



**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA  
EKSTRAK METANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) DI MADURA,  
JEMBER, DAN MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN  
KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

Oleh

**Arini Marga Mustinkaweni  
NIM 122210101082**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA  
EKSTRAK METANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) DI MADURA,  
JEMBER, DAN MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN  
KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Arini Marga Mustinkaweni**  
**NIM 122210101082**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan nikmat yang tak terhingga untuk hambaNya;
2. Ayahanda Anieb Elmusaswet dan Ibunda Ririt Sulaswati, atas Do'a, kasih sayang, motivasi, dan kepercayaan yang mengalir tiada henti kepada penulis;
3. Seluruh orang yang peduli dan menyayangi penulis, akhirnya penulis bisa mencapai tahap ini;
4. Para pendidik yang terhormat yang telah mendidik penulis hingga perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Abdiku untuk agamaku, negaraku, bangsaku, keluargaku, dan diriku

*(unknown)*



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arini Marga Mustinkaweni

NIM : 122210101082

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penentuan Model Klasifikasi dan Kandung Fitokimia Ekstrak Metanol Daun mimba (*Azadirachta Indica*) di Madura, Jember Malang Menggunakan Metode NIR dan Kemometrik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Juli 2017

Yang menyatakan,

Arini Marga Mustinkaweni

NIM. 122210101082

**SKRIPSI**

**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA  
EKSTRAK METANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) DI MADURA,  
JEMBER, DAN MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN  
KEMOMETRIK**

Oleh

Arini Marga Mustinkaweni  
NIM 122210101082

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Penentua Model Klasifikasi dan Kandung Fitokimia Ekstrak Metanol Daun mimba (*Azadirachta Indica*) di Madura, Jember, dan Malang Menggunakan Metode NIR dan Kemometrik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Senin, 31 Juli 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji :

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D.

NIP. 198107232006042002

NIP 196902011994031002

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

Dewi Dianasari, S.Farm., Apt., M.Farm.

NIP 197604142002122001

NIP 198712082014042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP 197604142002122001



## RINGKASAN

**Penentuan Model Klasifikasi Dan Kandungan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun mimba (*Azadirachta indica*) Di Ketinggian Yang Berbeda Menggunakan Metode Nir dan Kemometrik ; Arini Marga Mustinkaweni, 122210101082; 2017: Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.**

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah Mimba. Komponen kimia yang terkandung dalam daun mimba merupakan komponen yang kompleks dapat ditentukan dengan menggunakan metode Spektroskopi. Komponen kimia yang diuji pada daun mimba untuk penelitian ini yaitu fenol, flavonoid, dan alkaloid total. Pada komponen kimia tersebut dilakukan penentuan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid total dengan menggunakan instrumen spektroskopi inframerah karena metode analisis yang umum digunakan untuk menentukan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid total membutuhkan tahapan analisis yang panjang dan waktu analisis yang cukup lama. Keuntungan menggunakan metode spektroskopi inframerah diantaranya adalah bersifat non destruktif, jumlah sampel yang dibutuhkan sedikit, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, dan tidak memerlukan pelarut kimia sehingga lebih ramah lingkungan. Setelah melakukan penentuan kadar terhadap sampel daun mimba akan diperoleh pengelompokan berdasarkan tempat tumbuh. Sampel yang digunakan berjumlah 9 sampel yang berasal dari daerah Kamal, Lenteng, Pakong, Sumbersari, Sumberbaru, Jubung, Lawang, Singosari, dan Batu.

Penetapan kadar dengan metode spektroskopi inframerah dan kemometrik ini memerlukan suatu analisis data multivariat (kemometrik) untuk mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*. Teknik yang digunakan dari metode kemometrik untuk model kalibrasi (analisis kuantitatif) dan model klasifikasi (analisis kualitatif) dalam penelitian ini masing-masing adalah *Partial Least Square* (PLS), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector*



*Machines* (SVM), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA), dan *Cluster Analysis* (CA). Penetapan kadar dilakukan dengan merevalidasi model PLS (fenol, flavonoid, dan alkaloid) yang telah terbentuk pada penelitian sebelumnya menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Data kandungan yang diperoleh selanjutnya di analisis hubungannya dengan ketinggian suatu daerah.

Berdasarkan hasil penelitian, revalidasi model PLS fenol dengan spektroskopi NIR memberikan hasil terbaik dengan Hasil pengujian revalidasi menggunakan model PLS fenol, didapatkan nilai ( $R^2$  0,97, RMSEP 0,80), revalidasi model PLS flavonoid ( $R^2$  0,98, RMSEP 1,58), dan revalidasi alkaloid ( $R^2$  0,998, RMSEP 1,89). Model klasifikasi LDA, SVM, dan SIMCA yang digunakan pada pengkategorian antara matriks dengan sampel dari 9 daerah memiliki akurasi sebesar 100%. Sedangkan pada model CA, sampel dibedakan menjadi dua cluster yaitu cluster A dan cluster B. Daerah yang tergolong pada cluster A adalah Madura dan Jember, sedangkan daerah yang tergolong pada cluster B adalah Malang. Kandungan rata-rata fenol total Madura, Jember, Malang adalah 65,237; 106,988; 137,952mg GAE/g ekstrak, kandungan rata-rata flavonoid total adalah 9,718; 15,784; 21,021 mg QE/g ekstrak, dan kandungan alkaloid total adalah 74,592; 45,111; 54,591 mg KE/g ekstrak. Ketinggian suatu daerah berbanding lurus dengan jumlah kandungan fenol total serta flavonoid, dan berbanding terbalik dengan jumlah kandungan alkaloid dalam ekstrak metanol daun mimba.

## PRAKATA

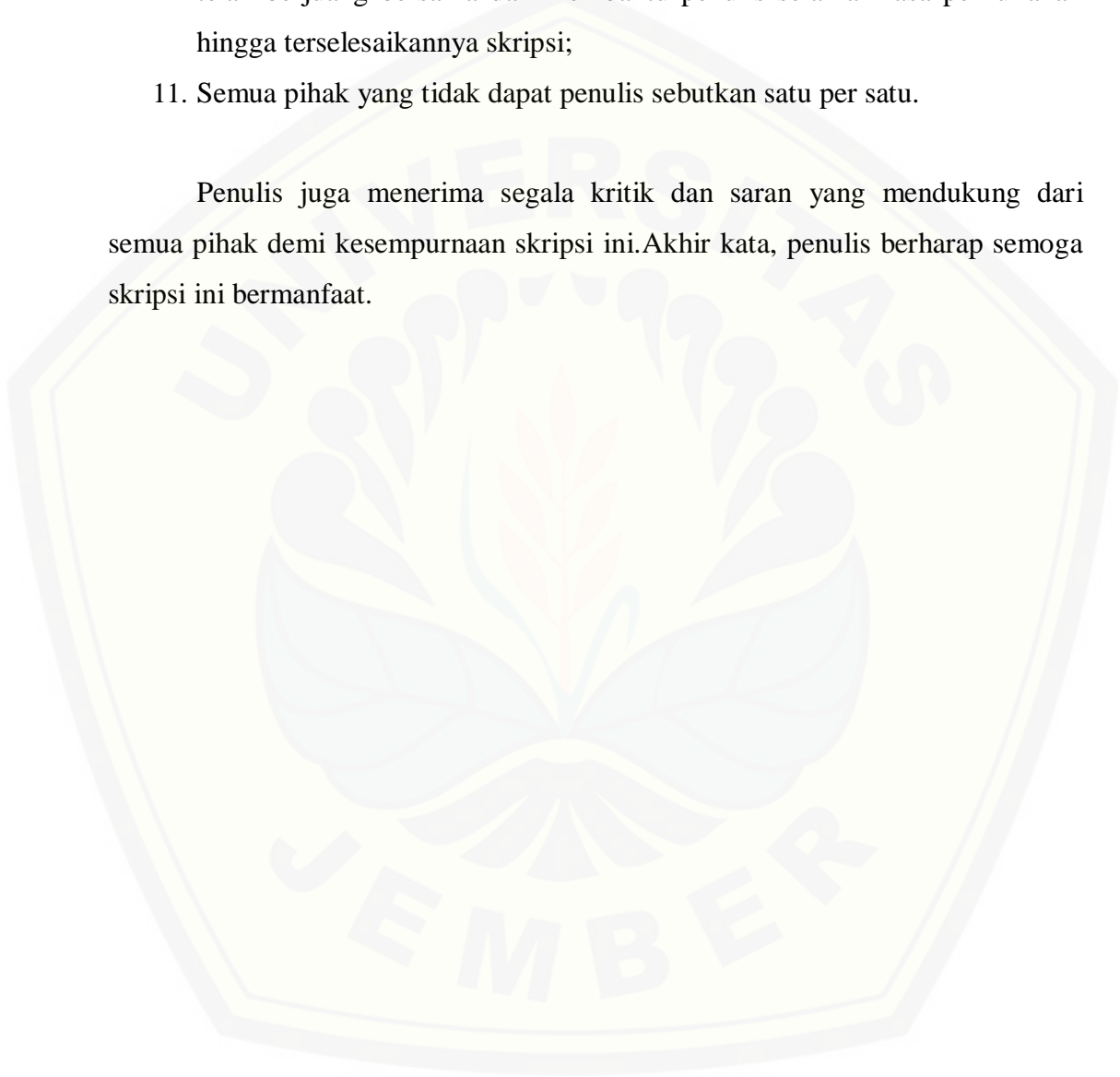
Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Model Klasifikasi Dan Kandungan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun mimba (*Azadiraca indica*) Di Madura, Jember, Malang Menggunakan Metode NIR Dan Kemometrik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan dan terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Lesty Wulandari S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dewi Dianasari, S. Farm., M. Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membimbing dan membantu penulis sampai terselesaikannya skripsi ini;
3. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji atas masukan dan bimbingan;
4. Bapak Drs. Wiratmo, S.Farm., Apt., Msc selaku Dosen Pembimbing Akademik;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mendidik penulis;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantu saya selama penelitian;
7. Keluarga besar saya yang selalu memberi semangat, dukungan, dan doa dalam melaksanakan amanah belajar;
8. Sahabat saya Lucky Yuristika yang selalu menemani dan memberikan motivasi penulis;

9. Alni Hasan, Nadia Rahma, Arini Marga, Diah Nurmala, Okta Wismaya, Farida Bahri, Nur Mentari, Hilmia Lukman, Fracilia dan Nurul Aini yang telah banyak memberikan masukan untuk perbaikan skripsi ini;
10. Teman-teman angkatan 2012 Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah berjuang bersama dan membantu penulis selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi;
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang mendukung dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.



**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>MOTTO</b> .....	iv
<b>PERNYATAAN</b> .....	v
<b>PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Penelitian .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Topografi Jawa Timur .....	6
2.1.1 Jember .....	7
2.1.2 Madura .....	8
2.1.3 Malang.....	8
2.2 Kriteria Tumbuhan Mimba .....	9
2.2.1 Klasifikasi Tanaman Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	10
2.2.2 Deskripsi Tanaman Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	10
2.2.3 Manfaat Tanaman Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	10
2.2.4 Kandungan Kimia Daun mimba ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	11
2.3 Fitokimia.....	11

2.7.1	Alkaloid.....	12
2.7.2	Flavonoid.....	13
2.7.3	Fenol.....	15
2.7.4	Penentuan Kandungan Fitokimia.....	16
2.4	NIR.....	17
2.8.1	Prinsip.....	19
2.5	Analisis Kemometik.....	19
2.9.1	<i>Partial Least Square (PLS)</i> .....	21
2.9.2	<i>Linear Discriminant Analysis (LDA)</i> .....	22
2.9.3	<i>Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA)</i> ..	22
2.9.4	<i>Support Vector Machines (SVM)</i> .....	23
2.9.5	<i>Principal Component Analysis (CA)</i> .....	23
2.6	Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	24
2.7	Revalidasi Model dan Penentuan Kadar Fenol, Flavonoid, Alkaloid Menggunakan Model PLS dengan Metode NIR dan Kemometrik.....	26
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>28</b>
3.1	Jenis Penelitian.....	28
3.2	Tempat dan waktu penelitian.....	28
3.3	Alat dan Bahan penelitian.....	28
3.3.1	Alat penelitian.....	28
3.3.2	Bahan penelitian.....	28
3.4	Variabel Penelitian.....	29
3.4.1	Variabel bebas.....	29
3.4.2	Variabel terikat.....	29
3.4.3	Variabel terkontrol.....	29
3.5	Rancangan penelitian.....	29
3.5.1	Rancangan operasional.....	29
3.5.2	Definisi operasional.....	30
3.5.3	Rancangan percobaan.....	30

3.6 Alur Penelitian .....	31
3.7 Prosedur Penelitian.....	32
3.7.1 Pengambilan sampel .....	32
3.7.2 Pembuatan simplisia .....	32
3.7.3 Pembuatan ekstrak .....	32
3.7.4 Pengukuran pantulan spektrum nir ( <i>scanning</i> ).....	33
3.7.5 Pembentukan model klasifikasi .....	33
3.7.6 Penentuan kandungan fitokima dengan nir kemometrik.....	34
3.7.7 Analisis data .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>36</b>
4.1 Pembentukan Model Klasifikasi .....	36
4.4.1 Pembentukan model klasifikasi dengan SVM, LDA, SIMCA, dan CA .....	36
4.4.2 Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, dan Alkaloid Total dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis .....	38
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	<b>48</b>
5.1 Kesimpulan .....	48
5.2 Saran .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>xvii</b>



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Peta Provinsi JawaTimur .....	6
Gambar 2.2 Peta Jember (jemberkab, 2016) .....	7
Gambar 2.3 Peta Madura.....	8
Gambar 2.4 Peta malang (malangkab, 2016) .....	8
Gambar 2.5 Tumbuhan mimba.....	9
Gambar 2.6 Kerangka dasar senyawa flavonoid (middleton, 1998) .....	13
Gambar 2.7 Struktur kimia fenol (vermerris dan nicholson, 2006).....	15
Gambar 2.8 Daerah spektra nir (mantanus, 2012) .....	18
Gambar 2.9 Daerah gugus fungsi dan panjang gelombang spektroskopi nir pada hasil pertanian (burns dan ciurczak, 2007).....	18
Gambar 3.1Skema alur penelitian.....	31
Gambar 4.1Grafik korelasi kandungan fenol total terhadap ketinggian suatu daerah.....	43
Gambar 4.2Grafik korelasi kandungan flavonoid terhadap ketinggian suatu daerah.....	44
Gambar 4.3 Grafik korelasi kandungan alkaloid total terhadap ketinggian suatu daerah .....	45
Gambar 4.4 Grafik korelasi kandungan alkaloid total terhadap ketinggian suatu daerah (7, 22, 59, dan 73mdpl) .....	46



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Spektrum inframerah (Silverstein <i>et al.</i> , 1986).....	14
Tabel 3.1 Daftar kode sampel simplisia <i>Azadirachta indica</i> .....	29
Tabel 4.1 Tabel hasil model klasifikasi LDA, SVM, CA dan SIMCA .....	37
Tabel 4.2 Data hasil klasifikasi sampel pada validasi LOOCV .....	38
Tabel 4.3 Kadar fenol total sampel test set (mg GAE/g Ekstra) .....	39
Tabel 4.4 Hasil penetapan kadar flavonoid total sampel test set mg QE/g ekstrak .....	40
Tabel 4.5 Hasil penetapan kadar alkaloid total sampel test set mg CE/g ekstrak ..	41
Tabel 4.6 Hasil pengujian revalidasi model PLS fenol, flavonoid, dan alkaloid total .....	42
Tabel 4.7 Hasil kandungan fenol, flavonoid, dan alkaloid menggunakan model PLS dengan metode NIR.....	43

**DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
LAMPIRAN 1. Data spektrum infra merah yang dihasilkan.....	54
LAMPIRAN 2. Identitas sampel ekstrak daun mimba .....	57
LAMPIRAN 3. Pembuatan pereaksi pada penetapan kadar flavonoid, fenol, dan alkaloid total.....	58
LAMPIRAN 4. Perhitungan kadar flavonoid, fenol, dan alkaloid total.....	59
LAMPIRAN 5. Data kemometrik dan perhitungan kemampuan pengenalan dan kemampuan prediksi.....	70
LAMPIRAN 6. Contoh perhitungan kadar sampel training set menggunakan model pls fenol, flavonoid, dan alkaloid total.....	77

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah sebuah negara kepulauan yang memiliki sumber daya alam hayati yang sangat berlimpah, dan beraneka ragam. Negara ini memegang peranan penting dalam keanekaragaman hayati di dunia, karena termasuk dalam sepuluh negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi dengan sebutan *mega biodiversity country* (Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia, 2014). Jumlah tanaman yang ada di wilayah Indonesia meliputi 30.000 jenis, sekitar 940 jenis diantaranya telah diketahui berkhasiat sebagai obat (Kementerian Kehutanan, 2010). Obat yang berasal dari tanaman atau obat herbal secara turun-temurun telah digunakan oleh masyarakat Indonesia karena harganya yang relatif terjangkau dan mudah didapat (Lumbessy *et al.*, 2013).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah Mimba. Pada penelitian sebelumnya, mimba dikenal sebagai *wonderful tree* karena merupakan tanaman multi fungsi. Menurut Sukrasno (2003), daun dan biji mimba mempunyai banyak manfaat. Biji mimba dapat dimanfaatkan untuk insektisida alami, fungisida, antibakteri, spermisida, sabun minyak mimba dan pelumas minyak Mimba. Pada penelitian Ara *et al.* (1989) isolasi dari daun mimba berfungsi sebagai obat. Daun mimba lebih dari 4000 tahun digunakan dalam pengobatan *Ayurveda* karena memiliki efek antiinflamasi, antibakterial, antifungal, antioksidan (Bopana *et al.*, 1997), hipolipidemik, hipoglikemik, imunostimulan, dan hepatoprotektif (Khosla *et al.*, 2000). Adanya efek bioaktivitas dikarenakan oleh adanya kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, nimbocinone, nimolinone, kulactone, nimocinolides, isonimocinolide, (Ara *et al.*, 1989) nimbin, salanin, azadirachtin, flavonoid, myricetin, meldonindiol, vilasinin, margosinolide, isomargosinolide, asam desacetyldihydronimbic, meliantriol, nimbin dan nimbidin yang terkandung dalam daun mimba (Pandey *et al.*, 2014).

Penggunaan tumbuhan untuk pengobatan harus mengikuti tiga kaidah yaitu aman, efektif, dan berkualitas. Kontrol kualitas perlu dilakukan karena adanya faktor yang dapat mempengaruhi kandungan fitokimia dari tumbuhan. Kontrol kualitas diperlukan untuk menjaga dan menjamin bahwa produk yang digunakan sesuai dengan standar mutu yang diinginkan (Kunle, 2012).

Salah satu cara untuk mengontrol suatu kualitas dari produk yaitu dengan melihat kandungan fitokima pada tumbuhan. Kandungan total senyawa aktif pada tumbuhan bervariasi bergantung kepada spesies, varietas, asal geografis, budidaya, metode pemanenan maupun proses paska panen (Xu *et al.*, 2009). Ketinggian tempat mempengaruhi perubahan suhu udara, dimana semakin tinggi suatu tempat dari permukaan laut, maka semakin rendah suhu udaranya atau udaranya semakin dingin. Demikian juga intensitas matahari semakin berkurang (Sangadji, 2008).

Beberapa metode analisis yang umum digunakan untuk menentukan kandungan senyawa aktif pada tanaman, diantaranya yaitu metode HPLC (Levent, 2002), fluorimetri (Masatoki dan Hirokazu, 2000), kolorimetri (Qing-qin *et al.*, 2002), kromatografi lapis tipis (Aksara, 2013), dan *near infrared* (NIR) (Danasuryani *et al.*, 2014). Teknologi spektroskopi *near infrared* (NIR) merupakan salah satu teknologi yang dapat menggantikan metode konvensional dan telah sukses diaplikasikan pada produk pertanian, farmasi, petrokimia dan lingkungan (Danasuryani *et al.*, 2014). Teknologi spektroskopi NIR dikembangkan sebagai salah satu metode yang non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia (Schwanninger *et al.*, 2011).

Pengolahan data spektrum infra merah dekat dilakukan menggunakan metode statistik multivariat. Manfaat dari metode statistik multivariat tersebut adalah kemampuannya dalam mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif (Awa *et al.*, 2008). Teknik kemometrik memanfaatkan ciri serapan IR yang khas dari setiap molekul untuk mengklasifikasi sampel atau untuk membuat model kalibrasi. Kombinasi spektra

IR dengan kemometrik dapat digunakan untuk membedakan tumbuhan yang satu dengan yang lainnya walaupun komposisi senyawa kimianya belum diketahui secara pasti (Sun *et al.*, 2010).

Berdasarkan latar belakang di atas, untuk menjamin kualitas dari simplisia perlu dilaksanakan penelitian penetapan model klasifikasi dan kandungan fitokimia ekstrak metanol daun mimba (*Azadirachta indica*) di 3 wilayah dengan ketinggian berbeda (Madura sebagai dataran rendah, Jember sebagai dataran sedang, dan Malang sebagai dataran tinggi). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ultrasonikasi dan maserasi. Metode kombinasi ini dipilih karena metode ekstraksi maserasi dan ultrasonikasi dapat meningkatkan efektivitas metode ekstraksi, sehingga kombinasi dua metode akan lebih baik dibandingkan dengan satu metode. Selain itu, metode ultrasonikasi dan maserasi dipilih karena kedua metode tersebut tidak memerlukan pemanasan (mukhriani, 2014). Ekstraksi ini menggunakan pelarut Metanol. Karena metanol merupakan pelarut universal, dapat merusak dinding sel pada sampel (Tursiman, 2012). Mengacu pada Penelitian Wulandari *et al.*, Pricilia *et al.*, Aini *et al.*, penentuan model klasifikasi dan kandungan fitokimia ekstrak Daun mimba didapatkan dengan menggunakan metode NIR. Profil spektra yang diperoleh dikombinasi dengan kemometrik (SIMCA, CA SVM, LDA) untuk melihat model klasifikasi ekstrak tanaman dan PLS yang telah disvalidasi ulang untuk mengetahui kadar kandungan flavonoid, alkaloid, dan fenol pada ekstrak metanol daun mimba.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah metode NIR dan kemometrik (LDA, SIMCA, SVM, CA) dapat mengklasifikasikan ekstrak Daun mimba (*Azadirachta indica*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian berbeda?
2. Berapa kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid pada ekstrak Daun mimba (*Azadirachta indica*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian berbeda ?



