



**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA
EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI
MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN
KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh :

**Lucky Yuristika Prahes Kumala
122210101088**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA
EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI
MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN
KEMOMETRIK**

SKRIPSI

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

Oleh :

Lucky Yuristika Prahes Kumala

NIM 122210101088

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan nikmat yang tak terhingga untuk hambaNya;
2. Kedua orang tua saya Bapak Musyahir dan Ibu Riyanti yang telah mendidik dan membesarkan saya dengan doa, jerih payah, kasih sayang, semangat, motivasi, dan pengorbanan yang luar biasa;
3. Adik tercinta Pinkan Very Diana A yang telah memberikan doa dan semangat;
4. Ibu Lestyo Wulandari, S.Farm., Apt., M.Farm. Selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm. Selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bantuan, bimbingan dan perhatian hingga terselesaikannya skripsi ini dan ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm. M.Farm., Apt. Indah Purnama Sarry, S.Si., Apt., M.Farm. yang telah meluangkan waktu untuk menguji saya hingga terselesaikannya skripsi ini
5. Seluruh orang yang peduli dan menyayangi penulis, akhirnya penulis bisa mencapai tahap ini;
6. Para pendidik yang terhormat yang telah mendidik penulis hingga perguruan tinggi;
7. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

"Jadikanlah sabar dan shalatmu sebagai penolongmu, sesungguhnya allah beserta orang-orang yang sabar"

(Al-Baqarah : 153)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

nama : Lucky Yuristika Prahes Kumala

NIM : 122210101088

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN KEMOMETRIK**” adalah hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, serta 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2017

Yang menyatakan,

(Lucky Yuristika Prahes Kumala)

NIM 122210101088

SKRIPSI

**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA
EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI
MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN
KEMOMETRIK**

Oleh :

Lucky Yuristika Prahes Kumala

NIM 122210101088

Pembimbing :

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN KEMOMETRIK**” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : 25 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji :

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Indah Purnama Sarry, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 198304282008122004

Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198407122008122002

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

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

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

PENENTUAN MODEL KLASIFIKASI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK METANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DI MADURA, JEMBER, MALANG MENGGUNAKAN METODE NIR DAN KEMOMETRIK; Lucky yuristika Prahes Kumala, 122210101088; 2017: 67 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

Penetapan kadar dengan metode spektroskopi inframerah dan kemometrik ini memerlukan suatu analisis data multivariat (kemometrik) untuk mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*. Teknik yang digunakan

dari metode kemometrik untuk model kalibrasi (analisis kuantitatif) dan model klasifikasi (analisis kualitatif) dalam penelitian ini masing-masing adalah *Partial Least Square* (PLS), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA), dan *Cluster Analysis* (CA). Penetapan kadar dilakukan dengan merevalidasi model PLS (fenol, flavonoid, dan alkaloid) yang telah terbentuk pada penelitian sebelumnya menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Berdasarkan hasil penelitian, revalidasi model PLS fenol dengan spektroskopi NIR memberikan hasil terbaik dengan Hasil pengujian revalidasi menggunakan model PLS fenol, didapatkan nilai (R^2 0,97, RMSEP 0,80), revalidasi model PLS flavonoid (R^2 0,98, RMSEP 1,58), dan revalidasi alkaloid (R^2 0,998, RMSEP 1,89). Model klasifikasi LDA, SVM, dan SIMCA yang digunakan pada pengkategorian antara matriks dengan sampel dari 9 daerah memiliki akurasi sebesar 100%. Sedangkan pada model CA, sampel dibedakan menjadi dua cluster yaitu cluster A dan cluster B. Daerah yang tergolong pada cluster A adalah Kecamatan Lenteng Pakong, Singosari, Lawang, dan Batu, sedangkan daerah yang tergolong pada cluster B adalah Kecamatan Sumberbaru, Sumpangsari, dan Jubung.

DAFTAR ISI

SKRIPSI	ii
FAKULTAS FARMASI	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB 1.....	PENDAHULUAN
.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Penelitian	5
BAB 2.....	TINJAUAN PUSTAKA
.....	6
2.1 Profil Wilayah	6
2.1.1 Pulau Madura.....	6
2.1.2 Kabupaten Jember.....	6
2.1.3 Kabupaten Malang	7
2.2 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	7
2.2.1 Klasifikasi.....	7
2.2.2 Morfologi.....	8
2.2.3 Kandungan Daun.....	8
2.3 Fitokimia.....	9
2.3.1 Flavonoid	9
2.3.2 Fenol.....	10
2.3.3 Alkaloid	11
2.3.4 Penentuan Kandungan Fitokimia	11
2.3.5 Faktor yang mempengaruhi kandungan fitokimia	12
2.4 Simplisia	13
2.5 Ekstraksi.....	13
2.6 Spektroskopi <i>near infrared</i> (NIR)	15
2.7 Kemometrik Dan Multivariat	16

2.8 Validasi Silang	21
BAB 3. METODELOGI PENELITIAN	
.....	23
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.3.1 Alat	23
3.3.2 Bahan.....	24
3.4 Alur penelitian	25
3.5 Prosedur Penelitian	25
3.5.1 Pengumpulan Sampel	25
3.5.2 Pembuatan Ekstrak.....	26
3.5.3 Preparasi Sampel.....	27
3.5.4 <i>Scanning</i> NIR.....	27
3.5.5 Pembentukan Model Klasifikasi	27
3.5.6 Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
.....	33
4.1 Pengumpulan sampel	33
4.2 Pembuatan Ekstrak	34
4.3 Pembentukan Model Klasifikasi	35
4.4 Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, dan alkaloid Total dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis	39
4.4.1 Penetapan panjang gelombang maksimum.....	39
4.4.2 Penetapan Kadar Fenol, Flavonoid, dan alkaloid total sampel Test Set dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis	40
4.5 Validasi model PLS dan LDA	43
4.5.1 Leave-One-Out-Cross-Validation (LOOCV)	44
4.5.2 Revalidasi Model PLS Flavonoid, Fenol, Dan Alkaloid Dengan Metode 2-fold cross validation.	45
4.6 Penentuan Kadar Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid	50
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan	52

5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan sambiloto	8
Gambar 2.2 Struktur flavonoid	10
Gambar 2.3 Struktur kimia fenol	10
Gambar 3.1 gambar alur penelitian.....	25
Gambar 4.1 Hasil model LDA.....	36
Gambar 4.2 Hasil model SVM	37
Gambar 4.3 Hasil 2-fold cross validation Model PLS Fenol	47
Gambar 4.4 Hasil 2-fold cross validation Model PLS Flavonoid	48
Gambar 4.5 Hasil 2-fold cross validation Model PLS Alkaloid	49

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 daftar Daun Sambiloto Dari 3 Wilayah Berbeda. 34

Tabel 4.2 Hasil Penimbangan Ekstrak Daun Sambiloto Dari
9 Lokasi Yang Berbeda..... 35

Tabel 4.3 Tabel Hasil Kemampuan Pengenalan Model Klasifikasi LDA, SVM,
Dan SIMCA Dalam Bentuk % Akurasi 37

Tabel 4.4Tabel Hasil Kemampuan Pengenalan Model Klasifikasi LDA, SVM,
Dan SIMCA Dalam Bentuk % Akurasi 38

Tabel 4.5Hasil Pemetaan Cluster Analysis Dengan Metode NIR Dan Kemometrik
..... 38

Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Fenol Total Sampel Test Set..... 41

Tabel 4.7 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel Test Set 42

Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total Sampel Test Set 43

Tabel 4.9 Hasil Pengujian Validasi Model LDA Dan SVM 45

Tabel 4.10 Hasil Pengujian Revalidasi Model PLS Fenol, Flavonoid, Dan
Alkaloid Total..... 46

Tabel 4.11 Kadar Predicted Dengan Metode NIR Dan Kadar Reference Dengan
Metode Spektrofotometri UV-Vis Pada 2-Fold-CV Model PLS Fenol
..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4.12 Kadar Predicted Dengan Metode NIR Dan Kadar Reference Dengan
Metode Spektrofotometri UV-Vis Pada 2-Fold-CV Model PLS
Flavonoid **Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4.13 Kadar Predicted Dengan Metode NIR Dan Kadar Reference Dengan
Metode Spektrofotometri UV-Vis Pada 2-Fold-CV Model PLS
Alkaloid..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4.14 Hasil Kadar Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Menggunakan Model
PLS Dengan Metode NIR 50

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN.....	59
LAMPIRAN B DATA SPEKTRUM INFRAMERAH YANG DIHASILKAN ..	60
LAMPIRAN C IDENTITAS SAMPEL EKSTRAK.....	63
LAMPIRAN D PEMBUATAN LARUTAN PADA PENETAPAN KADAR FENOL, FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL.....	65
LAMPIRAN E HASIL PENGUKURAN KADAR FENOL, FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL SAMPEL TEST SET DENGAN SPEKTROFOTOMER UV-VIS.....	71
LAMPIRAN F HASIL SPEKTRA OPTIMASI PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM FENOL, FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL.....	77
LAMPIRAN G DATA KEMOMETRIK DAN PERHITUNGAN KEMAMPUAN PENGENALAN DAN KEMAMPUAN	80
LAMPIRAN H CONTOH PERHITUNGAN KADAR SAMPEL TRAINING SET MENGGUNAKAN MODEL PLS FENOL, FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL.....	86

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki beraneka ragam kekayaan hayati yang bermanfaat bagi kehidupan. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia. 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat (Kementrian Kehutanan RI, 2010). Tumbuhan berkhasiat obat telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu alternatif pengobatan, baik untuk pencegahan penyakit (preventif), penyembuhan (kuratif), pemulihan kesehatan (rehabilitatif) serta peningkatan kesehatan (promotif) (Pramono & Katno, 2002).

Salah satu tumbuhan berkhasiat yang memiliki banyak aktivitas farmakologi adalah sambiloto (*Andrographis paniculata*). Sambiloto merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili Acanthaceae. Sambiloto termasuk salah satu tumbuhan obat yang menjadi prioritas utama untuk dikembangkan di Indonesia dan dinyatakan sebagai bahan obat fitofarmaka yang aman (Nugroho *et al.*, 2000).

Bagian tumbuhan sambiloto yang biasa digunakan dalam pengobatan adalah daun, biji, dan batang. Pada penelitian ini bagian tumbuhan sambiloto yang akan diteliti adalah daun. Hal ini didasarkan pada bagian daun secara tradisional digunakan sebagai pengobatan demam, disentri, rematik, tuberkulosis, infeksi pencernaan, dan antidiabetes (Yusron *et al.*, 2005). Daun sambiloto juga mengalami proses regenerasi lebih cepat dibandingkan bagian lainnya, sehingga pengambilan dalam jumlah banyak tidak menyebabkan kepunahan spesies tumbuhan ini. Selain itu, daun juga dapat dimanfaatkan lebih cepat karena tidak harus menunggu musim (Kumar *et al.*, 2008).

Pada umumnya tumbuhan memiliki kandungan fitokimia yang diisolasi untuk dihasilkan senyawa aktif. Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan

dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, dan saponin (Copriyadi *et al.*, 2005). Komponen utama senyawa aktif daun sambiloto adalah andrografolida yang berguna sebagai bahan obat. Selain itu, daun sambiloto mengandung saponin, flavonoid, fenol, alkaloid, dan tannin (Dalimunthe, 2009).

Kandungan total senyawa aktif pada tumbuhan dapat dipengaruhi oleh faktor iklim (curah hujan dan sinar matahari), lokasi atau wilayah penanaman, ketinggian tempat dan ketersediaan air (Yusron *et al.*, 2005). Pada penelitian ini digunakan tanaman Sambiloto yang berasal dari daerah dataran rendah (Madura), dataran sedang (Jember) dan dataran tinggi (Malang).

Pengambilan senyawa aktif dari suatu tumbuhan dilakukan dengan cara ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ultrasonikasi dan maserasi. Metode kombinasi ini dipilih karena metode ekstraksi maserasi dan ultrasonikasi dapat meningkatkan efektivitas metode ekstraksi, sehingga kombinasi dua metode akan lebih baik dibandingkan dengan satu metode. Selain itu, metode ultrasonikasi dan maserasi dipilih karena kedua metode tersebut tidak memerlukan pemanasan (mukhriani, 2014).

Pelarut yang digunakan pada metode ekstraksi untuk penelitian ini adalah metanol. Karena metanol merupakan pelarut universal, dapat merusak dinding sel pada sampel (Tursiman, 2012), sehingga mampu menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar seperti senyawa golongan fenol, flavonoid, dan alkaloid (Dai *et al.*, 2010).

Beberapa metode analisis yang umum digunakan untuk menentukan kandungan senyawa aktif pada tanaman, diantaranya yaitu metode HPLC (Levent, 2002), fluorimetri (Masatoki & Hirokazu, 2000), kolorimetri (Qing-qin *et al.*, 2002), dan kromatografi lapis tipis (Aksara, 2013). Metode-metode tersebut membutuhkan tahapan analisis yang panjang dan waktu analisis yang cukup lama. Penelitian ini menggunakan spektroskopi *Near Infrared* (NIR) untuk mengembangkan metode yang lebih efektif (Danasuryani *et al.*, 2014).

Teknologi spektroskopi *near infrared* (NIR) merupakan salah satu teknologi yang dapat menggantikan metode konvensional dan telah sukses

diaplikasikan pada produk pertanian, farmasi, petrokimia dan lingkungan (Danasuryani *et al.*, 2014). Teknologi spektroskopi NIR dikembangkan sebagai salah satu metode yang non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia. Spektroskopi NIR menggunakan gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 780-2500 nm atau bilangan gelombang 12.800 cm^{-1} hingga 4000 cm^{-1} (Schwanninger *et al.*, 2011).

Pengolahan data spektrum infra merah dekat dilakukan menggunakan metode statistik multivariat. Manfaat dari metode statistik multivariat tersebut adalah kemampuannya dalam mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif (Awa *et al.*, 2008). Teknik kemometrik memanfaatkan ciri serapan NIR yang khas dari setiap molekul untuk mengklasifikasi sampel atau untuk membuat model kalibrasi. Kombinasi spektra NIR 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 uraian tersebut, maka dilakukan penelitian penentuan model klasifikasi dan kandungan fitokimia pada tumbuhan sambiloto yang berasal dari 3 wilayah dengan ketinggian yang berbeda (Madura, Jember, dan Malang) dengan menggunakan metode NIR dan kemometrik. Penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Wulandari *et al.*, 2016) tentang penentuan kandungan flavonoid pada tumbuhan obat, (Ratnasari *et al.*, 2015) tentang penentuan kandungan fenol pada tumbuhan obat, dan (Aini *et al.*, 2016) tentang penentuan kandungan alkaloid pada tumbuhan obat dengan metode NIR .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah metode NIR dan kemometrik (LDA, SIMCA, SVM, CA) dapat mengklasifikasikan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang ?
2. Berapa kandungan fenol, flavonoid, dan alkaloid pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kemampuan metode NIR dan kemometrik (LDA, SIMCA, SVM, CA) dalam mengklasifikasikan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dari daerah Madura, Jember, dan Malang.
2. Untuk mengetahui kandungan fenol, flavonoid, dan alkaloid pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang.

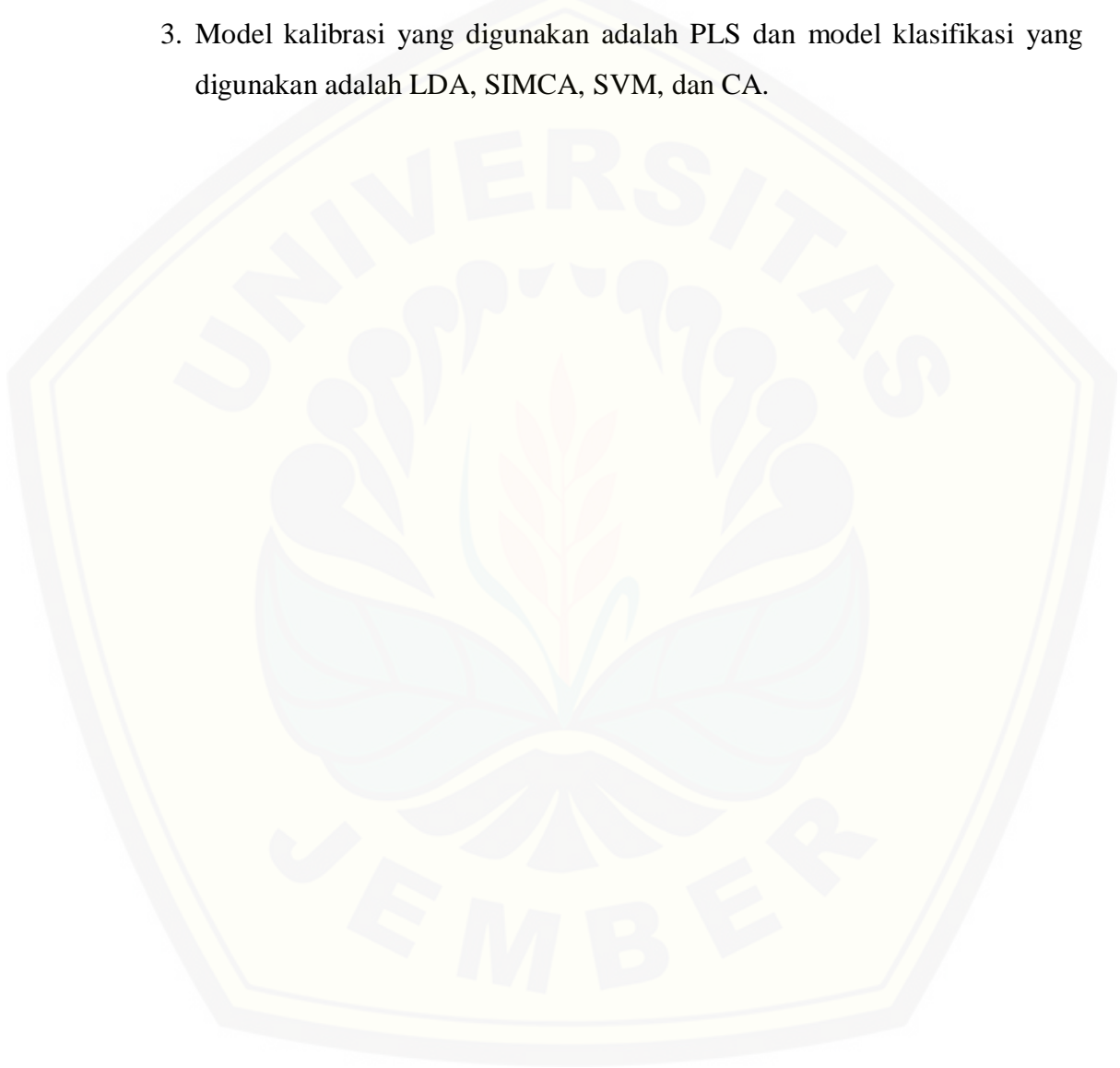
1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat mengetahui kandungan fitokimia (flavonoid, fenol, dan alkaloid) pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari daerah Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian yang berbeda.
2. Berguna sebagai acuan penentuan kualitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari daerah Madura, Jember, dan Malang dengan ketinggian yang berbeda.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel diperoleh secara sampling pada 3 wilayah di Jawa Timur (Madura, Jember, dan Malang) dengan ketinggian yang berbeda.
2. Kandungan fitokimia yang dianalisis adalah flavonoid, fenol, dan alkaloid.
3. Model kalibrasi yang digunakan adalah PLS dan model klasifikasi yang digunakan adalah LDA, SIMCA, SVM, dan CA.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Profil Wilayah

2.1.1 Pulau Madura

Madura secara geografis terletak dilepas pantai timur Laut Jawa pada 70° Lintang Utara dan 112° - 114° Bujur Timur, mempunyai panjang kurang lebih 190 km dengan luas seluruhnya kurang lebih 5.505 km^2 dengan banyak pulau kecil disekitarnya. Secara geologis Pulau Madura merupakan bagian dari unsur daratan di utara Pulau Jawa. Daerah ini berada pada ketinggian minimum 6 mdpl dan ketinggian maksimum 350 mdpl. dengan iklim suhu udara berkisar antara 280 - 300°C . Pulau Madura memiliki iklim temperatur yang berkisar antara 28 - 30°C , dengan musim kemarau terjadi pada bulan april-oktober dan musim hujan terjadi pada bulan oktober-april (PulauMadura.go.id).

