

Kode/Rumpun: 404/Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal

**LAPORAN EKSEKUTIF DAN ABSTRAK  
PENELITIAN FUNDAMENTAL**



**EFISIENSI SKRINING KOMPONEN AKTIF TANAMAN OBAT DENGAN  
SPEKTROSKOPI INFRA MERAH DAN KEMOMETRIK**

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

**0014047608  
0012046905**

**Dibiayai oleh:  
Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Penelitian Pengabdian  
kepada Masyarakat Ditjen Dikti Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan  
Nomor : DIPA-023.04.1.673453/2015, tanggal 14 November 2014**

**UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## ABSTRAK

Eksplorasi dan pemanfaatan tumbuhan obat membutuhkan perencanaan dan penguasaan ilmu seperti bidang botani, farmakognosi, farmakologi, toksikologi, kimia bahan alam dan kimia analisis secara terpadu. Skrining komponen aktif tanaman obat memegang peranan penting dalam pemanfaatan tanaman obat. Beberapa peneliti merasa bahwa seleksi awal tanaman yang diteliti harus dilakukan, bukan hanya berdasarkan bukti bahwa ekstrak menimbulkan aktivitas biologis tertentu dan menarik, melainkan atas dasar bahwa bahan kimia tertentu yang ada dalam tanaman, biasanya dapat dikaitkan dengan aktivitas biologis. Metode skrining secara konvensional memiliki kendala yaitu memerlukan proses yang lama karena skrining tidak bisa simultan, menggunakan banyak pereaksi dan memerlukan biaya relatif mahal. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti mengembangkan metode baru skrining komponen aktif tanaman obat yaitu flavonoid dan total fenol dengan metode spektroskopi infra merah dan kemometrik yang lebih efisien karena skrining dilakukan secara simultan, sederhana, cepat, ekonomis dan ramah lingkungan.

Flavonoid, alkaloid dan total fenol adalah kandungan kimia yang banyak ditemukan pada tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah metode NIR dan kemometrik dapat digunakan untuk menentukan kadar flavonoid, alkaloid dan total fenol. Metode spektrofotometri UV-Vis digunakan sebagai pembanding. Flavonoid dan total fenol diekstraksi dari daun tanaman menggunakan metode ultrasonik dan maserasi. Data spektra NIR dari ekstrak daun terpilih dihubungkan dengan kadar flavonoid dan kadar total fenol menggunakan metode kemometrik. Metode kemometrik yang digunakan untuk analisis kuantitatif dan analisis kualitatif dalam penelitian ini masing-masing adalah *Partial Least Square* (PLS) dan *Linear Discriminant Analysis* (LDA).

Penentuan kadar flavonoid dengan model PLS memberikan hasil yang baik dengan nilai  $R^2$  kalibrasi sebesar 0,9916499 dan RMSEC sebesar 2,1521897. Selain itu, nilai  $R^2$  *Leave One Out Cross Validation* (LOOCV) dan  $R^2$  *2-Fold-Cross-Validation* masing-masing sebesar 0,9986664 dan 0,9823225, sedangkan model klasifikasi LDA memberikan akurasi sebesar 100%.

Penentuan kadar alkaloid dengan model PLS memberikan hasil yang baik dengan nilai  $R^2$  kalibrasi sebesar 0,9900978;  $R^2$  validasi internal sebesar 0,9894717; RMSEC sebesar 2,8693793 dan RMSECV sebesar 2,9756811, sedangkan model klasifikasi LDA yang digunakan sebagai model klasifikasi memiliki akurasi sebesar 100%.

Penentuan kadar total fenol dengan model PLS memberikan hasil yang baik dengan nilai  $R^2$  kalibrasi sebesar 0,9920369 dan RMSEC sebesar 2,0049. Selain itu, nilai  $R^2$  LOOCV dan  $R^2$  *2-Fold-Cross-Validation* masing-masing sebesar 0,99394 dan 0,98345, sedangkan model klasifikasi LDA memberikan akurasi sebesar 100%. Hasil penetapan kadar sampel yang diperoleh dari metode NIR dan spektrofotometri UV-Vis kemudian diuji dengan uji t dua sampel berpasangan dan dapat disimpulkan bahwa kadar yang diperoleh tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Kata kunci: Flavonoid, Total Fenol, Alkaloid, Tanaman Obat, Spektroskopi Infra Merah, Kemometrik

