derivat NAA
S y/x	27234,86	11275,96	9707,248
B (slope)	356321	381845	852540
Batas Deteksi (mg/L)	0,2293	0,0886	0,0342
Batas Kuantisasi (mg/L)	0,7643	0,2953	0,1139

Konsentrasi Terkecil Standar yang Masih Dapat Diderivatisasi

Hormon tumbuhan yang terdapat dalam tumbuhan memiliki konsentrasi sangat kecil, termasuk IAA, IBA dan NAA. Penentuan konsentrasi terkecil standar yang masih dapat diderivatisasi penting dilakukan untuk melihat sejauh mana IAA, IBA dan NAA dalam sampel dapat diderivatisasi serta hasil derivat dapat dianalisis dengan instrumen KCKT.

Tabel 7. Konsentrasi terkecil standar IAA, IBA dan NAA yang masih dapat diderivatisasi.

Konsentrasi Standar (mg/L)	Luas Area Derivat IAA	Luas Area Derivat IBA	Luas Area Derivat NAA
1	436376	368980	867654
0,5	275632	235594	766132
0,1	54214	30052	104854
0,05	29010	12287	34275
0,01	0	0	0

Berdasarkan data pada Tabel 7 didapatkan bahwa konsentrasi terkecil IAA, IBA dan NAA yang masih dapat diderivatisasi adalah 0,05 mg/L.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa kondisi optimum derivatisasi IAA, IBA dan NAA yaitu dengan pereaksi trimetilklorosilan pada suhu 25°C dan waktu derivatisasi selama 30 menit, dengan acuan luas area derivat IAA sebesar 4.408.011, IBA sebesar 9.217.965 dan NAA sebesar 10.978.150. Sedangkan konsentrasi terkecil standar IAA, IBA dan NAA yang masih dapat diderivatisasi dan dapat terbaca oleh detektor pada instrumen KCKT adalah 0,05 mg/L. Dengan demikian optimasi analisis hasil derivatisasi IAA, IBA dan NAA tercapai dengan didapatkannya kondisi optimum derivatisasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kepala Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Bandung beserta para Asisten Laboratorium yang telah mengizinkan dan membantu penelitian ini sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Annisah. (2009). Pengaruh induksi giberelin terhadap pembentukan buah partenokarpi pada beberapa

- tanaman semangka (*Citrullus vulgaris* Schard). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Anonymous. (2007). The United State Pharmacopeia, 30. United State Pharmacopeial Convention. Rockville. Halaman: 2281, 2622-2625.
- Birkemeyer, C., Kolasa, A., & Kopka, J. (2003). Comprehensive chemical derivatization for gas chromatography-mass spectrometry-based multi targeted profiling of the major phytohormones. *Journal of Chromatography A*. 993(1): 89-102.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D.M., & Thorp, T. (1996). Plant hormones and plant growth regulator in plant tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 32(4): 272-289.
- Ljung, K., Bhalerao, R.P., & Sandberg, G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *The Plant Journal*. 28(4): 465-474
- Ljung, K., Sandberg, G., & Moritz, T. (2010). Methods of plant hormone analysis. In Davies P.J. (ed.). *Plant Hormones*. 3rd ed. Springer. Dordrecht.
- Prinsen, E., Redig, P., Strnad, M., Galís, I., Van Dongen, W. & Van Onckelen, H., (1995). Quantifying phytohormones in transformed plants. In *Agrobacterium Protocols* (pp. 245-262). Springer, Totowa, NJ.