2.1.2 Kabupaten Jember

Kabupaten Jember berada pada ketinggian 0-3300 mdpl. Sebagian besar wilayah ini berada pada ketinggian antara 100-500 mdpl 37,75%, selebihnya 17,95 % pada ketinggian 0-25 m, 20,70% pada ketinggian 25-100 m, 15,80% berada pada ketinggian 500-1.000 mdpl dan 7,80% pada ketinggian lebih dari 1.000 m. Wilayah barat daya memiliki dataran dengan ketinggian 0-25 mdpl. Sedangkan daerah timur laut yang berbatasan dengan Bondowoso dan tenggara yang berbatasan dengan Banyuwangi memiliki ketinggian di atas 1.000 mdpl (jemberkab.go.id).

Iklim di Kabupaten Jember adalah iklim tropis. Angka temperatur berkisar antara 23 - 31°C , dengan musim kemarau terjadi pada bulan Mei sampai bulan Agustus dan musim hujan terjadi pada bulan September sampai bulan Januari. Sedangkan curah hujan cukup banyak, yakni berkisar antara 1.969 mm sampai 3.394 mm (jemberkab.go.id).

2.1.3 Kabupaten Malang

Kota Malang yang terletak pada ketinggian antara 440-667 mdpl, merupakan salah satu kota tujuan wisata di Jawa Timur karena potensi alam dan iklim yang dimiliki. Kondisi iklim Kota Malang selama tahun 2008 tercatat rata-rata suhu udara berkisar antara 22,7°C-25,1°C, sedangkan suhu maksimum mencapai 32,7°C dan suhu minimum 18,4°C . Rata kelembaban udara berkisar 79%-86% dengan kelembaban maksimum 99% dan minimum mencapai 40% (malangkota.go.id).

2.2 Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Sambiloto merupakan tumbuhan obat tradisional di Indonesia dengan ciri khas semua bagian tanaman berasa pahit. Secara umum sambiloto tumbuh liar di lahan yang tidak berpengairan dan kesuburan relatif kurang, mampu tumbuh pada ketinggian 1-1600 mdpl. Tumbuhan ini memiliki daya adaptasi pada lingkungan ekologi setempat, sehingga dapat tumbuh di berbagai tempat. Sambiloto ditemukan tumbuh secara liar di kebun, tegalan dan semak belukar yang ternaungi tumbuhan lain (Winarto, 2003).

2.2.1 Klasifikasi

Dalam sistematika (taksonomi) menurut (BPOM RI, 2012), tumbuhan sambiloto dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Species	: <i>Andrographis paniculata</i> .

2.2.2 Morfologi

Sambiloto tergolong habitat terna semusim, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 90 cm, batang berbentuk segi empat dengan rusuk yang jelas, menebal di bagian buku-buku batang. Helaian daun merupakan daun tunggal, terletak bersilang berhadapan, helaian daun bentuk lanset, ukuran panjang 3-12 cm, lebar 1-3 cm, panjang tangkai daun 0,2-0,5 cm, pangkal dan ujung helaian daun runcing, tepi daun rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda. Perbungaan berupa bunga majemuk malai rata, di bagian ujung batang atau di bagian ketiak daun di bagian atas. Kelopak bunga berlekatan terbagi menjadi 5 helai. Daun mahkota 5, berlekatan membentuk tabung mahkota bunga, panjang tabung 6 mm, panjang helaian daun mahkota lebih dari panjang tabung mahkota, 2 helai daun mahkota di bagian atas (bibir atas) berwarna putih dengan garis kuning di bagian ujungnya, panjang helaian 7-8 mm, bibir bawah terdiri atas 3 helaian daun mahkota, putih atau putih disertai warna ungu. Tangkai sari 5, ukuran tangkai sari sepanjang mahkota bunga, tangkai sari melebar di bagian pangkal. Tangkai putik panjang, melebihi panjang mahkota bunga. Buah berbentuk kapsul, berkatup dan berisi 3-7 biji berwarna coklat tua. Berbunga sepanjang tahun, semua bagian tanaman daun sangat pahit (BPOM RI, 2012). Morfologi tanaman sambiloto dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Kumoro & Hasan, 2006).

2.2.3 Kandungan Daun

Sambiloto mengandung diterpen lakton yang banyak kegunaannya bagi kesehatan. Ada beberapa komponen utama dari diterpen lakton pada sambiloto

yang teridentifikasi pada daun yaitu andrografolida (Kumoro & Hasan, 2006), Selain komponen utama tersebut terdapat juga senyawa lain yaitu saponin, flavonoid, fenol, alkaloid dan tanin. Kandungan kimia lain yang terdapat pada daun dan batang adalah lakton, panikulin, kalmegin dan hablur kuning yang memiliki rasa pahit (Dalimunthe A, 2009).

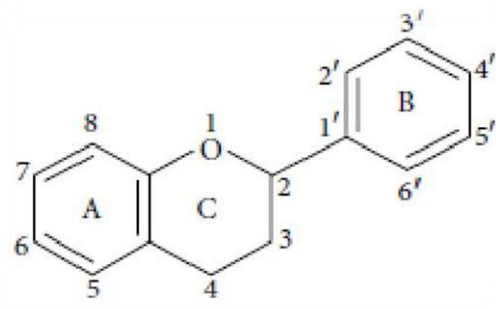
2.3 Fitokimia

Fitokimia berasal dari kata *phytochemical*. *Phyto* berarti tumbuhan atau tanaman dan *chemical* sama dengan zat kimia berarti zat kimia yang terdapat pada tanaman. Pada umumnya tumbuhan memiliki kandungan fitokimia yang diisolasi untuk dihasilkan senyawa aktif. Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, dan saponin. Senyawa metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai zat warna, aroma makanan maupun sebagai obat-obatan (Copriyadi *et al.*, 2005).

2.3.1 Flavonoid

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

Struktur dasar flavonoid adalah 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzena, yakni cincin A dan B (Gambar 2.2) yang terhubung melalui cincin piran (C). Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa golongan seperti flavon (flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (kuersetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (flavanon, hesperetin, dan naringenin), dan lainnya (Kumar & Pandey, 2013).

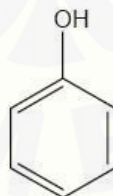


Gambar 2.2 Struktur flavonoid (Kumar & Pandey, 2013)

2.3.2 Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Vermerris & Nicholson, 2006). Senyawa fenol memiliki titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Selain itu juga mudah larut dalam sebagian besar pelarut organik (hidrokarbon aromatik, alkohol dan keton) dan agak kurang larut dalam hidrokarbon alifatik. (Rappoport, 2003).

Senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil fenolik yang menempel pada satu atau lebih cincin aromatik disebut sebagai senyawa polifenol (Vermerris & Nicholson, 2006). Struktur kimia dari fenol dapat dilihat pada Gambar 2.3 Turunan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Vermerris & Nicholson, 2006). Fenol terbagi menjadi fenol sederhana, kumarin, lignin, lignan, tannin terkondensasi, tannin terhidrolisis, asam fenolat dan flavonoid (Khoddami *et al.*, 2013)



Gambar 2.3 Struktur kimia fenol (Vermerris & Nicholson, 2006)

Fenol dan polifenol yang terkandung pada tanaman memainkan peran penting dalam kesehatan jangka panjang, mengurangi risiko penyakit kronis dan degeneratif. Senyawa fenol dapat memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik (Apak *et al.*, 2007). Selain itu juga berfungsi sebagai

pertahanan terhadap radiasi ultraviolet atau perlindungan diri dari patogen, parasit, predator serta memberi warna pada tanaman (Dai & Mumper, 2010).

2.3.3 Alkaloid

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

Alkaloid umumnya memiliki aktivitas farmakologi terutama pada mamalia seperti manusia. Bahkan saat ini banyak alkaloid dari sumber alami yang sering digunakan sebagai obat dan obat-obatan alkaloid baru masih terus berkembang untuk penggunaan klinis. Kebanyakan alkaloid dengan aktivitas biologis pada manusia mempengaruhi sistem saraf, terutama sebagai neurotransmitter kimia misalnya asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, asam gamma aminobutirat (GABA), dopamin dan serotonin. Alkaloid berfungsi sebagai model untuk sintesis kimia analog dengan sifat yang lebih baik (Azzahra *et al.*, 2015).

2.3.4 Penentuan Kandungan Fitokimia

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

Spektroskopi NIR yang dikombinasikan dengan kemometrik telah dikembangkan untuk analisis kandungan fitokimia dalam ekstrak tanaman obat. Kandungan fitokimia yang diekstrak dari daun tanaman obat menggunakan *ultrasonication* dan maserasi. Spektrum NIR yang dipilih untuk ekstrak tanaman obat yang mengandung kandungan fitokimia seperti fenol, flavonoid, dan alkaloid

dianalisis menggunakan metode kemometrik. Metode kemometrik yang digunakan yaitu analisis kalibrasi dan analisis klasifikasi (Wulandari *et al.*, 2016).

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

2.3.5 Faktor yang mempengaruhi kandungan fitokimia

Kandungan senyawa aktif tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi kandungan fitokimia adalah ketinggian tempat tumbuh. Ketinggian tempat tumbuh merupakan kondisi lingkungan yang mencakup keragaman kondisi yang dapat membatasi ataupun mendukung pertumbuhan tanaman (Duryat, 2008). Ketinggian tempat tumbuh merupakan salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kondisi tanaman secara morfologi maupun fisiologi. Ketinggian tempat tumbuh yang berbeda menyebabkan terdapat perbedaan ketersediaan unsur hara, kelembapan, intensitas cahaya matahari dan suhu. Perbedaan tersebut dapat secara langsung ataupun tidak langsung mempengaruhi metabolisme tanaman, terutama tanaman obat karena berhubungan dengan zat aktif (Coomes & Allen, 2007; Duryat, 2008; Irwanto, 2006).

2.4 Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral.

Menurut *Materia Medica* (MMI, 1995), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori, yaitu:

1. 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.

2. 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.

3. Simplisia pelikan

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

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu alam (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi

pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut alam (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000).

Adapun beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu :

1. Ekstraksi Cara Dingin

(a) Maserasi

Maserasi, adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar).

(b) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

2. Ekstraksi Cara panas

(a) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

(b) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

(c) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50° C.

(d) Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96- 98° C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

(e) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan semua metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan. Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan.

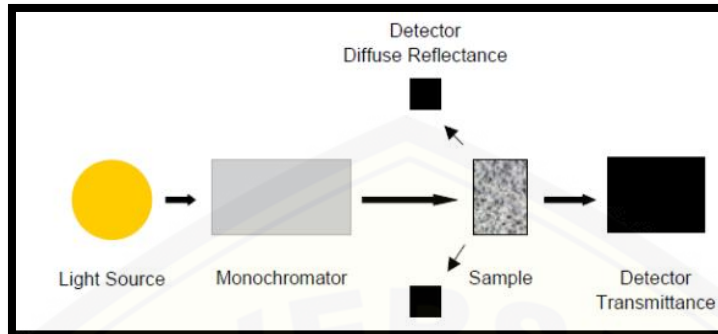
Proses ekstraksi akan menghasilkan produk yang disebut dengan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

2.6 Spektroskopi *near infrared* (NIR)

Teknologi Spektroskopi NIR dikembangkan sebagai salah satu metode yang non destruktif, dapat menganalisis dengan kecepatan tinggi, tidak menimbulkan polusi, penggunaan preparat contoh yang sederhana dan tidak memerlukan bahan kimia. NIR Spektroskopi menggunakan gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 780 nm - 2500 nm atau bilangan gelombang 12.800 cm^{-1} hingga 4000 cm^{-1} (Schwanninger *et al.*, 2011).

Prinsip teori spektroskopi *near infrared* adalah bekerja berdasarkan adanya spektrum NIR berasal dari energi radiasi yang ditransfer menjadi energi mekanik terkait oleh adanya gerakan atom yang dilakukan bersama oleh ikatan kimia dalam suatu molekul. Teknik ini didasarkan pada pengukuran cahaya yang dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel. Pertama, sampel yang akan dipelajari harus disinari oleh sumber cahaya dengan panjang gelombang berkisar antara 780 sampai 2500 nm. Kemudian cahaya yang dipantulkan atau ditransmisikan oleh sampel dikumpulkan oleh detektor dan diubah menjadi

spectrum seperti tertera pada gambar 2.4. Dengan cara inilah spektroskopi NIR memainkan perannya dalam identifikasi dan kuantitasi sampel (Patil *et al.*, 2007).



Gambar 2.4 Instrumentasi NIR
(Reich, 2005)

Hasil analisis dengan menggunakan spektroskopi NIR biasanya berupa signal kromatogram yang merupakan hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang. Spektrum IR memiliki informasi sktruktur molekular yang terdiri atas gerak rotasi dan vibrasi. Banyaknya gerakan molekular dari molekul poliatom akan membentuk serangkaian pita serapan yang spesifik untuk masing-masing molekul. Hal ini membuat spektroskopi IR menjadi metode analisis kualitatif yang sangat berguna, tetapi sulit dilakukan akibat adanya kemiripan dari setiap respon spektrum. Analisis kuantitatif spektrum IR juga sangat sulit karena adanya tumpang tindih spektrum serapan dari molekul-molekul dalam sampel. Untuk dapat mengekstraksi informasi dari data spektrum IR tersebut, diperlukan suatu metode kemometrik berupa analisis multivariat (Stchur *et al.*, 2002).

2.7 Kemometrik Dan Multivariat

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

Saat ini kemometrik memungkinkan untuk menganalisis data multivariat. Data multivariat merupakan suatu data yang memiliki banyak variabel dan dari setiap variabel tersebut dapat saling berkorelasi. Keuntungan dari analisis multivariat adalah informasi yang didapat akan lebih banyak karena analisis multivariat mempertimbangkan banyak variabel secara bersamaan. Selain itu, keuntungan lainnya adalah analisis multivariat dapat lebih selektif dalam suatu pengukuran, dan bisa mendeteksi adanya sampel palsu (Bro, 2003).

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

1. Interpretasi data

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

2. Klasifikasi

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

3. Kalibrasi

Metode ini merupakan teknik multivariat yang paling sering digunakan sebagai analisis rutin pada analisis kimia. Tujuannya adalah pengembangan model matematis yang menjelaskan hubungan atau korelasi antara beberapa variabel prediktor dan satu atau beberapa variabel efek. Metode yang sering

digunakan untuk tujuan ini adalah *Principal Component Regression* (PCR) dan *Partial Least Square* (PLS). Metode ini sering diaplikasikan untuk analisis kimia terutama pada spektroskopi inframerah, dan model Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktifitas (HKSA).

Beberapa analisis multivariat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Partial Least Square* (PLS), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Principal Component Analysis* (PCA), *Support Vector Machines* (SVM), *Cluster analysis* (CA), dan *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA).

1. *Partial Least Square* (PLS)

PLS merupakan salah satu metode kalibrasi multivariat yang paling sering digunakan dalam kemometrik. Hal ini dikarenakan mutu model kalibrasi yang dihasilkan dan kemudahan penerapannya. PLS mampu menganalisis data dengan jumlah yang cukup banyak, memiliki tingkat kolinearitas tinggi, sejumlah besar variabel X, dan beberapa variabel respon Y (Kuno and & Matsuo, 2000).

Metode ini adalah sebuah metode reduksi dimensi data, sejenis dengan PCA, untuk mencari faktor-faktor yang paling relevan dalam memprediksi dan menginterpretasi data. Regresi PLS meningkatkan kemampuan model dari PCA dengan menggunakan variabel respon secara aktif dalam dekomposisi bilinear prediktor. PCA terfokus pada keragaman di dalam prediktor, sedangkan PLS fokus pada kovarian diantara respon dan prediktor-prediktor. Dengan jalan menyeimbangkan informasi antara prediktor dan respon, PLS mereduksi dampak dari banyaknya prediktor yang tidak relevan dengan keragaman data. Estimasi kesalahan prediktor ditingkatkan dengan cara validasi silang. PCA yang dilanjutkan dengan membentuk model regresi dan PLS-R dapat diterapkan untuk kalibrasi yang melibatkan dimensi prediktor relatif besar dengan respon yang relatif sedikit (Rohman *et al.*, 2011).

2. *Linear Discriminant Analysis* (LDA)

Pendekatan LDA berbeda dengan pendekatan SIMCA, dimana DA menganggap bahwa sampel harus menjadi bagian dari salah satu kategori yang dianalisis. DA secara luas digunakan dalam permasalahan yang melibatkan hanya dua kategori (Camo, 2005).

Keberhasilan LDA dalam pengkategorian objek dapat diuji dengan beberapa cara. Cara yang paling sederhana adalah dengan menggunakan model klasifikasi yang telah dibuat untuk mengklasifikasikan objek dan menentukan apakah hasil pengklasifikasian tersebut benar atau tidak. Objek yang diklasifikasi merupakan bagian dari set data yang digunakan untuk membentuk model. Metode yang lebih baik adalah dengan membagi data asli menjadi dua kelompok yang dipilih secara randomisasi. Kelompok pertama disebut *training set* dan digunakan untuk menentukan fungsi diskriminan linier. Objek pada kelompok kedua disebut *test set* dan digunakan untuk mengevaluasi kinerja fungsi diskriminan linier dan keberhasilan LDA dapat diketahui (Miller & Miller, 2010).

3. *Principal Component Analysis (PCA)*

PCA secara umum dikenal sebagai teknik interpretasi multivariat. PCA adalah teknik untuk menentukan komponen utama yang merupakan kombinasi linier dari variabel asli. PCA digunakan sebagai alat statistik melalui penggunaan komponen-komponen yang diturunkan dalam sebuah model regresi untuk memprediksi variabel respon yang tidak teramati menggunakan komponen utama. Komponen utama bertujuan untuk menjelaskan sebanyak mungkin keragaman data dengan kombinasi linier yang ditemukan yang saling bebas satu sama lain dan di dalam arah keragaman paling besar. Tiap-tiap komponen utama merupakan kombinasi linier dari semua variabel. Komponen utama pertama menjelaskan variasi terbesar dari data diikuti dengan komponen utama kedua dan seterusnya (Varmuza, 2000).

