



**PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL SERBUK  
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) VARIETAS RATU DAN  
LOKAL DAN MODEL KLASIFIKASI NIR KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Mellda Kusuma Candra Dewi**  
**NIM 142210101028**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL SERBUK  
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) VARIETAS RATU DAN  
LOKAL DAN MODEL KLASIFIKASI NIR KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

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

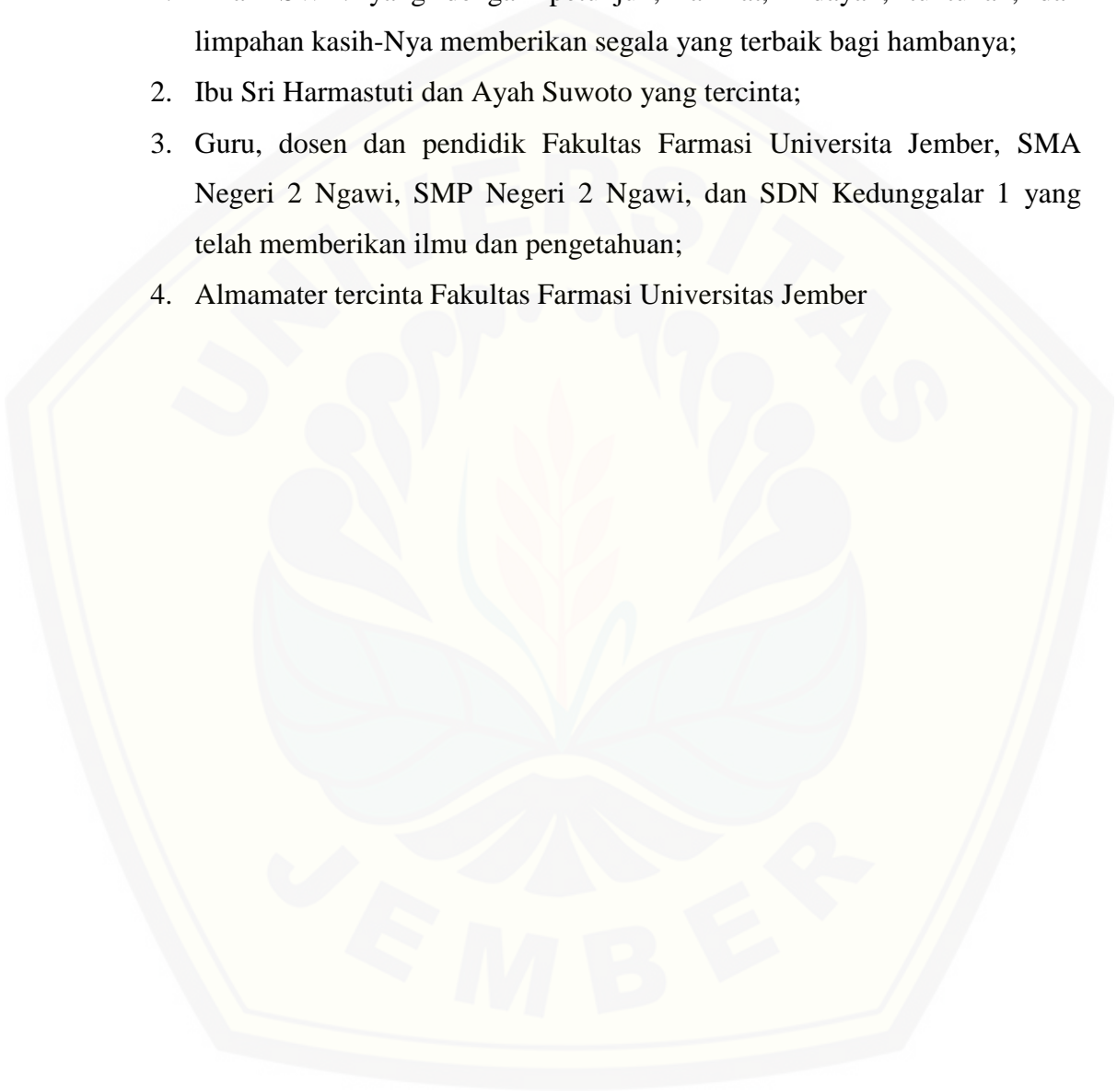
Oleh  
**Mellda Kusuma Candra Dewi**  
**NIM 142210101028**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan, dan limpahan kasih-Nya memberikan segala yang terbaik bagi hambanya;
2. Ibu Sri Harmastuti dan Ayah Suwoto yang tercinta;
3. Guru, dosen dan pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMA Negeri 2 Ngawi, SMP Negeri 2 Ngawi, dan SDN Kedungalar 1 yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan;
4. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember



**MOTTO**

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”

(Al-Baqarah: 216)

“Allah mencintai pekerjaan yang apabila bekerja ia menyelesaikannya dengan baik”

( HR. Thabrani )

“ Waktu itu bagaikan pedang, jika kamu tidak memanfaatkannya menggunakan untuk memotong, ia akan memotongmu (menggilasmu)”

(H.R. Muslim)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mellda Kusuma Candra Dewi

NIM : 142210101028

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penentuan Kandungan Fenolik Total Serbuk Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Varietas Ratu dan Lokal dan Model Klasifikasi NIR 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, 16 April 2018

Yang menyatakan,

Mellda Kusuma C.D

NIM 142210101028

**SKRIPSI**

**PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL SERBUK  
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) VARIETAS RATU DAN  
LOKAL DAN MODEL KLASIFIKASI NIR KEMOMETRIK**

Oleh  
Mellda Kusuma Candra Dewi  
NIM 142210101028

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Penentuan Kandungan Fenolik Total Serbuk Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Varietas Ratu dan Lokal dan Model Klasifikasi NIR Kemometrik” karya Mellda Kusuma Candra Dewi telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 16 April 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Lestyo Wulandari, S. Si., M.Farm., Apt.  
NIP. 197604142002122001

Prof. Drs. Bambang Kuswandi., M.Sc., Ph.D.  
NIP. 196902011994031002

Anggota II,

Anggota III,

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP 198204062006042001

Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc, MSc-res, Ph.D., Apt.  
NIP 197807212003121001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Penentuan Model Klasifikasi NIR Kemometrik dan Kandungan Fenolik Total Serbuk Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Varietas Ratu dan Lokal;** Mellda Kusuma Candra Dewi; 142210101028; 89 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Sirsak merupakan salah satu jenis tanaman dari famili *Annonaceae*. Bagian daun dari pohon sirsak banyak dimanfaatkan untuk kesehatan. Daun sirsak terbukti memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada spesies lain dalam famili *Annonaceae*. Aktivitas antioksidan pada daun sirsak memiliki peran pada aktivitas lain diantaranya adalah antidiabetes, agen kemopreventif, penurunan kadar asam urat, dan efek sitoprotektif pada sel paru-paru.

Kandungan fitokimia tertinggi pada daun sirsak adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik total juga memiliki korelasi positif yang kuat dengan aktivitas antioksidan, sehingga penentuan kandungan fenolik total pada daun sirsak perlu dilakukan. Banyak faktor yang mempengaruhi kandungan fitokimia, salah satunya adalah varietas. Di Indonesia tumbuh dua varietas sirsak yaitu varietas ratu dan lokal. Varietas ratu memiliki rasa buah yang manis, sedangkan lokal rasa buahnya asam sedikit manis. Kedua varietas ini mudah dibedakan dari rasa buahnya, namun sulit dibedakan jika dilihat dari morfologinya.

Penentuan kandungan fenolik total dua varietas daun sirsak pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui varietas mana yang lebih berpotensi sebagai sumber senyawa fenolik. Setelah ditetapkan varietas yang lebih berpotensi sebagai sumber fenolik, maka dilakukan penentuan model klasifikasi. Model klasifikasi diperlukan untuk membedakan varietas daun sirsak karena sulit dibedakan berdasarkan morfologinya. Penentuan model klasifikasi dilakukan dengan menggunakan metode NIR. Data spektra dari spektroskopi NIR sangat rumit dan tumpang tindih sehingga digunakan kemometrik (LDA, SVM, dan SIMCA) untuk menganalisis data spektra tersebut. Model klasifikasi yang terpilih kemudian divalidasi dengan metode validasi silang yaitu *Leave-one-out* dan *2-fold cross validation* untuk menguji validitas model yang telah dibuat. Pada penelitian



ini digunakan sampel dalam bentuk serbuk, karena sediaan yang biasa digunakan pada pengobatan tradisional adalah serbuk.

Berdasarkan hasil penentuan kandungan fenolik total serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu didapatkan hasil kandungan fenolik total pada varietas lokal lebih tinggi dari pada varietas ratu dengan rata-rata kandungan fenolik total 38,478 mg GAE/g serbuk sedangkan varietas ratu hanya memiliki rata-rata 10,401 mg GAE/g serbuk. Hasil tersebut didukung dengan hasil uji t *tas* tidak berpasangan dengan nilai *sig. (2-tailed)* dari SPSS yaitu  $<0,01$  sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan kandungan fenolik total antara kedua varietas.

Hasil penentuan model klasifikasi LDA dan SVM yang digunakan untuk pengkategorian 20 sampel dengan dua varietas serbuk daun sirsak yang berasal dari Kabupaten Jember dan Bondowoso memiliki akurasi 100%, sedangkan model klasifikasi SIMCA hanya 93,33%, sehingga model klasifikasi yang terpilih adalah LDA dan SVM. Model klasifikasi yang terpilih kemudian divalidasi dengan *Leave-one-out* dan *2-fold cross validation*. Hasil dari kedua validasi memberikan prediksi dengan akurasi 100%. Validasi *Leave-one-out* dilakukan dengan mengeluarkan sampel RB1, LB1, RJ1, dan LJ1 secara bergantian, kemudian menggunakan 19 data sisanya sebagai *training set*, sedangkan validasi dengan *2-fold cross validation* dilakukan dengan menggunakan empat sampel *test set* (sampel diluar *training set*) untuk memvalidasi model. Pengaplikasian model klasifikasi LDA dan SVM dilakukan pada serbuk daun sirsak varietas lokal yang berasal dari Kabupaten Malang dan Ngawi.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Kandungan Fenolik Total Serbuk Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Varietas Ratu dan Lokal dan Model Klasifikasi NIR Kemometrik”. Skripsi ini disusun guna memenuhi tugas akhir dan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dan sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan kesempatan yang telah diberikan untuk menyelesaikan tugas akhir;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu penulisan skripsi;
4. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., GDipsc, MSc-res, PhD., Apt. selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik, saran, waktu, dan perhatiannya dalam penulisan skripsi;
5. Ibu Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan masukan, perhatian, dan bimbingan selama menempuh studi;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, berbagi pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan, juga staf dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama saya menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

7. Ibu Sri Harmastuti, Bapak Suwoto, dan Adek Meylia Arinda C.D atas segala kasih sayang serta pengorbanan yang telah diberikan kepada saya;
8. Arief Rochul Syuhada terimakasih atas segalanya;
9. *Partner* proyek (*Annona muricata L.*) dan skripsi I Kade Arya Agus Juniarta dan Yasinta yang selalu siap memberikan bantuan tenaga, pikiran dan juga waktu selama penulis mengerjakan skripsi;
10. Keluarga besar Pharmagen FFUJ Angkatan 2014 atas kekeluargaan, persaudaraan, dan kebersamaan selama ini;
11. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang sudah banyak membantu saya selama penelitian;
12. Rekan seperjuangan penelitian bagian Kimia Farmasi (Tsulsi, Millie, Firdha, Yuvita, Tari, Mas Alan, Mbak Bina, Laili, Fitri, dkk) yang telah banyak membantu;
13. Forsmawi (Dwi Ayu, Mas Bayu, Mbak Yunin, Mbak Icha) yang banyak memberi bantuan kepada penulis selama di Jember;
14. Warga Kosan-Rizky Barokah (Mbak Azizah, Mbak Rizky, Mbak Dini, dkk) dan Kos Kalem Tua (Dek Agne) yang selalu memberikan masukan yang positif bagi penulis;
15. Para orang-orang terdekat saya (Keluarga Asy-syifa' dan Kharisma);
16. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Tentunya sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya baik bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, 16 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
HALAMAN RINGKASAN .....	viii
HALAMAN PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
DAFTAR ISTILAH .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.5 Batasan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Sirsak (<i>Annona muricata L.</i>) .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Sirsak .....	6
2.1.2 Ciri Makroskopis Daun Sirsak.....	6
2.1.3 Manfaat Daun Sirsak.....	7
2.1.4 Kandungan Kimia Daun Sirsak .....	8
2.1.5 Sirsak Varietas Ratu dan Lokal.....	9
<b>2.2 Tinjauan Senyawa Fenolik.....</b>	<b>10</b>

<b>2.3 Simplisia dan Serbuk Simplisia .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Simplisia .....	12
2.3.2 Pembuatan Simplisia.....	13
2.3.3 Serbuk Simplisia .....	14
2.3.4 Serbuk Daun Sirsak.....	14
<b>2.4 Tinjauan Metode Penentuan Kandungan Fenolik Total .....</b>	<b>15</b>
2.4.1 Metode Folin-Denis (F-D) .....	15
2.4.2 Metode Folin-Ciocalteu (F-C).....	15
2.4.3 Metode <i>Lowenthal-Procter</i> .....	15
2.4.4 Metode Kalorimetri.....	15
<b>2.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total dengan Reagen Folin-Ciocalteu .....</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Spektroskopi NIR (<i>Near-Infrared</i>) .....</b>	<b>18</b>
<b>2.7 Analisis Kemometrik .....</b>	<b>19</b>
2.7.1 <i>Linear Discriminant Analysis</i> (LDA).....	20
2.7.2 <i>Support Vector Machines</i> (SVM) .....	21
2.7.3 <i>Soft Independent Modelling of Class Analogy</i> (SIMCA) .....	21
<b>2.8 Validasi Silang .....</b>	<b>22</b>
2.8.1 <i>Leave-one-out</i> .....	22
2.8.2 <i>K-fold cross validation</i> .....	22
2.8.3 <i>2-Fold cross-validation</i> .....	22
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Alat penelitian .....	25
3.4.2 Bahan Penelitian .....	25
<b>3.5 Variabel Penelitian.....</b>	<b>25</b>
3.5.1 Variabel Bebas .....	25
3.5.2 Variabel Terikat .....	25

3.5.3 Variabel Terkendali .....	25
<b>3.6 Alur Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>27</b>
3.7.1 Pengambilan Sampel.....	27
3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Penetapan Kadar Air Serbuk.....	28
3.7.3 <i>Scanning</i> Serbuk Daun dengan NIR .....	28
3.7.4 Penentuan Model Klasifikasi .....	29
3.7.5 Validasi Model Klasifikasi Kemometrik .....	30
3.7.6 Penentuan Kandungan Fenolik Total.....	30
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Pengambilan Sampel .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Simplisia.....</b>	<b>35</b>
<b>4.3 Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia .....</b>	<b>36</b>
<b>4.4 Penentuan Kandungan Fenolik Total .....</b>	<b>38</b>
4.4.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum .....	39
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi .....	41
4.4.3 Penentuan Kandungan Fenolik .....	43
<b>4.5 Penentuan Model Klasifikasi .....</b>	<b>46</b>
4.5.1 Pembentukan model klasifikasi LDA, SVM, dan SIMCA.....	47
4.5.2 Validasi Model Klasifikasi Terpilih.....	50
4.5.3 Aplikasi pada Sampel Nyata .....	51
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>53</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>53</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman sirsak.....	5
Gambar 2.2 Daun sirsak.....	9
Gambar 2.3 Buah sirsak.....	9
Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa fenol.....	10
Gambar 2.5 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenolik.....	17
Gambar 2.6 Daerah gugus fungsi dan panjang gelombang spektroskopi NIR.....	18
Gambar 4.1 Daun sirsak basah.....	34
Gambar 4.2 Daun sirsak kering.....	34
Gambar 4.3 Buah sirsak.....	35
Gambar 4.4 Serbuk daun sirsak.....	35
Gambar 4.5 Spektra sampel kadar air < 10% (kering) dan >10% (basah).....	37
Gambar 4.6 Reaksi reduksi reagen Folin-Ciocalteu.....	39
Gambar 4.7 Spektrum panjang gelombang serapan maksimum asam galat.....	40
Gambar 4.8 Hasil optimasi waktu inkubasi.....	42
Gambar 4.9 Kurva regresi linier standar asam galat.....	43
Gambar 4.10 Diagram kandungan fenolik total varietas ratu dan lokal.....	44
Gambar 4.11 Grafik pemetaan model klasifikasi LDA.....	47
Gambar 4.12 Grafik pemetaan model klasifikasi SVM.....	48
Gambar 4.13 Tiga dimensi SVM.....	49
Gambar 4.14 Hasil klasifikasi sampel nyata pada model LDA.....	52
Gambar 4.15 Hasil klasifikasi sampel nyata pada model SVM.....	52

