



**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL PADA SERBUK DAUN
TANAMAN OBAT MENGGUNAKAN METODE
FTIR-KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh:

Tyas Putri Rahmadani

NIM 162210101009

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL PADA SERBUK DAUN
TANAMAN OBAT MENGGUNAKAN METODE
FTIR-KEMOMETRIK**

SKRIPSI

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

Oleh:

Tyas Putri Rahmadani

NIM 162210101009

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah senantiasa memberikan limpahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan penulisan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk dapat memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi Universitas Jember;
2. Keluarga yang selalu mendukung terutama kepada kedua orang tua saya Ibu Sawiyah dan Bapak Suropto tercinta yang telah memberikan doa, kasih sayang dan perhatian yang tiada henti dalam memperjuangkan dan mendukung masa depan saya;
3. Saudara tersayang Bayu Nur Sito Utomo yang juga telah memberikan dukungan dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
4. Ibu apt. Lestyo Wulandari S.Si., M.Farm. dan Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm. yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran serta perhatian dalam membimbing saya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik;
5. Guru, dosen dan para pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMAN 2 Bondowoso, SMPN 2 Bondowoso, SDN WRINGIN 1 yang sudah memberikan ilmu yang bermanfaat;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

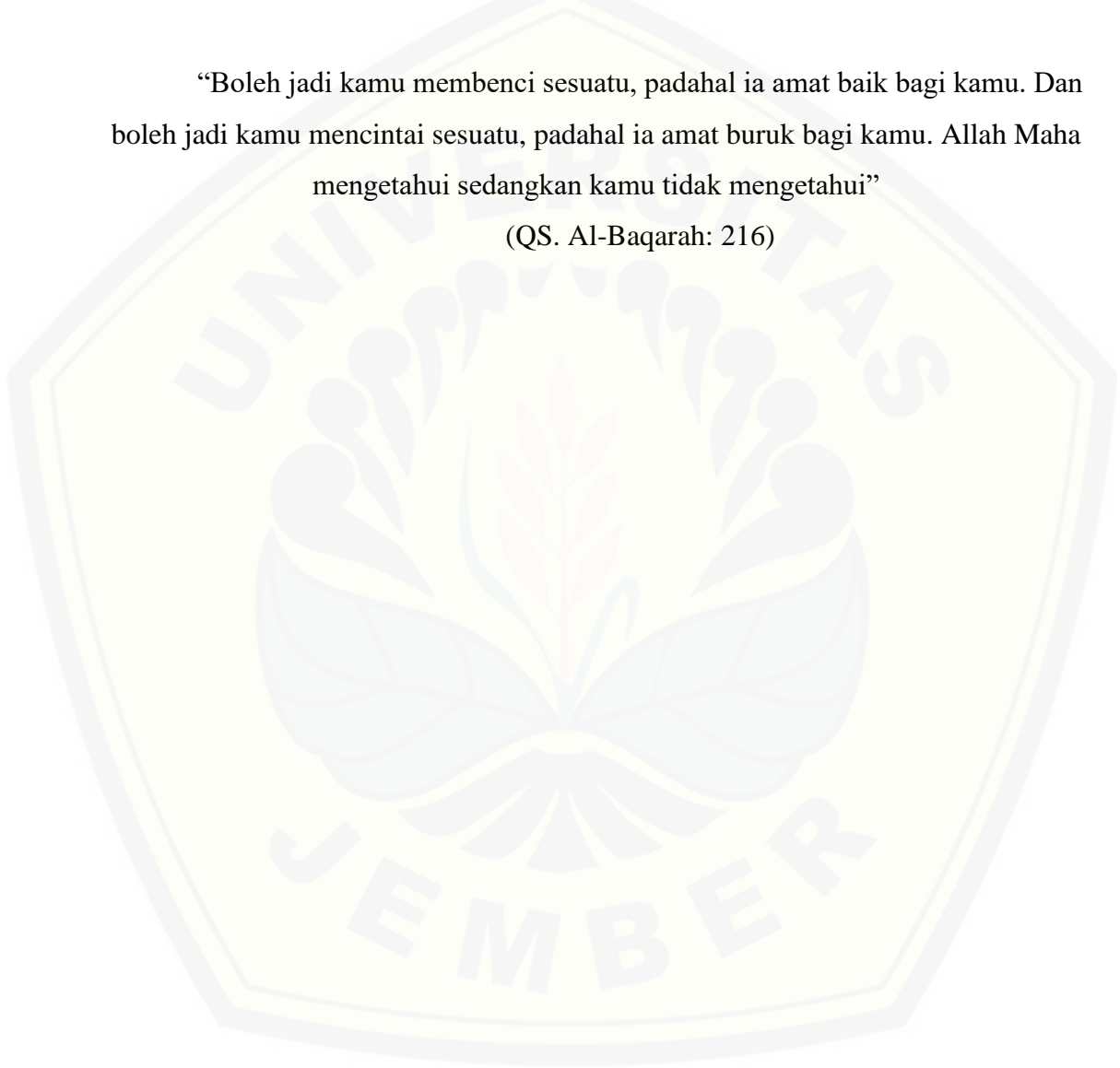
MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS. Al-Insyirah: 5-6)

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

(QS. Al-Baqarah: 216)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Tyas Putri Rahmadani

NIM : 162210101009

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Menggunakan Metode FTIR-Kemometrik" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 29 April 2020

Yang menyatakan,

Tyas Putri Rahmadani

162210101009

SKRIPSI

**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL PADA SERBUK DAUN
TANAMAN OBAT MENGGUNAKAN METODE
FTIR-KEMOMETRIK**

Oleh:

Tyas Putri Rahmadani

NIM 162210101009

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Menggunakan Metode FTIR-Kemometrik” karya Tyas Putri Rahmadani telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 18 Mei 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

NIP 197604142002122001

apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm.

NIP 198204062006042001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

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

NIP 196902011994031002

apt. Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm.

NIP 198304282008122004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Menggunakan Metode FTIR-Kemometri: Tyas Putri Rahmadani; 2020; 74 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Daun merupakan bagian dari tanaman yang sering digunakan sebagai bahan obat tradisional, karena daun adalah bagian tanaman yang sering di jumpai, selalu tersedia, pengambilan dan pemanfaatannya mudah dan sederhana. Di dalam daun terdapat salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik. Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Metode yang digunakan dalam penentuan kadar fenolik total adalah spektrofotometri FTIR dan spektrofotometri UV-Vis yang digunakan sebagai pembanding, terdapat 25 sampel dan 5 sampel nyata yang digunakan dalam penelitian ini.

Spektrofotometri FTIR yang terpilih karena dapat mengukur secara cepat dan serentak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Spektra yang dihasilkan dari FTIR cukup kompleks sehingga membutuhkan analisis multivariat yaitu kemometrik dengan analisis multivariat yang digunakan adalah PLS (*Partial Least Square*), PCR (*Principal Component Regression*), dan SVR (*Support Vector Machines Regression*). Metode pembanding yang digunakan adalah Spektrofotometri UV-Vis, menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan Na_2CO_3 serta standar yang dipakai adalah asam galat.

Data yang diperoleh dari FTIR yang digunakan untuk membentuk model kalibrasi, dihasilkan model kalibrasi terpilih yaitu PCR dengan nilai R^2 0,9918885 dan nilai RMSE sebesar 0,8675906. Model yang telah terbentuk divalidasi dengan LOOCV (*Leave One Out Cross Validation*) dan *2-Fold Cross Validation*, hasil dari validasi LOOCV memiliki nilai $R^2 \geq 0,91$ dan *2-Fold Cross Validation* memiliki nilai R^2 sebesar 0,9887363.

Model yang telah terpilih yaitu PCR akan diterapkan pada sampel nyata, untuk sampel nyata yang digunakan adalah daun kelor, daun sirih, daun sambiloto, daun sirsak dan jati belanda. Kadar fenolik yang dihasilkan dari sampel

nyata sebesar 25,15 mg GAE/g, 39,26 mg GAE/g, 21,74 mg GAE/g, 40,49 mg GAE/g, 16,03 mg GAE/g. Perbandingan antara FTIR dengan Spektrofotometer UV-Vis menggunakan analisis SPSS yaitu Uji *T-Test Paired* untuk mengetahui ada tidak nya perbedaan secara signifikan, hasil yang diperoleh dengan nilai Sig. $>0,05$ yaitu 0,264, sehingga penelitian ini dapat menyimpulkan bahwa hasilnya tidak berbeda secara signifikan.



PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul “Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Menggunakan Metode FTIR-Kemometrik”. Skripsi ini saya susun untuk memenuhi tugas akhir dan salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Saya sebagai penulis menyadari jika penulisan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dan doa serta sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

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

7. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang selalu memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian;
8. Ibu Sawiyah, Bapak Suripto, Kakak Bayu Nur sito utomo, Kakak Denia Devita sari dan keponakan Airen atas segala kasih sayang serta pengorbanan yang telah diberikan kepada saya;
9. Teman mengadu keluh kesah Jeni Juharsita yang selalu siap memberikan bantuan tenaga, ide, dan juga waktu selama penulis mengerjakan skripsi;
10. Mbak dan mas kakak tingkat yang sudah banyak membantu saya selama penelitian;
11. Teman-teman skripsi Kemometrik (Jeni, Inu, Uwik, Elin) yang telah banyak membantu;
12. Keluarga besar kelas A dari Angkatan 2016 atas kebersamaan, kekeluargaan dan keambisan selama ini;
13. Group pesan kopi (Yessika, Amel, Kibti, dan Jeni) atas kebersamaan dan yang selalu ada untuk mendengarkan semua keluh kesah serta selalu memberikan motivasi untuk cepet lulus;
14. Group bulan bintang (Amel, Shafira, Yessika, Jeni, Elin, Sasi, Finola, Monika, Uwik) selama semester 1 sampai semester 5 selalu meluangkan waktu untuk belajar bersama;
15. Mahasiswa Farmasi Bondowoso Jember 2016 (Amel, Karima, Didit);
16. Teman-teman morfin yang sudah memberikan dukungan dan semangat;
17. Keluarga besar kost Nias Cluster kamar atas dan bawah;
18. Temen-temen KKN 233 2019 (Adit, Rizka, Fani, Alfian, Yudha, Andini, Leny, Sherly, Fenty) yang sudah mengajari arti dari kekompakan, kebersamaan, mandiri dan teman susah senang selama KKN;
19. Teman dari SMP sampai sekarang Alif yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis;
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu;

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga mendapatkan rahmat, lindungan dari Allah SWT. Penulis juga menerima kritikan dan saran pada penelitian ini, dan berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 29 April 2020

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Daun.....	5
2.2 Tanaman Obat	6
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder	6
2.4 Senyawa Fenolik.....	8
2.5 Simplisia.....	9
2.6 Serbuk Simplisia	11
2.7 Asam Galat	12
2.8 Metode Penentuan Kadar Fenolik Total dengan Reagen Folin-Ciocalteu	13
2.9 Spektrofotometer UV-Vis.....	14
2.10 FTIR.....	15

2.11 Analisis Kemometrik	17
2.12 Validasi Silang	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.3 Variabel Penelitian	20
3.3.1 Variabel Bebas	20
3.3.2 Variabel Terikat	20
3.3.3 Variabel Terkendali	20
3.4 Definisi Operasional	21
3.5 Bahan dan Alat Penelitian	21
3.5.1. Alat Penelitian	21
3.5.2. Bahan Penelitian	22
3.6 Alur Penelitian	23
3.7 Prosedur Penelitian	24
3.7.1. Pengumpulan dan Preparasi Sampel	24
3.7.2. Pengujian Kadar Air pada Serbuk	24
3.7.3. Penentuan kadar senyawa fenolik total menggunakan spektrofotometer UV-Vis	24
3.7.4. Penentuan Data Spektra FTIR	25
3.7.5. Pembentukan Model Kalibrasi	26
3.7.6. Validasi pada Model Kemometrik	26
3.7.7. Aplikasi pada Sampel Nyata	27
3.7.8. Analisis Data	27
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel Serbuk Daun	28
4.2 Uji Kadar Air pada Serbuk Daun	29
4.3 Penetapan Kadar Fenolik Total	30

4.4 Penetapan Kadar Fenolik Total pada Sampel <i>Training Set</i> dan <i>Test Set</i> dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis	31
4.5 Pembentukan Model Kalibrasi.....	35
4.6 Validasi pada Model Kalibrasi	39
4.7 Penerapan pada Model Terpilih Terhadap Sampel Nyata.....	43
BAB 5. KESIMPULAN.....	46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Daun Simplisia yang Digunakan.....	22
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Kadar Air Sampel <i>Training set</i>	30
Tabel 4.2 Hasil Pengujian Kadar Air Sampel <i>Test Set</i>	30
Tabel 4.3 Hasil Kadar Fenolik pada Sampel <i>Training Set</i>	34
Tabel 4.4 Hasil Kadar Fenolik pada Sampel <i>Test Set</i>	35
Tabel 4.5 Hasil Kalibrasi dari Sampel <i>Training set</i>	37
Tabel 4.6 Hasil LOOCV dari Sampel <i>Training Set</i>	40
Tabel 4.7 Hasil Kadar Fenolik Total pada Sampel Nyata.....	43
Tabel 4.8 Hasil Uji T Sampel Berpasangan.....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Anatomi Daun (Barclay, 2003).....	5
Gambar 2.2 Struktur Fenol.....	8
Gambar 2.3 Struktur Asam Galat.....	12
Gambar 2.4 Reaksi folin-ciocalteu dengan fenolik (Ikram dkk., 2017).....	13
Gambar 2.5 Diagram dari instrumen spektrofotometer UV-Vis (Suhartati, 2017)15	
Gambar 2.6 Skema FTIR (Nicolet dan All, 2001).....	16
Gambar 4.1 Hasil spektra pada sampel dengan kadar air <10% dan > 10%	29
Gambar 4.2 Hasil Spektra Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	31
Gambar 4.3 Kurva Kalibrasi Asam Galat	33
Gambar 4.4 Hasil Model Kalibrasi (a) PLS,(b) PCR,(c) SVR.....	38
Gambar 4.5 Hasil dari LOOCV (a) A,(b) B,(c) E pada Sampel <i>Training Set</i>	41
Gambar 4.6 Hasil dari <i>2-Fold Cross Validation</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN	53
A.1. Sampel Training set dan Test set	53
A.2. Sampel nyata.....	53
A.3. Instrumen yang digunakan	54
A.4. Foto penentuan kadar fenolik total.....	54
B. SPEKTRUM HASIL DARI FTIR	55
B.1. Spektrum asam galat	55
B.2. Contoh spektra sampel	55
B.3. Spektra gabungan antara sampel dan asam galat	56
C. Identitas sampel.....	56
C.1. Sampel Training set.....	56
C.2. Sampel <i>Test set</i>	57
C.3. Sampel Nyata.....	57
D. Hasil Pengujian Kadar Air Pada Sampel	57
D.1 hasil pengujian kadar air pada sampel training set dan test set.....	57
E. Data Penetapan Kadar Fenolik Total dengan Spektrofotometri UV-Vis	58
E.1. Data standar asam galat	58
F. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Fenolik Total.....	59
F.1. Perhitungan pembuatan larutan induk asam galat	59
F.2. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel	60
G. Pembuatan Larutan Reagen Folin-Ciocalteau 1:10	63
H. Pembuatan Larutan Na ₂ CO ₃ 7,5%	63
I. Hasil Spektra dari Panjang Gelombang Maksimum.....	63
I.1. Data optimasi Panjang gelombang	64
J. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Total	66
J.1. Contoh perhitungan pada sampel kode A.....	66

J.2. Hasil Perhitungan mg/GAE g Serbuk sampel <i>Training set</i>	67
J.3. Hasil penghitungan mg GAE/g serbuk sampel <i>Test set</i>	69
J.4. Hasil perhitungan Sampel Nyata	69
K. Hasil Analisis Dengan Metode Kemometrik	70
K.1. Model kalibrasi <i>Training set</i> model PLS	70
K.2. Model Kalibrasi <i>Training set</i> model PCR.....	70
K.3. Model Kalibrasi <i>Training set</i> SVR.....	71
K.4. Hasil Validasi LOOCV	71
K.5. Hasil Validasi <i>2-Fold Cross Validation</i>	73
K.6. Hasil Prediksi sampel nyata	73
L. Hasil Analisis Sampel Nyata dari Uji <i>T-Test Paired</i>	74
L.1 Hasil dari analisis uji <i>normality</i>	74
L.2 Hasil dari analisis uji <i>t-test paired</i>	74

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah. Sumber daya alam yang dapat dimanfaatkan dalam kehidupan kita, salah satunya adalah tanaman. Jumlah tanaman di Indonesia sebanyak 30.000 jenis dan sekitar 940 jenis dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Kehutanan, 2014). Obat tradisional adalah ramuan bahan berupa tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian, atau campuran dari bahan tertentu yang sudah digunakan secara turun menurun (Supardi dkk., 2012). Indonesia memiliki sekitar 400 suku bangsa yang masing-masing memiliki berbagai pengetahuan tentang pengobatan tradisional yang digunakan untuk memelihara kesehatan dan diwariskan dari generasi ke generasi (Kepmenkes, 2007).