## **Latar Belakang**

Indonesia adalah salah satu Negara tropis yang kaya akan sumber daya alamnya, baik dari segi flora, fauna maupun mikroorganismenya. Indonesia memiliki sekitar 40.000 spesies tumbuhan yang tersebar di hutan-hutan tropis dari Sabang sampai Merauke. Ditinjau dari segi ilmu kimia setiap jenis tumbuhan merupakan penghasil puluhan bahkan ratusan jenis bahan kimia yang dapat digunakan sebagai sumber obat, pestisida, makanan, suplemen makanan dan sumber bahan aktif lainnya (Prashant, et al, 2011). Melihat kekayaan di atas, potensi tumbuhan hutan tropis Indonesia perlu dikembangkan karena prospek penggunaan tumbuh-tumbuhan sebagai sumber bahan bioaktif sangat menjanjikan.

Penemuan beberapa senyawa bioaktif hasil isolasi dari sumber daya alam tumbuhan tersebut menunjukkan bahwa dunia tumbuhan dapat disebut mewakili suatu wadah penyimpanan senyawa kimia baru. Dari 250.000 – 500.000 spesies tumbuhan yang terdapat di dunia ini, hanya sebagian saja yang telah diteliti secara fitokimia, pemeriksaan biologis maupun skrining secara farmakologis. Peluang untuk memanfaatkan sumber daya alami memang sangat besar dan sangat kompleks. Eksplorasi dan pemanfaatan tumbuhan obat membutuhkan perencanaan dan penguasaan ilmu seperti bidang botani, farmakognosi, farmakologi, toksikologi, kimia bahan alam dan kimia analisis secara terpadu. Oleh karena itu dibutuhkan suatu strategi dalam pencarian senyawa bioaktif baru dari tumbuhan. Hostettmann dkk. (1991) dalam tulisannya telah membuat suatu strategi pemanfaatan tanaman obat yaitu seleksi, koleksi, identifikasi tumbuhan dan preparasi materi tumbuhan, pemisahan dan ekstraksi dengan pelarut yang sesuai dengan analisis awal, skrining komponen aktif (fitokimia, biologi dan farmakologi) dari ekstrak kasar, pemisahan kromatografi konstituen bioaktif, penentuan struktur, bentuk analisis dan farmakologi senyawa murni, uji toksikologi.

Skrining komponen aktif tanaman obat memegang peranan penting dalam pemanfaatan tanaman obat. Beberapa peneliti merasa bahwa seleksi awal tanaman yang diteliti harus dilakukan, bukan hanya berdasarkan bukti bahwa ekstrak menimbulkan aktivitas biologis tertentu dan menarik, melainkan atas dasar bahwa bahan kimia tertentu yang ada dalam tanaman, biasanya dapat dikaitkan dengan aktivitas biologis. Selain itu, hal yang terkait dengan pengujian biologis, sering dilakukan dengan pendekatan fitokimia. Metode yang digunakan untuk skrining fitokimia sebaiknya sederhana, cepat, membutuhkan sedikit peralatan, selektif untuk

kelompok senyawa tertentu, memiliki limit deteksi yang baik, dan jika mungkin dapat memberikan informasi tambahan keberadaan atau ketiadaan senyawa spesifik (Fong, 1978). Metode yang digunakan dalam skrining fitokimia antara lain uji warna dengan pereaksi spesifik, penentuan kelarutan, penentuan faktor retardasi pada lempeng kromatografi lapis tipis dan spektrofotometri UV Vis. Metode skrining secara konvensional tersebut memiliki kendala yaitu memerlukan proses yang lama karena tidak bisa simultan, menggunakan banyak pereaksi dan memerlukan biaya relatif mahal.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti mengembangkan metode baru yang lebih efisien untuk penentuan komponen aktif tanaman obat dengan metode spektroskopi infra merah dan kemometrik. Keuntungan spektroskopi infra merah menurut Mantanus (2012) diantaranya adalah preparasi sampel sederhana, bersifat nondestruktif, waktu akuisisi cepat, tersedia berbagai cara pengukuran, memiliki model kalibrasi kualitatif dan kuantitatif yang khusus dan dapat melakukan pengukuran secara *on-line* dengan menggunakan probe serat optik. Selain itu analisis dengan spektroskopi infra merah tidak memerlukan preparasi sampel, tidak menghasilkan residu yang berbahaya, serta tidak memerlukan pelarut dan reagen. Maka dari itu, aplikasi spektroskopi infra merah selain lebih ramah lingkungan juga dapat menurunkan biaya analisis rutin sebesar 50% hingga 95% (Patil *et al.*, 2007). Spektroskopi infra merah juga semakin dipilih karena meningkatnya kemajuan sistem komputer dan pengembangan metode matematika baru yang dapat digunakan dalam pengolahan data salah satunya dengan metode kemometrik.

