



**PENENTUAN KADAR FENOLAT TOTAL PADA SERBUK  
DAUN TANAMAN OBAT DENGAN METODE NIR-  
KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
Laili Wafa Noer Khamidah  
142210101019**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**PENENTUAN KADAR FENOLAT TOTAL PADA SERBUK  
DAUN TANAMAN OBAT DENGAN METODE NIR-  
KEMOMETRIK**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
Laili Wafa Noer Khamidah  
142210101019**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, dengan segala rahmat, hidayah, karunia serta petunjuk-Nya yang telah memberikan segala yang terbaik terhadap hamba-Nya;
2. Bapak dan Ibu tercinta;
3. Kakek dan Nenek tercinta;
4. Kakak dan saudara-saudara tersayang;
5. Teman-teman Farmasi 2014 dan teman-teman dari Tulungagung, terima kasih atas semangat dan dukungan yang telah diberikan;
6. Guru, dosen dan pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMA Negeri 1 Boyolangu, SMP Negeri 1 Kauman, SD Negeri Kauman 3 yang telah memberikan ilmunya;
7. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

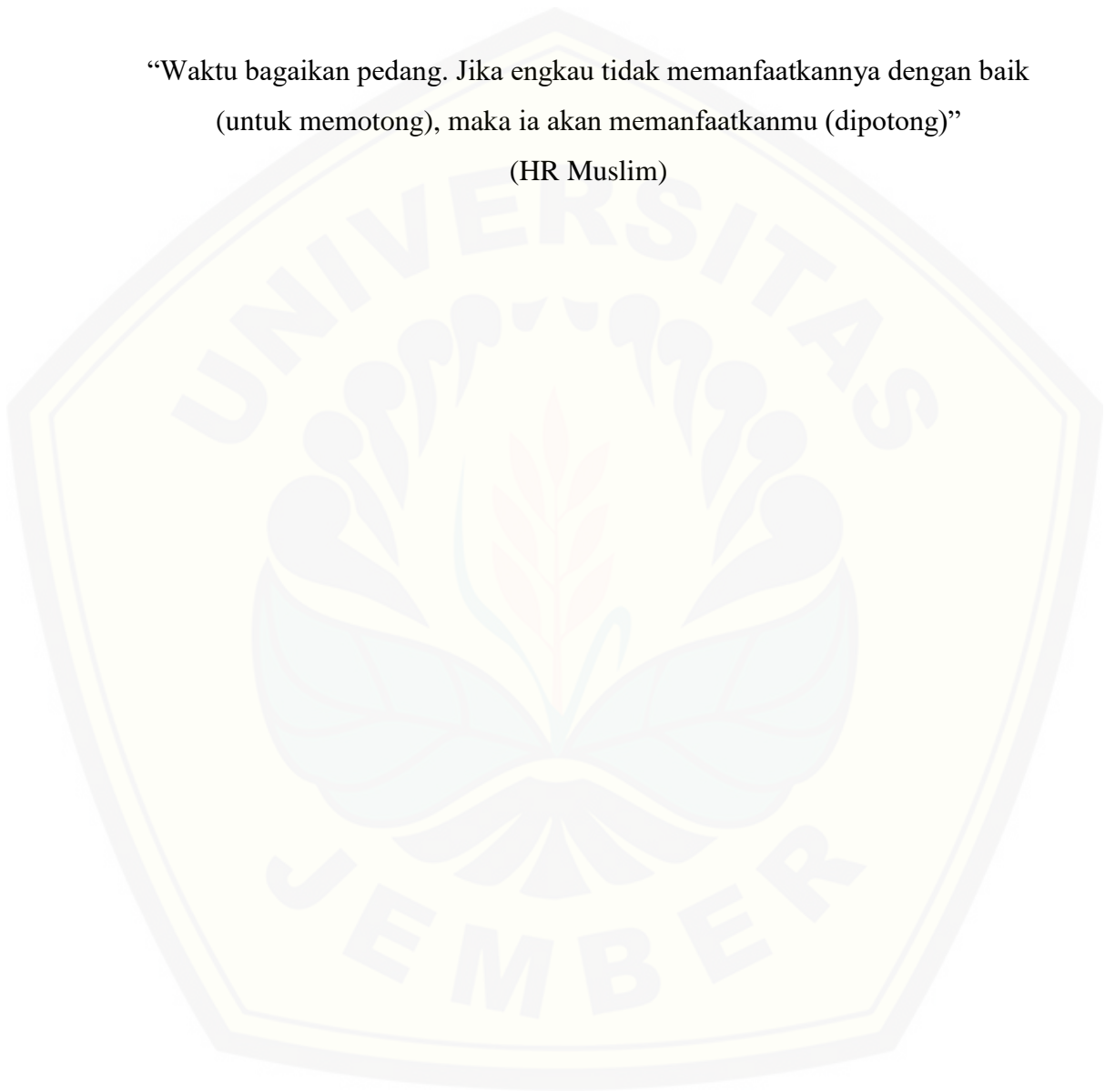
**MOTTO**

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhan tersebut  
untuk kebaikan dirinya sendiri”

(Terjemahan Surat Al Ankabut ayat 6)

“Waktu bagaikan pedang. Jika engkau tidak memanfaatkannya dengan baik  
(untuk memotong), maka ia akan memanfaatkanmu (dipotong)”

(HR Muslim)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Laili Wafa Noer Khamidah

NIM: 142210101019

Menyatakan dengan sungguh-sungguh bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Dengan Metode NIR-Kemometrik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan-kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 11 Juli 2018

Yang Menyatakan,

(Laili Wafa Noer Khamidah)

NIM. 142210101019

**SKRIPSI**

**PENENTUAN KADAR FENOLAT TOTAL PADA SERBUK  
DAUN TANAMAN OBAT DENGAN METODE NIR-  
KEMOMETRIK**

Oleh:

Laili Wafa Noer Khamidah

142210101019

Pembimbing

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

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Dengan Metode NIR-Kemometrik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 11 Juli 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

NIP 198204062006042001

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

NIP 197604142002122001

**Tim Penguji**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dwi Koko Pratoko S.Farm., M. Sc., Apt

NIP 198504282009121004

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

NIP 196902011994031002

**Mengesahkan**

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat Dengan Metode NIR-Kemometrik:** Laili Wafa Noer Khamidah, 142210101019: 2018: 92 halaman; Fakultas Farmasi; Universitas Jember.

Senyawa fenolat merupakan rangkaian senyawa yang mengandung gugus hidroksil yang terikat langsung ke cincin aromatik. Senyawa tersebut adalah salah satu kelas metabolit yang paling banyak beredar di alam. Senyawa fenolat banyak terdapat pada bagian daun. Fenolat berperan penting pada reproduksi pertumbuhan, perlindungan dari predator dan patogen. Efek yang bermanfaat dari fenolat yaitu aktivitas antioksidan, anti alergi, anti inflamasi, anti trombotik, vasodilatasi dan anti mikroba. Metode yang digunakan dalam penentuan kadar fenolat total yaitu menggunakan spektrofotometri NIR (*Near Infra Red*) dan digunakan spektrofotometri UV-Vis sebagai metode pembanding. Terdapat 30 sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

Spektroskopi NIR dipilih karena kecepatannya untuk analisis sampel, biaya murah, dan non destruktif terhadap sampel yang dianalisis. Data spektra yang dihasilkan dari spektroskopi NIR sangat rumit dan sulit diinterpretasi, jadi membutuhkan analisis multivariat berupa kemometrik yaitu *The Unscrambler X 10.2*. Analisis multivariat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Partial Least Square (PLS)*, *Principal Component Regression (PCR)*, dan *Support Vector Machines Regression (SVMR)*. Spektrofotometri UV Vis digunakan sebagai metode pembanding. Digunakan Folin ciocalteu dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebagai reagen, serta asam galat sebagai standar.

Data spektra dari NIR digunakan untuk membentuk model kalibrasi. Diperoleh model kalibrasi yang paling bagus yaitu PLS dengan  $R^2$  kalibrasi sebesar 0,9838491,  $R^2$  validasi sebesar 0,9825304 dan RMSE kalibrasi sebesar 2,6484198 dan RMSE validasi sebesar 0,9827023. Model yang telah terbentuk divalidasi dengan cara *Leave One Out Cross Validation (LOOCV)* dan *2-Fold Cross Validation*. Hasil validasi dari LOOCV sudah menunjukkan hasil yang bagus karena  $R^2$  sudah diatas 0,91. Sedangkan untuk *2-Fold Cross Validation* menghasilkan  $R^2$  dengan nilai 0,9959183.

Model PLS yang sudah divalidasi kemudian akan diterapkan pada sampel nyata, berupa serbuk daun sirsak 1, serbuk daun sirsak 2, serbuk daun sawo dan serbuk daun jeruk nipis. Diperoleh kadar fenolat total masing-masing sebesar 46,5832 mg GAE/ g, 29,0149 mg GAE/ g, 65,4875 mg GAE/ g dan 16,5312 mg GAE/g. Hasil kadar fenolat yang diperoleh dari NIR dibandingkan dengan kadar fenolat dari spektrofotometri UV-Vis. Digunakan uji non parametrik wilcoxon untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan atau tidak. Diperoleh nilai probabilitas  $>0,05$  yaitu 0,144 sehingga dapat dikatakan hasil tidak berbeda signifikan.



## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan Kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidahnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Serbuk Daun Tanaman Obat dengan Metode NIR-Kemometrik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Nia Kristiningrum S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian serta dengan sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan penelitian ini;
3. Bapak Dwi Koko Pratoko S.Farm., M. Sc., Apt selaku Dosen Penguji I dan Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji II yang dengan sabar memberikan saran terhadap penelitian ini;
4. Ibu Evi Umayah Ulfa, S.Si.,M.Si Apt dan Bapak Dwi Koko Pratoko S.Farm., M. Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Seluruh dosen maupun tenaga pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya, berbagi pengalaman dan memotivasi penulis selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang selalu memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta, Bapak Ramelan dan Ibu Sri Miati yang selalu mendukung, memotivasi, mendoakan dan memberikan segalanya kepada penulis dalam mengerjakan skripsi dan penelitian

8. Mbak Mariya Chusna, Mas Desi, Mbak Sabila, Mbak Nisa, Adek Ana, Adek Fadhil dan Adek Fathan yang selalu memberikan motivasi dan semangat penulis selama kuliah maupun skripsi;
9. Bapak Panut dan Ibu Muskini yang selalu memberikan semangat supaya cepat lulus kuliah dan skripsi
10. Teman seperjuangan penelitian di Laboratorium Kimia (Melda, Agus, Fitri, Mia, Ainun, Eva, Mila, Ary, Yanti, Erika, Fajar dan Putu) yang selalu memberikan bantuan dan *support* kepada penulis dalam penelitian;
11. Semua rekan penelitian di di Laboratorium Kimia Farmasi yang telah banyak membantu;
12. Teman-teman angkatan 2014 Fakultas Farmasi Universitas Jember Yang tidak bisa disebutkan satu persatu;
13. Grup Cimiw-cimiw Yudya Residence (Alfita, Ratih, Yulintan, Tata, Lisa, Sheila dan Ayu) yang tiap hari bersama;
14. Rekan SMABOY '14 (Raka, Alfita, Ekvan, Santika, Tanti, Awi dan Ananta) yang telah memotivai penulis;
15. Fitri, Tiara, Novita, Syafira, Monica dan Anjar yang selalu mendukung penulis;
16. Mahasiswa Tulungagung Jember (Saiful, Tanti, Agus, Yayuk, Rica, Heru, Mas Riko, Heru, Galih, dll);
17. Teman-teman 2015 (Okta, Fara, Cani, Rini, Farda, Azha, Bagus dan Weka yang selalu memberi dukungan dan semangat;
18. Keluarga besar kos Yudya Residence yang tidak dapat disebutkan satu-persatu;
19. Teman KKN 14 2018 (Shofie, Dimas, Karina, Tiwi, Ana, Leny, Iqbal, Vendy dan Kiki) yang telah mngajari arti kebersamaan, kekompakan, mandiri dan teman susah senang bersama;
20. Keluarga 12 IPA 1 SMABOY 2014 yang selama ini telah banyak memberi cerita, pelajaran, kebahagiaan, motivasi dan dukungan kepada penulis
21. Keluarga GJB (Zidni, Zuna, Olyn, Putri, Alfita, Nanda dan Citra yang sampai sekarang masih menemani;
22. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

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

Jember, 11 Juli 2018

Penulis

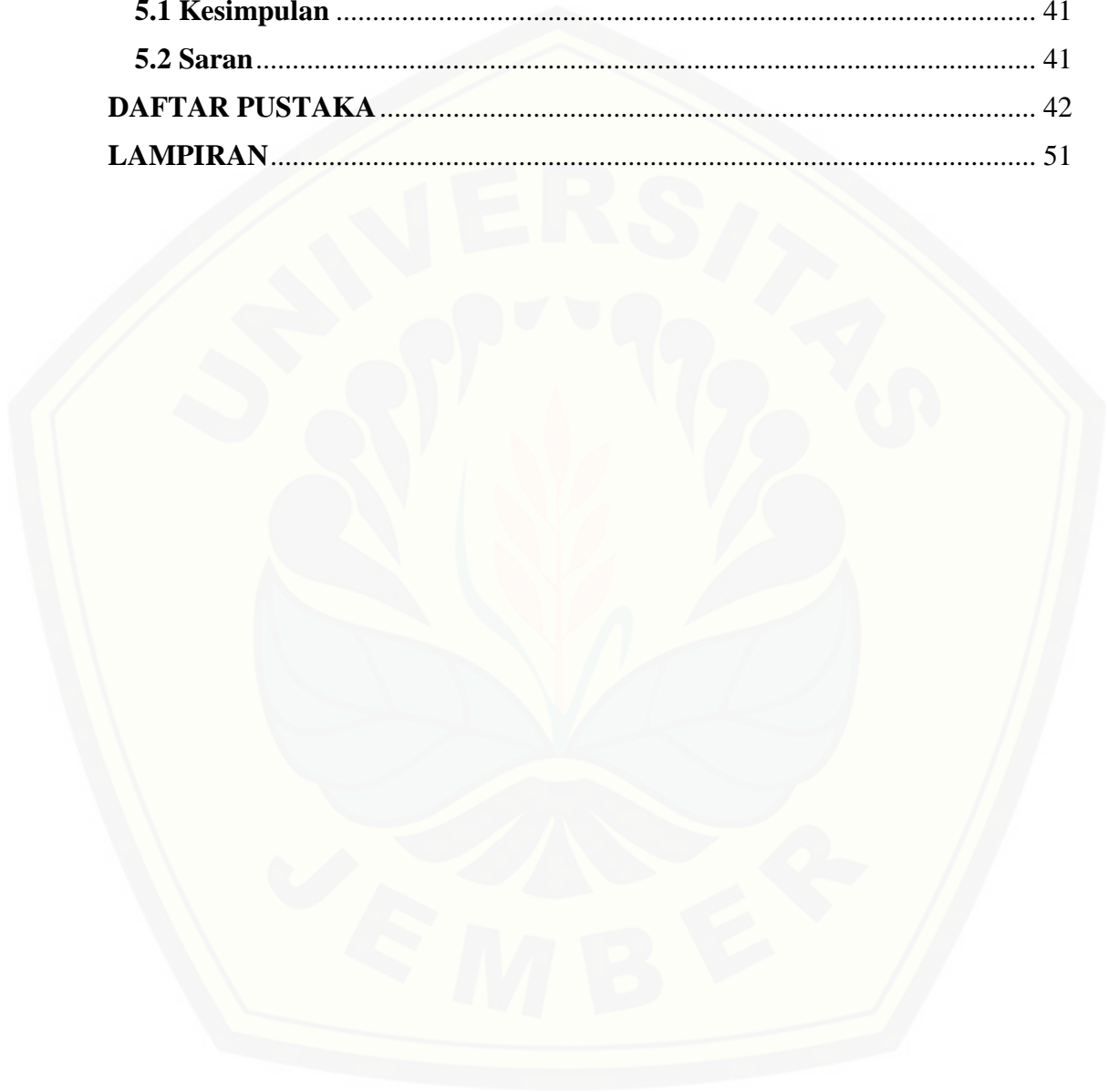


**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>MOTTO</b> .....	iv
<b>PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	1
<b>2.1 Daun</b> .....	1
<b>2.2 Metabolit Sekunder</b> .....	6
<b>2.3 Senyawa Fenolat</b> .....	7
<b>2.4 Simplisia dan Serbuk</b> .....	9
2.4.1 Simplisia .....	9
2.4.2 Serbuk .....	10
<b>2.5 Asam Galat</b> .....	11
<b>2.6 Metode Penetapan Kadar Fenolat Total</b> .....	12
2.6.1 Folin Denis.....	12
2.6.2 Folin Ciocalteu.....	12
2.6.3 Titrasi Permanganat .....	12