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Annonaceae .....	7
Tabel 2.2 Karakteristik sirsak varietas ratu dan lokal .....	10
Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan rantai karbonnya .....	11
Tabel 2.4 Kandungan fitokimia pada ekstrak etanol daun sirsak .....	12
Tabel 4.1 Hasil penetapan kadar air <i>training set</i> dan <i>test set</i> serbuk daun sirsak .....	38
Tabel 4.2 Tabel waktu inkubasi asam galat dan sampel .....	42
Tabel 4.3 Hasil penentuan kandungan fenolik total sampel .....	44
Tabel 4.4 Tabel akurasi kemampuan pengenalan model klasifikasi LDA, SVM, dan SIMCA .....	47
Tabel 4.5 Tabel Pemetaan Model SIMCA .....	48
Tabel 4.6 Nilai akurasi model LDA dan SVM pada panjang gelombang tertentu ....	50
Tabel 4.7 Hasil validasi LOOCV model klasifikasi LDA dan SVM .....	51
Tabel 4.8 Data hasil klasifikasi sampel pada validasi <i>2-fold cross validation</i> .....	51



**DAFTAR LAMPIRAN**

A. Alat dan bahan yang digunakan .....	63
B. Identitas sampel serbuk .....	64
C. Perhitungan penetapan kadar air <i>training set</i> dan <i>test set</i> .....	66
D. Data optimasi panjang gelombang maksimum fenolik total .....	68
E. Hasil absorbansi dan tabel penentuan waktu inkubasi .....	72
F. Pembuatan larutan pada penentuan kandungan fenolik total .....	74
G. Hasil penentuan kandungan fenolik total sampel <i>training set</i> dengan spektrofotometri UV-Vis .....	78
H. Hasil uji normalitas dan uji t tidak berpasangan .....	81
I. Spektrum hasil <i>scanning</i> dengan NIR .....	83
J. Data kemometrik dan perhitungan kemampuan pengenalan .....	84
K. Data kemometrik dan perhitungan kemampuan prediksi .....	87
L. Hasil pemetaan model LDA dan SVM pada panjang gelombang tertentu .....	88

**DAFTAR ISTILAH**

<b>2FCV</b>	: <i>2-Fold-Cross Validation</i>
<b>ABTS</b>	: <i>3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid</i>
<b>ATP</b>	: Adenosin trifosfat
<b>DNA</b>	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
<b>M dpl</b>	: Meter dari permukaan laut
<b>F-D</b>	: Folin-Denis
<b>F-C</b>	: Folin-Ciocalteau
<b>LDA</b>	: <i>Linear Discriminant Analysis</i>
<b>LOOCV</b>	: <i>Leave-One-Out-Cross Validation</i>
<b>NADH</b>	: Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen
<b>NIR</b>	: <i>Near-infrared</i>
<b>OSH</b>	: <i>Optimal Separating Hyperplane</i>
<b>PCA</b>	: <i>Principal Component Analysis</i>
<b>ROS</b>	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
<b>SIMCA</b>	: <i>Soft Independent Modelling by Class Analogy</i>
<b>SVM</b>	: <i>Support Vector Machine</i>
<b>UV-Vis</b>	: Ultraviolet-Visibel

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili *Annonaceae*. Bagian daun dari pohon sirsak banyak dimanfaatkan untuk kesehatan (Muizzuddin dan Zubaidah, 2015). Pada tiga uji *in vitro* yang dilakukan oleh Baskar et al. (2007) daun sirsak terbukti memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada spesies lain dalam famili *Annonaceae*. Daun sirsak memiliki aktivitas sebagai agen kemopreventif. Aktivitas tersebut dikarenakan adanya efek sitotoksik dan antioksidan (Roduan et al., 2017). Daun sirsak juga bermanfaat sebagai antidiabetes, hal ini dikarenakan adanya antioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif (Florence et al., 2014). Antioksidan daun sirsak juga memiliki peran dalam penurunan kadar asam urat dan efek sitoprotektif pada sel paru-paru (Artini et al., 2012; Yuniyanto et al., 2014).

Kandungan fitokimia yang ditemukan pada daun sirsak diantaranya adalah senyawa fenolik (asam klorogenat, antraquinon, asam sinamat, flavonoid, asam hidroksisinamat, hidroquinon, dan tanin), asetogenin, alkaloid, dan minyak esensial (Coria-Tellez et al., 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Gavamukulya et al. (2014) menunjukkan daun sirsak juga mengandung saponin, terpenoid, kumarin, dan fitosterol. Kandungan fitokimia menentukan aktivitas biologis dari suatu tanaman (Tursiman et al., 2012). Banyak faktor yang mempengaruhi kandungan fitokimia, salah satunya adalah varietas. Tumbuhan dengan varietas yang berbeda memiliki sifat fisik dan kimia yang berbeda pula (Ginting et al., 2005).

Di Indonesia tumbuh dua varietas sirsak yaitu varietas ratu dan lokal. Varietas ratu memiliki rasa buah yang manis, sedangkan lokal rasa buahnya asam sedikit manis. Kedua varietas ini memang mudah dibedakan dari rasa buahnya, namun sulit dibedakan jika dilihat dari morfologinya (Sudjijo, 2014). Varietas ratu dan lokal memiliki morfologi daun, buah, batang, dan bunga yang sama (Mentan, 1988 dan Sudjijo, 2007 dalam Sudjijo, 2014).

Sampai saat ini belum banyak penelitian yang membahas perbedaan kandungan fitokimia antara kedua varietas daun sirsak. Kandungan fitokimia tertinggi pada daun sirsak adalah fenol (Minari dan Okeke, 2014), sehingga penentuan kandungan fenolik total perlu dilakukan. Senyawa fenolik total juga memiliki korelasi positif yang kuat dengan aktivitas antioksidan (George *et al.*, 2014). Mengacu pada penelitian George *et al.* (2012) penetapan kandungan fenolik total dapat dilakukan dengan reagen Folin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis.

Penentuan kandungan fenolik total dua varietas daun sirsak bertujuan untuk mengetahui varietas mana yang lebih berpotensi sebagai sumber senyawa fenolik. Varietas yang berbeda diduga memiliki jumlah kandungan fenolik yang berbeda pula. Setelah ditetapkan varietas yang lebih berpotensi sebagai sumber fenolik, maka diperlukan model klasifikasi. Model klasifikasi diperlukan untuk membedakan varietas daun sirsak karena sulit dibedakan berdasarkan morfologinya (Sudjijo, 2014).

Mengacu pada penelitian Ratnasari (2015) dan Mustinkaweni (2016) penentuan model klasifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode NIR. Spektroskopi NIR (*Near-Infrared*) adalah teknik analisis yang efektif karena non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia (Karlinasari *et al.*, 2012). Spektroskopi NIR merupakan salah satu metode analisis farmasi yang digunakan untuk kontrol kualitas (Gowen *et al.*, 2008).

Data spektra dari spektroskopi NIR sangat rumit dan tumpang tindih sehingga sulit diinterpretasikan. Oleh karena itu analisis multivariat diperlukan untuk menganalisis data spektra tersebut (Gad *et al.*, 2012). Metode statistik multivariat diperlukan karena mampu mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif. Metode statistik multivariat sering disebut metode kemometrik (Ritz *et al.*, 2011). 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 perlu dilakukan penentuan kandungan fenolik total dan model klasifikasi serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal. Pada penelitian ini digunakan sampel dalam bentuk serbuk, karena sediaan yang biasa digunakan pada pengobatan tradisional adalah serbuk. Sediaan serbuk dalam kapsul biasa digunakan di Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus karena lebih praktis dan mudah dibawa dibandingkan sediaan rebusan, sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien (Ahmad, 2012). Penentuan kadar fenolik total serbuk daun sirsak dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Penentuan model klasifikasi dilakukan dengan menggunakan metode NIR. Profil spektra yang diperoleh dikombinasi dengan kemometrik (LDA, SVM, dan SIMCA) untuk melihat model klasifikasi dua varietas serbuk daun sirsak.

## 1.2 Rumusan Masalah

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

1. Berapa kandungan fenolik total pada serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal?
2. Apakah terdapat perbedaan kandungan fenolik total pada serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal?
3. Apakah metode NIR dan kemometrik (LDA, SVM, dan SIMCA) dapat mengklasifikasikan serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal?

## 1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui kandungan fenolik total serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal.
2. Mengetahui perbedaan kandungan fenolik total serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal.

3. Mengetahui kemampuan metode NIR dan kemometrik (LDA, SVM, dan SIMCA) dalam mengklasifikasikan serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kandungan fenolik total dari kedua varietas serbuk daun sirsak.
2. Model klasifikasi dari kedua varietas serbuk daun sirsak dapat digunakan untuk kontrol kualitas obat tradisional berbahan baku daun sirsak.

#### **1.5 Batasan Penelitian**

Adapun batasan dalam penelitian ini adalah sampel serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) varietas ratu dan lokal yang digunakan berasal dari Kabupaten Jember dan Bondowoso.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Sirsak (*Annona muricata* L.)

Tanaman sirsak umumnya memiliki tinggi sekitar 3-10 meter dan bercabang rendah. Bentuk daun sirsak memanjang seperti lanset atau bulat telur sungsang, ujung meruncing pendek, permukaan atas daun berwarna hijau tua, dan permukaan bawah berwarna hijau muda. Kulit buah sirsak berduri lunak, saat masih muda berwarna hijau dan berjarak rapat. Jika buah sirsak sudah tua berubah agak kehitaman, durinya lunak, dan merenggang. Daging buah sirsak berwarna putih dan berbiji banyak. Bunganya berwarna kuning dan berbentuk kerucut tidak beraturan (Zuhud, 2011). Tanaman sirsak dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman sirsak (Zuhud, 2011)

Sirsak merupakan tanaman tropis yang tumbuh diberbagai negara di dunia. Di Thailand dikenal dengan nama *thurian khaek*, *guayabano* (Filipina), *graviola* (Brazil), *huanaba* (Spanyol), *corossol* (Perancis), *toge-banreisi* (Taiwan), *durian benggala* (India), *sauersack sausap* (Papua Nugini), dan *stachelannone* (Jerman). Buah sirsak dalam bahasa inggris dikenal dengan istilah *soursop* karena rasanya yang manis keasaman (Mardiana, 2014).

Sirsak diberbagai wilayah Indonesia dikenal sebagai *nangka sebrang*, *nangka landa* (Jawa), *nangko walanda*, *sirsak* (Sunda), *nangka buris* (Madura), *srikaya jawa* (Bali), *deureuyan belanda* (Aceh), *durio ulondro* (Nias), *serekaja* (Bugis), *jambu landa* (Lampung), dan *durian betawi* (Minangkabau). Di

Indonesia terdapat dua varietas sirsak yang dibedakan dari rasanya. Varietas sirsak yang mempunyai rasa manis dikenal dengan sirsak ratu dan varietas yang memiliki rasa asam dikenal sebagai sirsak lokal (Mardiana, 2014).

Sirsak dapat tumbuh pada kisaran iklim yang cukup luas, pada dataran rendah (0 m dari permukaan laut/ dpl) hingga 1.200 m dpl. Selain itu, tanaman ini dapat tumbuh pada berbagai tipe tanah, baik yang kaya unsur hara dan berpengairan baik, maupun lahan marginal seperti tanah masam, tanah kering, dan tanah berpasir. Habitat sirsak dapat tumbuh pada semua jenis tanah dengan pH antara 5-7 (Mardiana, 2014).

#### 2.1.1 Klasifikasi Sirsak

Sirsak dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut (Radi, 1997):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Polycarpiceae
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Species	: <i>Annona muricata</i> Linn

#### 2.1.2 Ciri Makroskopis Daun Sirsak

Menurut Materia Medika Jilid V tahun 1989, daun sirsak merupakan daun tunggal, warna kehijauan sampai hijau kecoklatan, helaian daun seperti kulit, bentuk bundar panjang, lanset atau bundar telur terbalik, panjang helaian daun 6 cm sampai 18 cm, lebar 2 cm sampai 6 cm. Ujung daun meruncing pendek, pangkal daun runcing, tepi rata, panjang tangkai daun lebih kurang 0,7 cm. Permukaan licin agak mengkilat, tulang daun menyirip, ibu tulang daun menonjol pada permukaan bawah.



### 2.1.3 Manfaat Daun Sirsak

Bagian daun dari pohon sirsak banyak dimanfaatkan untuk kesehatan (Muizuddin dan Zubaidah, 2015). Pada tiga uji *in vitro* yang dilakukan oleh Baskar et al. (2007) sirsak terbukti memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada spesies lain dalam familli *Annonaceae*. Perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol (pada konsentrasi 500 µg/mL) daun *Annona squamosa*, *Annona reticulata*, dan *Annona muricata* dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Annonaceae*

Spesies (500 µg/mL)	% Inhibisi		
	ABTS	Oksida nitril	Radikal hidroksil
<i>Annona squamosa</i>	88,06	68,03	79,79
<i>Annona reticulata</i>	89,05	71,10	77,72
<i>Annona muricata</i>	90,05	72,06	85,88

(Sumber: Baskar, 2007)

Daun sirsak memiliki aktivitas sebagai agen kemoproventif. Hal tersebut dikarenakan adanya efek sitotoksik dan antioksidan. Efek sitotoksik dikarenakan adanya *Annonaceous acetogenins* (Roduan *et al.*, 2017). *Acetogenins* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau *NADH dehidrogenase*. Produksi ATP yang dapat menyebabkan kematian sel kanker dapat diturunkan oleh *Acetogenins*. Zat ini kemudian memicu terjadinya apoptosis dan mengaktifkan p53 yang dapat menghentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi yang tidak terkendali (Retnani, 2011). Senyawa yang berperan dalam aktivitas sebagai antioksidan adalah flavonoid dan tanin. Antioksidan dapat menyebabkan pergeseran positif pada keseimbangan redoks intraselular dan penurunan aktivitas peroksidasi lipid, sehingga mengurangi risiko kerentanan sel dan organ tubuh terhadap pembentukan tumor (Roduan *et al.*, 2017).

Daun sirsak secara *in vivo* juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Aktivitas tersebut salah satunya dikarenakan adanya aktioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif sehingga dapat mengurangi rusaknya sel β-pankreas yang diinduksi streptozotoksin. Streptozotoksin yang terdekomposisi dapat

melepaskan ROS dan akan menyebabkan kematian sel (Florence *et al.*, 2014). Antioksidan daun sirsak juga memiliki efek sitoprotektif pada sel-sel trakea dan pulmo mencit yang diinduksi asap antinyamuk bakar. Asap antinyamuk bakar dapat menyebabkan kerusakan sel yang diduga karena adanya peningkatan radikal bebas. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun sirsak berfungsi sebagai antioksidan. Flavonoid mempunyai fungsi menghambat terbentuknya radikal bebas, menghambat peroksidasi lemak dan mengubah struktur membran sel. Aktifitas flavonoid ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dan kemampuannya sebagai pengkelat logam (Yunianto *et al.*, 2014).

Aktifitas lain yang terkait dengan adanya antioksidan pada daun sirsak adalah sebagai penurun kadar asam urat. Hiperurisemia atau peningkatan kadar asam urat merupakan penyakit degeneratif yang dapat diredam bila tubuh memiliki penangkap radikal bebas. Isolat aktif yang bersifat antioksidan diduga mengandung empat senyawa dominan, yaitu: 2,3-dihidro-benzofuran; tetradekana; 1,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidroisokuinolin-3-etoksi; dan 4-hidroksi-3,5,6-trimetil-4-(3-oxo-1-butenil)-2-sikloheksena-1-on (Artini *et al.*, 2012).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia Daun Sirsak

Kandungan fitokimia yang ditemukan pada daun sirsak diantaranya adalah senyawa fenolik (asam klorogenat, antraquinon, asam sinamat, flavonoid, asam hidroksisinamat, asam galat, hidroquinon, dan tanin) (Coria-Tellez *et al.*, 2016), alkaloid (*reticuline*, *anomuricine*, *coclarine* dan *anomurine*) (Leboeuf *et al.*, 1982) dan minyak esensial (*β-caryophyllene*, *δ-cadinene*, *epi-α-cadinol* dan *α-cadinol*) (Kossouh *et al.*, 2007). Kandungan kimia lain pada daun sirsak adalah asetogenin, yang terdiri dari *annomuricins* A dan B, *gigantetrocin* A, *annonacin-10-one*, *muricatetrocins* A dan B, *annonacin*, *goniothalamicin* (Wu *et al.*, 1995), *muricatocins* A dan B, *annonacin* A, (2,4-*trans*)-*isoannonacin*, (2,4-*cis*)-*isoannonacin* (Wu *et al.*, 1995) *annomuricin* C, *muricatocin* C, *gigantetronenin* (Wu *et al.*, 1995), *annomutacin*, (2,4-*trans*)-*10R-annonacin-A-one*, (2,4-*cis*)-*10R-annonacin-A-one* (Wu *et al.*, 1995), *cis-annonacin*, *cis-annonacin-10-one*, *cis-goniothalamicin*, *arianacin*, *javoricin* (Zeng *et al.*, 1996), *annomuricine*,

*muricapentocin* (Kim *et al.*, 1998) *muricoreacin* dan *murihexocin C* (Kim *et al.*, 1998), dan *annocatacin A* dan *B* (Chang *et al.*, 2003). Pada penelitian yang dilakukan oleh Gavamukulya *et al.* (2014) menunjukkan daun sirsak juga mengandung saponin, terpenoid, kumarin, dan fitosterol.