3. Bagaimana korelasi antara kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid pada ekstrak daun mimba yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian daerah yang berbeda?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab beberapa rumusan masalah yaitu sebagai berikut

1. Untuk mengetahui kemampuan metode NIR dan kemometrik (LDA, SIMCA, SVM, CA) dalam mengklasifikasikan ekstrak daun mimba dari daerah Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian berbeda.
2. Untuk mengetahui kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid pada ekstrak daun mimba yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang
3. Untuk mengetahui korelasi antara kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid pada ekstrak daun mimba yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian daerah yang berbeda.

### 1.4 Manfaat Penelitian

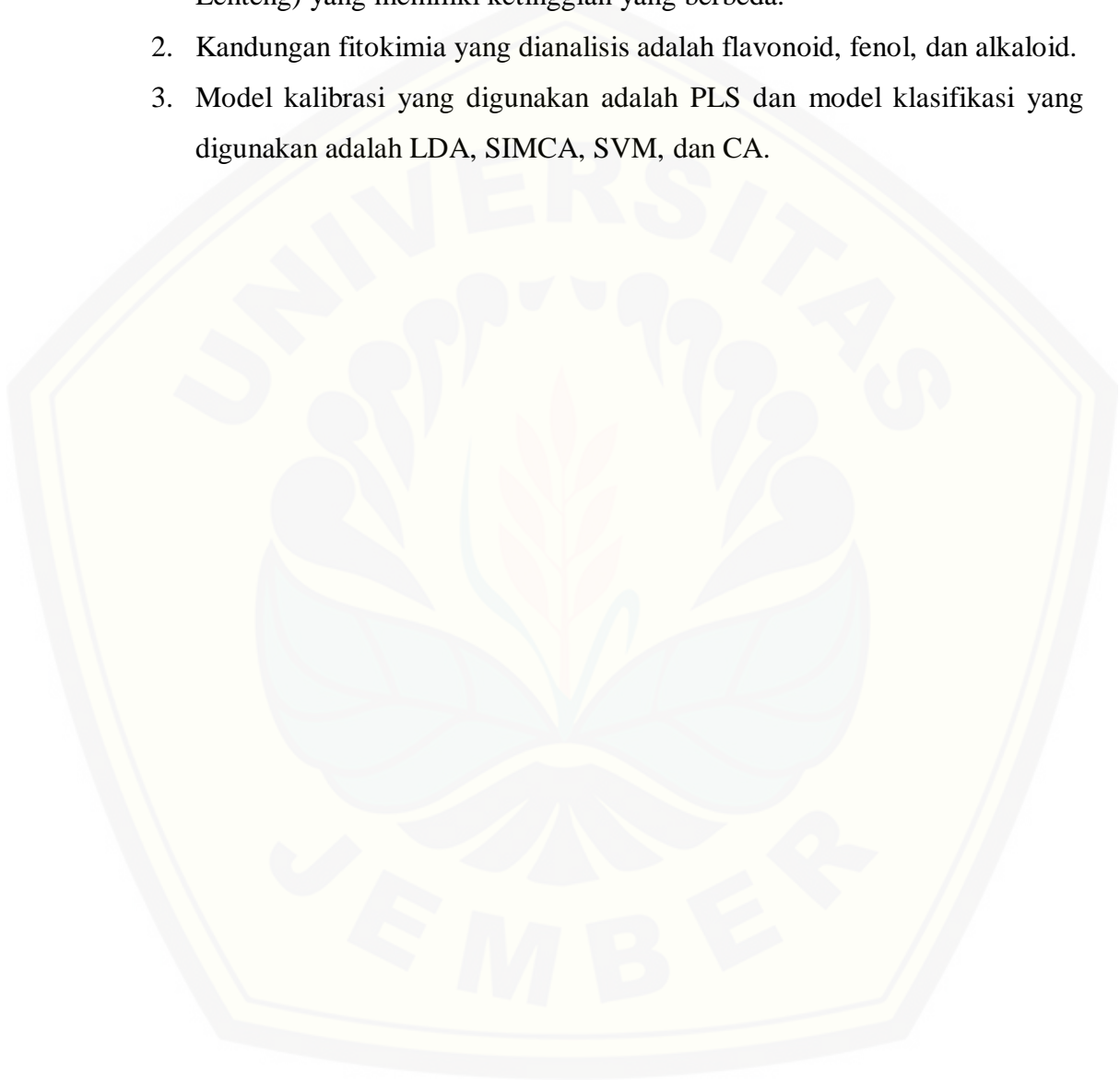
Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Memberikan informasi profil model klasifikasi dan kandungan fitokimia ekstrak daun mimba di 3 daerah dengan ketinggian berbeda;
2. Memberikan pengetahuan tentang metode analisis penentuan kadar flavonoid, fenol, dan alkaloid yang lebih sederhana, cepat, dan mudah;
3. Memberikan informasi yang dapat menjadi landasan dasar bagi pengembangan penelitian selanjutnya.
4. Bagi mahasiswa dapat mengasah kemampuan, kreativitas dan keahlian di bidang kimia analisis.
5. Dapat digunakan sebagai acuan dasar dalam menentukan bahan dasar untuk membuat sediaan obat herbal

### 1.5 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel daun mimba diperoleh dari Jember (Sumber Baru, Summersari, Jubung ), Malang (Lawang, Singosari, Batu), Madura (Kamal, Pakong, Lenteng) yang memiliki ketinggian yang berbeda.
2. Kandungan fitokimia yang dianalisis adalah flavonoid, fenol, dan alkaloid.
3. Model kalibrasi yang digunakan adalah PLS dan model klasifikasi yang digunakan adalah LDA, SIMCA, SVM, dan CA.





## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Topografi Jawa Timur



Gambar 2.1 Peta Provinsi Jawa Timur

Provinsi Jawa Timur dapat dibedakan menjadi tiga wilayah dataran, yakni dataran tinggi, sedang, dan rendah. Dataran tinggi merupakan daerah dengan ketinggian rata-rata di atas 100 meter dari permukaan laut (MGAETan, Trenggalek, Blitar, Malang, Batu, Bondowoso). Dataran sedang mempunyai ketinggian 45-100 meter di atas permukaan laut (Ponorogo, Tulungagung, Kediri, Lumajang, Jember, Nganjuk, Madiun, Ngawi). Kabupaten/kota (20) sisanya berada di daerah dataran rendah, yakni dengan ketinggian di bawah 45 meter dari permukaan laut. Surabaya sebagai Ibukota Provinsi Jawa Timur merupakan kota yang letaknya paling rendah, yaitu sekitar 2 meter di atas permukaan laut. Sedangkan kota yang letaknya paling tinggi dari permukaan laut adalah Malang, dengan ketinggian 445 meter di atas permukaan laut (Pusdaling, 2016).

### 2.1.1 Jember



Gambar 2.2 Peta Jember (Jemberkab, 2016)

Secara geografis Kabupaten Jember berada pada posisi 7059'6" sampai 8033'56" Lintang Selatan dan 113016'28" sampai 114003'42" Bujur Timur. Wilayah Kabupaten Jember mencakup area seluas 3.293,34 Km<sup>2</sup>. Kabupaten Jember berada pada ketinggian 0–3.300 meter di atas permukaan laut (dpl). Sebagian besar wilayah ini berada pada ketinggian antara 100 hingga 500 meter di atas permukaan laut (37,75%), selebihnya 17,95 % pada ketinggian 0 sampai dengan 25 m, 20,70% pada ketinggian 25 sampai dengan 100 m, 15,80% berada pada ketinggian 500 sampai dengan 1.000 m di atas permukaan laut dan 7,80% pada ketinggian lebih dari 1.000 m. Wilayah barat daya memiliki dataran dengan ketinggian 0–25 meter dpl. Sedangkan daerah timur laut yang berbatasan dengan Bondowoso dan tenggara yang berbatasan dengan Banyuwangi memiliki ketinggian di atas 1.000 meter dpl. Iklim di Kabupaten Jember adalah iklim tropis. Angka temperatur berkisar antara 23°C – 31°C, dengan musim kemarau terjadi pada bulan Mei sampai bulan Agustus dan musim hujan terjadi pada bulan September sampai bulan Januari. Sedangkan curah hujan cukup banyak, yakni berkisar antara 1.969 mm sampai 3.394mm (Jemberkab, 2016).

### 2.1.2 Madura



Gambar 2.3 Peta Madura

Madura yang secara geografis terletak di lepas pantai timur Laut Jawa pada 70 Lintang Utara dan 1120-1140 Bujur Timur, mempunyai panjang kurang lebih 190 km dengan luas seluruhnya kurang lebih 5.505 km<sup>2</sup> dengan banyak pulau kecil disekitarnya. Secara geologis Pulau Madura merupakan bagian dari unsur daratan di utara Pulau Jawa. Daerah ini berada pada ketinggian minimum 6 meter diatas permukaan laut dan ketinggian maksimum 350 meter diatas permukaan laut. dengan iklim suhu udara berkisar antara 28<sup>0</sup>-30<sup>0</sup>C. Pulau Madura memiliki iklim temperatur yang berkisar antara 28<sup>0</sup>-30<sup>0</sup>C, dengan musim kemarau terjadi pada bulan april-oktober dan musim hujan terjadi pada bulan Oktober-April (Ditjenpdt, 2016).

### 2.1.3 Malang



Gambar 2.4 Peta Malang (Malangkab, 2016)



Letak Geografis Kabupaten Malang terletak pada  $112^{\circ}17'10,90''$  sampai  $112^{\circ}57'00''$  Bujur Timur,  $7^{\circ}44'55,11''$  sampai  $8^{\circ}26'35,45''$  Lintang Selatan. Topografi wilayah Malang terdiri dari Daerah dataran rendah terletak pada ketinggian 250-500m di atas permukaan air laut Daerah Dataran Tinggi; Daerah Perbukitan Kapur; Daerah Lereng Gunung Kawi-Arjuno (500-3300m di atas permukaan air laut - dpl) Daerah Lereng Tengger-Semeru di Bagian Timur (500-3600m dpl). Kondisi lahan di Kabupaten Malang bagian utara relatif subur, sementara di sebelah selatan relatif kurang subur. Kondisi iklim Kota Malang selama tahun 2008 tercatat rata-rata suhu udara berkisar antara  $22,7^{\circ}\text{C}$ - $25,1^{\circ}\text{C}$ , sedangkan suhu maksimum mencapai  $32,7^{\circ}\text{C}$  dan suhu minimum  $18,4^{\circ}\text{C}$ . Rata kelembaban udara berkisar 79%-86% dengan kelembaban maksimum 99% dan minimum mencapai 40%.

## 2.2 Kriteria Tumbuhan Mimba

Mimba (*Azadirachta indica*) adalah tanaman asli dari India yang saat ini telah dibudidayakan di Indonesia, tanaman ini memiliki banyak manfaat bagi manusia (Kardinan dan Agus, 2003). Mimba tumbuh di daerah panas, di ketinggian 1-700 meter dari permukaan laut dan tahan tekanan air (Kardinan, 2000). Tumbuhan Mimba dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Tumbuhan Mimba

### 2.2.1 Klasifikasi Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Divisi	:Spermatophyta
Subdivisi	:Angiospermae
Kelas	:Dicotyledonae
Subkelas	:Dialypetaleae
Bangsa	:Rutales
Suku	:Meliaceae
Marga	:Azadirachta
Jenis	: <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (sinonim: Melia Azadirachta) (Rukmana dan Oesman, 2002)

### 2.2.2 Deskripsi Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Mimba merupakan pohon dengan ketinggian 10-15 m. Batang tegak, berkayu, berbentuk bulat, permukaan kasar, percabangan simpoidal, dan berwarna coklat. Daun majemuk, letak berhadapan, berbentuk lonjong, tepi bergerigi, ujung lancip, pangkal meruncing, pertulangan menyirip, panjang 5-7 cm, lebar 3-4cm, tangkai daun panjangnya 8-20 cm, dan berwarna hijau. Bunga majemuk, berkelamin dua, letak di ujung cabang, tangkai silindris, panjang 8-15 cm. Kelopak berwarna hijau. Mahkota halus dan berwarna putih. Benang sari silindris dan berwarna kekuningan. Putik lonjong dan berwarna coklat muda. Buah bulat telur dan berwarna hijau. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, dan berwarna putih. Mimba tumbuh baik di daerah panas, di ketinggian 1-700 m. Di daerah yang banyak hujan bagian vegetatif sangat subur, tapi sulit untuk menghasilkan biji (generatif). Perbanyakkan melalui biji (Kardinan, 2000)

### 2.2.3 Manfaat Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Tanaman mimba mempunyai beberapa kegunaan antara lain digunakan untuk pembangkit selera makan, obat disentri, borok, malaria. Minyaknya digunakan untuk mengobati eksema, kepala kotor, kudis, dan kulitnya untuk mengatasi lambung (Mardisiswojo dan Rajakmangunsudarso, 1985). Sudarsono *et al.* (2002) mengatakan bahwa daun mimba digunakan untuk penambah nafsu

makan, menanggulangi disentri, borok, malaria, dan antibakteri. Beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa daun mimba dapat menurunkan gula darah, menyembuhkan penyakit kulit (Cshurses, 2008), memiliki efek gastro protektif pada mukosa lambung terhadap ulkus peptikum (Ofusori *et al.*, 2008), menurunkan total kolesterol dalam darah, LDL dan VLDL-kolesterol, trigliserid, dan total lipid dalam serum (Chattopadhyay *et al.*, 2005).

#### 2.2.4 Kandungan Kimia Daun Mimba

Dari penelitian daun mimba diketahui mengandung senyawa golongan terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, (Biu *et al.*, 2009) asam lemak (Khan *et al.*, 2010), steroid dan triterpenoid (Aslam *et al.*, 2009).

### 2.3 Fitokimia

Kandungan senyawa kimia yang berada dalam tanaman disebut dengan fitokimia (Pradhan, 2013). Tumbuhan merupakan sumber senyawa kimia, baik senyawa kimia hasil metabolisme primer maupun sekunder. Metabolit dan metabolisme primer dibutuhkan untuk menunjang terjadinya proses kehidupan pada setiap organisme. Contoh proses metabolisme primer adalah degradasi senyawa karbohidrat dan gula yang biasanya terjadi melalui jalur glikolisis dan siklus Krebs/asam sitrat/trikarboksilat yang menghasilkan energi melalui reaksi oksidasi (Sudiby, 2002). Contoh metabolit primer yaitu asam amino, asam organik, fitosterol, dan nukleotida (Croteau *et al.*, 2000). Sedangkan senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh suatu makhluk hidup untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan ekosistem. Metabolit sekunder yang berasal dari metabolisme sekunder ini hanya ditemukan pada organisme spesifik atau bahkan strain (galur) yang spesifik dan hanya diproduksi pada kondisi-kondisi tertentu. Secara khusus, senyawa metabolit sekunder mempunyai fungsi umum yaitu sebagai alat penolak (repellant) terhadap gangguan hama atau hewan pemangsanya, sebagai alat pelindung (protectant) terhadap kondisi lingkungan fisik yang ekstrim (Sudiby, 2002) serta pelindung dari zat-zat yang bersifat merusak (Fits dan Memelink, 2000). Contoh metabolit

sekunder adalah senyawa alkaloid, senyawa kurkumin, senyawa saponin, senyawa glukosida, senyawa flavonoid, dan senyawa fenol (Saxena *et al.*, 2013)

### 2.7.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013).

Alkaloid kebanyakan bersifat basa. Sifat tersebut tergantung adanya pasangan elektron pada nitrogen. Kebiasaan alkaloid tergantung pada pasangan elektron bebas pada atom nitrogen mereka. Alkaloid dikelompokkan menjadi :

#### a. Alkaloid sejati

Alkaloid sejati adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa; lazim mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik; diturunkan dari asam amino; biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik.

#### b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan asam amino yang relatif sederhana dan nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Contoh meskalin, ephedin, dan N,N- dimetiltriptamin.

#### c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam kelas ini, yaitu alkaloid stereoidal dan purin (Azzahra *et al.*, 2015).

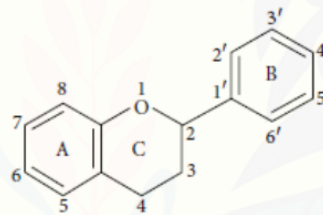
Alkaloid umumnya memiliki aktivitas farmakologi terutama pada mamalia seperti manusia. Bahkan saat ini banyak alkaloid dari sumber alami yang sering digunakan sebagai obat dan obat-obatan alkaloid baru masih terus berkembang untuk penggunaan klinis. Kebanyakan alkaloid dengan aktivitas biologis pada manusia mempengaruhi sistem saraf, terutama sebagai neurotransmitter kimia misalnya asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, asam gamma aminobutirat (GABA),



dopamin dan serotonin. Alkaloid berfungsi sebagai model untuk sintesis kimia analog dengan sifat yang lebih baik. Contoh penting adalah hiosiamin dan skopolamin (*Atropa belladonna* dan *Datura*) sebagai model untuk bahan parasimpatomimetik sintetis (Azzahra *et al.*, 2015).

### 2.7.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan, terdapat di beberapa bagian tanaman, terutama pada sel tanaman yang mengalami fotosintesis (Kumar and Pandey, 2013). Flavonoid umumnya ditemukan pada tumbuhan dalam bentuk glikosida dan memberikan warna biru, merah, dan oranye pada daun, bunga, dan buah. Flavonoid terbentuk pada tumbuhan dari asam amino aromatik fenilalanin, tirosin, dan malonat (Pietta, 2000).



Gambar 2.6 Kerangka dasar senyawa flavonoid (Middleton, 1998)

Struktur dasar flavonoid adalah 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzena, yakni cincin A dan B (Gambar 2.4) yang terhubung melalui cincin piran (C). Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa golongan seperti flavon (flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (kuersetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (flavanon, hesperetin, dan naringenin), dan lainnya (Middleton, 1998).

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Kebanyakan senyawa terkonjugasi pada umumnya berwarna cerah sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harborne, 1987). Analisis dengan menggunakan infra merah dapat diketahui gugus fungsi yang terdapat di dalam senyawa organik. Senyawa flavonoid memiliki ciri umum yaitu adanya gugus karbonil (C=O) (Sukadana, 2010). Menurut Silverstein *et al.* (1986), pita-pita khas yang teramati dalam

spektrum senyawaan fenol dihasilkan oleh vibrasi ulur O-H dan ulur C-O. Data bilangan gelombang dan gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Spektrum inframerah (Silverstein *et al.*, 1986)

No	Bilangan Gelombang( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus Fungsi
1.	3500-3000	-OH
2.	3150-3050	-CH aromatik
3.	2950-2800	-CH alifatik
5.	1850-1730	-C=O
6.	1650-1400	-C=C aromatik
7.	1300-1000	-C-O alkohol
8.	840-800	-CH aromatik

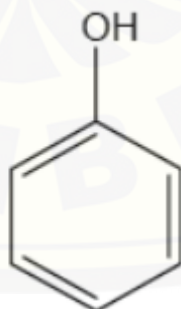
Banyak penelitian mengungkapkan flavonoid mempunyai aktivitas biologis diantaranya sebagai antivirus, antibakteri, antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan hepatoprotektor (Li *et al.*, 2000; Cushnie and Lamb, 2005; Koen *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2012). Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar. Kuersetin berada dalam jumlah sekitar 60 - 75% dari flavonoid. Para ilmuwan telah melakukan penelitian untuk mengidentifikasi dan mengetahui jumlah kandungan flavonoid dari berbagai jenis makanan. Konsentrasi tertinggi dari flavonol ditemukan dalam sayuran seperti pada bawang dan brokoli, dalam buah seperti apel, ceri, beri, dan pada minuman seperti anggur merah (Resi and Surgani, 2009). Gugus-gugus dalam molekul kuersetin yang dapat memberikan serapan, antara lain C=C dan C-C aromatik, C-C, C-O, O-H, C=O, dan C-H (Kurniasari, 2006).

Penentuan kadar flavonoid dalam sampel herbal dapat dilakukan dengan berbagai metode, antara lain kromatografi gas, spektrometri massa, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri ultraviolet, kromatografi cair kinerja tinggi, dan elektroforesis kapiler. Metode yang umum digunakan adalah spektrofotometri UV yang berdasar pada prinsip kolorimetri. Metode kolorimetri untuk struktur flavonoid adalah metode yang baik dan cocok untuk analisis rutin. Namun, metode kolorimetri tidak dapat mendeteksi semua jenis flavonoid, hanya untuk jenis flavon dan flavonol.

Metode kolorimetri untuk menentukan kadar flavonoid dalam tumbuhan dibagi menjadi dua macam. Metode pertama merupakan metode kolorimetri menggunakan aluminum klorida berdasarkan pada pembentukan kompleks antara aluminum klorida dengan gugus keton C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 kelompok flavon dan flavonol yang menghasilkan warna kuning, serta membentuk kompleks asam labil dengan gugus orto-dihidroksil dalam cincin A atau B flavonoid. Metode kedua merupakan metode kolorimetri dengan DNP (2,4-dinitrophenylhydrazine). Prinsip metode ini adalah reGAEn 2,4-dinitrophenylhydrazine yang bereaksi dengan karbonil keton dan aldehyd untuk 2,4-dinitrophenylhydrazone sehingga menghasilkan warna merah (Chang *et al.*, 2002). Metode kolorimetri menggunakan Aluminum klorida dipilih karena sederhana, cepat, dan mudah dilakukan.

### 2.7.3 Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Vermerris dan Nicholson, 2006). Senyawa fenol memiliki titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Selain itu jugamudah larut dalam sebagian besar pelarut organik (hidrokarbon aromatik, alkohol dan keton) dan agak kurang larut dalam hidrokarbon alifatik. Fenol membentuk campuran azeotropik dengan air dan zat lainnya (Rappoport, 2003).