2.6.4 Metode kolorimetri .....	12
<b>2.7 Metode Penetapan Kadar Fenolat dengan Reagen Folin-Ciocalteu...</b>	<b>13</b>
<b>2.8 Spektrofotometer UV-Vis .....</b>	<b>14</b>
<b>2.9 Spektroskopi NIR (<i>Near Infra Red</i>) .....</b>	<b>16</b>
<b>2.10 Analisis Kemometrik.....</b>	<b>17</b>
2.10.1 <i>Partial Least Square</i> (PLS).....	18
2.10.2 <i>Principal Component Regression</i> (PCR).....	18
2.10.3 <i>Support Vector Machines</i> (SVM) .....	19
<b>2.11 Validasi Silang (<i>Cross-validation</i>).....</b>	<b>19</b>
2.11.1 <i>2-fold Cross Validation</i> .....	19
2.11.2 <i>Leave-one-out</i> .....	19
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.4.1 Bahan Penelitian .....	21
3.4.2 Alat Penelitian.....	21
<b>3.5 Alur Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.6.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel Daun .....	24
3.6.2 Penentuan Data Spektra NIR .....	24
3.6.3 Penentuan Kadar Fenolat Total Menggunakan Spektrofotometri UV- Vis.....	24
3.6.4 Pembentukan Model Kalibrasi.....	25
3.6.5 Aplikasi Pada Sampel Nyata.....	25
3.6.6 Analisis Data.....	26
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Pengumpulan Dan Preparasi Sampel Serbuk Daun .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Penetapan Kadar Fenolat Total .....</b>	<b>29</b>
4.2.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum .....	29
4.2.2 Penetapan Kadar Fenolat Total Sampel <i>Training Set</i> dan <i>Test Set</i> dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis .....	30

<b>4.3 Pembentukan Model Kalibrasi .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4 Validasi Model Kalibrasi .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5 Penerapan Model Yang Terpilih Terhadap Sampel .....</b>	<b>39</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>41</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>51</b>

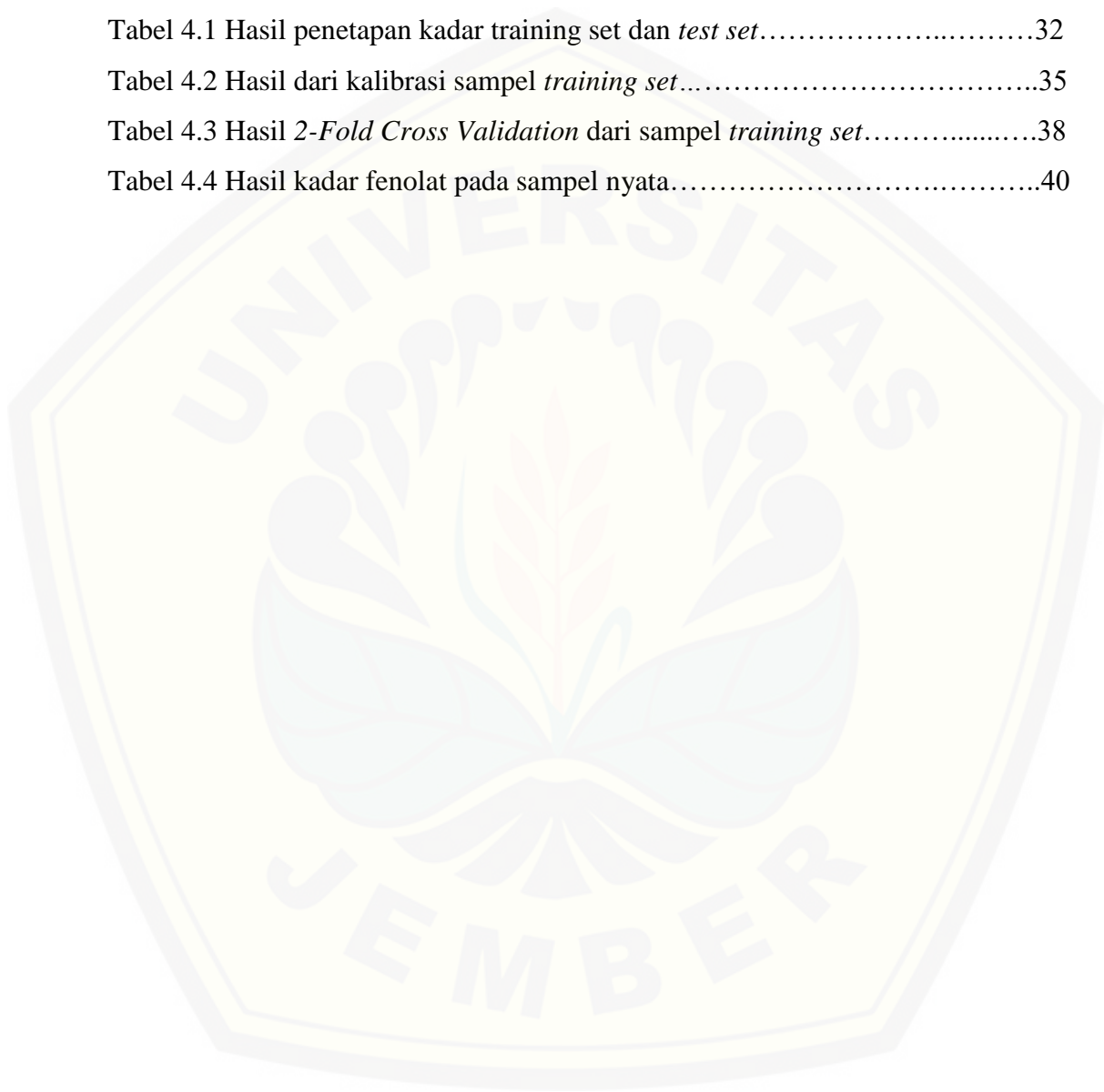


**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Struktur anatomi daun .....	6
Gambar 2.2 Struktur fenolat.....	7
Gambar 2.3 Struktur asam galat.....	11
Gambar 2.4 Reaksi Folin Ciocalteu dengan fenolat.....	13
Gambar 2.5 Instrumentasi UV-Vis .....	16
Gambar 2.6 Instrumentasi NIR .....	17
Gambar 4.1 Sampel daun yang digunakan.....	28
Gambar 4.2 Spektra panjang gelombang.....	29
Gambar 4.3 Kurva standar asam galat.....	31
Gambar 4.4 PLS (a), PCR (b) dan SVR (c) model sampel <i>training set</i> .....	36
Gambar 4.5 Hasil dari <i>2-Fold Cross Validation</i> .....	39

**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolat berdasar rantai karbon.....	7
Tabel 3.1 Simplisia yang digunakan .....	21
Tabel 4.1 Hasil penetapan kadar training set dan <i>test set</i> .....	32
Tabel 4.2 Hasil dari kalibrasi sampel <i>training set</i> .....	35
Tabel 4.3 Hasil <i>2-Fold Cross Validation</i> dari sampel <i>training set</i> .....	38
Tabel 4.4 Hasil kadar fenolat pada sampel nyata.....	40





**DAFTAR LAMPIRAN**

LAMPIRAN A. Alat dan Bahan yang Digunakan.....	52
LAMPIRAN B. Spektrum Hasil Scanning dengan NIR.....	54
LAMPIRAN C. Identitas Sampel Serbuk.....	55
LAMPIRAN D. Data Penetapan Kadar Fenolat Total dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	57
LAMPIRAN E. Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Fenolat Total.....	57
LAMPIRAN F. Pembuatan Larutan Folin Ciocalteu 1:10.....	63
LAMPIRAN G. Pembuatan Larutan Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 7,5%.....	63
LAMPIRAN H. Hasil Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum.....	63
LAMPIRAN I. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Sampel.....	66
LAMPIRAN J. Hasil Analisis Dengan Metode Kemometrik.....	70
LAMPIRAN K. Hasil Analisis Sampel Nyata Dengan Uji Wilcoxon.....	75

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Obat adalah bahan atau paduan bahan dan produk biologi yang digunakan untuk mempengaruhi patologi maupun fisiologi guna menetapkan diagnosis, mencegah, menyembuhkan, memulihkan, meningkatkan kesehatan dan kontrasepsi untuk manusia (Depkes RI, 1993). Salah satu jenis obat yaitu obat tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan, termasuk bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang telah digunakan untuk pengobatan secara turun temurun dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Supardi *et al.*, 2012).

Penggunaan obat tradisional sudah ada sejak jaman nenek moyang berabad-abad yang lalu (Sari, 2006). Obat tradisional mengalami perkembangan yang semakin meningkat dari masa ke masa (Katno, 2002). Sebagian besar penduduk di negara berkembang masih terus menggunakan obat tradisional, terutama untuk pemenuhan kebutuhan kesehatan dasar. WHO menyatakan sekitar 80% penduduk di dunia menggunakan obat tradisional yang berasal dari tanaman (Dewi *et al.*, 2008). Sekitar 55,3% penduduk di Indonesia menggunakan obat tradisional untuk memelihara kesehatan dan sekitar 95,6% pengguna obat tradisional mengakui bahwa obat tradisional yang digunakan sangat bermanfaat bagi kesehatan (Emilda *et al.*, 2017).

Senyawa kimia dalam tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal disebut metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder memiliki variasi jumlah dan jenis dari setiap tumbuh-tumbuhan. Beberapa dari senyawa tersebut telah diisolasi dan sebagian memberikan efek farmakologi dan fisiologi yang lebih dikenal sebagai senyawa kimia aktif (Copriadi *et al.*, 2005). Senyawa kimia aktif dalam tanaman dapat diketahui dengan cara uji fitokimia. Uji fitokimia untuk pemeriksaan senyawa kimia dapat membuktikan ada atau tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan untuk dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya (Artini *et al.*, 2008). Kandungan senyawa kimia yang bermacam-macam pada

berbagai tumbuhan tersebar atau terpusat pada organ tubuh tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, akar, rimpang, atau kulit batang (Hornok, 1992). Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan dalam bentuk metabolit sekunder contohnya seperti alkaloid, flavonoid, fenolat, terpenoid, steroid dan saponin. (Copriadi *et al.*, 2005).

Bagian daun lebih sering dimanfaatkan untuk obat daripada bagian lain. Hal tersebut berkaitan dengan produktivitas daun yang lebih banyak dan lebih mudah diperoleh dibandingkan bagian lainnya (Handayani, 2015). Alternatif yang digunakan untuk mendapatkan manfaat dari daun adalah dengan menjadikannya bentuk serbuk dan dibuat minuman (Tangkeallo dan Widyaningsih, 2014).

Daun merupakan bagian tumbuhan yang penting dan pada umumnya tiap tumbuhan memiliki sejumlah besar daun. Daun berbentuk tipis, melebar dan kaya akan zat warna hijau yang disebut klorofil (Tjitrosoepomo, 2009). Klorofil digunakan untuk mengabsorpsi cahaya pada proses fotosintesis. Bagian tanaman yang mengalami proses fotosintesis banyak ditemukan senyawa fenolat (Kumar dan Pandey, 2013).

Senyawa fenolat merupakan metabolit sekunder yang paling banyak terdapat pada tumbuhan (Bhattacharya *et al.*, 2010). Fenolat adalah senyawa aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik (Weber dan Weber, 2010). Senyawa fenolat umumnya ditemukan pada tanaman yang dapat dimakan maupun tidak dapat dimakan dan dilaporkan juga memiliki banyak efek biologis, termasuk aktivitas antioksidan. Studi menunjukkan bahwa fenolat memiliki aktivitas antibakteri, antiviral, antiinflamasi, antialergi dan antitrombotik (Seo *et al.*, 2005).

Salah satu metode untuk menentukan kadar fenolat total yaitu dengan spektroskopi *Near Infra Red* (NIR). Metode ini pada penelitian sebelumnya, digunakan untuk analisis berbagai macam kadar obat, seperti siprofloksasin (Sari, 2013). Spektroskopi NIR dipilih karena kecepatannya untuk analisis sampel, biaya murah, dan non destruktif terhadap sampel yang dianalisis (Roggo *et al.*, 2007). Data spektra yang dihasilkan dari spektroskopi NIR sangat rumit sehingga sulit diinterpretasi, jadi membutuhkan metode statistik multivariat. Metode

statistik multivariat yang digunakan pada penelitian biasanya adalah kemometrik (Karlinasari *et al.*, 2012). Beberapa analisis multivariat antara lain yaitu metode *Partial Least Square* (PLS), *Principal Component Regression* (PCR), dan *Support Vector Machines Regression* (SVMR) sebagai metode analisis kuantitatif untuk kalibrasi dan menghitung kadar total fenolat pada model yang telah dibuat (Miller, 2004).

Nilai kadar total fenolat yang telah dianalisis secara kuantitatif akan dibandingkan dengan nilai kadar total fenolat yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis sebagai pembanding. Berdasarkan uraian diatas, penulis ingin melakukan penelitian tentang “penentuan kadar fenolat total pada serbuk daun tanaman obat dengan metode NIR-kemometrik”.

### **1.2 Rumusan Masalah**

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

1. Apakah metode NIR-kemometrik dapat menentukan kadar fenolat total pada sampel serbuk daun?
2. Apakah kadar fenolat total pada sampel serbuk daun yang ditetapkan dengan metode NIR-Kemometrik dan metode spektrofotometri UV-Vis memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan?

### **1.3 Tujuan penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui apakah kadar fenolat total pada sampel serbuk daun dapat ditentukan dengan metode NIR-kemometrik
2. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan signifikan kadar fenolat pada sampel serbuk daun dengan metode NIR-kemometrik dan metode spektrofotometri UV-Vis.

#### **1.4 Manfaat penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah:

Memberikan informasi tentang metode penentuan kadar fenolat total pada sampel serbuk daun dengan menggunakan metode yang lebih sederhana dan non destruktif yaitu NIR-kemometrik.

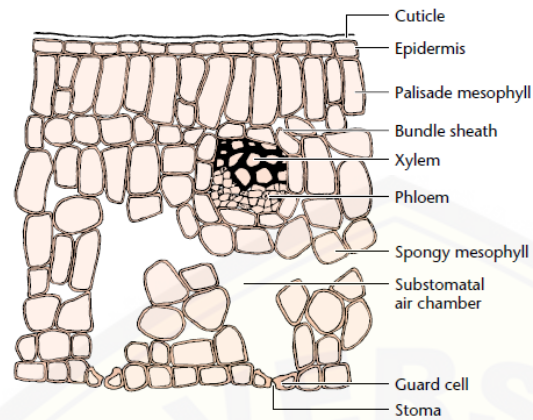


## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun

Daun adalah istilah untuk bagian tumbuhan yang bentuknya seperti lembaran pipih dan umumnya berwarna hijau bila terpapar cahaya dan udara. Daun tumbuh dari batang, umumnya berwarna hijau karena mengandung klorofil (Fahn, 1991). Daun tumbuhan memiliki bentuk dan ukuran yang bervariasi, mulai dari yang berbentuk duri kecil hingga yang berbentuk lebar (Latifa, 2015). Daun terdiri dari lamina atau *blade* dan tangkai daun. Lamina berbentuk rata dengan permukaan atas dan bawah yang khas. Petiola adalah tangkai memanjang yang menempel pada lamina ke batang. Beberapa daun memiliki bagian yang tumbuh berlebih yang disebut stipula dimana tangkai daun menempel pada batang (Caert, 2012).

Lapisan daun terdiri dari epidermis, bagian ini memiliki banyak kutikula yang lebih tebal dan stomata yang lebih sedikit daripada epidermis bawah. Sel mesofil palisade adalah tempat utama terjadinya fotosintesis, disusun di atas mesofil spons, tempat pertukaran gas terjadi (Barclay, 2003). Daun merupakan organ utama pada tanaman yang berfungsi untuk memproduksi makanan. Daun akan menangkap cahaya dari sinar matahari, kemudian menggunakannya untuk produksi makanan. Fungsi daun yaitu mempertahankan kadar air, pertukaran untuk fotosintesis maupun respirasi dan meningkatkan penyerapan karbondioksida (Barclay, 2003). Lapisan daun dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur anatomi daun (Barclay, 2003)

## 2.2 Metabolit Sekunder

Metabolisme merupakan serangkaian gabungan proses konversi enzimatik pada organisme hidup (Van Der Fits dan Memelink, 2000). Senyawa organik yang dihasilkan dan terlibat dalam metabolisme disebut metabolit. Senyawa metabolit terdiri dari dua jenis, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer yaitu metabolit yang terlibat dalam kelangsungan hidup dan keberadaan organisme. Fungsi metabolit ini yaitu untuk pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi. Metabolit primer juga disebut metabolit sentral karena dapat menjaga proses fisiologis normal. Jumlah metabolit ini diproduksi dalam jumlah cukup supaya dapat mempertahankan pertumbuhan sel. Contoh dari metabolit primer antara lain glukosa, asam organik sederhana, asam lemak, protein, hormon, dan enzim (Saifudin, 2002).