Di Indonesia, obat tradisional masih sering digunakan untuk memelihara kesehatan, berdasarkan Riskesdas pada tahun 2010 menyebutkan bahwa 55,3% penduduk Indonesia menggunakan obat tradisional untuk menjaga kesehatan dan 95,6% masyarakat yang telah menggunakan obat tradisional menyetujui bahwa obat tradisional yang digunakan sangat berguna bagi kesehatan (Emilda dkk., 2017).

Penggunaan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional, dapat dikaitkan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman itu sendiri seperti zat bioaktif. Senyawa bioaktif yang ada di dalam tanaman disebut dengan golongan senyawa metabolit sekunder, seperti golongan alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin (Aslamiah dan Haryadi, 2014). Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan tersebar pada bagian tumbuhan antara lain di daun, bunga, buah, akar, biji, rimpang atau kulit batang (Aslamiah dan Haryadi, 2014).

Daun merupakan bagian tumbuhan yang sering digunakan sebagai bahan obat tradisional, hal ini disebabkan karena daun merupakan bagian yang sering di jumpai, selalu tersedia, pengambilan dan pemanfaatannya mudah dan sederhana (Sada dan Tanjung, 2010). Oleh karena itu, daun dalam obat tradisional dapat

dibuat menjadi sediaan serbuk. Sediaan serbuk adalah sediaan obat tradisional yang homogen terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak, cara penggunaannya dapat diseduh dengan air panas. Sediaan serbuk memiliki kelebihan, seperti lebih praktis dan mudah dibawa jika dibandingkan dengan sediaan rebusan serta dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam meminum obat (Ahmad, 2012).

Salah satu golongan metabolit sekunder yang terdapat di daun adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenolik ini terbentuk dari jalur metabolisme asam sikhimat (Proestos dkk., 2006). Senyawa fenolik dari tanaman mempunyai beberapa khasiat antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antimutagenik, antimikroba, antikarsinogenik, dan pencegahan terhadap penyakit jantung (Ghosh dan Konishi, 2007).

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar fenolik total yang telah ada pada penelitian sebelumnya antara lain Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara Spektrofotometri (Alfian dan Susanti, 2012), Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Buah dan Daun Patikala (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.SM) dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (Ahmad dkk., 2015), Penentuan Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan dari Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Bawang Putih Gajah (*Allium ampeloprasum*) dengan spektroskopi *Fourier Transformed Infrared* (FTIR) (Lu dkk., 2011).

Pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar fenolik total pada serbuk daun tanaman obat menggunakan metode spektrofotometri FTIR dengan analisis kemometrik. Metode FTIR dapat mengukur secara cepat tanpa merusak sampel dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Penggunaan FTIR dalam analisis tumbuhan menghasilkan spektrum yang cukup kompleks. Kemometrik merupakan metode yang dapat memperluas potensi spektrofotometri FTIR sebagai metode alternatif untuk menganalisis komponen di tumbuhan (Wold dkk., 2001).

Nilai kadar fenolik total yang telah dianalisis secara kuantitatif akan dibandingkan dengan nilai kadar fenolik total pada spektrofotometri UV-Vis sebagai pembanding. Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin melakukan penelitian tentang “Penentuan Kadar Fenolik Total pada Serbuk Daun Tanaman Obat Menggunakan Metode FTIR-Kemometrik”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang diperoleh adalah:

1. Apakah metode FTIR-kemometrik dapat digunakan untuk menentukan kadar fenolik total pada sampel serbuk daun?
2. Apakah kadar fenolik total pada sampel serbuk daun yang dianalisis dengan metode FTIR-kemometrik dan metode spektrofotometri UV-Vis sebagai pembanding memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan?

1.3 Tujuan Penelitian

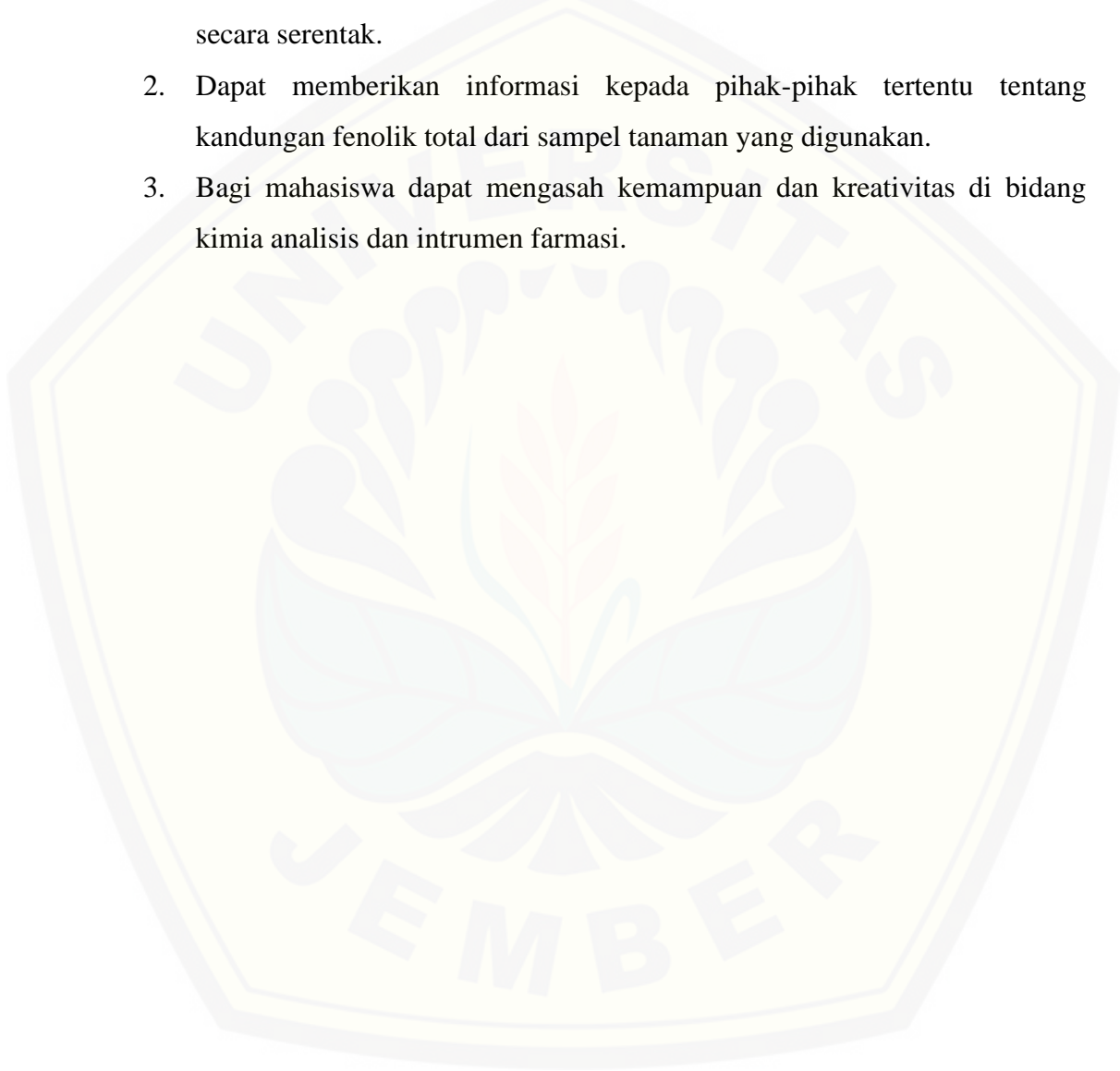
Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui apakah kadar fenolik total pada sampel serbuk daun dapat ditentukan dengan metode FTIR-kemometrik.
2. Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dari kadar fenolik total pada sampel serbuk daun dengan metode FTIR-kemometrik dan metode spektrofotometri UV-Vis sebagai pembanding.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Dapat memberikan informasi tentang metode penentuan kadar fenolik total pada sampel serbuk daun tanaman obat dengan menggunakan metode yang cepat tanpa merusak sampel dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak.
2. Dapat memberikan informasi kepada pihak-pihak tertentu tentang kandungan fenolik total dari sampel tanaman yang digunakan.
3. Bagi mahasiswa dapat mengasah kemampuan dan kreativitas di bidang kimia analisis dan instrumen farmasi.

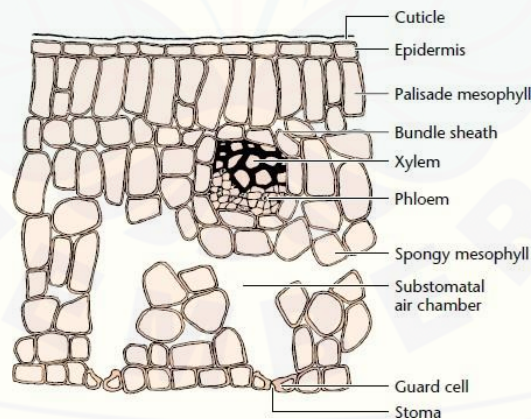


BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun

Daun merupakan tumbuhan hijau yang membentuk lateral utama pada batang tumbuhan vaskular. Secara umum bentuk dari daun adalah lebar, pipih dan biasanya berwarna hijau yang ditemukan dalam berbagai macam bentuk dan ukuran. Tugas utama dari daun adalah melakukan fotosintesis pada tanaman (Dkhar dan Pareek, 2014).

Di dalam daun terdapat dua lapisan sel yang disebut mesofil. Di bagian mesofil dibagi menjadi dua lapisan yaitu lapisan palisade dan lapisan sponge. Lapisan palisade tersusun rapat dan terletak tepat di bawah jaringan epidermis, sedangkan lapisan sponge tersusun lebih renggang dan terletak diantara lapisan palisade dan epidermis bawah. Terdapat ruang udara antara sel sponge yang digunakan untuk pertukaran gas dan biasanya disebut dengan stomata. Jaringan mesofil terlapisi dengan kloroplas dan di sini terjadinya proses fotosintesis (Castro-Díez dkk., 2000). Struktur anatomi daun dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Anatomi Daun (Barclay, 2003)

2.2 Tanaman Obat

Tanaman obat adalah bagian dari tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional, bahan pemula bahan baku obat, yang diekstraksi dan ekstrak tanaman tersebut dapat digunakan sebagai obat (Depkes, 1978). *World Health Organization* (WHO) mendefinisikan tanaman obat sebagai tanaman yang dikonsumsi dengan indikasi sebagai pengobatan dan merupakan bahan asli pada proses pembuatan obat herbal (WHO, 1998). Tanaman obat sangat bermanfaat dalam dunia farmasi dalam hal sebagai sumber bahan baku obat tradisional. Dilihat dari kecenderungan masyarakat yang sering mengonsumsi obat tradisional yang dikarenakan gaya hidup kembali ke *back to nature* dan juga mahalnya obat modern sehingga permintaan dalam produk tanaman obat semakin meningkat (Prasetyo dan Inorih, 2013). Tanaman obat sangat sering digunakan sebagai bahan baku obat tradisional dan jamu, ketika dikonsumsi dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh kita, dikarenakan memiliki sifat yang spesifik yaitu sebagai pencegahan (*preventif* dan *promotive*) yang dikaitkan dengan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya sehingga mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Salim dan Munadi, 2017).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit merupakan senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme. Metabolisme merupakan reaksi penguraian zat selama di dalam sel makhluk hidup. Secara umum tumbuhan terdiri dari dua senyawa metabolit yaitu metabolit sekunder dan metabolit primer (Saifudin, 2014).

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak diperlukan pada organisme hidup, tetapi berperan dalam interaksi organisme (sel) dengan lingkungan sekitar. Bagian tanaman yang sering ditemukan senyawa metabolit sekunder yaitu pada bagian daun, akar, pucuk, dan kulit pada batang (Pagare dkk., 2015). Fungsi dari senyawa metabolit sekunder diantaranya sebagai atraktan, melindungi dari kondisi lingkungan sekitar, pelindung dari serangan

hama/penyakit, dan alelopati. Struktur dari senyawa metabolit sekunder lebih kompleks dan masih sulit untuk disintesis sehingga metabolit sekunder masih jarang dijumpai karena hanya 15% yang berhasil di isolasi, karena itu senyawa metabolit sekunder memiliki nilai ekonomi tinggi. Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh melalui jalur diluar biosintesis karbohidrat dan protein, terdapat tiga jalur utama dalam pembentukan metabolit sekunder sebagai berikut :

1. Jalur Asam Malonat,

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jalur ini diantaranya asam lemak (misalnya linoleate, oleat, laurat, palmitat, dan miristat) gliserida, poliasetilen, fosfolipida, dan glikolipida (Mariska, 2013).

2. Jalur Asam Mevalonat

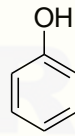
Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jalur asam mevalonat diantaranya Essential oil, Squalent, Monoterpenoid, Menthol, Korosinoid, Steroid, Terpenoid, Sapogenin, Geraniol, ABA, dan GA3 (Mariska, 2013).

3. Jalur Asam Sikhimat

Senyawa metabolit sekunder yang disintesis melalui jalur asam shikmat diantaranya Asam Sinamat, Fenol, Asam benzoik, Lignin, Koumarin, Tanin, Asam amino benzoik dan Quinon (Mariska, 2013)

2.4 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (Ozcan dkk., 2014). Senyawa fenolik berasal dari senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jalur sikhimat pada tanaman (Escarpa dan Gonzalez, 2001). Struktur fenol dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Fenol

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak didistribusikan di tumbuhan. Senyawa tersebut memiliki peran penting pada pertumbuhan dan reproduksi di tanaman, selain itu juga dapat memberikan perlindungan terhadap patogen dan berkontribusi dalam warna dan karakteristik pada sayuran dan buah-buahan (Chikezie dkk., 2015). Berbagai jenis tanaman dapat ditemukan senyawa fenolik dengan jumlah yang bervariasi tergantung dari filum pada tanaman. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang terdapat di berbagai tanaman dalam konsentrasi yang berbeda-beda, sehingga senyawa fenolik dibedakan menjadi beberapa klasifikasi salah satunya diklasifikasikan menurut kerangka karbon dasarnya. Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan rantai karbonnya dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolik

Kelas	Kerangka Dasar
Fenol	C ₆
Benzokuinon	C ₆
Asam Hidroksibenzonik	C ₆ -C ₁
Asam hidroksinamat	C ₆ -C ₃
Fenilpropana	C ₆ -C ₃
Asetofenon	C ₆ -C ₂
Asam Fenilasetat	C ₆ -C ₂
Xanton	C ₆ -C ₁ -C ₆
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆
Antrakuinon	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoid	C ₆ -C ₃ -C ₆
Isoflavonoid	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignan	(C ₆ -C ₃) ₂
Neolignan	(C ₆ -C ₃) ₂
Lignin	(C ₆ -C ₃) _n

Sumber: (Vuolo dkk., 2018)

2.5 Simplisia

Dalam dunia farmasi, simplisia disebut dengan bahan-bahan mentah untuk obat-obatan. simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan dengan suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C. Simplisia terdiri dari 3 macam yaitu (Depkes, 1995);

1. Simplisia nabati adalah simplisia dapat berasal dari tanaman utuh, bagian tanaman atau hanya eksudat dari tanamannya. Tanaman eksudat merupakan bagian dari isi sel yang dapat spontan keluar dari tanaman tersebut atau dengan mengeluarkan dari selnya sendiri.
2. Simplisia hewani adalah simplisia dari hewan utuh, sebagian hewan, atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan dan masih belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia dari bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dan belum berupa zat kimia murni.

Tahap pembuatan simplisia ada beberapa tahap antara lain (Prasetyo dan Inorih, 2013):

a. Pengumpulan Bahan Baku

Pengumpulan bahan baku biasanya melihat dari kadar senyawa aktif dalam simplisia yang berbeda sehingga tergantung pada bagian tanaman yang dipakai, umur tanaman pada saat akan panen atau bagian tanaman yang dipanen, waktu yang pas untuk panen, lingkungan tumbuhnya tanaman.

b. Sortasi Basah

Sortasi basah merupakan pemisahan kotoran atau bahan asing lainnya dari simplisia. Pada simplisia akar, banyak bahan asing atau kotoran yang terikut seperti tanah, ditanah terdapat banyak macam mikroba sehingga dilakukan pemisahan untuk mengurangi jumlah mikroba.

c. Pencucian Bahan

Pencucian merupakan kegiatan untuk menghilangkan kotoran atau zat asing yang melekat pada simplisia. Biasanya dilakukan dengan menggunakan air bersih seperti sumber mata air, air sumur, atau air PAM. Simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air maka proses pencucian dilakukan secara singkat agar zatnya tidak ikut terlarut dalam air.

d. Perajangan

Perajangan dapat dilakukan pada beberapa jenis simplisia untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang diinginkan. Semakin tipis bahan yang dikeringkan, maka semakin cepat waktu pengeringannya.

e. Pengeringan

Pengeringan adalah proses yang dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan dengan mengurangi kadar air dan

menghentikan reaksi enzimatik pada simplisia sehingga mencegah terjadinya kerusakan pada simplisia. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan sinar matahari atau alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan antara lain: suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Sortasi kering merupakan proses sortasi pada simplisia kering dalam memisahkan kotoran, bahan asing dan simplisia yang rusak.

g. Pengepakan dan penyimpanan

Pengepakan dan penyimpanan merupakan proses pengepakan simplisia pada tempat seperti karung goni atau plastik. Penyimpanan simplisia harus rapi dan tersusun secara teratur untuk menghindari adanya pencemaran antara simplisia satu sama lain, serta memudahkan dalam pengambilan, pemeriksaan, dan pemeliharaan.