#### 2.1.5 Sirsak Varietas Ratu dan Lokal

Secara umum masyarakat Indonesia hanya mengenal sirsak yang mempunyai rasa asam (varietas lokal), namun sebenarnya ada juga sirsak yang mempunyai rasa manis. Sirsak manis ini telah dilepas oleh Menteri Pertanian tahun 1988 dengan nama sirak ratu (Sudjijo, 2014). Varietas ratu dan lokal memiliki morfologi daun, buah, batang, dan bunga yang sama. Morfologi daun dari kedua varietas sama yaitu, memiliki permukaan daun yang halus, bentuk percabangan jorong ke atas, panjang daun 10-20 cm, warna daun bagian atas hijau tua, warna daun bagian bawah hijau, tepi daun rata, dan bentuk daun lonjong ujung runcing (Mentan, 1988 dan Sudjijo, 2007 dalam Sudjijo, 2014). Karakteristik sirsak varietas ratu dan lokal dapat dilihat pada Tabel 2.2. Daun dan buah varietas ratu dan lokal dapat dilihat pada Gambar 2.2 dan 2.3.



Gambar 2.2 Daun sirsak: (A) varietas ratu, (B) varietas lokal (Sudjijo, 2014)



Gambar 2.3 Buah sirsak: (A) varietas ratu, (B) varietas lokal (Sudjijo, 2014)

Tabel 2.2 Karakteristik sirsak varietas ratu dan lokal

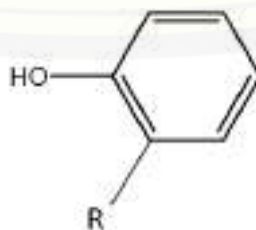
Karakteristik	Sirsak Ratu	Sirsak Lokal
Warna kulit batang	Coklat	Coklat
Permukaan daun	Halus	Halus
Bentuk percabangan	Jorong ke atas	Jorong ke atas
Lebar daun	5 – 5,5 cm	4,8 – 5,5 cm
Panjang daun	10 – 20 cm	10 – 20 cm
Warna daun bagian atas	Hijau tua	Hijau tua
Warna daun bagian bawah	Hijau	Hijau
Tepi daun	Rata	Rata
Bentuk daun	Lonjong ujung runcing	Lonjong ujung runcing
Warna bunga	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan
Bentuk buah	Bulat lonjong	Bulat lonjong
Ketebalan kulit buah	Tipis	Tipis
Warna buah muda	Hijau	Hijau
Warna daging buah	Putih susu	Putih susu
Rasa daging buah	Manis legit	Asam manis
Aroma daging buah	Harum tajam	Harum tajam
Produksi buah/pohon/tahun	60 – 189 kg	50 – 200 kg

(Sumber: Mentan, 1988 dan Sudjijo, 2007 dalam Sudjijo, 2014)

Berdasarkan Tabel 2.2 kedua varietas sirsak tersebut tidak bisa dibedakan berdasarkan ciri morfologinya. Perbedaan hanya dapat diketahui dari rasa daging buahnya. Daging buah varietas ratu memiliki rasa yang manis legit sedangkan varietas lokal memiliki rasa asam sedikit manis (Sudjijo, 2014).

## 2.2 Tinjauan Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang terdiri dari satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Failasufa, 2011). Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya yaitu fenol. Senyawa fenol kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol. Struktur kimia senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa fenol

Polifenol merupakan seluruh senyawa yang memiliki struktur dasar berupa fenol. Senyawa polifenol memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya (Fachraniah *et al.*, 2012). Turunan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder yang diproduksi tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007). Banyaknya jenis gugus yang dapat tersubstitusi pada kerangka utama fenol menyebabkan terdapat banyak jenis senyawa fenolik (Marinova *et al.*, 2005). Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan rantai karbonnya dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan rantai karbonnya

Kelas	Kerangka Dasar
Fenol sederhana	C <sub>6</sub>
Benzoquinon	C <sub>6</sub>
Asam fenol	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Asetofenon	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Asam fenilasetat	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Asam hidroksisinamat, asam sinamat	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Fenilpropana	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kumarin, Isokumarin	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kromon	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naftokuinon	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Xanton	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Stilben	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Antrakuinon	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoid	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignan dan Neolignan	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Lignin	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>

(Sumber: Giada, 2013)

Pada ekstrak etanol daun sirsak kandungan fitokimia yang terdeteksi adalah terpenoid, steroid, flavonoid, glikosida, tannin, fenol, alkaloid, dan gula pereduksi. Kandungan fitokimia tertinggi pada daun sirsak adalah senyawa fenol. Pada 100 g ekstrak etanol daun sirsak terkandung 162,99 mg fenol (Minari dan Okeke, 2014). Kandungan fitokimia pada ekstrak etanol daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kandungan fitokimia pada ekstrak etanol daun sirsak

Fitokimia	<i>Annona muricata</i> (mg/100 g)
Fenol	162,99
Glikosida	12,92
Tannin	121,98
Alkaloid	13,74
Flavonoid	16,26

(Sumber: Minari dan Okeke, 2014)

Kandungan fenolik pada ekstrak air daun sirsak cukup tinggi yaitu 683, 69±0,09 µg GAE/mL (Gavamukulya *et al.*, 2014). Senyawa fenolik dikenal secara luas memiliki aktivitas antioksidan untuk mencegah berbagai penyakit seperti penyakit jantung, diabetes, dan kanker (Khoddami *et al.*, 2013). Senyawa fenolik memiliki potensi sebagai antioksidan disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil. Gugus hidroksil dapat berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dihambat (Widyastuti, 2010). Senyawa fenolik total juga memiliki korelasi positif yang kuat dengan aktivitas antioksidan (George *et al.*, 2014).

### 2.3 Simplisia dan Serbuk Simplisia

#### 2.3.1 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2014). Menurut Materia Medika Indonesia Jilid VI (1995), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori, yaitu :

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

c. Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia.

### 2.3.2 Pembuatan Simplisia

Menurut Depkes RI (1985), pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain bergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia.

c. Pencucian

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih.

d. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia tertentu memerlukan proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan.

e. Pengeringan

Tujuan dari pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.

f. Sortasi kering

Tujuannya untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

g. Pengepakan dan penyimpanan

Pada penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal yang dapat mengakibatkan kerusakan simplisia, yaitu cara pengepakan, pembungkusan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi, pemeriksaan mutu, dan pengawetannya.

h. Pemeriksaan mutu

Pemeriksaan mutu simplisia dilakukan pada waktu penerimaan atau pembeliaanya dari pedagang simplisia.

### 2.3.3 Serbuk Simplisia

Serbuk simplisia adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas (BPOM, 2014). Menurut DepKes RI (2014), serbuk simplisia yang diseduh dengan air panas sebelum digunakan memiliki beberapa syarat yaitu:

a. Kadar air  $\leq 10\%$ .

b. Cemaran mikroba

- 1) Angka Lempeng Total :  $\leq 10^6$  koloni/g
- 2) Angka Kapang Khamir :  $\leq 10^4$  koloni/g
- 3) *Escherichia coli* : negatif/g
- 4) *Salmonella* spp : negatif/g
- 5) *Pseudomonas aeruginosa* : negatif/g
- 6) *Staphylococcus aureus* : negatif/g

### 2.3.4 Serbuk Daun Sirsak

Pada pengobatan tradisional banyak menggunakan sediaan dalam bentuk serbuk. Sediaan serbuk dalam kapsul biasa digunakan pada Klinik Sainifikasi Jamu Hortus Medicus karena lebih praktis dan mudah dibawa dibandingkan sediaan rebusan, sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien. Cara formulasi sediaan kapsul adalah dengan memblender simplisia sehingga didapatkan serbuk.



Serbuk kemudian dimasukkan dalam mesin tertentu agar dapat masuk ke dalam kapsul (Ahmad, 2012).

## 2.4 Tinjauan Metode Penentuan Kandungan Fenolik Total

Heterogenitas fenolik alami dan kemungkinan gangguan dari zat mudah teroksidasi lainnya di dalam tanaman, menyebabkan beberapa metode telah dikembangkan untuk penentuan kandungan fenolik total dari sampel. Metode penentuan kandungan fenolik total yang telah digunakan yaitu:

### 2.4.1 Metode Folin-Denis (F-D)

Metode Folin-Denis digunakan untuk penentuan kandungan tanin total, ditentukan berdasarkan penambahan reagen pembentuk warna yaitu folin denis. Pembentukan warna tersebut berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor dan folin denis sebagai oksidator. Prinsip dari metode folin denis adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur serapannya pada daerah sinar tampak (Dai dan Mumper, 2010)

### 2.4.2 Metode Folin-Ciocalteu (F-C)

Metode ini mengukur kemampuan sampel pada kondisi basa untuk mereduksi pereaksi Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning sehingga menyebabkan perubahan menjadi biru gelap (Yu, 2008). Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Blainski *et al.*, 2013).

### 2.4.3 Metode *Lowenthal-Procter*

Analisis kadar tanin dilakukan dengan menggunakan titrasi secara permanganometri atau metode *Lowenthal-Procter*. Permanganometri adalah titrasi yang berdasarkan pada reaksi redoks. Metode ini didasari oksidasi fenolat oleh larutan kalium permanganat dengan adanya indigokarmin sebagai indikator redoks untuk menunjukkan indikator titrasi (Wang dan Zhou, 2004)

### 2.4.4 Metode Kalorimetri

Penentuan konsentrasi flavonoid dari ekstrak etanol daun pare dilakukan dengan kompleks kolorimetri  $AlCl_3$  yang mempunyai prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Metode ini dapat digunakan untuk menentuka

jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol. Prinsip penetapan flavonoid dengan kolorimetri  $AlCl_3$  adalah terbentuknya kompleks antara  $AlCl_3$  dengan gugus keto pada atom C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari pengukuran kuersetin adalah 510 nm (Cahyanta, 2016)

### **2.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total dengan Reagen Folin-Ciocalteu**

Penentuan kandungan fenolik total pada penelitian ini dilakukan dengan metode dengan penambahan Folin-Ciocalteu. Menurut Singleton et al. (1974) metode dengan penambahan reagen Folin-Ciocalteu lebih dipilih daripada metode lain. Metode lain yang dapat digunakan memiliki kekurangan diantaranya adalah metode oksidasi dengan natrium permanganat lebih sulit distandarisasi pada analisis yang berbeda dan banyak pengganggu terutama dari gula. Kolorimetri dengan garam besi memiliki masalah pada penentuan fenolik total, monofenol umumnya tidak bereaksi dan pada kondisi tertentu difenol dan trifenol memberikan warna yang berbeda. Sedangkan absorbansi ultraviolet sulit diterapkan pada analisis fenolik total karena potensi interferensi dari senyawa lain. Menurut Khoddami et al. (2013) metode dengan penambahan reagen Folin-Ciocalteu memiliki kelebihan diantaranya adalah relatif cepat, ekonomis, dan sederhana.

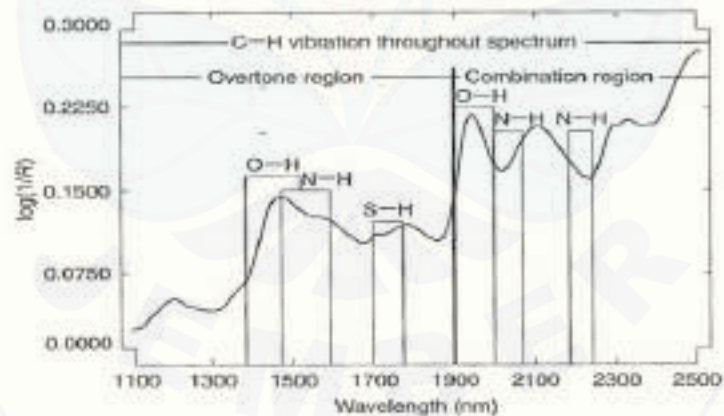
Penentuan kandungan fenolik total bertujuan untuk mengetahui jumlah fenolik yang terdapat pada sampel dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Reagen Folin-Ciocalteu merupakan campuran dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat. Senyawa fenolik dalam sampel dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning dan membentuk kompleks molibdenum berwarna biru. Senyawa berwarna biru tersebut dapat diukur menggunakan cahaya tampak pada spektrofotometri UV-Vis (Tursiman *et al.*, 2012). Adapun reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.5.



## 2.6 Spektroskopi NIR (*Near-Infrared*)

Radiasi elektromagnetik *Infrared* (IR) berada pada panjang gelombang 750-25000 nm dan terletak pada sinar tampak. IR dibagi menjadi tiga daerah yaitu *near-infrared*, *mid-infrared*, *far-infrared*. Sedangkan panjang gelombang dan bilangan gelombang spektroskopi NIR berturut turut adalah 780 nm-2500 nm dan  $12.800\text{ cm}^{-1}$ -  $4000\text{ cm}^{-1}$  (Schwanninger *et al.*, 2011).

Spektroskopi NIR (*Near-Infrared*) adalah teknik analisis yang efektif karena non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia (Karlinasari *et al.*, 2012). Pada daerah NIR tersebut dapat teramati vibrasi dari ikatan-ikatan -CH, -OH, -SH, dan -NH (Burns dalam Roggo, 2007). Radiasi gelombang inframerah diserap oleh molekul penyusun bahan sehingga menyebabkan ikatan tunggalnya bervibrasi. Vibrasi (getaran) yang dihasilkan ini menyebabkan pita penyerapan naik sesuai kombinasi gugus fungsi kimianya (Karlinasari *et al.*, 2012). Panjang gelombang tiap gugus kimia dapat dilihat pada Gambar 2.6 berikut :



Gambar 2.6 Daerah gugus fungsi dan panjang gelombang spektroskopi NIR (Karlinasari *et al.*, 2012)

Prinsip spektroskopi NIR berdasarkan pada pengukuran cahaya yang dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel. Energi radiasi yang ditransfer menjadi energi mekanik terkait oleh adanya gerakan atom yang dilakukan bersama oleh ikatan kimia dalam suatu molekul akan menghasilkan spektrum

NIR. Awalnya sumber cahaya dengan panjang gelombang antara 780-2500 nm dikenakan sampel, kemudian cahaya tersebut akan dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel dikumpulkan oleh detektor dan diubah menjadi spektrum (Patil *et al.*, 2007).

Instrumentasi spektroskopi NIR umumnya terdiri dari sumber cahaya, tempat sampel, monokromator, dan detektor yang dapat digunakan untuk pengukuran pantulan atau transmisi. Sumber cahaya yang biasa digunakan adalah lampu halogen tungsten karena mencakup seluruh daerah NIR. Sedangkan fungsi monokromator adalah untuk menyeleksi panjang gelombang (Reich, 2005).

Kondisi fisik yang mempengaruhi spektra NIR antara lain ukuran partikel, kepadatan pengemasan (*packing density*), karakteristik permukaan, dan kadar air serbuk (Karlinsari *et al.*, 2012). Ukuran dan bentuk partikel, rongga antara partikel dan susunan partikel mempengaruhi panjang transmisi cahaya yang melewati sampel dan mempengaruhi reflektansi (Chang *et al.*, 2001). Kepadatan pengemasan serbuk untuk serbuk hasil penggilingan sangat mempengaruhi bentuk spektra yang dihasilkan karena berkaitan dengan distribusi partikel yang mempengaruhi rongga antar partikel dan susunan partikel. Hamburan reflektansi dari sampel serbuk tergantung dari penyebaran radiasi gelombang pada permukaannya. Kadar air mempengaruhi spektra NIR ditunjukkan pada hasil penelitian sampel dengan kadar air yang lebih tinggi memiliki absorbansi spektra lebih tinggi dibandingkan sampel serbuk kayu yang memiliki kadar air serbuk di bawah 10% (Karlinsari *et al.*, 2012).