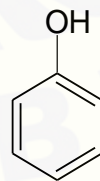
Metabolit sekunder adalah metabolit yang tidak berperan penting untuk kelangsungan hidup tanaman (Setyorini dan Yusnawan, 2016). Senyawa ini diproduksi hanya dalam jumlah sedikit dan tidak terus-menerus. Fungsi dari metabolit ini yaitu untuk pertahanan diri terhadap radikal bebas, mikroba, virus dan tumbuhan kompetitor (Rahmawati dan Hidajati, 2017). Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan bahan baku obat (Setyorini dan Yusnawan, 2016). Struktur metabolit sekunder lebih kompleks dan sulit disintesa

serta jarang dijumpai di pasaran karena masih sedikit. Sekitar 15 % yang telah berhasil diisolasi sehingga memiliki nilai ekonomi tinggi (Mariska, 2013).

Senyawa metabolit sekunder diproduksi melalui jalur di luar biosintesa karbohidrat dan protein. Ada 3 jalur utama dalam pembentukan senyawa metabolit sekunder, antara lain yaitu jalur asam malonat, jalur asam mevalonat dan jalur asam shikimat. Contoh dari senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui jalur asam malonat adalah asam lemak, glikolipida dan fosfolipida. Contoh senyawa metabolit sekunder dari jalur asam mevalonat diantaranya adalah *essential oil*, monoterpenoid, *squalent*, menthol, steroid dan terpenoid. Contoh senyawa metabolit sekunder dari jalur asam shikimat yaitu fenolat, lignin, kumarin, tannin, dan kuinon (Mariska, 2013).

### 2.3 Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat terdiri dari rangkaian senyawa yang mengandung gugus hidroksil yang terikat langsung ke cincin aromatik (Weber dan Weber, 2010). Senyawa ini diberi nama berdasarkan senyawa induknya, yaitu fenol. Senyawa fenolat pada tanaman merupakan turunan fenol dari jalur pentosa fosfat, shikimat, dan fenil propanoid (Ozcan, 2014). Senyawa yang memiliki beberapa gugus hidroksil pada cincin aromatik disebut polifenol (Kruma *et al.*, 2008). Struktur kimia senyawa fenol dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kimia senyawa fenol

Senyawa fenolat adalah salah satu kelas metabolit yang paling banyak beredar di alam dan didistribusikan hampir di mana-mana (Pereira *et al.*, 2009). Fenolat diproduksi dan terakumulasi di lapisan subepidermal jaringan tanaman. Konsentrasi senyawa fenolat dalam jaringan tanaman tergantung pada musim dan tahap pertumbuhan serta perkembangannya berbeda.



Senyawa ini merupakan kelompok senyawa kimia yang banyak dan memiliki peran penting secara fisiologi dan morfologi yang cukup besar pada tanaman. Fenolat berperan penting pada reproduksi pertumbuhan, perlindungan dari predator dan patogen. Efek yang bermanfaat dari fenolat yaitu aktivitas antioksidannya. Selain itu, fenolat memiliki aktivitas anti alergi, anti inflamasi, anti trombotik, vasodilatasi dan anti mikroba (Balasundram, 2006).

Senyawa fenolat dapat diklasifikasikan dengan cara yang berbeda karena mereka terbentuk dalam sejumlah besar struktur heterogen bervariasi. Berdasarkan rantai karbon, senyawa fenolat dapat dibagi menjadi 16 kelas utama. Klasifikasi senyawa fenolat berdasar rantai karbon dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolat berdasar rantai karbon  
(Giada, 2013)

Kelas	Kerangka dasar
Fenol sederhana	C6
Benzokuinon	C6
Asam fenolat	C6-C1
Asetofenon	C6-C2
Asam fenilasetat	C6-C2
Asam hidroksinamat	C6-C3
Fenilpropana	C6-C3
Kumarin, isokumarin	C6-C3
Kromona	C6-C3
Naptokuinon	C6-C4
Xanton	C6-C1-C6
Stilben	C6-C2-C6
Antrakuinon	C6-C2-C6
Flavonoid	C6-C3-C6
Lignan dan neolignan	(C6-C3) <sub>2</sub>
Lignin	(C6-C3) <sub>n</sub>

## 2.4 Simplisia dan Serbuk

### 2.4.1 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (Depkes RI, 2012). Simplisia dibedakan atas simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Dalam pembuatan simplisia, kualitas bahan baku simplisia merupakan faktor yang perlu diperhatikan (Rahayu *et al.*, 2009).

Pembuatan simplisia melalui beberapa tahap, antara lain (Depkes RI, 1985; Kurnia, 2011):

#### a. Sortasi basah

Pada tahap ini, bahan baku simplisia dipisahkan dari bahan organik asing, tumbuhan atau bagaian tumbuhan lain yang tidak diperlukan. Bahan baku simplisia harus bersih, tidak boleh tercampur dengan kerikil, tanah dan sumber pengotor lain, misalnya serangga.

#### b. Pencucian

Langkah selanjutnya yaitu pencucian, simplisia dicuci dengan air dari mata air, sumur atau air ledeng (PAM). Setelah dicuci, simplisia ditiriskan agar kelebihan air cucian dapat mengalir.

#### c. Perajangan

Perajangan dapat dilakukan agar proses pengeringan lebih cepat. Perajangan dapat dilakukan secara manual atau dengan mesin perajang. Apabila terlalu tebal maka proses pengeringan akan terlalu lama dan kemungkinan dapat membusuk atau berjamur. Sebaliknya, perajangan yang terlalu tipis mengakibatkan kandungan kimia pada bahan baku akan rusak karena oksidasi atau reduksi. Alat perajang atau pisau yang digunakan sebaiknya bukan dan besi (misalnya *stainless steel* atau baja nirkarat).

#### d. Pengeringan

Tujuan dari pengeringan adalah untuk mengawetkan simplisia supaya tahan lama dalam penyimpanan. Pengeringan yang cukup akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur). Pengeringan jangan dilakukan

di bawah sinar matahari, untuk menghindari terurainya kandungan kimia pada bahan baku. Cara pengeringan diupayakan sedemikian rupa sehingga tidak merusak kandungan aktifnya.

e. Sortasi kering

Simplisia yang telah kering disortasi untuk memisahkan kotoran, bahan organik asing, dan simplisia yang rusak akibat proses sebelumnya.

f. Pengepakan dan penyimpanan

Simplisia harus dipak dalam tempat yang tepat seperti karung goni atau plastik. Penyimpanan harus teratur, rapi, untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, serta untuk memudahkan pengambilan, pemeriksaan, dan pemeliharannya.

#### **2.4.2 Serbuk**

Serbuk adalah sediaan obat tradisional yang berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang penggunaannya dengan cara diseduh dengan air atau air panas. Serbuk simplisia dibuat dengan cara simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang kering dibuat serbuk dengan alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 60 dengan lebar nominal lubang 0,105 mm, garis tengahnya 0,064 mm, dan ukurannya 250  $\mu\text{m}$  (Depkes RI, 2008).

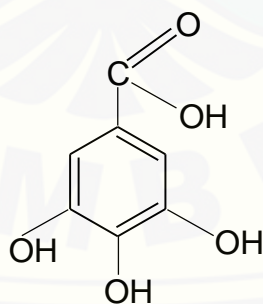
Sediaan obat tradisional selain dalam bentuk rebusan ada juga dalam bentuk ekstrak dan serbuk. Pada penelitian (Ahmad, 2012) menyebutkan bahwa salah satu obat tradisional yang sering digunakan adalah serbuk. Keuntungan dari sediaan serbuk adalah cara preparasinya yang mudah dan meningkatkan kepatuhan pasien (Ahmad, 2012).

## 2.5 Asam Galat

Asam galat adalah golongan senyawa fenolat. Secara kimiawi asam galat dikenal sebagai asam 4, 5-trihidroksibenzoat. Asam galat sering dipakai sebagai standar karena merupakan turunan hidrobenzoat (suatu asam fenol sederhana) yang memiliki sifat murni dan stabil (Khadijah *et al.*, 2017). Asam galat adalah metabolit sekunder yang paling banyak tersebar pada tumbuhan (Fernandes, 2015). Selain itu, standar asam galat tidak mahal, larut air, mudah rekristalisasi dalam air, tersedia dalam bentuk kering, dan stabil dalam bentuk kering (Singleton *et al.*, 1999).

Asam galat tersebar luas di seluruh bagian tumbuhan seperti daun, akar dan kulit kayu (Choubey *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa asam galat berpotensi preventif dan memiliki efek terapeutik pada beberapa penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, gangguan neurodegeneratif dan penuaan (Nayeem *et al.*, 2016).

Asam galat berbentuk kristal putih kekuningan yang memiliki massa molekul 170,12 g / mol, titik lebur 250 ° C dan kelarutan dalam air 1,1% pada suhu 20 ° C. Asam galat dapat disintesis dari fenilalanin melalui asam kafein atau asam trihidroksinat dari jalur asam shikimat (Choubey *et al.*, 2015). Struktur asam galat dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur asam galat (Karamae *et al.*, 2006)

## **2.6 Metode Penetapan Kadar Fenolat Total**

### **2.6.1 Folin Denis**

Folin Denis merupakan reagen yang berisi fototungstat dan molibdat yang pada awalnya digunakan untuk identifikasi tannin dan berwarna biru apabila bereaksi dengan tannin. Pembentukan reaksi tersebut berdasarkan reaksi oksidasi reduksi, dimana tannin sebagai reduktor dan Folin Denis sebagai oksidator (Dai dan Mumper, 2010). Kelemahan dalam metode ini yaitu terbentuknya endapan berwarna putih (Singleton *et al.*, 1999).

### **2.6.2 Folin Ciocalteu**

Pereaksi Folin-ciocalteu berisi campuran tungstat dan molibdat yang mekanisme kerjanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi. Senyawa fenolat mengalami disosiasi untuk membentuk anion fenolat yang mengurangi pereaksi folin-ciocalteu (Sinica *et al.*, 2012).

### **2.6.3 Titrasi Permanganat**

Permanganometri adalah titrasi yang berdasarkan pada reaksi redoks. Metode ini didasari oksidasi fenolat oleh larutan kalium permanganat dengan adanya indigokarmin sebagai indikator redoks untuk menunjukkan indikator titrasi (Wang dan Zhou, 2004).

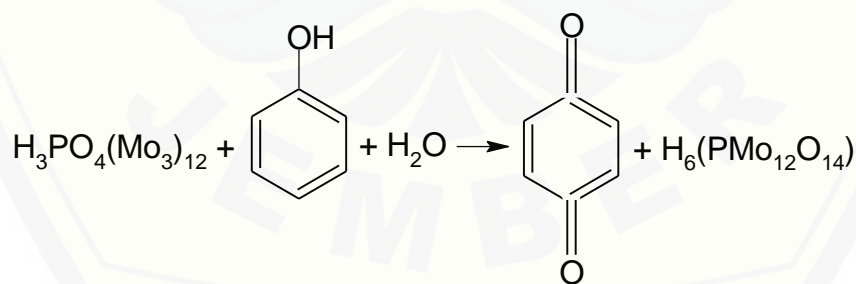
### **2.6.4 Metode kolorimetri**

Metode kolorimetri digunakan untuk penentuan fenolat total campuran hidrokarbon, pelarut organik, dan larutan berair. Metode ini tidak terpengaruh oleh bahan organik yang mengandung gugus fungsi lain (seperti aldehida atau eter) atau dengan air, asam mineral, basa anorganik, atau anorganik garam. Sampel dilarutkan dalam asam asetat kemudian ditambahkan larutan asam nitrat, terbentuk nitrosifenol. Setelah itu, intensitas garam kuinoid berwarna yang dihasilkan diukur dengan kolorimeter fotolistrik (Lykken *et al.*, 1946).

## 2.7 Metode Penetapan Kadar Fenolat Dengan Reagen Folin-Ciocalteu

Folin-Ciocalteu merupakan metode yang sering digunakan untuk kuantifikasi fenolat dalam bahan tanaman dan ekstrak karena sederhana dan reproduibel (Dai dan Mumper, 2010). Senyawa fenolat bereaksi dengan reagen folin-ciocalteu menghasilkan kompleks warna biru yang dapat ditentukan secara spektrofotometri (Vazquez *et al.*, 2014). Metode ini dipilih karena sederhana, cepat dan murah (Musci dan Yao, 2017). Senyawa yang bisa digunakan untuk standar antara lain asam galat, katekin, tirosin dll. Standar yang sering digunakan adalah asam galat dan hasilnya disebutkan dalam setara asam miligram asam galat (GAE) (Singleton *et al.*, 1999).

Pereaksi Folin-ciocalteu berisi campuran tungstat dan molibdat yang mekanisme kerjanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi. Senyawa fenolat mengalami disosiasi untuk membentuk anion fenolat (Sinica *et al.*, 2012). Senyawa fenolat bereaksi dengan reagen folin ciocalteu hanya pada kondisi basa, sehingga ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolat maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropolim (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Alfian dan Susanti, 2012). Reaksi Folin Ciocalteu dengan fenolat dapat dilihat pada gambar 2.4.



Reagen Folin-Ciocalteu    Senyawa fenolat                      Kuinon                      Komplek molybdenum biru  
Gambar 2.4 Reaksi Folin Ciocalteu dengan fenolat (Tursiman *et al.*, 2012)

## 2.8 Spektrofotometer UV-Vis

Spektroskopi merupakan ilmu yang mempelajari interaksi materi dengan cahaya. Spektroskopi akan memecah cahaya menjadi spektrum yang menunjukkan interaksi cahaya dengan sampel pada setiap panjang gelombang. Spektrofotometri UV-Vis bekerja pada rentang ultra violet (200-400) nm dan *visible* (400-800) nm (Adeeyinwo *et al.*, 2013). Metode ini telah banyak digunakan pada penetapan senyawa-senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil (Triyati, 1985).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila ada cahaya putih atau radiasi dilewatkan melalui larutan maka radiasi yang memiliki panjang gelombang tertentu akan diabsorpsi dan ditransmisikan. Perbandingan antara intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar yang datang akan menghasilkan absorbansi. Semakin tinggi kadar suatu zat pada suatu sampel, maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, sehingga nilai absorbansi semakin besar pula (Neldawati *et al.*, 2013).

Cahaya adalah suatu bentuk energi radiasi yang memiliki sifat sebagai gelombang dan partikel. Cahaya berbentuk energi sehingga penyerapan cahaya oleh materi menyebabkan kandungan energi dari molekul atau atom meningkat. Energi radiasi terdiri dari sejumlah besar gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang yang berbeda. Bagian-bagian suatu radiasi dapat dipisahkan menjadi spektrum elektromagnetik (Triyati, 1985).

Cahaya pada UV dan sinar tampak memiliki energi yang menyebabkan transisi antara energi elektronik berbeda. Panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi memiliki energi yang diperlukan untuk memindahkan elektron dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi. Apabila cahaya mengenai molekul maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron tersebut dinamakan transisi elektronik. Gugus molekul yang dapat mengabsorpsi cahaya disebut gugus kromofor (Triyati, 1985). Kromofor terdiri dari sekelompok senyawa organik seperti keton, amina, dan turunan nitrogen (Rouessac dan Rouessac, 2007).

Komponen spektrofotometri UV-Vis antara lain:

1) Sumber cahaya

Sumber cahaya adalah salah satu komponen terpenting dari spektrometer UV-Vis (Heinz dan Perkampus, 1992). Sumber cahaya yang paling umum digunakan adalah lampu deuterium pada daerah dari 180 sampai 350 nm dan filamen tungsten dan lampu halogen pada daerah dari 330 sampai 900 nm. Sumber cahaya untuk daerah 175 sampai 1000 nm adalah busur xenon.

2) Monokromator

Fungsi utama monokromator adalah mendispersi berkas cahaya yang diperoleh dari sumber cahaya ke dalam komponennya. Monokromator terdiri dari celah masuk, perangkat dispersi, dan celah keluar (Owen, 1996). Radiasi yang dipancarkan dari sumber utama (radiasi polikromatik) memasuki monokromator melalui celah masuk (Bakhshi, 2006). Monokromator lalu memisahkan panjang gelombang cahaya dan memfokuskan masing-masing ke fotodetektor secara berurutan. Ada dua jenis monokromator yaitu monokromator prisma dan monokromator grating (Owen, 1996).