Komponen-komponen utama ini dipilih sedemikian rupa sehingga PC_1 memiliki variasi terbesar dalam set data, sedangkan PC_2 tegak lurus terhadap komponen utama pertama dan memiliki variasi terbesar berikutnya (Miller & Miller, 2010). Kedua komponen utama ini pada umumnya digunakan sebagai bidang proyeksi untuk pemeriksaan visual data multivariat. Jika jumlah varian dari PC_1 dan PC_2 lebih besar dari 70%, maka *score plot* memperlihatkan visualisasi dua dimensi yang baik (Varmuza, 2000).

4. *Support Vector Machines (SVM)*

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

5. *Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA)*

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

SIMCA menentukan jarak kategori, kemampuan pemodelan dan deskriminasi. Jarak kategori, kemampuan pemodelan 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).

6. *Cluster analysis (CA)*

Analisis cluster adalah teknik multivariat yang mempunyai tujuan utama untuk mengelompokkan objek-objek berdasarkan karakteristik yang dimilikinya. Analisis cluster mengklasifikasi objek sehingga setiap objek yang memiliki sifat yang mirip (paling dekat kesamaannya) akan mengelompok kedalam satu cluster

(kelompok) yang sama (Miller & Miller, 2000). Pada penelitian ini digunakan salah satu dari metode *cluster analysis* yaitu metode hierarki (*hierarchical method*).

Metode hierarki (*hierarchical method*) adalah suatu metode pada analisis cluster yang membentuk tingkatan tertentu seperti pada struktur pohon karena proses clusternya dilakukan secara bertingkat atau bertahap. Hasil cluster dengan metode hierarki dapat disajikan dalam bentuk dendogram. Dendogram adalah representasi visual dari langkah-langkah dalam analisis cluster yang menunjukkan bagaimana cluster terbentuk dan nilai koefisien jarak pada setiap langkah. Angka disebelah kanan adalah obyek penelitian, dimana obyek-obyek tersebut dihubungkan oleh garis dengan obyek yang lain sehingga pada akhirnya akan membentuk satu cluster (Simamora, 2005).

2.8 Validasi Silang

Metode validasi silang (*cross validation*) adalah metode untuk menguji validitas model regresi dengan menggunakan data uji diluar data yang digunakan dalam *fitting* regresi (Pranowo *et al.*, 2006). Validasi silang merupakan teknik untuk menilai suatu hasil analisis statistik seberapa jauh dapat diimplementasikan ke dalam set data independen. Hal ini terutama digunakan untuk tujuan prediksi, yaitu untuk memperkirakan seberapa akurat model prediksi yang dibuat untuk dapat diimplementasikan. Satu putaran validasi silang melibatkan partisi sampel data ke dalam himpunan bagian komplementer, lalu melakukan analisis terhadap satu subset (disebut *training set*), dan memvalidasi analisis terhadap subset lain (disebut *test set*).

Menurut (Kohavi, 1995), beberapa tipe dan cara validasi silang yaitu (a) *leave-one-out*, (b) *K-fold cross validation*, dan (c) *2-fold cross validation*.

a. *Leave-one-out*

Seperti diketahui dari namanya, *leave-one-out* (LOOCV) yang berarti meninggalkan satu untuk validasi silang, yaitu dengan melibatkan sampel pengamatan tunggal dari sampel asli 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*-lipatnya sama dengan jumlah sampel asli pengamatan.

b. *K-fold cross validation*

Di dalam validasi silang *k-fold*, seluruh sampel asli dibagi secara acak ke dalam *k*-sub sampel. dari sebanyak *k*-sub sampel, sebuah sub sampel tunggal dipertahankan sebagai validasi data untuk pengujian model, dan sisanya *k*-1 sub sampel digunakan sebagai *training set*. Proses validasi silang yang kemudian berulang *k*-kali (lipatan), dengan masing-masing *k*-sub sampel 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.

c. *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. METODELOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan juni 2016.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode *experimental laboratory*. Langkah penelitian awal yang dilakukan adalah survei dan pengambilan sampel tumbuhan sambiloto (*Andrographis paniculata*) di tiga daerah dengan ketinggian berbeda, dan dilanjutkan dengan ekstraksi pada simplisia. Ekstraksi dilakukan dengan cara diultrasonikasi selama satu jam lalu dilanjutkan dengan maserasi menggunakan metanol 96%. Dari proses tersebut didapatkan ekstrak kental yang dikeringkan hingga menjadi ekstrak kering dengan ditambah dengan aerosil. Penentuan model klasifikasi dan kandungan fitokimia daun sambiloto dengan menggunakan NIR dan kemometrik.

Analisis dilakukan dengan melihat pola spektra yang dihasilkan melalui NIR dikombinsi dengan analisis kemometrik yaitu PLS, LDA, SVM, SIMCA, dan CA. Untuk model klasifikasi dan total kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid dalam sampel nyata digunakan model yang telah tervalidasi pada penelitian sebelumnya. model klasifikasi dan total kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid daun sambiloto yang diperoleh dari tiga daerah (Madura, Jember, Malang) dengan ketinggian berbeda kemudian dibandingkan.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektroskopi NIR (Brimrose Luminar 3070), perangkat lunak Brimrose, perangkat lunak Prospect,

perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2* (Camo), spektrofotometer UV-Vis, *ultrasonicator* (Elmasonic), rotavapour, oven (Mettler), timbangan analitik digital (Sartorius), blender, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, mortar, stamper, corong, cawan porselin, botol vial, sendok ekstrak, dan ayakan B-60.

3.3.2 Bahan

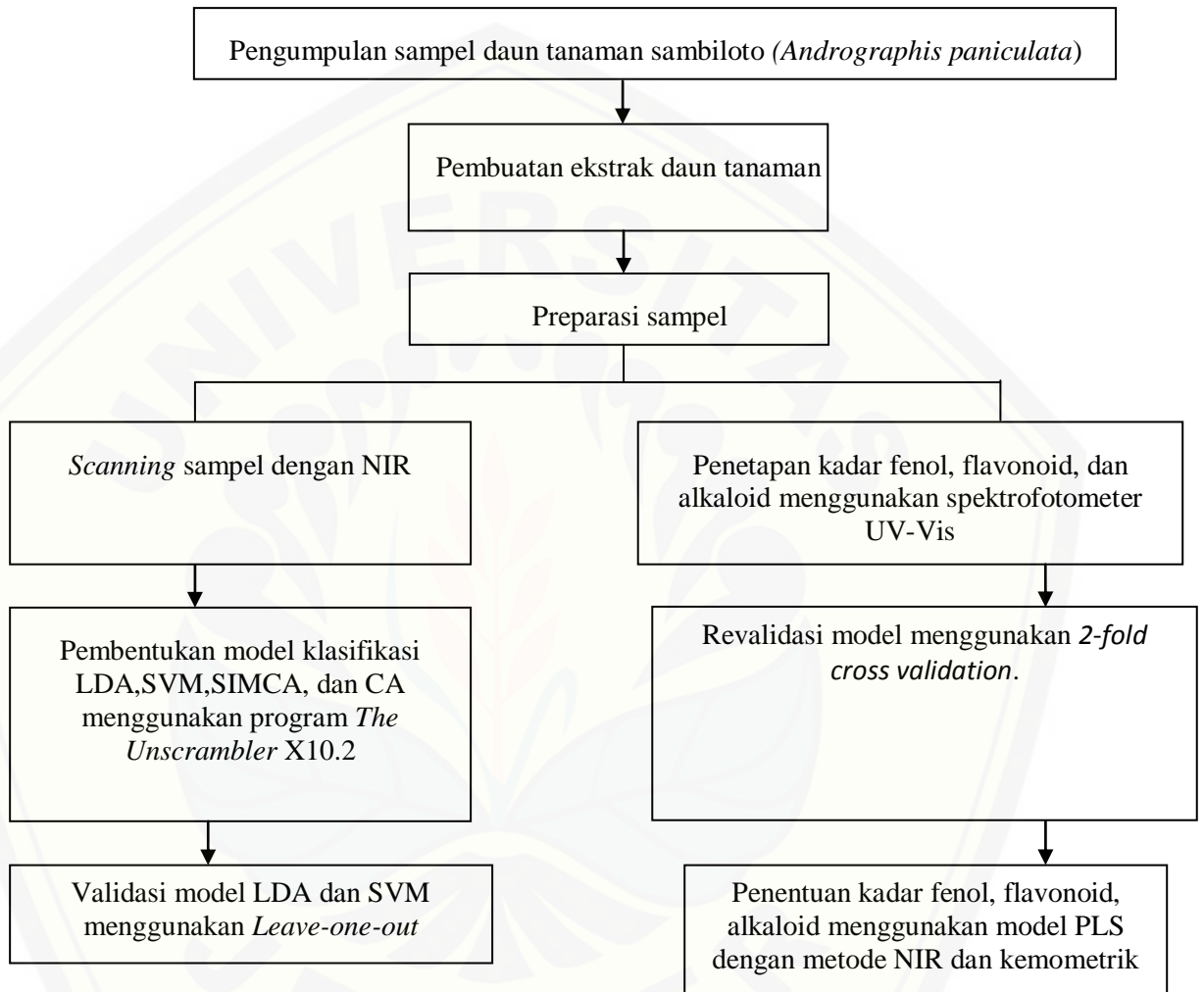
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai *training set* yang berasal dari Madura, Jember, dan Malang seperti pada Tabel 3.1, sampel *test set* fenol (juwet, sirih merah, mimba, sambiloto, binahong, belimbing, lamtoro, mangga, dan papaya), sampel *test set* flavonoid (juwet, sirih merah, mimba, sambiloto, binahong, lamtoro, mengkudu, dan kopi robusta muda), sampel *test set* alkaloid (juwet, sirih merah, mimba, sambiloto, putrid malu, sirsak, dan papaya), metanol 96% teknis, kertas saring, aluminium foil, aerosil.

Tabel 3.1 Daftar kode sampel daun sambiloto

Nama Daerah		Nama Batra	Kode	Ketinggian Wilayah
Pulau Madura	Kec.Kamal	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SA	7 mdpl
	Kec. Lenteng	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SB	22 mdpl
	Kec. Pakong	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SC	44 mdpl
Kabupaten Jember	Kec. Jubung	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SD	59 mdpl
	Kec. Sumberbaru	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SE	73 mdpl
	Kec. Sumbersari	Lahan Rumah Warga	SF	99 mdpl
Kabupaten Malang	Kec. Lawang	Balai Pengobatan Tombo Ati	SG	512 mdpl
	Kec. Singosari	Lahan TOGA Pedagang Jamu	SH	559 mdpl
	Kec. Batu	UPT Materia Medica	SI	1040 mdpl

3.4 Alur penelitian

Digram alur penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 sebagai berikut :



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengumpulan Sampel

Langkah awal dalam proses pengambilan sampel adalah survei. Survei dilakukan untuk mengetahui tersedianya bahan di suatu daerah yg telah ditetapkan sebelumnya. Pemilihan teknik pengambilan sampel merupakan upaya

penelitian untuk mendapat sampel yang representatif (mewakili), sehingga dapat diperoleh informasi yang cukup untuk menggambarkan populasinya. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah sampel dengan maksud (*purposive sampling*). Pengambilan sampel dilakukan hanya atas dasar pertimbangan peneliti saja yang menganggap unsur-unsur yang dikehendaki telah ada dalam anggota sampel yang diambil.

Sampel diperoleh dari 3 daerah. Sampel pertama diperoleh dari Kabupaten Madura yaitu lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Kamal, lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Pakong, dan lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Lenteng. Sampel kedua diambil dari daerah Kabupaten Jember yaitu lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Sumberbaru, lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Silo, dan lahan TOGA masyarakat Jubung. Sampel ketiga diambil dari daerah Kabupaten Malang yaitu UPT Materia Medica Kecamatan Batu, balai pengobatan Tombo Ati Kecamatan Lawang, dan di sebuah lahan TOGA pedagang jamu Kecamatan Singosari.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak

Daun basah terlebih dahulu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah itu dioven. Daun yang sudah kering diblender hingga halus kemudian diayak. Serbuk daun ditimbang sebanyak 50 gram diletakkan dalam erlenmeyer. Ditambahkan 150 ml metanol 96% ke dalam erlenmeyer kemudian diultrasonikasi selama 1 jam, setelah 1 jam diultrasonikasi kemudian didiamkan selama 24 jam (metode maserasi). Ekstrak cair yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring dan corong buchner. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotavapor pada suhu 50 °C untuk didapatkan ekstrak kental.

3.5.3 Preparasi Sampel

Ekstrak kental yang didapatkan dari hasil ekstraksi ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dikeringkan dengan aerosil. Selanjutnya ekstrak digerus sampai halus dan disimpan dalam vial yang telah diberi label.

3.5.4 Scanning NIR

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

3.5.5 Pembentukan Model Klasifikasi

Data spektrum yang diperoleh dari *scanning* NIR diolah dengan menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler versi X 10.2*. Pembentukan model klasifikasi dilakukan dengan metode *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA), dan *Cluster Analysis* (CA) dengan langkah-langkah sebagai berikut: software *The Unscrambler versi X 10.2* dibuka dan data dimasukkan dengan memilih *file, import data*, lalu dipilih *Brimrose*, kemudian masukkan file *scanning* sampel, sehingga akan muncul tampilan data dengan masing-masing panjang gelombang. Selanjutnya dibuat kategori objek. Kategori tersebut yaitu nama daerah masing-masing wilayah sesuai dengan kode sampel yang terdapat pada table 3.1. Objek dikelompokkan dengan memilih *define range* dan *column range* diisi dengan kategori pada kolom 1 dan absorbansi pada kolom yang lain.

Selanjutnya di buat model klasifikasi sebagai berikut :

1. Model *Linear Discriminant Analysis* (LDA)

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

2. Model *Support Vector Machines* (SVM)

Model dibuat dengan klik *task, analyze*, lalu dipilih *Support Vector Machines*. Jika hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya, maka model klasifikasi tersebut dikatakan valid apabila akurasi yang diperoleh sebesar 100%.

3. Model *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA)

Model dibuat dengan membuat model PCA terlebih dahulu dengan klik *task, analyze*, lalu dipilih *Principal Component Analysis*. Selanjutnya dibuat model SIMCA dengan klik *task, analyze*, lalu dipilih *predict* dan klik *Soft Independent Modelling of Class Analogies*. Jika hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya, maka model klasifikasi tersebut dikatakan valid apabila akurasi yang diperoleh sebesar 100%

4. Model *Cluster Analysis* (CA)

Model dibuat dengan klik *task, analyze*, lalu dipilih *Cluster Analysis*. Jika hasil prediksi dari model telah sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya, maka model klasifikasi tersebut dikatakan valid apabila akurasi yang diperoleh sebesar 100%.

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

1. Penetapan Kadar Fenol Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

a) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

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

b) Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

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

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

Penentuan kadar fenol total dilakukan dengan cara sampel sebanyak 400 µl dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan standar ditambahkan dengan 400 µl Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Setelah itu didiamkan selama 6 menit. Setelah 6 menit, ditambahkan 3200 µl Na₂CO₃ (75 g/L air). Campuran ini didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 628 nm. Blangko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak.

2. Penetapan Kadar Flavonoid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

a) Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

Larutan baku dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan etanol 10 mL. Satu seri konsentrasi larutan kuersetin dalam etanol dibuat dari larutan baku, yaitu dengan rentang konsentrasi 100 - 300 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kuersetin dengan

memipet sejumlah tertentu larutan induk, dilarutkan dengan 3 mL etanol ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10% ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M ditambahkan aquadest sampai tanda, didiamkan 30 menit (hasil optimasi), diukur absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm. Blangko yaitu semua reagen tanpa larutan standar. Dari data ini dibuat persamaan regresi antara konsentrasi kuersetin dengan serapan.

b) Penentuan kadar flavonoid total

Ekstrak ditimbang sebanyak 40 mg, dilarutkan dengan etanol 10 mL. Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dilarutkan 3 mL etanol, ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%, ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M, ditambahkan aquadest sampai tanda, didiamkan 30 menit (hasil optimasi), diukur absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm. Blangko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak.

3. Penetapan Kadar Alkaloid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

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

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

c) Preparasi larutan standar kafein

Larutan baku dibuat dengan menimbang 40 mg kafein dilarutkan dengan etanol 10 mL. Satu seri konsentrasi larutan kafein dalam etanol dibuat dari larutan baku, yaitu dengan range konsentrasi 50 – 200 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kafein dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, ditambahkan 2 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 2 mL larutan BCG (Bromocresol Green) dan diekstraksi dengan 3 mL kloroform sebanyak tiga kali. Diambil fase kloroform dimasukkan labu ukur 10 mL ditambahkan kloroform sampai batas volume. Absorbansi

kloroform kompleks diukur pada panjang gelombang 430 nm. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak.

d) Penentuan kadar alkaloid total

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

3.5.7 Validasi model PLS dan LDA

Validasi bertujuan untuk memperkirakan seberapa akurat model prediksi yang dibuat untuk dapat diimplementasikan.

1) *Leave-One-Out* (LOOCV)

Set validasi ini dibuat dengan meninggalkan satu data dari masing-masing daerah pada setiap perwakilan dataran berdasarkan kategori Madura, Jember, dan Malang. Hal ini dilakukan berulang pada setiap observasi dalam sampel yang digunakan sebagai data validasi model LDA.

2) Revalidasi Model PLS Flavonoid, Fenol, Dan Alkaloid Dengan Metode *2-fold cross validation*

Sebelum model digunakan pada penelitian terlebih dahulu dilakukan validasi ulang menggunakan metode *2-fold cross validation*. Metode tersebut dilakukan menggunakan sampel independen (*test set*) dengan konsentrasi yang telah diketahui. Konsentrasi dari sampel tersebut didapat dengan melakukan penentuan kadar menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Setelah kadar didapat kemudian hasil kadar diolah untuk divalidasi menggunakan metode *2-fold cross validation*. Korelasi antara konsentrasi hasil prediksi model dengan konsentrasi teoritis diketahui dengan melihat nilai koefisien determinasi (R^2) prediksi,

RMSEC, dan RMSECV. Suatu model PLS dikategorikan sebagai model yang dapat dipercaya bila nilai korelasi dan nilai galat yang memiliki kedekatan untuk setiap tahapan pembuatan model. Korelasinya harus bernilai tinggi sedangkan galatnya bernilai rendah (Baranska, 2005).

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

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Metode spektroskopi inframerah dekat (NIR) dan kemometrik dapat digunakan untuk mengklasifikasikan ekstrak metanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari daerah Madura, Jember, dan Malang. Model klasifikasi yang terbentuk yaitu *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Support Vector Machines* (SVM), dan *Soft Independent Modelling of Class* (SIMCA) memiliki hasil 100%.
2. Kandungan rata-rata fenol total Madura, Jember, Malang adalah 54,509; 88,844; 164,255 mg GAE/g ekstrak, kandungan rata-rata flavonoid total adalah 19,2352; 28,8770; 34,469 mg QE/g ekstrak, dan kandungan alkaloid total adalah 35,633; 60,700; 66,245 mg KE/g ekstrak.

