

Inovasi Sains dan Kesehatan



INOVASI SAINS DAN KESEHATAN

Penulis: Nama Penulis
Editor: Tim Editor
Tata Sampul: xxx
Tata Isi: Vitrya
Pracetak: Antini, Dwi, Wardi

Cetakan Pertama, Juli 2021

Penerbit
DIVA Press
(Anggota IKAPI)
Sampangan Gg. Perkutut No.325-B
Jl. Wonosari, Baturetno
Banguntapan Yogyakarta
Telp: (0274) 4353776, 081804374879
Fax: (0274) 4353776
E-mail:redaksi_divapress@yahoo.com
sekred2.divapress@gmail.com
Blog: www.blogdivapress.com
Website: www.divapress-online.com

Perpustakaan Nasional: Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Penulis, Nama

Inovasi Sains dan Kesehatan/Nama Penulis; editor, Tim Editor—cet. 1—Yogyakarta: DIVA Press, 2021

xvi + 208 hlmn; 15,5 x 24 cm

ISBN -

I. Judul

II. Tim Editor



PRAKATA

Dalam rangka pelaksanaan kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi, khususnya di bidang penelitian, kegiatan menulis buku bagi dosen merupakan hal yang penting, terutama sebagai wujud transformasi dan penyebarluasan ilmu pengetahuan kepada masyarakat. Hadirnya *book chapter* dengan judul *Inovasi Sains dan Kesehatan* yang disusun oleh dosen dan peneliti di bidang sains, teknologi, dan kesehatan ini termasuk salah satu bentuk upaya tersebut. Materi yang disajikan di buku ini penting bagi para peneliti, baik dosen maupun mahasiswa yang tertarik dengan bidang kajian tersebut.

Book Chapter ini terdiri atas enam bab, yang masing-masing ditulis oleh kelompok peneliti yang memiliki latar belakang keilmuan berdekatan. Dalam bab 1, disajikan proses modifikasi magnetit menggunakan asam humat untuk meningkatkan kemampuan adsorpsi terhadap zat warna *malachite green*. Bab ini ditulis oleh Dr. Triastuti Sulistyarningsih dan kawan-kawan. Hasil modifikasi menunjukkan bahwa pelapisan asam humat pada magnetit dengan metode kopresipitasi mampu meningkatkan luas permukaan magnetit yang pada gilirannya

mampu meningkatkan kemampuan adsorpsi magnetit terhadap zat warna *malachite green*.

Dalam bab 2 disajikan hasil penelitian tentang deasetilasi kitin dari cangkang bekicot (*Achatina ullica*) menjadi kitosan dan aplikasinya sebagai *edible film*. Bab ini ditulis oleh Dr. Megawati dan kawan-kawan. Kitin dari cangkang bekicot diambil melalui proses deproteinasi dan demineralisasi dengan rendemen berturut-turut 70,47% dan 25,27%. Faktor suhu memengaruhi rendemen kitosan yang dihasilkan. Derajat deasetilasi kitosan yang optimum dihasilkan sebesar 79,42% dan *edible film* yang dihasilkan berupa lembaran tipis yang transparan dan kaku pada keadaan kering.

Berbeda dengan bab 1 dan bab 2 yang menyajikan tentang inovasi dalam bidang sains, pada bab 3 disajikan hasil penelitian dalam bidang kesehatan, yakni tentang kualitas pelayanan kesehatan tuberkulosis melalui QUOTE TB Light sebagai upaya "*to end TB*". Bab 3 ini ditulis oleh dr. Sri Ratna Rahayu, Ph.D. dan kawan-kawan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa puskesmas di Kota Semarang perlu meningkatkan kualitas pelayanan tuberkulosis karena beberapa faktor, antara lain: petugas yang berbeda setiap melakukan pengobatan, waktu untuk berdiskusi yang kurang, petugas yang dianggap kurang mampu dalam penyelesaian masalah pasien, dan kurangnya penjelasan petugas tentang pengaruh TB pada kehidupan pasien. Dalam perspektif pasien, hal penting untuk meningkatkan pelayanan TB di puskesmas adalah bantuan transportasi, makanan, serta uang.

Pada bab 4 kembali disajikan kajian tentang sains yang mengintegrasikan aplikasi spektroskopi inframerah untuk analisis tanaman dan

obat herbal. Bab ini ditulis oleh Dr. Mohammad Alauhdin dan kawan-kawan. Dalam bab ini, dikemukakan bahwa metode spektroskopi inframerah mampu memberikan hasil yang akurat sebagaimana diperoleh dari metode lain, seperti kromatografi cair (HPLC) dan spektrofotometri UV. Dibanding kedua metode tersebut, metode ini memiliki beberapa keunggulan, yaitu lebih cepat, sederhana, non-destruktif, dan praktis, sehingga cocok untuk diterapkan pada analisis rutin, misalnya untuk keperluan pengendalian mutu (*quality control*) pada industri obat-obatan herbal.