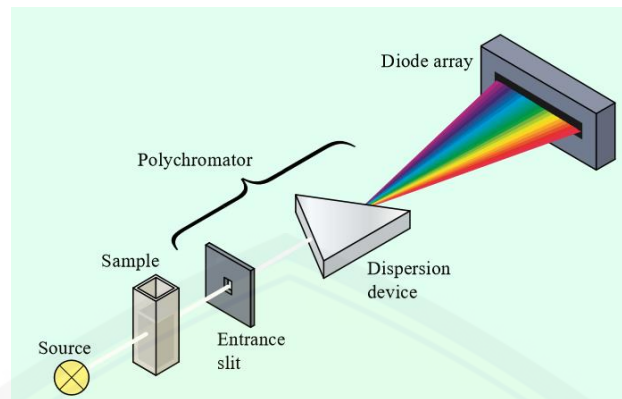
3) Kompartmen sampel

Sampel dan larutan ditempatkan dalam suatu sel transparan yang dikenal sebagai kuvet. Kuvet berbentuk segi empat, dan biasanya memiliki lebar internal 1 cm. Bahan dari kompartmen sel harus transparan terhadap radiasi pada wilayah yang diamati. Sel biasanya terbuat dari kaca, silika atau kuarsa. Sel kuarsa transparan bekerja pada rentang (200-700 nm) dan dapat digunakan pada daerah UV dan daerah tampak (Bakhshi, 2006).

4) Detektor

Detektor mengubah intensitas cahaya menjadi sinyal listrik (Owen, 1996). Ada 2 jenis detektor yang biasa digunakan, yaitu tabung *photomultiplier* atau semikonduktor (*dioda silicon*). Sensitivitas kedua detektor itu tergantung pada panjang gelombang (Rouessac dan Rouessac, 2007). Instrumentasi spektrofotometer UV Vis dapat dilihat pada gambar 2.5.





Gambar 2.5 Instrumentasi UV-Vis (Owen, 1996)

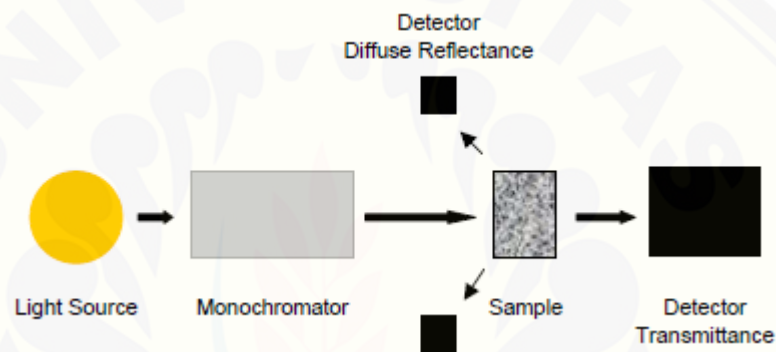
## 2.9 Spektroskopi NIR (*Near Infra Red*)

Spektroskopi *infra red* didasarkan pada penyerapan (atau refleksi) radiasi elektromagnetik yang berada antara 1 dan 1000  $\mu\text{m}$ . Teknik ini adalah teknik spektroskopi yang paling umum digunakan untuk identifikasi senyawa dan pengukuran konsentrasi pada banyak sampel. Spektroskopi *infra red* dibagi menjadi 3 yaitu *Near Infra Red* (NIR) yang berada antara 1-2,5  $\mu\text{m}$ , *Mid Infra Red* dengan rentang 2,5-50  $\mu\text{m}$  dan *Far Infra Red* yang melebihi 25  $\mu\text{m}$  (Rouessac dan Rouessac, 2007).

Spektroskopi NIR berkaitan dengan penyerapan, emisi, dan pantulan cahaya (Ozaki, 2012). Prinsip kerja spektroskopi NIR berdasarkan pengenalan pola spektra (Roggo et al., 2007). Spektra dihasilkan dari molekul-molekul yang bergetar dan berotasi (Oetjen dan Robert A, 1952). Kombinasi getaran berasal dari CH, O-H dan N-H yang timbul dengan interaksi dua atau lebih getaran yang terjadi secara bersamaan (Aenugu et al., 2011).

Metode analisis yang dihasilkan NIR memiliki beberapa keuntungan yaitu cepat (satu menit atau kurang per sampel), tidak merusak, tidak invasif, dengan penetrasi sinar pemeriksa yang tinggi, aplikasi hampir universal dan preparasi sampel mudah (Pasquini, 2003). Spektroskopi NIR menghasilkan spektra dalam jumlah yang besar sehingga banyak mengandung *noise*. Hal ini menyebabkan terjadinya kesulitan dalam membedakan spektra (Budiastra, 2016).

Instrumentasi NIR terdiri dari sumber cahaya, monokromator, kompartmen sampel dan detektor. Jenis sumber cahaya yang digunakan adalah lampu filamen atau *hollow rod*, diameter 1-3 mm dan panjangnya 2 sampai 4 cm, dibuat dari campuran oksida zirkonium (misalnya globar). Monokromator akan mendispersikan radiasi sesuai dengan panjang gelombang. Ada beberapa jenis kompartmen sampel, seperti kuarsa dengan panjang jalur optik yang ditentukan untuk cairan dan sel sampel yang dirancang khusus untuk semi padat dan bubuk. Detektor yang paling sering digunakan untuk NIR adalah silikon, PbS dan InGaAs. Instrumentasi NIR dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.6 Instrumentasi NIR (Supardi *et al.*, 2012)

## 2.10 Analisis Kemometrik

Kemometrik adalah penggunaan teknik matematika dan statistik untuk mengekstraksi informasi yang relevan dari data spektra NIR. Kemometrik penting untuk menganalisis spektrum NIR yang pita penyerapannya tumpang tindih (Ozaki, 2012). Fungsi kemometrik adalah mencari korelasi statistik yang baik antara data spektra dengan data parameter kimia untuk proses pengembangan model (Agustina *et al.*, 2015). Metode kemometrik akan membantu memperoleh model kalibrasi yang akurat dan presisi (Budiastra, 2016). Metode ini sering diterapkan dalam situasi ketika tidak ada teori yang tersedia untuk menggambarkan atau memecahkan masalah. Jenis masalahnya adalah penggunaan banyak variabel untuk menggambarkan suatu sistem.

Bagian yang paling menonjol dari kemometrik adalah interpretasi data dengan analisis multivariat (Varmuza, 2001). Analisis statistik multivariat sangat

berguna untuk pengolahan spektra IR. Keuntungan dari analisis statistik multivariat adalah kemampuannya untuk mengekstraksi informasi spektral yang diperlukan dari spektrum infra merah (Ritz *et al.*, 2011). Salah satu program khusus untuk berbagai jenis analisis multivariat yaitu *The Unscrambler* (Miller dan Miller, 2004). Kalibrasi multivariat adalah teknik multivariat yang paling sering dan rutin digunakan di laboratorium kimia. Tujuannya adalah mengembangkan model matematis yang menggambarkan hubungan antara satu set variabel x dan satu atau beberapa variabel y (Varmuza, 2001).

Ada 2 jenis teknik multivariat yaitu kuantitatif dan kualitatif. Analisis kuantitatif dibedakan menjadi *Partial Least Square* (PLS), *Principal Component Regression* (PCR), *Multiple Linier Regression* (MLR), dan *Artificial Neural Networks*. Sementara itu, untuk analisis kualitatif dibagi menjadi *Principal Component Analysis* (PCA), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Soft Independent Modelling of Class Analogy* (SIMCA) dan *Support Vector Regression* (SVR) (Roggo *et al.*, 2007).

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

Metodologi analisis multivariat yang paling sering digunakan adalah *Partial Least Square* (PLS) (Amigo *et al.*, 2008). PLS merupakan metodologi yang menganalisis informasi besar yang tersembunyi dalam data spektra (Agustina *et al.*, 2015). Analisis PLS digunakan untuk membangun model kalibrasi dan validasi (Miller dan Miller, 2004). PLS memperkirakan serangkaian peubah tidak bebas (respon) dari peubah bebas (prediktor) yang jumlahnya sangat banyak. Metode PLS membentuk model dari peubah-peubah yang ada untuk membentuk serangkaian respon dengan menggunakan regresi kuadrat terkecil dalam bentuk matriks (Agustina *et al.*, 2015).

#### **2.10.2 Principal Component Regression (PCR)**

Prinsip dasar dari PCR adalah mengurangi jumlah variabel prediktor dengan menggunakan beberapa komponen utama pertama daripada variabel aslinya. Metode ini bekerja dengan baik apabila ada tingkat korelasi yang cukup besar antara variabel prediktor (Miller dan Miller, 2004). Persamaan prediksi

dituliskan dengan contoh  $Y \text{ sampling} = T \text{ sampling} \cdot b$  dengan  $T$  adalah koordinat dimensi baru,  $Y \text{ sampling}$  adalah nilai referensi (Roggo *et al.*, 2007)

### 2.10.3 Support Vector Machines (SVM)

SVM merupakan pendekatan non linier yang berbasis *machine learning*. Salah satu modifikasi SVM yang digunakan untuk pendekatan regresi adalah *Support Vector Regression* (SVR). SVR menemukan hubungan linier antara regresi dan variabel dependen. Metode SVR dapat diterapkan pada fenomena non-linier. Keunggulan SVR salah satunya yaitu mampu mengatasi *overfitting* (Miller dan Miller, 2004).

## 2.11 Validasi Silang (*Cross-validation*)

*Cross-validation* adalah salah satu metode yang bertujuan untuk mengevaluasi kinerja prediksi model yang dikembangkan oleh prosedur pemodelan. Pada dasarnya, berdasarkan pemisahan data, sebagian data digunakan untuk menyesuaikan masing-masing model yang bersaing dan data lainnya digunakan untuk mengukur kinerja prediksi model dengan kesalahan validasi dan model dengan keseluruhan kinerja terbaik dipilih. Validasi silang diwujudkan dengan memecah data secara acak menjadi dua bagian. Ada beberapa jenis validasi silang yaitu *2-fold cross validation* dan *Leave-one-out* (Schneider, 1997).

### 2.11.1 2-fold Cross Validation

Metode ini akan membagi data sampel menjadi dua bagian yang sama yaitu *training set* yang digunakan untuk membuat model, dan *test set* yang berfungsi untuk memvalidasi model yang terbentuk (Schneider, 1997).

### 2.11.2 Leave-one-out

Seperti namanya, *Leave-one-out* bekerja dengan cara satu set data diambil dan digunakan untuk validasi. Validasi silang ini dilakukan secara berulang pada sampel dan sekaligus digunakan sebagai data validasi (Schneider, 1997)..

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian *true experimental laboratories*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolat total sampel serbuk daun menggunakan metode analisis NIR kemometrik.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Maret - Juli 2018

### 3.3 Rancangan Penelitian

Langkah awal penelitian yaitu menyiapkan sampel serbuk daun dengan cara membuat serbuk dari simplisia daun yang memiliki kandungan fenolat total bervariasi. Kadar fenolat ditentukan dengan metode TPC (*Total Phenol Content*) menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat dan dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis.

Analisis fenolat dilakukan dengan cara melihat pola spektra yang dihasilkan melalui spektroskopi NIR dan dengan analisis kemometrik PLS, PCR dan SVR. Model yang terbentuk akan dievaluasi dengan metode validasi silang yang meliputi *Leave-one-out-cross Validation* dan *2-fold-cross Validation*. Selanjutnya, model yang terpilih akan digunakan untuk menetapkan kadar fenolat pada sampel nyata, dan kadar yang diperoleh lalu dibandingkan dengan data kadar hasil analisis dengan spektrofotometri UV-Vis.

### 3.4 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel serbuk daun, reagen Folin Ciocalteu (Merck), akuades, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> teknis (Brataco), asam galat (Sigma Aldrich), dan metanol 98% teknis.

#### 3.4.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), Spektrofotometer NIR Brimrose Luminar 3070, perangkat lunak Brimrose, perangkat lunak Unscrambler X 10.2 (Camo), perangkat lunak Prospect dan seperangkat alat gelas.

Tabel 3.1 Simplisia yang digunakan

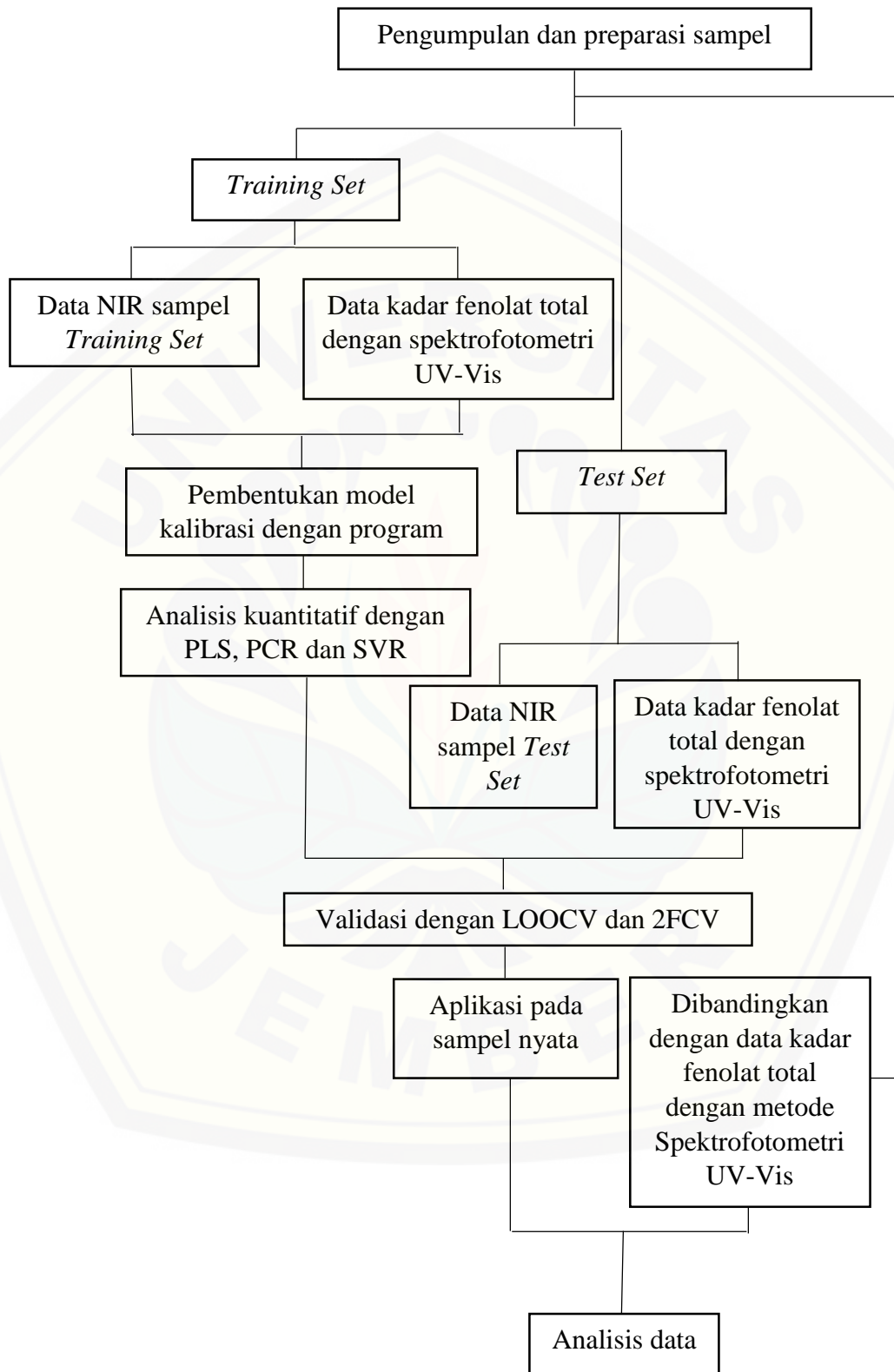
No	Spesies tanaman	Nama Ilmiah	Kode
1.	Alpukat	<i>Persea americana</i>	A
2.	Jambu Biji	<i>Psidium guajava</i>	B
3.	Kemangi	<i>Ocimum basilicum</i>	C
4.	Mangga	<i>Mangifera indica</i>	D
5.	Meniran 1	<i>Phyllanthus niruri</i>	E1
6.	Meniran 2	<i>Phyllanthus niruri</i>	E2
7.	Meniran 3	<i>Phyllanthus niruri</i>	E3
8.	Pandan	<i>Pandanus sp.</i>	G
9.	Salam	<i>Syzygium polyanthum</i>	H
10.	Kemaitan	<i>Lunasia amara</i>	I
11.	Kasapan	<i>Clidemia hirta</i>	J
12.	Kenitu	<i>Chrysophyllum cainito</i>	K
13.	Pepaya	<i>Carica papaya</i>	L
14.	Sirih	<i>Piper betle</i>	M
15.	Sirkaya	<i>Annona squamosa</i>	N
16.	Sirsak 1	<i>Annona muricata</i>	P1
17.	Sirsak 2	<i>Annona muricata</i>	P2

---

18.	Sirsak 3	<i>Annona muricata</i>	P3
19.	Sirsak 4	<i>Annona muricata</i>	P4
20.	Sirsak 5	<i>Annona muricata</i>	P5
21.	Sirsak 6	<i>Annona muricata</i>	P6
22.	Sirsak 7	<i>Annona muricata</i>	P7
23.	Sirsak 8	<i>Annona muricata</i>	P8
24.	Sirsak 9	<i>Annona muricata</i>	Q1
25.	Sirsak 10	<i>Annona muricata</i>	Q2
26.	Sirsak 11	<i>Annona muricata</i>	Q3
27.	Sirsak 12	<i>Annona muricata</i>	Q4
28.	Sirsak 13	<i>Annona muricata</i>	Q5
29.	Alpukat 2	<i>Persea americana</i>	A2
30.	Salam	<i>Syzygium polyanthum</i>	R

---

### 3.5 Alur Penelitian





### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel Daun

Pemilihan simplisia daun yang mengandung senyawa fenolat bervariasi berdasarkan studi pustaka. Simplisia daun dikumpulkan dari Materia Medika, toko simplisia dan *sampling* langsung. Kemudian, diserbuk dengan cara diblender dan sampel diklasifikasikan ke dalam kelompok *test set* dan *training set*.