Gambar 2.7 Struktur kimia fenol (Vermerris dan Nicholson, 2006)

Senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil fenolik yang menempel pada satu atau lebih cincin aromatik disebut sebagai senyawa polifenol

(Vermerris dan Nicholson, 2006). Struktur kimia dari fenol dapat dilihat pada Gambar 2.5. Turunan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Vermerris dan Nicholson, 2006). Fenol terbagi menjadi fenol sederhana, kumarin, lignin, lignan, tannin terkondensasi, tannin terhidrolisis, asam fenolat dan flavonoid (Khoddami *et al.*, 2013).

Fenol dan polifenol yang terkandung pada tanaman memainkan peran penting dalam kesehatan jangka panjang, mengurangi risiko penyakit kronis dan degeneratif. Senyawa fenol dapat memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik (Apak *et al.*, 2007). Selain itu juga berfungsi sebagai pertahanan terhadap radiasi ultraviolet atau perlindungan diri dari patogen, parasit, predator serta memberi warna pada tanaman (Dai dan Mumper, 2010).

Konsentrasi metabolit sekunder dan komposisinya dipengaruhi oleh faktor internal (genetik, kondisi kesehatan tanaman, umur) dan faktor eksternal (lingkungan, perawatan dengan obat) (Fancy and Rumpel, 2008). Metabolit sekunder mempunyai peran yang mendukung keberadaan organisme di lingkungan, yaitu sebagai hasil detoksifikasi metabolit primer, signal intraorganisme, signal komunikasi antar organisme, dan sistem keseimbangan ekologi (Mursyidi, 1989).

#### 2.7.4 Penentuan Kandungan Fitokimia

Beberapa metode analisis yang dapat dilakukan untuk penentuan kandungan fitokimia, diantaranya yaitu metode HPLC (Levent, 2002), fluorimetri (Masatoki and Hirokazu, 2000), kolorimetri (Qing-qin *et al.*, 2002), dan kromatografi lapis tipis (Aksara, 2013).

Spektroskopi NIR yang dikombinasikan dengan kemometrik telah dikembangkan untuk analisis kandungan fitokimia dalam ekstrak tanaman obat. Kandungan fitokimia yang diekstrak dari daun tanaman obat menggunakan *ultrasonication* dan maserasi. Spektrum NIR yang dipilih untuk ekstrak tanaman obat yang mengandung kandungan fitokimia seperti fenol, flavonoid, dan alkaloid dianalisis menggunakan metode kemometrik. Metode kemometrik yang digunakan yaitu analisis kalibrasi dan analisis klasifikasi (Wulandari *et al.*, 2016).

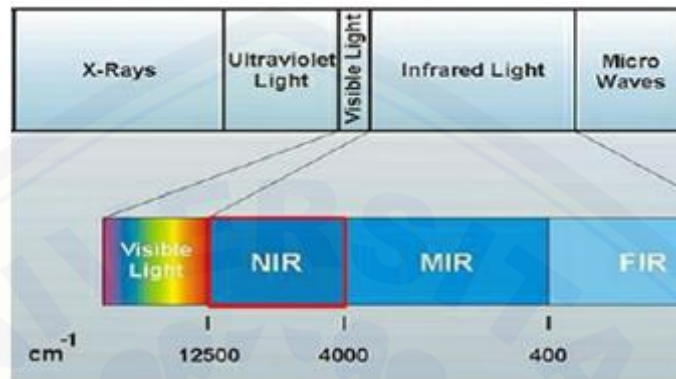


Analisis kalibrasi dapat dilakukan dengan pembentukan model kalibrasi dengan metode *Partial Least Square* (PLS) dengan menganalisis data absorbansi sampel yang mengandung kandungan fitokimia menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diaplikasikan dengan metode NIR dan kemometrik. Beberapa penelitian telah dilakukan dalam penentuan kadar fitokimia menggunakan spektrofotometer UV-Vis, seperti penentuan kadar alkaloid menggunakan pereaksi bromocresol green (BCG) dengan larutan standar kafein (Nurulaini *et al.*, 2016), penentuan kadar fenol menggunakan metode Folin Ciocalteu dengan standar asam galat (Fracilia *et al.*, 2015), dan penentuan kadar flavonoid menggunakan pereaksi aluminium klorida dengan standar kuersetin (Wulandari *et al.*, 2016). Sedangkan untuk analisis klasifikasi dapat dilakukan dengan membuat model klasifikasi diantaranya seperti *Principal Component Analysis* (PCA), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Regression* (SVM), *Cluster analysis* (CA) dan *Soft Independent Modelling of Class Analogy* (SIMCA).

#### 2.4 NIR

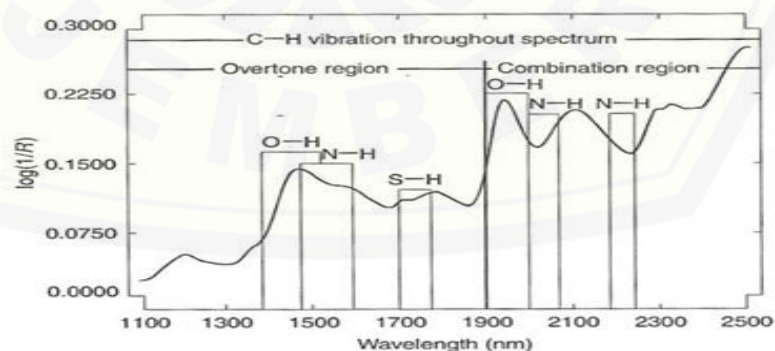
Teknologi infra merah dekat (near infrared, NIR) dikembangkan sebagai salah satu metode yang non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia. NIR Spektroskopi menggunakan gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 780 nm - 2500 nm atau bilangan gelombang  $12.800\text{ cm}^{-1}$  hingga  $4000\text{ cm}^{-1}$  (Schwanninger *et al.*, 2011). Kisaran panjang gelombang NIR telah lama dipelajari dan digunakan sebagai metode analisis. Daerah inframerah dekat telah ditemukan sejak tahun 1800, namun keberadaannya tidak disadari bahwa NIR ini sangat berguna untuk spektroskopi, hal ini dikarenakan pita dari NIR sangat rumit dan bertumpang tindih sehingga sulit diinterpretasikan (Roggo *et al.*, 2007). Untuk mengatasi hal ini dapat dilakukan penghalusan atau penyaringan data spektra. Spektra NIR membaca senyawa organik maupun anorganik kimia yang memiliki pola serapan yang khas dan berbeda satu dengan lainnya pada setiap panjang gelombang infra merah yang diberikan (Karlinasari *et al.*, 2012).

Spektroskopi NIR melingkupi rentang transisi daerah spektra nampak hingga daerah IR tengah. Pada daerah NIR (800-2500 nm) dapat teramati vibrasi dari ikatan-ikatan -CH, -OH, -SH, dan -NH (Burns dalam Roggo, 2007). Daerah spektra NIR ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.8 Daerah spektra NIR (Mantanus, 2012)

Teknologi NIR dikembangkan sebagai salah satu metode yang non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat yang sederhana, dan tidak memerlukan bahan kimia. Penyerapan radiasi gelombang inframerah oleh molekul penyusun bahan menyebabkan ikatan tunggalnya bergetar (vibrasi). Getaran ini menyebabkan pita penyerapan naik sesuai kombinasi gugus fungsi kimianya (Karlinsari *et al.*, 2012). Tiap-tiap gugus kimia memiliki panjang gelombang tersendiri (Gambar 2.6).



Gambar 2.9 Daerah gugus fungsi dan panjang gelombang spektroskopi NIR pada hasil pertanian (Burns dan Ciurczak, 2007)

### 2.8.1 Prinsip

Spektrum NIR berasal dari energi radiasi yang ditransfer menjadi energi mekanik terkait oleh adanya gerakan atom yang dilakukan bersama oleh ikatan kimia dalam suatu molekul. Teknik ini didasarkan pada pengukuran cahaya yang dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel. Pertama-tama, sampel disinari oleh sumber cahaya dengan panjang gelombang berkisar antara 800 sampai 2500 nm. Kemudian cahaya yang dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel dikumpulkan oleh detektor dan diubah menjadi spektrum. Dengan cara inilah spektroskopi NIR memainkan perannya dalam identifikasi dan kuantitasi sampel (Patil *et al.*, 2007).

Spektrum sampel NIR terdiri dari pita yang timbul dari tumpang tindihnya serapan yang sesuai terutama untuk *overtones* dan kombinasi mode getaran yang melibatkan ikatan kimia -CH, -OH dan -NH. Ikatan kimia ini berada diantara atom dalam molekul yang bergetar dan getaran ini berperan sebagai gerak harmonik sederhana. Ketika frekuensi radiasi telah cocok dengan molekul yang bergetar, maka akan terjadi transfer seluruh energi dari radiasi ke molekul yang dapat diukur sebagai sebidang energi versus panjang gelombang yang disebut sebagai spektrum (Patil *et al.*, 2007).

## 2.5 Analisis Kemometrik

Kemometrik merupakan aplikasi metode matematik sebagai solusi untuk semua tipe permasalahan kimia. Kemometrik juga dapat didefinisikan sebagai disiplin ilmu kimia yang menggunakan metode statistik dan matematika untuk mendesain atau memilih prosedur dan eksperimen yang optimal, dan memberikan informasi kimia yang maksimum dengan analisis data kimia (Miller dan Miller, 2010).

Saat ini kemometrik memungkinkan untuk menganalisis data multivariat. Data multivariat merupakan suatu data yang memiliki banyak variabel dan dari setiap variabel tersebut dapat saling berkorelasi. Keuntungan dari analisis multivariat adalah informasi yang didapat akan lebih banyak karena analisis multivariat mempertimbangkan banyak variabel secara bersamaan. Selain itu,



keuntungan lainnya adalah analisis multivariat dapat lebih selektif dalam suatu pengukuran, dan bisa mendeteksi adanya sampel palsu (Bro, 2003).

Menurut Varmuza (2000), tujuan utama dari metode analisis data multivariat adalah sebagai berikut :

1. Interpretasi data

Metode yang paling sering digunakan adalah *Principal Component Analysis* (PCA). Tujuan dari interpretasi data adalah untuk mencari kelompok dari objek yang hampir sama atau mencari *outlier* (objek yang tidak mempunyai kesamaan). Teknik ini biasanya digunakan untuk menjelaskan secara maksimal keragaman di dalam variabel.

2. Klasifikasi

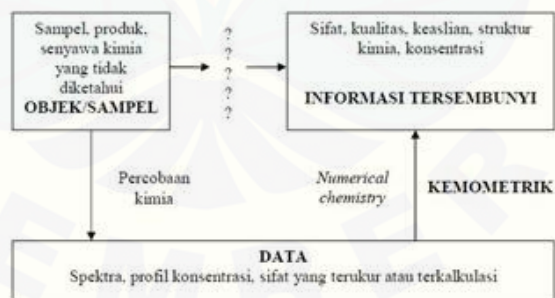
Analisis multivariat dapat digunakan untuk membuat model klasifikasi suatu objek. *Training set* yang mengandung objek dengan kategori yang telah diketahui digunakan untuk membentuk suatu model klasifikasi. Sedangkan *test set* dengan objek di luar *training set* namun telah diketahui kategorinya digunakan untuk mengevaluasi model klasifikasi ini. Teknik klasifikasi multivariat yang paling sering digunakan adalah *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA), *Cluster Analysis* (CA), *Support Vector Machines* (SVM) *K-Nearest-Neighbor Classification* (KNN) dan *Artificial Neural Network* (ANN). Teknik ini dapat diaplikasikan pada analisis kimia seperti penentuan kategori sampel dari data spektrum.

3. Kalibrasi

Metode ini merupakan teknik multivariat yang paling sering digunakan sebagai analisis rutin pada analisis kimia. Tujuannya adalah pengembangan model matematis yang menjelaskan hubungan atau korelasi antara beberapa variabel prediktor dan satu atau beberapa variabel efek. Metode yang sering digunakan untuk tujuan ini adalah *Principal Component Regression* (PCR) dan *Partial Least Square* (PLS). Metode ini sering diaplikasikan untuk analisis kimia terutama pada spektroskopi inframerah, dan model Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktifitas (HKSA).

Kemometrika di dalam analisis NIR terdiri atas tiga aspek, yaitu pra-pengolahan data spektra, membangun model kalibrasi untuk analisis kuantitatif dan transfer model. Salah satu analisis kemometrik yang terpenting adalah membentuk model kalibrasi melalui metode pengenalan pola untuk mengidentifikasi kemiripan dan pola utama data. Selanjutnya, model ini digunakan untuk memprediksi sampel yang tidak diketahui (Africa, 2007).

Fungsi kemometrika dalam spektroskopi digunakan untuk meningkatkan kualitas data. Kemometrika memungkinkan adanya pengukuran data multivariat, yang mana beberapa variabel (absorbansi dalam banyak bilangan gelombang) diukur untuk suatu sampel yang dituju (Miller and Miller, 2000). Kemometrik merupakan salah satu bentuk analisis kalibrasi multivariat. Metode kalibrasi multivariat dapat dibagi berdasarkan kegunaan kualitatif atau kuantitatif. Untuk analisis kualitatif dapat menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Regression* (SVM), dan *Soft Independent Modelling of Class Analogy* (SIMCA). Sedangkan untuk analisis kuantitatif dapat diklasifikasikan menjadi *Multiple Linear Regression* (MLR), *Principal Component Regression* (PCR), *Partial Least Square* (PLS), dan *Artificial Neural Network* (ANN) (Roggo et al., 2007).



Gambar 2.1 Bagan metode kemometrik (Varmuza, 2001)

### 2.9.1 *Partial Least Square* (PLS)

PLS merupakan salah satu teknik kalibrasi multivariat yang sangat luas digunakan dalam analisis kuantitatif data spektroskopi dan elektrokimia (Abdollahi et al., 2003). Model kalibrasi dengan menggunakan PLS dapat digunakan untuk memprediksi komposisi suatu bahan, menggantikan metode

konvensional yang membutuhkan waktu lama di laboratorium (Evi *et al.*, 2012). PLS lebih umum digunakan dalam kalibrasi multivariat karena mutu model kalibrasi yang dihasilkan dan kemudahan penerapannya. Regresi PLS merupakan sebuah teknik analisis multivariat yang sangat canggih, oleh sebab itu penggunaannya meningkat pada spektroskopi inframerah kuantitatif. Ketika sebuah spektrum dari sampel yang tidak diketahui dianalisis, PLS mencoba untuk merekonstruksi spektrum dari spektra pemuat dalam memprediksi konsentrasi sampel yang tidak diketahui (Pare dalam Assifa, 2014).

### 2.9.2 *Linear Discriminant Analysis (LDA)*

LDA adalah metode yang paling banyak digunakan dengan hasil terbaik. LDA didasarkan pada penentuan fungsi diskriminan linier yang memaksimalkan rasio antara kelas varians dan meminimalkan rasio dalam kelas varian. Pada LDA, kelas seharusnya mengikuti distribusi normal multivariat dan distribusi linier (Berrueta *et al.*, 2007).

Keberhasilan LDA dalam pengkategorian objek dapat diuji dengan beberapa cara. Cara yang paling sederhana adalah dengan menggunakan model klasifikasi yang telah dibuat untuk mengklasifikasikan objek dan menentukan apakah hasil pengklasifikasian tersebut benar atau tidak. Cara ini cenderung memberikan overoptimistik karena objek yang diklasifikasi merupakan bagian dari set data yang digunakan untuk membentuk model. Metode yang lebih baik adalah dengan membagi data asli menjadi dua kelompok yang dipilih secara acak (Miller dan Miller, 2010).

### 2.9.3 *Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA)*

SIMCA merupakan salah satu metode klasifikasi yang terdapat dalam The Unscrambler. Model SIMCA dibentuk berdasarkan pembuatan model PCA dalam trng set. Sampel yang tidak diketahui kemudian dibandingkan dalam model SIMCA dan pengkategorian dinilai berdasarkan analogi pada sampel percobaan (Camo, 2005). SIMCA digunakan untuk pengkategorian objek kedalam lebih dari satu kategori secara simultan (Brereton, 2007).

SIMCA menentukan jarak kategori, kemampuan pemodelan dan diskriminasi. Jarak kategori dapat dihitung sebagai jarak geometrik dari model komponen-komponen utama. Pendekatan lain menganggap bahwa tiap kategori dibatasi dengan jarak wilayah yang mewakili persentase tingkat kepercayaan (biasanya 95%). Kemampuan diskriminasi mengukur seberapa baik variabel membedakan antara dua kategori (Berrueta *et al.*, 2007)

#### 2.9.4 *Support Vector Machines (SVM)*

SVM merupakan pendekatan baru untuk klasifikasi dimana telah dikemukakan pada awal tahun 1990. SVM disebut sebagai metode pembatas. SVM tidak membentuk model kategori tetapi membentuk pembatas antara dua kategori. SVM diterapkan sebagai pengklasifikasian dua kategori, dimana SVM akan membedakan antara dua kategori tersebut (Brereton, 2007). SVM akan membentuk Optimal Separating Hyperplane (OSH) dalam membatasi dua kategori. OSH ini didefinisikan sebagai sesuatu yang dapat memberikan jarak pembatas secara maksimal terhadap dua kategori (margin). Objek atau sampel yang berada pada garis tepi OSH disebut *support vector* (Stanimirova *et al.*, 2010).

#### 2.9.5 *Principal Component Analysis (CA)*

Analisis cluster adalah teknik multivariat yang mempunyai tujuan utama untuk mengelompokkan objek-objek berdasarkan karakteristik yang dimilikinya. Analisis cluster mengklasifikasi objek sehingga setiap objek yang memiliki sifat yang mirip (paling dekat kesamaannya) akan mengelompok ke dalam satu cluster (kelompok) yang sama (Miller and Miller, 2000). Pada penelitian ini digunakan salah satu dari metode *cluster analysis* yaitu metode hierarki (*hierarchical method*).

Metode hierarki (*hierarchical method*) adalah suatu metode pada analisis cluster yang membentuk tingkatan tertentu seperti pada struktur pohon karena proses clusternya dilakukan secara bertingkat atau bertahap. Hasil *cluster* dengan metode hierarki dapat disajikan dalam bentuk dendogram. Dendogram adalah



representasi visual dari langkah-langkah dalam analisis cluster yang menunjukkan bagaimana *cluster* terbentuk dan nilai koefisien jarak pada setiap langkah. Angka disebelah kanan adalah obyek penelitian, dimana obyek-obyek tersebut dihubungkan oleh garis dengan obyek yang lain sehingga pada akhirnya akan membentuk satu *cluster* (Simamora, 2005)

## 2.6 Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

### 1. Penetapan Kadar Fenol Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

#### a) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Ekstrak metanol daun tanaman ditimbang masing-masing sebanyak 25 mg. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan metanol 98% sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak 2500 µg/ml.

#### b) Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 25 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dengan metanol 98% sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol 98% sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan standar asam galat akhir yaitu 40 µg/ml, 50 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml dan 120 µg/ml.

#### c) Penentuan Kadar (Wolfe *et al.*, 2003)

Penentuan kadar fenol total dilakukan dengan cara sampel sebanyak 400 µl dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan standar ditambahkan dengan 400 µl Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Setelah itu didiamkan selama 6 menit. Setelah 6 menit, ditambahkan 3200 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L air). Campuran ini didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 628 nm. Blangko yaitu semua reGAEn tanpa larutan ekstrak.

## 2. Penetapan Kadar Flavonoid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

### a) Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

Larutan baku dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan etanol 10 mL. Satu seri konsentrasi larutan kuersetin dalam etanol dibuat dari larutan baku, yaitu dengan rentang konsentrasi 100 - 300 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kuersetin dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, dilarutkan dengan 3 mL etanol ditambahkan 0,2 mL AlCl<sub>3</sub> 10% ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M ditambahkan aquadest sampai tanda, didiamkan 30 menit (hasil optimasi), diukur absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm. Blangko yaitu semua reagen tanpa larutan standar. Dari data ini dibuat persamaan regresi antara konsentrasi kuersetin dengan serapan.

### b) Penentuan kadar flavonoid total

Ekstrak ditimbang sebanyak 40 mg, dilarutkan dengan etanol 10 mL. Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dilarutkan 3 mL etanol, ditambahkan 0,2 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M, ditambahkan aquadest sampai tanda, didiamkan 30 menit (hasil optimasi), diukur absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm. Blangko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak.

## 3. Penetapan Kadar Alkaloid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

a) Preparasi Bromocresol Green Ditimbang 6,98 mg bromocresol green dilarutkan dengan 0,3 mL 2N NaOH dan 0,5 mL akuades selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai batas volume.

b) Preparasi Dapar fosfat Larutan dapar fosfat (pH 4,7) disiapkan dengan menyesuaikan pH. Larutan dapar fosfat dibuat dengan menimbang natrium fosfat 7,16 g dan 4,202 g asam salisilat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai batas volume.

### c) Preparasi larutan standar kafein

Larutan baku dibuat dengan menimbang 40 mg kafein dilarutkan dengan etanol 10 mL. Satu seri konsentrasi larutan kafein dalam etanol



dibuat dari larutan baku, yaitu dengan range konsentrasi 50 – 200  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kafein dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, ditambahkan 2 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 2 mL larutan BCG (Bromocresol Green) dan diekstraksi dengan 3 mL kloroform sebanyak tiga kali. Diambil fase kloroform dimasukkan labu ukur 10 mL ditambahkan kloroform sampai batas volume. Absorbansi kloroform kompleks diukur pada panjang gelombang 430 nm. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak.

d) Penentuan kadar alkaloid total

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan cara sampel sebanyak 200  $\mu\text{g/ml}$  dari masing-masing larutan uji ekstrak ditambahkan dengan 2 ml dapar fosfat pH 4,7 dan 2 ml larutan BCG (Bromocresol Green) kemudian diekstraksi dengan 3 mL kloroform sebanyak tiga kali menggunakan vortex. Diambil fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai batas volume. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 430 nm. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak

## **2.7 Revalidasi Model dan Penentuan Kadar Fenol, Flavonoid, Alkaloid Menggunakan Model PLS dengan Metode NIR dan Kemometrik**

Sebelum model pada penelitian sebelumnya digunakan, terlebih dahulu dilakukan validasi ulang menggunakan metode *2-fold cross validation*. Metode tersebut dilakukan menggunakan 5 sampel independen (*test set*) dengan konsentrasi yang telah diketahui. Konsentrasi dari 5 sampel tersebut didapat dengan melakukan penentuan kadar menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Setelah kadar didapat kemudian hasil kadar diolah untuk divalidasi menggunakan metode *2-fold cross validation*. Korelasi antara konsentrasi hasil prediksi model dengan konsentrasi teoritis diketahui dengan melihat nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) prediksi, RMSEC, dan RMSECV. Suatu model PLS dikategorikan sebagai model yang dapat dipercaya bila nilai korelasi dan nilai galat yang memiliki

kedekatan untuk setiap tahapan pembuatan model. Korelasinya harus bernilai tinggi sedangkan galatnya bernilai rendah (Baranska, 2005).