## 2.7 Analisis Kemometrik

Data spektra dari spektroskopi NIR sangat rumit dan tumpang tindih sehingga sulit diinterpretasikan (Gad *et al.*, 2012). Metode kemometrik diperlukan untuk analisis secara kualitatif dan kuantitatif (Ritz *et al.*, 2011). Kemometrik merupakan disiplin ilmu kimia yang menggunakan matematika dan statistik dengan tujuan untuk memproses, mengevaluasi, dan menginterpretasi data dari analisis kimia (Varmuza *et al.*, 2011). Pengaplikasian metode kemometrik sering dilakukan pada kondisi dimana tidak ada teori yang mampu

menyelesaikan atau mendiskripsikan masalah. Pada permasalahan tersebut digunakan analisis multivariat (banyak variabel) untuk mendiskripsikan sistem yang memiliki hubungan tersembunyi antara data yang tersedia dan informasi yang dihasilkan. Tujuan dari kemometrik adalah menemukan hubungan tersembunyi tersebut (Varmuza, 2001).

Analisis multivariat merupakan analisis yang menggunakan banyak variabel untuk mendiskripsikan sistem sehingga banyak diaplikasikan untuk berbagai masalah analisis kimia yang berkembang. Beberapa contoh masalah tersebut adalah analisis senyawa dalam campuran (kalibrasi multivariat), pengenalan struktur kimia melalui data spektrum (klasifikasi spektrum), prediksi sifat atau aktivitas senyawa kimia (hubungan kuantitatif sifat atau struktur aktivitas), dan penentuan keaslian sampel (Varmuza, 2001).

Pada metode analisis multivariat, tersedia perangkat lunak statistik yang dapat membantu dalam menghasilkan laporan analisis dimana perangkat tersebut dapat bekerja dengan kelompok data yang besar. Beberapa perangkat lunak memberikan kemajuan dalam proses kalkulasi. Salah satu perangkat lunak tersebut adalah *The Unscrambler*. *The Unscrambler* merupakan perangkat lunak spesifik dan baik untuk digunakan dalam analisis multivariat. Tujuan perangkat lunak ini adalah untuk membantu menganalisis data multivariat dan membentuk desain eksperimen. Selain itu, *The Unscrambler* juga dapat membantu klasifikasi sampel yang belum diketahui ke dalam berbagai kategori (Miller dan Miller, 2005).

Metode multivariat dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dan kualitatif. Untuk analisis kualitatif dapat menggunakan *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), dan *Soft Independent Modelling of Class Analogy* (SIMCA).

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

LDA merupakan metode yang paling banyak digunakan dan memberikan hasil terbaik. Penentuan LDA didasarkan pada fungsi diskriminan linier yang memaksimalkan rasio antara kelas varians dan meminimalkan rasio dalam kelas

varian. Kelas seharusnya mengikuti distribusi normal multivariat dan distribusi linier (Berrueta *et al.*, 2007). Pendekatan LDA berbeda dengan SIMCA, dimana LDA menganggap bahwa sampel harus menjadi bagian dari salah satu kategori yang dianalisis. LDA secara luas digunakan dalam permasalahan yang melibatkan hanya dua kategori (Camo, 2005).

### 2.7.2 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. 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).

### 2.7.3 Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA)

SIMCA merupakan salah satu metode klasifikasi yang terdapat dalam *The Unscrambler*. Model SIMCA dibentuk berdasarkan pembuatan model PCA. Sampel yang tidak diketahui kemudian dibandingkan dalam model SIMCA dan pengkategorian dinilai berdasarkan analogi pada sampel percobaan (Camo, 2005).

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).

## 2.8 Validasi Silang

Metode validasi silang (*cross validation*) adalah metode untuk menguji validitas model regresi dengan menggunakan data uji di luar data yang digunakan dalam *fitting* regresi (Pranowo *et al.*, 2006). Menurut Kohavi (1995) beberapa tipe dan cara validasi silang yaitu *Leave-one-out*, *K-fold cross validation*, dan *2-fold cross-validation*. Penjelasan dari masing-masing tipe tersebut adalah sebagai berikut:

### 2.8.1 *Leave-one-out*

Seperti diketahui dari namanya, *leave one out cross validation* (LOOCV) yang berarti meninggalkan satu untuk validasi silang, yaitu dengan melibatkan sampel pengamatan tunggal dari sampel asli digunakan sebagai validasi data, dan sampel pengamatan yang tersisa digunakan sebagai *training set*. Hal ini dilakukan berulang pada setiap observasi dalam sampel yang digunakan sekaligus sebagai data validasi. LOOCV akan menjadi sama dengan *k-fold*, bila jumlah k-lipatannya sama dengan jumlah sampel asli pengamatan.

### 2.8.2 *K-fold cross validation*

Di dalam validasi silang *k-fold*, seluruh sampel asli dibagi secara acak ke dalam k-subsampel. Dari sebanyak k-subsampel, sebuah subsampel tunggal dipertahankan sebagai validasi data untuk pengujian model, dan sisanya k-1 subsampel digunakan sebagai *training set*. Proses validasi silang yang kemudian berulang k-kali (lipatan), dengan masing-masing k-subsampel digunakan tepat satu kali sebagai validasi data. Hasil k-kali dari lipatan kemudian didapat rata-rata (atau dikombinasi) untuk menghasilkan estimasi tunggal. Keuntungan dari metode ini adalah seluruh sampel pengamatan digunakan secara acak dan berulang sebagai data pelatihan dan validasi.

### 2.8.3 *2-Fold Cross-Validation*

Tipe ini merupakan variasi *k-fold cross-validation* yang paling sederhana. Pada pelaksanaannya, metode ini biasanya dilakukan dengan membagi data sampel menjadi dua bagian yang sama yaitu *training set* yang digunakan untuk



membuat model, sedangkan bagian yang lain untuk *test set* yang berfungsi untuk memvalidasi model yang telah terbentuk.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian *true experimental laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia, Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Oktober 2017 sampai Maret 2018.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Langkah penelitian awal yang dilakukan yaitu pengambilan sampel daun sirsak (*Annona muricata* L.) varietas ratu dan lokal di Kabupaten Jember dan Bondowoso. Sampel dikeringkan kemudian diselep hingga menjadi serbuk. Serbuk daun sirsak kemudian ditetapkan kadar airnya dengan menggunakan metode gravimetri. Setelah kadar air kurang dari 10% dilakukan penentuan kandungan fenolik total dan model klasifikasi serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal.

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis. Data kandungan fenolik total daun sirsak dari dua varietas kemudian dianalisis untuk dilihat perbedaannya. Penentuan model klasifikasi daun sirsak ditentukan dengan metode NIR Kemometrik. Analisis model klasifikasi dilakukan dengan melihat pola spektra yang dihasilkan oleh NIR yang dikombinasi dengan analisis kemometrik yaitu LDA, SVM, dan SIMCA. Model yang terbentuk kemudian dievaluasi menggunakan validasi silang dengan metode *Leave-One-Out-Cross Validation* (LOOCV) dan *2-fold-Cross Validation* (2FCV). Model kemudian diaplikasikan pada sampel nyata.

### 3.4 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer NIR Brimrose Luminar 3070, perangkat lunak Brimrose, perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2* (Camo), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), oven (Memmert), timbangan analitik digital (Sartorius), alat penyerbuk (selep), vial, desikator, corong, labu ukur, kuvet, ayakan 100 mesh, dan alat-alat gelas.

#### 3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) varietas ratu dan lokal yang diambil dari Kabupaten Jember dan Bondowoso, metanol 98%, standar asam galat, reagen Folin-Ciocalteu (1:10), dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dense 7,5%.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah varietas daun sirsak yaitu ratu dan lokal.

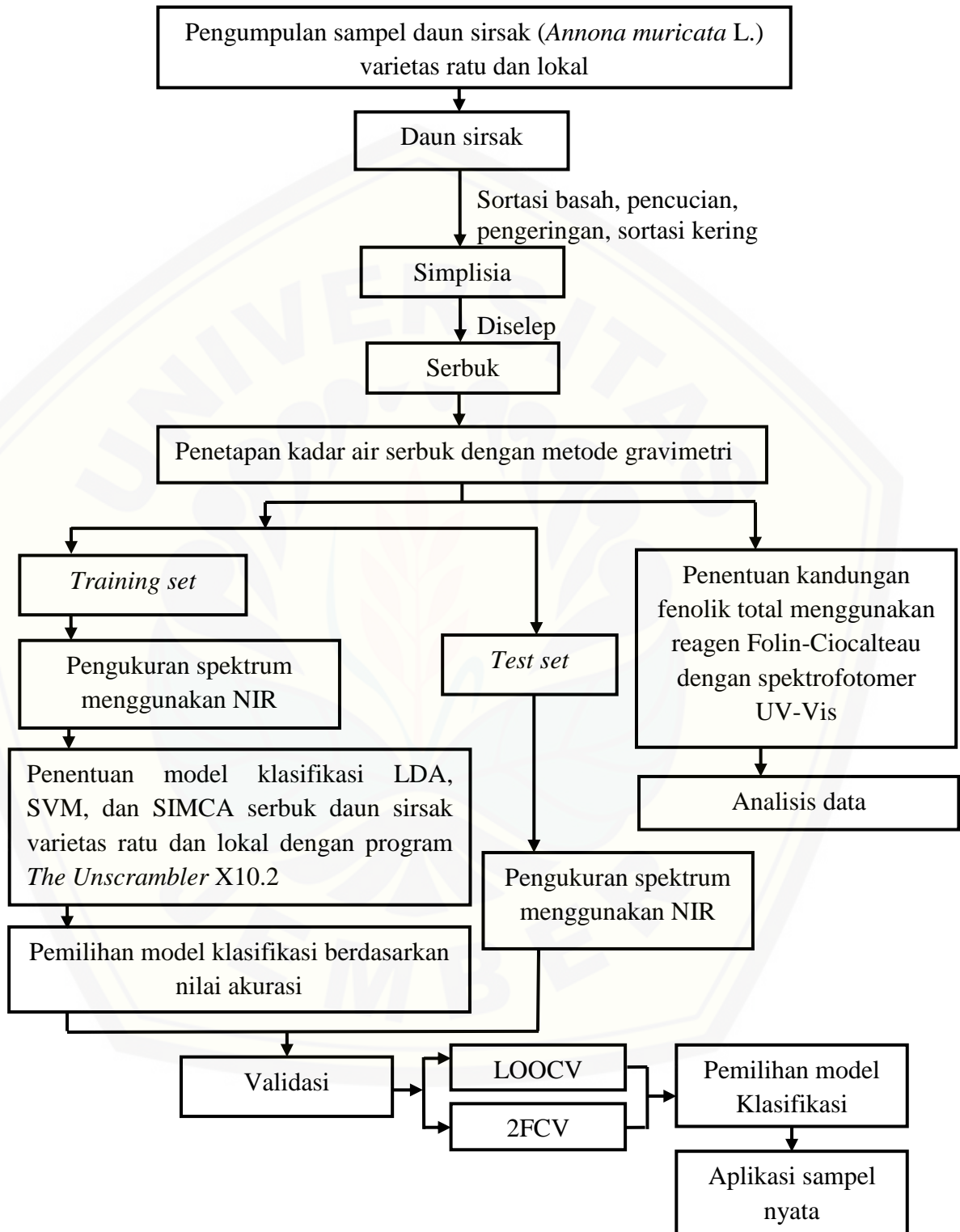
#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kandungan fenolik total dan model klasifikasi serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah cara penentuan kandungan fenolik total dan model klasifikasi.

### 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 pengambilan secara acak (*simple random sampling*). *Simple random sampling* merupakan pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi itu (Setiawan, 2005). Dalam penelitian ini, sampel daun sirsak varietas ratu dan lokal diperoleh dari Kabupaten Jember dan Bondowoso. Sampel serbuk daun sirsak simulasi dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu:

##### a. *Training set*

*Training set* terdiri dari objek/sampel yang diketahui pengkategorianya dan digunakan untuk membentuk model klasifikasi kemometrik (Berrueta *et al.*, 2007). Preparasi *training set* pada penelitian ini dilakukan dengan membuat 2 kategori yang terdiri dari serbuk daun sirsak kategori ratu dan lokal. Setiap kategori terdiri dari 5 sampel yang diambil dari Kabupaten Jember dan 5 sampel dari kabupaten Bondowoso.

##### b. *Test set*

*Test set* juga terdiri dari objek/sampel yang diketahui pengkategorianya namun digunakan untuk mengevaluasi reliabilitas model yang telah dibentuk oleh *training set* (Berrueta *et al.*, 2007). *Test set* dibuat dengan preparasi empat sampel yang terdiri dari 2 sampel serbuk daun sirsak varietas ratu dan 2 sampel varietas lokal.

##### c. Sampel Nyata

Sampel nyata yang digunakan adalah serbuk daun sirsak varietas lokal yang berasal dari Kabupaten Malang dan Ngawi.

### 3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Penetapan Kadar Air Serbuk

Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah dicuci dilakukan pengeringan dengan diangin-anginkan ditempat terbuka tanpa terkena panas matahari secara langsung, sehingga didapatkan simplisia.

Simplisia daun sirsak varietas ratu dan lokal yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan selep, kemudian ditetapkan kadar airnya dengan menggunakan metode gravimetri. Kadar air yang diinginkan adalah  $\leq 10\%$ . Tahapan penetapan kadar air yaitu dengan menimbang vial kosong tanpa tutup kemudian sebanyak 1 gram serbuk daun sirsak dimasukkan dalam vial dan dipanaskan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam lalu didinginkan dalam desikator dalam keadaan vial tertutup. Setelah dingin kemudian ditimbang. Pemanasan dengan oven diulang selama 30 menit sampai diperoleh bobot konstan. Kadar air dihitung dengan persamaan 3.1.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan :

A = bobot sampel awal (g)

B = bobot sampel sesudah dikeringkan (g)

### 3.7.3 Scanning Serbuk Daun Sirsak dengan NIR

Pengukuran spektrum serbuk daun sirsak menggunakan instrumen NIR "Luminar 3070". Instrumen NIR dihidupkan dan ditunggu selama 30 menit (merupakan waktu *warming up*), kemudian dibuka perangkat lunak Brimrose. Sampel serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal diletakkan diatas plat tempat sampel dengan cara menekan sehingga menghasilkan ketebalan dan ketinggian yang sama pada setiap replikasi. Setiap sampel dilakukan replikasi sebanyak 5 kali dan setiap replikasi dilakukan 3 kali penembakan. Selanjutnya langkah-langkah tersebut diulangi untuk semua sampel. Setelah *scanning* semua sampel, perangkat lunak Brimrose ditutup, selanjutnya data yang telah diperoleh diolah dengan perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*.

### 3.7.4 Penentuan Model Klasifikasi

Data spektrum yang diperoleh dari *scanning* NIR diolah dengan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*. Pembentukan model klasifikasi dilakukan dengan metode *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), dan *Soft Independent Modelling of Class Analogy* (SIMCA) 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 “Ratu” untuk sirsak varietas ratu dan “Lokal” untuk sirsak varietas lokal. Objek dikelompokkan dengan memilih *define range* dan *column range* diisi dengan kategori pada kolom 1 dan absorbansi pada kolom yang lain.

Selanjutnya dibuat model klasifikasi sebagai berikut :

#### a. LDA (*Linear Discriminant Analysis*)

Model klasifikasi dibuat dengan klik *tasks, analyze*, lalu pilih *Linear Discriminant Analysis*. Model klasifikasi dikatakan valid apabila % akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

#### b. SVM (*Support Vector Machine*)

Model dibuat dengan klik *tasks, analyze*, lalu pilih *Support Vector Machine*. Model klasifikasi dikatakan valid apabila % akurasi yang diperoleh sebesar 100%, hal tersebut menunjukkan hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

#### c. SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*)

Model PCA harus dibuat terlebih dahulu sebelum membuat model SIMCA. Model PCA dibuat dengan klik *tasks, analyze*, lalu pilih *Principal Component Analysis*. Model SIMCA dibuat dengan klik *tasks, predict, classification* lalu pilih SIMCA. Model klasifikasi dikatakan valid apabila % akurasi yang diperoleh sebesar 100%, dimana hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya.

### 3.7.5 Validasi Model Klasifikasi Kemometrik

#### a. *Leave-One-Out-Cross Validation (LOOCV)*

Set validasi ini dibuat untuk mengevaluasi data dengan mengambil satu set data sampel dari *training set* dimana data tersebut digunakan sebagai set validasi. Sedangkan data yang tersisa digunakan untuk membentuk model baru, demikian seterusnya hingga semua data digunakan sebagai set validasi.