2.6 Serbuk Simplisia

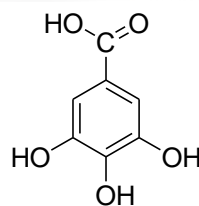
Serbuk simplisia merupakan simplisia dengan serbuk yang homogen serta diikuti dengan derajat kehalusan tertentu, yang terbuat dari simplisia campuran dan ekstrak kemudian dicampur dengan air panas sehingga dapat dikonsumsi sebagai obat tradisional (BPOM, 2014). Serbuk simplisia yang dicampur dengan air panas sebelum digunakan memiliki beberapa syarat yaitu dapat diamati secara organoleptik terhadap bentuk serbuk, rasa serbuk, bau serbuk dan warna dari serbuk, selain itu juga dilihat dari kadar air pada serbuk simplisia syarat dari kadar air yang baik untuk serbuk $\leq 10\%$. Arti dari kadar air harus di bawah 10% agar serbuk simplisia yang akan digunakan tidak rusak dan tahan jika disimpan dalam waktu yang lama. Selain itu dapat juga menghentikan reaksi enzimatik pada serbuk simplisia sehingga dapat menyebabkan serbuk simplisia rusak (Prasetyo dan Inorah, 2013). Tahapan dalam pembuatan serbuk simplisia adalah penggilingan yang kemudian dilanjutkan dengan pengayakan, simplisia yang masih utuh dapat

dihaluskan dengan memakai mesin penggiling (blender) yang dilanjutkan dengan diayak menggunakan ayakan no mesh 100 agar sebuk yang dihasilkan dari simplisia halus (MENKES, 2009).

2.7 Asam Galat

Asam galat adalah golongan trihydroxybenzoat yang dikenal sebagai 3,4,5-trihydroxybenzoat, yang terdapat di sebagian tanaman. Asam galat dibiosintesis dari 3-dehydroshikimate pada reaksi katalisis shikimat dan menghasilkan 3,5-didehydroshikimate yang kemudian mengalami tautomerisasi untuk membentuk galat. Asam galat terdiri dari tiga gugus hidroksil dan gugus asam karboksilat yang melekat pada cincin benzena (Erukainure dkk., 2018).

Asam galat adalah padatan kristal tidak berwarna atau sedikit berwarna kuning. Berat molekulnya adalah 170,11954 g/mol dan rumus molekulnya adalah $C_7H_6O_5$. Titik lebur adalah $210^{\circ}C$ dengan dekomposisi antara 235 hingga $240^{\circ}C$ yang menghasilkan rantai karbon dioksida dan karbon monoksida, memiliki kepadatan 1,69 kg/L ($20^{\circ}C$) pKa adalah 4,40 dan log P nya 0,70 ($20^{\circ}C$). Asam galat dapat larut dalam alkohol, eter, dan gliserol dan praktis tidak larut dalam minyak, benzena, kloroform, dan eter (Fernandes dan Salgado, 2016). Asam galat digunakan sebagai pembanding pada penentuan kandungan fenolik total (Pujimulyani dkk., 2010). Kandungan fenolik total yang diperoleh akan diekuivalen dengan asam galat yaitu milligram asam galat ekuivalen (GAE) per gram sampel. Keuntungan dari asam galat adalah dapat larut dalam air, mudah rekristalisasi di dalam air, tersedia dalam bentuk kering, memiliki harga yang murah dan stabil dalam bentuk kering (Fernandes dan Salgado, 2016). Struktur asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.3.

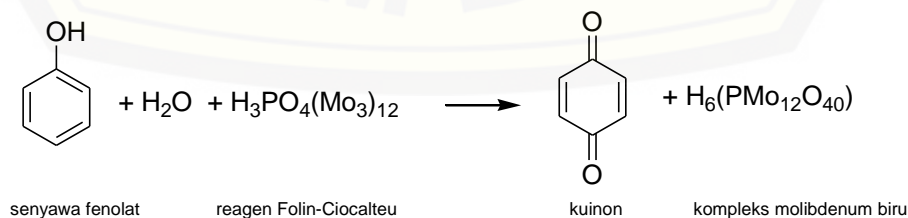


Gambar 2.3 Struktur Asam Galat

2.8 Metode Penentuan Kadar Fenolik Total dengan Reagen Folin-Ciocalteu

Metode penetapan kadar fenolik dengan reagen Folin-Ciocalteu (F-C) adalah metode paling sederhana dalam penentuan kadar fenolik, metode ini merupakan pengembangan dari reagen Folin Denis yang digunakan pada awal abad ke-19 untuk penentuan tirosin dalam protein. Perekasi pada Folin-Ciocalteu dapat dibuat dengan melarutkan 100 g natrium tungstat (VI) dihidrat dan 25 g natrium molibdat (VI) dihidrat dengan 700 ml air suling, 100 ml asam klorida pekat dan 50 ml asam fosfat 85% yang ditambahkan 150 g lithium sulfat hidrat, sehingga menjadi sangat stabil (A Agbor dkk., 2014). Metode dengan penambahan reagen Folin-Ciocalteu memiliki keuntungan diantaranya harganya ekonomis, sederhana, dan relatif cepat (Khoddami dkk., 2013).

Selama bertahun-tahun sampai sekarang, reagen Folin-Ciocalteu digunakan untuk mengukur polifenol dalam produk alami. Prinsip dari metode Folin-Ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel uji. Perekasi ini akan mengoksidasi fenolat, dan mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru, sehingga dapat diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis (Rahayu dan Inanda, 2015). Senyawa fenolik bereaksi dengan Folin Ciocalteu hanya pada kondisi basa, sehingga perlu ditambahkan Na_2CO_3 7,5%. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi dari senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolik yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton, 1965). Berikut reaksi Folin Ciocalteu dengan fenolik dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi folin-ciocalteu dengan fenolik (Ulfah dkk., 2017)

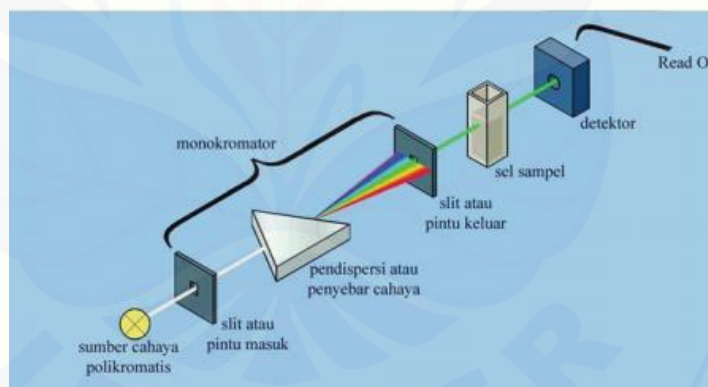
2.9 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer ultraviolet (UV) merupakan metode spektroskopi yang menggunakan cahaya dari rentang inframerah, ultraviolet hingga inframerah dekat. Berdasarkan, hukum Beer-Lambert dinyatakan absorbansi larutan akan berbanding lurus dengan konsentrasi, dengan demikian spektrofotometer UV-Vis dapat dipakai dalam menentukan konsentrasi pada suatu larutan serta mengetahui seberapa cepat terjadinya perubahan absorbansi pada konsentrasi. Spektrofotometer ultraviolet telah digunakan selama 35 tahun terakhir dan selama periode ini telah menjadi instrument analitik yang paling penting di laboratorium. Spektrofotometer UV-Vis dalam penggunaannya memiliki keuntungan antara lain sederhana, serbaguna, cepat, tepat, dan efektif dalam biaya (Shah dkk., 2015). Spektrofotometer UV-Vis tidak dapat digunakan untuk tujuan identifikasi, tetapi banyak digunakan untuk analisis kuantitatif (Worsfold, 2019).

Spektrofotometer UV-Vis memiliki prinsip kerja yaitu jika terdapat sinar yang melalui larutan sampel, sehingga sebagian sinar akan diserap secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan. Absorbansi merupakan perbandingan antara intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang, sehingga nilai dari absorbansi akan bergantung pada kadar yang terkandung didalam zatnya, semakin besar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin besar pula molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, sehingga nilai absorbansi akan semakin besar atau nilai absorbansi akan sama dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel (Gusnedi, 2013).

Sumber sinar polikromatis pada sinar UV berasal dari lampu deuterium, sedangkan sinar tampak berasal dari lampu wolfram. Spektrofotometer UV-Vis terdapat monokromator yang digunakan sebagai lensa prisma dan filter optik. Sampel pada spektrofotometer UV-Vis diletakkan di kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Terdapat detektor yang berfungsi sebagai detektor foto atau detektor panas atau detektor diode foto yang berfungsi menangkap cahaya yang akan diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suhartati, 2017).

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu teknik kimia analisis yang sering digunakan dalam penentuan atau penetapan pada senyawa-senyawa organik (Triyanti, 1985). Spektrofotometer UV-Vis dapat bekerja pada dua rentang panjang gelombang untuk ultraviolet (UV) dapat bekerja pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan untuk sinar tampak (Vis) dapat bekerja pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Adeeyinwo dkk., 2013). Sampel yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah sampel yang memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom. Gugus kromofor merupakan gugus yang bisa mengabsorpsi sinar dari ultraviolet dan sinar tampak, pada gugus kromofor terdiri dari ikatan rangkap yang terkonjugasi, contohnya diena ($C=C-C=C$), dienon ($C=C-C=O$), serta gugus benzene. Gugus auksokrom merupakan gugus yang tidak mempunyai elektron yang berikatan (non-bonding) dan juga tidak dapat mengabsorpsi sinar UV yang jauh, contohnya $-OH$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-X$ (Rouessac dan Rouessac, 2007). Berikut diagram dari instrumen spektrometer UV-Vis pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Diagram dari instrumen spektrofotometer UV-Vis (Suhartati, 2017)

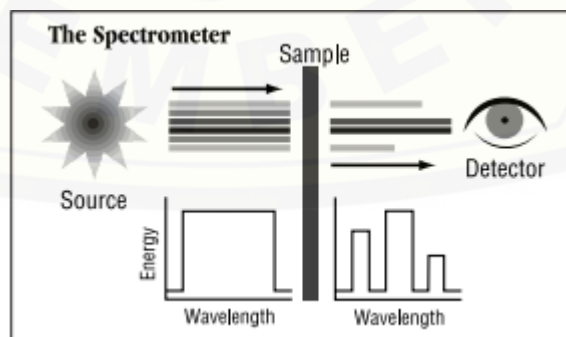
2.10 FTIR

FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) adalah teknik analisis yang baik dalam mengidentifikasi dan menganalisis struktural senyawa kimia. Puncak-puncak dalam spektrum IR pada sampel sudah mewakili eksitasi mode vibrasi molekuler sehingga dapat dikaitkan dengan berbagai ikatan kimia dan gugus fungsi yang ada dalam molekul (Ismail dkk., 1997). Radiasi dari IR akan melewati sampel sehingga akan ada beberapa radiasi inframerah yang diserap oleh sampel dan

sebagaimana akan dilewatkan (ditransmisikan). Spektrum yang dihasilkan akan mewakili penyerapan dan transmisi molekul sehingga menciptakan sidik jari dari molekul sampel, oleh karena itu spektroskopi inframerah berguna untuk melakukan beberapa jenis analisis (Nicolet dan All, 2001).

FTIR menggunakan sistem optik dengan laser yang berfungsi sebagai sumber radiasi yang akan diinterferensikan oleh radiasi inframerah agar sinyal radiasi yang diterima oleh detektor memiliki kualitas yang baik dan utuh (Giwangkara S, 2006). Prinsip kerja dari FTIR adalah sinar inframerah yang dipancarkan akan melewati celah dan mengontrol jumlah sinar yang akan diberikan pada sampel. Sinar akan masuk ke interferometer dan terjadi proses pengkodean spektral, sehingga dihasilkan sinyal interferogram yang akan dikeluarkan dari interferometer. Kompartemen sampel akan di masukkan ke balok dan akan ditransmisikan melalui permukaan sampel, tetapi tergantung pada jenis analisis yang akan dilakukan. Proses karakteristik unik pada sampel akan diserap, sehingga sinar akan beralih ke detektor untuk dilakukan pengukuran akhir. Detektor digunakan dan dirancang khusus untuk mengukur sinyal interferogram, sinyal yang diukur akan dikirim ke komputer dan spektrum akhir dari inframerah akan diinterpretasi (Nicolet dan All, 2001).

FTIR memiliki beberapa keuntungan antara lain hanya membutuhkan sedikit sampel, hasil FTIR dapat diperoleh dengan cepat tanpa proses yang rumit, tidak menggunakan pelarut kimia, dan sensitivitas tinggi (Horgnies dkk., 2013). Skema FTIR dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Skema FTIR (Nicolet dan All, 2001)

2.11 Analisis Kemometrik

Kemometrik adalah penerapan teknik matematika dan statistik untuk mendapatkan lebih banyak informasi dari data kromatografi (Lavine BJ, 2010). Menurut ICS (*International Chemometric Society*) mendefinisikan kemometrik sebagai ilmu tentang pengukuran yang berkaitan dengan pengukuran pada kimia atau proses keadaan sistem melalui penerapan metode matematis atau statistik. Kromatografi sidik jari atau *fingerprint* yang dikombinasikan dengan kemometrik, biasanya digunakan untuk mengevaluasi kualitas tanaman dengan mengolah informasi dan menyediakan berbagai metode pengolahan data (Shafirany dkk., 2018).

Metode analisis kemometrik dapat dikombinasikan dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) yang telah banyak digunakan dalam analisis obat herbal. Spektrum IR yang dihasilkan dari FTIR sangat rumit karena sampelnya kompleks sehingga menghasilkan interaksi antara senyawa-senyawa dan juga dapat menggambarkan keseluruhan karakteristik dari sampel. Untuk memudahkan interpretasi spektrum IR diperlukan bantuan teknik kemometrik (Shafirany dkk., 2018). Banyak penelitian yang dilakukan dengan aplikasi FTIR dan kemometrik yang bertujuan untuk identifikasi, maupun autentikasi tumbuhan seperti identifikasi dan kuantifikasi harpagosida pada akar *harpagophytum procumbens* (Baranska dkk., 2005).

Kemometrik dapat untuk menganalisis data multivariat, data multivariat adalah suatu data yang memiliki banyak variabel dari setiap variabel akan saling berkorelasi. Keuntungan dari analisis multivariat adalah informasi yang didapatkan lebih banyak karena analisis multivariat mempertimbangkan masing-masing variabel secara individu. Selain itu analisis multivariat juga dapat mereduksi *noise* lebih selektif dalam suatu pengukuran, dan bisa mendeteksi adanya sampel baru (Bro, 2003).

Ada dua jenis teknik multivariat yaitu kuantitatif dan kualitatif. Kemometrik untuk Analisis kuantitatif antara lain *Partial Least Square* (PLS), *Principal Component Regression* (PCR), *Multiple Linier Regression* (MLR), dan *Artificial Neural Networks*. Sementara untuk analisis kualitatif antara lain *Principal*

Component Analysis (PCA), *Linear Discriminant Analysis (LDA)*, *Soft independent Modelling of Class Analogy (SIMCA)* dan *Support Vector Regression (SVR)*. Metode analisis multivariat secara kuantitatif adalah sebagai berikut;

a. *Partial Least Square (PLS)*

PLS adalah metode analisis multivariat yang menggunakan kombinasi linear dari variabel prediktor dan variabel asli. PLS komponen utama dipilih dari variabel yang menunjukkan kolerasi tinggi sehingga akan lebih efektif dalam memprediksi (Ziegel, 2004).

b. *Principal Component Regression (PCR)*

PCR adalah metode analisis multivariat untuk mengurangi jumlah variabel prediktor dengan variabel asli. Metode ini berfungsi dengan baik ketika ada kolerasi antara variabel yang cukup besar (Ziegel, 2004).

c. *Support Vector Machines (SVM)*

Support Vector Machines merupakan pendekatan yang berbasis *machine learning*, modifikasi dari SVM untuk pendekatan regresi adalah *Support Vector Regression (SVR)*. Metode ini diterapkan pada pendekatan non-linier, keunggulan dari SVR salah satunya mampu mengatasi *overfitting* (Ziegel, 2004).