Kemometrik merupakan aplikasi metode matematik sebagai solusi untuk semua tipe permasalahan kimia (Miller dan Miller, 2010). Kemometrik juga dapat didefinisikan sebagai disiplin ilmu kimia yang menggunakan metode statistik dan matematika untuk mendesain atau memilih prosedur dan eksperimen yang optimal, dan memberikan informasi kimia yang maksimum dengan analisis data kimia. Dengan menggabungkan metode spektroskopi infra merah dengan kemometrik diharapkan didapatkan *high throughput* skrining komponen aktif tanaman obat yang lebih efisien karena skrining dilakukan secara simultan, sederhana, cepat, ekonomis dan ramah lingkungan.

## **Metode Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini terbagi menjadi pemilihan sampel tanaman obat pembentukan model klasifikasi dan kalibrasi menggunakan kemometrik, validasi model dan aplikasi untuk penentuan komponen aktif tanaman obat.

### **Screening Komponen Fitokimia Tanaman Obat**

#### 1) Pemilihan sampel

Awal dari kegiatan ini adalah mengumpulkan sampel tanaman obat untuk *training set* dan *test set*

#### 2) Ekstraksi tanaman obat

Sampel tanaman obat diekstraksi dengan pelarut alkohol. Ekstrak yang dihasilkan ditentukan kadar flavonoid total, alkaloid total, terpen, steroid dan kadar air. Ekstrak juga discanning dengan spektroskopi FTIR dan NIR. Penentuan alkaloid total, flavonoid total dan fenol total mengacu Vaishali et. al., (2013) menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi yang sesuai (Wagner's, aluminium klorida, kloroform dan asam sulfat).

#### 3) Pembentukan model klasifikasi dan kalibrasi

Data kadar alkaloid total, flavonoid total dan fenol total digabung dengan data spectrum FTIR dan NIR diolah dengan metode kemometrik. Model LDA untuk klasifikasi dan PLS untuk kalibrasi.