5.2 Saran

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

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

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N. 2016. Penentuan Kadar Alkaloid Pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Nir Dan Kemometrik. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi.
- Aksara, R., Musa, W.J.A., & Alio, L. 2003. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica L.*). *Jurnal Entropi*. **7** (1).
- Apak, G., Demirata, O., Celik, B., Berker, & Ozyurt. 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPRAC Assay. *Molecules*. **12**: 1496-1547.
- Awa, K., Okumura, T., Shinzawa, H., Otsuka, M & Ozaki, Y. 2008. Self-Modeling Curve Resolution (SMCR) Analysis Of Near-Infrared (NIR) Imaging Data of Pharmaceutical Tablets. *Analytica Chimica Acta*. **619**: 81-86.
- Azzahra, F., Lukmayani, Y., Sajidah, E.R. 2015. *Isolasi dan Karakterisasi Alkaloid dari Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav)*. ISSN 2460-6472. *Braz. J. Microbiol.*, 38: 381-4
- Berrueta, L. A., AlonsoSalces, R. M. & Héberger, K. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography*. **1158**: 196–214.
- Bilson Simamora. 2005. *Analisis Multivariat Pemasaran Edisi Pertama*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Bro, R. 2003. Multivariate calibration : What is in chemometrics for the analytical chemist? *Analytica Chimica Acta*. **500**: 185–194.

- Camo. 2005. The Unscrambler Methods. [http://www.camo.com/downloads/U9.6% 20pdf% 20manual/ The% 20Unscrambler% 20Methods.pdf](http://www.camo.com/downloads/U9.6%20pdf%20manual/The%20Unscrambler%20Methods.pdf). [27 April 2015].
- Coomes, D. A., & Allen, R. B., 2007. Effects of Size, Competition, and Altitude on Tree Growth, *J. Ecol.*, 95, 1084-1097.
- Copriyadi, J., Yasmi, E. & Hidayati. 2005. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kumarin dari Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC). *Jurnal Biogenesis*. **2**: 13-25.
- Dai, J. & Mumper, R. 2010. Plant Phenolics : Extraction, Analysis dan Their Antioxidant dan Anticancer Properties. *Molecules*. **15**: 7313-7352.
- Dalimunthe, A. 2009. *Interaksi Sambiloto (Andrographis paniculata)*. Medan: Departemen Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Danasuryani., Purwanto, Y. A., Budiastara, I. W & Syamsu, K. 2014. Prediction Of Catechin Content in Gambier (*Uncaria gambir* Roxb.) Using NIR Pectroscopy. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. **24** (1): 43-52.
- 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 Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter Stdanar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Duryat, 2008. Pengaruh Faktor Fisiografis terhadap Produksi Damar Mata Kucing (*Shorea Javanica* K. Et V) di Pekon Pahmungan Kecamatan Pesisir Tengah Kabupaten Lampung Barat, dalam Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian kepada Masyarakat. *Lembaga Penelitian Universitas Lampung, Lampung*. 48-54.

- Irwanto, 2006, Pengaruh Perbedaan Naungan terhadap Pertumbuhan Semai *Shorea* sp. di Persemaian, *Tesis*, Sekolah Pascasarjana UGM Jurusan Ilmu-Ilmu Pertanian, Yogyakarta.
- Januwati, M., Supriadi, M. Yusron, E.R. Pribadi, S. Wahyuni, Setiawan, & W.J. Priambodo. 2005. Modifikasi lingkungan mikro untuk meningkatkan mutu simplisia sambiloto. Laporan Teknis Penelitian. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 84-94.
- Jember Kota. 2016. Geografis dan Topografi Kota Jember. <https://jemberkab.go.id/selayang-pandang/geografis-dan-topografi/>. [diakses tanggal 25 Oktober 2016.]
- Karlinasari, L., Sabed, M., Wistara, N. J., Purwanto, Y. A., & Wijayanto, H. 2012. Karakteristik Spektra Absorbansi NIR (Near Infra Red) Kayu *Acacia mangium* WILLD. Pada 3 Umur Berbeda. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. **6** (1): 45-52.
- Khoddami, A., Wilkes, M., dan Robert, T. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 18: 2328-2375.
- Kumar, A., Ilavarasan, R., Jayachandran, T., Deecaraman, M., Aravindan, P., Padmanabhan, N., & Krishan, R.V., 2008, Anti-Diabetic Activity of *Syzygium Cumini* and its Isolated Compound Against *Streptozotocin*-Induced Diabetic Rats, *J. Med. Plant. Res.*, **2**(9): 246-9.
- Kumar, S., & Pandey, A. 2013. Chemistry dan biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*.
- Kumoro, A. C., & Hasan, M. 2006. Modelling of andrographolide extraction from *Andrographis paniculata* leaves in a soxhlet extractor. Proceedings of the 1st International Conference on Natural Resources Engineering & Technology. 24-25th July 2006; Putrajaya, Malaysia, 664-670.
- Kuno, A., & Matsuo, M. 2000. Nondestructive speciation of solid mixtures by multivariate calibration of x-ray absorption near edge structure using artificial neural networks and partial least square. *Analytic Sci*. Vol. **16** : 597-602.

- Levent, A. M. 2002. HPLC Method For The Analysis of Paracetamol, Caffeine, and Dipyrone. *Turk. J. Chem.* **26**: 521-528.
- Malang Kota. 2016. Geografis Kota Malang. [Serial online]. <http://malangkota.go.id/sekilas-malang/geografis/>. [diakses tanggal 25 Oktober 2016]
- Masatoki, K. & Hirokazu, T. 2000. Fluorometric Reactions Of Purines and Determination of Caffeine. *Talanta.* **36**: 1171-1175.
- Miller, J., & Miller, J. 2010. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Sixth Edition. Harlow: Pearson Education.
- Miller, J., & Miller, J. 2000. *Statistic dan Chemometrics for Analytical Chemistry*. Fourth Edition. Harlow: Pearson Education.
- Mukhriani. 2014. ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol **8**. No 2.
- Nugroho Y. A., Nuratmi, B., & Wiratno, W. 2000. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Tumbuhan Obat Indonesia yang Aman. Prosiding Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia (Simposium Penelitian bahan Obat alami X). Sentra P3T Propinsi Jawa Timur. Surabaya. 150-157. Phenolic Compounds. *Molecules.* **18**: 2328-2375.
- Pietta, P. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* **63**: 1035–1042.
- Pramono, S., & Katno. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi, UGM.
- Qing-qin, X., Ming, D. L., Wang, J. P., & Bai, A.H. 2002. Direct Determination of Caffeine and Theophylline by Gas Chromatography. *Fenxi Kexue Xuebao.* **18**: 520-525.

- Rappoport, Z. 2003. *The Chemistry of Phenol*. Jerusalem : John Wiley & Sons, Ltd.
- Ratnasari, F.A., Wulandari, L., Kristiningrum N. 2015. Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Spektroskopi NIR dan Kemometrik. 1-6.
- Samson, E ., Semangun, H., & Rondonuwu, F. S. 2013. Analisis Kandungan Karotenoid Ekstrak Kasar Buah Pisang Tongkat Langit (*Musa troglodytarum*) Dengan Menggunakan Spektroskopi NIR (Near Infrared). *Traditional Medicine Journal*. **18** (1): 17-21.
- Schwanninger, M., Rodrigues., & Fackler, K. J. C. 2011. A Review of Band Assignments in Near Infrared Spectra of Wood & Wood Components. *J.Near Infrared Spectroscopy*. **19**: 287-308.
- Stanimirova, I., Ustun, B., Cajka, T., Riddlelova, K., Hajslova, J., Buydens, L. M. C & Walczak, B. 2010. Tracing the Geographical Origin of Honeys Using the GCxGC-MS & Pattern Recognition Techniques. *Food Chemistry*. **118**.
- Stchur, P., Clevedan, D., Zhou, J., & Michel, R. 2002. A review of recent applications of near infrared spectroscopy, dan the characteristics of a novel PbS CCD array-based near infrared spectrometer. *Appl Spect Rev*. **37**: 383-428.
- Sun, D. W. 2008. *Modern Techniques For Food Authentication*: Academic Press.
- Sutedjo. 1989. *Fotosintesis Tumbuhan*. Bandung: Rineka Cipta.
- Tursiman, Ardiningsih., & Nofiani. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kdanis (*Garcinia dioica Blume*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. **1** (1): 45-48.
- Varmuza, K. 2000. *Applied Chemometrics : From Chemical Data to Relevant Information*. 1st Conference on Chemistry Cairo University.

Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherldans : Springer.

Winarto, 2003. *Sambiloto Budidaya Dan Pemanfaatan untuk Obat*. Penebar Swadaya Jakarta.

Wulandari L., Retnaningtyas Y., Nuri., & Lukman, H. 2016. Analysis of Flavonoid in Medicinal Plant Extract Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. Vol. 2016: 1-6.

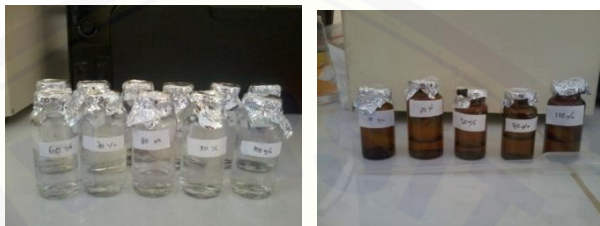
Xu, B., & Chang, S. 2007. A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *Journal Food Science*. **72**: 159-166.

Zou, H., Yang, G., Qin, Z., Jiang, W., Du, A., & Aboul-Enein, H. 2005. Progress in quality control of herbal medicine with IR fingerprint spectra. *Analytical Letters*. **38**: 1457–1475.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

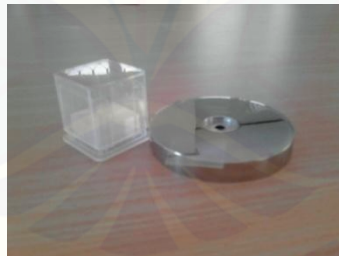
A. 1 Sampel *Training Set* dan *Test Set*

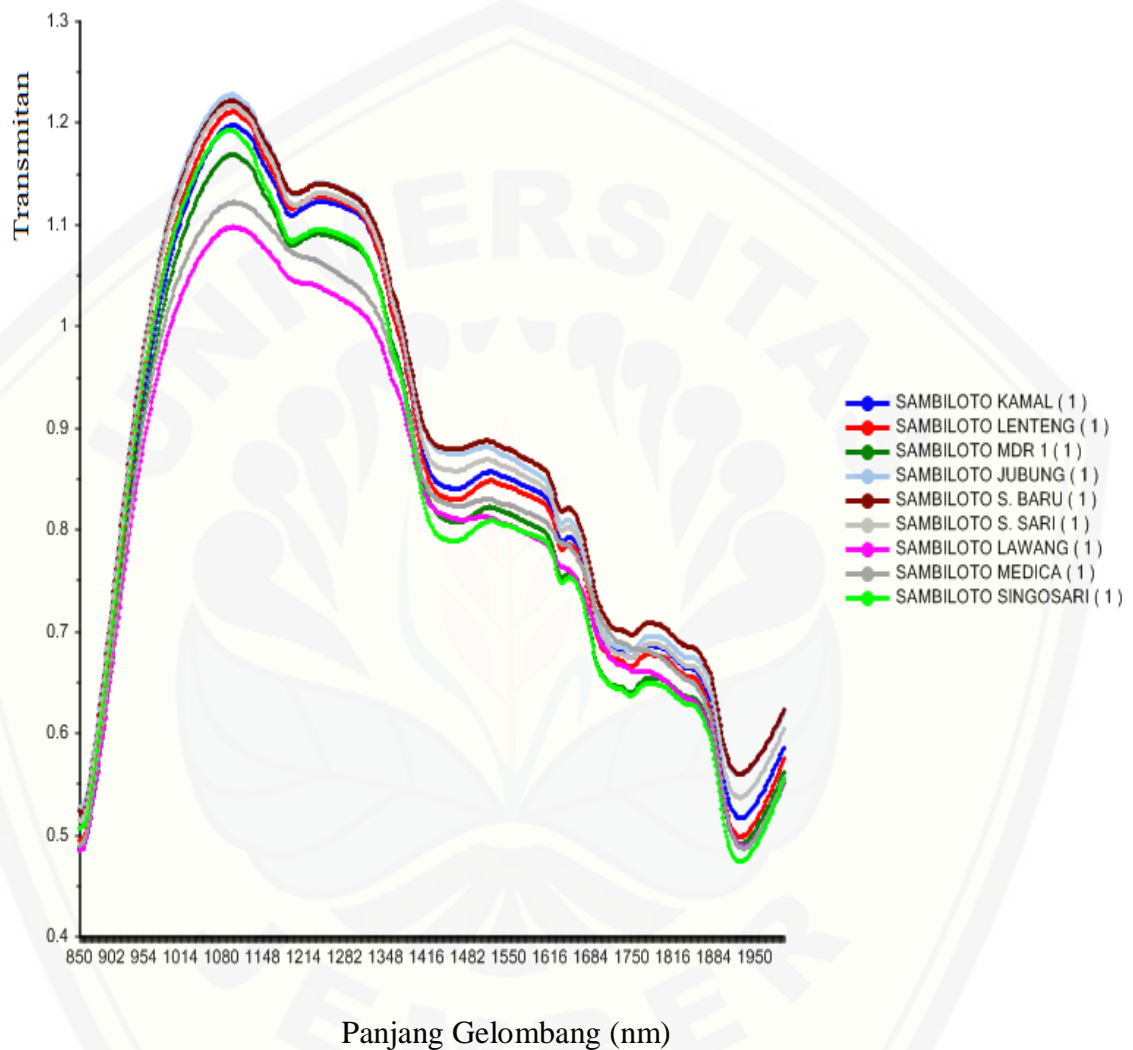


A. 2 Spektrofotometer NIR



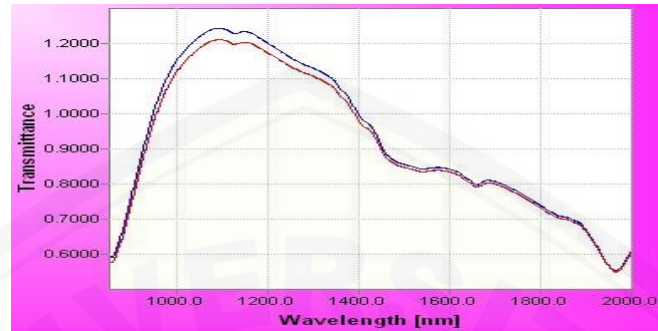
A. 3 Kompartemen Sampel



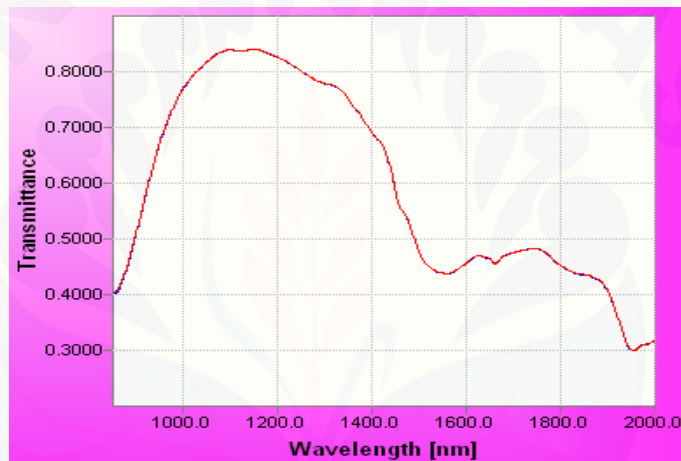
LAMPIRAN B DATA SPEKTRUM INFRAMERAH YANG DIHASILKAN**B.1 Spektrum *Training set***

B.2 Spektrum Standar Uji Spektrofotometer UV-Vis

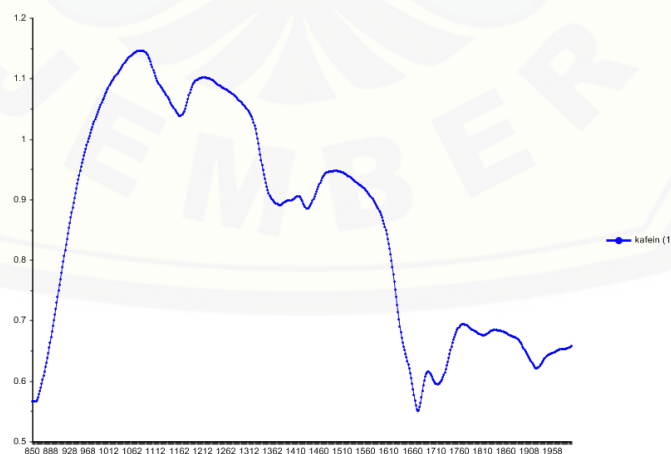
1. Spektrum Standar Kuersetin



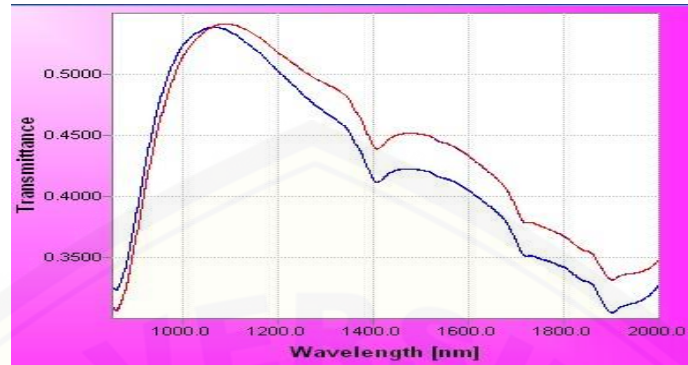
2. Spektrum Standar Asam Galat



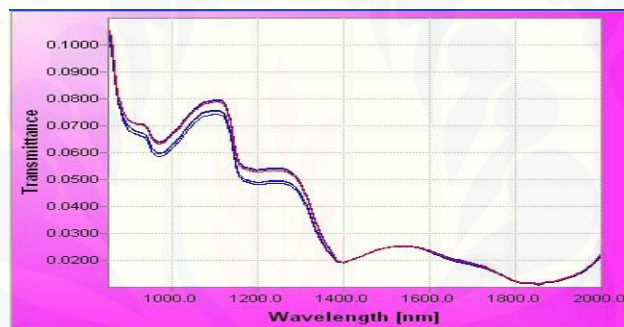
3. Spektrum Standar Kafein



B.3 Spektrum Aerosil



B.4 Spektrum Aquadest



LAMPIRAN C IDENTITAS SAMPEL EKSTRAK**C.1 Sampel Training Set**

NO	Kode	Sampel
1.	SA	Sambiloto Kamal
2.	SB	Sambiloto Lenteng
3.	SC	Sambiloto Pakong
4.	SD	Sambiloto Jubung
5.	SE	Sambiloto Sumberbaru
6.	SF	Sambiloto Summersari
7.	SG	Sambiloto Lawang
8.	SH	Sambiloto Singosari
9.	SI	Sambiloto Batu

C.2 Sampel Test Set

1. Sampel Test Set Fenol

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

2. *Test Set* Flavonoid

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

3. *Test Set* Alkaloid

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

**LAMPIRAN D PEMBUATAN LARUTAN PADA PENETAPAN KADAR
FENOL, FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL**

D.1 Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Fenol Total

1. Larutan Induk Asam Galat

- Larutan induk

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

- Pengenceran

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. Larutan Ekstrak Sampel *Test Set* Fenol

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

3. Pembuatan Larutan Folin Ciocalteu 1:10

Sebanyak 1 ml reagen Folin Ciocalteu dilarutkan dalam 10 ml akuades

4. Pembuatan Reagen Larutan Na_2CO_3

$75\% = \frac{75 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$ Ditimbang 75 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam aquadest

ad 100 ml

D.2 Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Flavonoid Total

1. Larutan Induk Kuersetin

➤ Larutan induk

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

➤ Pengenceran

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. Pembuatan Larutan Ekstrak Sampel *Test Set* Flavonoid

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

3. Pembuatan Larutan AlCl_3 10%

$$\frac{1 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = 10\% , \text{ Ditimbang } 1 \text{ g } \text{AlCl}_3 \text{ dilarutkan dalam aquadest ad } 10 \text{ ml}$$

4. Pembuatan Larutan Kalium Asetat 1M

$$\text{Molar} = \frac{\text{Massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{volume (ml)}} ;$$

$$\text{Mr kalium asetat} = 98$$

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

$$\text{Massa} = 0,98$$

D.3 Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Alkaloid Total

1. Larutan Induk Kafein

- Larutan induk

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

- Pengenceran

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

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

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

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

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

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

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

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

2. Pembuatan Larutan Ekstrak Sampel *Test Set* Alkaloid

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

3. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 4,7

Ditimbang 7,16 g Na_2HPO_4 dan 4,202g Asam sitrat dilarutkan dalam akuades 100 ml.