#### 3.6.2 Penentuan Data Spektra NIR

Langkah pertama yaitu menghidupkan NIR “Luminar 3070” dan menunggu selama 30 menit (*warming up*). Perangkat lunak *Brimrose* lalu dibuka. Sampel serbuk diletakkan di atas tempat sampel dengan merata. Dilakukan *scanning* sampel setiap 3 kali dan dilakukan penembakan 3 kali pada masing-masing *scanning*. Setelah selesai perangkat *Brimrose* ditutup, diamati spektra hasil *scanning* dengan perangkat lunak Prospect. Data yang diperoleh diolah dengan perangkat lunak The Unscrambler X 10.2.

#### 3.6.3 Penentuan Kadar Fenolat Total Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

##### a. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 25 mg dan 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dalam metanol sampai batas volume. Dari situ diperoleh konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 µg/ml dan 2000 µg/ml. Kemudian, diencerkan larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan aquades, sehingga konsentrasi larutan induk menjadi 10 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, dan 120 µg/ml.

##### b. Pembuatan Larutan Uji

Serbuk daun ditimbang sebanyak 20 mg. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan metanol sampai batas volume, sehingga didapat konsentrasi larutan uji 2000 µg/ml.

#### c. Penetapan Kadar Fenolat Total

Langkah pertama yaitu memipet sampel sebanyak 50-200  $\mu\text{l}$  larutan uji dan 150  $\mu\text{l}$  larutan standar, kemudian masing-masing ditambahkan 750  $\mu\text{l}$  reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air). Selanjutnya, ditambah 600  $\mu\text{l}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 g/L air) dan didiamkan selama 90 menit (Hidayanti, 2017). Disiapkan blangko berupa reagen tanpa larutan uji dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yaitu 758 nm.

#### 3.6.4 Pembentukan Model Kalibrasi

Model kalibrasi dibentuk dengan metode PLS, PCR dan SVR. Data absorbansi dari sampel yang mengandung fenolat dari spektrum NIR dianalisis dengan metode PLS, PCR dan SVR untuk membentuk model kalibrasi. Nilai absorbansi ditandai sebagai prediktor (variabel x) dan konsentrasi ditandai sebagai respon (variabel y). Langkah pertama yang harus dilakukan adalah membuka software The Unscrambler X 10.2. Kemudian data dimasukkan dengan memilih file, 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. Model dibuat dengan memilih *task, analyze*, kemudian *Partial Least Square (PLS)*, *Principal Component Regression (PCR)* dan *Support Vector Machine Regression (SVMR)*. Kriteria yang harus terpenuhi untuk PLS yaitu nilai  $R^2$ , RMSEC (*Root Mean Standart Error of Callibration*), RMSECV (*Root Mean Square Error Cross Validation*). Pemilihan set data spektrum didasarkan pada kemampuan prediksi yang terbaik dengan nilai korelasi  $R^2$  yang semakin besar, nilai galat RMSEC dan RMSECV yang terbaik bila nilainya semakin kecil.

#### 3.6.5 Aplikasi pada Sampel Nyata

Model kalibrasi yang telah dinyatakan valid kemudian diterapkan pada sampel nyata. Dilakukan preparasi sampel dengan menimbang 20 mg serbuk daun. Kemudian dilakukan pemindaian sampel dengan NIR sehingga diperoleh data spektrum absorbansi. Sebagai pembanding data, digunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

### 3.6.6 Analisis Data

Hasil analisis kadar fenolat total dari NIR-kemometrik dibandingkan dengan hasil analisis kadar fenolat dari spektrofotometri UV-Vis, lalu diuji dengan Uji T dua sampel berpasangan.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kadar fenolat total pada sampel serbuk daun obat dapat ditentukan dengan menggunakan metode analisis NIR (*Near Infra Red*) dan kemometrik menggunakan kalibrasi model PLS (*Partial Least Square*) dengan  $R^2$  sebesar 0,9838491, RMSE kalibrasi sebesar 2,6484198 dan hasil validasi LOOCV  $R^2 > 0,91$  serta *2-Fold Cross Validation* menghasilkan  $R^2$  sebesar 0,9959183.
2. Analisis kadar fenolat sampel nyata dengan metode NIR dibandingkan metode spektrofotometri UV-Vis diuji dengan uji non parametrik Wilcoxon menghasilkan signifikansi yaitu  $0,144 > 0,05$ . Jadi, kedua metode tersebut tidak berbeda signifikan.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, maka penulis memberikan saran yaitu perlu dibentuk model kalibrasi yang menghasilkan  $R^2$  yang mendekati 1 dan RMSE yang lebih kecil, sehingga model yang terbentuk semakin baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeeyinwo, C. E., N.N. Okorie dan G.G. Idowu. 2013. Basic calibration of UV/visible spectrophotometer. *International Journal of Science and Technology*. 2(3): 247–251.
- Aenugu, H. P. R., K.D Sathis, Srisudharson, Phartiban, G.S. Shubra, dan D. Banji. 2011. Near infra red spectroscopy- An overview. *International Journal of ChemTech Research*. 3(2): 825–836.
- Agustina, S., B. I. Wayan, dan P. Y. Aris. 2015. Prediksi kandungan kimia mangga arumanis selama penyimpanan dengan spektroskopi NIR arumanis mango chemical contents prediction during storage using. *Jurnal Keteknik Pertanian*. 3(1): 57–63.
- Ahmad, F. A. 2012. Analisis Penggunaan Jamu Untuk Pengobatan Pada Pasien Di Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus Tawangmangu Tahun 2012. *Tesis*. Depok. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
- Alfian, R. dan S, Hari. 2012. Penetapan kadar fenolat total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa Linn*) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1).
- Amigo, J. M., C. Jordi, B. Manel, M. Santiago, C. Jordi, dan B, Marcelo. 2008. Study of pharmaceutical samples by NIR chemical-image and multivariate analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 27(8): 696–713.
- Artini, P., K. W. Astuti, dan K. N. Wardiati. 2013. Uji fitokimia ekstrak etil asetat rimpang bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4):234-241.
- Barclay, G. 2003. *Plant Anatomy Encyclopedia of Life Sciences*. Trinidad dan Tobago: Macmillan Publishers Ltd.
- Basak, D., S. Pal, dan Patranabis, D. C. 2007. Support vector regression. *Neuronal Information Processing*. 11(10): 203–224.

- Behera, S., G. Subhajib, A. Fahad, S. Saayak, dan B. Sritoma. 2012. UV-Visible spectrophotometric method development and validation of assay of department of quality paracetamol tablet formulation. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 7(3): 1656-1661.
- Berrueta, L. A., A. M. Rossa dan H. Károly. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography*: 196–214.
- Bhattacharya, A., S. Priyanka, dan C. Vitaly. 2010. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Molecular Plant Pathology*. 11(5): 705–719.
- Budiastra, I. W. 2016. Pendugaan kandungan kimia mangga gedong gincu menggunakan spektroskopi inframerah dekat prediction of chemical contents in “ gedong gincu ” Mango using near infrared spectroscopy. *Jurnal Agritech*. 36(3): 294–301.
- Caert. 2012. *Understanding Leaf Anatomy and Morphology*. [http://facweb.furman.edu/~lthompson/bgy34/plantanatomy/plant\\_leaf.htm](http://facweb.furman.edu/~lthompson/bgy34/plantanatomy/plant_leaf.htm). [Diakses pada 3 Maret 2017).
- Cheng, H., J. G. Dorian, dan L. F. Rohan. 2017. Efficient strategies for leave-one-out cross validation for genomic best linear unbiased prediction. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8(38): 1-5.
- Choubey, S., V. Lesley, R. Kumar, V. Beniwal, dan Vikas. 2015. Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharmaceutical patent analyst*. 4(4): 305–15.
- Copriady, J., Y. Elva, dan Hidayati. 2005. Isolasi dan karakterisasi senyawa kumarin dari kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* ). *Jurnal Biogenesis*, 2(1): 13–15.
- Dahlan, Sopiudin M. 2011. Statistik untuk Kedokteran Kesehatan Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika.

Dai, J. dan M. J. Russell. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15: 7313–7352.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014. Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Badan Pengawas Obat dan Makanan.

Dewi, I. D. A. D. Y., W. K. Astuti, dan K. N. Warditiani. 2008. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4): 1–6.

Dryden, G. M. 2003. *Near Infrared Reflectance Spectroscopy: Applications in Deer Nutrition*. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia.

Emilda, H. Muslihatul, dan Heriyati. 2017. Analisis pengetahuan masyarakat tentang pemanfaatan tanaman obat keluarga (Studi Kasus kelurahan Situgede, Kecamatan Bogor barat). *Jurnal Sainmatika*. 14(1): 11–21.

Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Terjemahan oleh A. Soediarso dan T. Koesmaningrat. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Fernandes, F. H. A. dan S. R. N. Herida. 2016. Gallic acid: Review of the methods of determination and quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 46(3): 257–265.

Georgieva, M., N. Ivana, M. Kiril, dan Y. Nikolina. 2013. Application of NIR spectroscopy and chemometrics in quality control of wild berry fruit extracts during storage. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*. 8: 67–73.

Giada, M. D. L. R. 2013. *Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power*. Rio de Janeiro: Intech Publisher.

Handayani. 2015. Pemanfaatan tumbuhan berkhasiat obat oleh masyarakat sekitar cagar alam Gunung Simpang, Jawa Barat. *Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(6): 1425-1432.

- Hidayanti, E. D. 2017. Penentuan Kadar Fenol Total Bubuk Kopi Produksi Nasional Menggunakan Metode NIR-Kemometrik. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jadhav, A. P., K. Joseph, Nikam, P. H. Kadam, dan Vilasrao. 2012. Spectrophotometric estimation of ferulic acid from *Ferula asafoetida* by Folin - Ciocalteu's reagent. *Der Pharmacia Sinica*. 3(6): 680–684.
- Karamae, M., Kosińska, dan Pegg. 2006. Content of gallic acid in selected plant extracts. *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 15(1): 55–58.
- Karlinasari, L., S. Merry, W. Nyoman J., P. Y. Aris, dan W. Hari. 2012. Karakteristik spektra absorbansi NIR (near infra red) spektroskopi kayu *Acacia mangium willd.* pada 3 umur berbeda. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 6(1): 45–52.
- Katno. 2002. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional. *Trends in Cognitive Sciences*. 6(12): 538–539.
- Khadijah, J. M. Ahmad, U. Sudir, dan S. In. 2017. Penentuan total fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun samama (*Anthocephalus macrophyllus*) asal Ternate, Maluku Utara. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 15: 11–18.
- Kruma, Z., A. Mirjana, V. Roland, dan K. Viesturs. 2008. Phenolic compound in basil, oregano and thyme. *Foodbalt 2008* : 99-103.
- Kumar, S., dan K. P. Abhay. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 13: 1-16.
- Kurnia, Ashfar. 2011. Penyelenggaraan pengobatan komplementer-alternatif di fasilitas pelayanan kesehatan. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Farmasi Depok.



- Latifa, R. 2015. Karakter morfologi daun beberapa jenis pohon penghijauan hutan kota di kota Malang. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015* . 2: 667–676.
- Lengkey, L. C. E. C., B. I. Wayan, S. B. Kudang, dan P. S. Bambang. 2013. Determination of chemical properties in *Jatropha Curcas L* . Seed IP-3P by partial least-squares regression and Near-infrared reflectance spectroscopy. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2(1): 41–48.
- Leslie, dan M. Johan. 2000. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. *Science*. 289(5477): 295–297.
- Libretexts. 2014. Physical Properties of Phenol. [https://chem.libretexts.org/Core/Organic\\_Chemistry/Phenols/Properties\\_of\\_Phenols/Physical\\_Properties\\_of\\_Phenol](https://chem.libretexts.org/Core/Organic_Chemistry/Phenols/Properties_of_Phenols/Physical_Properties_of_Phenol). [Diakses pada 3 Maret 2018].
- Lykken, L., Treseder, dan Z. Victor. 1946. Colorimetric determination of phenols “Application to petroleum and allied products. *Industrial and Engineering Chemistry*. 18(2): 103–109.
- Marinova, D., F. Ribarova, dan M. Atanassova. 2005. Total phenolic and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40 (3): 255-260.
- Miller, J. N. dan M. C. Jane. 2004. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Technometrics*. England: Ashford Colour Press Ltd.
- Munawar, A. A., dan B. I. Wayan. 2009. Non destructive inner quality prediction in intact mango with near infrared reflectance spectroscopy. *Jurnal Keteknik Pertanian*. 23(1): 59–64.
- Nayeem, N., S. Asdaq, S. Heba, dan Said. 2016. Gallic acid: A promising lead molecule for drug development. *Journal of Applied Pharmacy*. 8(2): 8–11.

- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Phyllar Of Physics*. 2: 76–83.
- Oetjen, R. A. 1952. Analysis using infrared spectroscopic methods. *Ohio Journal of Science*. 52(3): 124–133.
- Owen, T. 2017. *Introduction to Spectroscopy and Application*. Germany: Hewlett-Packard Company.
- Ozaki, Y. 2012. Near-infrared spectroscopy, its versatility in analytical chemistry. *Analytical sciences : the International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*. 28(6): 545–63.
- Ozcan, A., Akpınar-Bayızit, Yılmaz-Ersan, dan B. Delikanlı. 2014. Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5): 393-394.
- Pasquini, C. 2003. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 14(2): 198–219.
- Perkampus. 1992. *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*. Berlin: Springer
- Rahayu, W. S., H. Dwi, dan H. Nasrun. 2009. Pengaruh metode pengeringan terhadap kadar antosian pada kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Pharmacy*. 6(22): 1–6.
- Ratnasari, F.A. 2015. Penentuan Kadar Fenol Total Pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Spektroskopi NIR dan Kemometrik. *Skripsi*. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Ritz, M., V. Lenka, dan P. Eva. 2011. Application of infrared spectroscopy and chemometric methods to identification of selected minerals. *Acta Geodynamica et Geomaterialia* . 8(1): 47–58.

- Rivai, H., N. E. Putri, dan F. Humaira. 2017. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun sirih hijau (*Piper betle L.*). *Jurnal Farmasi Higea*. 6(2): 133–144.
- Rivai, H., W. A. Hesti, dan F. Humaira. 2013. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering simplisia jati belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk.*). 5(1): 1-5
- Roggo, Y., C. Pascal, M. Lene, L.M. Carmen, E. Aurelie dan J. Nadine. 2007. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 44(3): 683–700.
- Rouessac, F. dan R. Annick. 2007. *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*. 2<sup>nd</sup> ed. England: John Wiley and Sons Ltd.
- Sari, L. O. R. K. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(1): 1–7.
- Schneider, Jeff. 1997. Cross Validation. [www.cs.cmu.edu/~schneide/tut5/node42.html](http://www.cs.cmu.edu/~schneide/tut5/node42.html). [Diakses pada 2 Februari 2018].
- Seo, S. W., K. H. Na, A. H. Jin, K. K. Beom, L. B. Cheal, S. Eun, R. D. Gon, M. Goo, K. H. Yeoul, K. H. Min, dan H. S. Heon. 2005. Taraxacum officinale protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. *World Journal of Gastroenterology*. 11(4): 597–599.
- Singleton, V. L., O. Rudolf, dan L. Rosa. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299(1974): 152–178.
- Stchur, P., C. Danielle, Z. Jack dan G. M. Robert. A review of recent applications of near infrared spectroscopy, and of the characteristics of a novel Pbs CCD array-based near-infrared spectrometer. *Applied Spectroscopy Reviews*. 37(4): 383-428.
- Supardi, S., Handayani, R. Sasanti, Herman, R. Susyanty, dan A. Leny. 2012. Kajian peraturan perundang-undangan tentang pemberian informasi obat

dan obat tradisional di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2(1): 20–27.