Apabila model yang telah divalidasi dinyatakan valid, maka model tersebut dapat digunakan untuk penentuan kadar sampel selanjutnya. Adapun tahapan untuk menentukan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid menggunakan model yang telah terbentuk pada penelitian sebelumnya dalam perangkat lunak *The Unscramble X 10.2*, sebagai berikut: *software The Unscrambler versi X 10.2* dibuka. *Import* data model PLS fenol (Fracilia *et al.*, 2015), flavonoid (Wulandari *et al.*, 2015), Alkaloid (Nurul *et al.*, 2015), kemudian untuk menentukan kadar masing-masing sampel pilih *file, import data*, lalu dipilih Brimrose, kemudian masukkan *file scanning* sampel, sehingga akan muncul tampilan data dengan masing-masing panjang gelombang. Selanjutnya klik *task, predict*, lalu pilih *regression* sehingga akan di dapatkan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid.

### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penetapan model klasifikasi dan kandungan fitokimia ekstrak metanol daun mimba (*Azadirachta indica*) di Madura, Jember, dan Malang menggunakan metode NIR dan Kemometrik merupakan jenis penelitian eksperimental laboratories (*true experimental laboratories*) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ketinggian terhadap model klasifikasi dan kandungan fitokimia daun mimba sebagai salah satu bentuk kontrol kualitas.

#### **3.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia, Fakultas Farmasi, Universitas Jember . Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Juni 2016- Juli 2017.

#### **3.3 Alat dan Bahan penelitian**

##### **3.3.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer NIR Brimrose Luminar 3070, perangkat lunak Brimrose, perangkat lunak Prospect, perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*(Camo), *ultrasonicator* (Elmasonic), *evaporator*, oven (Memmert), timbangan analitik digital (Sartorius), blender, corong, cawan porselin, sendok ekstrak, ayakan B-60, dan seperangkat alat gelas.

##### **3.3.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mimba (*Azadirachta indica*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang (Tabel 3.1), methanol 98% teknis, kertas saring, aluminium foil, aerosil, n-heksan teknis.

Tabel 3.1 Daftar Kode Sampel Simplisia *Azadirachta indica*

Lokasi	Nama Batra	Kode	Ketinggian wilayah* (mdpl)	Kategori Ketinggian (mdpl)
Bangkalan (Kamal)	Rumah Warga	DK	7	<45 (Rendah)
Madura Pamekasan (Pakong)	Lahan Toga Pedagang Jamu	DS	22	
Sumenep (Lenteng)	Lahan Toga Pedagang Jamu	DP	44	
Sumberbaru	Lahan Toga Pedagang Jamu	JB	73	45-100 (Sedang)
Jember Jubung	Lahan Toga Pedagang Jamu	JJ	59	
Sumbersari	Lahan Toga FMIPA UNEJ	JS	99	
Lawang	Balai Pengobatan Tombo Ati	ML	512	>100 (Tinggi)
Malang Singosari	Lahan Toga Pedagang Jamu	MS	559	
Batu	UPT Materia Medika	MB	1040	

\* Google Earth, 2016

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ketinggian suatu daerah pengambilan sampel dalam satuan mdpl.

#### 3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah model klasifikasi, dan kandungan fitokimia (flavonoid, total fenol, dan alkaloid) ekstrak metanol daun mimba.

#### 3.4.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah perlakuan sampel, dan metode ekstraksi.

### 3.5 Rancangan penelitian

#### 3.5.1 Rancangan Operasional

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap:

- a. Pembuatan simplisia daun mimba
- b. Pembuatan ekstrak daun mimba
- c. Validasi ulang model
- d. Penetapan model klasifikasi dan kandungan fitokimia

### 3.5.2 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah:

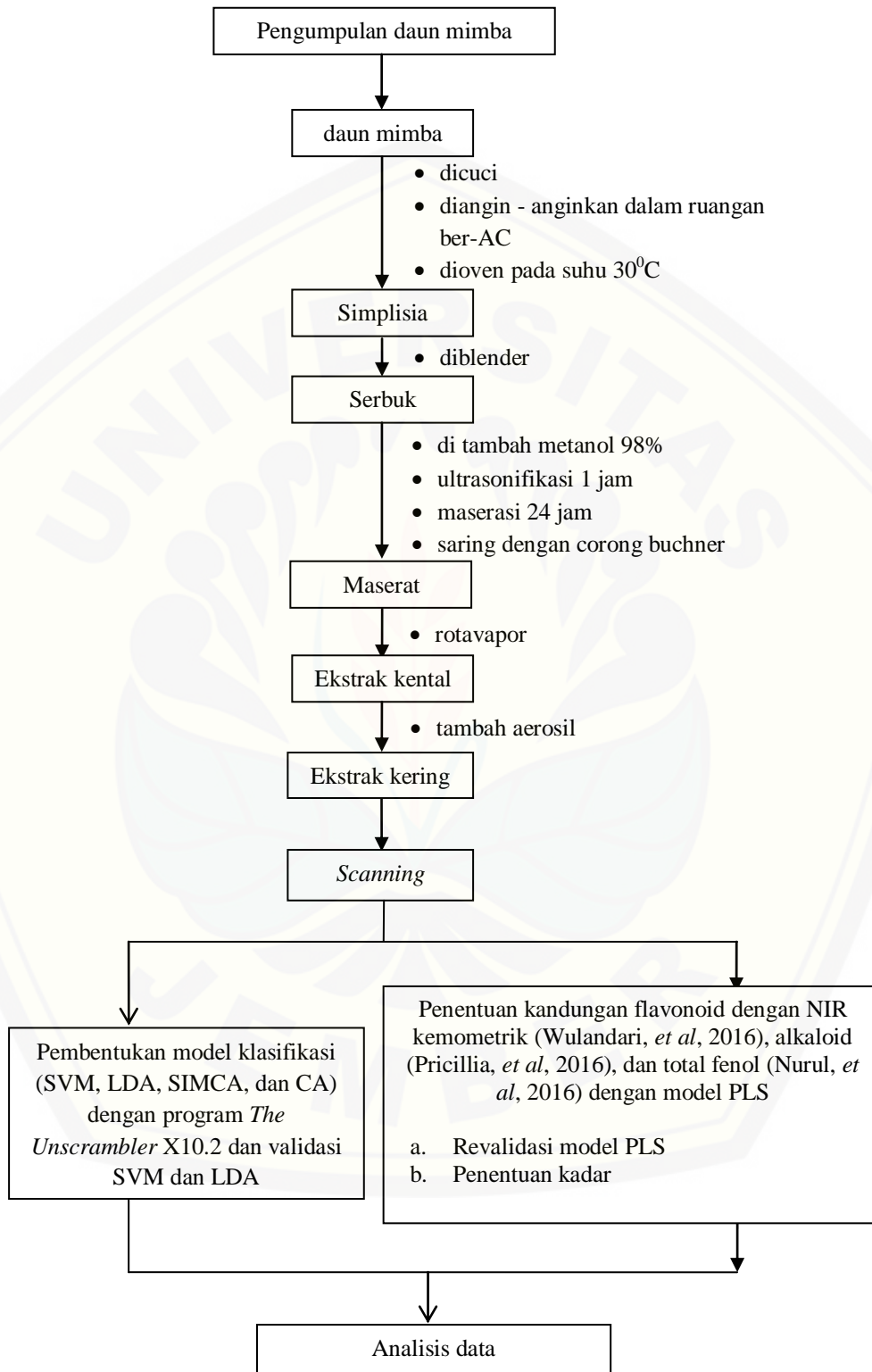
- a. Daun mimba yang digunakan adalah daun secara acak tanpa membedakan usia daun dan usia pohon yang diperoleh dari 3 daerah dengan ketinggian berbeda (Madura sebagai dataran rendah, Malang sebagai dataran tinggi, dan Jember sebagai dataran sedang) dengan 3 kecamatan di setiap daerahnya, diperoleh pada bulan Juni – Desember tahun 2016 ketika curah hujan tinggi.
- b. Ekstraksi simplisia daun mimba merupakan proses pengambilan senyawa aktif dari daun mimba dengan pelarut metanol menggunakan kolaborasi metode ultrasonik, dan maserasi.
- c. Validasi ulang model dilakukan dengan menggunakan metode *2-fold-cross-validation*
- d. Penetapan model klasifikasi dan kandungan fitokimia (flavonoid, total fenol, dan alkaloid) dilakukan dengan menggunakan metode NIR dan Kemometrik.

### 3.5.3 Rancangan Percobaan

Ekstraksi simplisia tanaman dilakukan dengan cara ultrasonikasi dan maserasi menggunakan metanol 98%. Dari proses tersebut didapatkan ekstrak kental yang dikeringkan hingga menjadi ekstrak kering. Profil IR dan kandungan fitokimia daun mimba (*Azadirachta indica*) ditentukan metode NIR Kemometrik.

Analisis profil dilakukan dengan melihat pola spektra yang dihasilkan melalui NIR yang dikombinsi dengan analisis kemometrik yaitu PLS, LDA, SVM, SIMCA, dan CA. Untuk menetapkan kadar alkaloid, flavonoid dan total fenol dalam sampel nyata digunakan model yang telah tervalidasi pada penelitian sebelumnya. Kadar alkaloid, flavonoid dan total fenol daun mimba yang diperoleh dari tiga daerah dengan ketinggian berbeda kemudian dibandingkan.

### 3.6 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema alur penelitian



### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Pengambilan Sampel

Pemilihan teknik pengambilan sampel merupakan upaya penelitian untuk mendapat sampel yang representatif (mewakili), yang dapat menggambarkan populasinya. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah sampel dengan maksud (*purposive sampling*). Pengambilan sampel dilakukan hanya atas dasar pertimbangan peneliti saja yang menganggap unsur-unsur yang dikehendaki telah ada dalam anggota sampel yang diambil (Roz, 2003). Dalam penelitian ini, Sampel diperoleh dari didapatkan dari tiga daerah dengan ketinggian berbeda (Malang, Jember dan Madura).

#### 3.7.2 Pembuatan Simplisia

Sampel yang didapat dari hasil survei selanjutnya dicuci, dan sortasi basah. Daun basah terlebih dahulu di keringkan di dalam ruangan yang ber-AC dengan cara diangin-anginkan, setelah itu di oven. Simplisia Daun mimba yang kering disimpan dalam wadah bersih, pada suhu ruang, dan terlindungi dari sinar matahari.

#### 3.7.3 Pembuatan Ekstrak

Simplisia Daun mimba yang sudah kering diblender hingga halus kemudian di ayak. Serbuk daun ditimbang sebanyak 50 gram diletakkan di dalam erlenmeyer. Ditambahkan 150 ml metanol 98% ke dalam erlenmeyer kemudian di ultrasonik selama 1 jam, setelah 1 jam di ultrasonik kemudian didiamkan selama 24 jam (metode maserasi). Ekstrak cair yang didapat kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotavapor pada suhu 50 °C untuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan dikeringkan dengan aerosil. Selanjutnya ekstrak yang sudah kering digerus sampai halus dan disimpan dalam vial yang telah diberi label.

#### 3.7.4 Pengukuran Pantulan Spektrum NIR (*Scanning*)

Instrumen NIR dihidupkan dan ditunggu selama 30 menit. Perangkat lunak Brimrose kemudian dibuka. Sampel yang kemudian diletakkan diatas plat tempat sampel secara merata dan agak ditekan. Satu sampel di-*scan* 5 kali dan dilakukan 3 kali penembakan pada masing-masing *scanning*. Langkah-langkah tersebut diulangi untuk tiap sampel. Setelah semua sampel di-*scan*, perangkat lunak Brimrose ditutup, kemudian hasil spektra *scanning* diamati dengan perangkat lunak Prospect. Selanjutnya data yang telah diperoleh diolah dengan perangkat lunak *The Unscrambler X10.2* (Camo software).

#### 3.7.5 Pembentukan Model klasifikasi

Data spektrum yang diperoleh dari *scanning* NIR diolah dengan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler versi X 10.2*. Pembentukan model klasifikasi dilakukan dengan metode *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA), dan *Cluster Analysis* (CA) dengan langkah-langkah sebagai berikut: software *The Unscrambler versi X 10.2* dibuka dan data dimasukkan dengan memilih *file*, *import data*, lalu dipilih *Brimrose* sehingga akan muncul tampilan data dengan masing-masing panjang gelombang. Selanjutnya dibuat kategori objek. Kategori tersebut yaitu “matriks” dan “flavonoid/fenol/alkaloid”. Dimana “matriks” adalah sampel bukan ekstrak yang terdapat dalam ekstrak (aerosil dan akuades), sedangkan “flavonoid/fenol/alkaloid” adalah sampel ekstrak daun tanaman. Objek dikelompokkan dengan memilih *define range* dan *column range* diisi dengan kategori pada kolom 1 dan absorbansi pada kolom yang lain.

Selanjutnya di buat model klasifikasi sebagai berikut :

##### 3.7.5.1 LDA (*Linear Discriminant Analysis*)

Model dibuat dengan klik *task*, *analyze*, lalu pilih *Linear Discriminant Analysis*. Model klasifikasi dikatakan valid apabila *persentase* akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya. Model klasifikasi yang terbentuk kemudian dapat digunakan untuk memprediksi klasifikasi dari sampel yang belum diketahui.

### 3.7.5.2 SVM (*Support Vector Regression*)

Model dibuat dengan klik *task, analyze*, lalu pilih *Support Vector Regression*. Model klasifikasi yang dapat digunakan untuk memprediksi klasifikasi dari sampel yang belum diketahui adalah model klasifikasi yang valid. Model klasifikasi dikatakan valid apabila % akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

### 3.7.5.3 SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*)

Model dibuat dengan klik *task, analyze*, lalu pilih *Soft Independent Modelling of Class Analogy*. Model klasifikasi yang dapat digunakan untuk memprediksi klasifikasi dari sampel yang belum diketahui adalah model klasifikasi yang valid. Model klasifikasi dikatakan valid apabila *persentase* akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

### 3.7.5.4 CA (*Cluster Analysis*)

Model dibuat dengan klik *task, analyze*, lalu pilih *Soft Independent Modelling of Class Analogy*. Model klasifikasi yang dapat digunakan untuk memprediksi klasifikasi dari sampel yang belum diketahui adalah model klasifikasi yang valid. Model klasifikasi dikatakan valid apabila *persentase* akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

Model LDA dan SVM yang terbentuk kita validasi dengan menggunakan metode LOOCV. Validasi ini dibuat dengan meninggalkan satu data dari masing-masing replikasi sampel untuk validasi silang, yaitu dengan mengeluarkan satu sampel pada kecamatan tertentu dari training set dan menggunakan 8 kecamatan sisanya sebagai test set. Hal ini dilakukan berulang pada setiap daerah dan kandungan dalam sampel yang digunakan sebagai data validasi.

## 3.7.6 Penentuan Kandungan Fitokimia Dengan NIR Kemometrik

### 3.7.6.1 Revalidasi 2 Fold CV Model PLS

Model klasifikasi PLS merupakan model yang memberikan hasil secara kuantitatif. Penentuan kadar Flavonoid, Fenol, dan Alkaloid menggunakan Data

model PLS Flavonoid, Fenol, dan Alkaloid yang telah tervalidasi pada penelitian sebelumnya (Wulandari *et al.*, Fracilia *et al.*, dan Nurul *et al.*, 2016). Sebelum model digunakan model di validasi ulang dengan menggunakan metode 2 Fold CV. 4 sampel ekstrak ditentukan kandungan fitokimia dengan spektrofotometri UV-VIS dan ekstrak di scanning NIR, data yang didapat dimasukkan pada test set dalam program *Unscramble*.

#### 3.7.6.2 Penentuan kandungan fitokimia (flavonoid, total fenol, dan alkaloid) ekstrak daun mimba

Penentuan kandungan fitokimia (flavonoid, total fenol, dan alkaloid) ekstrak metanol daun mimba dilakukan dengan menggunakan model PLS yang telah di validasi ulang dalam perangkat lunak *The Unscramble X 10.2*, dengan langkah-langkah sebagai berikut: *software The Unscrambler versi X 10.2* dibuka. Data Model PLS fenol (Fracilia *et al.*, 2015), flavonoid (Wulandari *et al.*, 2015), Alkaloid (Nurul *et al.*, 2015), dimasukkan dengan memilih *file, import data*, lalu dipilih Brimrose sehingga akan muncul tampilan data dengan masing-masing panjang gelombang. Selanjutnya klik *task, predict*, lalu pilih *regression* sehingga akan di dapatkan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid.

#### 3.7.7 Analisis Data

Data kadar Alkaloid, Flavonoid, dan Fenol ekstrak Daun mimba (*Azadirachta indica*) yang di peroleh dari hasil penetapan kadar masing- masing daerah (Jember, Malang, dan Madura) dibandingkan.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti dapat menyimpulkan bahwa:

1. Metode spektroskopi inframerah dekat (NIR) dan kemometrik dapat digunakan untuk mengklasifikasikan ekstrak metanol daun mimba yang berasal dari daerah Madura, Jember, dan Malang. Model klasifikasi yang terbentuk yaitu *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), *Soft Independent Modelling of Class* (SIMCA) memiliki hasil 100%, dan *Cluster Analisis* (CA) mengelompokkan menjadi 2 kategori besar dimana kategori A (Jember, dan Madura) dan kategori B (Malang).
2. Kandungan rata-rata fenol total Madura, Jember, Malang adalah 65,237; 106,988; 137,952mg GAE/g ekstrak, kandungan rata-rata flavonoid total adalah 9,718; 15,784; 21,021 mg QE/g ekstrak, dan kandungan alkaloid total adalah 74,592; 45,111; 54,591 mg CE/g ekstrak.
3. Terdapat korelasi antara kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid pada ekstrak daun mimba terhadap ketinggian suatu daerah. Kandungan ketinggian suatu daerah berbanding lurus dengan jumlah kandungan total fenol serta flavonoid, dan berbanding terbalik dengan jumlah kandungan alkaloid dalam ekstrak metanol daun mimba.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian, maka peneliti dapat memberikan saran pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Perlu dikembangkan analisis unsur hara tanah, dan perbedaan tingkat suhu secara spesifik, untuk mendukung hasil data yang lebih efektif untuk mengetahui faktor eksternal yang membedakan kandungan fitokimia dari berbagai wilayah.
2. Perlu dibentuk model kalibrasi sampel tanaman untuk penentuan kandungan fitokimia selain fenol, flavonoid, dan alkaloid.