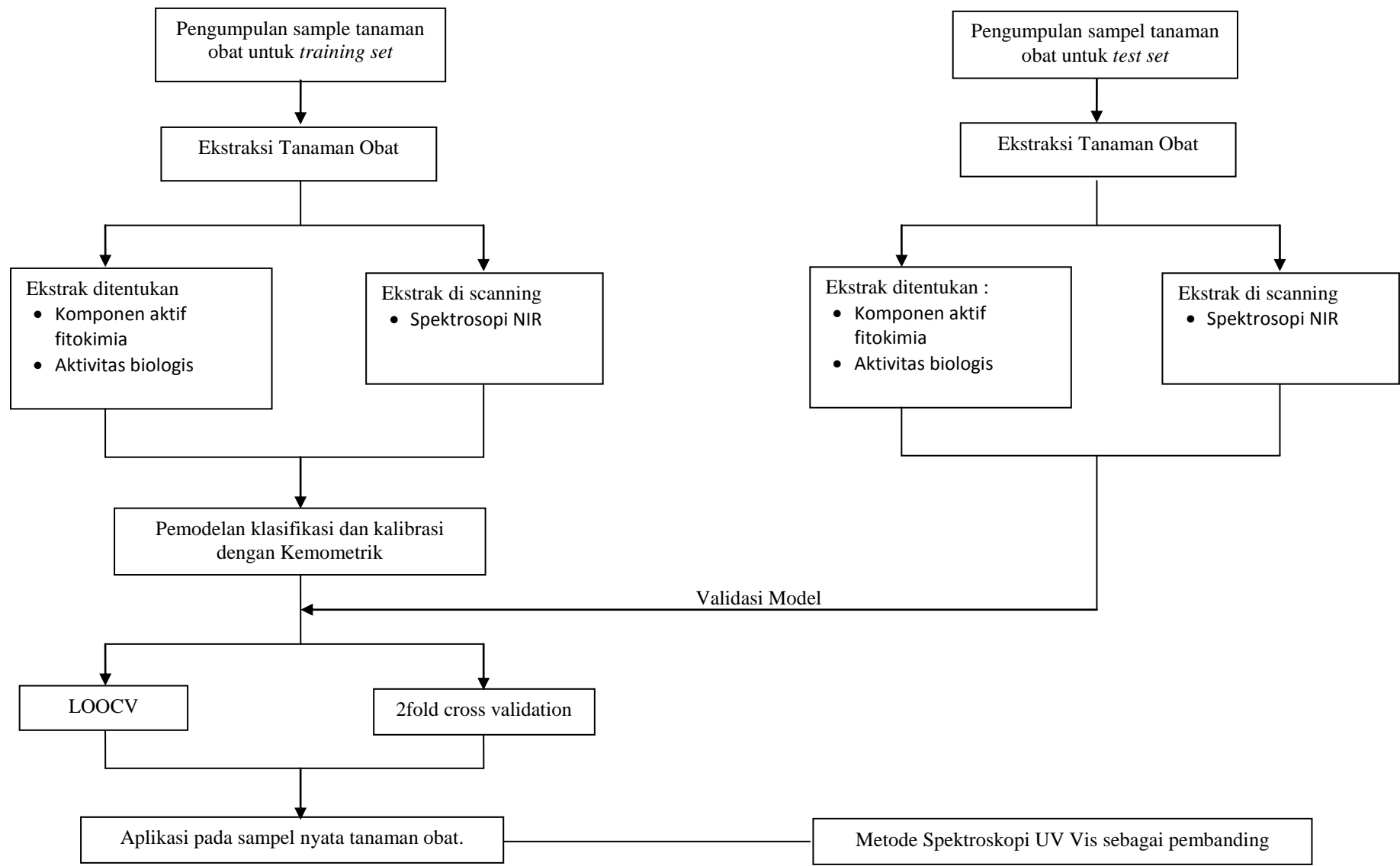
#### 4) Validasi model kemometrik

Hasil pemodelan ini akan divalidasi dengan LOOCV (Leave One Out Cross Validation) dan 2 fold cross validation.

#### 5) Aplikasi model kemometrik untuk sampel nyata tanaman obat

Hasil pemodelan ini akan digunakan untuk screening komponen aktif fitokimia sampel nyata tanaman obat dan dibandingkan dengan metode standar.

#### 6) Seminar Hasil pemodelan ini akan dipresentasikan pada forum seminar nasional atau internasional.



Gambar 4.1. Roadmap penelitian tentang *screening* komponen aktif tanaman obat

## **Publikasi**

1. Penelitian ini dipublikasikan dalam Jurnal Internasional “Journal International Review on Modelling and Simulations”, dengan judul Analysis of Flavonoid in Medicinal Plant Extract Using Infrared Spectroscopy and Chemometric (*submitted paper*)
2. Penelitian ini dipublikasikan dalam seminar internasional yaitu International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources (IC-Fanres), UNEJ 31 agustus-2 september 2015
3. Penelitian ini dipublikasikan dalam seminar nasional yaitu Current Challenges in Drug Use And Development : Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis, Hotel Aston Jember, 28 November 2015