Bab 5 menyajikan sintesis fotokatalis Ni-N-TiO₂ menggunakan metode sol-gel untuk degradasi zat warna metilen biru. Bab ini ditulis oleh Dr. Sigit Priatmoko dan kawan-kawan. Dalam bab ini, dibahas efektivitas penggunaan material fotokatalis TiO₂ ter-doping logam Ni dan non-logam N dalam mendegradasi zat warna, khususnya metilen biru. Meskipun memiliki persamaan dengan bab 2 terkait penanganan limbah zat warna, ada perbedaan cara kerja di antara keduanya. Dalam bab 2 digunakan metode adsorpsi untuk menyerap zat warna, sedangkan dalam bab 3 digunakan metode degradasi fotokatalitik.

Pada bagian akhir *book chapter* (bab 6) disajikan karbon aktif yang bersumber dari tanaman eceng gondok. Bab ini ditulis oleh Dr. Widi Astuti dan kawan-kawan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karbon aktif eceng gondok yang disintesis menggunakan pemanasan gelombang mikro berpotensi digunakan untuk menyerap zat warna *brilliant blue* yang dihasilkan oleh industri batik. Hal ini dikarenakan karbon aktif dari eceng gondok memiliki gugus fungsi yang lebih beragam, ukuran pori lebih besar, serta kapasitas adsorpsi yang besar.

Semoga kehadiran *book chapter Inovasi Sains dan Kesehatan* ini dapat memberikan manfaat yang luas bagi para pembaca.

Semarang, Mei 2021

Tim Editor



DAFTAR ISI

Prakata	iii
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel.....	xiii
BAB 1 Modifikasi Magnetit Menggunakan Asam Humat untuk Meningkatkan Kemampuan Adsorpsi terhadap Zat Warna Malachite Green.....	1
A. Pendahuluan.....	3
B. Preparasi Magnetit-Asam Humat	4
C. Kajian Adsorpsi Zat Warna Malachite Green.....	12
D. Kesimpulan.....	19
BAB 2 Deasetilasi Kitin dari Cangkang Bekicot (<i>Achatina</i> <i>Ullica</i>) Menjadi Kitosan dan Aplikasinya sebagai Edible Film.....	23
A. Pendahuluan.....	25
B. Pembahasan.....	39
C. Simpulan	46

BAB 3	Kualitas Pelayanan Kesehatan Tuberkulosis melalui	
	Quote Tb Light sebagai Upaya “To End Tb”	49
	A. Pendahuluan	51
	B. Tuberkulosis	52
	C. Klasifikasi Tuberkulosis.....	53
	D. Cara Penularan Tuberkulosis.....	56
	E. Perjalanan Alamiah Tuberkulosis	59
	F. Pengobatan Tuberkulosis.....	60
	G. Pelayanan Kesehatan Tuberkulosis	62
	H. QUOTE TB Light.....	63
	I. Gambaran Demografi Responden	65
	J. Penilaian Kualitas Pelayanan Tb di Puskesmas Kota Semarang Berdasarkan 9 Dimensi Quote Tb Light.....	66
	K. Simpulan	75
BAB 4	Aplikasi Spektroskopi Inframerah untuk Analisis	
	Tanaman dan Obat Herbal	83
	A. Pendahuluan	85
	B. Spektroskopi Inframerah.....	87
	C. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif dengan NIRS	92
	D. Contoh Analisis dengan Spektroskopi Inframerah	100
	E. Simpulan	109
BAB 5	Fotokatalis Ni-N-TiO₂ untuk Degradasi Metilen Biru	119
	A. Pendahuluan	121
	B. Material Padatan TiO ₂	123
	C. Dopan Ni dan N	127
	D. Metode Sol dan Gel	131
	E. Fotodegradasi Metilen Biru (MB).....	132

F.	Sintesis Material TiO_2 , Ni-TiO_2 , N-TiO_2 dan Ni-N-TiO_2	136
G.	Uji Aktivitas Fotokatalitik terhadap Degradasi Metilen Biru.....	138
H.	Hasil Sintesis Nanomaterial TiO_2 , Ni-TiO_2 , N-TiO_2 , Ni-N-TiO_2	139
I.	Hasil Analisis dengan XRD	142
J.	Hasil Analisis DR-UV	147
K.	Hasil Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR.....	153
L.	Hasil Karakterisasi Menggunakan SEM-EDX	156
M.	Uji Aktivitas Degradasi Fotokatalitik Metilen Biru..	157
N.	Simpulan	161
BAB 6	Karbon Aktif Berbasis Eceng Gondok	167
A.	Pendahuluan	169
B.	Eceng Gondok.....	171
C.	Karbon AktIF	174
D.	Teknik Pemanasan pada Aktivasi Karbon Aktif.....	177
E.	Karakter Karbon Aktif Eceng Gondok	178
F.	Uji Adsorpsi Karbon Aktif Eceng Gondok.....	182
G.	Model Kesetimbangan Adsorpsi Brilliant Blue oleh Karbon Aktif.....	186
H.	Simpulan	188
	Glosarium.....	192
	Indeks	205

Aplikasi Spektroskopi Inframerah untuk Analisis Tanaman dan Obat Herbal

Mohammad Alauhdin

Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

Willy Tirza Eden

Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

Dante Alighiri

Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

email: m.alauhdin@mail.unnes.ac.id

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan pendanaan melalui Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Semarang Nomor: SP DIPA-023.17.2.677507/2020.