2.12 Validasi Silang

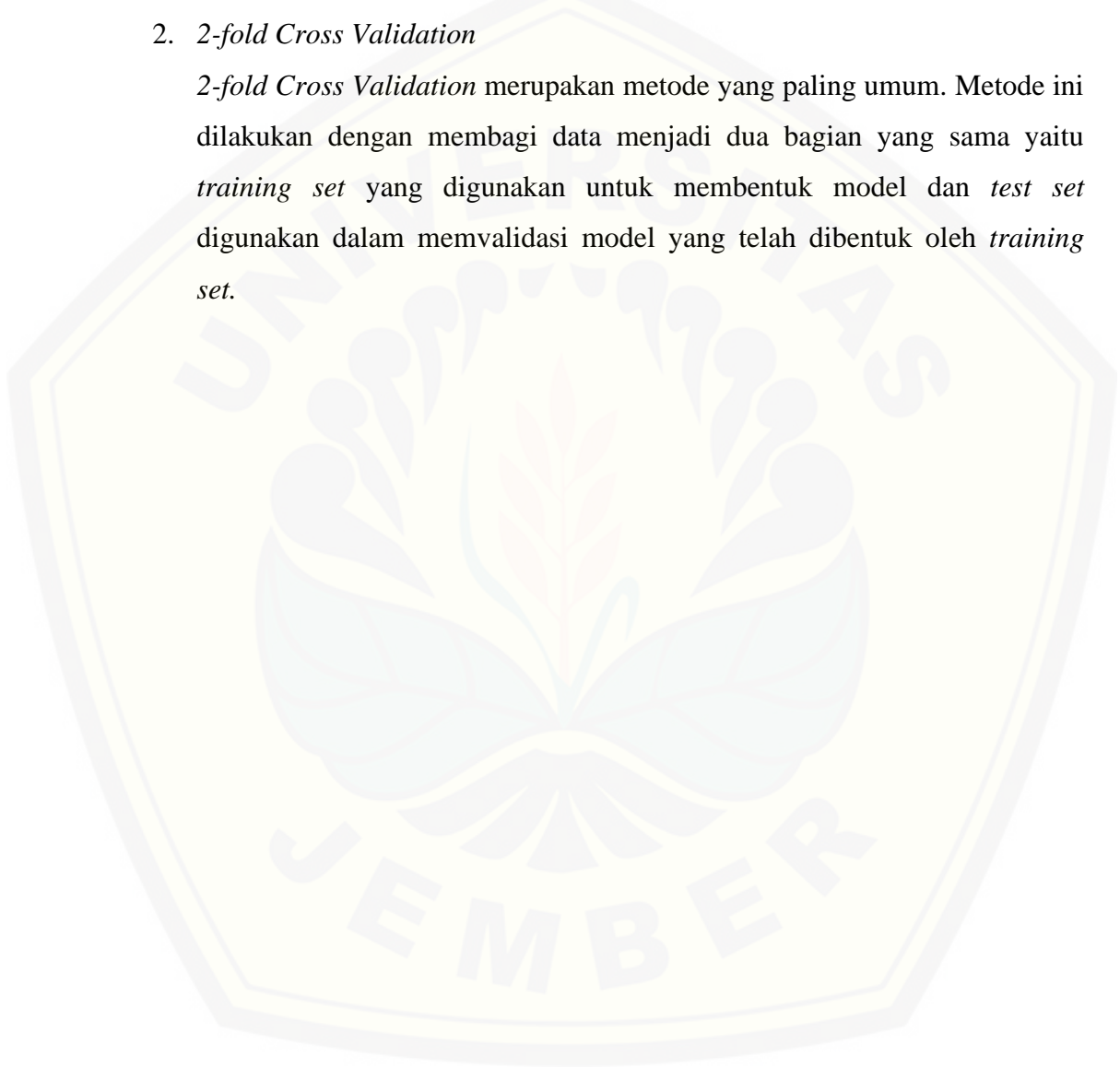
Validasi silang adalah metode statistik dalam mengevaluasi dan membandingkan secara algoritma dengan membagi data menjadi dua segmen, satu digunakan untuk mempelajari atau melatih model dan yang lainnya untuk mevalidasi model. Bentuk dasar validasi silang adalah *k-fold*, dalam validasi silang *k-fold* data pertama akan dipartisi menjadi k atau segmen dengan ukuran yang hampir sama, selanjutnya divalidasi sehingga dalam setiap lipatan data akan divalidasi. Ada beberapa jenis validasi silang yaitu *Leave-one-out* dan *2-fold cross validation* (Refaeilzadeh dkk., 2008);

1. *Leave-one-out*

Leave-one-out cross validation adalah menghilangkan satu variabel yang kemudian dapat dilakukan validasi silang pada validasi silang ini menggunakan sampel *training set*. Validasi silang ini dilakukan secara berulang pada sampel dan sekaligus digunakan sebagai data validasi.

2. *2-fold Cross Validation*

2-fold Cross Validation merupakan metode yang paling umum. Metode ini dilakukan dengan membagi data menjadi dua bagian yang sama yaitu *training set* yang digunakan untuk membentuk model dan *test set* digunakan dalam memvalidasi model yang telah dibentuk oleh *training set*.



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini termasuk jenis penelitian *true experimental laboratories*. Dilakukan untuk mengetahui kadar fenolik total pada serbuk daun tanaman obat dengan metode FTIR-kemometrik.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kimia, Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu di mulai penelitian bulan Oktober 2019 hingga bulan Maret 2020

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel Bebas pada penelitian ini adalah jenis daun yang digunakan dalam penelitian.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar fenolik total pada serbuk daun.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah metode penentuan kadar fenolik total menggunakan spektrofotometri FTIR dan spektrofotometri UV-Vis.

3.4 Definisi Operasional

Daun adalah tumbuhan hijau yang membentuk lateral utama pada batang tumbuhan vaskular. Sampel yang digunakan adalah beberapa jenis daun segar yang dipilih secara random yang diambil di sekitar wilayah Jember dan untuk sampel nyata yang dibeli secara *online* disalah satu situs toko *online* (serbuk daun kelor, serbuk daun sirih, serbuk daun sambiloto, teh celup daun sirsak dan teh celup daun jati belanda). Dilakukan penentuan kadar fenolik total merupakan kadar senyawa fenolik yang dinyatakan sebagai milligram ekuivalen asam galat per gram serbuk (mg GAE/g serbuk) dengan menggunakan metode TPC (*Total Phenol Content*) dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan standar asam galat sebagai pembanding dalam penentuan fenolik total yang kemudian dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Analisis fenolik dilakukan dengan melihat pola struktur yang dihasilkan FTIR kemudian dikombinasikan dengan analisis kemometrik PLS, PCR, dan SVR. Data dari spektra yang dihasilkan oleh FTIR dibandingkan dengan hasil kadar dari spektrofotometri UV-Vis dan diolah di program *The Unscrambler X 10.2*. Metode yang terpilih akan dianalisis dengan metode LOOCV (*Leave One Out Cross Validation*) dan *2-Fold Cross Validation*, selanjutnya jika model yang dipilih dikatakan valid dapat diterapkan pada sampel nyata.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometri UV-Vis (Hitachi U-1800), Spektrofotometer FTIR (Bruker Alpha) dengan asesoris ATR (*Attenuated Total Reflectance*), alat *moisture content*, perangkat lunak *Unscrambler X 10.2* (Camo), perangkat lunak OPUS, perangkat lunak SPSS (SPSS Inc.), timbangan analitik digital, blender, *beaker glass*, pipet tetes, labu ukur 10 ml, labu ukur 25 ml, botol vial, pot salep, kuvet, corong.

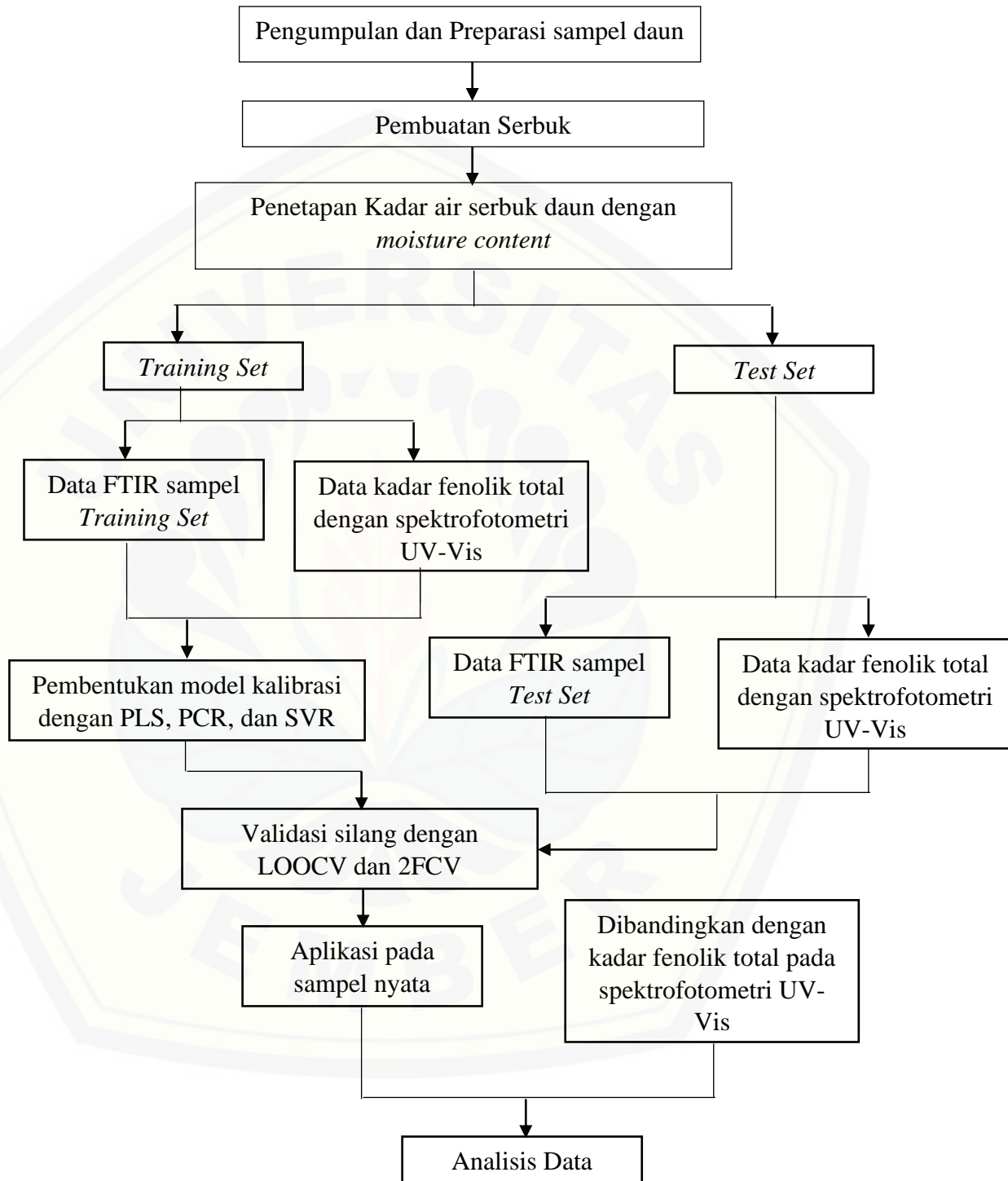
3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 sampel serbuk daun dapat dilihat pada Tabel 3.1, reagen Folin-Ciocalteu (Merck), Na_2CO_3 , asam galat, metanol teknis dan 5 sampel daun yang beredar di pasaran.

Tabel 3.1 Daun Simplisia yang Digunakan

No	Nama tanaman	Nama latin	Kode tanaman
1.	Pepaya	<i>Carica papaya</i>	A
2.	Kelor	<i>Moringa oleifera</i>	B
3.	Belimbing	<i>Averrhoa Carambola</i>	C
4.	Kemangi	<i>Ocimum basilicum</i>	D
5.	Melinjo	<i>Gnetum gnemon</i>	E
6.	Pandan	<i>Pandanus amaryllifolius</i>	F
7.	Lamtoro	<i>Leucaena leucocephala</i>	G
8.	Nangka	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	H
9.	Mengkudu	<i>Morinda citrifolia</i>	I
10.	Pakis	<i>Diplazium esculentum</i>	J
11.	Jambu air	<i>Syzygium aqueum</i>	K
12.	Sirsak	<i>Annona muricata</i>	L
13.	Jambu biji	<i>Psidium guajava</i>	M
14.	Katuk	<i>Sauropus androgynous</i>	N
15.	Kemundung	<i>Anredera cordifolia</i>	O
16.	Salam	<i>Syzygium polyanthum</i>	P
17.	Kenikir	<i>Cosmos caudatus</i>	Q
18.	Rambutan	<i>Nephelium lappaceum</i>	R
19.	Alpukat	<i>Persea Americana</i>	S
20.	Sirih	<i>Piper betle</i>	T
21.	Kopi robusta	<i>Coffea canephora</i>	U
22.	Kenitu	<i>Chrysophyllum cainito</i>	V
23.	Bluntas	<i>Pluchea indica</i>	W
24.	Matao	<i>Pometia pinnata</i>	X
25.	Mangga	<i>Mangifera indica</i>	Y

3.6 Alur Penelitian



3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1. Pengumpulan dan Preparasi Sampel

Pengumpulan dan pemilihan daun yang digunakan dalam penelitian adalah daun yang mengandung senyawa fenolik yang setiap sampel daun memiliki konsentrasi fenol yang berbeda-beda. Simplisia daun dibuat serbuk dengan cara di blender dan sampel diklasifikasikan ke dalam kelompok *training set* dan *test set*.

Pada sampel daun yang telah dikumpulkan, dilakukan proses sortasi basah, kemudian dilanjutkan dengan pencucian dengan air mengalir dan perendaman selama beberapa menit. Selanjutnya dilakukan proses perajangan dan pengeringan sampel dengan diangin-anginkan ditempat terbuka tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Simplisia daun kering kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling (blender) dan diayak dengan ayakan mesh 100.

3.7.2. Pengujian Kadar Air pada Serbuk

Serbuk kemudian diuji kadar airnya menggunakan alat *moisture content* yang syaratnya di bawah $\leq 10\%$, tahapannya di timbang 5g serbuk sampel dengan *moisture content*. Tekan tombol start dan tunggu hingga alat berbunyi tiga kali. Catat % kadar air yang muncul pada layar alat. Jika % kadar sampel masih di atas 10%, maka dilakukan pengovenan serbuk daun hingga diperoleh % kadar sampel di bawah 10%.

3.7.3. Penentuan kadar senyawa fenolik total menggunakan spektrofotometer UV-Vis

a. Pembuatan larutan Baku Asam Galat

Ditimbang standar asam galat sebanyak 25 mg dan 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dalam metanol sampai tanda batas volume. Lalu akan didapatkan konsentrasi

larutan induk asam galat yaitu 1.000 ppm dan 2.000 ppm. Selanjutnya larutan induk asam galat diencerkan dengan dipipet sesuai dengan konsentrasi pengenceran yang diinginkan, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk menjadi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 100 ppm, 200 ppm.

b. Pembuatan Larutan Uji

Menimbang serbuk daun sebanyak 20 mg, selanjutnya masukkan dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan menggunakan metanol hingga tanda batas volume, dan diperoleh konsentrasi larutan uji 2.000 ppm.

c. Penetapan Kadar Fenolik Total

Dilakukan pipetasi sampel sejumlah 100 μ l larutan uji dan 100 μ l larutan standar, kemudian masing-masing yang telah dipipet ditambahkan 500 μ l reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air) didiamkan selama 6 menit. Dilanjutkan dengan penambahan 400 μ l reagen Na_2CO_3 (7,5 g/L air) dan didiamkan 80 menit. Kemudian disiapkan juga blanko yaitu memipet 100 μ l methanol dan ditambahkan 500 μ l reagen Folin-Ciocalteu, didiamkan 6 menit dan tambahkan 400 μ l Na_2CO_3 didiamkan 80 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 743 nm (Dewi, 2013).

3.7.4. Penentuan Data Spektra FTIR

Langkah pertama menghidupkan spektrofotometer FTIR. Kemudian serbuk sampel diletakkan pada plate ATR lalu tuas ATR diputar sampai menekan sampel pada plate ATR, dilakukan pengukuran background setiap scanning, dan telah tersambung dengan komputer yang telah dilengkapi dengan perangkat lunak OPUS yang digunakan untuk mengontrol kerja spektrofotometer pada kisaran $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ dengan resolusi sebesar 4 cm^{-1} dan *scan* sebanyak 32 kali. Spektrum disimpan berupa data absorbansi dalam format OPUS dengan tiga kali replikasi.