Tahir, M., Muflihunna, dan Syafrianti. 2013. penentuan kadar fnolik total ekstrak etanol daun nilam (*Pogostemon cablin Benth.*)spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(1): 215–218.

Tangkeallo, C. dan W. T. Dewi. 2014. Aktivitas antioksidan serbuk minuman instan berbasis miana kajian jenis bahan baku dan penambahan serbuk jahe. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(4): 278–284.

Tjitrosoepomo, G. 2009. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Triyati, E.1985. Spektrofotometer ultra-violet dan sinar tampak serta aplikasinya dalam oseanologi. *Jurnal Oseana*. 1(1): 39–47.

Tursiman, A. Puji, dan N. Risa. 2012. Total fenolat fraksi etil asetat dari buah asam Kandis (*Garcinia dioica blume*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1): 45–48.

Varmuza, K. 2001. Applied chemometrics : from chemical data to relevant information. *CHEM 1 1st conference on chemistry applied chemometrics*: 1–17.

Vazquez, C. V., R. M. G. Villa, R. A. Carolina, C. L. Jorge, G. Teresa, F. M. A, Roberto, G. P. Olga, R. L. Jorge, L. M. Carmen, C. I. Ana, M. M. A Hector, dan D. L. T. C. Karina. 2014. Total phenolic compounds in milk from different species.Design of an extraction technique for quantification using the Folin-Ciocalteu method. *Food Chemistry*. 176: 480–486.

Verawati, A. Afdhil, dan A. Rucita. 2016. Kandungan fenolat total ekstrak daun piladang (*Solenostemon scutellarioides ( L .) Codd )*. *Scientia*. 6(2): 79–83.

Wang, R., dan Z. Weibiao. 2004. Stability of tea catechins in the bread making process. *J. Agric. Food Chem.* 52(26): 8224–8229.

Weber, M., dan W. Markus. 2010. *Phenolic resins: A century of progress*. Berlin: Springer.



## LAMPIRAN

### LAMPIRAN A. Alat dan Bahan yang Digunakan

#### A.1 Sampel Daun



A.2. Simplisia Kering



A.3. Sampel Nyata



Serbuk daun sirsak 1



Serbuk daun sirsak 2



Serbuk daun sawo



Serbuk daun jeruk nipis

A.4. Instrumen yang Digunakan



A.5. Kompartmen Sampel



A.6. Foto Penentuan Kandungan Fenolat Total



Sampel + folin ciocalteu



Sampel+folin ciocalteu+Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sebelum mencapai waktu inkubasi)

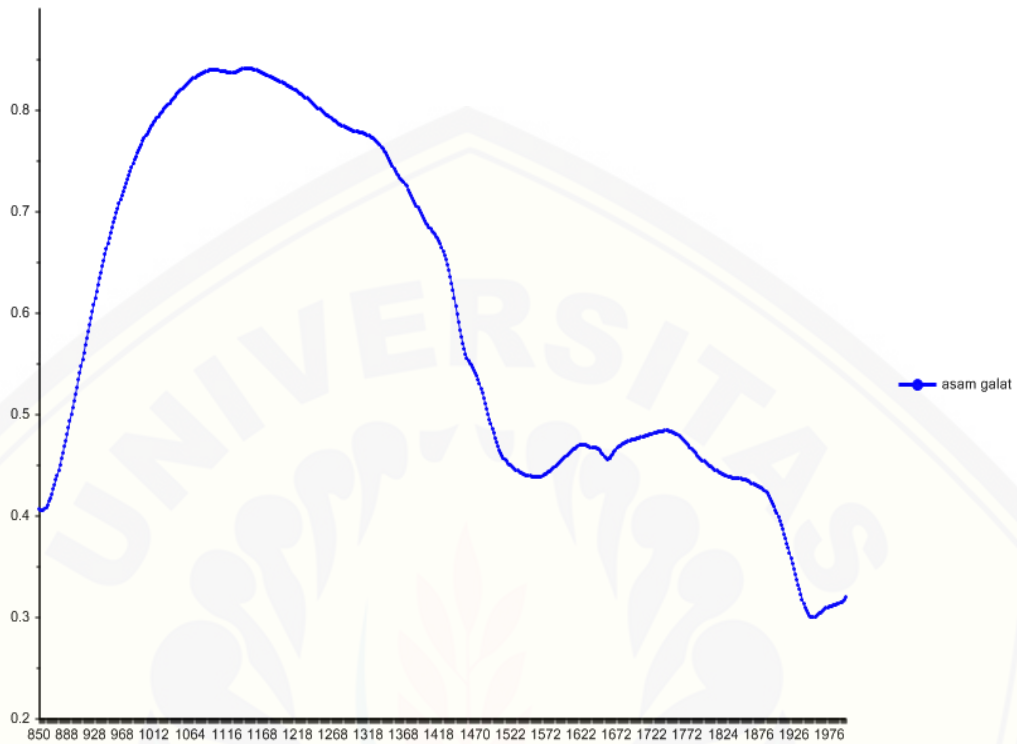


Sampel+folin ciocalteu+Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sudah mencapai waktu inkubasi)

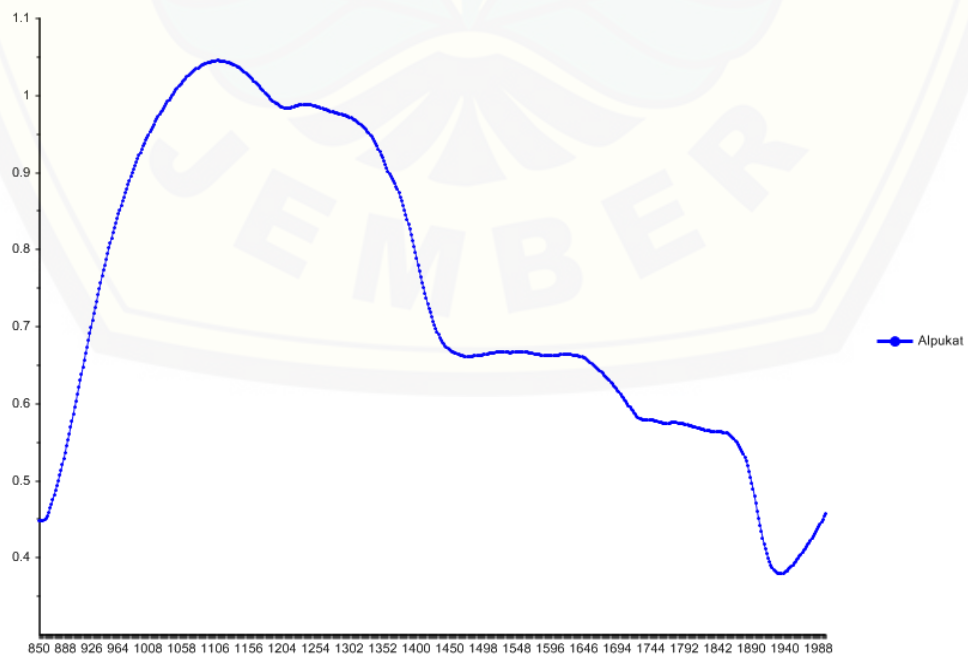


## LAMPIRAN B. Spektrum Hasil Scanning dengan NIR

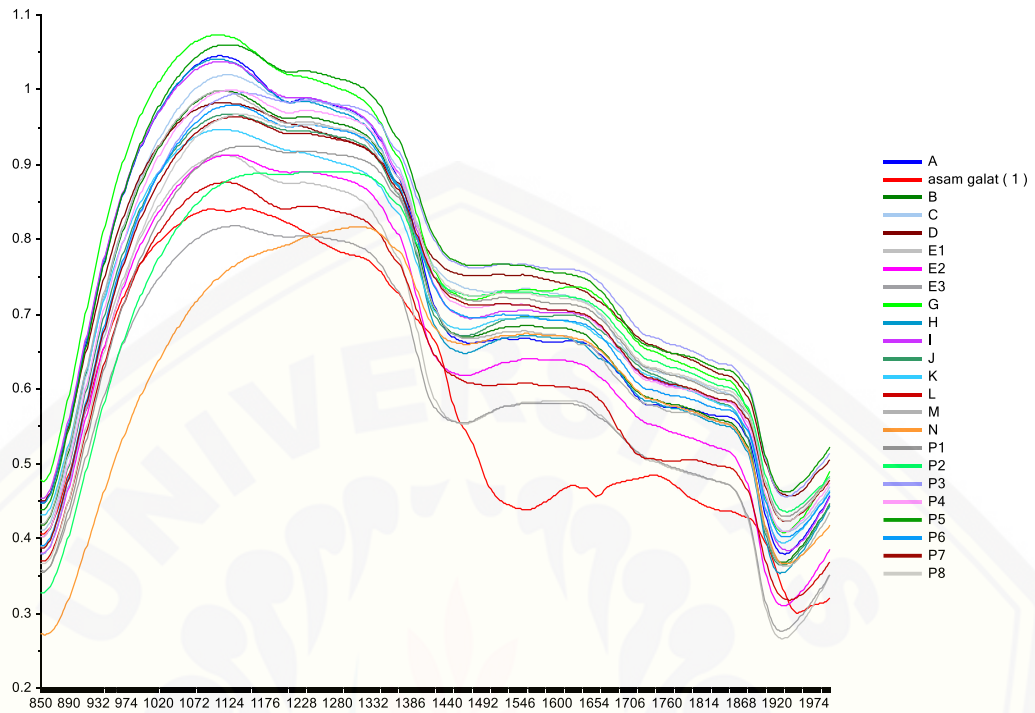
### B.1. Spektrum Standar Asam Galat



### B.2. Contoh Spektrum Sampel



B.3. Spektrum Gabungan Asam Galat dan Sampel



**LAMPIRAN C. Identitas Sampel Serbuk**

C.1. Sampel *Training Set*

No	Kode	Sampel
1	A	Alpukat
2	B	Jambu Biji
3	C	Kemangi
4	D	Mangga
5	E1	Meniran 1
6	E2	Meniran 2
7	E3	Meniran 3
8	G	Pandan
9	H	Salam
10	I	Kemaitan
11	J	Kasapan
12	K	Kenitu
13	L	Pepaya
14	M	Sirih
15	N	Sirkaya
16	P1	Sirsak 1

---

17	P2	Sirsak 2
18	P3	Sirsak 3
19	P4	Sirsak 4
20	P5	Sirsak 5
21	P6	Sirsak 6
22	P7	Sirsak 7
23	P8	Sirsak 8

---

### C.2. Sampel *Test Set*

---

No	Kode	Sampel
1	Q1	Sirsak 9
2	Q2	Sirsak 10
3	Q3	Sirsak 11
4	Q4	Sirsak 12
5	Q5	Sirsak 13
6	A2	Alpukat 2
7	R	Salam

---

### C.3. Sampel Nyata

---

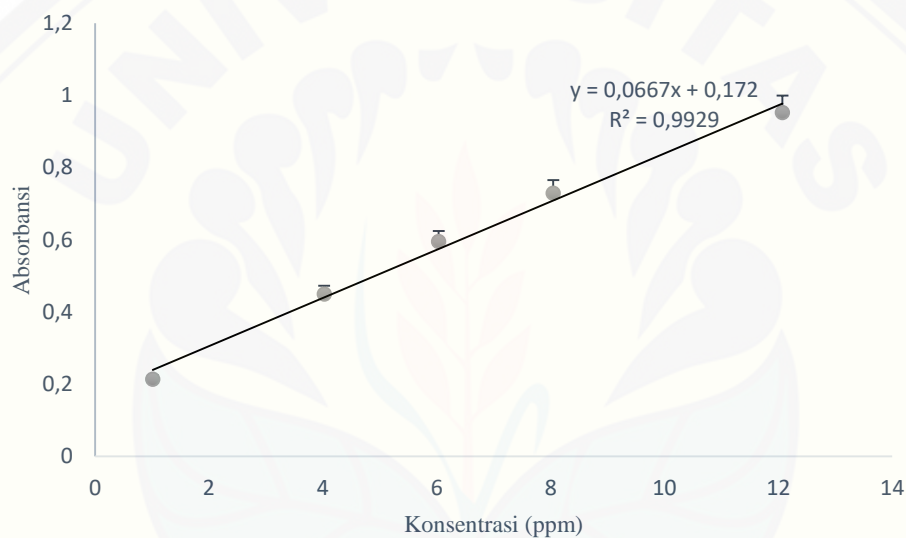
No	Sampel	Kode
1	Serbuk daun sirsak 1	Sampel nyata 1
2	Serbuk daun sirsak 2	Sampel nyata 2
3	Serbuk daun sawo	Sampel nyata 3
4	Serbuk daun jeruk nipis	Sampel nyata 4

---

## LAMPIRAN D. Data Penetapan Kadar Fenolat Total dengan Spektrofotometri UV-Vis

### D.1. Standar Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1,016 ppm	0,214
4,024 ppm	0,450
6,036 ppm	0,595
8,048 ppm	0,729
12,072 ppm	0,952



## LAMPIRAN E. Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Fenolat Total

### E.1 Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

#### ➤ Larutan Induk

- 25 mg

$$\frac{25,4 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1016 \text{ ppm}$$

#### ✓ Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1016 \text{ ppm} = 101,6 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,6 \text{ ppm} = 10,16 \text{ ppm}$$

- 50 mg

$$\frac{50,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 2012 \text{ ppm}$$

- ✓ Pengenceran

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2012 \text{ ppm} = 402,4 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 402,4 \text{ ppm} = 40,24 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 402,4 \text{ ppm} = 80,48 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2012 \text{ ppm} = 603,6 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 603,6 \text{ ppm} = 60,36 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 603,6 \text{ ppm} = 120,72 \text{ ppm}$$

## E.2. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel

Sampel <i>Training Set</i>	Replikasi	Pembuatan larutan
A	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
B	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
C	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
D	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
E1	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	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
E2	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
E3	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	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
G	1	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
H	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	$\frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2070 \text{ ppm}$
I	1	$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2070 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2070 \text{ ppm}$
J	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
K	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
L	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
M	1	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
N	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
P1	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
P2	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	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
P3	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
P4	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	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$

---

P5	1	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
P6	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
P7	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	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
P8	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	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$

Sampel <i>Test Set</i>	Replikasi	Pembuatan Larutan
Q1	1	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
Q2	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
Q3	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	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$



Q4	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	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
Q5	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	$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2040 \text{ ppm}$
A2	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
R	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	$\frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2070 \text{ ppm}$

Sampel Nyata	Replikasi	Pembuatan Larutan
Sampel Nyata 1	1	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
Sampel Nyata 2	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	$\frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2060 \text{ ppm}$
Sampel Nyata 3	1	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2020 \text{ ppm}$

---

Sampel Nyata 4	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	$\frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2050 \text{ ppm}$

---

#### LAMPIRAN F. Pembuatan Larutan Folin Ciocalteu 1:10

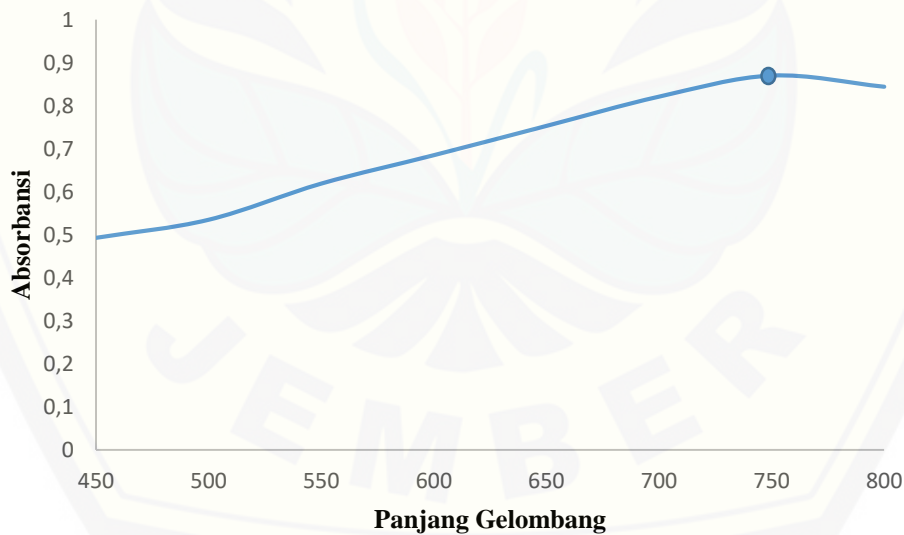
1 ml reagen Folin Ciocalteu dilarutkan ke dalam 10 ml akuades

#### LAMPIRAN G. Pembuatan Larutan $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 7,5%

Sebanyak 7,5 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades.