4. Pembuatan Larutan Bromecresol Green (BCG)

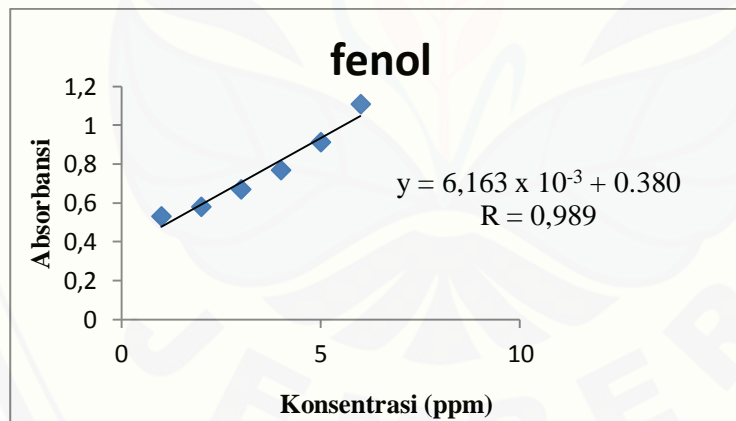
Ditimbang 6,98 mg BCG dilarutkan dalam 0,3 ml 2N NaOH dan 0,5 ml akuades diultrasonik add 100 ml.

**LAMPIRAN E HASIL PENGUKURAN KADAR FENOL, FLAVONOID,
DAN ALKALOID TOTAL SAMPEL TEST SET DENGAN
SPEKTROFOTOMER UV-VIS**

E.1 Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total Sampel *Test Set* Dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Standar : Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
20,08	0,531
40,16	0,58
50,2	0,67
60,24	0,769
80,32	0,913
120,48	1,109



- Contoh Perhitungan

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

- ✓ Replikasi 1 Sampel A

$$0,507 = 0,006163x + 0,380$$

$$x = 20,61 \mu\text{g/ml}$$

- Dalam 4 ml : $20,61 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} = 82,44 \mu\text{g}$

- Dalam 10 ml : $\frac{82,44 \mu\text{g}}{0,4 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 2061 \mu\text{g} = 2,06 \text{ mg}$
 $:\frac{2,06 \text{ mg}}{0,025 \text{ g}} = 82,4 \text{ mg GAE/g ekstrak}$

✓ Replikasi 2 Sampel A

$$0,504 = 0,006163x + 0,380$$

$$x = 20,12 \mu\text{g/ml}$$

- Dalam 4 ml : $20,12 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} = 80,48 \mu\text{g}$
- Dalam 10 ml : $\frac{80,48 \mu\text{g}}{0,4 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 2012 \mu\text{g} = 2,01 \text{ mg}$
 $:\frac{2,01 \text{ mg}}{0,0253 \text{ g}} = 79,52 \text{ mg GAE/g ekstrak}$

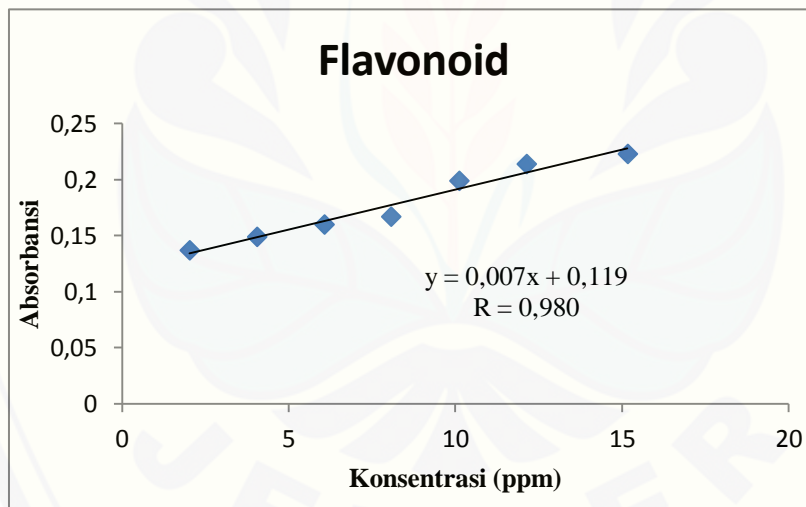
Hasil Perhitungan Ekstrak Sampel *Test Set* Fenol

Sampel <i>Test Set</i>	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg GAE/g ekstrak	Rata-rata mg GAE/g ekstrak \pm SD
A	25	0,625	158,920	156,239 \pm 2,33
	25,2	0,621	155,175	
	25,5	0,623	154,623	
B	25,1	0,601	142,865	142,136 \pm 3,02
	25,6	0,599	138,807	
	25	0,603	144,735	
C	25,2	0,630	160,972	161,622 \pm 1,69
	25,4	0,631	160,342	
	25,1	0,633	163,551	
D	25	0,507	82,427	80,595 \pm 1,59 \pm
	25,3	0,504	79,526	
	25	0,503	79,831	

E.2 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total Sampel *Test Set* Dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Standar : Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
2,023	0,137
4,046	0,149
6,069	0,160
8,092	0,167
10,115	0,199
12,138	0,214
15,172	0,223



- Contoh Perhitungan

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

✓ Replikasi 1 Sampel D

$$0,170 = 0,007115x + 0,1198$$

$$x = 7,005 \mu\text{g/ml}$$

❖ Dalam 10 ml (1)

$$7,005 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 70,55 \mu\text{g}$$

❖ Dalam 10 ml (2)

- $70,55 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 1411 \mu\text{g} = 1,411 \text{ mg}$

- $\frac{1,411 \text{ mg}}{0,0403\text{g}} = 35,01 \text{ mg QE/g ekstrak}$

✓ Replikasi 2 Sampel D

$$0,169 = 0,007115x + 0,1198$$

$$x = 6,915 \mu\text{g/ml}$$

❖ Dalam 10 ml (1)

$$6,915 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 69,15 \mu\text{g}$$

❖ Dalam 10 ml (2)

- $69,15 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 1382 \mu\text{g} = 1,382 \text{ mg}$

- $\frac{1,382\text{mg}}{0,041\text{g}} = 34,46 \text{ mg QE/g ekstrak}$

-

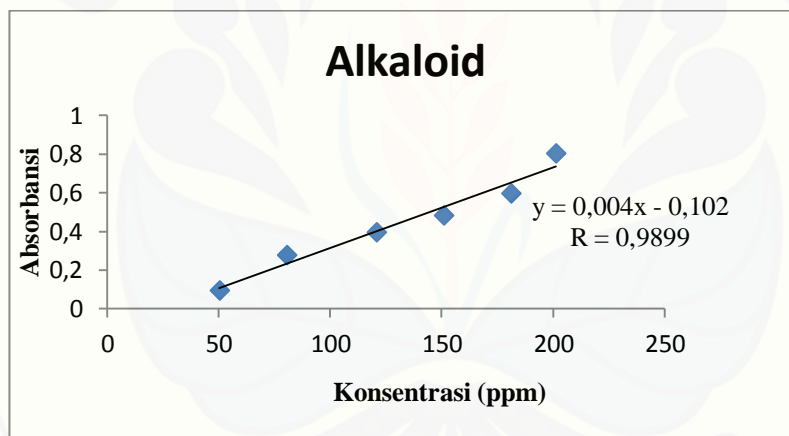
Hasil Perhitungan Ekstrak Sampel *Test Set* Flavonoid

Sampel <i>Test Set</i>	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg QE/g ekstrak	Rata-rata mg QE/g ekstrak ± SD
A	40,3	0,188	47,570	46,830 ±1,03
	40	0,185	45,825	
	40,1	0,187	47,106	
	40,2	0,185	45,591	
B	40,5	0,184	44,116	45,527 ±1,37
	40,3	0,187	46,873	
	40,2	0,156	25,313	
	40	0,155	24,736	
C	40,1	0,158	26,778	25,609 ±1,04
	40,3	0,170	35,015	
	40,1	0,169	34,489	
	40	0,172	36,683	
D	40,3	0,170	35,015	35,396 ±1,14
	40,1	0,169	34,489	
	40	0,172	36,683	
	40,3	0,170	35,015	

E.3 Hasil Pengukuran Kadar Alkaloid Total Sampel *Test Set* Dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Standar : Kafein

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
50,3	0,095
80,48	0,278
120,72	0,396
150,9	0,483
181,08	0,597
201,2	0,804



- Contoh Perhitungan

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

- Replikasi 1

$$0,463 = 0,004x - 0,102$$

$$x = 141,25 \mu\text{g/ml}$$

- ❖ Dalam 10 ml (1)

$$141,25 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 1412,5 \mu\text{g}$$

- ❖ Dalam 10 ml (2)

$$1412,5 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 28250 \mu\text{g} = 28,25 \text{ mg}$$

$$\frac{28,25 \text{ mg}}{0,0401 \text{ g}} = 70,099 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

- Replikasi 2

$$0,459 = 0,004x - 0,102$$

$$x = 140,25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- ❖ Dalam 10 ml (1)

$$140,25 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 1402,5 \text{ } \mu\text{g}$$

- ❖ Dalam 10 ml (2)

$$1402,5 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} = 28050 \text{ } \mu\text{g} = 28,05 \text{ mg}$$

$$\frac{28,05 \text{ mg}}{0,04 \text{ g}} = 70,125 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

Hasil Perhitungan Ekstrak Sampel *Test Set* Alkaloid

Sampel <i>Test Set</i>	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg KE/g ekstrak	Rata-rata mg KE/g ekstrak \pm SD
A	40,3	0,432	66,253	66,321 \pm 0,05
	40	0,429	66,375	
	40,1	0,430	66,334	
	40,2	0,169	33,875	
B	40,5	0,167	33,128	33,501 \pm 0,36
	40,3	0,166	33,500	
	40,2	0,243	42,910	
C	40	0,245	42,734	42,733 \pm 0,173
	40,1	0,241	42,556	
	40,3	0,460	70,25	
D	40,1	0,463	70,099	70,158 \pm 0,08
	40	0,459	70,125	

LAMPIRAN F Hasil Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Fenol, Flavonoid, Dan Alkaloid Total

1. Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Fenol Total

Sample Name:
Date:
Operator:

Wavelength Scan
Data Mode: ABS
Scan Range: 800.0-500.0nm
Slit Width: 4nm
Speed(nm/min): 800nm/min
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ALL Data		ALL Data		ALL Data		ALL Data	
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.730	799.0	0.732	798.0	0.734	797.0	0.736
798.0	0.738	795.0	0.740	794.0	0.742	793.0	0.744
792.0	0.747	791.0	0.749	790.0	0.751	789.0	0.753
788.0	0.755	787.0	0.757	786.0	0.759	785.0	0.761
784.0	0.763	783.0	0.765	782.0	0.767	781.0	0.769
780.0	0.772	779.0	0.774	778.0	0.776	777.0	0.778
776.0	0.781	775.0	0.783	774.0	0.785	773.0	0.788
772.0	0.790	771.0	0.792	770.0	0.794	769.0	0.796
768.0	0.798	767.0	0.800	766.0	0.803	765.0	0.805
764.0	0.807	763.0	0.809	762.0	0.811	761.0	0.813
760.0	0.816	759.0	0.820	758.0	0.823	757.0	0.825
756.0	0.827	755.0	0.830	754.0	0.832	753.0	0.834
752.0	0.836	751.0	0.838	750.0	0.841	749.0	0.843
748.0	0.845	747.0	0.847	746.0	0.849	745.0	0.852
744.0	0.854	743.0	0.857	742.0	0.860	741.0	0.862
740.0	0.863	739.0	0.865	738.0	0.866	737.0	0.868
736.0	0.870	735.0	0.872	734.0	0.874	733.0	0.876
732.0	0.878	731.0	0.880	730.0	0.882	729.0	0.884
728.0	0.886	727.0	0.889	726.0	0.891	725.0	0.893
724.0	0.895	723.0	0.897	722.0	0.899	721.0	0.901
720.0	0.903	719.0	0.905	718.0	0.907	717.0	0.908
716.0	0.910	715.0	0.912	714.0	0.914	713.0	0.916
712.0	0.918	711.0	0.920	710.0	0.921	709.0	0.923
708.0	0.925	707.0	0.927	706.0	0.929	705.0	0.931
704.0	0.933	703.0	0.935	702.0	0.937	701.0	0.938
700.0	0.940	699.0	0.942	698.0	0.944	697.0	0.945
696.0	0.947	695.0	0.948	694.0	0.950	693.0	0.952
692.0	0.953	691.0	0.955	690.0	0.956	689.0	0.958
688.0	0.959	687.0	0.961	686.0	0.963	685.0	0.964
684.0	0.965	683.0	0.966	682.0	0.968	681.0	0.970
680.0	0.971	679.0	0.972	678.0	0.974	677.0	0.975
676.0	0.976	675.0	0.977	674.0	0.978	673.0	0.979
672.0	0.980	671.0	0.982	670.0	0.983	669.0	0.984
668.0	0.985	667.0	0.986	666.0	0.986	665.0	0.987
664.0	0.988	663.0	0.989	662.0	0.990	661.0	0.991
660.0	0.992	659.0	0.993	658.0	0.993	657.0	0.994
656.0	0.994	655.0	0.995	654.0	0.996	653.0	0.996
652.0	0.997	651.0	0.998	650.0	0.999	649.0	0.999
648.0	1.000	647.0	1.000	646.0	1.001	645.0	1.001
644.0	1.001	643.0	1.001	642.0	1.002	641.0	1.002
640.0	1.002	639.0	1.002	638.0	1.002	637.0	1.002
636.0	1.002	635.0	1.002	634.0	1.002	633.0	1.001
632.0	1.001	631.0	1.001	630.0	1.001	629.0	1.000
628.0	1.000	627.0	0.999	626.0	0.999	625.0	0.999
624.0	0.998	623.0	0.998	622.0	0.998	621.0	0.997
620.0	0.996	619.0	0.995	618.0	0.994	617.0	0.993
616.0	0.993	615.0	0.993	614.0	0.992	613.0	0.991
612.0	0.991	611.0	0.989	610.0	0.989	609.0	0.987
608.0	0.986	607.0	0.986	606.0	0.984	605.0	0.983
604.0	0.982	603.0	0.981	602.0	0.979	601.0	0.978
600.0	0.972	599.0	0.961	598.0	0.955	597.0	0.953
596.0	0.950	595.0	0.949	594.0	0.947	593.0	0.947
592.0	0.946	591.0	0.944	590.0	0.944	589.0	0.943
588.0	0.943	587.0	0.942	586.0	0.942	585.0	0.942
584.0	0.941	583.0	0.941	582.0	0.939	581.0	0.938
580.0	0.937	579.0	0.934	578.0	0.931	577.0	0.929
576.0	0.928	575.0	0.927	574.0	0.925	573.0	0.924
572.0	0.923	571.0	0.921	570.0	0.921	569.0	0.920
568.0	0.918	567.0	0.916	566.0	0.915	565.0	0.914
564.0	0.912	563.0	0.910	562.0	0.908	561.0	0.906
560.0	0.904	559.0	0.902	558.0	0.900	557.0	0.898
556.0	0.896	555.0	0.894	554.0	0.891	553.0	0.889
552.0	0.887	551.0	0.885	550.0	0.883	549.0	0.880
548.0	0.877	547.0	0.875	546.0	0.873	545.0	0.871
544.0	0.869	543.0	0.867	542.0	0.865	541.0	0.864
540.0	0.862	539.0	0.859	538.0	0.857	537.0	0.855
536.0	0.854	535.0	0.852	534.0	0.850	533.0	0.848

2. Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Flavonoid Total

Flavonoid

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	-0.048	599.0	-0.051	598.0	-0.052	597.0	-0.052
596.0	-0.052	595.0	-0.051	594.0	-0.050	593.0	-0.049
592.0	-0.047	591.0	-0.046	590.0	-0.045	589.0	-0.043
588.0	-0.041	587.0	-0.039	586.0	-0.038	585.0	-0.037
584.0	-0.036	583.0	-0.034	582.0	-0.033	581.0	-0.034
580.0	-0.034	579.0	-0.034	578.0	-0.034	577.0	-0.035
576.0	-0.036	575.0	-0.038	574.0	-0.040	573.0	-0.043
572.0	-0.046	571.0	-0.047	570.0	-0.048	569.0	-0.049
568.0	-0.049	567.0	-0.050	566.0	-0.051	565.0	-0.051
564.0	-0.052	563.0	-0.053	562.0	-0.053	561.0	-0.054
560.0	-0.055	559.0	-0.055	558.0	-0.056	557.0	-0.056
556.0	-0.057	555.0	-0.058	554.0	-0.058	553.0	-0.057
552.0	-0.056	551.0	-0.056	550.0	-0.056	549.0	-0.056
548.0	-0.056	547.0	-0.056	546.0	-0.056	545.0	-0.056
544.0	-0.056	543.0	-0.055	542.0	-0.055	541.0	-0.055
540.0	-0.054	539.0	-0.054	538.0	-0.054	537.0	-0.053
536.0	-0.053	535.0	-0.052	534.0	-0.052	533.0	-0.051
532.0	-0.051	531.0	-0.050	530.0	-0.050	529.0	-0.050
528.0	-0.049	527.0	-0.048	526.0	-0.047	525.0	-0.047
524.0	-0.046	523.0	-0.046	522.0	-0.045	521.0	-0.044
520.0	-0.043	519.0	-0.042	518.0	-0.041	517.0	-0.040
516.0	-0.038	515.0	-0.037	514.0	-0.036	513.0	-0.034
512.0	-0.032	511.0	-0.030	510.0	-0.028	509.0	-0.025
508.0	-0.023	507.0	-0.020	506.0	-0.017	505.0	-0.014
504.0	-0.010	503.0	-0.007	502.0	-0.003	501.0	0.002
500.0	0.006	499.0	0.011	498.0	0.016	497.0	0.022
496.0	0.028	495.0	0.035	494.0	0.043	493.0	0.051
492.0	0.059	491.0	0.068	490.0	0.077	489.0	0.087
488.0	0.097	487.0	0.108	486.0	0.120	485.0	0.133
484.0	0.146	483.0	0.161	482.0	0.176	481.0	0.191
480.0	0.207	479.0	0.224	478.0	0.242	477.0	0.260
476.0	0.280	475.0	0.301	474.0	0.323	473.0	0.345
472.0	0.367	471.0	0.392	470.0	0.417	469.0	0.441
468.0	0.466	467.0	0.492	466.0	0.518	465.0	0.545
464.0	0.572	463.0	0.600	462.0	0.629	461.0	0.656
460.0	0.683	459.0	0.710	458.0	0.736	457.0	0.762
456.0	0.788	455.0	0.815	454.0	0.841	453.0	0.865
452.0	0.888	451.0	0.910	450.0	0.931	449.0	0.950
448.0	0.969	447.0	0.987	446.0	1.004	445.0	1.020
444.0	1.036	443.0	1.051	442.0	1.064	441.0	1.075
440.0	1.086	439.0	1.095	438.0	1.103	437.0	1.111
436.0	1.118	435.0	1.122	434.0	1.126	433.0	1.128
432.0	1.130	431.0	1.130	430.0	1.130	429.0	1.128
428.0	1.125	427.0	1.120	426.0	1.114	425.0	1.107
424.0	1.100	423.0	1.092	422.0	1.083	421.0	1.073
420.0	1.062	419.0	1.049	418.0	1.036	417.0	1.021
416.0	1.005	415.0	0.988	414.0	0.969	413.0	0.950
412.0	0.931	411.0	0.911	410.0	0.890	409.0	0.870
408.0	0.851	407.0	0.831	406.0	0.810	405.0	0.790
404.0	0.768	403.0	0.747	402.0	0.725	401.0	0.704

3. Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum alkaloid total

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	0.027	599.0	0.023	598.0	0.021	597.0	0.021
596.0	0.022	595.0	0.023	594.0	0.026	593.0	0.029
592.0	0.032	591.0	0.036	590.0	0.040	589.0	0.045
588.0	0.049	587.0	0.054	586.0	0.059	585.0	0.063
584.0	0.067	583.0	0.071	582.0	0.073	581.0	0.072
580.0	0.072	579.0	0.072	578.0	0.072	577.0	0.070
576.0	0.067	575.0	0.064	574.0	0.060	573.0	0.057
572.0	0.054	571.0	0.051	570.0	0.048	569.0	0.045
568.0	0.042	567.0	0.040	566.0	0.038	565.0	0.036
564.0	0.033	563.0	0.031	562.0	0.028	561.0	0.026
560.0	0.024	559.0	0.021	558.0	0.019	557.0	0.017
556.0	0.015	555.0	0.013	554.0	0.012	553.0	0.011
552.0	0.011	551.0	0.011	550.0	0.011	549.0	0.012
548.0	0.013	547.0	0.014	546.0	0.015	545.0	0.017
544.0	0.019	543.0	0.021	542.0	0.023	541.0	0.026
540.0	0.029	539.0	0.031	538.0	0.034	537.0	0.036
536.0	0.038	535.0	0.040	534.0	0.042	533.0	0.045
532.0	0.047	531.0	0.050	530.0	0.052	529.0	0.053
528.0	0.054	527.0	0.055	526.0	0.056	525.0	0.057
524.0	0.057	523.0	0.058	522.0	0.058	521.0	0.057
520.0	0.057	519.0	0.057	518.0	0.057	517.0	0.057
516.0	0.056	515.0	0.056	514.0	0.055	513.0	0.055
512.0	0.056	511.0	0.057	510.0	0.058	509.0	0.059
508.0	0.059	507.0	0.061	506.0	0.062	505.0	0.063
504.0	0.064	503.0	0.064	502.0	0.065	501.0	0.066
500.0	0.066	499.0	0.067	498.0	0.069	497.0	0.070
496.0	0.072	495.0	0.074	494.0	0.077	493.0	0.079
492.0	0.081	491.0	0.083	490.0	0.086	489.0	0.088
488.0	0.090	487.0	0.092	486.0	0.095	485.0	0.099
484.0	0.102	483.0	0.106	482.0	0.110	481.0	0.114
480.0	0.119	479.0	0.123	478.0	0.127	477.0	0.131
476.0	0.136	475.0	0.140	474.0	0.145	473.0	0.151
472.0	0.156	471.0	0.161	470.0	0.168	469.0	0.172
468.0	0.177	467.0	0.182	466.0	0.187	465.0	0.192
464.0	0.197	463.0	0.203	462.0	0.210	461.0	0.216
460.0	0.223	459.0	0.229	458.0	0.236	457.0	0.242
456.0	0.249	455.0	0.256	454.0	0.263	453.0	0.270
452.0	0.277	451.0	0.283	450.0	0.290	449.0	0.297
448.0	0.304	447.0	0.311	446.0	0.317	445.0	0.323
444.0	0.328	443.0	0.334	442.0	0.339	441.0	0.345
440.0	0.350	439.0	0.354	438.0	0.359	437.0	0.363
436.0	0.367	435.0	0.371	434.0	0.375	433.0	0.379
432.0	0.383	431.0	0.386	430.0	0.389	429.0	0.391
428.0	0.393	427.0	0.395	426.0	0.397	425.0	0.399
424.0	0.400	423.0	0.401	422.0	0.401	421.0	0.401
420.0	0.401	419.0	0.401	418.0	0.400	417.0	0.399
416.0	0.398	415.0	0.397	414.0	0.395	413.0	0.394
412.0	0.392	411.0	0.389	410.0	0.387	409.0	0.384
408.0	0.382	407.0	0.379	406.0	0.375	405.0	0.371
404.0	0.367	403.0	0.363	402.0	0.358	401.0	0.353
400.0	0.350						

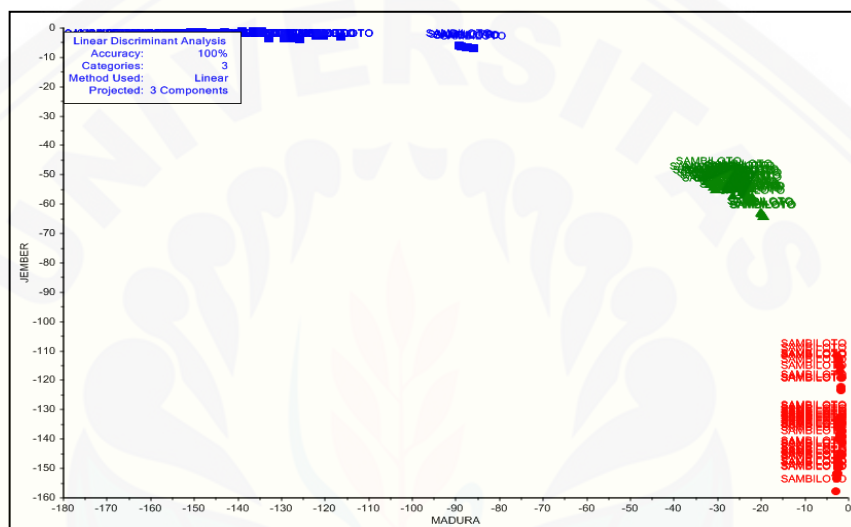
LAMPIRAN G DATA KEMOMETRIK DAN PERHITUNGAN KEMAMPUAN PENGENALAN DAN KEMAMPUAN

Kemampuan pengenalan = % pengenalan

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

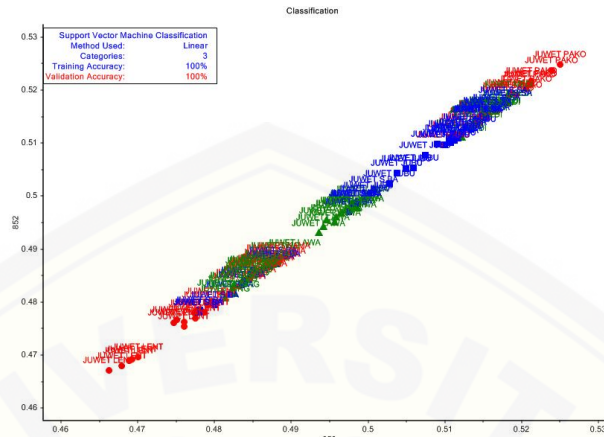
G.1 Model LDA

Pemetaan Sampel *Training Set*



G.2 Model SVM

Pemetaan Sampel *Training Set*



Tabel Prediksi Sampel *Training Set* beserta Perhitungan Kemampuan Pengenalan dan Kemampuan Prediksi

Prediction	ID	1
SAMBILOTO PAKONG (1)	31	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (2)	32	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (3)	33	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (4)	34	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (5)	35	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (6)	36	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (7)	37	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (8)	38	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (9)	39	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (10)	40	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (11)	41	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (12)	42	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (13)	43	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (14)	44	MADURA
SAMBILOTO PAKONG (15)	45	MADURA
SAMBILOTO JUBUNG (1)	46	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (2)	47	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (3)	48	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (4)	49	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (5)	50	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (6)	51	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (7)	52	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (8)	53	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (9)	54	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (10)	55	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (11)	56	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (12)	57	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (13)	58	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (14)	59	JEMBER
SAMBILOTO JUBUNG (15)	60	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (1)	61	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (2)	62	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (3)	63	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (4)	64	JEMBER

Prediction	ID	1
SAMBILOTO S. BARU (1)	61	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (2)	62	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (3)	63	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (4)	64	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (5)	65	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (6)	66	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (7)	67	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (8)	68	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (9)	69	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (10)	70	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (11)	71	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (12)	72	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (13)	73	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (14)	74	JEMBER
SAMBILOTO S. BARU (15)	75	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (1)	76	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (2)	77	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (3)	78	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (4)	79	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (5)	80	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (6)	81	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (7)	82	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (8)	83	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (9)	84	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (10)	85	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (11)	86	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (12)	87	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (13)	88	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (14)	89	JEMBER
SAMBILOTO S. SARI (15)	90	JEMBER
SAMBILOTO LAWANG (1)	91	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (2)	92	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (3)	93	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (4)	94	MALANG

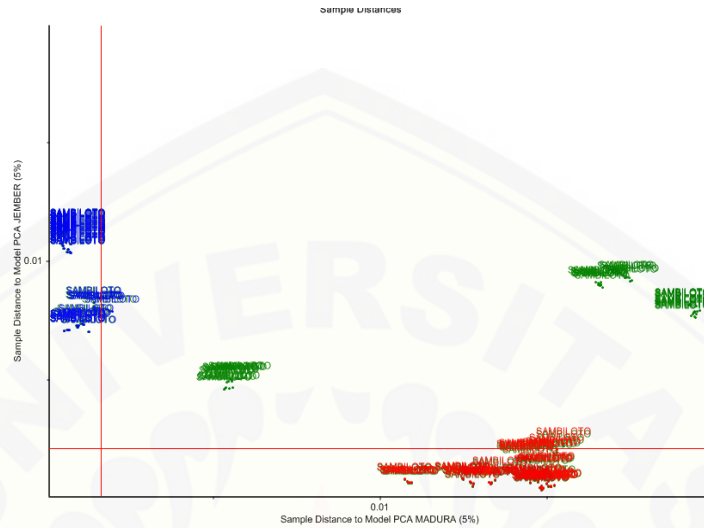
Prediction	ID	1
SAMBILOTO LAWANG (1)	91	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (2)	92	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (3)	93	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (4)	94	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (5)	95	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (6)	96	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (7)	97	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (8)	98	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (9)	99	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (10)	100	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (11)	101	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (12)	102	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (13)	103	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (14)	104	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (15)	105	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (1)	106	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (2)	107	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (3)	108	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (4)	109	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (5)	110	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (6)	111	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (7)	112	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (8)	113	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (9)	114	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (10)	115	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (11)	116	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (12)	117	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (13)	118	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (14)	119	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (15)	120	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (1)	121	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (2)	122	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (3)	123	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (4)	124	MALANG

Prediction	ID	1
SAMBILOTO LAWANG (12)	102	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (13)	103	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (14)	104	MALANG
SAMBILOTO LAWANG (15)	105	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (1)	106	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (2)	107	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (3)	108	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (4)	109	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (5)	110	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (6)	111	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (7)	112	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (8)	113	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (9)	114	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (10)	115	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (11)	116	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (12)	117	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (13)	118	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (14)	119	MALANG
SAMBILOTO MEDICA (15)	120	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (1)	121	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (2)	122	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (3)	123	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (4)	124	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (5)	125	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (6)	126	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (7)	127	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (8)	128	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (9)	129	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (10)	130	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (11)	131	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (12)	132	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (13)	133	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (14)	134	MALANG
SAMBILOTO SINGOSARI (15)	135	MALANG

$$\Rightarrow \% \text{ pengenalan} = \frac{135}{135} \times 100\% = 100$$

G.3 Model SIMCA

Pemetaan Sampel *Training Set*



Tabel Prediksi Sampel *Training Set* beserta Perhitungan Kemampuan Pengenalan dan Kemampuan Prediksi

Sample - Class membership 5	MADURA	JEMBER	MALANG
SAMBILOTO KAMAL (1)	*		
SAMBILOTO KAMAL (2)	*		
SAMBILOTO KAMAL (3)	*		
SAMBILOTO KAMAL (4)	*		
SAMBILOTO KAMAL (5)	*		
SAMBILOTO KAMAL (6)	*		
SAMBILOTO KAMAL (7)	*		
SAMBILOTO KAMAL (8)	*		
SAMBILOTO KAMAL (9)	*		
SAMBILOTO KAMAL (10)	*		
SAMBILOTO KAMAL (11)	*		
SAMBILOTO KAMAL (12)	*		
SAMBILOTO KAMAL (13)	*		
SAMBILOTO KAMAL (14)	*		
SAMBILOTO KAMAL (15)	*		
SAMBILOTO LENTENG (1)	*		
SAMBILOTO LENTENG (2)	*		
SAMBILOTO LENTENG (3)	*		
SAMBILOTO LENTENG (4)	*		
SAMBILOTO LENTENG (5)	*		
SAMBILOTO LENTENG (6)	*		
SAMBILOTO LENTENG (7)	*		
SAMBILOTO LENTENG (8)	*		
SAMBILOTO LENTENG (9)	*		
SAMBILOTO LENTENG (10)	*		
SAMBILOTO LENTENG (11)	*		
SAMBILOTO LENTENG (12)	*		
SAMBILOTO LENTENG (13)	*		
SAMBILOTO LENTENG (14)	*		
SAMBILOTO LENTENG (15)	*		
SAMBILOTO PAKONG (1)	*		
SAMBILOTO PAKONG (2)	*		
SAMBILOTO PAKONG (3)	*		
SAMBILOTO PAKONG (4)	*		
SAMBILOTO PAKONG (5)	*		
SAMBILOTO PAKONG (6)	*		
SAMBILOTO PAKONG (7)	*		
SAMBILOTO PAKONG (8)	*		
SAMBILOTO PAKONG (9)	*		
SAMBILOTO PAKONG (10)	*		
SAMBILOTO PAKONG (11)	*		
SAMBILOTO PAKONG (12)	*		
SAMBILOTO PAKONG (13)	*		
SAMBILOTO PAKONG (14)	*		
SAMBILOTO PAKONG (15)	*		
SAMBILOTO S. BARU (1)		*	
SAMBILOTO S. BARU (2)		*	
SAMBILOTO S. BARU (3)		*	
SAMBILOTO S. BARU (4)		*	
SAMBILOTO S. BARU (5)		*	
SAMBILOTO S. BARU (6)		*	

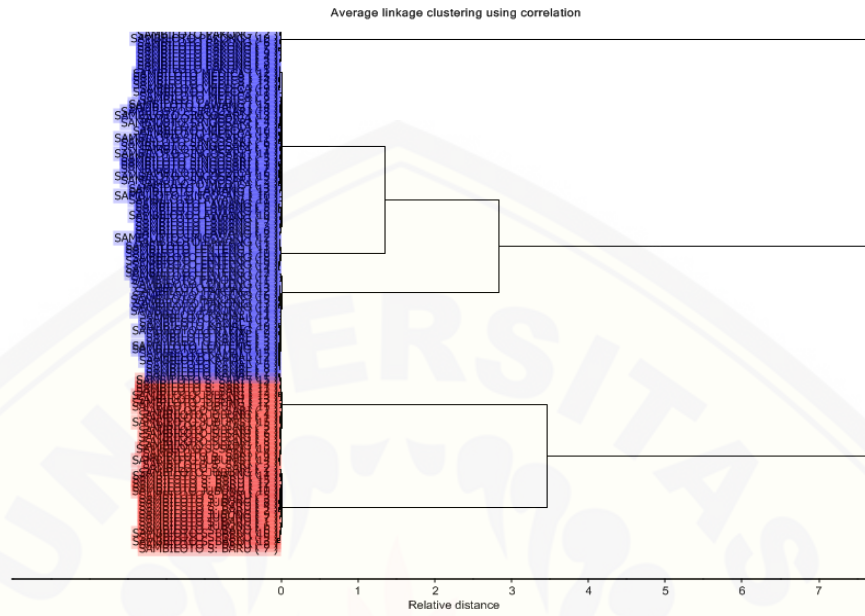
Sample - Class membership S	MADURA	JEMBER	MALANG
SAMBILOTO S. BARU (3)	*		
SAMBILOTO S. BARU (4)	*		
SAMBILOTO S. BARU (5)	*		
SAMBILOTO S. BARU (6)	*		
SAMBILOTO S. BARU (7)	*		
SAMBILOTO S. BARU (8)	*		
SAMBILOTO S. BARU (9)	*		
SAMBILOTO S. BARU (10)	*		
SAMBILOTO S. BARU (11)	*		
SAMBILOTO S. BARU (12)	*		
SAMBILOTO S. BARU (13)	*		
SAMBILOTO S. BARU (14)	*		
SAMBILOTO S. BARU (15)	*		
SAMBILOTO S. SARI (1)	*		
SAMBILOTO S. SARI (2)	*		
SAMBILOTO S. SARI (3)	*		
SAMBILOTO S. SARI (4)	*		
SAMBILOTO S. SARI (5)	*		
SAMBILOTO S. SARI (6)	*		
SAMBILOTO S. SARI (7)	*		
SAMBILOTO S. SARI (8)	*		
SAMBILOTO S. SARI (9)	*		
SAMBILOTO S. SARI (10)	*		
SAMBILOTO S. SARI (11)	*		
SAMBILOTO S. SARI (12)	*		
SAMBILOTO S. SARI (13)	*		
SAMBILOTO S. SARI (14)	*		
SAMBILOTO S. SARI (15)	*		
SAMBILOTO LAWANG (1)		*	
SAMBILOTO LAWANG (2)		*	
SAMBILOTO LAWANG (3)		*	
SAMBILOTO LAWANG (4)		*	
SAMBILOTO LAWANG (5)		*	
SAMBILOTO LAWANG (6)		*	
SAMBILOTO LAWANG (7)		*	