#### b. *2-Fold Cross-Validation*

Set validasi ini dibuat dengan preparasi 4 sampel *test set*. Penetapan data NIR dilakukan dengan scanning sampel *test set* hingga menghasilkan data spektrum yang kemudian diolah dengan menggunakan software *The Unscrambler versi X 10.2*.

### 3.7.6 Penentuan Kandungan Fenolik Total

#### a. Pembuatan Larutan Uji Serbuk

Dua puluh sampel serbuk daun ditimbang 25 mg, masing-masing replikasi tiga kali. Selanjutnya dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol 98% sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 2500 µg/mL. Larutan uji tersebut diencerkan 2 kali dengan cara mengambil 1 mL larutan uji kemudian ditambahkan 1 mL metanol 98%.

#### b. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 20 mg dan 25 mg, masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 25 mL kemudian dilarutkan sampai tanda batas dengan metanol 98% sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk asam galat yaitu 800 dan 1000 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk 800 µg/mL menjadi 8 µg/mL, 16 µg/mL, dan 80 µg/mL. Larutan induk 1000 µg/mL menjadi 5 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, dan 50 µg/mL dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk asam galat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol 98%.



c. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan asam galat konsentrasi 80 µg/mL dipipet 100 µL kemudian ditambahkan dengan 500 µL Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Selanjutnya campuran didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambah 400 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L air). Campuran lalu diinkubasi pada waktu inkubasi, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm.

d. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan asam galat konsentrasi 80 µg/mL dipipet 100 µL kemudian ditambahkan dengan 500 µL Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Selanjutnya campuran didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambahkan 400 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L air). Campuran tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari menit ke-0 hingga menit ke-80 dengan interval 5 menit, dilakukan replikasi 1 kali untuk larutan standar dan 3 kali untuk larutan sampel.

e. Penentuan Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan cara memipet 100 µL dari masing-masing larutan standar dan larutan sampel yang telah dipreparasi kemudian ditambahkan dengan 500 µL Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Selanjutnya campuran didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambahkan 400 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L air). Campuran lalu didiamkan pada suhu kamar selama waktu inkubasi, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih.

f. Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing larutan sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga didapatkan kandungan fenolik total yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram serbuk (mg GAE/g serbuk).

g. Analisis Data

Data hasil penetapan kadar fenolik total antara kedua varietas dibandingkan. Data yang diperoleh diolah dan dilihat distribusi data normalnya. Jika data terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji t tidak berpasangan. Perbedaan dianggap bermakna apabila nilai *sig. (2-tailed)*  $< 0,01$  dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kandungan fenolik total serbuk daun sirsak varietas lokal lebih tinggi dari pada varietas ratu dengan rata-rata kandungan fenolik total 38,478 mg GAE/g serbuk sedangkan varietas ratu memiliki rata-rata 10,401 mg GAE/g serbuk.
2. Terdapat perbedaan rerata kandungan fenolik total yang bermakna antara kelompok serbuk daun sirsak varietas lokal dan ratu, yang ditunjukkan pada uji t tidak berpasangan dengan nilai *sig. (2-tailed)* < 0,01 pada tingkat kepercayaan 99%.
3. Metode spektroskopi inframerah dekat (NIR) dan kemometrik dapat digunakan untuk mengklasifikasikan serbuk daun sirsak varietas ratu dan lokal yang berasal dari Kabupaten Jember dan Bondowoso. Model klasifikasi yang terbentuk yaitu *Linear Discriminant Analysis* (LDA) dan *Support Vector Machines* (SVM) yang memiliki hasil akurasi sebesar 100%.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian, maka peneliti dapat memberikan saran pada penelitian ini yaitu perlu dibentuk model kalibrasi dengan asal daerah sampel yang lebih luas serta perlu dilakukan penambahan variabel bebas lain (contoh: ketinggian tempat) sehingga model yang diperoleh dapat diimplementasikan ke berbagai wilayah yang lebih luas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adewole, S. O., dan E. A. C. Martins. 2006. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*. 9(3): 173-187.
- Adeyemi, D. O., O. A. Komolafe, S. O. Adewole, dan E. M. Obuotor. 2009. Antihyperlipidemic activities of *Annona muricata* (Linn). *The Internet Journal of Alternative Medicine*. 7(1): 1-9.
- Agustina, S. Prediksi Kandungan Kimia Mangga Arumanis selama Penyimpanan dengan Spektroskopi NIR. *Jurnal Teknik Pertanian*. 3(1): 57-63
- Ahmad, F. A. 2012. Analisis Penggunaan Jamu untuk Pengobatan pada Pasien di Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus Tawangmangu Tahun 2012. *Skripsi*. Depok: Program Pasca Sarjana Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
- Alfian, R., dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 73-80.
- Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker, dan Dilek Özyurt. 2007. Comparativ evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*. 12: 1496-1547.
- Artini, N. P. R., S. Wahjuni, dan W. D. Sulihingtyas. 2012. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai antioksidan pada penurunan kadar asam urat tikus wistar. *Jurnal Kimia*. 6(2): 127-137.
- Baskar, R., V. Rajeswari, dan T. Sathish Kumar. 2006. In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45: 480-485.
- Berrueta, L. A., R. M. Alonso-Salces, dan K. Héberger. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography*. 1158: 196–214.
- Blainski A., G. C. Lopes, dan J. C. P. de Mello. 2013. Application and analysis of the Folin-Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 18(6): 6852-6865.

- Cahyanta, A. N. 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Pare Metode Kompleks Kolori dengan Pengukuran Absorbansi secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5 (1): 58-6
- Camo. 2005. The Unscrambler Methods. <http://www.camo.com/downloads/U9.6%20pdf%20manual/The%20Unscrambler%20Methods.pdf> [Diakses: 24 November 2017]
- Cartika, H. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi: Kimia Farmasi*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Chang, C. W., D.A Laird, M. J Mausbach, dan C. R Hurburgh. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy principal component regression analyses of soil properties. *Soil Sci Soc Am J*. 65:480–490
- Chang, F. R., C. C. Liaw, C. Y. Lin, C. J. Chou, H. F. Chiu, dan Y. C. Wu. 2003. New adjacent bistetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. *Planta Med*. 69: 241-246.
- Coria-Tellez, A.V., E. Montalvo-Gonzalez, E. M. Yahia, dan E. N. Obledo-Vazquez. 2006. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*. 1-30.
- Damayanti, F., A. Z. Arifin, R. Soelaiman. 2010. Pengenalan citra wajah menggunakan metode *Two-Dimensional Linear Discriminant Analysis* dan *Support Vector Machine*. *Jurnal Ilmiah KURSOR*. 5(3): 147-156.
- Dai, J. dan R. J. Mumper. 2010. Plat phenolic: extraction, analysis and their antioxidant an anticancer properties. *Molecules*. 15(1): 7313-7352.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM, Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen kesehatan RI.
- Fachraniah., E. Kurniasih, dan D. V. Novilasi. 2012. Ekstraksi antioksidan dari daun kari. *Jurnal Reaksi (Journal of Science and Technology)*. 10(1): 1693-248X.

- Fatchurrozak, Suranto, dan Sugiyarto. 2013. Pengaruh Ketinggian Tempat terhadap Kandungan Vitamin C dan Zat Antioksidan Pada Buah Carica Pubescens di Dataran Tinggi Dieng. *El-Vivo*. 1(1): 24-31.
- Failasufa, N. 2011. Sintesis Senyawa 2-Fenol benzotriazol dari Benzotriazol dengan Fenol melalui Reaksi Substitusi Nukleofilik. *Skripsi*. Yogyakarta: Program Studi Kimia Universitas Negeri Yogyakarta.
- Florencea, N. T., M. Z Benoit, K. Jonass, T. Alexandrab, D. D. P. Désiréa, K. Pierrea, dan D. Théophilea. 2017. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 151: 784-790.
- Gad, H., S. H. El-Ahmady, M. I. Abou-Shoer, dan M. M. Al- Azizi. 2012. Application of chemometrics in authentication of herbal medicines: a review. *Phytochemical Analysis*. 24(1): 1-24.
- Gandjar, I. G. dan A. Rohman, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gavamukulya, Y., F. Abou-Ellella, F. Wamunyokoli, dan H. AEl-Shemy. 2014. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pac J Trop Med*. 7(1): S355-S363.
- George V. C., D. R. N. Kumar, V. Rajkumar, P. K. Suresh, dan R. A. Kumar. 2012. Quantitative assessment of the relative antineoplastic potential of the n-butanolic leaf extract of *Annona muricata* Linn. in normal and immortalized human cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 13: 966-704.
- George, V. C., D. R. N. Kumar, P. K. Suresh, R. A. Kumar. 2014. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. *J Food Sci Technol*. 52(4): 2328-2335.
- Giada, M. L. R. 2013. Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. *Intech*. 87-111.
- Ginting E., Y. Widodo, S. A. Rahayuningsih, dan M. Jusuf. 2005. Karakteristik pati beberapa varietas ubi jalar. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 24(1): 8-18.
- Gowen, A. A., C. P. O'Donnell, P. J. Cullen, dan S. E. J. Bell. 2008. Recent applications of chemical imaging to pharmaceutical process monitoring and quality control. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 69: 10-22.

- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi Kedua. Bandung: ITB.
- Hidayanti, E. D. 2017. Penentuan Kadar Fenol Total Bubuk Kopi Produksi Nasional Menggunakan Metode NIR-Kemometrik. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Ibrahim, N. S., dan M. Abdullahi. 2015. Cytotoxicity, total phenolic contents and antioxidant activity of the leaves extract of *Annona Muricata*. *ChemSearch Journal*. 6(1): 46-51.
- Karlinasari, L., M. Sabed, N. J Wistara, A. Purwanto, dan H. Wijayanto. 2012. Karakteristik spektra absorbansi NIR (*Near Infra Red*) spektroskopi kayu *Acacia Mangium* Willd. pada 3 umur berbeda. *Jurnal Ilmu Kehutanan* VI(1): 45-52.
- Khoddami, A., M. A. Wilkes, dan T. H. Robert. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molekul*. 18: 2328-2375.
- Kim, G.S., L. Zeng, F. Alali, L. L. Rogers, F. E. Wu, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihardjo. 1998. Two new mono-tetrahydrofuran ring acetogenins, anomuricin E and muricapentocin, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products* 61(4): 432-436.
- Kim, G.S., L. Zeng, F. Alali, L. L. Rogers, F. E. Wu, S. Sastrodihardjo, dan J. L. McLaughlin. 1998. Muricoreacin and murihexocin C, mono-tetrahydrofuran acetogenins, from the leaves of *Annona muricata*. *Phytochemistry*. 49(2): 565-571.
- Kohavi, R. 1995. A study of cross validation and bootsrap for accuracy estimation and model selection. *International Joint Conference on Artificial Intelligence (IJCAI)*. 14(2): 1137-1145.
- Kossouh, C., M. Moudachirou, V. Adjakidje, J. C. Chalchat, dan G. Figuérédo. 2007. Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *J. Essent. Oil Res.* 19: 307-309.
- Leboeuf, M., A. Cavé, P. K. Bhaumik, B. Mukherjee, dan R. Mukherjee. 1982. The phytochemistry of the annonaceae. *Phytochemistry*. 21(12): 2783-2813.
- Malangngi, L. P., S. Meiske, S. Jessy, dan J. E. Paendong. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 1(1): 5-10.
- Manoi, F. 2006. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Bull.Litro*. 17(1):1-5.

- Mardiana, L. dan J. Ratnasari. 2014. *Ramuan dan Khasiat Sirsak*. Depok: Penebar Swadaya.
- Marinova, D., F. Rabanova, dan M. Atanassova. 2005. Total phenolics and total flavonoid in Bulgarina fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40(3): 255-260.
- Miller, J. dan J. Miller. 2005. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Fifth ed. Harlow: Pearson Education.
- Minari, J. B., dan U. Okeke. 2014. Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 1-8.
- Muizuddin M., dan E. Zubaidah. 2015. Studi aktivitas antibakteri kefir teh daun sirsak (*Annona Muricata* Linn.) dari berbagai merk teh daun sirsak dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4): 1662-1672.
- Mulja, M. dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Mustinkaweni, A. M. 2016. Penentuan Model Klasifikasi dan Kandungan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) di Madura, Jember, dan Malang Menggunakan Metode Nir dan Kemometrik. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Nair, C. I., Jayachandran K, Shashidar S. 2008. Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotachnology*. 7: 4951-4958.
- Patil, S., M. S. Kondawar, Y. V. Pore, dan B. S. Kuchekar. 2007. Near Infra Red Spectroscopy: A Growing Technique in Material Analysis. <http://www.pharmainfo.net/reviews/near-infra-red-spectroscopy-growing-technique-materialanalysis> [Diakses: 15 November 2017].
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. 2014. Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI.
- Pranowo, H. D., I. Tahir, dan A. Widiatmoko. 2006. Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik dan Aktivitas Inhibisi Senyawa Kurkumin Pada Reaksi Etoksiresorufin O-Dealkilasi (EROD). *Indonesian Journal of Chemistry*, 7(1): 78-82.
- Prior, R. L., X. Wu, dan K. Schaich. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*. 53: 4290-4302.



- Pujimulyani, D., S. Raharjo, Y. Marsono, dan U. Santoso. 2010. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Senyawa Fenolik pada Kunir Putih (*Curcuma Manggaval.*) Segar dan setelah Blanching. *Agritech*. 30(2): 68-74
- Radi, J. 1997. *Sirsak Budidaya dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rahayu W. A, P. I. Utami, dan S. I. Fajar. 2009. Penetapan Kadar Tablet Ranitidin Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis dengan Pelarut Metanol. *Pharmacy*. 6(3):104-114
- Rappoport, Z. 2003. *The Chemistry of Phenol*. Jerusalem: John Wiley dan Sons, Ltd.
- Ratnasari, F. A. 2015. Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Spektroskopi NIR dan Kemometrik. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Reich, G. 2005. Near-Infrared Spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical application. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 57. 1109-1143.
- Retnani V. 2011. Pengaruh suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus sprague dawley yang diinduksi 7,12- dimetilbenz(a)antrasena (DMBA). *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Ritz, M., L. Vaculíková, dan E. Plevová. 2011. Application of infrared spectroscopy and chemometric methods to identification of selected minerals. *Acta Geodyn. Geomater*. 8(1): 47-58.
- Roduan, M. R. M., R. A. Hamid, H. Sulaiman, dan N. Mohtarrudin. 2017. *Annona muricata* leaves extracts prevent DMBA/TPA-induced skin tumorigenesis via modulating antioxidants enzymes system in ICR mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 94: 481-488.
- Roggo, Y., P. Chalus, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmond, dan J. Nadine. 2007. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 44: 683-700.
- Salim, M., Yahya, H. Sitorus, T. Ni'mah, dan Marini. 2016. Hubungan Kandungan Hara Tanah dengan Produksi Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman Duku (*Lansium domesticum* Corr var Duku) dan Potensinya sebagai Larvasida. *Jurnal Vektor Penyakit*. 10(1): 11-18.