3. Perlu dilakukan validasi silang yang lain seperti K-fold cross validation, dan 2-fold cross-validation
4. Perlu dilakukan perbanyak pengambilan sampel dalam satu wilayah kecamatan untuk lebih melihat korelasinya.
5. Perlu dilakukan uji aktivitas antidiabetes, antibakteri, dan yang lain untuk melengkapi profiling guna membantu para farmasis dan disiplin ilmu lain dalam pembuatan suatu sediaan obat dan lain-lain.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi, H., Shariat, P. dan Mohammad R. 2003. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Iron, Cobalt, and Copper by Partial Least Square Calibration Method in Micellar Medium. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 207-212
- Abrahamsson, C. 2005. Time-Resolved Spectroscopy for Pharmaceutical Applications. Sweden : Department of Physics Lund Institute of Technology
- Africa, S. M. 2007. *Kombinasi Metode Spektrofotometri dan Kalibrasi Multivariat untuk Penentuan Simultan Natrium Benzoat dan Kalsium Sorbat*. Skripsi, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Berrueta, L. A., Alonso-Salces, R. M. and Héberger, K. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography*, 1158, p.196–214.
- Brereton, R.2000. *Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry*. Analyst, 125, p.2125–2154.
- Brereton, R. G. 2003. *Chemometrics, Data Analysis For The Laboratory and Chemical Plant*. England: John Wiley & Sons Ltd.
- Bro, R. 2003. *Multivariate calibration: What is in chemometrics for the analytical chemist* *Analytica Chimica Acta*, 500, p.185–194.
- Burns, D. dan Ciurczak, E. 2008. *Handbook of Near-Infrared Analysis*. New York : CRC Press
- Camo.2005.*TheUnscramblerMethods*.<http://www.camo.com/downloads/U9.6%20pdf%20manual/The%20Unscrambler%20Methods.pdf>.(16 Desember 2016)
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3), p.178–182
- Cushnie, T. P. and Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial GAEnts*, 26 (5), p.343–356.
- Cutter, E. 1989. *Plant Anatomy: Experiment and Interpretation Part 2 Organs*. London: The English Language Book Society and Edward Arnold (Publishers) Ltd. Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Fifth ed. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Dai, J. dan Mumper, R. 2010. Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. (15): 7313-7352
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.1995. *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Farmakope Indonesia. Edisi V. Jakarta* : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Emilan, Kurnia, Utami, Diyani, dan Maulana. 2011. *Konsep Herbal Indonesia :Pemastian Mutu Produk Herbal*. Depok : Universitas Indonesia
- Evi, M. R., Rhardjo, B., Sutiarto, L& Hardjoko, A. 2012. *Pendekatan Multivariat Untuk Pengukuran Kualitas Tomat (Lycopersicon esculentum) Berdasarkan Parameter Warna*. *AGRITECH*. 32(1) : 79-86.
- Fits, L. dan Memelink, J. 2000. *ORCA3 a Jasmonate-Responsive Transcriptional Regulator of Plant Primary and Secondary Metabolism*. *Science*. (289): 295-297
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung : ITB Bandung
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung: ITB Press.
- Indrayanto, 2015, seminar Rapat Kerja Nasional dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia (IAI) 2015, dengan tema "*Enhancing Pharmacist Competence in Sustainable Health*", At Bukittinggi, West Sumatra, Indonesia, May 7, 2015
- Kang, J., Li, Z., Wub, T., Jensen, G. S., Schauss, A. and Xianli, W. 2010. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpeoleraea Mart.*). *Food Chemistry*, 122, p.610–617.
- Karlinasari, L., Sabed, M., Wistara, N., Purwanto, A., dan Wijayanto, Hari. 2012. *Karakteristik Spektra Absorbansi NIR (NEAR INFRARED) Spektroskopi Kayu Acacia mangium Willd. Pada 3 Umur Berbeda*. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. VI: 1
- Khoddami, A., Wilkes, M., dan Robert, T. 2013. *Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds*. *Molecules*. 18: 2328-2375
- Koen, B., Ruth, V., Guido, V. and Johannes, V. S. 2005. Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280 (7), p.5636–5645.
- Kumar, S. dan Pandey, A. 2013. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview*. *The Scientific World Journal*

- Kunle, Folashade O, Egharevba, Omoregie H, Ahmadu, Ochogu P, 2012, Standardization of herbal medicines - A review, *International Journal of Biodiversity and Conservation* Vol. 4(3), pp. 101-112
- Latifa, R. 2015. Karakter Morfologi Daun Beberapa Jenis Pohon Penghijauan Hutan Kota di Kota Malang. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015*: 667-676
- Li, B. Q., Fu, T., Dongyan, Y., Mikovits, J. A., Ruscetti, F. W. and Wang, J. M. 2000. Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276 (2), p.534–538.
- Liang, Y.-Z. Xie P.S. & Chan Kelvin. (2004). *Quality control of herbal medicines. Chromatogr. B* 812, ( August 2004) pp.53–70,1570-0232.
- Mantanus, J. 2012. New Pharmaceutical Applications Involving Near Infrared Spectroscopy as A PAT Compliant Process Analyzer. Thesis, Belgium: University of Liege.
- Miller, J. and Miller, J. 2000. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Fourth ed. Harlow: Pearson Education.
- Miller, J. and Miller, J. 2005. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Fifth ed. Harlow: Pearson Education.
- Miller, J. and Miller, J. 2010. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Sixth ed. Harlow: Pearson Education.
- Pan, M. H., Lai, C. S. and Ho, C. T. 2010. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food and Function*, 1 (1), p.15–31.
- Patil, S., Kondawar, M. S., Pore, Y. V. and Kuchekar, B. S. 2007. Near Infra Red Spectroscopy: A Growing Technique in Material Analysis. [Online]. Available at: <http://www.pharmainfo.net/reviews/near-infra-red-spectroscopy-growing-technique-aterialanalysis> [Accessed: 6 September 2016].
- Rappoport, Z. 2003. *The Chemistry of Phenol*. Jerusalem : John Wiley dan Sons, Ltd
- Reich, G. 2005. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, p.1109–1143.
- Resi, A. W. and Surgani, A. 2009. *Flavonoida (Quercetin) dalam Makalah Kimia Organik, Program S2 Kimia*. Makassar: Universitas Hassanudin Indonesia



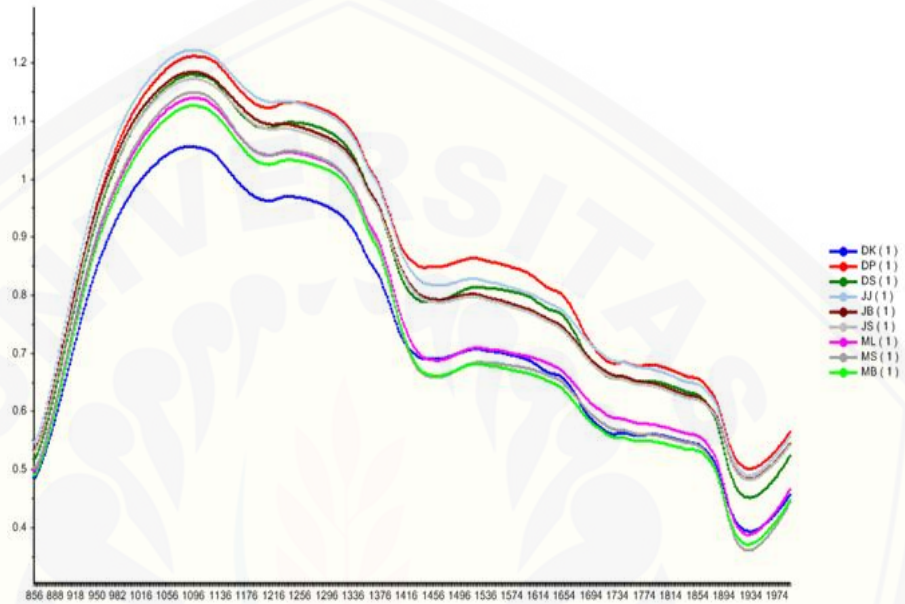
- Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., dan Nadine, J. 2007. A Review of Near Infrared Spectroscopy and Chemometrics In Pharmaceutical Technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 44: 683-700
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., dan Gupta, A. 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6): 168-182
- Stanimirova, I., Ustun, B., Cajka, T., Riddlelova, K., Hajslova, J., Buydens, L. M. and Walczak, B. (2010). Tracing the geographical origin of honeys using the GCxGC-MS and pattern recognition techniques. *Food Chemistry*, 118, p.171–176.
- Stchur, P., Cleveland, D., Zhou, J. and Michel, R. 2002. A review of recent applications of near infrared spectroscopy, and the characteristics of a novel PbS CCD array - based near infrared spectrometer. *Appl Spect Rev*, 37, p.383–428.
- Sudibyo R.S. 2002. *Metabolit Sekunder : Manfaat dan Perkembangannya dalam Dunia Farmasi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada
- Sun, S., et. al., 2010, Application of mid-infrared spectroscopy in the qualitycontrol of traditional Chinese medicines. *Planta Medica*76: 1987-1996
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press Haryadi. 2013. Pengukuran Luas Daun dengan Metode Simpson. *Anterior Jurnal*. 12 (2): 1-5
- Varmuza, K. 2001. *Applied Chemometrics: from Chemical Data to Relevant Information*. <http://www.lcm.tuwien.ac.at/vk/manus/Cairo-Conf-2000-Chemometrics.pdf>. [Diakses: 16 April 2015]
- Vermerris, W. dan Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands : Springer
- Zhu, W., Jia, Q., Wang, Y., Zhang, Y. and Xia, M. 2012. The anthocyanin cyanidin- 3-O- $\beta$ -glucoside, a flavonoid, increases hepatic glutathione synthesis and protects hepatocytes against reactive oxygen species during hyperglycemia: involvement of a cAMPPKA- dependent signaling pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 52 (2), p.314–327.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Data Spektrum Infra Merah yang Dihasilkan

1.1 Spektrum Training Set

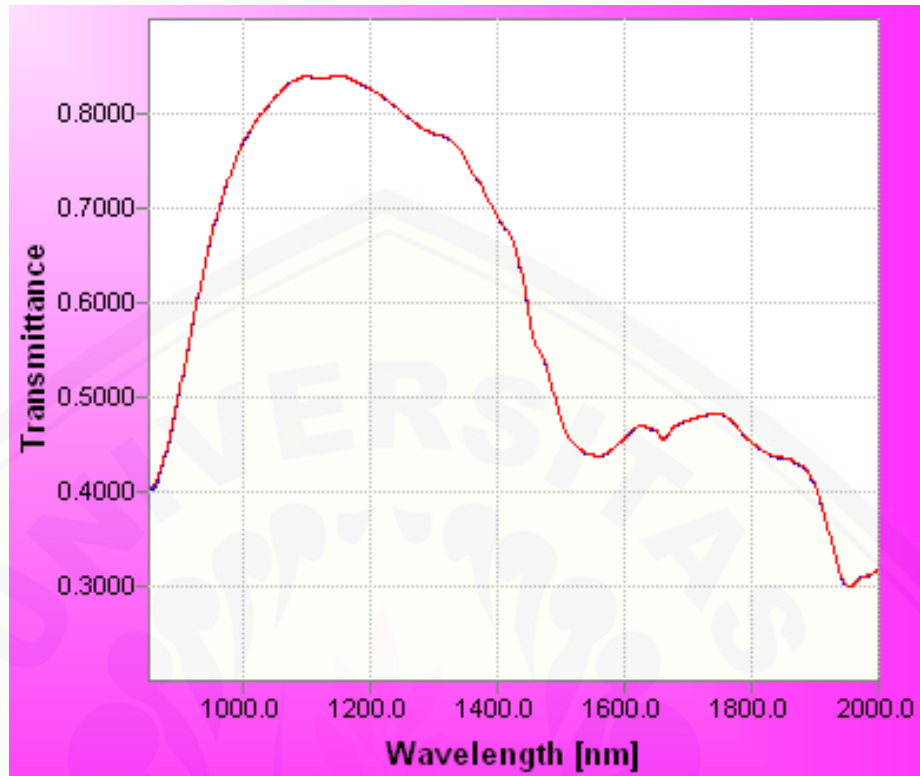


1.2 Spektrum Standar Uji Spektrofotometer UV-Vis

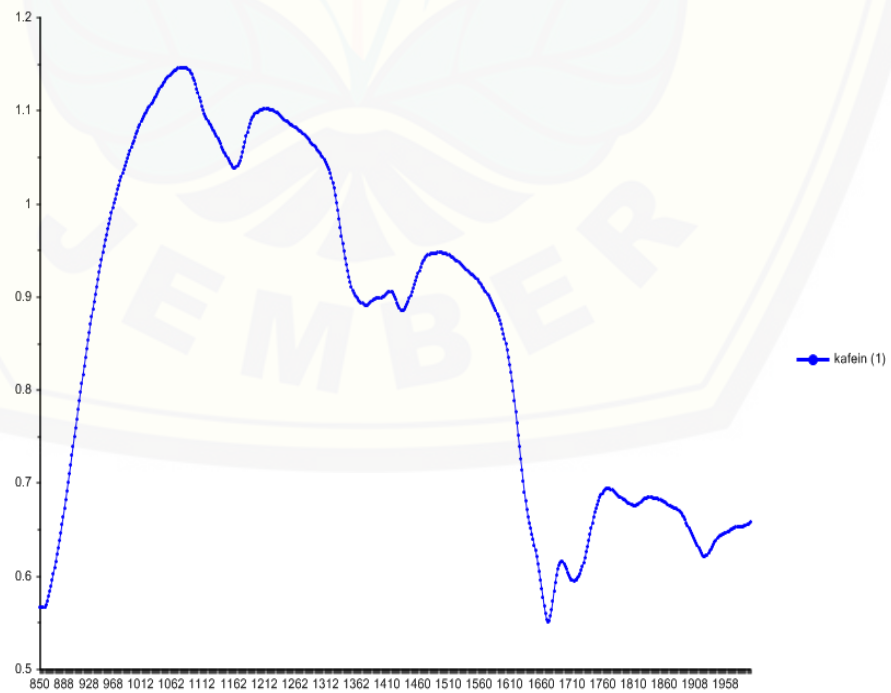
1. Spektrum Standar Kuarsetin



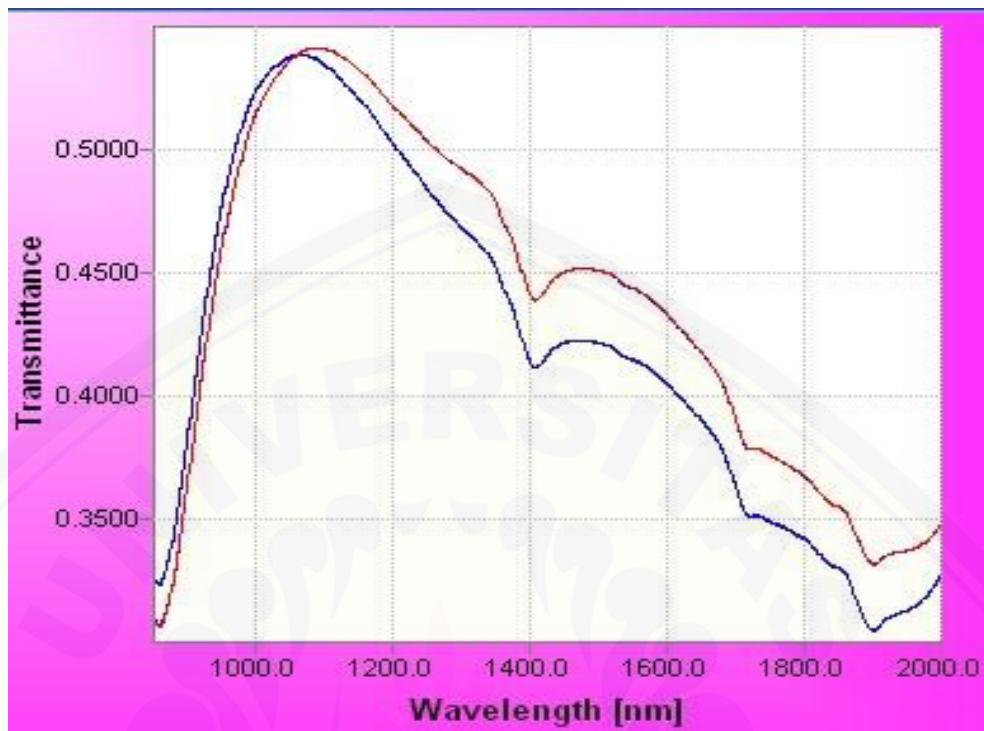
**2. Spektrum Standar Asam Galat**



**3. Spektrum Standar Kafein**



### 1.3 Spektrum Aerosil



### 1.4 Spektrum Aquadest



**LAMPIRAN 2. Identitas Sampel Ekstrak Daun Mimba****2.1 Sampel Training set Model Klasifikasi**

No	Kode	Sampel
1.	DK	Mimba Kamal
2.	DP	Mimba Lenteng
3.	DS	Mimba Pakong
4.	JJ	Mimba Jubung
5.	JB	Mimba Sumberbaru
6.	JS	Mimba Summersari
7.	ML	Mimba Lawang
8.	MS	Mimba Singosari
9.	MB	Mimba Batu

**2.2 Sampel Test Set Untuk Revalidasi****1. Model PLS Penentuan Kadar Fenol Total**

No	Kode	Sampel
1.	A	Juwet
2.	B	Sirih Merah
3.	C	Mimba
4.	D	Sambiloto
5.	E	Binahong
6.	F	Belimbing
7.	G	Lamtoro
8.	H	Mangga
9.	I	Pepaya

**2. Model PLS Penentuan Kadar Flavonoid**

No	Kode	Sampel
1.	A	Juwet
2.	B	Sirih Merah
3.	C	Mimba
4.	D	Sambiloto
5.	E	Binahong
6.	F	Kunir Putih
7.	G	Lamtoro
8.	H	Mengkudu
9.	I	Kopi Robusta Muda

### 3. Model PLS Penentuan Kadar Alkaloid

No	Kode	Sampel
1.	A	Juwet
2.	B	Sirih Merah
3.	C	Mimba
4.	D	Sambiloto
5.	E	Putri malu
6.	F	Sirsak
7.	G	Pepaya

### LAMPIRAN 3. Pembuatan Pereaksi Pada Penetapan Kadar Flavonoid, Fenol, dan Alkaloid Total

#### 3.1 Pembuatan *Adjuvant* Pada Penetapan Kadar Fenol Total

##### 4.1.1 Pembuatan Larutan Folin Ciocalteu 1:10

Sebanyak 1 ml reGAEn Folin Ciocalteu dilarutkan dalam 10 ml akuades

##### 4.1.2 Pembuatan ReGAEn Larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

$75\% = \frac{75 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$  Ditimbang 75 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dilarutkan dalam aquadest ad 100ml.

#### 3.2 Pembuatan *Adjuvant* Pada Penetapan Kadar Flavonoid

##### 5.1.1 Pembuatan Larutan AlCl<sub>3</sub>

$\frac{1 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = 10\%$  , Ditimbang 1 g AlCl<sub>3</sub>dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml

##### 5.1.2 Pembuatan Larutan Kalium Asetat 1 M

$$\text{Molar} = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{volume (ml)}} ; \text{Mr kalium asetat} = 98$$

$$1\text{M} = \frac{\text{massa}}{98} \times \frac{1000}{10 \text{ ml}}$$

$$\text{massa} = 0.98$$

#### 3.3 Pembuatan *Adjuvant* Pada Penetapan Kadar Alkaloid

##### 4.3.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 4,7

Ditimbang 7,16 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan 4,202g Asam sitrat dilarutkan dalam akuades 100 ml.

##### 4.3.2 Pembuatan Larutan BCG



Ditimbang 6,98 mg BCG dilarutkan dalam 0,3 ml 2N NaOH dan 0,5 ml akuades diultrasonik add 100 ml.

#### LAMPIRAN 4. Perhitungan Kadar Flavonoid, Fenol, dan Alkaloid Total

##### 4.1 Penetapan Kadar Total Fenol

###### 5.1.1 Larutan Standart Asam Galat

###### a. Larutan induk

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1004 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

###### b. Pengenceran larutan

$$1) \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$2) \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 301,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 301,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60,24 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 301,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 120,48 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$3) \frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 401,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 401,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80,32 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

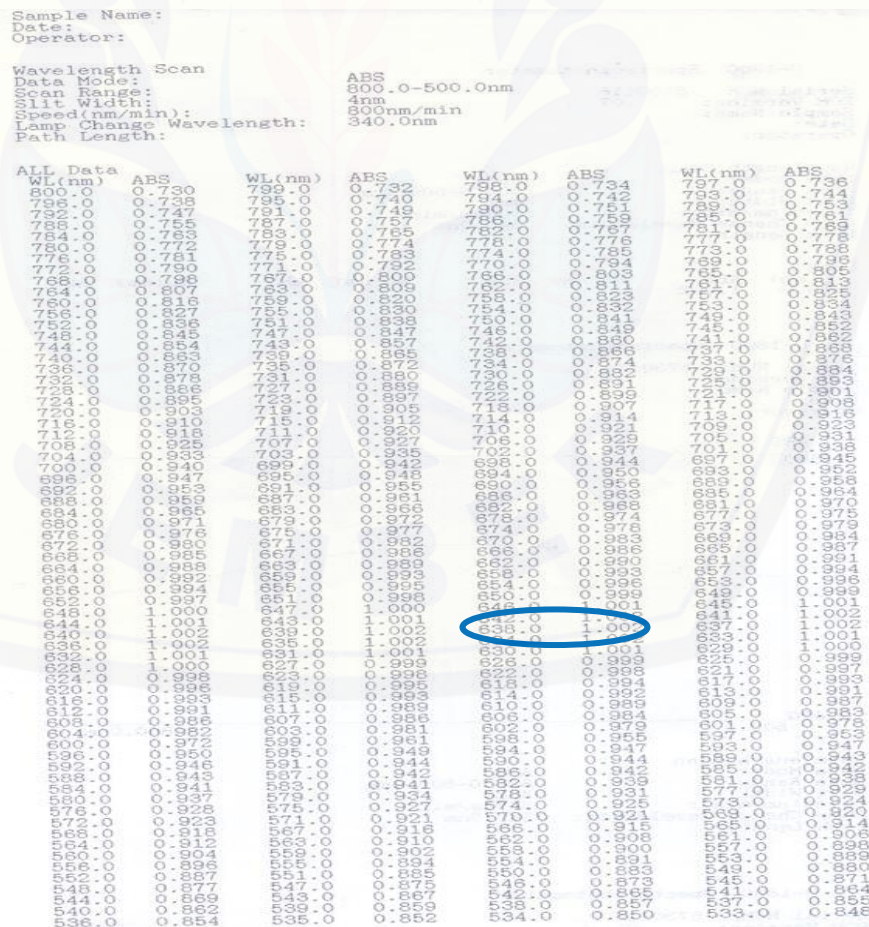
$$4) \frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 502 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 502 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

###### 5.1.2 Larutan Ekstrak Sampel Test Set

Sampel	Replikasi	Pembuatan Larutan Ekstrak
A	1	$\frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{25,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{25,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550 \mu\text{g/ml}$
B	1	$\frac{25,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{25,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$
C	1	$\frac{25,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{25,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{25,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510 \mu\text{g/ml}$
D	1	$\frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{25,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$

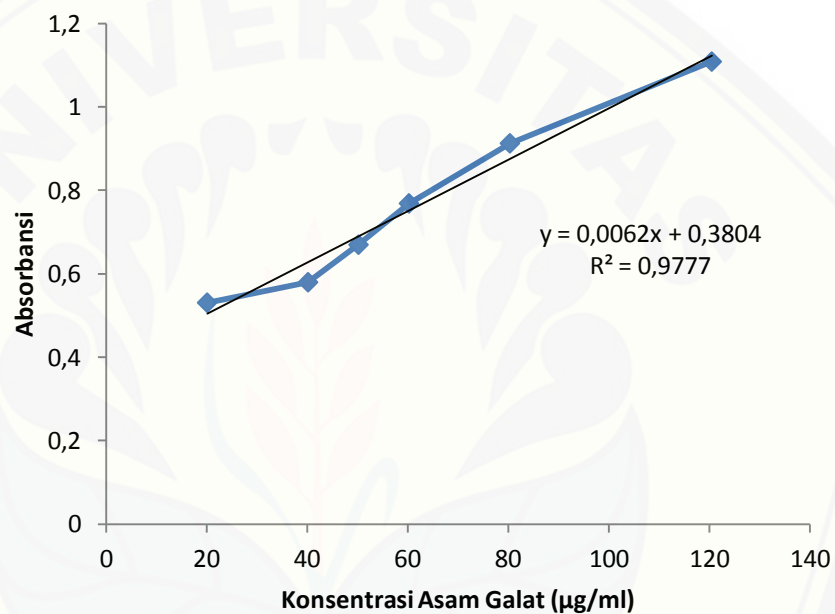
### 5.1.3 Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Fenol Total