3.7.5. Pembentukan Model Kalibrasi

Pembentukan Model kalibrasi dengan menggunakan metode PLS, PCR, dan SVR. Data absorbansi dari sampel yang mengandung fenolik total dari spektrum FTIR yang kemudian dianalisis dengan metode PLS, PCR, dan SVR untuk membentuk model kalibrasi. Nilai absorbansi ditandai dengan prediktor (variabel x) dan konsentrasi ditandai sebagai respon (variabel y). langkah-langkah yang harus dilakukan pertama membuka software *The Unscrambler X 10.2*. Data yang telah diperoleh di masukkan dengan memilih file, kemudian *import* data lalu memilih OPUS sehingga muncul tampilan data yang menunjukkan masing-masing panjang gelombang. Objek dikelompokkan dengan mengklik *define range* dan *column range* diisi dengan nilai konsentrasi pada kolom 1 dan absorbansi pada kolom lain yang sisa, dilanjutkan dengan membuat model dengan memilih *task, analyze*, lalu *Partial Least Square (PLS)*, *Principal Component Regression (PCR)* dan *Support Vector Machine Regression (SVMR)*. Pada PLS kriteria yang harus terpenuhi adalah R^2 , RMSEC (*Root Mean Standart Error of Callibration*), RMSECV (*Root Mean Standart Square Error Cross Validation*). Dalam pemilihan set data spektrum berdasarka pada prediksi dengan nilai kolerasi R^2 yang semakin mendekati 1, nilai galat RMSEC, dan RMSECV yang terbaik bila nilainya semakin kecil.

3.7.6. Validasi pada Model Kemometrik

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

LOOCV dapat digunakan untuk mengevaluasi data yang telah dibentuk oleh model kemometrik, data yang digunakan adalah *training set* sebagai set validasi dengan mengambil satu set dari data sampel. Data yang tersisa akan membentuk model baru dan dilakukan seterusnya sampai semua data digunakan sebagai set validasi.

b. *2-Fold Cross Validation*

2-Fold Cross Validation merupakan validasi sederhana dengan menggunakan data *test set*. Sampel *test set* di *scanning* dengan FTIR lalu diolah menggunakan perangkat lunak *The Uncsrambler X 10.2*.

3.7.7. Aplikasi pada Sampel Nyata

Apabila model kalibrasi yang telah dibentuk dinyatakan valid maka, dilanjutkan pada sampel nyata. Melakukan preparasi sampel dengan menimbang 20 mg serbuk daun, dilanjutkan dengan pemindaian sampel pada FTIR, sehingga diperoleh data spektrum dan sebagai pembanding data digunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

3.7.8. Analisis Data

Hasil dari analisis kadar fenolik total pada FTIR-kemometrik dibandingkan dengan hasil dari analisis kadar fenolik total pada spektrofotometri UV-Vis dan diuji dengan Uji T sampel berpasangan (Montolalu dan Langi, 2018).

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini kesimpulan yang telah didapatkan sebagai berikut:

1. Pada Penelitian ini metode FTIR-kemometrik dapat digunakan untuk menentukan kadar fenolik total pada serbuk daun tanaman obat. Model kalibrasi PCR (*Principal Component Regression*) yang memberikan hasil terbaik dengan nilai R^2 sebesar 0,9918885, mempunyai nilai RMSE sebesar 0,8675906. Pada model terpilih ini dilakukan validasi dengan LOOCV, hasil dari LOOCV dilihat pada $R^2 \geq 0,91$ selain itu juga menggunakan validasi *2-Fold Cross Validation* dengan memperoleh R^2 sebesar 0,9887363.
2. Pada penelitian ini untuk kadar fenolik total pada sampel nyata yang ditentukan dengan metode FTIR-Kemometrik terpilih (PCR) dan metode spektrofotometri UV-Vis memberikan hasil yang tidak berbeda secara signifikan yang diuji dengan Uji *T-Test Paired*, menghasilkan nilai Sig. 0,246, sehingga hasil dari analisis pada Uji *T-Test Paired* lebih dari $>0,05$.

5.2 Saran

Berdasarkan dari penelitian ini, saran yang akan disampaikan yaitu pada penelitian selanjutnya agar dapat membentuk model kalibrasi selain model yang telah terpilih dengan menghasilkan R^2 yang lebih baik, RMSE serta RMSECV dengan jumlah sampel yang digunakan lebih banyak dan bervariasi agar rentang dari kadar yang didapatkan juga lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- A Agbor, G., J. A. Vinson, dan P. E. Donnelly. 2014. Folin-ciocalteau reagent for polyphenolic assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*. 147–156.
- Adeeyinwo, C., N. Okorie, dan G. Idowu. 2013. Basic calibration of uv/visible spectrophotometer. *Internasional Journal of Science and Technology*. 2(3):247–251.
- Ahmad, A. R., S. Afrianty, D. Ratulangi, A. Malik, dan Juwita. 2015. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*etlingera elatior* (jack) r.m.sm). *Original Articol*. 2(1)
- Ahmad, F. A. L. 2012. Analisis penggunaan jamu untuk pengobatan pada pasien di klinik saintifikasi jamu hortus medicus tawangmangu. *Thesis*. 102.
- Alfian, R. dan H. Susanti. 2012. PENETAPAN kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*hibiscus sabdariffa* linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Pharmaciana*. 2(1):73–80.
- Aslamiah, S. dan H. Haryadi. 2014. Identifikasi kandungan kimia golongan senyawa daun pohon kapuk (*ceiba pentandra* l.) sebagai obat tradisional. *Anterior Jurnal*. 14(1):11–19.
- Baranska, M., H. Schulz, R. Siuda, M. A. Strehle, P. Rösch, J. Popp, E. Joubert, dan M. Manley. 2005. Quality control of *harpagophytum procumbens* and its related phytopharmaceutical products by means of nir-ft-raman spectroscopy. *Biopolymers*. 77(1):1–8.
- Barclay, G. 2003. *Plant Anatomy Encyclopedia of Life Sciences*. Trinidad dan Tobago: Macmilan Publisher Ltd.
- Berrueta, L. A., R. M. Alonso-Salces, dan K. Héberger. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 1158(1–2):196–214.
- BPOM. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Bro, R. 2003. Multivariate calibration: what is in chemometrics for the analytical chemist? *Analytica Chimica Acta*. 500(1–2):185–194.
- Castro-Díez, P., J. P. Puyravaud, dan J. H. C. Cornelissen. 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*. 124(4):476–486.

- Chang, C.-W., L. D.A., M. M.J., dan C. R. H. J. 2001. Analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal*. 65:480–490.
- Chikezie, P. ., C. . Ibegbulem, dan F. . Mbagwu. 2015. Bioactive principle from medical plants. *Research Journal of Phytochemistry*. 9:88–115.
- Chretien, J. R. dan R. Verwaerde. 1998. What is chemometrics? *Analisis*. 26(8):1–13.
- Depkes, R. 1978. Surat keputusan menteri kesehatan no. 149/sk/menkes/iv/1978 tentang definisi tanaman obat
- Depkes, R. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes, R. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Depkes, R. I. 1989. *Materia Medika Indonesia (Jilid V)*. Jakarta: Depkes Republik Indonesia.
- Dewi, M. K. C. 2013. *Penentuan Kandungan Fenolik Total Serbuk Daun Sirsak (Annona Muricata L.) Varietas Rtu Dan Lokal Dan Model Klasifikasi NIR Kemometrik*
- Dkhar, J. dan A. Pareek. 2014. What determines a leaf's shape? *EvoDevo*. 5(1):1–19.
- Dryden, G. M. 2003. *Near Infrared Reflectance Spectroscopy : Applications in Deer Nutrition*. July. *Rural Industries Research and Development Corporation*.
- Emilda, E., M. Hidayah, dan H. Heriyati. 2017. Analisis pengetahuan masyarakat tentang pemanfaatan tanaman obat keluarga (studi kasus kelurahan situgede, kecamatan bogor barat). *SAINMATIKA*. 14(1):11–21.
- Erukainure, O. L., O. Sanni, dan M. S. Islam. 2018. *Clerodendrum Volubile: Phenolics and Applications to Health*. Edisi 2. Elsevier Inc. *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*.
- Escarpa, A. dan M. C. Gonzalez. 2001. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 31(2):57–139.
- Fernandes, F. H. A. dan H. R. N. Salgado. 2016. Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 46(3):257–265.
- Ghosh, D. dan T. Konishi. 2007. Anthocyanins and Anthocyanin-Rich Extracts:

- Role in Diabetes and Eye Function. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2007.
- Giwangkara S, E. 2006. Aplikasi logika syaraf fuzzy pada analisis sidik jari minyak bumi menggunakan spektrofotometer infra merah - transformasi fourier (ft-ir). *Sekolah Tinggi Energi Dan Mineral, Cepu – Jawa Tengah*.
- Gusnedi, R. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*,. 2:76–83.
- Herlinda, A., A. Malik, dan A. Najib. 2013. Penetapan kadar fenolik total dari ekstrak etanol menggunakan spektrofotometri uv-vis. 3(1):119–123.
- Horgnies, M., J. J. Chen, dan C. Bouillon. 2013. Overview about the use of fourier transform infrared spectroscopy to study cementitious materials. *WIT Transactions on Engineering Sciences*. 77:251–262.
- Ismail, A. A., F. R. van de Voort, dan J. Sedman. 1997. Chapter 4 fourier transform infrared spectroscopy: principles and applications. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*. 18(C):93–139.
- Jung, Y. dan J. Hu. 2015. A k-fold averaging cross-validation procedure. *Journal of Nonparametric Statistics*. 27(2):167–179.
- Kehutanan, K. 2014. PERATURAN MENTERI KEHUTANAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR : P.29/Menhut-II/2014. 2014.
- Kepmenkes. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional*
- Khoddami, A., M. A. Wilkes, dan T. H. Roberts. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 18(2):2328–2375.
- Lavine BJ, W. 2010. Chemometricd. *Anal. Chem*. 82:4699–4711.
- Lengkey, L. C. E. ., B. W, dan P. B.S. 2013. Detemination of chemical properties in jatropha curcas l. seed ip-3p by partial least-square regression and near-infrared reflectance spectroscopy. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2(1):41–48.
- Lu, X., C. F. Ross, J. R. Powers, D. E. Aston, dan B. A. Rasco. 2011. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of garlic (*allium sativum*) and elephant garlic (*allium ampeloprasum*) by attenuated total reflectance-fourier transformed infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(10):5215–5221.
- Mariska, Ik. 2013. Metabolit sekunder : jalur pembentukan dan kegunaannya. *BB Biogen, Bogor*. 1–5.

- MENKES, R. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Miller, J. N. dan J. C. Miller. 2005. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Edisi berilustra. Pearson/Prentice Hall.
- Montolalu, C. dan Y. Langi. 2018. Pengaruh pelatihan dasar komputer dan teknologi informasi bagi guru-guru dengan uji-t berpasangan (paired sample t-test). *D'CARTESIAN*. 7(1):44.
- Munawar, A. . dan W. Budiastara. 2009. Non destructive inner quality prediction in intact mango with near infrared reflectance. *Keternakan Pertanian*. 23(1):59–64.
- Nicolet, T. dan C. All. 2001. Introduction to fourier transform infrared spetrometry. 199(1):1–8.
- Ozcan, T., A. Akpinar-Bayazit, L. Yilmaz-Ersan, dan B. Delikanli. 2014. Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5):393–396.
- Pagare, S. S., M. Bhatia, N. Tripathi, S. S. Pagare, dan Y. K. Bansal. 2015. Secondary metabolites of plants and their role: overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 9(3):293–304.
- Prasetyo dan E. Inorihah. 2013a. *Pengolahan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Prasetyo dan E. Inorihah. 2013b. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Proestos, C., D. Sereli, dan M. Komaitis. 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by rp-hplc and gc-ms. *Food Chemistry*. 95(1):44–52.
- Pujimulyani, D., S. Raharjo, Y. Marsono, dan U. Santoso. 2010. Aktivitas antioksidan dan kadar senyawa fenolik pada kunir putih (curcuma mangga val.) segar dan setelah blanching. *Agritech: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM*. 30(2):68–74.
- Rahayu, M. P. dan L. V. Inanda. 2015. Penetapan kadar fenol total ekstrak etil asetat dan fraksi dicholoromethan-etil asetat kulit batang mundu (garcinia dulcis. kurz). *BIOMEDIKA*. 8(2):38–44.
- Rahayu, W. S. dan Pri Iswati Utami. 2009. Penetapan kadar tablet ranitidin menggunakan metode spektrofotometri uv-vis dengan pelarut metanol. *PHARMACY*. 06(03):104–125.

- Refaeilzadeh, P., L. Tang, dan H. Liu. 2008. *Cross-Validation*. Arizona State University.
- Rouessac, F. dan A. Rouessac. 2007. *Modern Instrumentation Methods and Techniques*. France: John Wiley & Sons Ltd.
- Sada, J. T. dan D. R. H. R. Tanjung. 2010. Keragaman tumbuhan obat tradisional di kampung nansfori distrik supiori utara , kabupaten supiori – papua. *Jurnal Biologi Papua*. 2(2):39–46.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, Dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Salim, Z. dan E. Munadi. 2017. *Info Komiditi Tanaman Obat*. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. *Badan Pengkajian Dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia*.
- Sam, S., A. Malik, dan S. Handayani. 2016. PENETAPAN kadar fenolik total dari ekstrak etanol bunga rosella berwarna merah (*hibiscus sabdariffa* l.) dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(2):182–187.
- Santoso, S. 2014. *Panduan Lengkap SPSS Versi 20 Edisi*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Shafirany, M. Z., Y. Susilawati, dan I. Musfiroh. 2018. Aplikasi kemometrik dalam penentuan mutu tumbuhan obat. *Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*. 4(2):6–13.
- Shah, R. S., R. B. Pawar, dan P. p Gayakar. 2015. UV-visible spectroscopy- a review. *Internasional Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*. 5:490–505.
- Singleton, V. L. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 16:144–158.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIs Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Anugrah Utama Raharja. AURA.
- Supardi, S., R. S. Handayani, M. . Herman, Raharni, dan A. L. Susyanty. 2012. Kajian peraturan perundang-undangan tentang pemberian informasi obat dan obat tradisional. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2(1):20–27.
- Triyanti, E. 1985. Spektrofotometri ultra-violet dan sinat tampak serta aplikasinya dalam oseanologi. *Oseana*. X(1):39–47.

- Ulfah, M. A., A. Primadhamanti, dan H. Novitasari. 2017. ANALISIS senyawa fenolik pada ekstrak segar daun sirih merah(*piper crocatum ruiz & pav*). *Jurnal Kebidanan*. 3(2):57–63.
- Vuolo, M. M., V. S. Lima, dan M. R. Maróstica Junior. 2018. *Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*. Dalam *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc.
- WHO. 1998. *Guidelines for the Appropriate Use of Herbal Medicines*. Manila: WHO Regional Publications, Western Pasific series No.23.
- Wold, S., M. Sjöström, L. Eriksson, dan M. Sjostrom. 2001. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 58(2):109–130.
- Worsfold, P. J. 2019. *Spectrophotometry / Overview*. Edisi 3. Elsevier Inc. May. *Encyclopedia of Analytical Science*.
- Yusnawan, E. dan J. S. Utomo. 2017. Mikroanalisis kandungan senyawa fenolik total ekstrak biji kedelai dengan reagen folin-ciocalteu. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 1(1):73.
- Ziegel, E. R. 2004. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. *Technometrics*. 46(4):498–499.