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi, H., Shariat, P., dan Muhammad, R. K. 2003. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Iron, Conalt, and Copper by Partial Least Square Calibration Method in Micellar Medium, *I J P R* : 207-212.
- Abrahamsson, C. 2005. *Time-Resolved Spectroscopy for Pharmaceutical Applications*. Sweden : Department of Physics Lund Institute of Technology.
- Amin, M. S. 2011. *Pengkajian Metode Near Infrared (NIR) untuk Evaluasi Mutu Pakan Ayam Broiler secara Cepat dan Akurat*. Bogor : IPB.
- Brereton, R. G. 2007. *Applied Chemometrics for Scientists*. London: Wiley.
- Downey G. J., Kelly D., 2006. *Food Authentication using Infrared Spectroscopic Methods*, Teagasc Oak Park Carlow Co. Dublin
- Eldin, A. B dan Shalaby, A. A. 2011. Comparison of FT-NIR Transmission and HPLC to Assay Montelukast in Its Pharmaceutical Tablets. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2: 885-891.
- Ellis D. I., and Goodacre R., 2006. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of Infrared and Raman spectroscopy, *The Royal Society of Chemistry Analyst*, 131, 875–885
- Fong, H.S., 1978. *Phytochemical Screening*. Chicago College of Pharmacy, University of Illionis at the Medical Center
- Hostettmann, K., M. Hamburger, M. Hostettmann, dan A. Marston. *New Developments in the Separation of Natural Products. Dalam Modern Phytochemical Methods* (ed. N.H. Fischer, M.B. Isman dan H.A.Stafford), Plenum Press, 1991, 1 – 31
- Kirkpatrick P. J., Smielewski P., Czosnyka M., Menon D. K., Pickard J. D., Near-infrared spectroscopy use in patients with head injury. *Journal of Neurosurgery*. December 1995 / Vol. 83 / No. 6 / Pages 963-970
- Kuno, A., dan Matsuo, M. 2000. Nondestructive Specication of Solid Mixtures by Multivariate Calibration of X-ray Absorption Near Edge Structure using Artificial Neural Network and Partial Least Square. *Analytical Science* 16: 597-602.
- Lin P. Y., Lin S.I., Penney T., Chen Jia-Jin J., 2009. Applications of Near Infrared Spectroscopy and Imaging for Motor Rehabilitation in Stroke Patients, *Journal of Medical and Biological Engineering*, 29(5): 210-221
- Mantanus, J. 2012. *New Pharmaceutical Applications Involving Near Infrared Spectroscopy as A PAT Compliant Process Analyzer: Thesis*. Belgium: University of Liege.
- Miller, J. N. dan Miller, J. N. 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. Sixth Edition*. Harlow: Pearson Education.
- Molinari F., Liboni W., Grippi G. and Negri E., 2006. Relationship between oxygen supply and cerebral blood flow assessed by transcranial Doppler and near –



- infrared spectroscopy in healthy subjects during breath – holding, *Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation*. 3:16.
- Nuri, 2012. Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray) secara *In Vivo*. *Spirulina*. Vol. 8 No.1 Januari 2012
- Oppermann U., Spectroscopy in Food Analysis, G.I.T. Laboratory Journal 4/2004
- Prashant T, Bimlesh, Kumar, Mandeep K, Gurpreet, Kaur, and Harleen K. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1. Issue 1. Hal. 98-106
- Rohman A, dan Che Man Y.B. 2010. FTIR Spectroscopy Combined with Chemometrics for Analysis Of Lard in The Mixtures With Body Fat of Lamb, Cow, and Chicken. *International Food Research Journal*, 17: 519-526.
- Said, M. M., Gibbons, S., Moffat, A.C., dan Zloh, M. 2011. Near-infrared Spectroscopy (NIRS) and Chemometric Analysis of Malaysian and UK Paracetamol Tablets: A Spectral Database Study. *International Journal of Pharmaceutics*, 415: 102-109.
- Singh B., Gautam R., Kumar S., Kumar B. N. V., Nongthomba U., Nandi D., Mukherjee G., Santosh V., Somasundaram K. and Umapathy S., 2012, Application of vibrational microspectroscopy to biology and medicine, *Current Science*, Vol. 102, No. 2.
- Sun Da-Wen 2009, *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, Elsevier Inc
- Svensson T., 2008, *Pharmaceutical and Biomedical Applications of Spectroscopy in the Photon Migration Regime*, Doctoral Thesis, Lund University, Sweden
- Tomuta, I., Iovanov, R., Bodoki, E dan Leucuta, S.E. 2010. Quantification of Meloxicam on Intact Tablets by Near Infrared Spectrometry and Chemometry. *Farmacia*, 58 (5):559-571.
- Vaishali R. M., Vinitha R. P., Pratapchandra K. H., Smitha H. 2013. Preliminary Phytochemical Screening of Members of Lamiaceae Family: *Leucas linifolia*, *Coleus aromaticus* and *Pogestemon patchouli*. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 21(1), n° 22, 131-137
- Varmuza, K. 2001. *Applied Chemometrics: from Chemical Data to Relevant Information*. <http://www.lcm.tuwien.ac.at/vk/manus/Cairo-Conf-2000-Chemometrics.pdf>. [30 Maret 2014].
- Wulandari L, 2006, Evaluation of Re-Used HPTLC Plate for Qualitative and Quantitative Analysis, *Indonesian Journal of Chemistry*, Vol 6 No.3.
- Wulandari, L., Yuwono, M., dan Indrayanto, G. 2012. Densitometric Determination of Mebhydrolin Napadisylate in Tablets. *Journal of Planar Chromatography*, 25(1): 60-64