- Setiawan, N. 2005. *Teknik Sampling*. Bogor: Inspektorat Jendral Departemen Pendidikan Nasional Universitas Padjajaran.
- Schwanninger, M., E. Smidt, K. Bohm. 2011. *The Application of FT-IR Spectroscopy in Waste Management*. Austria: Intech Open Access Publisher.
- Singleton, V. L., dan J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Singleton, V. L., R. Orthofer, dan R. M. Lamuela-Raventós. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Stanimirova, I., B. Ustun, T. Cajka, K. Riddlelova, J. Hajslova, L. M. Buydens, dan B. Walczak. 2010. Tracing the geographical origin of honeys using the gcxgc-ms and pattern recognition techniques. *Food Chemistry*. 118: 171–176.
- Sudjijo. 2014. Mengenal Sirsak Varietas Ratu dan Lokal. <http://balitbu.litbang.pertanian.go.id/images/leaflet/mengenalirsakvarietasratudanlokal.pdf> [Diakses: 29 November 2017].
- Sumantri, I., G. P. Hermawan, dan H. Laksono. 2014. Ekstraksi daun sirsak (*Annona Muricata* L.) menggunakan pelarut etano. *Momentum*. 10(1): 34-37.
- Sun, S., J. Chen, Q. Zhou, G. Lu, dan K. Chan. 2010. Application of mid-infrared spectroscopy in the qualitycontrol of traditional Chinese medicines. *Planta Medica*. 76: 1987-1996.
- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak dan Srikaya*. Cetakan pertama. Jakarta: Penebar Swadaya.
- S´anchez-Rangel J. C , J. Benavides,a J. B. H. L CisnerosZevallos dan D. A. J Vel´azquez. 2013. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Anal. Methods*. 5: 5990-5999.
- Tursiman., P. Ardiningsih, dan R. Nofiani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dionica* Blume). *JKK*. 1(1): 45-48.
- 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 22 November 2017]

- Varmuza, K., C. Engrand, P. Filzmoser, M. Hilchenbach, J. Kissel, Kruger, J. Silen, dan M. Trieloff. 2011. Random projection for dimensionality reduction-applied to time-of-flight secondary ion mass spectrometry data. *Analytica chimica acta*. 705(1): 48-55.
- Wang, R dan Zhou, W. 2004. Stability of Tea Catachin in Bread Making Process. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52: 8224-8229.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, Dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Wu, F. E., L. Zeng, G. X. Zhao, Y. Zhang, J. T. Schwedler, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihardjo. 1995. Additional bioactive acetogenins, annomutacin and (2,4-trans and cis)-10R-annonacin-A-ones, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 58(6): 1430-1437.
- Wu, F. E., Z. M. Gu, L. Zeng, G. X. Zhao, Y. Zhang, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihardjo. 1995. Two new cytotoxic monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins, annomuricins A and B, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 58(6): 830-836.
- Wu, F. E., Z. M. Gu, L. Zeng, G. X. Zhao, Y. Zhang, J. T. Schwedler, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihardjo. 1995. Muricatocins A and B, two new bioactive monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 58(6): 902-908.
- Wu, F. E., Z. M. Gu, L. Zeng, G. X. Zhao, Y. Zhang, J. T. Schwedler, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihardjo. 1995. New bioactive monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins, annomuricin C and muricatocin C, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 58(6): 909-915.
- Yang, J., Z. Liu, B. Liu, dan Q. Zhu. 2012. Determination of *coptis chinensis*' quality by FT-NIR spectroscopy. *Health*. 4: 196-202.
- Yu, L. 2008. *Wheat Antioxidants*. New Jersey: John Wiley dan Sons, Inc.
- Yunianto, I., F. R. Yanti, dan F. Wulaningrum. 2014. Evaluasi Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) pada Sistem Respirasi Mencit (*Mus musculus*) Terpapar Asap Anti Nyamuk Bakar Sebagai Bahan Ajar Biologi SMA Kelas XI. *Jurnal Bioedukatika*. 2(2): 23-27.

Zeng L., F. E. Wu, N. H. Oberlies, J. L. McLaughlin, dan S. Sastrodihadjo. 1996. Five new monotetrahydrofuran ring acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 59(2): 100-108.

Zuhud, E. 2011. *Bukti Kedasyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka.



**LAMPIRAN****LAMPIRAN A. ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN**1. Sampel *Training Set* dan *Test Set*

## 2. Instrumen yang digunakan



Spektrofotometer UV-VIS

NIR

## 3. Foto penentuan kandungan fenolik total

Sampel + Folin-  
CiocalteuSampel + Folin-  
Ciocalteu + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
(sebelum inkubasi)Sampel + Folin-  
Ciocalteu + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
(setelah inkubasi)

**B. IDENTITAS SAMPEL SERBUK**1. Sampel *Training Set*

<b>Kode</b>	<b>Varietas</b>	<b>Asal</b>	<b>mdpl</b>
RJ1	Ratu	SD Muhamadiyah 1 Jember	113 m
RJ2	Ratu	PT Perkebunan Nusantara XXII andongsari ambulu	19 m
RJ3	Ratu	PT Perkebunan Nusantara XXII andongsari ambulu	19 m
RJ4	Ratu	PT Perkebunan Nusantara XXII andongsari ambulu	19 m
RJ5	Ratu	Taman Merubetiri Andongrejo Jember (Bu Sri Sularsih/ 08230956663) Jalan	54 m
RB1	Ratu	Trunojoyo 200 Rt 6 Rw 2 Sumberkalong, Wonosari, Bondowoso (Bu Sri Sularsih/ 08230956663) Jalan	241 m
RB2	Ratu	Trunojoyo 200 Rt 6 Rw 2 Sumberkalong, Wonosari, Bondowoso	241 m
RB3	Ratu	Perumahan Arta Karya, Nangkaan, Bondowoso (Bu Astilah/ 081217772633 ) Jalan	269 m
RB4	Ratu	Situbondo Rt 4 Rw 11 Kalitapen, Tapen, Bondowoso (Bu Astilah/ 081217772633 ) Jalan	199 m
RB5	Ratu	Situbondo Rt 4 Rw 11 Kalitapen, Tapen, Bondowoso	199 m
LJ1	Lokal	Area kampus Unej	99 m
LJ2	Lokal	Jalan Raya Rembangan	433 m
LJ3	Lokal	Jalan Raya Rembangan	433 m
LJ4	Lokal	Jalan Raya Rembangan	433 m
LJ5	Lokal	Jalan Raya Rembangan	433 m
LB1	Lokal	(Pak Supandi) Desa Solor Rt 8 Rw 2 Kecamatan Cermee Bondowoso	792 m
LB2	Lokal	(Pak Surito) Desa Solor Rt 1 Rw 1 Kecamatan Cermee Bondowoso	792 m
LB3	Lokal	(Om Tono) Desa Sumbersuko Rt 3 Rw 1 Kecamatan Curahdami Bondowoso	313 m
LB4	Lokal	(Pak Abas) Desa Sumbersuko Rt 1 Rw 1 Kecamatan Curahdami Bondowoso	313m
LB5	Lokal	(Mas Sun) Desa Petung Rt 2 Rw 1 Kecamatan Curahdami Bondowoso	295 m

2. Sampel *Test Set*

<b>Nama sampel</b>	<b>Asal</b>	<b>mdpl</b>
<i>Test set</i> Ratu BWS	Desa Pakuniran, Kecamatan Maesan, Kabupaten Bondowoso No.14	333 m
<i>Test set</i> Lokal BWS	Dusun Gedangan Rt.28 Rw.03 Desa Suger Lor Maesan Bondowoso	306 m
<i>Test set</i> Ratu JBR	PT Perkebunan Nusantara XXII andongsari ambulu	19 m
<i>Test set</i> Lokal JBR	SD Muhammadiyah 1 Jember	113 m

## 3. Sampel Nyata

<b>Nama sampel</b>	<b>Asal</b>	<b>mdpl</b>
Lokal Malang	Kota Batu	884 m
Lokal Ngawi	Desa Jatigembol Rt.01 Rw. 03, Kecamatan Kedunggalar, Kabupaten Ngawi	88 m

**LAMPIRAN C. Perhitungan Penetapan Kadar Air *Training set* dan *Tes set***

## 1. Contoh Perhitungan Kadar Air

- Bobot vial kosong= 17,3866 gram
- Bobot vial + serbuk= 18,3954 gram
- Bobot setelah dipanaskan 1 jam suhu 105<sup>0</sup>C= 18,3629 gram
- Bobot setelah dipanaskan 30 menit suhu 105<sup>0</sup>C= 18,3599 gram
- Bobot setelah dipanaskan 30 menit suhu 105<sup>0</sup>C= 18,3595 gram
- Bobot sampel awal= (berat vial + serbuk) – bobot vial kosong
 
$$= 18,3954 - 17,3866$$

$$= 1,0088 \text{ gram}$$
- Bobot sampel sesudah dikeringkan = bobot setelah dipanaskan – bobot vial kosong
 
$$= 18,3595 - 17,3866$$

$$= 0,9729 \text{ gram}$$

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

Keterangan :

A = bobot sampel awal (g)

B = bobot sampel sesudah dikeringkan (g)

- Kadar Air (%) =  $\frac{1,0088 - 0,9729}{1,0088} \times 100 \%$ 

$$= 3,5586\%$$

$$= 3,56\%$$

2. Hasil Penetapan kadar air *Training set* dan *Test set*a. Hasil penetapan kadar air *Training set*

No.	Kode	Kadar Air			Rata- rata	RSD(%)
		Rep 1	Rep 2	Rep 3		
1.	RB1	3,56%	3,46%	3,57%	3,53%	1,723
2.	RB2	4,04%	4,07%	4,10%	4,07%	0,737
3.	RB3	4,39%	4,27%	4,26%	4,31%	1,680
4.	RB4	3,89%	3,84%	3,83%	3,85%	0,834
5.	RB5	3,62%	3,71%	3,79%	3,71%	2,294
6.	RJ1	3,99%	3,83%	4,02%	3,95%	2,588



7.	RJ2	3,34%	3,33%	3,46%	3,38%	2,142
8.	RJ3	3,88%	3,70%	3,72%	3,77%	2,619
9.	RJ4	3,83%	3,63%	3,81%	3,76%	2,932
10.	RJ5	3,86%	3,76%	3,94%	3,85%	2,340
11.	LB1	4,63%	4,83%	4,79%	4,75%	2,228
12.	LB2	4,49%	4,57%	4,46%	4,51%	1,262
13.	LB3	4,43%	4,28%	4,33%	4,35%	1,757
14.	LB4	3,99%	4,10%	3,97%	4,02%	1,741
15.	LB5	4,64%	4,60%	4,54%	4,59%	1,096
16.	LJ1	4,94%	4,79%	4,86%	4,86%	1,543
17.	LJ2	3,84%	3,92%	3,91%	3,89%	1,121
18.	LJ3	4,78%	4,81%	4,94%	4,84%	1,756
19.	LJ4	4,55%	4,64%	4,60%	4,60%	0,981
20.	LJ5	4,62%	4,57%	4,78%	4,66%	2,356

b. Hasil penetapan kadar air *Test set*

No.	Kode	Kadar Air			Rata-rata	RSD (%)
		Rep 1	Rep 2	Rep 3		
1.	<i>Test set</i> Ratu BWS	4,39%	4,46%	4,72%	4,52%	1,840
2.	<i>Test set</i> Ratu JBR	3,54%	3,67%	3,70%	3,64%	2,339
3.	<i>Test set</i> Lokal BWS	4,50%	4,37%	4,56%	4,48%	2,170
4.	<i>Test set</i> Lokal JBR	4,62%	4,84%	4,83%	4,76%	2,608





b. Panjang gelombang dan absorbansi reagen

01-2800 Spektrofotometer

Serial No: 570010  
 Rm: 000000  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

WaveLength: 660  
 Date: 2010-11-04  
 Time: 10:00:00  
 Scan: 100  
 Path: Change WaveLength: 660 nm

Wavelength (nm)	Absorbance
340	0.000
345	0.000
350	0.000
355	0.000
360	0.000
365	0.000
370	0.000
375	0.000
380	0.000
385	0.000
390	0.000
395	0.000
400	0.000
405	0.000
410	0.000
415	0.000
420	0.000
425	0.000
430	0.000
435	0.000
440	0.000
445	0.000
450	0.000
455	0.000
460	0.000
465	0.000
470	0.000
475	0.000
480	0.000
485	0.000
490	0.000
495	0.000
500	0.000
505	0.000
510	0.000
515	0.000
520	0.000
525	0.000
530	0.000
535	0.000
540	0.000
545	0.000
550	0.000
555	0.000
560	0.000
565	0.000
570	0.000
575	0.000
580	0.000
585	0.000
590	0.000
595	0.000
600	0.000
605	0.000
610	0.000
615	0.000
620	0.000
625	0.000
630	0.000
635	0.000
640	0.000
645	0.000
650	0.000
655	0.000
660	0.000
665	0.000
670	0.000
675	0.000
680	0.000
685	0.000
690	0.000
695	0.000
700	0.000
705	0.000
710	0.000
715	0.000
720	0.000
725	0.000
730	0.000
735	0.000
740	0.000
745	0.000
750	0.000
755	0.000
760	0.000
765	0.000
770	0.000
775	0.000
780	0.000
785	0.000
790	0.000
795	0.000
800	0.000
805	0.000
810	0.000
815	0.000
820	0.000
825	0.000
830	0.000
835	0.000
840	0.000
845	0.000
850	0.000
855	0.000
860	0.000
865	0.000
870	0.000
875	0.000
880	0.000
885	0.000
890	0.000
895	0.000
900	0.000
905	0.000
910	0.000
915	0.000
920	0.000
925	0.000
930	0.000
935	0.000
940	0.000
945	0.000
950	0.000
955	0.000
960	0.000
965	0.000
970	0.000
975	0.000
980	0.000
985	0.000
990	0.000
995	0.000
1000	0.000



**LAMPIRAN E. Hasil Absorbansi dan Tabel Penentuan Waktu Inkubasi**

Menit	Asam Galat	Varietas Lokal			Varietas Ratu		
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3
0	0,684	0,460	0,451	0,434	0,074	0,069	0,072
5	0,708	0,509	0,516	0,521	0,107	0,100	0,106
10	0,733	0,535	0,523	0,562	0,118	0,113	0,109
15	0,759	0,556	0,527	0,568	0,125	0,122	0,127
20	0,782	0,570	0,573	0,583	0,132	0,141	0,137
25	0,796	0,583	0,578	0,585	0,137	0,129	0,130
30	0,801	0,596	0,586	0,567	0,142	0,140	0,148
35	0,804	0,608	0,597	0,587	0,147	0,145	0,145
40	0,807	0,618	0,612	0,599	0,151	0,145	0,142
45	0,810	0,631	0,616	0,638	0,155	0,154	0,159
50	0,814	0,642	0,638	0,645	0,158	0,153	0,150
55	0,816	0,654	0,641	0,657	0,161	0,158	0,158
60	0,818	0,666	0,655	0,659	0,162	0,159	0,168
65	0,819	0,677	0,659	0,669	0,163	0,159	0,169
70	0,819	0,688	0,682	0,677	0,164	0,162	0,169
75	-	0,697	0,696	0,681	0,165	0,169	0,17
80	-	0,702	0,725	0,691	0,166	0,172	0,173
85	-	0,704	0,725	0,691	0,166	0,175	0,174
90	-	0,705	0,725	0,692	0,166	0,176	0,174
95	-	0,706	0,726	0,692	0,166	0,177	0,174
100	-	0,706	0,726	0,693	0,166	0,177	0,175

Varietas Lokal					
Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	SD	RSD (%)
0,460	0,451	0,434	0,448	0,013	2,945
0,509	0,516	0,521	0,515	0,006	1,170
0,535	0,523	0,562	0,540	0,020	3,699
0,556	0,527	0,568	0,550	0,021	3,830
0,570	0,573	0,583	0,575	0,007	1,183
0,583	0,578	0,585	0,582	0,004	0,620
0,596	0,586	0,567	0,583	0,015	2,527
0,608	0,597	0,587	0,597	0,011	1,758
0,618	0,612	0,599	0,610	0,010	1,593
0,631	0,616	0,638	0,628	0,011	1,789
0,642	0,638	0,645	0,642	0,004	0,547
0,654	0,641	0,657	0,651	0,009	1,307

0,666	0,655	0,659	0,660	0,006	0,844
0,677	0,659	0,669	0,668	0,009	1,349
0,688	0,682	0,677	0,682	0,006	0,807
0,697	0,696	0,681	0,691	0,009	1,296
0,702	0,725	0,691	0,706	0,017	2,457
0,704	0,725	0,691	0,707	0,017	2,428
0,705	0,725	0,692	0,707	0,017	2,350
0,706	0,726	0,692	0,708	0,017	2,414
0,706	0,726	0,693	0,708	0,017	2,347

---

**Varietas Ratu**

---

<b>Rep 1</b>	<b>Rep 2</b>	<b>Rep 3</b>	<b>Rata-rata</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
0,074	0,069	0,072	0,072	0,003	3,512
0,107	0,100	0,106	0,104	0,004	3,629
0,118	0,113	0,109	0,113	0,005	3,979
0,125	0,122	0,127	0,125	0,003	2,019
0,132	0,141	0,137	0,137	0,005	3,299
0,137	0,129	0,130	0,132	0,004	3,302
0,142	0,140	0,148	0,143	0,004	2,905
0,147	0,145	0,145	0,146	0,001	0,793
0,151	0,145	0,142	0,146	0,005	3,139
0,155	0,154	0,159	0,156	0,003	1,696
0,158	0,153	0,150	0,154	0,004	2,630
0,161	0,158	0,158	0,159	0,002	1,089
0,162	0,159	0,168	0,163	0,005	2,811
0,163	0,159	0,169	0,164	0,005	3,075
0,164	0,162	0,169	0,165	0,004	2,185
0,165	0,169	0,170	0,168	0,003	1,575
0,166	0,175	0,174	0,172	0,005	2,874
0,166	0,175	0,174	0,172	0,005	2,874
0,166	0,176	0,174	0,172	0,005	3,076
0,166	0,177	0,174	0,172	0,006	3,300
0,166	0,177	0,175	0,173	0,006	3,394