LAMPIRAN**LAMPIRAN A ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN****A.1. Sampel Training set dan Test set****A.2. Sampel nyata**

A.3. Instrumen yang digunakan



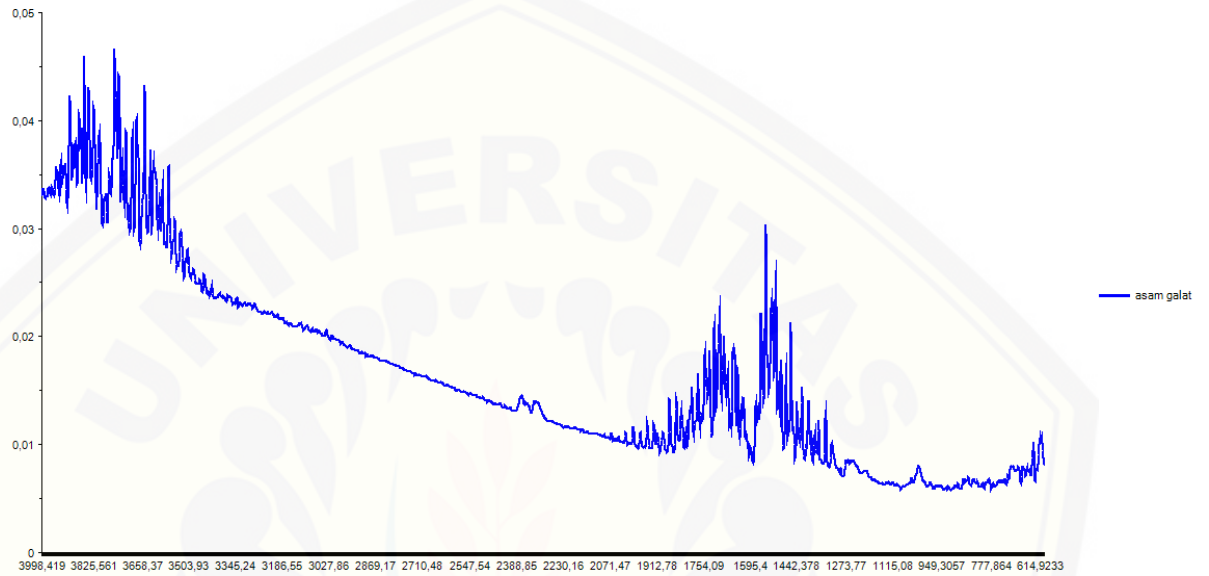
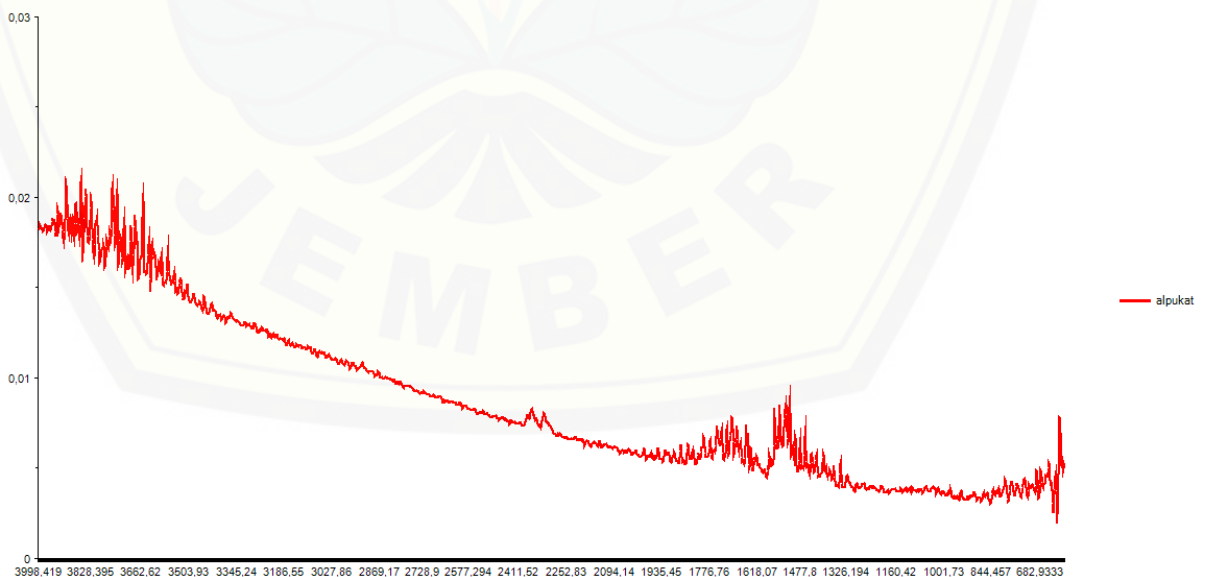
A.4. Foto penentuan kadar fenolik total



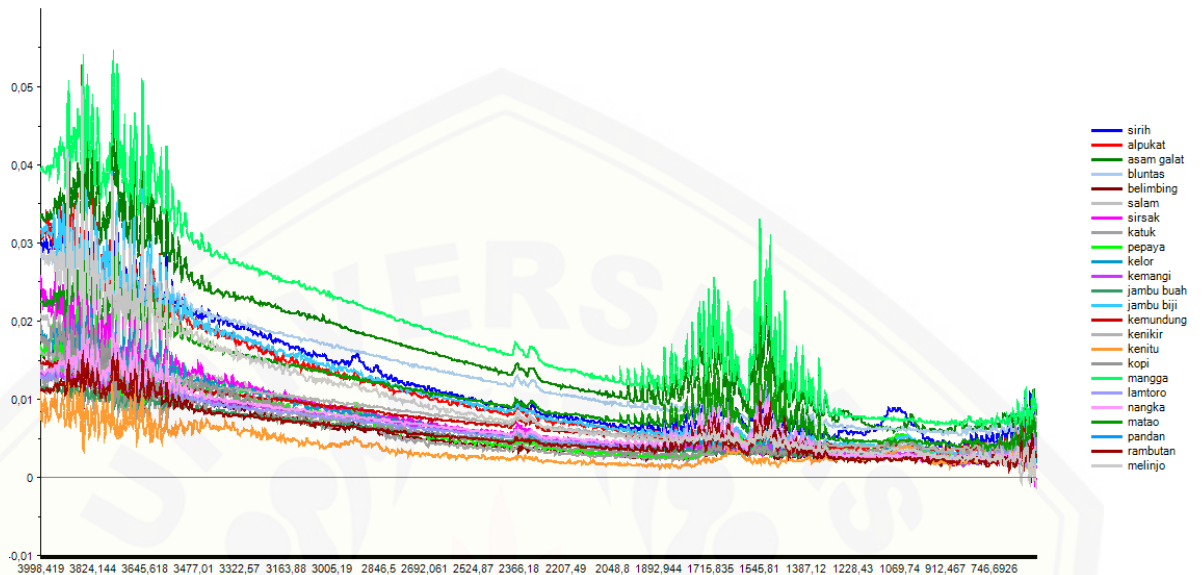
Sampel + Folin-Ciocalteu
inkubasi



Sampel+Folin Ciocalteu+Na₂CO₃ setelah

LAMPIRAN B. SPEKTRUM HASIL DARI FTIR**B.1. Spektrum asam galat****B.2. Contoh spektra sampel**

B.3. Spektra gabungan antara sampel dan asam galat



LAMPIRAN C. Identitas sampel

C.1. Sampel Training set

No	Kode sampel	Nama sampel
1	A	Pepaya
2	B	Kelor
3	C	Belimbing
4	D	Kemangi
5	E	Melinjo
6	G	Lamtoro
7	H	Nangka
8	I	Mengkudu
9	J	Pakis
10	L	Sirsak
11	N	Katuk
12	O	Kemundung
13	Q	Kenikir
14	R	Rambutan
15	T	Sirih
16	U	Kopi robusta
17	V	Kenitu
18	W	Bluntas
19	Y	Mangga

C.2. Sampel *Test set*

No	Kode sampel	Nama sampel
1	F	Pandan
2	K	Jambu Buah
3	M	Jambu Biji
4	P	Salam
5	S	Alpukat
6	X	Matao

C.3. Sampel Nyata

No	Kode sampel	Nama sampel
1	SN1	Daun kelor
2	SN2	Daun sirih
3	SN3	Daun sambiloto
4	SN4	Daun sirsak
5	SN5	Daun jati belanda

LAMPIRAN D. Hasil Pengujian Kadar Air Pada Sampel

D.1 hasil pengujian kadar air pada sampel training set dan test set

a. Hasil penetapan kadar air pada *Training set*

No	Kode	Kadar Air			Rata-rata	RSD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3		
1	A	4,02%	4,12%	4,17%	4,10%	1,863%
2	B	3,90%	3,75%	3,85%	3,83%	1,995%
3	C	4,25%	4,30%	4,20%	4,25%	1,176%
4	D	4,65%	4,55%	4,70%	4,63%	1,648%
5	E	4,20%	4,15%	4,10%	4,15%	1,205%
6	G	4,50%	4,40%	4,45%	4,45%	1,123%
7	H	3,25%	3,10%	3,20%	3,18%	2,403%
8	I	4,65%	4,75%	4,80%	4,73%	1,615%
9	J	4,55%	4,75%	4,90%	4,75%	1,756%
10	L	4,60%	4,65%	4,80%	4,68%	2,224%
11	N	5,40%	5,30%	5,20%	5,30%	1,887%

12	O	3,65%	3,50%	3,65%	3,60%	2,406%
13	Q	5,65%	5,70%	5,75%	5,70%	0,877%
14	R	5,30%	5,25%	5,25%	5,27%	0,548%
15	T	5,25%	5,20%	5,10%	5,18%	1,475%
16	U	4,85%	4,70%	4,90%	4,81%	2,164%
17	V	4,40%	4,20%	4,25%	4,28%	2,432%
18	W	4,15%	4,25%	4,20%	4,20%	1,190%
19	Y	4,45%	4,35%	4,25%	4,35%	2,299%

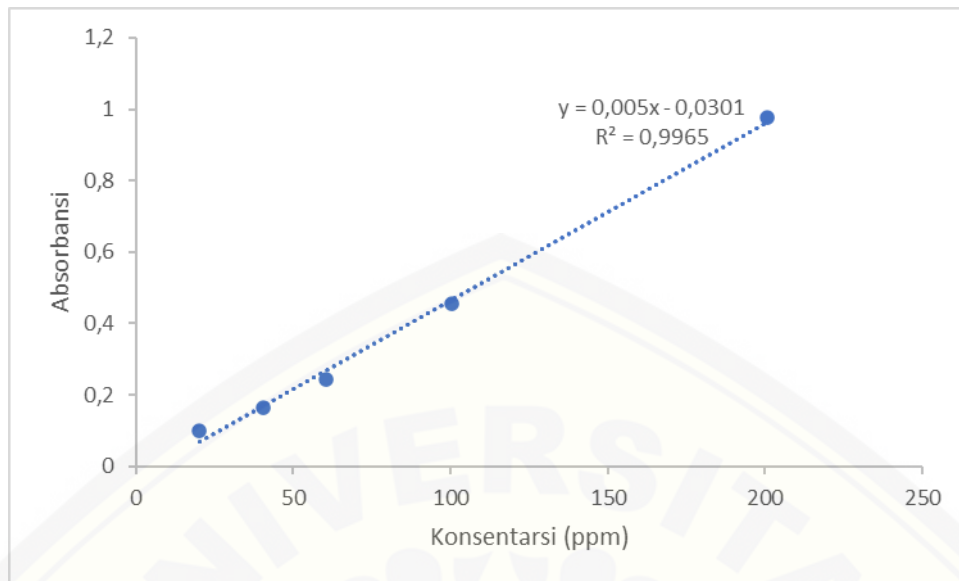
b. Hasil kadar air pada *Test set*

No	Kode	Kadar Air			Rata-rata	RSD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3		
1	F	4,50%	4,60%	4,70%	4,60%	2,174%
2	K	3,15%	3,30%	3,25%	3,23%	2,365%
3	M	2,80%	2,85%	2,75%	2,80%	1,786%
4	P	4,50%	4,55%	4,70%	4,58%	2,273%
5	S	4,25%	4,30%	4,40%	4,32	1,768%
6	X	3,70%	3,65%	3,65%	3,67%	0,787%

LAMPIRAN E. Data Penetapan Kadar Fenolik Total dengan Spektrofotometri UV-Vis

E.1. Data standar asam galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
20.08	0.099
40.32	0.166
60.24	0.244
100.4	0.455
200.8	0.977



Lampiran F. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Fenolik Total

F.1. Perhitungan pembuatan larutan induk asam galat

- Larutan Induk

- ✓ 25 mg

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 40,32 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 10,08 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 80,64 \text{ ppm}$$

- ✓ 50 mg

$$\frac{50,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 2008 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 20,08 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 60,24 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 100,4 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 120,48 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,7 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 140,56 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,9 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 180,72 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2008 \text{ ppm} = 200,8 \text{ ppm}$$

F.2. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel

Sampel <i>Training Set</i>	Replikasi	Pembuatan larutan
A	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
B	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
C	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
D	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
E	1	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
G	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
H	1	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
I	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$

J	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
L	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
N	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
O	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
Q	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
R	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
T	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
U	1	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
V	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
W	1	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$

		$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
Y	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$

Sampel Test Set	Replikasi	Pembuatan larutan
F	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
K	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
M	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
P	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
S	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
X	1	$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$

Sampel Nyata	Replikasi	Pembuatan Larutan
SN1	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
SN2	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$

	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
SN3	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
SN4	1	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
SN5	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$

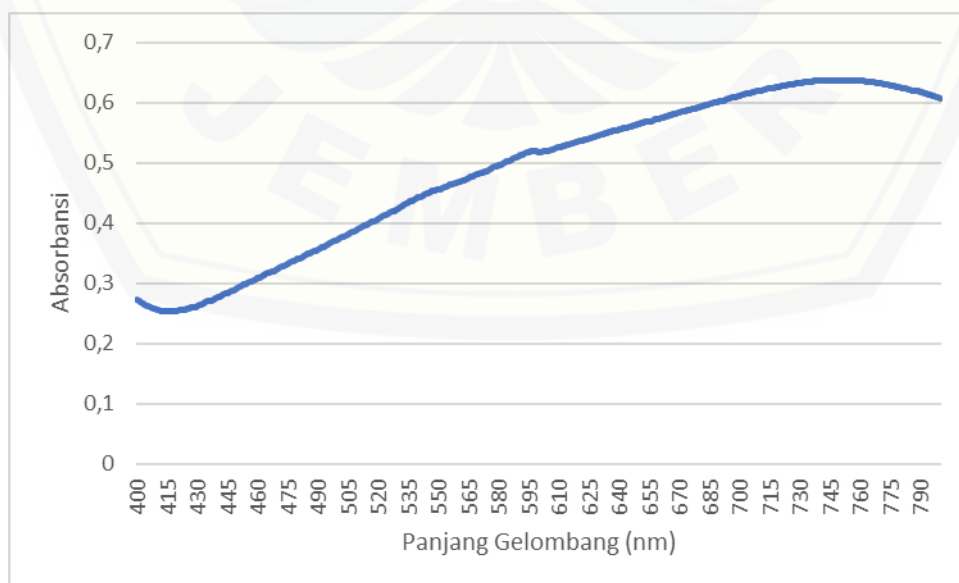
LAMPIRAN G. Pembuatan Larutan Reagen Folin-Ciocalteu 1:10

1 ml reagen Folin-Ciocalteu dilarutkan dalam 10 ml aquades

LAMPIRAN H. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%

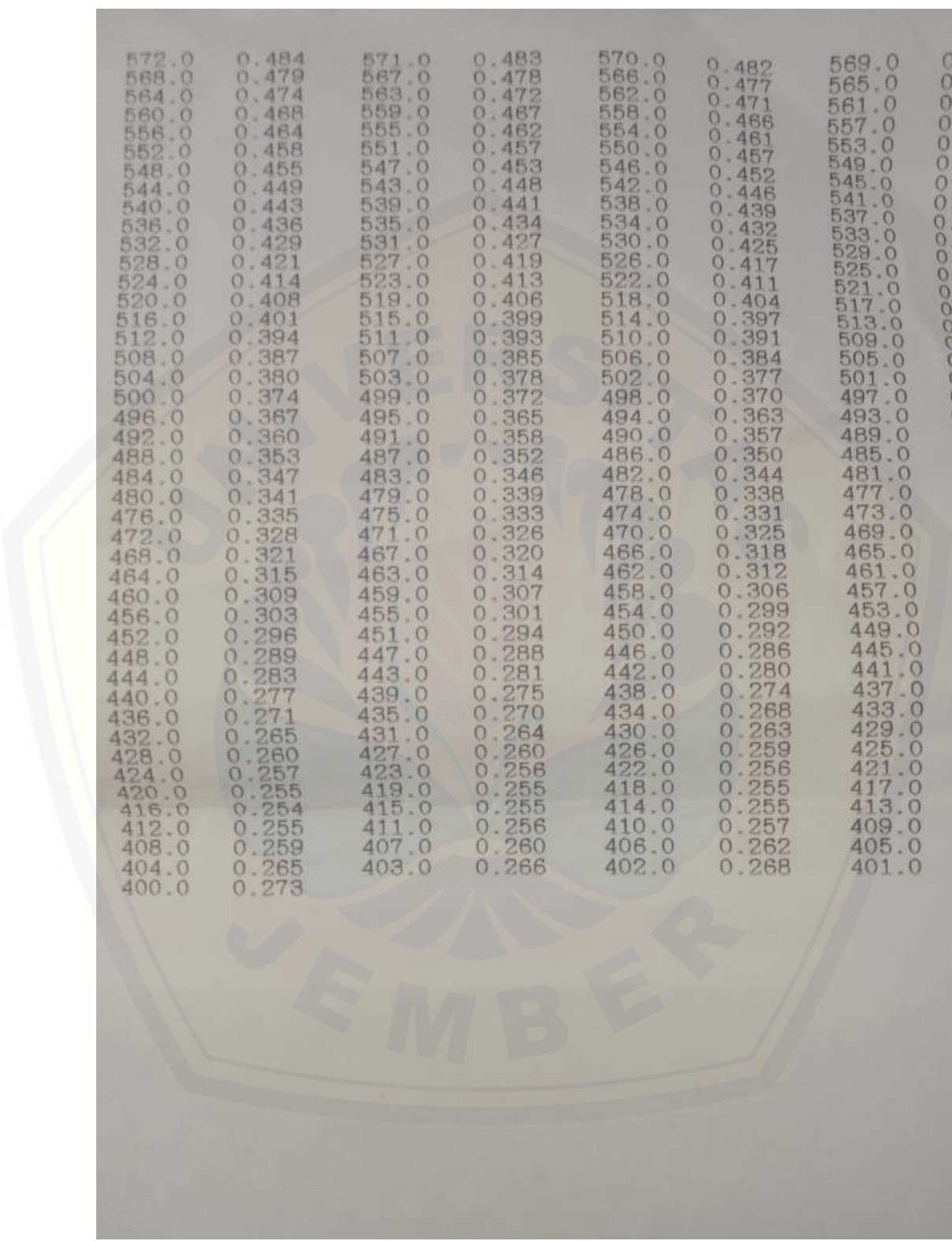
Ditimbang 7,5 g Na_2CO_3 kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades

LAMPIRAN I. Hasil Spektra dari Panjang Gelombang Maksimum



I.1. Data optimasi Panjang gelombang

Wavelength Scan		ABS		Wavelength Scan		ABS	
Data Mode:		800.0-400.0nm					
Scan Range:							
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
800.0	0.608	799.0	0.609	798.0	0.610	797.0	0.611
796.0	0.612	795.0	0.613	794.0	0.614	793.0	0.615
792.0	0.616	791.0	0.617	790.0	0.618	789.0	0.619
788.0	0.620	787.0	0.620	786.0	0.621	785.0	0.622
784.0	0.622	783.0	0.624	782.0	0.624	781.0	0.625
780.0	0.626	779.0	0.627	778.0	0.627	777.0	0.628
776.0	0.629	775.0	0.629	774.0	0.630	773.0	0.631
772.0	0.631	771.0	0.632	770.0	0.633	769.0	0.633
768.0	0.633	767.0	0.634	766.0	0.634	765.0	0.635
764.0	0.635	763.0	0.635	762.0	0.636	761.0	0.636
760.0	0.637	759.0	0.636	758.0	0.636	757.0	0.636
756.0	0.636	755.0	0.637	754.0	0.637	753.0	0.637
752.0	0.637	751.0	0.637	750.0	0.637	749.0	0.638
748.0	0.638	747.0	0.638	746.0	0.638	745.0	0.638
744.0	0.638	743.0	0.638	742.0	0.638	741.0	0.637
740.0	0.637	739.0	0.636	738.0	0.636	737.0	0.636
736.0	0.635	735.0	0.635	734.0	0.635	733.0	0.634
732.0	0.634	731.0	0.633	730.0	0.633	729.0	0.633
728.0	0.632	727.0	0.631	726.0	0.631	725.0	0.630
724.0	0.630	723.0	0.629	722.0	0.629	721.0	0.628
720.0	0.627	719.0	0.627	718.0	0.626	717.0	0.625
716.0	0.625	715.0	0.624	714.0	0.624	713.0	0.623
712.0	0.622	711.0	0.621	710.0	0.620	709.0	0.620
708.0	0.619	707.0	0.618	706.0	0.617	705.0	0.616
704.0	0.615	703.0	0.615	702.0	0.614	701.0	0.613
700.0	0.612	699.0	0.611	698.0	0.610	697.0	0.609
696.0	0.609	695.0	0.607	694.0	0.607	693.0	0.605
692.0	0.604	691.0	0.603	690.0	0.602	689.0	0.601
688.0	0.601	687.0	0.600	686.0	0.599	685.0	0.598
684.0	0.597	683.0	0.596	682.0	0.595	681.0	0.594
680.0	0.593	679.0	0.592	678.0	0.591	677.0	0.590
676.0	0.590	675.0	0.589	674.0	0.588	673.0	0.587
672.0	0.586	671.0	0.585	670.0	0.584	669.0	0.583
668.0	0.582	667.0	0.581	666.0	0.580	665.0	0.579
664.0	0.578	663.0	0.577	662.0	0.576	661.0	0.575
660.0	0.574	659.0	0.573	658.0	0.573	657.0	0.571
656.0	0.570	655.0	0.570	654.0	0.569	653.0	0.568
652.0	0.567	651.0	0.566	650.0	0.565	649.0	0.564
648.0	0.563	647.0	0.562	646.0	0.561	645.0	0.560
644.0	0.559	643.0	0.558	642.0	0.558	641.0	0.556
640.0	0.556	639.0	0.555	638.0	0.554	637.0	0.553
636.0	0.552	635.0	0.551	634.0	0.550	633.0	0.549
632.0	0.548	631.0	0.547	630.0	0.546	629.0	0.545
628.0	0.544	627.0	0.543	626.0	0.542	625.0	0.541
624.0	0.540	623.0	0.539	622.0	0.538	621.0	0.537
620.0	0.536	619.0	0.535	618.0	0.534	617.0	0.533
616.0	0.532	615.0	0.531	614.0	0.530	613.0	0.529
612.0	0.528	611.0	0.527	610.0	0.527	609.0	0.526
608.0	0.524	607.0	0.523	606.0	0.522	605.0	0.521
604.0	0.521	603.0	0.520	602.0	0.519	601.0	0.517
600.0	0.518	599.0	0.520	598.0	0.521	597.0	0.519
596.0	0.519	595.0	0.518	594.0	0.517	593.0	0.515
592.0	0.514	591.0	0.513	590.0	0.511	589.0	0.510
588.0	0.509	587.0	0.507	586.0	0.506	585.0	0.504
584.0	0.502	583.0	0.500	582.0	0.499	581.0	0.497
580.0	0.496	579.0	0.495	578.0	0.494	577.0	0.492
576.0	0.490	575.0	0.488	574.0	0.486	573.0	0.485



572.0	0.484	571.0	0.483	570.0	0.482	569.0	0.481
568.0	0.479	567.0	0.478	566.0	0.477	565.0	0.476
564.0	0.474	563.0	0.472	562.0	0.471	561.0	0.470
560.0	0.468	559.0	0.467	558.0	0.466	557.0	0.465
556.0	0.464	555.0	0.462	554.0	0.461	553.0	0.460
552.0	0.458	551.0	0.457	550.0	0.457	549.0	0.456
548.0	0.455	547.0	0.453	546.0	0.452	545.0	0.450
544.0	0.449	543.0	0.448	542.0	0.446	541.0	0.444
540.0	0.443	539.0	0.441	538.0	0.439	537.0	0.438
536.0	0.436	535.0	0.434	534.0	0.432	533.0	0.430
532.0	0.429	531.0	0.427	530.0	0.425	529.0	0.423
528.0	0.421	527.0	0.419	526.0	0.417	525.0	0.416
524.0	0.414	523.0	0.413	522.0	0.411	521.0	0.409
520.0	0.408	519.0	0.406	518.0	0.404	517.0	0.403
516.0	0.401	515.0	0.399	514.0	0.397	513.0	0.396
512.0	0.394	511.0	0.393	510.0	0.391	509.0	0.389
508.0	0.387	507.0	0.385	506.0	0.384	505.0	0.382
504.0	0.380	503.0	0.378	502.0	0.377	501.0	0.375
500.0	0.374	499.0	0.372	498.0	0.370	497.0	0.369
496.0	0.367	495.0	0.365	494.0	0.363	493.0	0.361
492.0	0.360	491.0	0.358	490.0	0.357	489.0	0.355
488.0	0.353	487.0	0.352	486.0	0.350	485.0	0.349
484.0	0.347	483.0	0.346	482.0	0.344	481.0	0.342
480.0	0.341	479.0	0.339	478.0	0.338	477.0	0.336
476.0	0.335	475.0	0.333	474.0	0.331	473.0	0.329
472.0	0.328	471.0	0.326	470.0	0.325	469.0	0.323
468.0	0.321	467.0	0.320	466.0	0.318	465.0	0.317
464.0	0.315	463.0	0.314	462.0	0.312	461.0	0.310
460.0	0.309	459.0	0.307	458.0	0.306	457.0	0.304
456.0	0.303	455.0	0.301	454.0	0.299	453.0	0.298
452.0	0.296	451.0	0.294	450.0	0.292	449.0	0.291
448.0	0.289	447.0	0.288	446.0	0.286	445.0	0.284
444.0	0.283	443.0	0.281	442.0	0.280	441.0	0.278
440.0	0.277	439.0	0.275	438.0	0.274	437.0	0.272
436.0	0.271	435.0	0.270	434.0	0.268	433.0	0.267
432.0	0.265	431.0	0.264	430.0	0.263	429.0	0.261
428.0	0.260	427.0	0.260	426.0	0.259	425.0	0.258
424.0	0.257	423.0	0.256	422.0	0.256	421.0	0.256
420.0	0.255	419.0	0.255	418.0	0.255	417.0	0.254
416.0	0.254	415.0	0.255	414.0	0.255	413.0	0.255
412.0	0.255	411.0	0.256	410.0	0.257	409.0	0.258
408.0	0.259	407.0	0.260	406.0	0.262	405.0	0.263
404.0	0.265	403.0	0.266	402.0	0.268	401.0	0.271
400.0	0.273						

LAMPIRAN J. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Total

J.1. Contoh perhitungan pada sampel kode A

Persamaan $Y = 0,005x - 0,0301$

- Replikasi 1

$$Y = 0,005x - 0,0301$$

$$0,110 = 0,005x - 0,0301$$

$$x = 28,02 \text{ ppm}$$

$$= 28,02 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

$$\text{Di kuvet } 1000 \mu\text{l} = 28,02 \text{ ng}/\mu\text{l} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$= 28020 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam labu ukur } 10 \text{ ml} = 28020 \text{ ng} \times 10$$

$$= 280200 \text{ ng}$$

$$= 0,2802 \text{ mg}$$

$$\text{Kandungan Fenolik total} = 0,2802 \text{ mg}/0,0202 \text{ g}$$

$$= 13,8713 \text{ mg GAE/g serbuk}$$

- Replikasi 2

$$Y = 0,005x - 0,0301$$

$$0,117 = 0,005x - 0,0301$$

$$x = 29,42 \text{ ppm}$$

$$= 29,42 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

$$\text{Di kuvet } 1000 \mu\text{l} = 29,42 \text{ ng}/\mu\text{l} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$= 29420 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam labu ukur } 10 \text{ ml} = 29420 \text{ ng} \times 10$$

$$= 294200 \text{ ng}$$

$$= 0,2942 \text{ mg}$$

$$\text{Kandungan Fenolik total} = 0,2942 \text{ mg}/0,0202 \text{ g}$$

$$= 14,5644 \text{ mg GAE/g serbuk}$$

- Replikasi 3

$$Y = 0,005x - 0,0301$$

$$0,120 = 0,005x - 0,0301$$

$$x = 30,02 \text{ ppm}$$

$$= 30,02 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

$$\text{Di kuvet } 1000 \mu\text{l} = 30,02 \text{ ng}/\mu\text{l} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$= 30020 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam labu ukur } 10 \text{ ml} = 30020 \text{ ng} \times 10$$

$$= 300200 \text{ ng}$$

$$= 0,3002 \text{ mg}$$

$$\text{Kandungan Fenolik total} = 0,3002 \text{ mg}/0,0202 \text{ g}$$

$$= 14,8614 \text{ mg GAE/g serbuk}$$

$$\text{Rata-rata mg GAE/g serbuk} = \frac{13,8713 + 14,5644 + 14,8614}{3}$$

$$= 14,43 \text{ mg GAE/ g serbuk}$$

J.2. Hasil Perhitungan mg/GAE g Serbuk sampel *Training set*

Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg GAE/g Serbuk	mg GAE/g Serbuk \pm RSD (%)
A	20,2	0.110	13,8713	14,43 \pm 3,520
	20,2	0.117	14,5644	
	20,2	0.120	14,8614	
B	20,4	0,264	28,8333	28,33 \pm 1,547
	20,2	0,254	28,1287	
	20,2	0,253	28,0297	
C	20,4	0,259	28,3431	29,60 \pm 3,056
	20	0,274	30,4100	
	20,1	0,272	30,0597	
D	20,2	0,287	31,3960	31,83 \pm 1,248
	20,1	0,291	31,9502	
	20,4	0,298	32,1667	
E	20	0,299	32,9100	33,31 \pm 1,201
	20	0,303	33,3100	
	20	0,307	33,7100	
G	20,4	0,324	34,7157	34,50 \pm 0,785
	20,3	0,317	34,1970	
	20,3	0,321	34,5911	

	20,1	0,319	34,7363	
H	20,1	0,320	34,8358	34,59±0,994
	20,3	0,317	34,1970	
	20,3	0,324	34,8867	
I	20,4	0,330	35,3039	35,19±0,754
	20,3	0,329	35,3793	
	20,2	0,323	34,9604	
J	20,4	0,332	35,5000	35,57±1,817
	20,2	0,336	36,2475	
	20,3	0,347	37,1527	
L	20,2	0,335	36,1485	37,08±2,410
	20,2	0,353	37,9307	
	20,4	0,368	39,0294	
N	20,3	0,360	38,4335	39,06±1,643
	20,4	0,375	39,7157	
	20,3	0,369	39,3202	
O	20,3	0,360	38,4335	39,42±2,630
	20,4	0,383	40,5000	
	20,3	0,392	41,5862	
Q	20,1	0,380	40,8060	41,56±1,770
	20,3	0,399	42,2759	
	20,5	0,424	44,3024	
R	20,1	0,427	45,4826	45,19±1,741
	20,4	0,437	45,7941	
	20,3	0,441	46,4138	
T	20,3	0,435	45,8227	45,98±0,833
	20,4	0,436	45,6961	
	20,1	0,441	46,8756	
U	20,2	0,445	47,0396	47,19±0,873
	20,4	0,456	47,6569	
	20,2	0,449	47,4356	
V	20,2	0,446	47,1386	47,31±0,333
	20,4	0,453	47,3627	
	20	0,466	49,6100	
W	20	0,473	50,3100	50,28±1,294
	20	0,479	50,9100	
	20,3	0,584	60,5025	
Y	20,2	0,575	59,9109	60,27±0,527
	20,1	0,577	60,4080	

J.3. Hasil penghitungan mg GAE/g serbuk sampel *Test set*

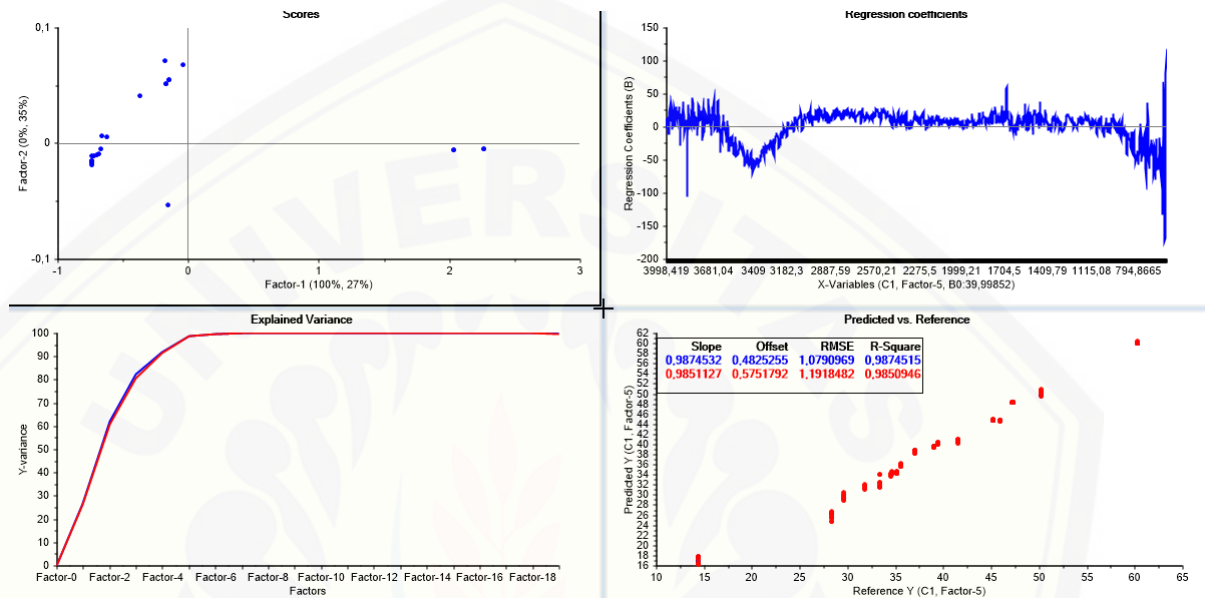
Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	mg GAE/g Serbuk	mg GAE/g Serbuk \pm RSD
F	20,3	0,323	34,7882	34,12 \pm 1,752
	20,4	0,316	33,9314	
	20,4	0,313	33,6373	
K	20,4	0,340	36,2843	36,89 \pm 1,598
	20,2	0,343	36,9406	
	20,4	0,352	37,4608	
M	20,3	0,364	38,8276	38,20 \pm 2,418
	20,3	0,362	38,6305	
	20,2	0,345	37,1386	
P	20,4	0,370	39,2255	40,47 \pm 3,556
	20,2	0,387	41,2970	
	20,3	0,385	40,8966	
S	20,2	0,423	44,8614	45,27 \pm 1,608
	20,3	0,425	44,8374	
	20,0	0,431	46,1100	
X	20	0,525	55,5100	55,34 \pm 1,879
	20,4	0,523	54,2255	
	20,4	0,544	56,2843	