### 5.1.4 Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total Sampel Test Set dengan Spektrofotometer UV-Vis

Standart: Asam Galat

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi
20.08	0.531
40.16	0.58
50.2	0.67
60.24	0.769
80.32	0.913
120.48	1.109



### 5.1.5 Hasil Perhitungan mg GAE/g Ekstrak Test Set

Contoh Perhitungan

Persamaan :  $Y = 6,163 \times 10^{-3} + 0.380$  ( $R = 0,989$  ;  $R^2 = 0,978$ )

✓ Replikasi 1 Sampel A

$$0,625 = 0,006163x + 0,380$$

$$x = 39,753 \mu\text{g/ml}$$

- Dalam 4 ml :  $39,753 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} = 158,94 \mu\text{g}$

- Dalam 10 ml :  $\frac{158,94 \mu\text{g}}{0,4 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 3973,5 \mu\text{g} = 3,973$

$$: \frac{3,973 \text{ mg}}{0,025 \text{ g}} = 158,92 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

## ✓ Replikasi 2 Sampel A

$$0,621 = 0,006163x + 0,380$$

$$x = 39,104 \mu\text{g/ml}$$

- Dalam 4 ml :  $39,104 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} = 156,416 \mu\text{g}$
- Dalam 10 ml :  $\frac{156,416 \mu\text{g}}{0,4 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 3910,4 \mu\text{g} = 3,9104$   

$$: \frac{3,9104 \text{ mg}}{0,0252 \text{ g}} = 155,175 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

Sampel Test Set	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg GAE/g ekstrak	Rata-rata mg GAE/g ekstrak
A	25	0,625	158,920	156,239
	25,2	0,621	155,175	
	25,5	0,623	154,623	
B	25,1	0,601	142,865	142,136
	25,6	0,599	138,807	
	25	0,603	144,735	
C	25,2	0,630	160,972	161,622
	25,4	0,631	160,342	
	25,1	0,633	163,551	
D	25	0,507	82,427	80,595
	25,3	0,504	79,526	
	25	0,503	79,831	

## 4.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total

### 5.2.1 Larutan Standar Kuarsetin

#### a. Larutan induk

$$\frac{10,115 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1011,5 \mu\text{g/ml}$$

#### b. Pengenceran

$$1) \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1011,5 \mu\text{g/ml} = 101,15 \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,15 \mu\text{g/ml} = 2,023 \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,15 \mu\text{g/ml} = 4,046 \mu\text{g/ml}$$

$$2) \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1011,5 \mu\text{g/ml} = 202,3 \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 202,3 \text{ } \mu\text{g/ml} = 8,092 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 202,3 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,115 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$3) \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1011,5 \text{ } \mu\text{g/ml} = 303,45 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 303,45 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,069 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 303,45 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,138 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

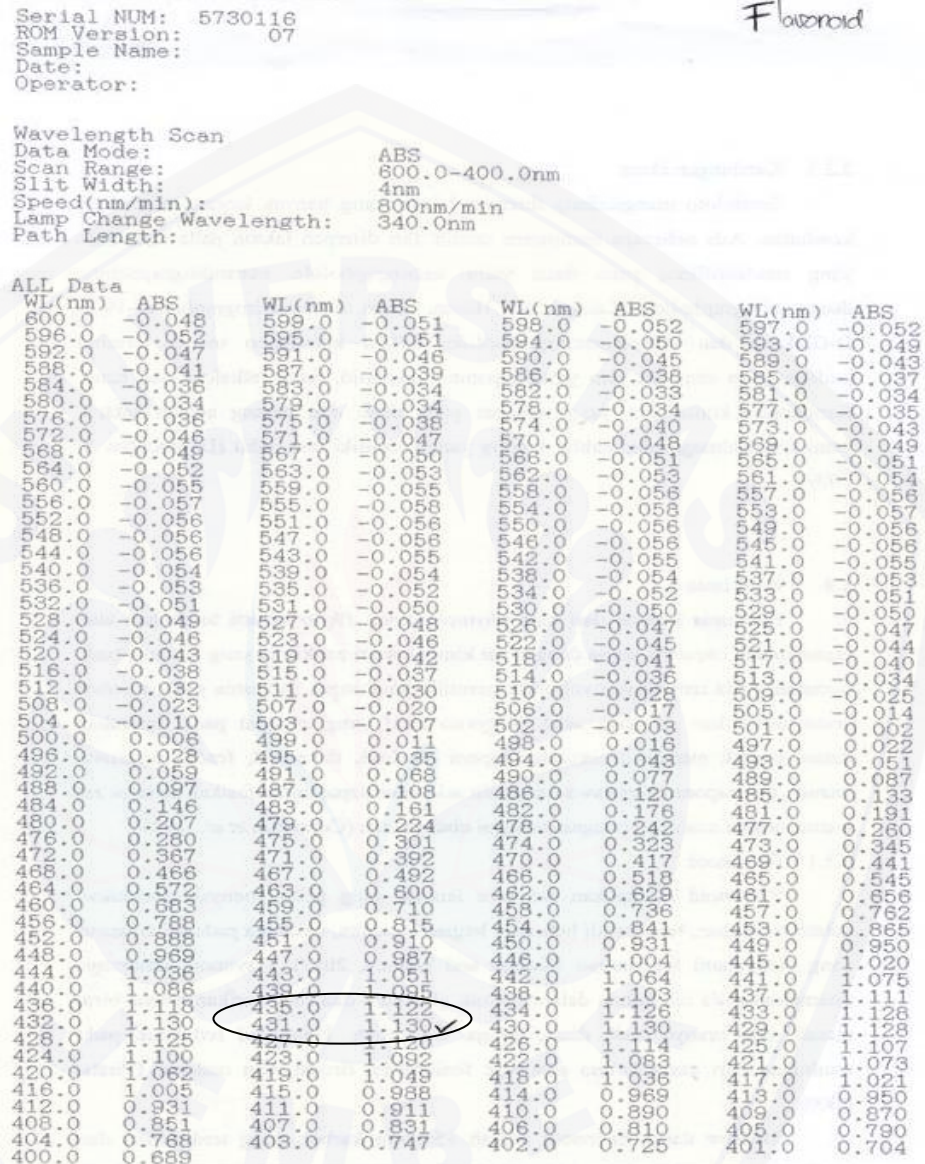
$$\diamond \frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 303,45 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,172 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

### 5.2.2 Larutan Ekstrak Sampel Test Set

Sampel	Replikasi	Pembuatan Larutan Ekstrak
A	1	$\frac{40,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4030 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4000 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4010 \text{ } \mu\text{g/ml}$
B	1	$\frac{40,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4020 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4050 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4030 \text{ } \mu\text{g/ml}$
C	1	$\frac{40,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4020 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4000 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4010 \text{ } \mu\text{g/ml}$
D	1	$\frac{40,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4030 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4010 \text{ } \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4000 \text{ } \mu\text{g/ml}$



**5.2.3 Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Flavonoid Total**

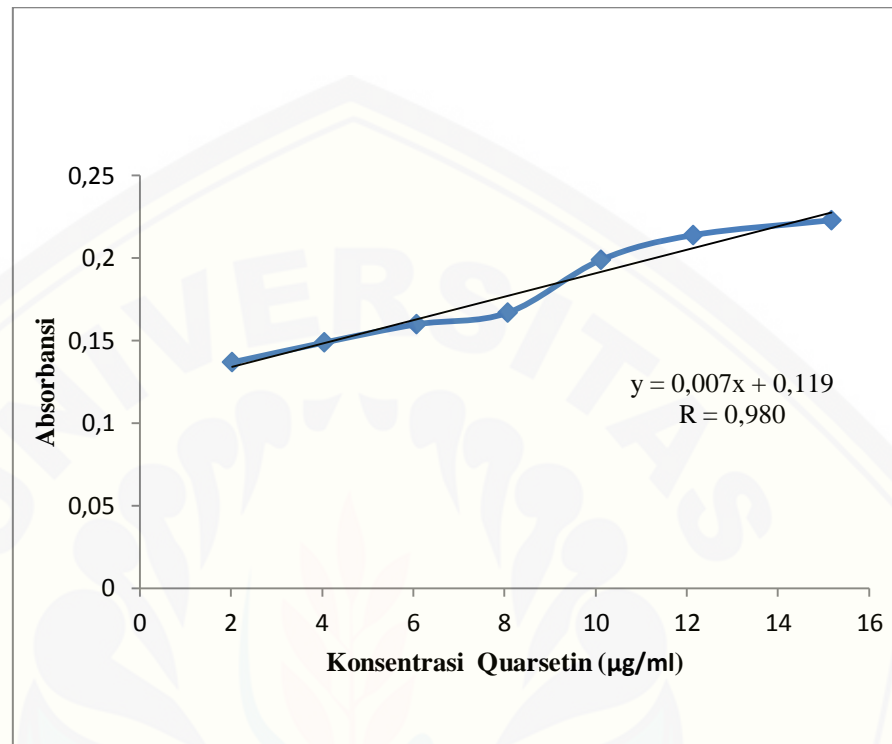


**5.2.4 Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total Sampel Test Set dengan Spektrofotometer UV-Vis**

Standar : Quersetin

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi
2,023	0,137
4,046	0,149
6,069	0,160
8,092	0,167

10,115	0,199
12,138	0,214
15,172	0,223



### 5.2.5 Hasil Perhitungan mg QE/g Ekstrak Test Set

- Contoh Perhitungan

Persamaan :  $Y = 0,007115x + 0,1198$  ( $R = 0,980$  ;  $R^2 = 0,9604$ )

- ✓ Replikasi 1 Sampel A

$$0,188 = 0,007115x + 0,1198$$

$$x = 9,585 \text{ µg/ml}$$

- ❖ Dalam 10 ml (1)

$$9,585 \text{ µg/ml} \times 10 \text{ ml} = 95,85 \text{ µg}$$

- ❖ Dalam 10 ml (2)

- $95,85 \text{ µg} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 1917 \text{ µg} = 1,917 \text{ mg}$

- $\frac{1,917 \text{ mg}}{0,0403 \text{ g}} = 47,57 \text{ mg QE/g ekstrak}$

- ✓ Replikasi 1 Sampel A

$$0,185 = 0,007115x + 0,1198$$

$$x = 9,164 \mu\text{g/ml}$$

❖ Dalam 10 ml (1)

$$9,164 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 91,64 \mu\text{g}$$

❖ Dalam 10 ml (2)

- $91,64 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 1832,8 \mu\text{g} = 1,833 \text{ mg}$

- $\frac{1,833 \text{ mg}}{0,04\text{g}} = 45,825 \text{ mg QE/g ekstrak}$

Sampel Test Set	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg QE/g ekstrak	Rata-rata mg QE/g ekstrak
A	40,3	0,188	47,570	46,830
	40	0,185	45,825	
	40,1	0,187	47,106	
B	40,2	0,185	45,591	45,527
	40,5	0,184	44,116	
	40,3	0,187	46,873	
C	40,2	0,156	25,313	25,609
	40	0,155	24,736	
	40,1	0,158	26,778	
D	40,3	0,170	35,015	35,396
	40,1	0,169	34,489	
	40	0,172	36,683	

### 4.3 Penetapan Kadar Alkaloid Total

#### 5.3.1 Larutan Standar Kafein

➤ Larutan induk

$$\frac{25,15 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1006 \mu\text{g/ml}$$

➤ Pengenceran

1.  $\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1006 \mu\text{g/ml} = 50,3 \mu\text{g/ml}$

2.  $\frac{8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1006 \mu\text{g/ml} = 804,8 \mu\text{g/ml}$

- ❖  $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 804,8 \mu\text{g/ml} = 80,48 \mu\text{g/ml}$

- ❖  $\frac{1,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 804,8 \mu\text{g/ml} = 120,72 \mu\text{g/ml}$

- ❖  $\frac{2,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 804,8 \mu\text{g/ml} = 201,2 \mu\text{g/ml}$

$$3. \frac{6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1006 \mu\text{g/ml} = 603,6 \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{2,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 603,6 \mu\text{g/ml} = 150,9 \mu\text{g/ml}$$

$$\diamond \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 603,6 \mu\text{g/ml} = 181,08 \mu\text{g/ml}$$

### 5.3.2 Larutan Ekstrak Sampel Test Set

Sampel	Replikasi	Pembuatan Larutan Ekstrak
A	1	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4000 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4020 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4050 \mu\text{g/ml}$
B	1	$\frac{40,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4010 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4060 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4030 \mu\text{g/ml}$
C	1	$\frac{40,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4020 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4040 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4010 \mu\text{g/ml}$
D	1	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4000 \mu\text{g/ml}$
	2	$\frac{40,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4030 \mu\text{g/ml}$
	3	$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 4000 \mu\text{g/ml}$

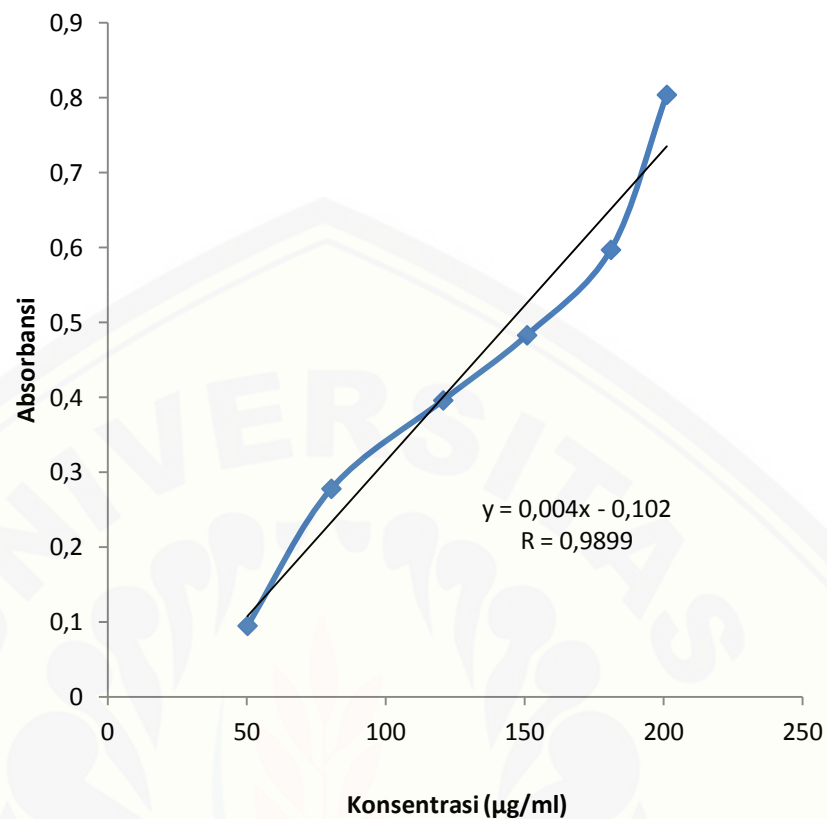
### 5.3.3 Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Alkaloid Total

ALL Data									
WL (nm)	ABS	WL (nm)	ABS	WL (nm)	ABS	WL (nm)	ABS	WL (nm)	ABS
600.0	0.027	599.0	0.023	598.0	0.021	597.0	0.021	596.0	0.021
596.0	0.022	595.0	0.023	594.0	0.026	593.0	0.029	592.0	0.029
592.0	0.032	591.0	0.036	590.0	0.040	589.0	0.045	588.0	0.045
588.0	0.049	587.0	0.054	586.0	0.059	585.0	0.063	584.0	0.063
584.0	0.067	583.0	0.071	582.0	0.073	581.0	0.072	580.0	0.072
580.0	0.072	579.0	0.072	578.0	0.072	577.0	0.070	576.0	0.070
578.0	0.067	575.0	0.064	574.0	0.060	573.0	0.057	572.0	0.057
572.0	0.054	571.0	0.051	570.0	0.048	569.0	0.045	568.0	0.045
568.0	0.042	567.0	0.040	566.0	0.038	565.0	0.036	564.0	0.036
564.0	0.033	563.0	0.031	562.0	0.028	561.0	0.026	560.0	0.026
560.0	0.024	559.0	0.021	558.0	0.019	557.0	0.017	556.0	0.017
556.0	0.015	555.0	0.013	554.0	0.011	553.0	0.011	552.0	0.011
552.0	0.011	551.0	0.011	550.0	0.011	549.0	0.012	548.0	0.012
548.0	0.013	547.0	0.014	546.0	0.015	545.0	0.017	544.0	0.017
544.0	0.019	543.0	0.021	542.0	0.023	541.0	0.026	540.0	0.026
540.0	0.029	539.0	0.031	538.0	0.034	537.0	0.036	536.0	0.036
536.0	0.038	535.0	0.040	534.0	0.042	533.0	0.045	532.0	0.045
532.0	0.047	531.0	0.050	530.0	0.052	529.0	0.053	528.0	0.053
528.0	0.054	527.0	0.055	526.0	0.056	525.0	0.057	524.0	0.057
524.0	0.057	523.0	0.058	522.0	0.058	521.0	0.057	520.0	0.057
520.0	0.057	519.0	0.057	518.0	0.057	517.0	0.055	516.0	0.055
516.0	0.056	515.0	0.056	514.0	0.055	513.0	0.053	512.0	0.053
512.0	0.056	511.0	0.057	510.0	0.055	509.0	0.053	508.0	0.053
508.0	0.059	507.0	0.061	506.0	0.062	505.0	0.063	504.0	0.063
504.0	0.063	503.0	0.064	502.0	0.065	501.0	0.066	500.0	0.066
498.0	0.068	499.0	0.067	498.0	0.069	497.0	0.070	496.0	0.070
495.0	0.072	495.0	0.074	494.0	0.077	493.0	0.079	492.0	0.079
492.0	0.081	491.0	0.083	490.0	0.086	489.0	0.088	488.0	0.088
488.0	0.090	487.0	0.092	486.0	0.095	485.0	0.099	484.0	0.099
484.0	0.102	483.0	0.103	482.0	0.110	481.0	0.114	480.0	0.114
480.0	0.119	479.0	0.123	478.0	0.127	477.0	0.131	476.0	0.131
475.0	0.136	475.0	0.140	474.0	0.145	473.0	0.151	472.0	0.151
472.0	0.156	471.0	0.161	470.0	0.166	469.0	0.172	468.0	0.172
468.0	0.177	467.0	0.182	466.0	0.187	465.0	0.192	464.0	0.192
464.0	0.197	463.0	0.202	462.0	0.210	461.0	0.216	460.0	0.216
460.0	0.223	459.0	0.229	458.0	0.236	457.0	0.242	456.0	0.242
456.0	0.249	455.0	0.256	454.0	0.263	453.0	0.270	452.0	0.270
452.0	0.277	451.0	0.283	450.0	0.290	449.0	0.297	448.0	0.297
448.0	0.304	447.0	0.311	446.0	0.317	445.0	0.323	444.0	0.323
444.0	0.328	443.0	0.334	442.0	0.339	441.0	0.345	440.0	0.345
440.0	0.350	439.0	0.354	438.0	0.359	437.0	0.363	436.0	0.363
436.0	0.367	435.0	0.371	434.0	0.376	433.0	0.379	432.0	0.379
432.0	0.383	431.0	0.386	430.0	0.389	429.0	0.391	428.0	0.391
428.0	0.393	427.0	0.395	426.0	0.397	425.0	0.399	424.0	0.399
424.0	0.400	423.0	0.401	422.0	0.401	421.0	0.401	420.0	0.401
420.0	0.401	419.0	0.401	418.0	0.400	417.0	0.399	416.0	0.399
416.0	0.398	415.0	0.397	414.0	0.395	413.0	0.394	412.0	0.394
412.0	0.392	411.0	0.389	410.0	0.387	409.0	0.384	408.0	0.384
408.0	0.382	407.0	0.379	406.0	0.375	405.0	0.371	404.0	0.371
404.0	0.367	403.0	0.363	402.0	0.358	401.0	0.353	400.0	0.353

**5.3.4 Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Alkaloid Total Sampel Test Set dengan Spektrofotometer UV-Vis**  
 Standar : Caffein

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi
50,3	0,095
80,48	0,278
120,72	0,396
150,9	0,483
181,08	0,597
201,2	0,804





### 5.3.5 Hasil Perhitungan mg Ce/g Ekstrak Test Set

- Contoh Perhitungan

Persamaan :  $Y = 0,004x - 0,102$  ( $R = 0,988$  ;  $R^2 = 0,976$ )

- Replikasi 1

$$0,432 = 0,004x - 0,102$$

$$x = 133,5 \mu\text{g/ml}$$

- ❖ Dalam 10 ml (1)

$$133,5 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 1335 \mu\text{g}$$

- ❖ Dalam 10 ml (2)

$$1335 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 26700 \mu\text{g} = 26,7 \text{ mg}$$

$$\frac{26,7 \text{ mg}}{0,0403 \text{ g}} = 66,253 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

- Replikasi 2

$$0,429 = 0,004x - 0,102$$

$$x = 132,75 \mu\text{g/ml}$$

- ❖ Dalam 10 ml (1)

$$132,75 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 1327,5 \mu\text{g}$$

- ❖ Dalam 10 ml (2)

$$132,75 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 26550 \mu\text{g} = 26,55 \text{ mg}$$

$$\frac{26,55 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1000 = 66,375 \text{ mg CE/g ekstrak}$$