Sample - Class membership S	MADURA	JEMBER	MALANG
SAMBILOTO S. SARI (13)	*		
SAMBILOTO S. SARI (14)	*		
SAMBILOTO S. SARI (15)	*		
SAMBILOTO LAWANG (1)		*	
SAMBILOTO LAWANG (2)		*	
SAMBILOTO LAWANG (3)		*	
SAMBILOTO LAWANG (4)		*	
SAMBILOTO LAWANG (5)		*	
SAMBILOTO LAWANG (6)		*	
SAMBILOTO LAWANG (7)		*	
SAMBILOTO LAWANG (8)		*	
SAMBILOTO LAWANG (9)		*	
SAMBILOTO LAWANG (10)		*	
SAMBILOTO LAWANG (11)		*	
SAMBILOTO LAWANG (12)		*	
SAMBILOTO LAWANG (13)		*	
SAMBILOTO LAWANG (14)		*	
SAMBILOTO LAWANG (15)		*	
SAMBILOTO MEDICA (1)		*	
SAMBILOTO MEDICA (2)		*	
SAMBILOTO MEDICA (3)		*	
SAMBILOTO MEDICA (4)		*	
SAMBILOTO MEDICA (5)		*	
SAMBILOTO MEDICA (6)		*	
SAMBILOTO MEDICA (7)		*	
SAMBILOTO MEDICA (8)		*	
SAMBILOTO MEDICA (9)		*	
SAMBILOTO MEDICA (10)		*	
SAMBILOTO MEDICA (11)		*	
SAMBILOTO MEDICA (12)		*	
SAMBILOTO MEDICA (13)		*	
SAMBILOTO MEDICA (14)		*	
SAMBILOTO MEDICA (15)		*	
SAMBILOTO SINGOSARI (1)		*	
SAMBILOTO SINGOSARI (2)		*	

→ % pengenalan = $\frac{135}{135} \times 100\% = 100\%$

G.4 Model CA

Pemetaan Sampel *Training Set*



**LAMPIRAN H CONTOH PERHITUNGAN KADAR SAMPEL TRAINING
SET MENGGUNAKAN MODEL PLS FENOL,
FLAVONOID, DAN ALKALOID TOTAL**

**H.1 Contoh Perhitungan Kadar Sampel *Training Set* Menggunakan Model
PLS Fenol Total**

SAMBILOTO MEDICA (1)	16,2965	5,1481
SAMBILOTO MEDICA (2)	16,4020	5,1466
SAMBILOTO MEDICA (3)	16,3095	5,2087
SAMBILOTO MEDICA (4)	17,4400	3,7862
SAMBILOTO MEDICA (5)	17,7243	3,7883
SAMBILOTO MEDICA (6)	17,2790	3,7619
SAMBILOTO MEDICA (7)	17,4857	3,9824
SAMBILOTO MEDICA (8)	15,1311	6,0849
SAMBILOTO MEDICA (9)	15,5780	6,5761
SAMBILOTO MEDICA (10)	15,6756	6,5480
SAMBILOTO MEDICA (11)	16,0226	6,5945
SAMBILOTO MEDICA (12)	16,2909	5,1762
SAMBILOTO MEDICA (13)	16,2909	5,1762
SAMBILOTO MEDICA (14)	15,9862	6,1506
SAMBILOTO MEDICA (15)	16,9333	2,9033

- Rata-rata kadar

$$\frac{162,965+164,020+163,095+174,400+177,243+172,790+174,857+151,311+156,756}{15} + \frac{172,790+160,226+162,909+162,909+159,862+169,333}{15}$$

$$= 164,520$$

- $SD = \sqrt{\frac{(162,965-164,520)^2+(164,020-164,520)^2+(163,095-164,520)^2+(174,400-164,520)^2+(177,243-164,520)^2+(172,790-164,520)^2+(174,857-164,520)^2+(151,311-164,520)^2+(156,756-164,520)^2+(172,790-164,520)^2+(160,226-164,520)^2+(162,909-164,520)^2+(162,909-164,520)^2+(159,862-164,520)^2+(169,333-164,520)^2}{15-1}}$

$$= 7,923$$

- $CV = \frac{7,923}{164,520} \times 100 \% = 4,81 \%$

H.2 Contoh Perhitungan Kadar Sampel *Training Set* Menggunakan Model PLS Flavonoid Total

SAMBILOTO MEDICA (1)	34.6597	3.9312
SAMBILOTO MEDICA (2)	34.7197	3.9613
SAMBILOTO MEDICA (3)	34.5065	3.9446
SAMBILOTO MEDICA (4)	34.6058	3.9886
SAMBILOTO MEDICA (5)	34.2838	3.9588
SAMBILOTO MEDICA (6)	35.1398	3.9500
SAMBILOTO MEDICA (7)	34.5279	3.9454
SAMBILOTO MEDICA (8)	34.6714	3.9827
SAMBILOTO MEDICA (9)	34.6917	4.0160
SAMBILOTO MEDICA (10)	34.5415	4.0060
SAMBILOTO MEDICA (11)	34.7745	4.0093
SAMBILOTO MEDICA (12)	34.1508	3.9427
SAMBILOTO MEDICA (13)	34.4971	3.9655
SAMBILOTO MEDICA (14)	34.7903	4.0102
SAMBILOTO MEDICA (15)	34.5298	3.9758

- **Rata-rata kadar**

$$= \frac{34,6598+34,7197+34,5065+34,6058+34,2838+35,1398+34,5279+34,6714+34,6917+34,5415+34,7745+34,1508+34,4971+34,7903+34,5298}{15}$$

$$= 34,6060$$

- **SD**

$$= \sqrt{\frac{(34,6060 - 34,6598)^2 + (34,6060 - 34,7197)^2 + (34,6060 - 34,5065)^2 + (34,6060 - 34,6058)^2 + (34,6060 - 34,2838)^2 + (34,6060 - 35,1398)^2 + (34,6060 - 34,5279)^2 + (34,6060 - 34,6714)^2 + (34,6060 - 34,6917)^2 + (34,6060 - 34,5415)^2 + (34,6060 - 34,7745)^2 + (34,6060 - 34,1508)^2 + (34,6060 - 34,4971)^2 + (34,6060 - 34,7903)^2 + (34,6060 - 34,5298)^2}{15-1}}$$

$$= 0,235$$

- $CV = \frac{0,235}{34,6060} \times 100\% = 0,67\%$

H.3 Contoh Perhitungan Kadar Sampel *Training Set* Menggunakan Model PLS Alkaloid Total

SAMBILO MEDICA (1)	6.5682	3.9263
SAMBILO MEDICA (2)	6.7105	3.9477
SAMBILO MEDICA (3)	6.6101	3.9354
SAMBILO MEDICA (4)	6.7084	3.9657
SAMBILO MEDICA (5)	6.7139	3.9469
SAMBILO MEDICA (6)	6.4923	3.9462
SAMBILO MEDICA (7)	6.5731	3.9315
SAMBILO MEDICA (8)	6.5727	3.9618
SAMBILO MEDICA (9)	6.6652	4.0077
SAMBILO MEDICA (10)	6.5770	3.9887
SAMBILO MEDICA (11)	6.7006	3.9910
SAMBILO MEDICA (12)	6.6289	3.9373
SAMBILO MEDICA (13)	6.6177	3.9546
SAMBILO MEDICA (14)	6.6324	3.9893
SAMBILO MEDICA (15)	6.6643	3.9700

- Rata-rata kadar

$$\frac{65,602+67,105+66,101+67,084+67,139+64,923+65,731+65,727+66,652+65,770+67,006+66,289+66,177+66,324+66,643}{15}$$

$$= 66,284$$

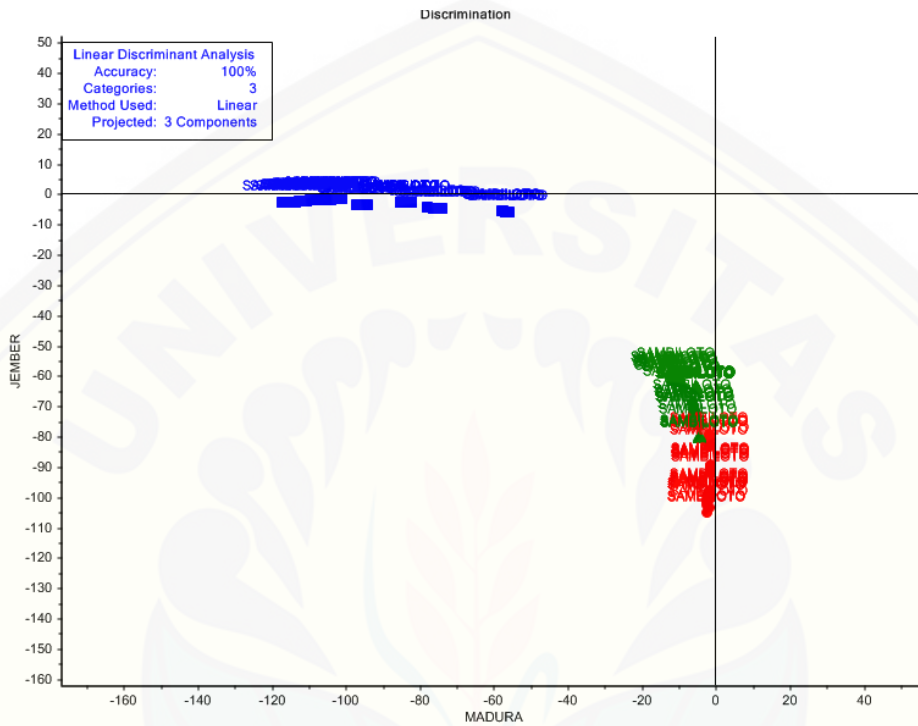
- SD = $\sqrt{\frac{(66,284-65,602)^2+(66,284-67,105)^2+(66,284-66,101)^2+(66,284-67,084)^2+(66,284-67,139)^2+(66,284-64,923)^2+(66,284-65,731)^2+(66,284-65,727)^2+(66,284-66,652)^2+(66,284-65,770)^2+(66,284-67,006)^2+(66,284-66,289)^2+(66,284-66,177)^2+(66,284-66,324)^2+(66,284-66,324)^2}{15-1}}$

$$= 0,650$$

- CV = $\frac{0,650}{66,284} \times 100\%$
= 0,98 %

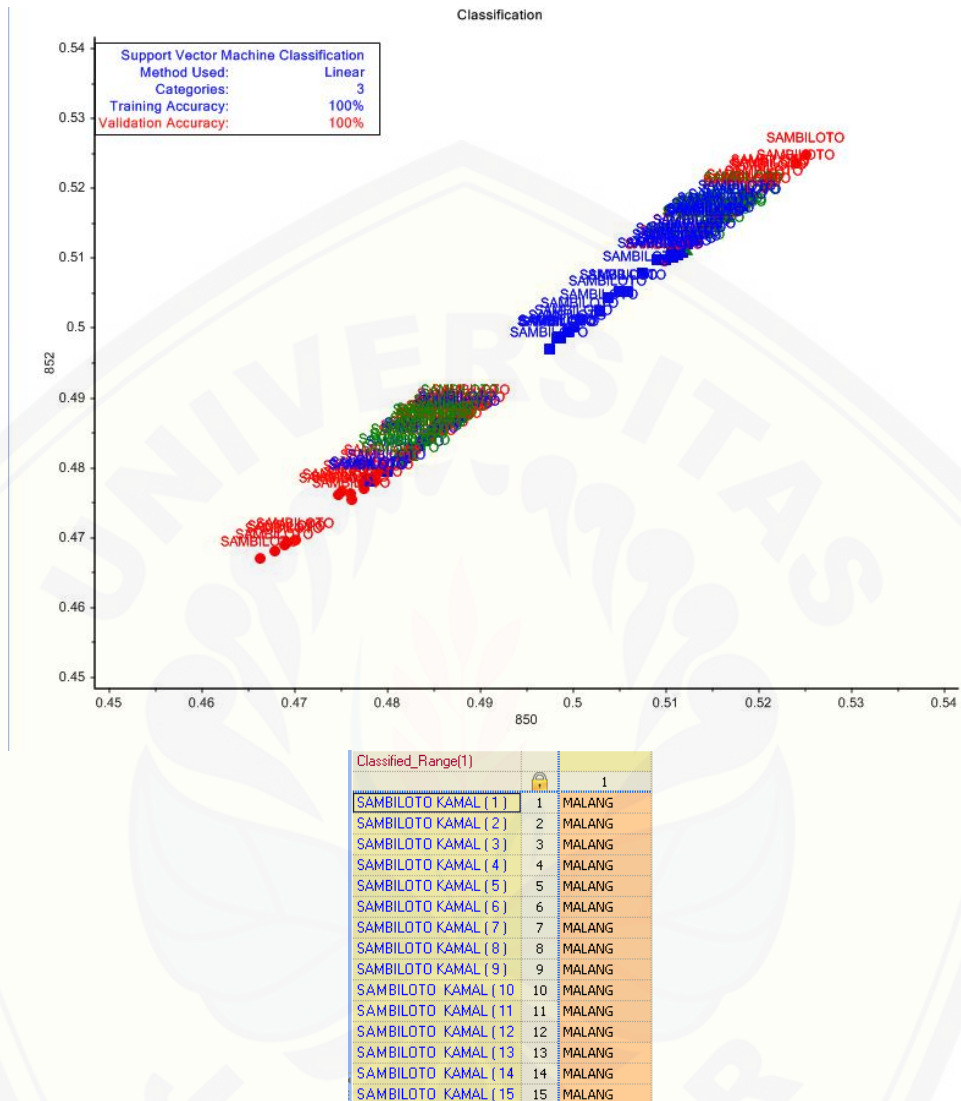
LAMPIRAN I. VALIDASI LOOCV MODEL KLASIFIKASI LDA DAN SVM.

- Validasi Loocv Model Klasifikasi LDA



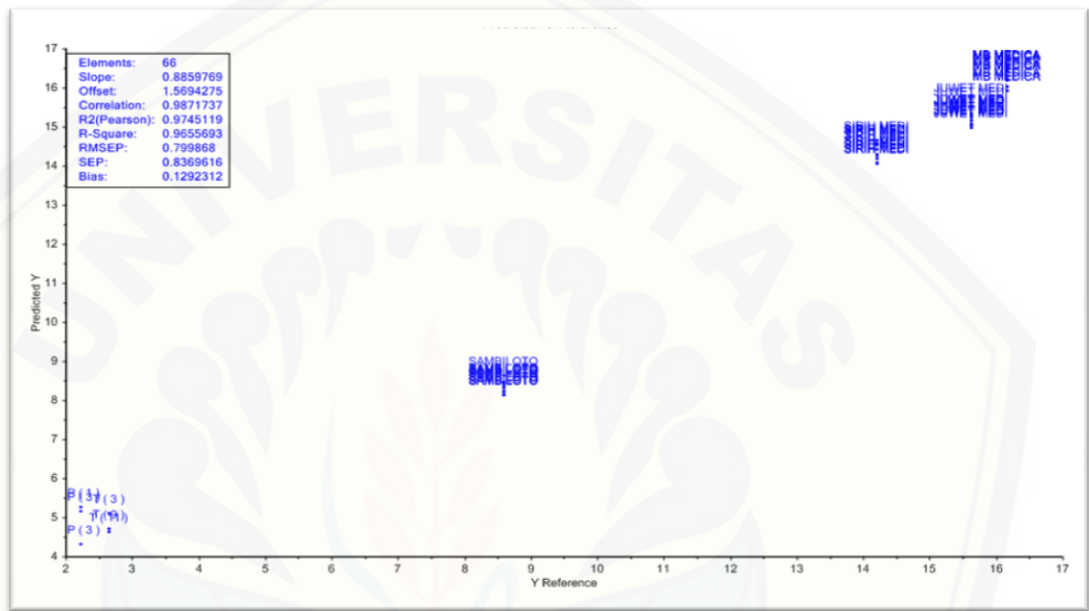
Classified_Range		MADURA	JEMBER	MALANG	Class
		1	2	3	4
SAMBILOTO KAMAL (1)	1	-2.6729	-88.2837	-7.5482	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (2)	2	-2.6997	-89.7559	-7.8720	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (3)	3	-2.7069	-87.2577	-7.3934	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (4)	4	-2.6913	-88.8460	-7.6867	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (5)	5	-2.7403	-87.1964	-7.4244	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (6)	6	-3.2218	-80.1117	-6.5972	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (7)	7	-3.1592	-81.0332	-6.7202	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (8)	8	-3.2541	-79.5613	-6.5229	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (9)	9	-3.0997	-81.8212	-6.8119	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (10)	10	-3.3761	-78.2530	-6.3955	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (11)	11	-3.6730	-76.2233	-6.3008	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (12)	12	-3.4133	-80.0093	-6.8212	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (13)	13	-3.4849	-79.0620	-6.7103	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (14)	14	-3.4902	-78.3773	-6.5595	MADURA
SAMBILOTO KAMAL (15)	15	-3.6071	-77.4685	-6.5018	MADURA

- Validasi Loocv Model Klasifikasi SVM



LAMPIRAN J. REVALIDASI MODEL PLS DENGAN 2-FOLD CROSS VALIDATION

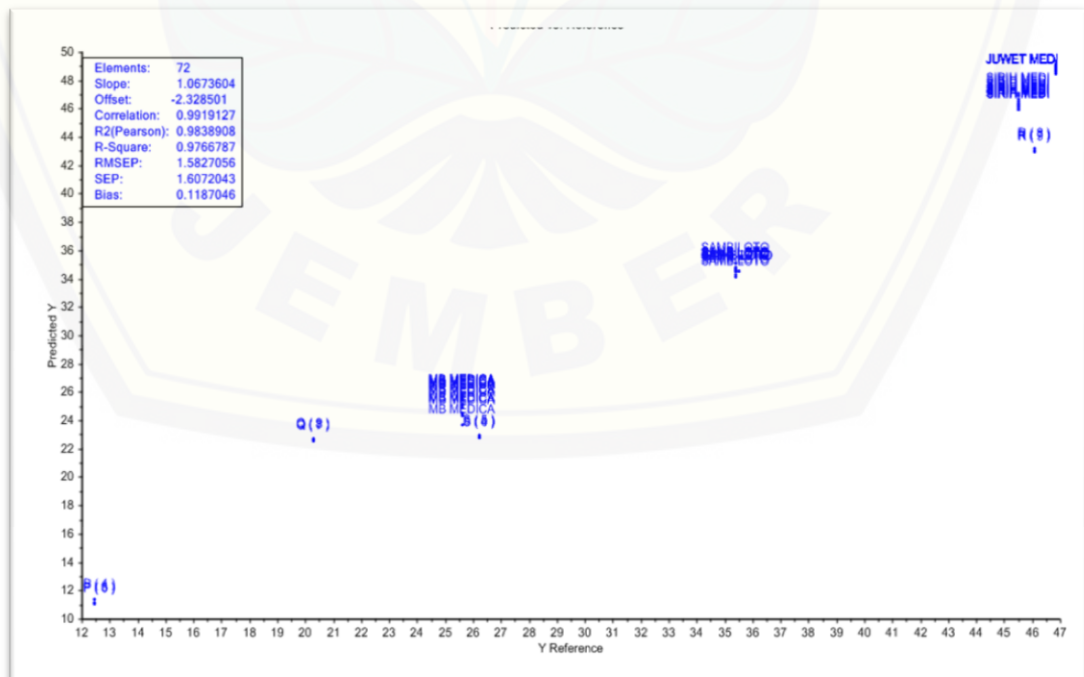
J.1 Hasil 2-fold cross validation Model PLS Fenol