**LAMPIRAN F. Pembuatan Larutan pada Penentuan Kandungan Fenolik****Total**

## 1. Pembuatan Larutan dan Hasil Absorbansi Standar Asam Galat

## • Larutan Induk

$$1) \text{ Larutan induk 1} = \frac{20,4 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 816 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$2) \text{ Larutan induk 2} = \frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1004 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## • Pengenceran Larutan Induk

$$1) \frac{50 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$2) \frac{100 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 816 \text{ } \mu\text{g/ml} = 8,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$3) \frac{200 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$4) \frac{300 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,12 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$5) \frac{500 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$6) \frac{1000 \text{ } \mu\text{l}}{10.000 \text{ } \mu\text{l}} \times 816 \text{ } \mu\text{g/ml} = 81,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$$



Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Faktor Pengenceran	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi
5,02	10	0,502	0,120
8,16	10	0,816	0,137
20,08	10	2,008	0,222
30,12	10	3,012	0,332



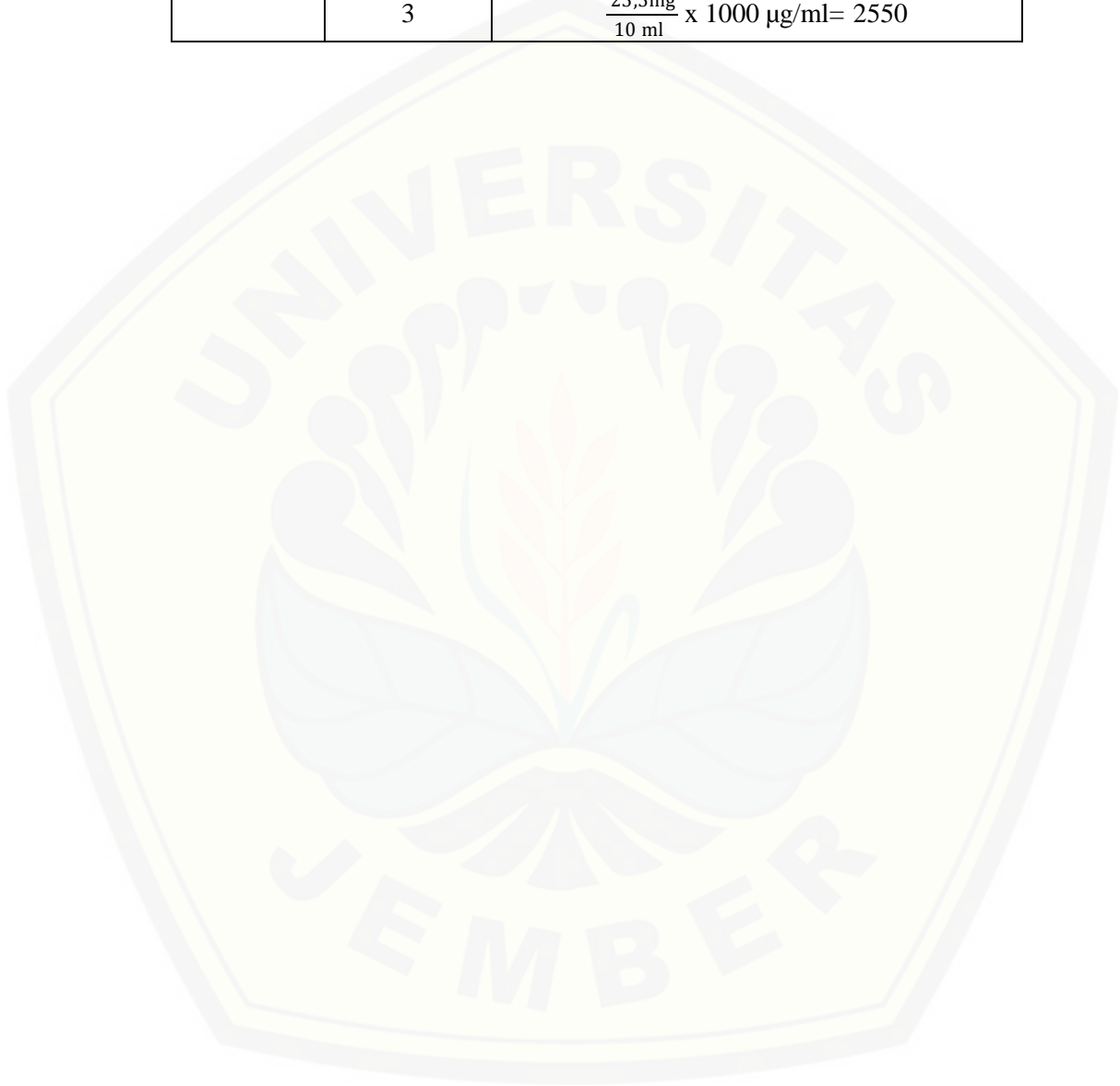
50,20	10	5,020	0,529
81,60	10	8,160	0,774

## 2. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel

Kode Sampel	Replikasi	Pembuatan Larutan Uji ( $\mu\text{g/ml}$ )
RJ1	1	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	2	$\frac{25,0\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2500$
	3	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
RJ2	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
RJ3	1	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
	2	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	3	$\frac{25,2\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520$
RJ4	1	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
	2	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	3	$\frac{25,1\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510$
RJ5	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
RB1	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,7\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2570$
RB2	1	$\frac{25,2\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520$
	2	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
	3	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
RB3	1	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	2	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
	3	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
RB4	1	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$

	2	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
	3	$\frac{25,7\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2570$
RB5	1	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
LJ1	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,1\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510$
LJ2	1	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	2	$\frac{25,7\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2570$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
LJ3	1	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
	2	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	3	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
LJ4	1	$\frac{25,2\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520$
	2	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
LJ5	1	$\frac{25,2\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520$
	2	$\frac{25,1\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510$
	3	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
LB1	1	$\frac{25,\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2520$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
LB2	1	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
	2	$\frac{25,6\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2560$
	3	$\frac{25,7\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2570$
LB3	1	$\frac{25,1\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2510$
	2	$\frac{25,3\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2530$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$
LB4	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$

	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
LB5	1	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	2	$\frac{25,4\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2540$
	3	$\frac{25,5\text{mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2550$



### LAMPIRAN G. Hasil Penentuan Kandungan Fenolik Total Sampel *Training set* dengan Spektroskopi UV-Vis

#### 1. Contoh Perhitungan

Persamaan:  $Y = 0,0877x + 0,0669$

Ratu BWS 1 Replikasi 1

$$0,125 = 0,0877x + 0,0669$$

$$\begin{aligned} x &= 0,6624857 \text{ ppm} \\ &= 0,6624857 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,6624857 \text{ ng}/\mu\text{l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dikuvet } 1000 \mu\text{l} &= 0,662486 \text{ ng} \times 1000 \\ &= 662,4857 \text{ ng} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Karena ada preparasi pengenceran } 2x \text{ dan dikuvet } 10x \text{ maka} \\ &= 20 \times 662,4857 \text{ ng} \\ &= 13249,715 \text{ ng} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dalam labu ukur } 10 \text{ ml} &= 13249,715 \text{ ng} \times 10 \\ &= 132497,15 \text{ ng} \\ &= 0,13249715 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kandungan Fenolik total} &= \frac{0,13249715 \text{ mg}}{25,4 \text{ mg}} \\ &= \frac{0,13249715 \text{ mg}}{25,4:1000 \text{ g}} \\ &= 5,216 \text{ mg GAE/g serbuk} \end{aligned}$$

#### 2. Hasil penentuan kandungan fenolik total

Kode Sampel	Absorbansi	Kandungan Mg GAE/g Serbuk	Rata-rata (mg GAE/g Serbuk)	SD	RSD (%)
RJ1	0,202	12,178	12,076	0,226	1,869
	0,201	12,233			
	0,198	11,817			
RJ2	0,123	5,037	5,150	0,126	2,444
	0,124	5,127			
	0,126	5,285			
RJ3	0,185	10,645	10,750	0,263	2,449
	0,184	10,555			
	0,189	11,050			
RJ4	0,177	9,846	9,955	0,094	0,944
	0,178	10,014			
	0,177	10,003			
RJ5	0,120	4,768	4,887	0,104	2,121
	0,122	4,947			

	0,122	4,947			
RB1	0,125	5,216	5,196	0,121	2,327
	0,126	5,306			
	0,124	5,067			
RB2	0,259	17,384	17,470	0,235	1,344
	0,261	17,291			
	0,266	17,736			
RB3	0,308	21,732	21,741	0,356	1,639
	0,307	21,389			
	0,315	22,101			
RB4	0,171	9,383	9,500	0,159	1,672
	0,172	9,436			
	0,176	9,681			
RB5	0,146	7,130	7,281	0,167	2,298
	0,150	7,461			
	0,148	7,253			
LJ1	0,486	37,628	37,447	0,237	0,632
	0,481	37,179			
	0,480	37,533			
LJ2	0,551	43,636	43,325	0,343	0,792
	0,551	42,957			
	0,552	43,383			
LJ3	0,662	53,013	52,621	0,838	1,593
	0,64	51,658			
	0,664	53,191			
LJ4	0,446	34,307	34,067	0,248	0,729
	0,442	33,811			
	0,448	34,082			
LJ5	0,553	42,180	43,551	1,164	2,672
	0,561	44,892			
	0,549	42,946			
LB1	0,424	32,316	32,271	0,040	0,123
	0,426	32,241			
	0,429	32,257			
LB2	0,669	53,847	54,583	1,462	2,678
	0,669	53,636			
	0,701	56,267			
LB3	0,415	31,627	30,900	0,664	2,149
	0,408	30,764			
	0,406	30,326			
LB4	0,429	32,511	32,960	0,391	1,187

	0,436	33,139			
	0,437	33,229			
LB5	0,323	22,994	23,054	0,363	1,573
	0,328	23,442			
	0,321	22,725			

3. Perhitungan rata-rata kandungan fenolik total kedua varietas serbuk daun sirsak

a. Rata-rata kandungan fenolik varietas lokal

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah kandungan fenolik}}{\text{jumlah sampel}} \\
 &= \frac{32,271+54,583+30,900+23,054+32,960+43,325+37,447+52,621+34,067+43,551}{10} \\
 &= 38,478 \text{ mg GAE/g serbuk}
 \end{aligned}$$

b. Rata-rata kandungan fenolik varietas ratu

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah kandungan fenolik}}{\text{jumlah sampel}} \\
 &= \frac{5,196+17,470+21,741+9,500+7,281+12,076+5,150+10,750+9,955+4,887}{10} \\
 &= 10,401 \text{ mg GAE/g serbuk}
 \end{aligned}$$

## Lampiran H. Hasil Uji Normalitas dan Uji T Tidak Berpasangan

### 1. Hasil Uji Normalitas

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
VARIETAS LOKAL	10	100.0%	0	.0%	10	100.0%
VARIETAS RATU	10	100.0%	0	.0%	10	100.0%

#### Descriptives

		Statistic	Std. Error	
VARIETAS LOKAL	Mean	3.8396E1	3.145907	
	99% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.8173E1	
		Upper Bound	4.8620E1	
	5% Trimmed Mean	3.8361E1		
	Median	3.5757E1		
	Variance	98.967		
	Std. Deviation	9.9482E0		
	Minimum	23.054		
	Maximum	54.375		
	Range	31.321		
	Interquartile Range	13.830		
	Skewness	.370	.687	
	Kurtosis	-.568	1.334	
VARIETAS RATU	Mean	1.0406E1	1.755280	
	99% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.70223	
		Upper Bound	1.6111E1	
	5% Trimmed Mean	1.0085E1		
	Median	9.72750		
	Variance	30.810		
	Std. Deviation	5.5506E0		
	Minimum	4.857		
	Maximum	21.741		
	Range	16.884		
	Interquartile Range	8.240		
	Skewness	1.077	.687	
	Kurtosis	.613	1.334	

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
VARIETAS LOKAL	.168	10	.200 <sup>*</sup>	.946	10	.619
VARIETAS RATU	.182	10	.200 <sup>*</sup>	.884	10	.144

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

**Keterangan:** Nilai *sig.* > 0,01 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

## 2. Hasil Uji T Tes Tidak Berpasangan

Group Statistics

	Varietas	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kandungan Fenolik Total	Varietas Lokal	10	3.8477E1	9.963517	3.150741
	Varietas Ratu	10	1.0400E1	5.550857	1.755335

Independent Samples Test

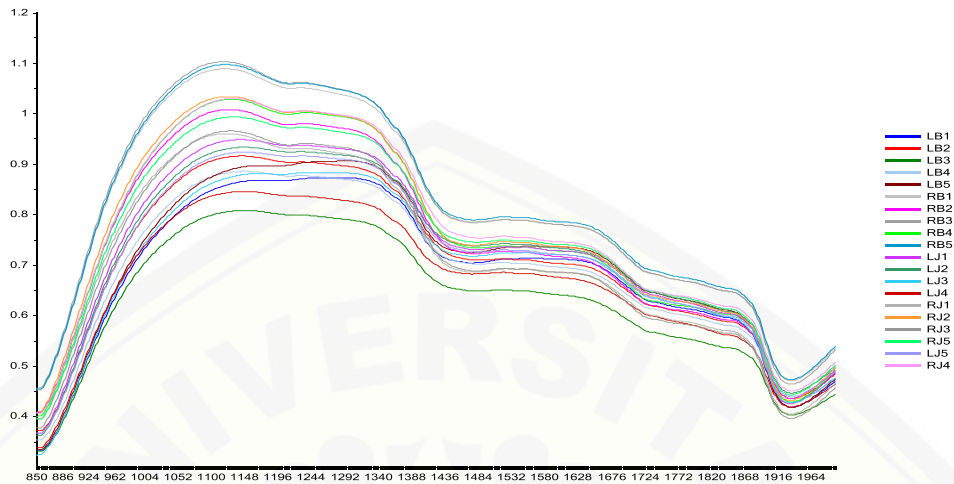
		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kandungan Fenolik Total	Equal variances assumed	3.912	.001	7.705	18	.000	28.077300	3.686712	17.695985	38.458605
	Equal variances not assumed			7.705	14.098	.000	28.077300	3.686712	17.351888	38.802732

**Keterangan:** Nilai *sig. (2-tailed)* < 0,01 menunjukkan terdapat perbedaan rerata kandungan fenolik total yang bermakna antara kelompok varietas ratu dan lokal, dimana kandungan fenolik total varietas lokal lebih tinggi dari pada varietas ratu.