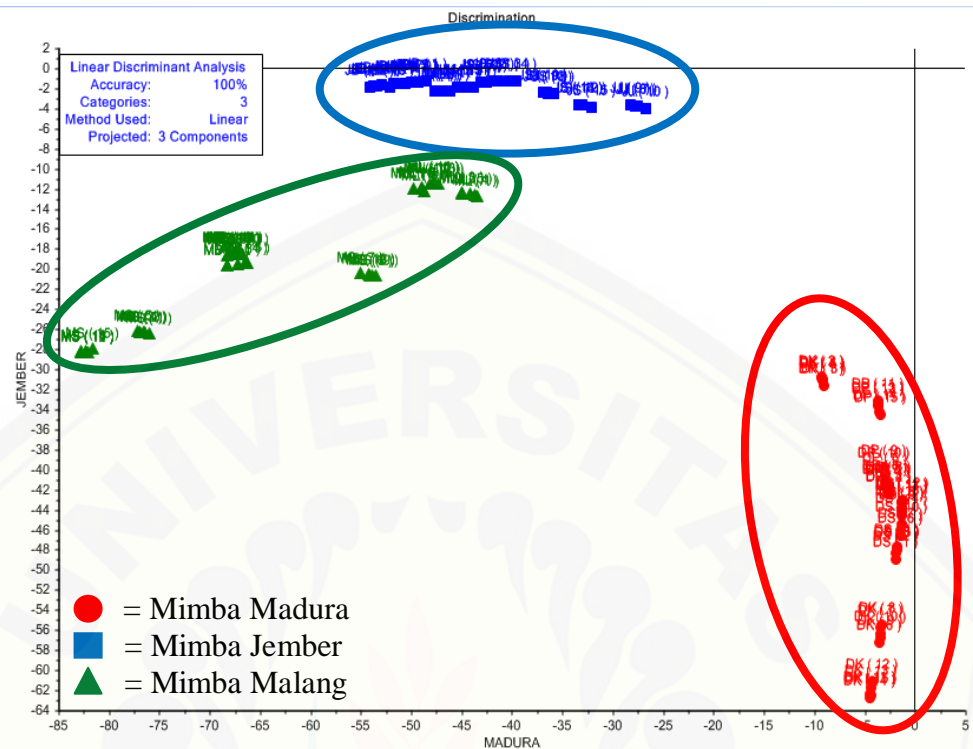
Sampel Test Set	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg CE/g ekstrak	Rata-rata mg CE/g ekstrak
A	40,3	0,432	66,253	66,321
	40	0,429	66,375	
	40,1	0,430	66,334	
B	40,2	0,169	33,875	33,501
	40,5	0,167	33,128	
	40,3	0,166	33,500	
C	40,2	0,243	42,910	42,733
	40	0,245	42,734	
	40,1	0,241	42,556	
D	40,3	0,460	70,25	70,158
	40,1	0,463	70,099	
	40	0,459	70,125	

#### LAMPIRAN 5. Data Kemometrik dan Perhitungan Kemampuan Pengenalan dan Kemampuan Prediksi

% Akurasi = Kemampuan Pengenalan

$$= \frac{\Sigma \text{ sampel } \textit{training set} \text{ yang diprediksi dengan benar}}{\Sigma \text{ total sampel } \textit{training set} \text{ yang digunakan}} \times 100\%$$

6.1 Model LDA



DK (1)	1	-9.3172	-30.7805	-42.5434	MADURA
DK (2)	2	-9.2832	-30.8147	-42.5609	MADURA
DK (3)	3	-9.0369	-31.6822	-43.5867	MADURA
DK (4)	4	-9.2042	-31.0059	-42.9535	MADURA
DK (5)	5	-9.1794	-31.1823	-43.0953	MADURA
DK (6)	6	-3.5659	-57.2595	-67.3003	MADURA
DK (7)	7	-3.3662	-55.7528	-65.8776	MADURA
DK (8)	8	-3.3313	-55.5052	-65.6395	MADURA
DK (9)	9	-3.4701	-56.7229	-66.8848	MADURA
DK (10)	10	-3.4111	-56.3155	-66.5126	MADURA
DK (11)	11	-4.5240	-62.4270	-70.4287	MADURA
DK (12)	12	-4.2555	-61.0778	-69.2550	MADURA
DK (13)	13	-4.3427	-61.7088	-69.9483	MADURA
DK (14)	14	-4.4960	-62.7430	-71.0836	MADURA
DK (15)	15	-4.3732	-62.4945	-71.1820	MADURA
DP (1)	16	-2.6391	-41.7335	-67.1987	MADURA
DP (2)	17	-2.6296	-42.4085	-67.9696	MADURA
DP (3)	18	-2.6520	-41.4698	-67.0344	MADURA
DP (4)	19	-2.6527	-42.4670	-68.1088	MADURA
DP (5)	20	-2.6801	-41.6888	-67.4209	MADURA
DP (6)	21	-2.9956	-40.5725	-69.0861	MADURA
DP (7)	22	-2.9470	-41.6557	-70.1681	MADURA
DP (8)	23	-2.9780	-41.2481	-69.8048	MADURA
DP (9)	24	-3.0654	-39.7268	-68.3220	MADURA
DP (10)	25	-3.0603	-40.0186	-68.6526	MADURA
DP (11)	26	-3.6521	-33.1923	-61.5859	MADURA
DP (12)	27	-3.6203	-33.5922	-62.0928	MADURA
DP (13)	28	-3.6729	-33.5010	-62.1064	MADURA
DP (14)	29	-3.5507	-34.2132	-62.8066	MADURA
DP (15)	30	-3.4741	-34.5668	-63.0805	MADURA

Prediction		MADURA	JEMBER	MALANG	Predicted
DS (1)	31	-1.9179	-48.9755	-64.0418	MADURA
DS (2)	32	-1.8607	-48.3582	-63.4817	MADURA
DS (3)	33	-1.8262	-49.9152	-63.1197	MADURA
DS (4)	34	-1.7996	-47.6615	-62.9103	MADURA
DS (5)	35	-1.8235	-47.9131	-63.1402	MADURA
DS (6)	36	-1.4172	-46.5272	-64.4394	MADURA
DS (7)	37	-1.3958	-45.9977	-63.9444	MADURA
DS (8)	38	-1.3205	-43.8917	-61.8646	MADURA
DS (9)	39	-1.3346	-44.1812	-62.1630	MADURA
DS (10)	40	-1.3755	-45.4605	-63.4277	MADURA
DS (11)	41	-1.2639	-43.1620	-62.1129	MADURA
DS (12)	42	-1.2596	-43.0556	-62.8299	MADURA
DS (13)	43	-1.2681	-43.3101	-62.3054	MADURA
DS (14)	44	-1.2882	-44.5666	-63.5847	MADURA
DS (15)	45	-1.2716	-43.8214	-62.9206	MADURA
JJ (1)	46	-46.1609	-2.2102	-16.1064	JEMBER
JJ (2)	47	-47.3144	-2.2242	-16.2564	JEMBER
JJ (3)	48	-47.6959	-2.2295	-16.2772	JEMBER
JJ (4)	49	-47.1196	-2.2346	-16.2305	JEMBER
JJ (5)	50	-46.8937	-2.2254	-16.3124	JEMBER
JJ (6)	51	-46.8383	-2.2230	-16.2434	JEMBER
JJ (7)	52	-27.5351	-3.8281	-16.2594	JEMBER
JJ (8)	53	-27.8083	-3.7482	-16.2155	JEMBER
JJ (9)	54	-28.2413	-3.6095	-16.1575	JEMBER
JJ (10)	55	-26.6736	-4.0404	-16.6317	JEMBER
JJ (11)	56	-43.8101	-1.8049	-12.6485	JEMBER
JJ (12)	57	-45.4407	-1.8679	-12.7898	JEMBER
JJ (13)	58	-44.5044	-1.8720	-12.7354	JEMBER
JJ (14)	59	-45.1784	-1.8737	-12.7693	JEMBER
JJ (15)	60	-44.3725	-1.8618	-12.7940	JEMBER

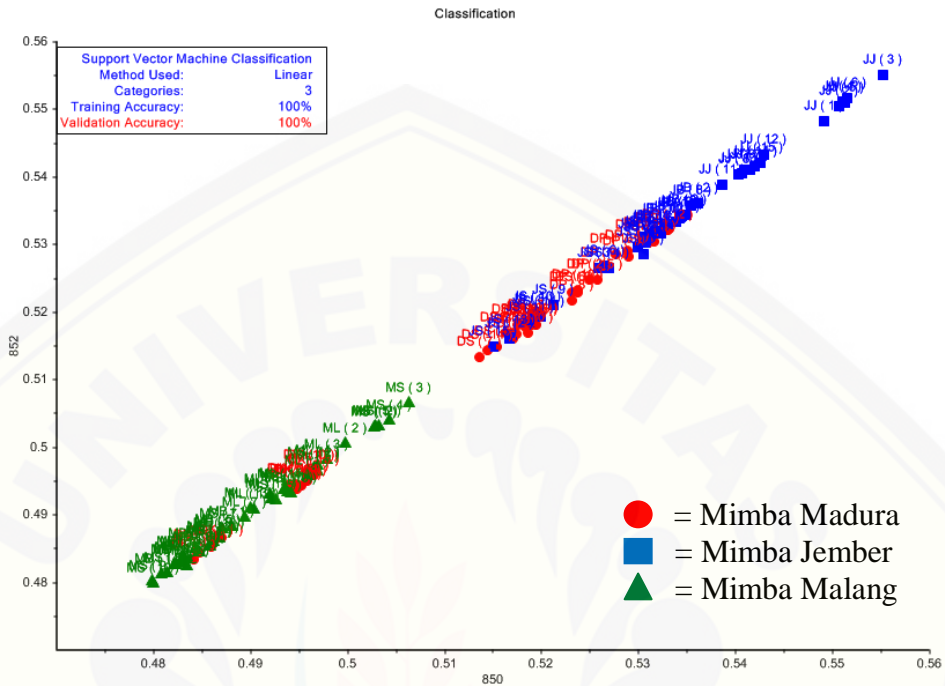
Prediction		MADURA	JEMBER	MALANG	Predicted
JB (1)	61	-48.4541	-1.3103	-17.5684	JEMBER
JB (2)	62	-50.5634	-1.4706	-17.7610	JEMBER
JB (3)	63	-49.4758	-1.3824	-17.7771	JEMBER
JB (4)	64	-49.2850	-1.3673	-17.6854	JEMBER
JB (5)	65	-49.4937	-1.3843	-17.7512	JEMBER
JB (6)	66	-50.6408	-1.4695	-17.8419	JEMBER
JB (7)	67	-49.9510	-1.4119	-17.8231	JEMBER
JB (8)	68	-51.7179	-1.5679	-17.8822	JEMBER
JB (9)	69	-51.6980	-1.5659	-17.9318	JEMBER
JB (10)	70	-52.8931	-1.6984	-18.9035	JEMBER
JB (11)	71	-53.9417	-1.7718	-19.0594	JEMBER
JB (12)	72	-54.1100	-1.8367	-19.0874	JEMBER
JB (13)	73	-53.7108	-1.7911	-19.0911	JEMBER
JB (14)	74	-53.3643	-1.7511	-19.0424	JEMBER
JB (15)	75	-52.1306	-1.9326	-20.7121	JEMBER
JS (1)	76	-41.3744	-1.2336	-18.8255	JEMBER
JS (2)	77	-41.7723	-1.2311	-18.9440	JEMBER
JS (3)	78	-40.3246	-1.2576	-19.0328	JEMBER
JS (4)	79	-39.6105	-1.2792	-19.0551	JEMBER
JS (5)	80	-43.8930	-1.3520	-20.4003	JEMBER
JS (6)	81	-42.4824	-1.3468	-20.3646	JEMBER
JS (7)	82	-43.0216	-1.3545	-20.4475	JEMBER
JS (8)	83	-35.8939	-2.4903	-23.5722	JEMBER
JS (9)	84	-36.5049	-2.4471	-23.6122	JEMBER
JS (10)	85	-36.3925	-2.4719	-23.6073	JEMBER
JS (11)	86	-36.8710	-2.4504	-23.5399	JEMBER
JS (12)	87	-33.0471	-3.6829	-27.3704	JEMBER
JS (13)	88	-33.3314	-3.6502	-27.3793	JEMBER
JS (14)	89	-33.3535	-3.6402	-27.3646	JEMBER
JS (15)	90	-32.1287	-3.8402	-27.5600	JEMBER

Prediction		MADURA	JEMBER	MALANG	Predicted
ML (1)	91	-43.3980	-12.9909	-2.6477	MALANG
ML (2)	92	-44.9259	-12.9413	-2.6522	MALANG
ML (3)	93	-44.9716	-12.5452	-2.4017	MALANG
ML (4)	94	-43.6535	-12.8022	-2.6072	MALANG
ML (5)	95	-44.1410	-12.6707	-2.5282	MALANG
ML (6)	96	-48.7765	-12.3708	-2.7115	MALANG
ML (7)	97	-49.7441	-12.1706	-2.6836	MALANG
ML (8)	98	-48.9624	-12.1899	-2.7393	MALANG
ML (9)	99	-49.0103	-12.1108	-2.7516	MALANG
ML (10)	100	-48.9867	-12.1707	-2.7200	MALANG
ML (11)	101	-48.0923	-11.6433	-2.3060	MALANG
ML (12)	102	-47.6237	-11.6533	-2.3234	MALANG
ML (13)	103	-47.7637	-11.6265	-2.3429	MALANG
ML (14)	104	-47.7327	-11.5182	-2.3128	MALANG
ML (15)	105	-47.7483	-11.5210	-2.3016	MALANG
MS (1)	106	-76.0065	-26.5910	-2.7630	MALANG
MS (2)	107	-76.4891	-26.4738	-2.7711	MALANG
MS (3)	108	-76.9750	-26.4801	-2.7961	MALANG
MS (4)	109	-76.5330	-26.4551	-2.7707	MALANG
MS (5)	110	-77.1524	-26.4189	-2.7981	MALANG
MS (6)	111	-54.8612	-20.8028	-2.8232	MALANG
MS (7)	112	-55.0847	-20.5921	-1.9024	MALANG
MS (8)	113	-53.8768	-20.7965	-2.0534	MALANG
MS (9)	114	-53.5245	-20.8459	-2.1010	MALANG
MS (10)	115	-54.1826	-20.6787	-2.0821	MALANG
MS (11)	116	-82.0246	-28.4674	-3.1400	MALANG
MS (12)	117	-82.8152	-28.4563	-3.2111	MALANG
MS (13)	118	-82.3362	-28.2985	-3.1510	MALANG
MS (14)	119	-82.8107	-28.3649	-3.1928	MALANG
MS (15)	120	-81.5827	-28.1472	-3.0501	MALANG

MB (1)	121	-68.2126	-19.8612	-1.3284	MALANG
MB (2)	122	-68.2940	-19.7839	-1.3330	MALANG
MB (3)	123	-67.2256	-19.6909	-1.2751	MALANG
MB (4)	124	-66.4803	-19.5872	-1.2402	MALANG
MB (5)	125	-66.2943	-19.5540	-1.2316	MALANG
MB (6)	126	-68.2671	-18.7791	-1.3570	MALANG
MB (7)	127	-67.0391	-18.6699	-1.2773	MALANG
MB (8)	128	-68.1555	-18.6908	-1.3536	MALANG
MB (9)	129	-67.7336	-18.6711	-1.3242	MALANG
MB (10)	130	-66.7918	-18.6677	-1.2629	MALANG
MB (11)	131	-68.0654	-18.6369	-1.3499	MALANG
MB (12)	132	-67.6964	-18.6320	-1.3231	MALANG
MB (13)	133	-67.5521	-18.5438	-1.3180	MALANG
MB (14)	134	-67.3510	-18.5311	-1.3519	MALANG
MB (15)	135	-67.2933	-18.5673	-1.2986	MALANG

$$\% \text{ Akurasi} = \frac{135}{135} \times 100 = 100\%$$

### 6.2 Model SVM



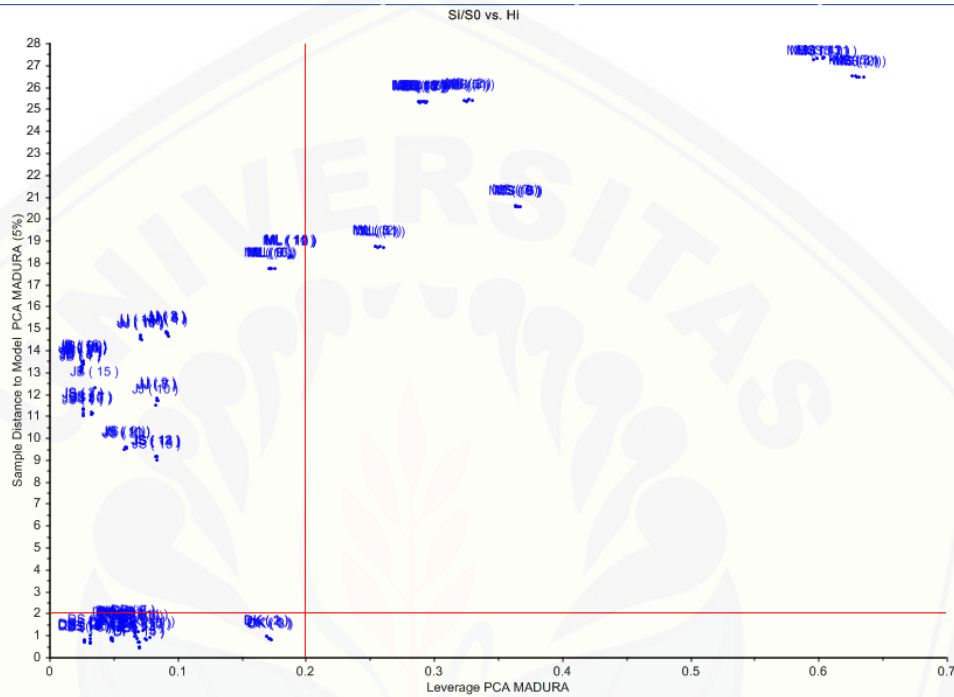
DK (1)	1	MADURA	DS (1)	31	MADURA	JB (1)	61	JEMBER	ML (1)	91	MALANG
DK (2)	2	MADURA	DS (2)	32	MADURA	JB (2)	62	JEMBER	ML (2)	92	MALANG
DK (3)	3	MADURA	DS (3)	33	MADURA	JB (3)	63	JEMBER	ML (3)	93	MALANG
DK (4)	4	MADURA	DS (4)	34	MADURA	JB (4)	64	JEMBER	ML (4)	94	MALANG
DK (5)	5	MADURA	DS (5)	35	MADURA	JB (5)	65	JEMBER	ML (5)	95	MALANG
DK (6)	6	MADURA	DS (6)	36	MADURA	JB (6)	66	JEMBER	ML (6)	96	MALANG
DK (7)	7	MADURA	DS (7)	37	MADURA	JB (7)	67	JEMBER	ML (7)	97	MALANG
DK (8)	8	MADURA	DS (8)	38	MADURA	JB (8)	68	JEMBER	ML (8)	98	MALANG
DK (9)	9	MADURA	DS (9)	39	MADURA	JB (9)	69	JEMBER	ML (9)	99	MALANG
DK (10)	10	MADURA	DS (10)	40	MADURA	JB (10)	70	JEMBER	ML (10)	100	MALANG
DK (11)	11	MADURA	DS (11)	41	MADURA	JB (11)	71	JEMBER	ML (11)	101	MALANG
DK (12)	12	MADURA	DS (12)	42	MADURA	JB (12)	72	JEMBER	ML (12)	102	MALANG
DK (13)	13	MADURA	DS (13)	43	MADURA	JB (13)	73	JEMBER	ML (13)	103	MALANG
DK (14)	14	MADURA	DS (14)	44	MADURA	JB (14)	74	JEMBER	ML (14)	104	MALANG
DK (15)	15	MADURA	DS (15)	45	MADURA	JB (15)	75	JEMBER	ML (15)	105	MALANG
DP (1)	16	MADURA	JJ (1)	46	JEMBER	JS (1)	76	JEMBER	MS (1)	106	MALANG
DP (2)	17	MADURA	JJ (2)	47	JEMBER	JS (2)	77	JEMBER	MS (2)	107	MALANG
DP (3)	18	MADURA	JJ (3)	48	JEMBER	JS (3)	78	JEMBER	MS (3)	108	MALANG
DP (4)	19	MADURA	JJ (4)	49	JEMBER	JS (4)	79	JEMBER	MS (4)	109	MALANG
DP (5)	20	MADURA	JJ (5)	50	JEMBER	JS (5)	80	JEMBER	MS (5)	110	MALANG
DP (6)	21	MADURA	JJ (6)	51	JEMBER	JS (6)	81	JEMBER	MS (6)	111	MALANG
DP (7)	22	MADURA	JJ (7)	52	JEMBER	JS (7)	82	JEMBER	MS (7)	112	MALANG
DP (8)	23	MADURA	JJ (8)	53	JEMBER	JS (8)	83	JEMBER	MS (8)	113	MALANG
DP (9)	24	MADURA	JJ (9)	54	JEMBER	JS (9)	84	JEMBER	MS (9)	114	MALANG
DP (10)	25	MADURA	JJ (10)	55	JEMBER	JS (10)	85	JEMBER	MS (10)	115	MALANG
DP (11)	26	MADURA	JJ (11)	56	JEMBER	JS (11)	86	JEMBER	MS (11)	116	MALANG
DP (12)	27	MADURA	JJ (12)	57	JEMBER	JS (12)	87	JEMBER	MS (12)	117	MALANG
DP (13)	28	MADURA	JJ (13)	58	JEMBER	JS (13)	88	JEMBER	MS (13)	118	MALANG
DP (14)	29	MADURA	JJ (14)	59	JEMBER	JS (14)	89	JEMBER	MS (14)	119	MALANG
DP (15)	30	MADURA	JJ (15)	60	JEMBER	JS (15)	90	JEMBER	MS (15)	120	MALANG