#### LAMPIRAN H. Hasil Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

##### H.1 Grafik Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum



H.2 Data Optimasi Panjang Gelombang

U-1800 Spectrophotometer

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

Wavelength Scan  
 Data Mode: ABS  
 Scan Range: 800.0-400.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 800nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.844	799.0	0.844	798.0	0.846	797.0	0.847
796.0	0.848	795.0	0.849	794.0	0.850	793.0	0.851
792.0	0.852	791.0	0.853	790.0	0.854	789.0	0.855
788.0	0.857	787.0	0.858	786.0	0.859	785.0	0.859
784.0	0.860	783.0	0.861	782.0	0.862	781.0	0.862
780.0	0.863	779.0	0.864	778.0	0.865	777.0	0.866
776.0	0.866	775.0	0.867	774.0	0.867	773.0	0.867
772.0	0.868	771.0	0.868	770.0	0.869	769.0	0.869
768.0	0.869	767.0	0.870	766.0	0.870	765.0	0.870
764.0	0.871	763.0	0.871	762.0	0.871	761.0	0.871
759.0	0.871	759.0	0.871	758.0	0.871	757.0	0.871
755.0	0.871	755.0	0.871	754.0	0.871	753.0	0.871
752.0	0.870	751.0	0.870	750.0	0.870	749.0	0.870
748.0	0.870	747.0	0.870	746.0	0.870	745.0	0.869
744.0	0.869	743.0	0.869	742.0	0.869	741.0	0.869
740.0	0.868	739.0	0.868	738.0	0.867	737.0	0.866
736.0	0.864	735.0	0.863	734.0	0.862	733.0	0.862
732.0	0.861	731.0	0.860	730.0	0.859	729.0	0.858
728.0	0.857	727.0	0.856	726.0	0.855	725.0	0.853
724.0	0.852	723.0	0.852	722.0	0.850	721.0	0.849
720.0	0.848	719.0	0.846	718.0	0.845	717.0	0.844
718.0	0.843	715.0	0.841	714.0	0.840	713.0	0.839
712.0	0.837	711.0	0.836	710.0	0.835	709.0	0.833
708.0	0.832	707.0	0.831	706.0	0.829	705.0	0.828
704.0	0.827	703.0	0.825	702.0	0.824	701.0	0.823
700.0	0.821	699.0	0.820	698.0	0.818	697.0	0.817
696.0	0.816	695.0	0.814	694.0	0.813	693.0	0.812
692.0	0.810	691.0	0.809	690.0	0.808	689.0	0.806
688.0	0.805	687.0	0.804	686.0	0.802	685.0	0.801
684.0	0.799	683.0	0.798	682.0	0.797	681.0	0.795
680.0	0.794	679.0	0.793	678.0	0.791	677.0	0.790
676.0	0.788	675.0	0.787	674.0	0.786	673.0	0.784
672.0	0.783	671.0	0.782	670.0	0.780	669.0	0.778
668.0	0.777	667.0	0.776	666.0	0.775	665.0	0.773
664.0	0.772	663.0	0.770	662.0	0.768	661.0	0.767
660.0	0.766	659.0	0.765	658.0	0.763	657.0	0.762
656.0	0.761	655.0	0.759	654.0	0.758	653.0	0.757
652.0	0.755	651.0	0.754	650.0	0.753	649.0	0.751
648.0	0.750	647.0	0.749	646.0	0.748	645.0	0.746
644.0	0.745	643.0	0.744	642.0	0.743	641.0	0.742
640.0	0.740	639.0	0.739	638.0	0.738	637.0	0.736
636.0	0.736	635.0	0.734	634.0	0.732	633.0	0.731
632.0	0.729	631.0	0.728	630.0	0.727	629.0	0.725
628.0	0.724	627.0	0.723	626.0	0.721	625.0	0.720
624.0	0.718	623.0	0.717	622.0	0.716	621.0	0.715
620.0	0.713	619.0	0.712	618.0	0.711	617.0	0.710
616.0	0.708	615.0	0.707	614.0	0.706	613.0	0.704
612.0	0.703	611.0	0.701	610.0	0.700	609.0	0.699
608.0	0.697	607.0	0.696	606.0	0.695	605.0	0.693
604.0	0.692	603.0	0.690	602.0	0.689	601.0	0.687
600.0	0.685	599.0	0.680	598.0	0.677	597.0	0.676
596.0	0.674	595.0	0.673	594.0	0.672	593.0	0.671
592.0	0.669	591.0	0.668	590.0	0.666	589.0	0.664
588.0	0.662	587.0	0.661	586.0	0.660	585.0	0.658
584.0	0.656	583.0	0.654	582.0	0.652	581.0	0.650
580.0	0.649	579.0	0.647	578.0	0.645	577.0	0.642
576.0	0.641	575.0	0.639	574.0	0.637	573.0	0.635
572.0	0.635	571.0	0.635	570.0	0.635	569.0	0.635



588.0	0.636	567.0	0.636	566.0	0.635	565.0	0.634
584.0	0.633	563.0	0.632	562.0	0.631	561.0	0.630
580.0	0.629	559.0	0.628	558.0	0.627	557.0	0.626
556.0	0.625	555.0	0.625	554.0	0.624	553.0	0.622
552.0	0.621	551.0	0.620	550.0	0.619	549.0	0.618
548.0	0.616	547.0	0.614	546.0	0.612	545.0	0.610
544.0	0.608	543.0	0.606	542.0	0.604	541.0	0.602
540.0	0.600	539.0	0.598	538.0	0.596	537.0	0.595
536.0	0.593	535.0	0.592	534.0	0.590	533.0	0.588
532.0	0.586	531.0	0.584	530.0	0.583	529.0	0.581
528.0	0.579	527.0	0.577	526.0	0.575	525.0	0.573
524.0	0.571	523.0	0.570	522.0	0.568	521.0	0.566
520.0	0.565	519.0	0.564	518.0	0.562	517.0	0.560
516.0	0.559	515.0	0.557	514.0	0.556	513.0	0.554
512.0	0.552	511.0	0.551	510.0	0.549	509.0	0.548
508.0	0.547	507.0	0.545	506.0	0.544	505.0	0.542
504.0	0.540	503.0	0.538	502.0	0.537	501.0	0.536
500.0	0.535	499.0	0.534	498.0	0.532	497.0	0.531
496.0	0.530	495.0	0.529	494.0	0.527	493.0	0.526
492.0	0.525	491.0	0.524	490.0	0.522	489.0	0.521
488.0	0.520	487.0	0.517	486.0	0.516	485.0	0.516
484.0	0.516	483.0	0.515	482.0	0.513	481.0	0.512
480.0	0.510	479.0	0.508	478.0	0.507	477.0	0.506
476.0	0.505	475.0	0.503	474.0	0.501	473.0	0.500
472.0	0.500	471.0	0.498	470.0	0.498	469.0	0.497
468.0	0.497	467.0	0.496	466.0	0.496	465.0	0.495
464.0	0.495	463.0	0.494	462.0	0.494	461.0	0.494
460.0	0.494	459.0	0.494	458.0	0.494	457.0	0.493
456.0	0.493	455.0	0.493	454.0	0.493	453.0	0.493
452.0	0.493	451.0	0.493	450.0	0.493	449.0	0.494
448.0	0.494	447.0	0.494	446.0	0.494	445.0	0.494
444.0	0.494	443.0	0.494	442.0	0.495	441.0	0.495
440.0	0.496	439.0	0.496	438.0	0.496	437.0	0.497
436.0	0.497	435.0	0.497	434.0	0.498	433.0	0.499
432.0	0.499	431.0	0.500	430.0	0.501	429.0	0.503
428.0	0.504	427.0	0.505	426.0	0.506	425.0	0.507
424.0	0.509	423.0	0.510	422.0	0.512	421.0	0.515
420.0	0.517	418.0	0.520	418.0	0.523	417.0	0.526
416.0	0.530	415.0	0.533	414.0	0.537	413.0	0.542
412.0	0.547	411.0	0.552	410.0	0.558	409.0	0.564
408.0	0.570	407.0	0.577	406.0	0.583	405.0	0.590
404.0	0.598	403.0	0.606	402.0	0.615	401.0	0.625
400.0	0.633						

**LAMPIRAN I. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Pada Sampel****I.1. Contoh Perhitungan**

$$\text{Persamaan: } y = 0,0667x + 0,172$$

**Replikasi 1**

$$y = 0,0667x + 0,172$$

$$0,292 = 0,0667x + 0,172$$

$$x = 1,7991 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam 1,5 ml : } 1,7991 \mu\text{g} \times 1,5 = 2,69865 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam 10 ml : } \frac{2,69865 \mu\text{g}}{0,15} \times 10 = 179,91 \mu\text{g}$$

$$= 0,17991 \text{ mg}$$

$$= \frac{0,17991}{0,0203 \text{ g}} = 8,863 \text{ mg GAE/ g serbuk}$$

**Replikasi 2**

$$y = 0,0667x + 0,172$$

$$0,290 = 0,0667x + 0,172$$

$$x = 1,7691$$

$$\text{Dalam 1,5 ml : } 1,7691 \mu\text{g} \times 1,5 = 2,6537 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam 10 ml : } \frac{2,6537 \mu\text{g}}{0,15} \times 10 = 176,91 \mu\text{g}$$

$$= 0,17691 \text{ mg}$$

$$= \frac{0,17691 \text{ mg}}{0,0201 \text{ g}} = 8,801 \text{ mg GAE/ g serbuk}$$

**Replikasi 3**

$$y = 0,0667x + 0,172$$

$$0,295 = 0,0667x + 0,172$$

$$x = 1,8441$$

$$\text{Dalam 1,5 ml : } 1,8441 \mu\text{g} \times 1,5 = 2,76615 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam 10 ml : } \frac{2,76615 \mu\text{g}}{0,15} \times 10 = 184,41 \mu\text{g}$$

$$= 0,18441 \text{ mg}$$

$$= \frac{0,18441 \text{ mg}}{0,0203 \text{ g}} = 9,084 \text{ mg GAE/ g serbuk}$$

## I.2. Hasil Perhitungan mg GAE/ g Serbuk Sampel Training Set

Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg GAE/g Serbuk	Rata-rata mg GAE/g Serbuk
A	20,3	0,416	50,4575	50,6491±0,1029
	20,4	0,421	51,2391	
	20,3	0,415	50,2508	
B	20,2	0,621	93,3098	93,2329±0,4222
	20,5	0,629	93,5825	
	20,4	0,623	92,8065	
C	20,5	0,593	30,7895	30,8642±0,2445
	20,5	0,594	30,8626	
	20,4	0,593	30,9404	
D	20,4	0,596	87,2505	87,6763±0,6487
	20,2	0,597	88,3222	
	20,4	0,597	87,4563	
E1	20,4	0,814	68,4143	68,4393±0,5432
	20,5	0,814	68,0806	
E2	20,5	0,821	68,8229	68,5505±0,3441
	20,5	0,814	68,4143	
E3	20,4	0,814	68,4143	49,3690±0,6178
	20,4	0,632	49,0196	
G	20,3	0,635	49,5824	3,0653±3,2243
	20,2	0,632	49,5050	
	20,6	0,228	3,1586	
H	20,4	0,224	2,9618	39,2378±0,8596
	20,4	0,226	3,0757	
	20,3	0,360	3,8877	
I	20,3	0,362	3,9291	2,8515±4,5372
	20,7	0,367	3,9545	
	20,1	0,219	2,7169	
J	20,7	0,225	2,9750	8,9161±1,6677
	20,7	0,223	2,8627	
	20,3	0,292	8,8626	
K	20,1	0,290	8,8016	33,4316±0,9449
	20,3	0,295	9,0841	
	20,3	0,334	33,5004	
L	20,3	0,335	33,7073	9,0687±1,9695
	20,3	0,332	33,0869	
	20,4	0,292	8,9064	
M	20,4	0,295	9,0396	33,9732±0,4348
	20,5	0,298	9,2601	
	20,3	0,630	33,8255	
	20,4	0,634	34,1209	

N	20,3	0,632	33,9732	4,8604±0,833249
	20,5	0,257	4,8177	
	20,4	0,258	4,8983	
P1	20,3	0,257	4,8652	41,0815±0,2878
	20,2	0,370	41,1477	
	20,3	0,370	40,9450	
P2	20,3	0,371	41,1518	19,1779±0,5416
	20,4	0,432	19,1081	
	20,3	0,431	19,1284	
P3	20,2	0,432	19,2973	33,9386±0,5174
	20,5	0,492	33,9343	
	20,4	0,490	33,8875	
P4	20,4	0,491	33,9940	25,4051847±0,3120
	20,3	0,420	26,5582	
	20,4	0,420	26,4280	
P5	20,5	0,421	26,4051	19,9631±0,3082
	20,4	0,359	19,9275	
	20,4	0,360	20,0341	
P6	20,4	0,359	19,9275	21,8819±0,2867
	20,2	0,376	21,9544	
	20,4	0,377	21,8457	
P7	20,4	0,377	21,8457	37,6048±0,1480
	20,3	0,523	37,5883	
	20,2	0,521	37,5592	
P8	20,2	0,522	37,6668	32,3075±0,9391
	20,5	0,479	32,5557	
	20,4	0,472	31,9693	
	20,6	0,479	32,3976	

### I.3. Hasil Perhitungan mg GAE/ g Serbuk Sampel Test Set

Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg GAE/g Serbuk	Rata-rata mg GAE/g Serbuk
Q1	20,6	0,601	45,2723	45,3162±0,3520
	20,4	0,601	45,4931	
	20,3	0,596	45,1833	
Q2	20,3	0,554	40,9081	40,9123±0,0178
	20,4	0,556	40,9207	
	20,3	0,554	40,9081	
Q3	20,3	0,796	66,8237	66,7880±0,0093
	20,3	0,796	66,8237	
	20,3	0,795	66,7166	
Q4	20,2	0,558	41,5411	41,2346±0,7372
	20,3	0,557	41,2294	
	20,5	0,558	40,9332	

Q5	20,5	0,348	18,6638	18,6942±0,3531
	20,5	0,349	18,7699	
	20,4	0,347	18,6488	
A2	20,5	0,345	35,4262	35,6797±0,7878
	20,3	0,346	35,9820	
	20,5	0,346	35,6310	
R	20,3	0,360	38,8771	39,2378±0,8596
	20,3	0,362	39,2907	
	20,7	0,367	39,5454	

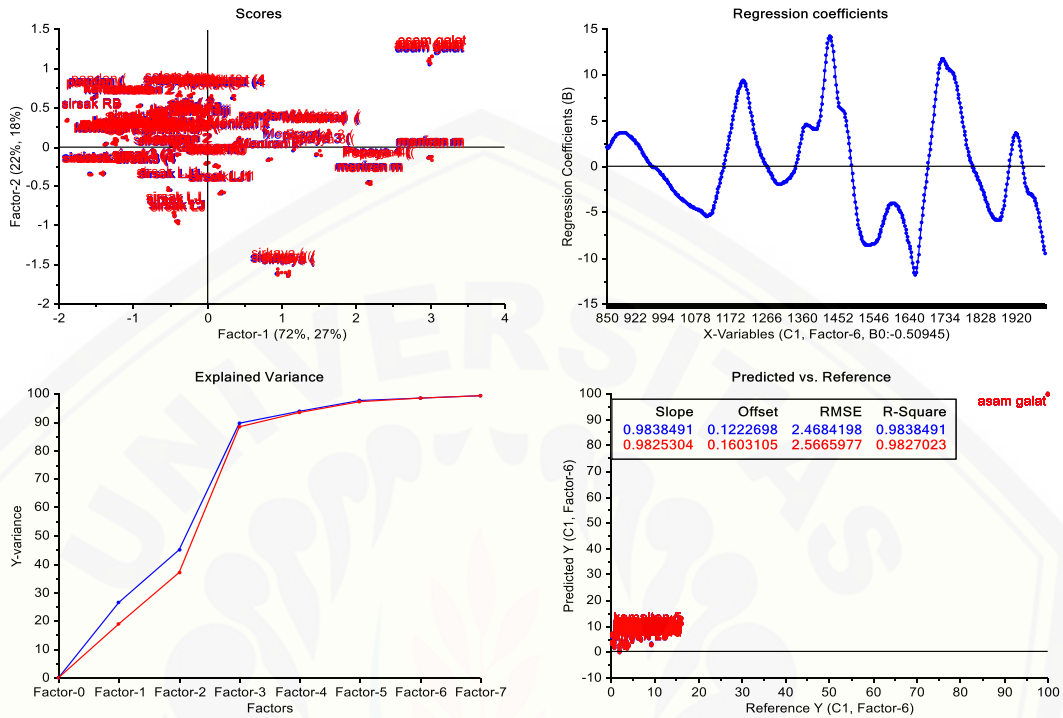
#### I.4. Hasil Perhitungan mg GAE/ g Serbuk Sampel Nyata