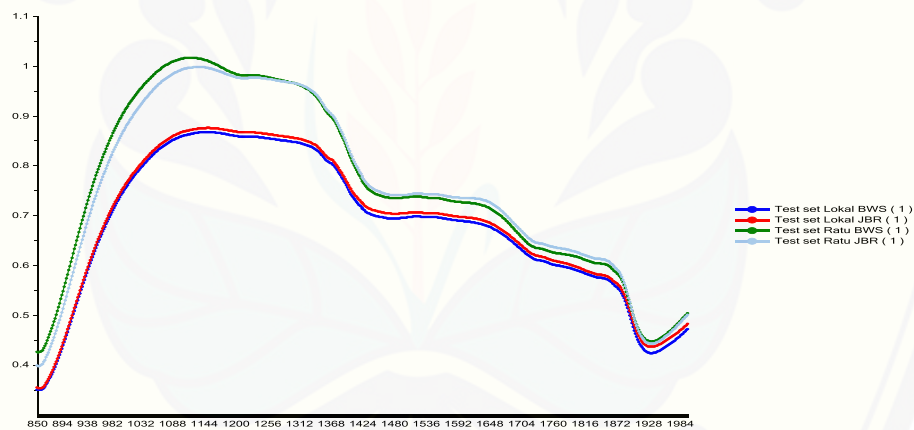


**LAMPIRAN I. Spektrum Hasil Scanning dengan NIR**

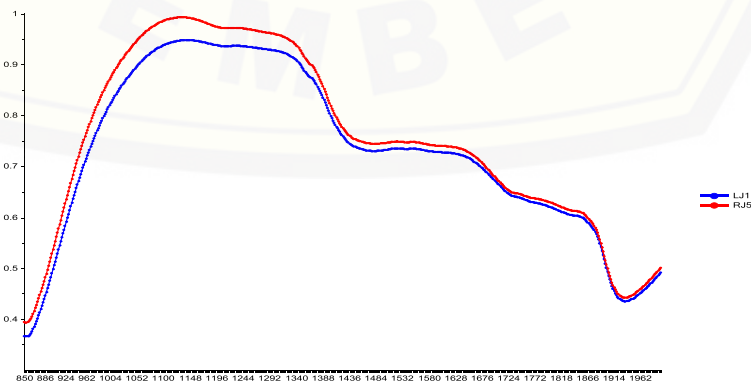
**1. Spektrum Training set**



**2. Spektrum Test set**



**3. Contoh spektrum varietas ratu dan lokal**

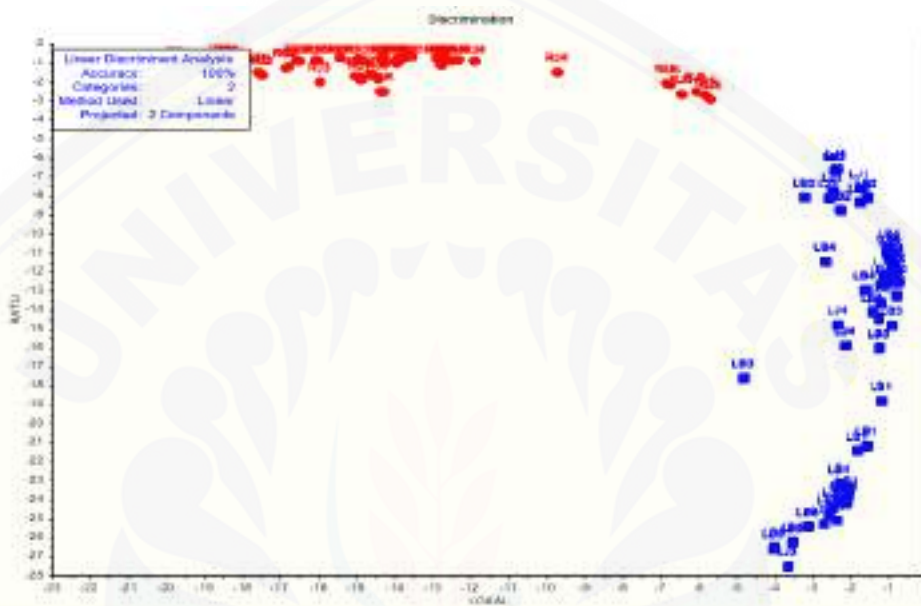


## J. DATA KEMOMETRIK DAN PERHITUNGAN KEMAMPUAN PENGENALAN

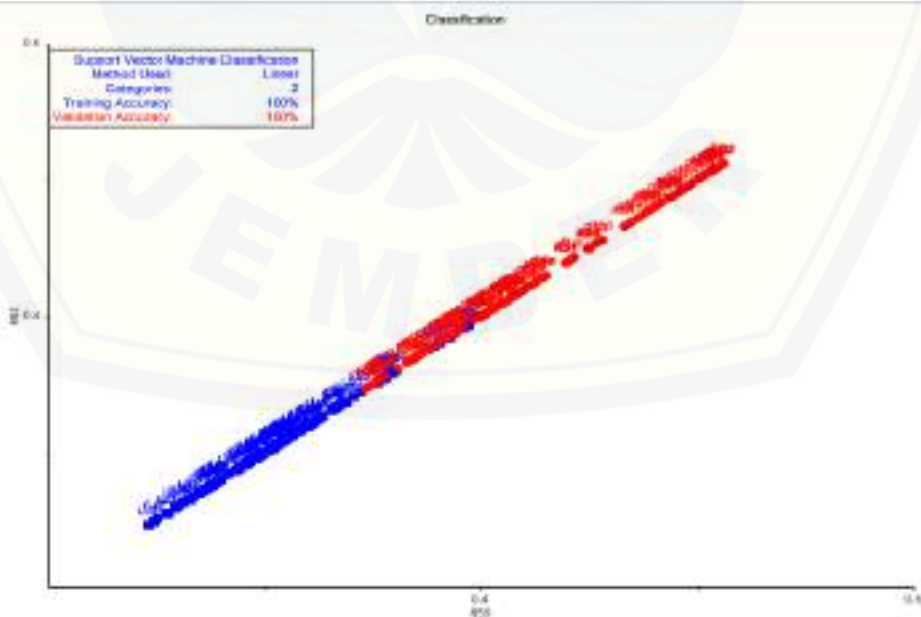
Kemampuan pengenalan= % pengenalan

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

### 1. Pemetaan sampel *Training Set* LDA



### 2. Pemetaan sampel *Training Set* SVM







**LAMPIRAN K. DATA KEMOMETRIK DAN PERHITUNGAN KEMAMPUAN KEMAMPUAN PREDIKSI**

Kemampuan prediksi= % prediksi

$$\frac{\sum \text{sampel test set yang diprediksi dengan benar}}{\sum \text{total sampel test set yang digunakan}} \times 100\%$$

1. Tabel Prediksi Sampel Test Set LDA

ZakalD6	ID	LDA		RATU	Zclass				
		1	2						
Test set Lokal BWS (1)	1	-1.4079	-14.5370	LOKAL	Test set Rata BWS (1)	31	-14.8529	-8.7945	RATU
Test set Lokal BWS (2)	2	-1.4259	-14.4946	LOKAL	Test set Rata BWS (2)	32	-14.8782	-8.7952	RATU
Test set Lokal BWS (3)	3	-1.4276	-14.4862	LOKAL	Test set Rata BWS (3)	33	-14.7999	-8.7932	RATU
Test set Lokal BWS (4)	4	-0.8378	-11.8962	LOKAL	Test set Rata BWS (4)	34	-17.8671	-1.6407	RATU
Test set Lokal BWS (5)	5	-0.8379	-11.8979	LOKAL	Test set Rata BWS (5)	35	-17.8482	-1.6402	RATU
Test set Lokal BWS (6)	6	-0.8396	-11.8167	LOKAL	Test set Rata BWS (6)	36	-17.8149	-1.6404	RATU
Test set Lokal BWS (7)	7	-0.8637	-14.2567	LOKAL	Test set Rata BWS (7)	37	-16.8783	-2.0844	RATU
Test set Lokal BWS (8)	8	-0.8680	-14.2069	LOKAL	Test set Rata BWS (8)	38	-16.8681	-2.0862	RATU
Test set Lokal BWS (9)	9	-0.8781	-14.2762	LOKAL	Test set Rata BWS (9)	39	-16.8681	-2.0862	RATU
Test set Lokal BWS (10)	10	-3.5897	-15.2713	LOKAL	Test set Rata BWS (10)	40	-16.8098	-1.8867	RATU
Test set Lokal BWS (11)	11	-3.6185	-15.3615	LOKAL	Test set Rata BWS (11)	41	-16.8288	-1.8864	RATU
Test set Lokal BWS (12)	12	-3.5980	-15.3969	LOKAL	Test set Rata BWS (12)	42	-16.8687	-1.8902	RATU
Test set Lokal BWS (13)	13	-1.2431	-12.4912	LOKAL	Test set Rata BWS (13)	43	-16.2987	-6.7826	RATU
Test set Lokal BWS (14)	14	-1.0481	-12.5006	LOKAL	Test set Rata BWS (14)	44	-16.3386	-6.7954	RATU
Test set Lokal BWS (15)	15	-1.0444	-12.4973	LOKAL	Test set Rata BWS (15)	45	-16.3685	-6.7965	RATU
Test set Lokal BFR (16)	16	-1.0735	-15.8928	LOKAL	Test set Rata BFR (1)	46	-6.8423	-2.3827	RATU
Test set Lokal BFR (17)	17	-1.0779	-15.1164	LOKAL	Test set Rata BFR (2)	47	-6.8476	-2.3867	RATU
Test set Lokal BFR (18)	18	-1.0780	-15.6726	LOKAL	Test set Rata BFR (3)	48	-6.8317	-2.3810	RATU
Test set Lokal BFR (19)	19	-1.7003	-16.6671	LOKAL	Test set Rata BFR (18)	49	-7.7082	-2.1710	RATU
Test set Lokal BFR (20)	20	-1.7010	-16.6340	LOKAL	Test set Rata BFR (19)	50	-7.7586	-2.1803	RATU
Test set Lokal BFR (21)	21	-1.7084	-16.6342	LOKAL	Test set Rata BFR (20)	51	-7.7479	-2.1710	RATU
Test set Lokal BFR (22)	22	-2.5712	-19.3712	LOKAL	Test set Rata BFR (21)	52	-7.2644	-2.2844	RATU
Test set Lokal BFR (23)	23	-2.5866	-19.4176	LOKAL	Test set Rata BFR (22)	53	-7.2534	-2.2825	RATU
Test set Lokal BFR (24)	24	-2.2864	-19.4601	LOKAL	Test set Rata BFR (23)	54	-7.1812	-2.2874	RATU
Test set Lokal BFR (25)	25	-1.9539	-15.2946	LOKAL	Test set Rata BFR (24)	55	-7.9826	-2.0852	RATU
Test set Lokal BFR (26)	26	-1.9581	-15.3046	LOKAL	Test set Rata BFR (25)	56	-6.8280	-2.0520	RATU
Test set Lokal BFR (27)	27	-1.8543	-15.2905	LOKAL	Test set Rata BFR (26)	57	-7.8644	-2.0745	RATU
Test set Lokal BFR (28)	28	-2.6480	-16.2430	LOKAL	Test set Rata BFR (27)	58	-6.7820	-2.1738	RATU
Test set Lokal BFR (29)	29	-2.6581	-16.2000	LOKAL	Test set Rata BFR (28)	59	-6.7940	-2.1740	RATU
Test set Lokal BFR (30)	30	-2.6684	-16.2149	LOKAL	Test set Rata BFR (29)	60	-6.8965	-2.2825	RATU

$$\% \text{ Prediksi} = \frac{60}{60} \times 100\% = 100\%$$

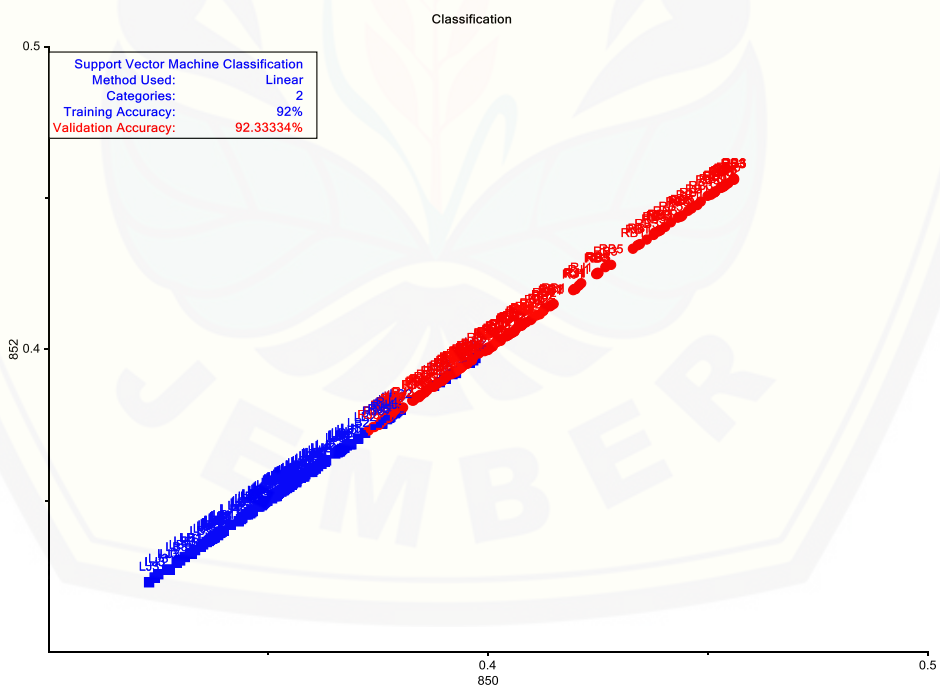
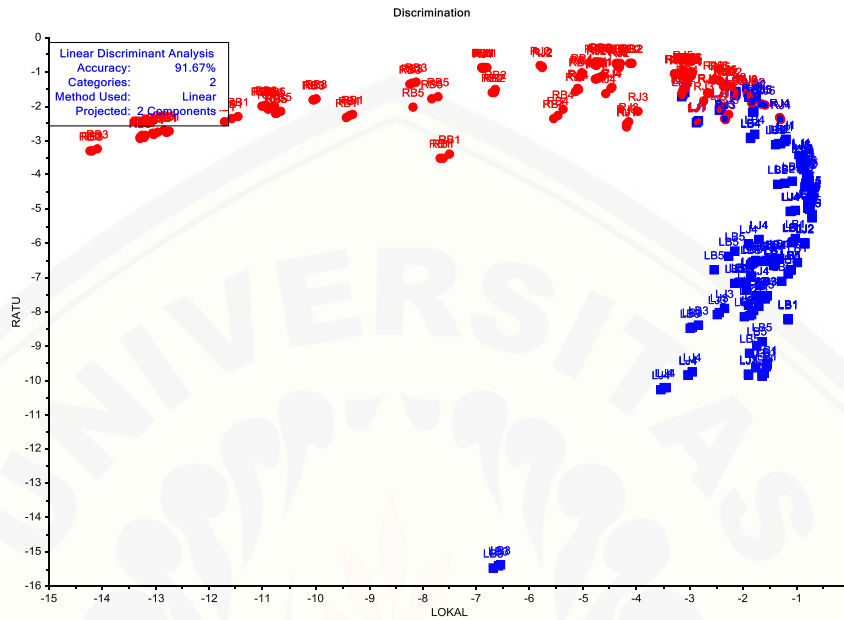
2. Tabel Prediksi Sampel Test Set SVM

Zakal SVM	ID	LDA	RATU	Zclass	
					Test set Lokal BWS (1)
Test set Lokal BWS (2)	2	LOKAL	Test set Rata BWS (2)	32	RATU
Test set Lokal BWS (3)	3	LOKAL	Test set Rata BWS (3)	33	RATU
Test set Lokal BWS (4)	4	LOKAL	Test set Rata BWS (4)	34	RATU
Test set Lokal BWS (5)	5	LOKAL	Test set Rata BWS (5)	35	RATU
Test set Lokal BWS (6)	6	LOKAL	Test set Rata BWS (6)	36	RATU
Test set Lokal BWS (7)	7	LOKAL	Test set Rata BWS (7)	37	RATU
Test set Lokal BWS (8)	8	LOKAL	Test set Rata BWS (8)	38	RATU
Test set Lokal BWS (9)	9	LOKAL	Test set Rata BWS (9)	39	RATU
Test set Lokal BWS (10)	10	LOKAL	Test set Rata BWS (10)	40	RATU
Test set Lokal BWS (11)	11	LOKAL	Test set Rata BWS (11)	41	RATU
Test set Lokal BWS (12)	12	LOKAL	Test set Rata BWS (12)	42	RATU
Test set Lokal BWS (13)	13	LOKAL	Test set Rata BWS (13)	43	RATU
Test set Lokal BWS (14)	14	LOKAL	Test set Rata BWS (14)	44	RATU
Test set Lokal BWS (15)	15	LOKAL	Test set Rata BWS (15)	45	RATU
Test set Lokal BFR (16)	16	LOKAL	Test set Rata BFR (1)	46	RATU
Test set Lokal BFR (17)	17	LOKAL	Test set Rata BFR (2)	47	RATU
Test set Lokal BFR (18)	18	LOKAL	Test set Rata BFR (3)	48	RATU
Test set Lokal BFR (19)	19	LOKAL	Test set Rata BFR (18)	49	RATU
Test set Lokal BFR (20)	20	LOKAL	Test set Rata BFR (19)	50	RATU
Test set Lokal BFR (21)	21	LOKAL	Test set Rata BFR (20)	51	RATU
Test set Lokal BFR (22)	22	LOKAL	Test set Rata BFR (21)	52	RATU
Test set Lokal BFR (23)	23	LOKAL	Test set Rata BFR (22)	53	RATU
Test set Lokal BFR (24)	24	LOKAL	Test set Rata BFR (23)	54	RATU
Test set Lokal BFR (25)	25	LOKAL	Test set Rata BFR (24)	55	RATU
Test set Lokal BFR (26)	26	LOKAL	Test set Rata BFR (25)	56	RATU
Test set Lokal BFR (27)	27	LOKAL	Test set Rata BFR (26)	57	RATU
Test set Lokal BFR (28)	28	LOKAL	Test set Rata BFR (27)	58	RATU
Test set Lokal BFR (29)	29	LOKAL	Test set Rata BFR (28)	59	RATU
Test set Lokal BFR (30)	30	LOKAL	Test set Rata BFR (29)	60	RATU

$$\% \text{ Prediksi} = \frac{60}{60} \times 100\% = 100\%$$

**LAMPIRAN L. Hasil Pemetaan Model LDA dan SVM pada Panjang Gelombang Tertentu (Panjang Gelombang Ciri Khas Senyawa Fenolik)**

a. Panjang gelombang 850-1100 nm



b. Panjang gelombang 1600-1650 nm