MB (1)	121	MALANG	MB (4)	124	MALANG	MB (8)	128	MALANG	MB (12)	132	MALANG
MB (2)	122	MALANG	MB (5)	125	MALANG	MB (9)	129	MALANG	MB (13)	133	MALANG
MB (3)	123	MALANG	MB (6)	126	MALANG	MB (10)	130	MALANG	MB (14)	134	MALANG
			MB (7)	127	MALANG	MB (11)	131	MALANG	MB (15)	135	MALANG

$$\% \text{ Akurasi} = \frac{135}{135} \times 100 = 100\%$$

### 6.3 Model PCA dan SIMCA





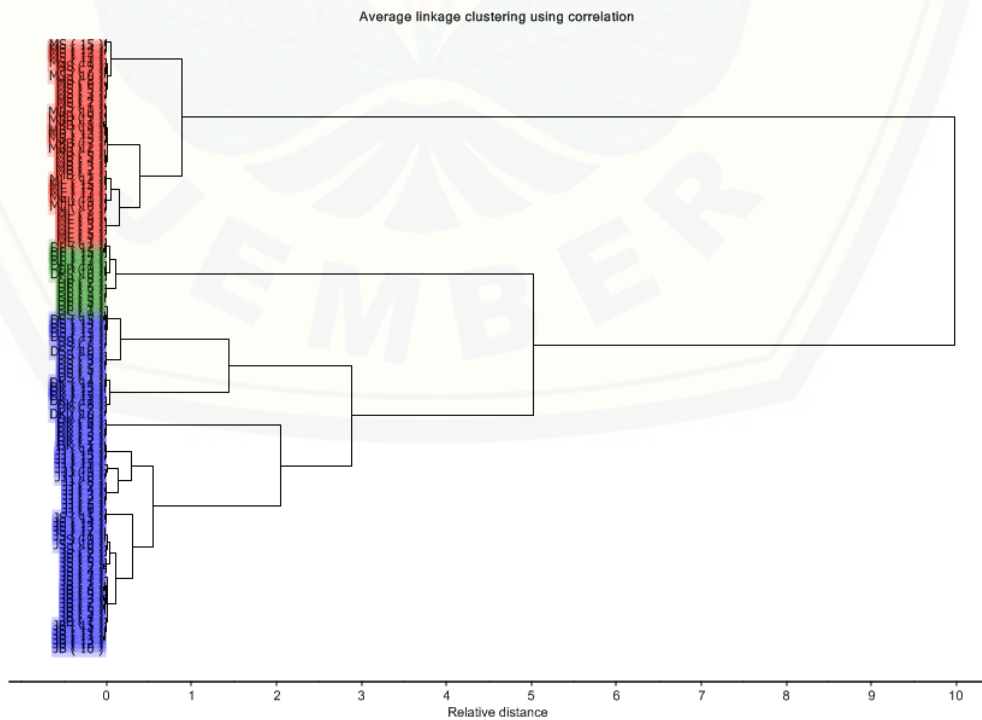
Sample - Class	PCA MAD	PCA JEMB	PCA MALA
DK (1)	*		
DK (2)	*		
DK (3)	*		
DK (4)	*		
DK (5)	*		
DK (6)	*		
DK (7)	*		
DK (8)	*		
DK (9)	*		
DK (10)	*		
DK (11)	*		
DK (12)	*		
DK (13)	*		
DK (14)	*		
DK (15)	*		
DP (1)	*		
DP (2)	*		
DP (3)	*		
DP (4)	*		
DP (5)	*		
DP (6)	*		
DP (7)	*		
DP (8)	*		
DP (9)	*		
DP (10)	*		
DP (11)	*		
DP (12)	*		
DP (13)	*		
DP (14)	*		
DP (15)	*		
DS (1)	*		
DS (2)	*		
DS (3)	*		
DS (4)	*		
DS (5)	*		
DS (6)	*		
DS (7)	*		
DS (8)	*		
DS (9)	*		
DS (10)	*		
DS (11)	*		
DS (12)	*		
DS (13)	*		
DS (14)	*		
DS (15)	*		

Sample - Class	PCA MAD	PCA JEMB	PCA MALA
JB (1)		*	
JB (2)		*	
JB (3)		*	
JB (4)		*	
JB (5)		*	
JB (6)		*	
JB (7)		*	
JB (8)		*	
JB (9)		*	
JB (10)		*	
JB (11)		*	
JB (12)		*	
JB (13)		*	
JB (14)		*	
JB (15)		*	
JS (1)		*	
JS (2)		*	
JS (3)		*	
JS (4)		*	
JS (5)		*	
JS (6)		*	
JS (7)		*	
JS (8)		*	
JS (9)		*	
JS (10)		*	
JS (11)		*	
JS (12)		*	
JS (13)		*	
JS (14)		*	
JS (15)		*	
JJ (1)		*	
JJ (2)		*	
JJ (3)		*	
JJ (4)		*	
JJ (5)		*	
JJ (6)		*	
JJ (7)		*	
JJ (8)		*	
JJ (9)		*	
JJ (10)		*	
JJ (11)		*	
JJ (12)		*	
JJ (13)		*	
JJ (14)		*	
JJ (15)		*	

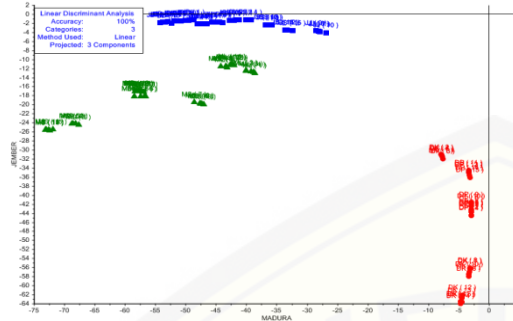
Sample - Class	PCA MAD	PCA JEMB	PCA MALA
ML (1)		*	
ML (2)		*	
ML (3)		*	
ML (4)		*	
ML (5)		*	
ML (6)		*	
ML (7)		*	
ML (8)		*	
ML (9)		*	
ML (10)		*	
ML (11)		*	
ML (12)		*	
ML (13)		*	
ML (14)		*	
ML (15)		*	
MS (1)		*	
MS (2)		*	
MS (3)		*	
MS (4)		*	
MS (5)		*	
MS (6)		*	
MS (7)		*	
MS (8)		*	
MS (9)		*	
MS (10)		*	
MS (11)		*	
MS (12)		*	
MS (13)		*	
MS (14)		*	
MS (15)		*	
MB (1)		*	
MB (2)		*	
MB (3)		*	
MB (4)		*	
MB (5)		*	
MB (6)		*	
MB (7)		*	
MB (8)		*	
MB (9)		*	
MB (10)		*	
MB (11)		*	
MB (12)		*	
MB (13)		*	
MB (14)		*	
MB (15)		*	

$$\% \text{ Akurasi} = \frac{135}{135} \times 100 = 100\%$$

### 6.4 Model CA

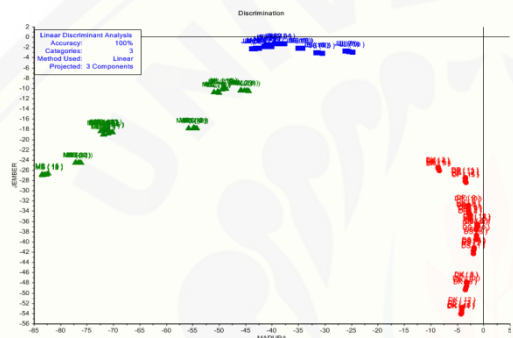


### 6.5 Validasi SVM dan LDA



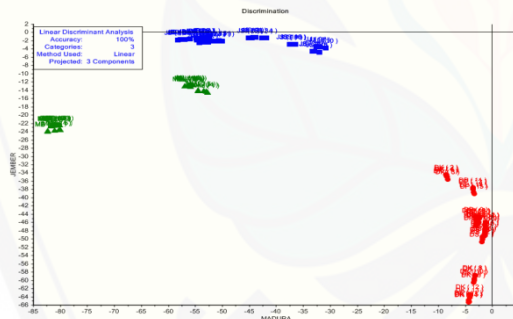
Classified_R	MADURA	JEMBER	MALANG	Class	
1	1	2	3	4	
DS (1)	1	-2.3992	-50.0393	-56.3703	MADURA
DS (2)	2	-2.3289	-49.3960	-55.8312	MADURA
DS (3)	3	-2.2869	-48.9268	-55.4725	MADURA
DS (4)	4	-2.2581	-48.7168	-55.3187	MADURA
DS (5)	5	-2.2890	-48.9853	-55.5450	MADURA
DS (6)	6	-1.7817	-47.8895	-56.9919	MADURA
DS (7)	7	-1.7477	-47.3306	-56.5097	MADURA
DS (8)	8	-1.6433	-45.1002	-54.4879	MADURA
DS (9)	9	-1.6534	-45.3804	-54.7535	MADURA
DS (10)	10	-1.7218	-46.7801	-56.0214	MADURA
DS (11)	11	-1.5232	-44.4147	-54.7610	MADURA
DS (12)	12	-1.5146	-44.3089	-54.6863	MADURA
DS (13)	13	-1.5327	-44.6427	-55.0073	MADURA
DS (14)	14	-1.5740	-45.9582	-56.2349	MADURA
DS (15)	15	-1.5414	-45.1973	-55.6110	MADURA

% Akurasi = 15/15X100=100%



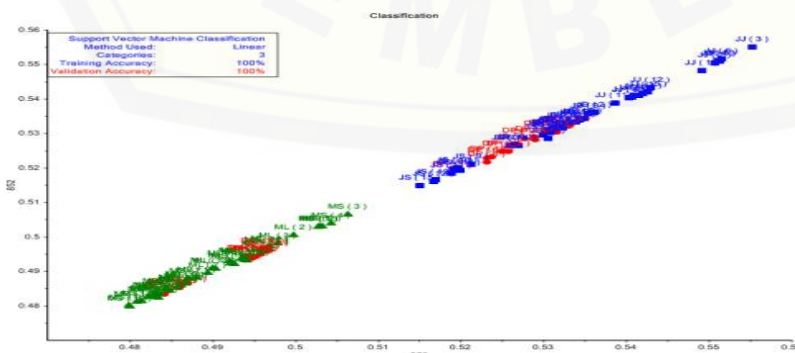
Classified_R	MADURA	JEMBER	MALANG	Class	
1	1	2	3	4	
JB (1)	1	-44.9700	-1.6493	-15.2769	JEMBER
JB (2)	2	-46.7737	-1.8658	-15.2828	JEMBER
JB (3)	3	-45.8594	-1.7519	-15.2938	JEMBER
JB (4)	4	-45.6925	-1.7311	-15.3162	JEMBER
JB (5)	5	-45.8745	-1.7549	-15.3566	JEMBER
JB (6)	6	-47.0151	-1.8855	-15.3643	JEMBER
JB (7)	7	-46.4317	-1.8108	-15.4002	JEMBER
JB (8)	8	-47.9671	-2.0145	-15.4116	JEMBER
JB (9)	9	-47.9738	-2.0148	-15.3665	JEMBER
JB (10)	10	-49.2790	-2.2223	-16.1392	JEMBER
JB (11)	11	-49.8735	-2.3169	-16.2272	JEMBER
JB (12)	12	-50.3860	-2.3967	-16.2155	JEMBER
JB (13)	13	-50.0370	-2.3430	-16.2476	JEMBER
JB (14)	14	-49.7727	-2.2997	-16.2333	JEMBER
JB (15)	15	-48.8144	-2.4634	-17.7566	JEMBER

% Akurasi = 15/15X100=100%



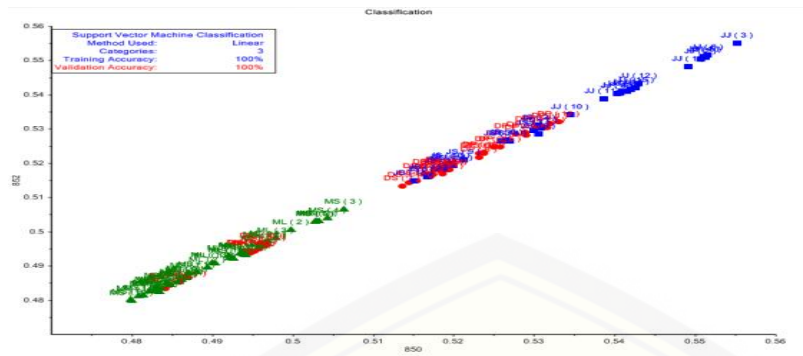
Classified_R	MADURA	JEMBER	MALANG	Class	
1	1	2	3	4	
MS (1)	1	-66.4482	-41.4839	-2.6473	MALANG
MS (2)	2	-66.6128	-41.2103	-2.6185	MALANG
MS (3)	3	-66.9609	-41.1527	-2.6198	MALANG
MS (4)	4	-66.7280	-41.1583	-2.6154	MALANG
MS (5)	5	-67.0955	-41.0100	-2.6074	MALANG
MS (6)	6	-48.4893	-39.4893	-2.8082	MALANG
MS (7)	7	-49.0734	-39.1231	-2.6494	MALANG
MS (8)	8	-48.4168	-39.4589	-2.8148	MALANG
MS (9)	9	-48.2517	-39.5200	-2.8539	MALANG
MS (10)	10	-48.5739	-39.2424	-2.7444	MALANG
MS (11)	11	-72.4931	-45.1437	-3.0869	MALANG
MS (12)	12	-73.0172	-44.9597	-3.0995	MALANG
MS (13)	13	-72.7179	-44.8677	-3.0641	MALANG
MS (14)	14	-73.0526	-44.8033	-3.0764	MALANG
MS (15)	15	-72.3236	-44.6854	-3.0044	MALANG

% Akurasi = 15/15X100=100%



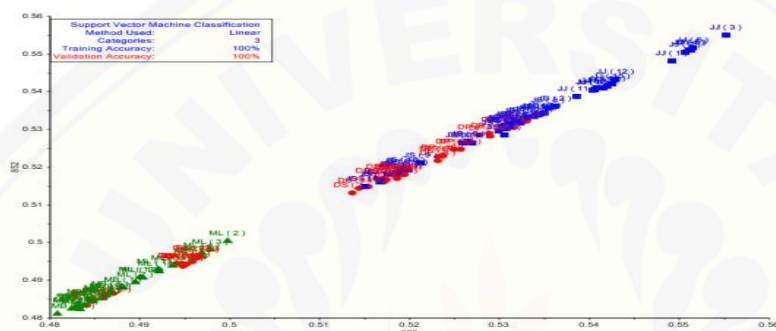
Classified_R	MADURA	JEMBER	MALANG	Class
1	1	2	3	4
DS (1)	1	2	3	MADURA
DS (2)	2	3	4	MADURA
DS (3)	3	4	5	MADURA
DS (4)	4	5	6	MADURA
DS (5)	5	6	7	MADURA
DS (6)	6	7	8	MADURA
DS (7)	7	8	9	MADURA
DS (8)	8	9	10	MADURA
DS (9)	9	10	11	MADURA
DS (10)	10	11	12	MADURA
DS (11)	11	12	13	MADURA
DS (12)	12	13	14	MADURA
DS (13)	13	14	15	MADURA
DS (14)	14	15		MADURA
DS (15)	15			MADURA

% Akurasi= 15/15X100=100%



Classified_R		
		1
JB (1)	1	JEMBER
JB (2)	2	JEMBER
JB (3)	3	JEMBER
JB (4)	4	JEMBER
JB (5)	5	JEMBER
JB (6)	6	JEMBER
JB (7)	7	JEMBER
JB (8)	8	JEMBER
JB (9)	9	JEMBER
JB (10)	10	JEMBER
JB (11)	11	JEMBER
JB (12)	12	JEMBER
JB (13)	13	JEMBER
JB (14)	14	JEMBER
JB (15)	15	JEMBER

% Akurasi= 15/15X100=100%



Classified_R		
		1
MS (1)	1	MALANG
MS (2)	2	MALANG
MS (3)	3	MALANG
MS (4)	4	MALANG
MS (5)	5	MALANG
MS (6)	6	MALANG
MS (7)	7	MALANG
MS (8)	8	MALANG
MS (9)	9	MALANG
MS (10)	10	MALANG
MS (11)	11	MALANG
MS (12)	12	MALANG
MS (13)	13	MALANG
MS (14)	14	MALANG
MS (15)	15	MALANG

% Akurasi= 15/15X100=100%

**LAMPIRAN 6. Contoh Perhitungan Kadar Sampel Training Set Menggunakan Model PLS Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Total**

**7.1 Contoh Perhitungan Kadar Sampel Training Set Menggunakan Model PLS Fenol Total**

Replikasi	JB	JJ	JS	ML	MS	MB	DP	DK	DS
1	10,5703	10,143	11,2421	11,9723	13,2364	15,9304	5,9059	5,6943	7,4595
2	10,6835	10,0315	11,3013	11,7818	13,5022	16,21	5,9772	5,9773	7,5183
3	10,3957	10,1297	11,1298	11,7822	13,5558	16,0302	6,0793	5,8287	7,539
4	10,592	10,3202	11,2072	11,8921	13,1593	16,0223	5,7597	5,6092	7,5086
5	10,2642	10,6387	11,3541	11,7171	13,4025	15,9267	5,9675	5,8195	7,4745
6	10,3898	10,5056	11,2877	11,6712	13,411	16,2328	6,5594	5,9243	7,9133
7	10,6405	10,6809	11,3469	11,5245	13,7205	16,1961	6,5711	5,7136	7,6588
8	10,2415	10,5566	11,1643	11,752	13,7101	16,4272	6,3774	5,4693	7,7858
9	10,2274	10,7478	11,0795	12,0198	13,3767	16,3089	6,4051	5,6241	8,0179
Rata-Rata	10,44499	10,41711	11,23477	11,79033	13,45272	16,14273	6,178067	5,740033	7,652856
SD	0,180049	0,267198	0,096791	0,153279	0,191688	0,174263	0,30305	0,162431	0,206117
CV	1,723779	2,564992	0,861531	1,300037	1,424904	1,079515	4,905255	2,829795	2,693333

**Contoh perhitungan:**

**Daun Mimba Kecamatan Batu**

- **Rata-rata kadar:**

$$= \frac{15,9304 + 16,21 + 16,0302 + 16,0223 + 15,9267 + 16,2328 + 16,1961 + 16,4272 + 16,3089}{9}$$

$$= 16,14273$$

- **SD:**

$$= \sqrt{\frac{(16,14273 - 15,9304)^2 + (16,14273 - 16,21)^2 + (16,14273 - 16,0302)^2 + (16,14273 - 15,9267)^2 + \dots}{9 - 1}}$$

$$= 0,174263$$

- **CV:**

$$= \frac{0,174263}{16,29843} \times 100\%$$

$$= 1,079515\%$$

## 7.2 Contoh Perhitungan Kadar Sampel Training Set Menggunakan Model PLS Flavonoid Total

Replikasi	JJ	JB	JS	ML	MS	MB	DS	DK	DP
1	13,7613	15,2719	18,4301	18,8437	18,8454	25,4446	5,0636	12,4362	11,4154
2	13,7088	15,6919	18,1099	18,1467	19,8054	25,4894	5,011	12,6542	11,6319
3	13,2655	15,5346	18,0379	18,6474	19,7334	25,5987	5,2865	12,0746	12,255
4	13,6152	16,7179	17,8999	18,5355	19,7994	25,1131	5,134	12,3351	10,7846
5	13,3821	16,2795	17,8905	18,0811	18,6749	25,081	5,8347	11,3453	11,5354
6	11,3324	16,5313	18,1218	18,2094	18,7891	25,6233	5,4598	11,9564	12,0284
7	12,9425	16,6122	17,9211	18,2889	18,8924	25,7251	5,6501	11,9457	11,4507
8	11,5811	16,9759	18,9821	18,4364	18,6299	25,7876	5,2804	12,3299	11,4089
9	11,1715	17,4742	18,9393	18,4837	19,0661	25,7877	5,8006	12,25	12,0276
Rata-rata	12,75116	16,34327	18,25918	18,40809	19,13733	25,51672	5,391189	12,14749	11,61532
SD	1,075901	0,720883	0,430671	0,249677	0,497849	0,266228	0,311709	0,378342	0,441055
CV	8,437677	4,410888	2,358653	1,356343	2,601456	1,043346	5,781824	3,114573	3,797182



**Contoh perhitungan:**

**Daun Mimba Kecamatan Batu**

- **Rata-rata kadar:**

$$\begin{aligned} &= \frac{25,4446 + 25,4894 + 25,5987 + 25,1131 + 25,081 + 25,6233 + 25,7251 + 25,7876 + 25,7877}{9} \\ &= 25,51672 \end{aligned}$$

- **SD:**

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(25,51672 - 25,4446)^2 + (25,51672 - 25,4894)^2 + (25,51672 - 25,5987)^2 + (25,51672 - 25,1131)^2 + \dots}{9 - 1}} \\ &= 0,266882 \end{aligned}$$

- **CV:**

$$\begin{aligned} &= \frac{0,266882}{25,51672} \times 100\% \\ &= 1,043346\% \end{aligned}$$

**7.3 Contoh Perhitungan Kadar Sampel Training Set Menggunakan Model PLS Alkaloid Total**

Replikasi	JJ	JB	JS	ML	MS	MB	DP	DK	DS
1	5,2784	4,5623	3,8522	5,3121	4,1885	6,8798	5,4929	8,6638	8,1232
2	5,3231	4,5289	3,7239	5,2635	4,2875	6,8817	5,4988	8,5958	8,1249
3	5,3927	4,6069	3,7853	5,2943	4,2044	6,824	5,4822	8,5508	8,1196
4	5,2472	4,5695	3,6092	5,2528	4,1708	6,9034	5,5768	8,6324	8,2323
5	5,3635	4,5085	3,6843	5,4128	4,1634	6,8781	5,5948	8,6685	8,0745
6	5,2893	4,4190	3,6156	5,2827	4,2151	6,8443	5,6329	8,948	7,9391
7	5,3860	4,4299	3,7923	5,4832	4,1604	6,81	5,6378	8,9304	8,0189
8	5,3108	4,3409	3,7630	5,4175	4,1706	6,8347	5,5733	8,9028	7,9275
9	5,3455	4,4625	3,6092	5,3051	4,086	6,87	5,5746	8,9385	7,9445
Rata-rata	5,326278	4,492044	3,715	5,336	4,182967	6,858444	5,562678	8,759	8,056056
SD	0,04987	0,085638	0,09037	0,081004	0,053672	0,031295	0,058616	0,166305	0,105308
CV	0,936304	1,906439	2,432583	1,518058	1,283106	0,456295	1,053738	1,898681	1,307192

**Contoh perhitungan:**

**Daun Mimba Kecamatan Batu**

- **Rata-rata kadar:**

$$= \frac{6,8798 + 6,8817 + 6,824 + 6,9034 + 6,8781 + 6,8443 + 6,81 + 6,8347 + 6,87}{9}$$

$$= 6,858444$$

- **SD:**

$$= \sqrt{\frac{(6,858444 - 6,8798)^2 + (6,858444 - 6,8817)^2 + (6,858444 - 6,824)^2 + (6,858444 - 6,8443)^2 + \dots}{9 - 1}}$$
$$= 0,031295$$

- **CV:**

$$= \frac{0,031295}{6,858444} \times 100\%$$
$$= 0,456295\%$$