Sampel	Massa Penimbangan (mg)	Absorbansi	Mg GAE/g Serbuk	Rata-rata mg GAE/g Serbuk
Sampel Nyata 1	20,2	0,583	61,8807	61,5293±0,9889
	20,5	0,582	60,8267	
	20,2	0,583	61,8807	
Sampel Nyata 2	20,6	0,454	29,7594	29,8297±0,0204
	20,6	0,455	29,8649	
	20,6	0,455	29,8649	
Sampel Nyata 3	20,5	0,489	64,9138	65,4873±0,7748
	20,2	0,488	65,6701	
	20,2	0,489	65,8780	
Sampel Nyata 4	20,5	0,397	16,4556	16,5312±1,200
	20,4	0,400	16,7563	
	20,5	0,396	16,3820	

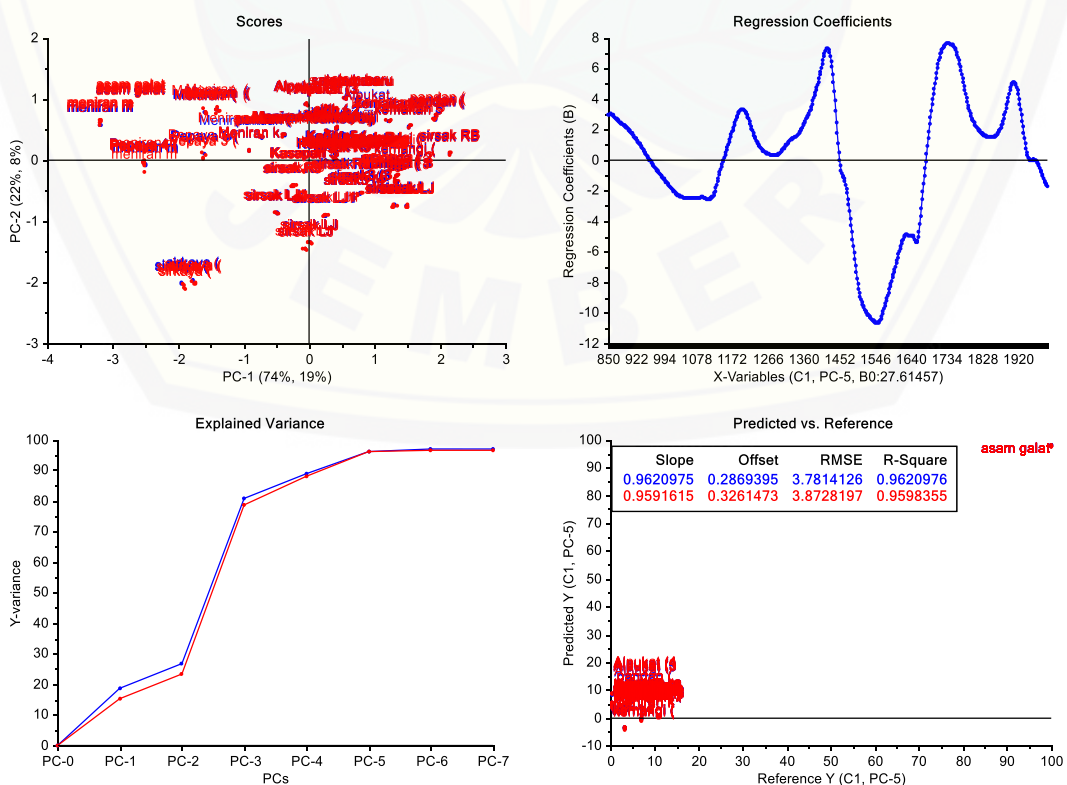


## LAMPIRAN J. Hasil Analisis Dengan Metode Kemometrik

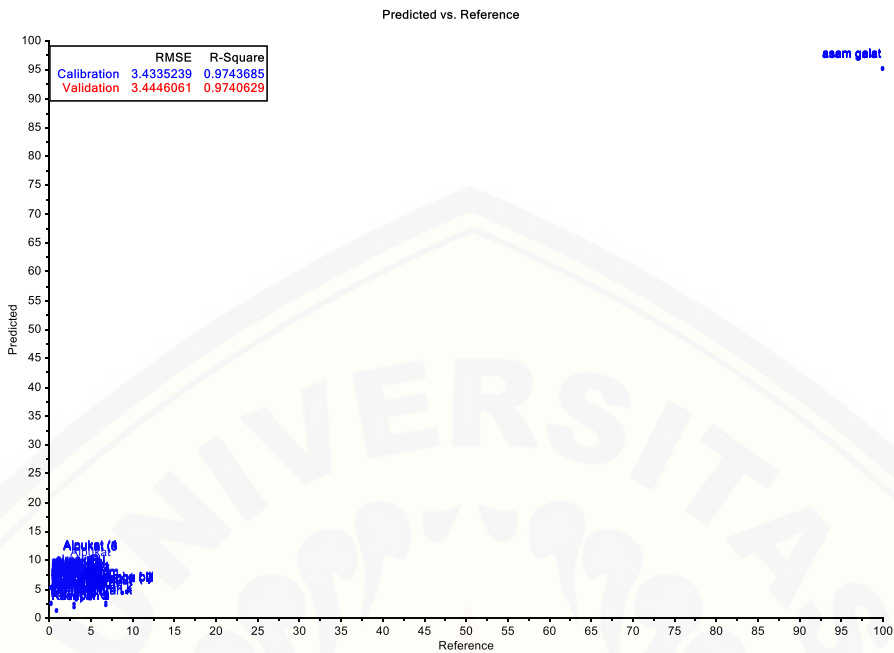
### J.1 Model Kalibrasi *Training Set* Model PLS



### J.2 Model Kalibrasi *Training Set* Model PCR

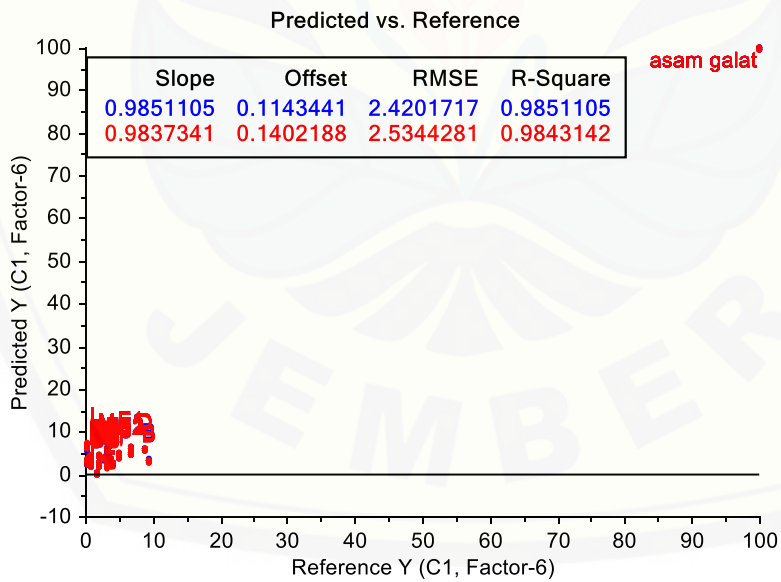


J.3 Model Kalibrasi *Training Set* Model SVR

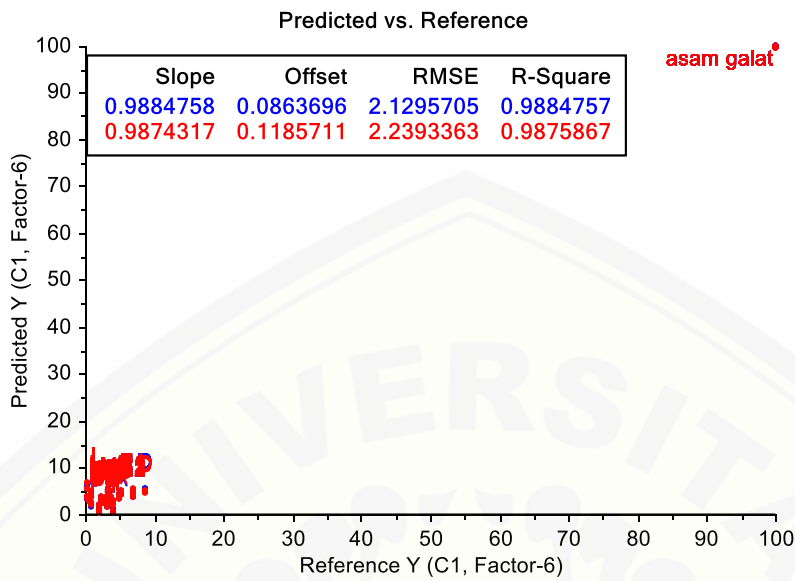


J.4 Hasil Validasi Model Kalibrasi PLS (LOOCV)

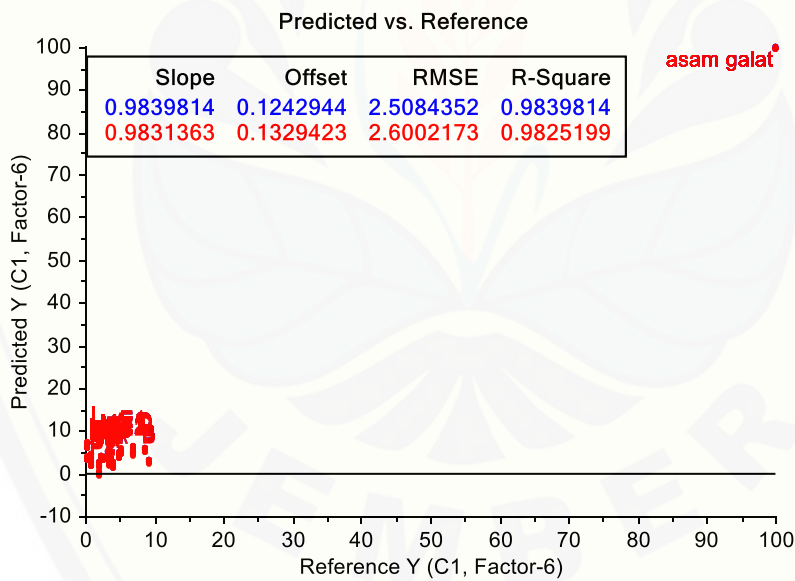
a. Sampel A dikeluarkan



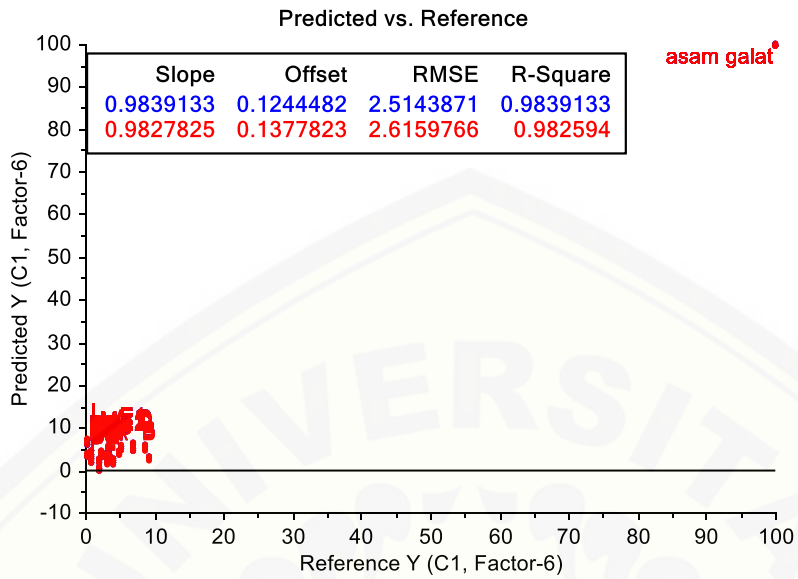
b. Sampel B dikeluarkan



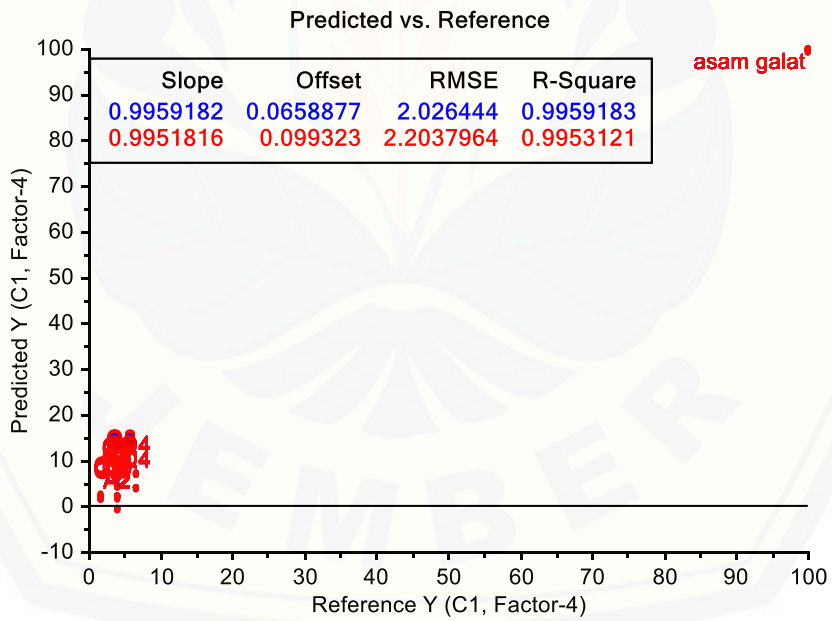
c. Sampel P8 dikeluarkan



d. Sampel P7 dikeluarkan



J.5 Hasil Validasi Model Kalibrasi PLS 2-Fold Cross Validation



## J.6 Hasil Prediksi Sampel Nyata

	Predicted	Deviation
sampel nyata 1	5.7641	3.4222
sampel nyata 1	5.7736	3.4140
sampel nyata 1	5.7781	3.3495
sampel nyata 1	5.7238	3.2302
sampel nyata 1	5.7705	3.2984
sampel nyata 1	5.7323	3.2853
sampel nyata 1	5.7063	3.3080
sampel nyata 1	5.6552	3.2192
sampel nyata 1	5.7089	3.2080
sampel nyata 2	2.8397	1.8034
sampel nyata 2	2.8348	1.7988
sampel nyata 2	2.8053	1.7437
sampel nyata 2	2.8288	1.7165
sampel nyata 2	2.8346	1.8480
sampel nyata 2	2.8308	1.8126
sampel nyata 2	2.8240	1.7678
sampel nyata 2	2.8117	1.7188
sampel nyata 2	2.7202	1.5224
sampel nyata 3	6.4203	3.2119
sampel nyata 3	6.4305	3.2235
sampel nyata 3	6.4602	3.1940
sampel nyata 3	6.4194	3.1811
sampel nyata 3	6.4132	3.2019
sampel nyata 3	6.4539	3.3516
sampel nyata 3	6.4868	3.3903
sampel nyata 3	6.4776	3.5407
sampel nyata 3	6.4449	3.3698
sampel nyata 4	1.7828	3.4904
sampel nyata 4	1.6788	3.3763
sampel nyata 4	1.6357	3.4263
sampel nyata 4	1.6803	3.3853
sampel nyata 4	1.6431	3.3888
sampel nyata 4	1.6458	3.3754
sampel nyata 4	1.6447	3.3340
sampel nyata 4	1.6123	3.3069
sampel nyata 4	1.6420	3.3266
sampel nyata 4	1.6123	3.3069
sampel nyata 4	1.6420	3.3266

**LAMPIRAN K. Hasil Analisis Sampel Nyata Dengan Uji Wilcoxon**

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
UVVis - NIR	Negative Ranks	1 <sup>a</sup>	1.00	1.00
	Positive Ranks	3 <sup>b</sup>	3.00	9.00
	Ties	0 <sup>c</sup>		
	Total	4		

a. UVVis < NIR

b. UVVis > NIR

c. UVVis = NIR

Test Statistics <sup>a</sup>	
	UVVis - NIR
Z	-1.461 <sup>b</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	.144

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on negative ranks.