J.4. Hasil perhitungan Sampel Nyata

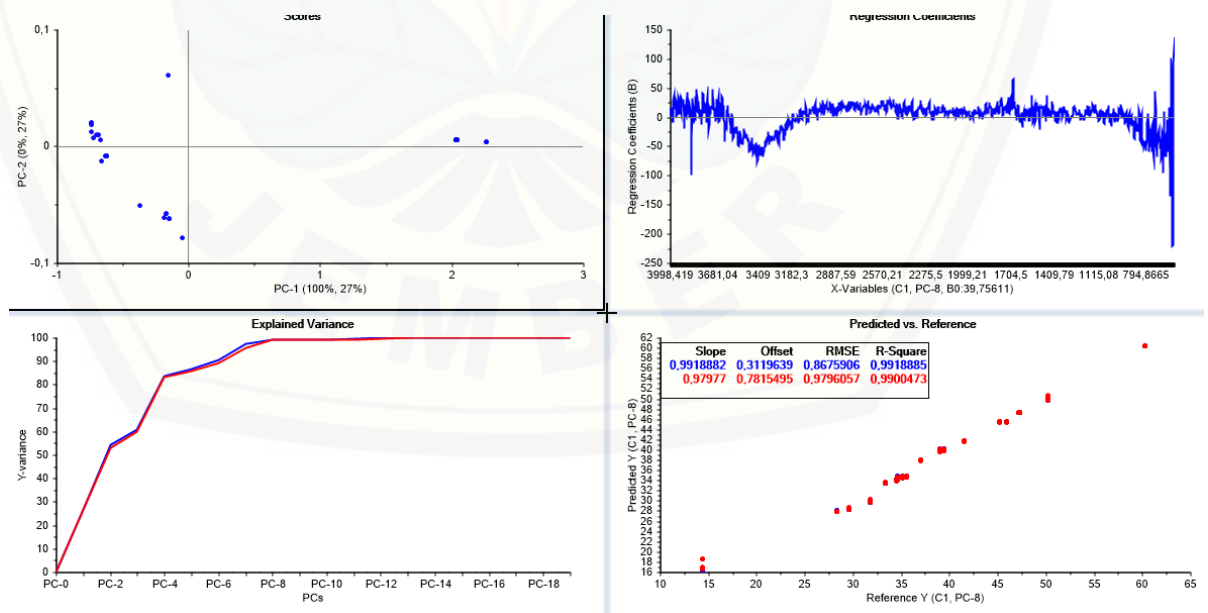
Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg GAE/g Serbuk	mg GAE/g Serbuk \pm RSD (%)
SN1	20,5	0,227	25,0892	25,15 \pm 1,569
	20,5	0,224	24,7902	
	20,5	0,232	25,5707	
SN2	20,5	0,377	39,7171	39,26 \pm 2,927
	20,4	0,357	37,9510	
	20,4	0,379	40,1078	
SN3	20,5	0,187	21,1805	21,74 \pm 3,049
	20,5	0,191	21,5707	
	20,3	0,198	22,4729	
SN4	20,6	0,393	41,0777	40,49 \pm 1,903
	20,6	0,378	39,6214	
	20,6	0,390	40,7864	
SN5	20,4	0,131	15,7941	16,03 \pm 1,338
	20,5	0,135	16,1073	
	20,5	0,136	16,2049	

LAMPIRAN K. Hasil Analisis Dengan Metode Kemometrik

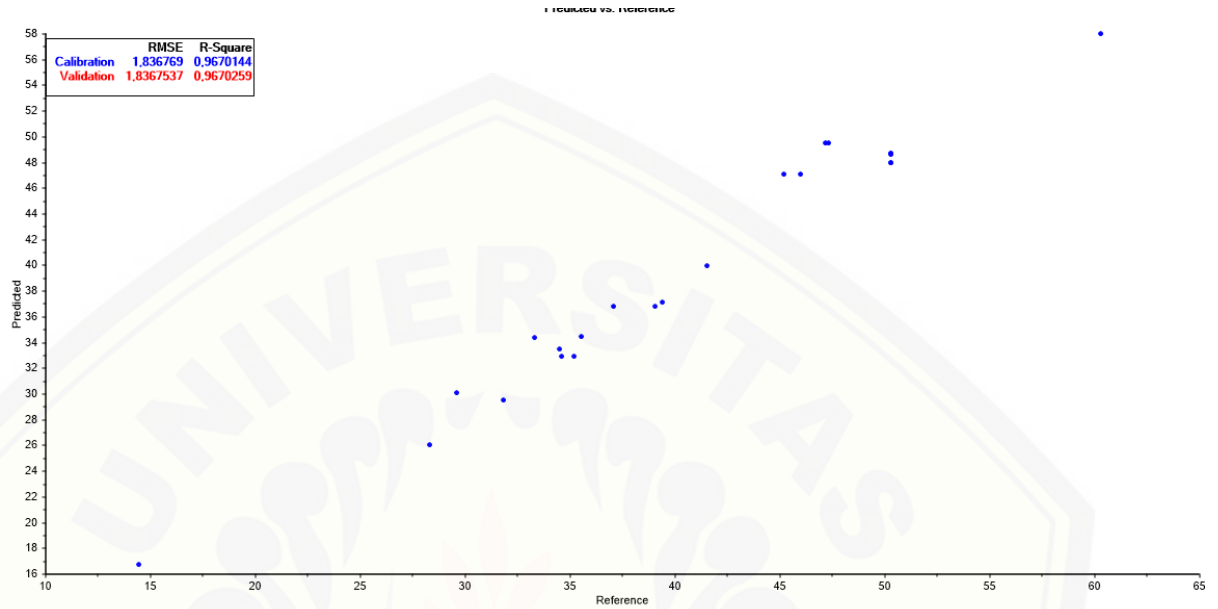
K.1. Model kalibrasi *Training set* model PLS



K.2. Model Kalibrasi *Training set* model PCR

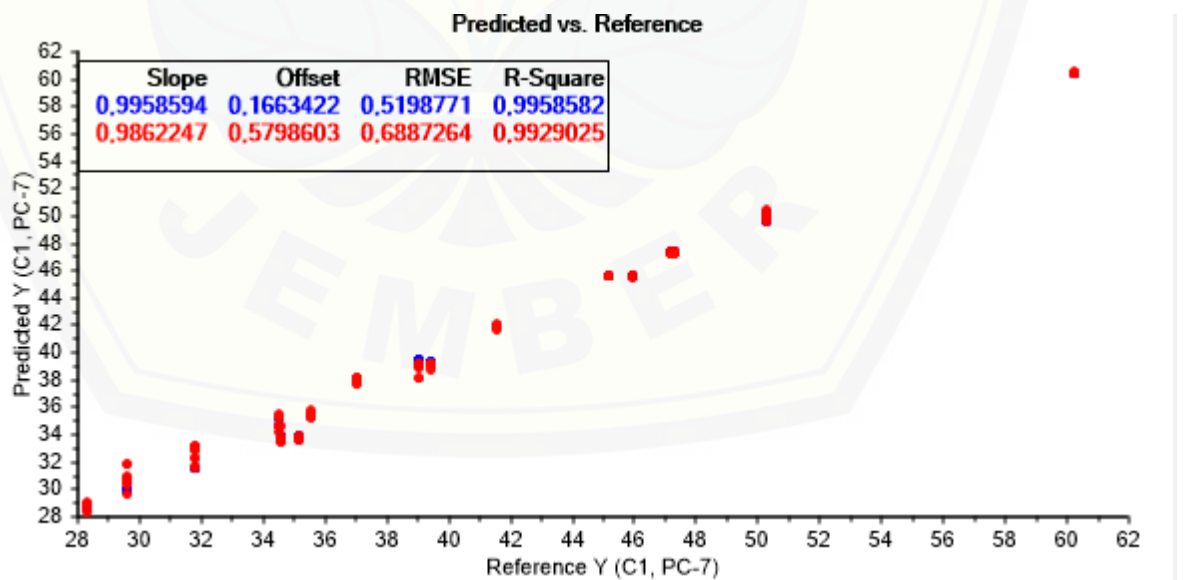


K.3. Model Kalibrasi *Training set* SVR

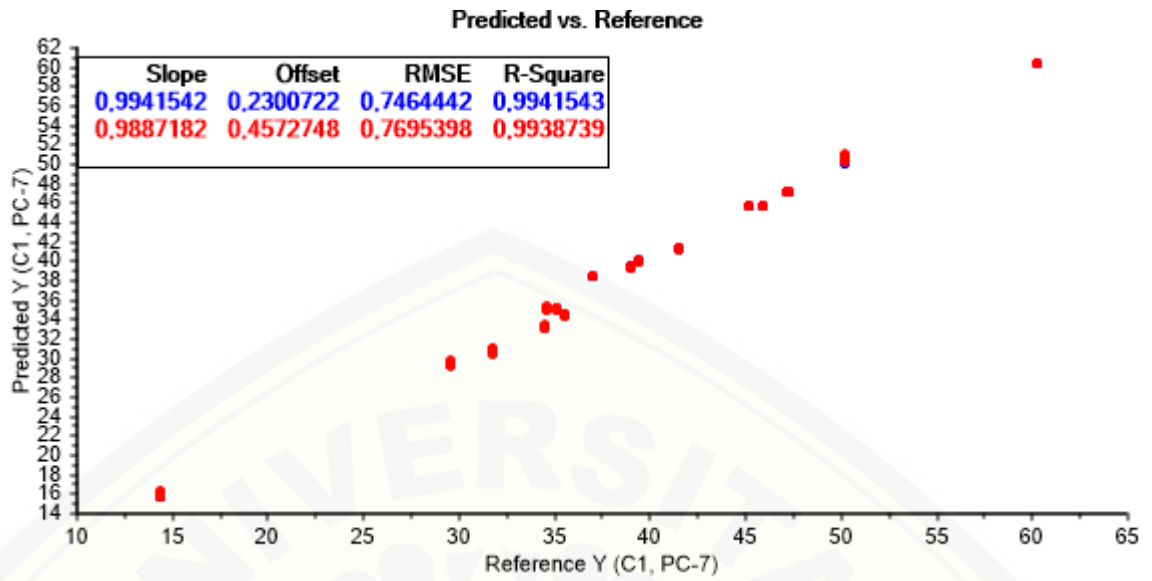


K.4. Hasil Validasi LOOCV

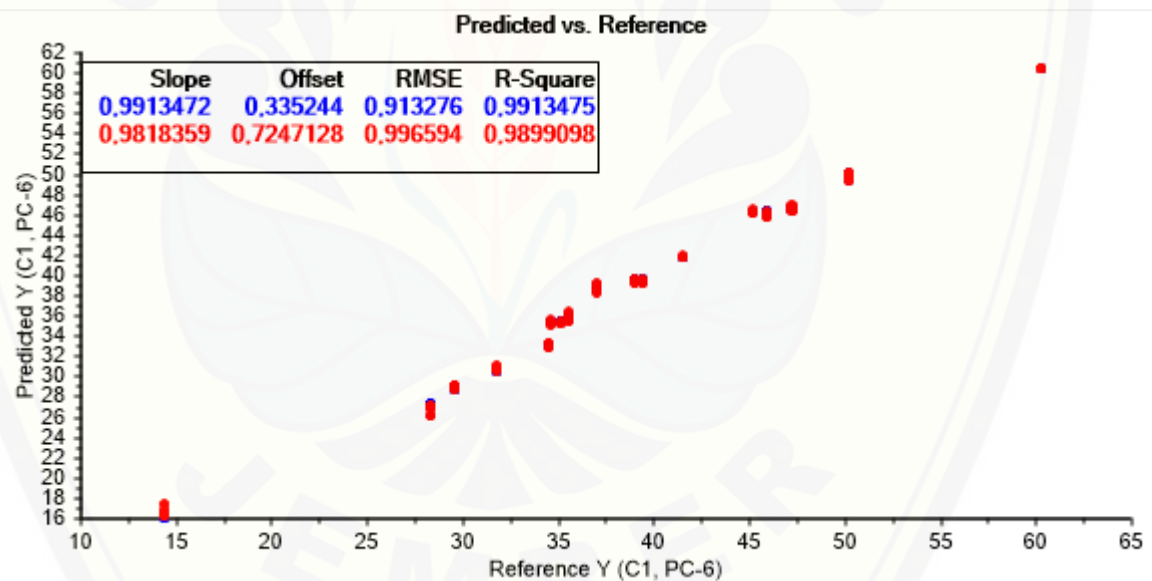
a. Sampel A yang dikeluarkan



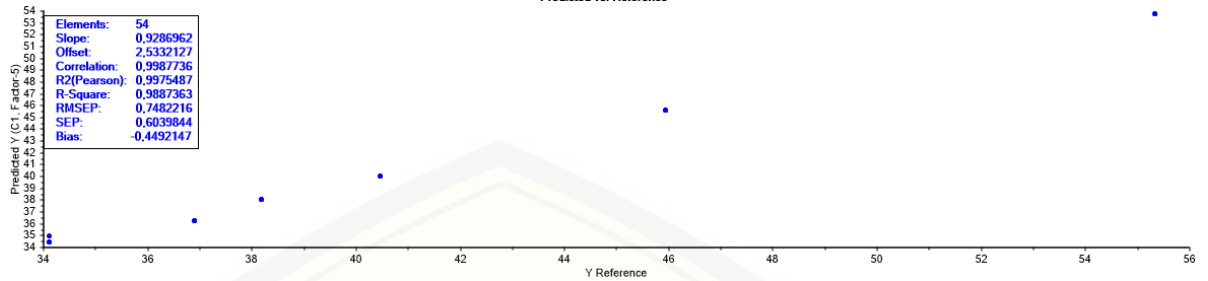
c. Sampel B yang dikeluarkan



d. Sampel E yang dikeluarkan



K.5. Hasil Validasi 2-Fold Cross Validation



K.6. Hasil Prediksi sampel nyata

Predicted Y (C1,	Predicted	Deviation
SN D KELOR R1	25,0516	1,4808
SN D KELOR R1	25,0570	1,4791
SN D KELOR R1	25,0597	1,4785
SN D KELOR R1	25,0706	1,4778
SN D KELOR R1	25,0624	1,4781
SN D KELOR R4	25,0597	1,4785
SN D KELOR R6	25,0651	1,4778
SN D KELOR R8	25,0516	1,4808
SN D KELOR R9	25,0489	1,4819
SN D SAMBILOT	21,9761	1,6031
SN D SAMBILOT	21,9707	1,6040
SN D SAMBILOT	21,9816	1,6029
SN D SAMBILOT	21,9761	1,6031
SN D SAMBILOT	21,9788	1,6029
SN D SAMBILOT	20,0686	1,3137
SN D SAMBILOT	21,9870	1,6032
SN D SAMBILOT	21,9734	1,6035
SN D SAMBILOT	20,0686	1,3137
SN D SIRIH R10	38,0626	1,4839
SN D SIRIH R11	38,0545	1,4856
SN D SIRIH R12	38,0599	1,4843
SN D SIRIH R14	38,0518	1,4865
SN D SIRIH R15	38,0572	1,4848
SN D SIRIH R3	38,0491	1,4875
SN D SIRIH R5	38,0518	1,4865
SN D SIRIH R7	38,0654	1,4837
SN D SIRIH R9	38,0626	1,4839
SN JATI BELAN	15,8417	1,1456
SN JATI BELAN	15,8432	1,1458
SN JATI BELAN	15,8363	1,1451
SN JATI BELAN	15,8417	1,1456
SN JATI BELAN	15,8432	1,1458

SN JATI BELAN	15,8432	1,1458
SN JATI BELAN	15,8390	1,1452
SN JATI BELAN	15,8417	1,1456
SN JATI BELAN	15,8363	1,1451
SN TEH SIRSAK	40,6418	1,5867
SN TEH SIRSAK	40,6527	1,5850
SN TEH SIRSAK	40,6446	1,5861
SN TEH SIRSAK	40,6500	1,5852
SN TEH SIRSAK	40,6554	1,5850
SN TEH SIRSAK	40,6662	1,5863
SN TEH SIRSAK	40,6635	1,5858
SN TEH SIRSAK	40,6472	1,5856
SN TEH SIRSAK	40,6579	1,5851

LAMPIRAN L. Hasil Analisis Sampel Nyata dari Uji T-Test Paired

L.1 Hasil dari analisis uji *normality*

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
FTIR	.220	5	.200*	.913	5	.487
UVVIS	.238	5	.200*	.889	5	.353

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

a. Lilliefors Significance Correction

L.2 Hasil dari analisis uji *t-test paired*

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	FTIR - UVVIS	-.30334	.52190	.23340	-.95137	.34469	-1.300	4	.264