Kadar predicted dengan metode NIR dan kadar reference dengan metode Spektrofotometri UV-Vis pada 2-fold-CV model PLS fenol

	Predicted	Deviation	Reference
P (3)	4.3232	4.9167	2.2303
P (1)	5.2807	4.2772	2.2303
P (3)	5.1476	4.2928	2.2303
T (3)	5.1075	4.6042	2.6599
T (9)	4.7200	5.1857	2.6599
T (11)	4.6296	5.1981	2.6599
SIRIH MEDICA (1)	14.4194	5.3173	14.2136
SIRIH MEDICA (2)	14.1799	5.2604	14.2136
SIRIH MEDICA (3)	14.1784	5.2839	14.2136
SIRIH MEDICA (4)	14.5734	5.2840	14.2136
SIRIH MEDICA (5)	14.6458	5.2591	14.2136
SIRIH MEDICA (6)	14.0472	5.2611	14.2136
SIRIH MEDICA (7)	14.0050	5.2597	14.2136
SIRIH MEDICA (8)	14.2784	5.2883	14.2136
SIRIH MEDICA (9)	14.5592	5.2403	14.2136
SIRIH MEDICA (10)	14.4194	5.2953	14.2136
SIRIH MEDICA (11)	14.2573	5.2729	14.2136

SIRIH MEDICA (12)	14.2800	5.2773	14.2136
SIRIH MEDICA (13)	14.5772	5.2322	14.2136
SIRIH MEDICA (14)	14.5165	5.2302	14.2136
SIRIH MEDICA (15)	14.0681	5.2342	14.2136
JUWET MEDICA (1)	15.3325	5.4430	15.6266
JUWET MEDICA (2)	15.5146	5.4905	15.6266
JUWET MEDICA (3)	15.3168	5.4700	15.6266
JUWET MEDICA (4)	15.6259	5.4523	15.6266
JUWET MEDICA (5)	15.3005	5.4814	15.6266
JUWET MEDICA (6)	15.0541	5.4818	15.6266
JUWET MEDICA (7)	15.0169	5.4475	15.6266
JUWET MEDICA (8)	15.1462	5.4758	15.6266
JUWET MEDICA (9)	15.3467	5.4581	15.6266
JUWET MEDICA (10)	15.0801	5.4550	15.6266
JUWET MEDICA (11)	15.2816	5.4495	15.6266
JUWET MEDICA (12)	15.2343	5.4418	15.6266
JUWET MEDICA (13)	15.0655	5.4661	15.6266
JUWET MEDICA (14)	15.1479	5.4592	15.6266
JUWET MEDICA (15)	14.9837	5.4897	15.6266
MB MEDICA (1)	15.9304	3.1731	16.1622
MB MEDICA (2)	16.2100	3.2116	16.1622
MB MEDICA (3)	16.0302	3.1640	16.1622
MB MEDICA (4)	16.0223	3.1858	16.1622
MB MEDICA (5)	15.9267	3.1881	16.1622
MB MEDICA (6)	16.5369	3.3072	16.1622
MB MEDICA (7)	16.2328	3.2784	16.1622
MB MEDICA (8)	16.5825	3.2824	16.1622
MB MEDICA (9)	16.5135	3.2543	16.1622
MB MEDICA (10)	16.3089	3.2373	16.1622
MB MEDICA (11)	16.1961	3.2351	16.1622
MB MEDICA (12)	16.6014	3.2486	16.1622
MB MEDICA (13)	16.5210	3.2558	16.1622
MB MEDICA (14)	16.4365	3.2344	16.1622
MB MEDICA (15)	16.4272	3.2970	16.1622
SAMBILOTO MEDICA (1)	16.2965	5.1481	
SAMBILOTO MEDICA (2)	16.4020	5.1466	
SAMBILOTO MEDICA (3)	16.3095	5.2087	
SAMBILOTO MEDICA (4)	17.4400	3.7862	
SAMBILOTO MEDICA (5)	17.7243	3.7883	
SAMBILOTO MEDICA (6)	17.2790	3.7619	
SAMBILOTO MEDICA (7)	17.4857	3.9824	
SAMBILOTO MEDICA (8)	15.1311	6.0849	
SAMBILOTO MEDICA (9)	15.5780	6.5761	
SAMBILOTO MEDICA (10)	15.6756	6.5480	
SAMBILOTO MEDICA (11)	16.0226	6.5945	
SAMBILOTO MEDICA (12)	16.2909	5.1762	
SAMBILOTO MEDICA (13)	16.2909	5.1762	
SAMBILOTO MEDICA (14)	15.9862	6.1506	
SAMBILOTO MEDICA (15)	16.9333	2.9033	

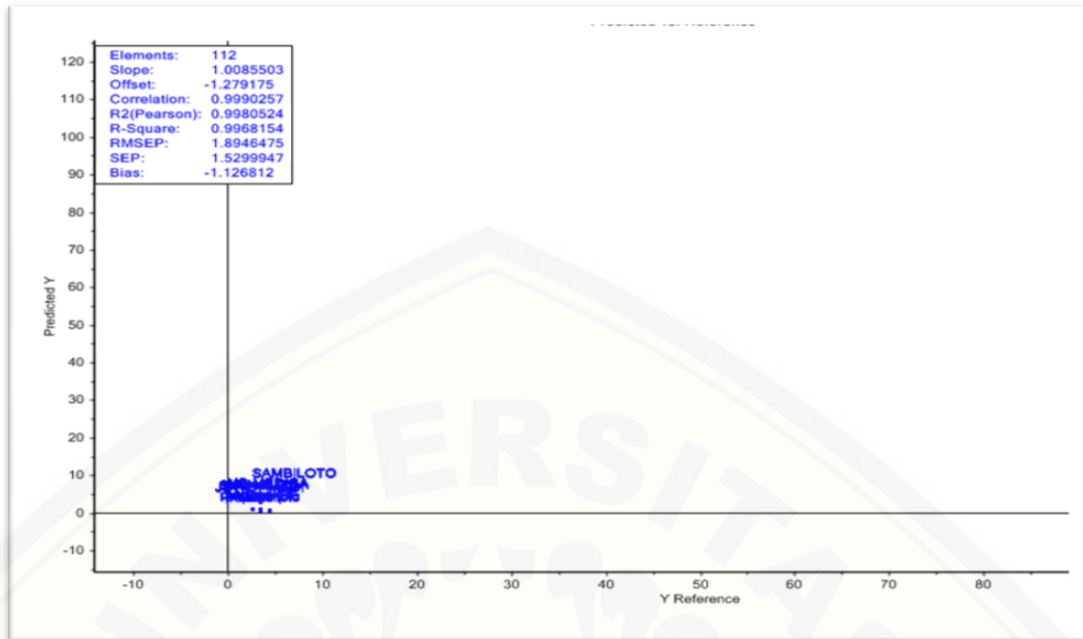


Kadar predicted dengan metode NIR dan kadar reference dengan metode Spektrofotometri UV-Vis pada 2-fold-CV model PLS flavonoid

	Predicted	Deviation	Reference
NIRBI MEDICA (1)	45.9235	6.3243	45.5270
NIRBI MEDICA (2)	46.1443	6.2918	45.5270
NIRBI MEDICA (3)	45.9099	6.3129	45.5270
NIRBI MEDICA (4)	46.1032	6.2946	45.5270
NIRBI MEDICA (5)	45.9671	6.2476	45.5270
NIRBI MEDICA (6)	46.1744	6.3800	45.5270
NIRBI MEDICA (7)	46.2596	6.3614	45.5270
NIRBI MEDICA (8)	46.1073	6.4030	45.5270
NIRBI MEDICA (9)	46.2005	6.2999	45.5270
NIRBI MEDICA (10)	46.2702	6.3053	45.5270
NIRBI MEDICA (11)	46.4920	6.4775	45.5270
NIRBI MEDICA (12)	47.0470	6.4299	45.5270
NIRBI MEDICA (13)	46.6946	6.3246	45.5270
NIRBI MEDICA (14)	46.3266	6.3607	45.5270
NIRBI MEDICA (15)	46.3003	6.3462	45.5270
RUMET MEDICA (1)	40.7119	5.7609	46.8000
RUMET MEDICA (2)	40.9711	5.8446	46.8000
RUMET MEDICA (3)	49.3678	5.8823	46.8000
RUMET MEDICA (4)	49.1247	5.7728	46.8000

	Predicted	Deviation	Reference
MB MEDICA (1)	23.6613	1.4116	25.6090
MB MEDICA (2)	24.3022	1.3865	25.6090
MB MEDICA (3)	24.5323	1.3528	25.6090
MB MEDICA (4)	24.5280	1.4052	25.6090
MB MEDICA (5)	24.6595	1.3839	25.6090
MB MEDICA (6)	25.4650	1.4670	25.6090
MB MEDICA (7)	25.4446	1.4586	25.6090
MB MEDICA (8)	25.4894	1.4449	25.6090
MB MEDICA (9)	25.5987	1.4323	25.6090
MB MEDICA (10)	25.1131	1.4437	25.6090
MB MEDICA (11)	25.0810	1.3989	25.6090
MB MEDICA (12)	25.6233	1.4399	25.6090
MB MEDICA (13)	25.7251	1.4399	25.6090
MB MEDICA (14)	25.7876	1.4046	25.6090
MB MEDICA (15)	25.7877	1.4693	25.6090
SAMBILOTO MEDICA (1)	34.6597	3.9312	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (2)	34.7197	3.9613	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (3)	34.5065	3.9446	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (4)	34.6058	3.9886	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (5)	34.2838	3.9588	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (6)	35.1398	3.9500	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (7)	34.5279	3.9454	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (8)	34.6714	3.9827	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (9)	34.6917	4.0160	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (10)	34.5415	4.0060	35.5120
SAMBILOTO MEDICA (11)	34.7745	4.0093	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (12)	34.1508	3.9427	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (13)	34.4971	3.9655	35.5120
SAMBILOTO MEDICA (14)	34.7903	4.0102	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (15)	34.5298	3.9758	35.3960
P (4)	11.4064	1.8391	12.4389
P (5)	11.1104	1.8204	12.4389
P (6)	11.0450	1.8363	12.4389

	Predicted	Deviation	Reference
MB MEDICA (11)	25.0810	1.3989	25.6090
MB MEDICA (12)	25.6233	1.4399	25.6090
MB MEDICA (13)	25.7251	1.4399	25.6090
MB MEDICA (14)	25.7876	1.4046	25.6090
MB MEDICA (15)	25.7877	1.4693	25.6090
SAMBILOTO MEDICA (1)	34.6597	3.9312	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (2)	34.7197	3.9613	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (3)	34.5065	3.9446	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (4)	34.6058	3.9886	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (5)	34.2838	3.9588	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (6)	35.1398	3.9500	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (7)	34.5279	3.9454	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (8)	34.6714	3.9827	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (9)	34.6917	4.0160	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (10)	34.5415	4.0060	35.5120
SAMBILOTO MEDICA (11)	34.7745	4.0093	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (12)	34.1508	3.9427	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (13)	34.4971	3.9655	35.5120
SAMBILOTO MEDICA (14)	34.7903	4.0102	35.3960
SAMBILOTO MEDICA (15)	34.5298	3.9758	35.3960
P (4)	11.4064	1.8391	12.4389
P (5)	11.1104	1.8204	12.4389
P (6)	11.0450	1.8363	12.4389
Q (7)	22.5867	2.4276	20.2946
Q (8)	22.5963	2.4536	20.2946
Q (9)	22.7425	2.4751	20.2946
R (7)	43.0746	4.8235	46.0697
R (8)	43.1822	4.7500	46.0697
R (9)	42.9481	4.7238	46.0697
S (4)	22.7570	1.8626	26.2316
S (5)	22.9763	1.8941	26.2316
S (6)	22.8330	1.8717	26.2316



Kadar predicted dengan metode NIR dan kadar reference dengan metode Spektrofotometri UV-Vis pada 2-fold-CV model PLS alkaloid

	Predicted	Deviation	Reference
kafein1	99.6120	1.0159	100.0000
kafein2	99.6113	0.9961	100.0000
kafein3	99.6745	1.0446	100.0000
kafein4	99.6255	1.0260	100.0000
kafein5	99.4766	0.6911	100.0000
kafein6	99.3099	0.7030	100.0000
kafein7	99.3982	0.7461	100.0000
kafein8	99.3592	0.7507	100.0000
kafein9	102.7213	0.8245	100.0000
kafein10	102.7494	0.8352	100.0000
kafein11	102.6779	0.8030	100.0000
kafein12	102.7641	0.8203	100.0000
kafein13	96.5357	0.6631	100.0000
kafein14	96.5204	0.6633	100.0000
kafein15	96.4257	0.6621	100.0000
kafein16	96.4848	0.6615	100.0000
pepaya (1)	0.6624	2.0859	3.4736
pepaya (2)	0.6547	2.0990	3.4736
pepaya (3)	0.6251	2.1336	3.4736
pepaya (4)	1.1051	1.9320	3.4736
pepaya (5)	1.0730	1.9545	3.4736
pepaya (6)	1.0112	1.9685	3.4736
pepaya (7)	1.0315	2.1091	3.4736
pepaya (8)	1.0235	2.1219	3.4736
pepaya (9)	0.9709	2.1706	3.4736
pepaya (10)	0.2067	2.1567	3.4736
pepaya (11)	0.1867	2.1762	3.4736
pepaya (12)	0.1992	2.1756	3.4736
putri malu (1)	0.9389	5.1274	2.5420
putri malu (2)	0.9688	5.1082	2.5420
putri malu (3)	0.9419	5.1281	2.5420
putri malu (4)	1.0515	5.3581	2.5420
putri malu (5)	1.0658	5.3849	2.5420
putri malu (6)	0.9854	5.3760	2.5420
putri malu (7)	0.9604	4.6637	2.5420
putri malu (8)	0.9259	4.6696	2.5420
putri malu (9)	0.8746	4.6737	2.5420
putri malu (10)	0.8647	4.6996	2.5420
putri malu (11)	1.0383	4.8937	2.5420
putri malu (12)	0.9966	4.9123	2.5420
sambaloto (1)	0.2925	4.4765	4.4227
sambaloto (2)	0.1948	4.4697	4.4227
sambaloto (3)	0.1792	4.4967	4.4227
sambaloto (4)	0.6405	4.5869	4.4227
sambaloto (5)	0.5801	4.6463	4.4227
sambaloto (6)	0.5997	4.6246	4.4227
sambaloto (7)	0.8030	4.4724	4.4227
sambaloto (8)	0.7526	4.4793	4.4227

sambiloto (9)	0.7197	4.5061	4.4227
sambiloto (10)	0.2474	4.2752	4.4227
sambiloto (11)	0.2695	4.3011	4.4227
sambiloto (12)	0.2123	4.3224	4.4227
SIRIH MEDICA (1)	3.4187	4.5326	3.3501
SIRIH MEDICA (2)	3.4281	4.5018	3.3501
SIRIH MEDICA (3)	3.5340	4.5106	3.3501
SIRIH MEDICA (4)	3.3770	4.5210	3.3501
SIRIH MEDICA (5)	3.3547	4.4728	3.3501
SIRIH MEDICA (6)	3.4164	4.5584	3.3501
SIRIH MEDICA (7)	3.3955	4.5446	3.3501
SIRIH MEDICA (8)	3.4393	4.5832	3.3501
SIRIH MEDICA (9)	3.4123	4.5071	3.3501
SIRIH MEDICA (10)	3.2948	4.5591	3.3501
SIRIH MEDICA (11)	3.2539	4.6300	3.3501
SIRIH MEDICA (12)	3.2803	4.5995	3.3501
SIRIH MEDICA (13)	3.3810	4.5300	3.3501
SIRIH MEDICA (14)	3.3925	4.5446	3.3501
SIRIH MEDICA (15)	3.3635	4.5191	3.3501
JUWET MEDICA (1)	2.8923	4.0205	3.3969
JUWET MEDICA (2)	3.0007	4.1108	3.3969
JUWET MEDICA (3)	2.8900	4.0959	3.3969
JUWET MEDICA (4)	2.9674	4.0538	3.3969
JUWET MEDICA (5)	2.9963	4.0735	3.3969
JUWET MEDICA (6)	2.8342	4.1050	3.3969
JUWET MEDICA (7)	2.9508	4.1038	3.3969
JUWET MEDICA (8)	2.8339	4.0477	3.3969
JUWET MEDICA (9)	2.8657	4.0761	3.3969
JUWET MEDICA (10)	2.8404	4.0442	3.3969
JUWET MEDICA (11)	2.9803	4.0433	3.3969
JUWET MEDICA (12)	2.8458	4.0326	3.3969

	Predicted	Deviation	Reference
JUWET MEDICA (13)	2.9608	4.0662	3.3969
JUWET MEDICA (14)	2.8659	4.0525	3.3969
JUWET MEDICA (15)	2.8611	4.0629	3.3969
MB MEDICA (1)	3.9489	1.4016	4.2733
MB MEDICA (2)	3.7989	1.4165	4.2733
MB MEDICA (3)	4.0210	1.3675	4.2733
MB MEDICA (4)	3.7682	1.2700	4.2733
MB MEDICA (5)	3.6446	1.2609	4.2733
MB MEDICA (6)	3.7415	1.2538	4.2733
MB MEDICA (7)	3.8524	1.3928	4.2733
MB MEDICA (8)	3.6744	1.3621	4.2733
MB MEDICA (9)	3.5588	1.3678	4.2733
MB MEDICA (10)	3.6846	1.7460	4.2733
MB MEDICA (11)	3.6256	1.7631	4.2733
MB MEDICA (12)	3.5620	1.6995	4.2733
MB MEDICA (13)	4.1836	1.7850	4.2733
MB MEDICA (14)	4.1523	1.7241	4.2733
MB MEDICA (15)	4.0346	1.7439	4.2733
SAMBILOTO MEDICA (1)	6.5682	3.9263	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (2)	6.7105	3.9477	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (3)	6.6101	3.9254	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (4)	6.7084	3.9657	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (5)	6.7139	3.9469	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (6)	6.4923	3.9462	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (7)	6.5731	3.9315	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (8)	6.5727	3.9618	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (9)	6.6652	4.0077	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (10)	6.5770	3.9887	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (11)	6.7006	3.9910	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (12)	6.6289	3.9373	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (13)	6.6177	3.9546	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (14)	6.6524	3.9893	6.6129
SAMBILOTO MEDICA (15)	6.6643	3.9700	6.6129