Abstrak

Indonesia sebagai negara tropis kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk di antaranya adalah tumbuhan obat yang merupakan bahan dasar pembuatan obat-obatan herbal. Untuk mendapatkan obat-obatan herbal yang berkualitas, pengetahuan tentang komponen-komponen aktif di dalamnya, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, mutlak diperlukan. Spektroskopi inframerah merupakan salah satu metode alternatif untuk analisis produk herbal. Metode ini memiliki beberapa keunggulan, di antaranya cepat, preparasi sampel yang mudah, dan bersifat non-destruktif. Sering kali metode ini dikombinasikan dengan kemometri untuk mendapatkan hasil analisis yang akurat. Aspek kecepatan dan kepraktisan metode spektroskopi inframerah ini menjadikannya cocok untuk diterapkan pada analisis rutin, seperti untuk keperluan pengendalian mutu (*quality control*) pada industri obat-obatan herbal.

Kata Kunci: obat herbal, spektroskopi inframerah, tanaman obat

A. Pendahuluan

Indonesia adalah negara kepulauan dengan lebih dari 17.000 pulau dan ditutupi oleh hutan hujan tropis, vegetasi pegunungan, rawa, dan vegetasi pantai. Dengan kondisi ini, Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia, dengan sekitar 40.000 spesies tumbuhan endemik, termasuk 6.000 tumbuhan obat (Nugraha dan Keller, 2011). Meskipun demikian, studi mendalam mengenai tumbuhan obat asli Indonesia masih perlu ditingkatkan. Di antara ribuan spesies tanaman obat Indonesia, hanya sekitar 300 spesies yang telah digunakan sebagai bahan baku industri obat tradisional (Slamet dan Andarias, 2018). Tidak diragukan lagi, pemanfaatan tanaman obat dalam pengobatan tradisional merupakan salah satu bentuk perawatan kesehatan tertua. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan bahwa 80% populasi dunia masih mengandalkan obat-obatan dari tumbuhan (Bunaciu, dkk., 2011).

Kualitas bahan herbal sangat berpengaruh terhadap kemampuan efikasi produk obat herbal yang dihasilkan. Selain itu, efisiensi obat-obatan herbal juga bergantung pada komponen-komponen aktif di dalamnya, yang kandungannya dapat sangat bervariasi. Oleh karena itu, pengendalian mutu bahan-bahan herbal merupakan hal yang esensial. Untuk menjamin kualitas bahan maupun obat-obatan herbal, metode analisis yang valid terhadap komponen-komponen aktifnya sangat diperlukan. Metode ini akan lebih disukai apabila prosesnya sederhana, cepat, dan ekonomis tanpa mengurangi validitas hasilnya.

Metode yang banyak diterapkan dalam analisis herbal adalah kromatografi cair, khususnya kromatografi cair kinerja tinggi (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) (Alam, dkk., 2017; Syukri, dkk., 2015, 2016). Metode ini memiliki sensitivitas yang sangat baik, namun memerlukan beberapa langkah preparasi sampel dan

menggunakan banyak pelarut organik yang toksik dan mudah terbakar. Metode lain adalah dengan spektrofotometri UV (Shivali, dkk., 2012), metode ini relatif lebih sederhana daripada HPLC. Namun, sebagaimana metode HPLC, spektrofotometri UV juga membutuhkan pelarut organik untuk melarutkan sampel.

Salah satu metode alternatif yang telah banyak dikembangkan adalah menggunakan prinsip spektroskopi inframerah. Metode ini diklaim sebagai metode analisis yang cepat dengan preparasi sampel yang praktis. Selain itu, metode ini juga tidak membutuhkan pelarut organik karena sampel dapat dianalisis dalam keadaan padat tanpa perlu dilarutkan. Metode ini telah banyak dikembangkan dalam analisis obat dan mulai diterapkan pada analisis bahan-bahan herbal dan obat-obatan tradisional (Bunaciu, dkk., 2011; Lestari, dkk., 2017; Shivali, dkk., 2012; Siregar, dkk., 2018).

Bab ini menyajikan pemanfaatan metode analisis berbasis spektroskopi inframerah untuk analisis bahan-bahan herbal. Pembahasan diawali dengan pengetahuan dasar spektroskopi inframerah, kemudian dilanjutkan dengan penerapannya dalam analisis kualitatif dan kuantitatif bahan-bahan herbal. Contoh-contoh analisis lebih banyak diambil dari herbal obat-obatan tradisional Tiongkok karena studi dan publikasinya relatif lebih banyak. Meskipun demikian, beberapa herbal Tiongkok yang dimaksud juga banyak dimanfaatkan di Indonesia. Pemanfaatan spektroskopi inframerah dalam analisis herbal sering kali dikombinasikan dengan kemometri, sehingga contoh-contoh analisis yang disajikan juga melibatkan kemometri.

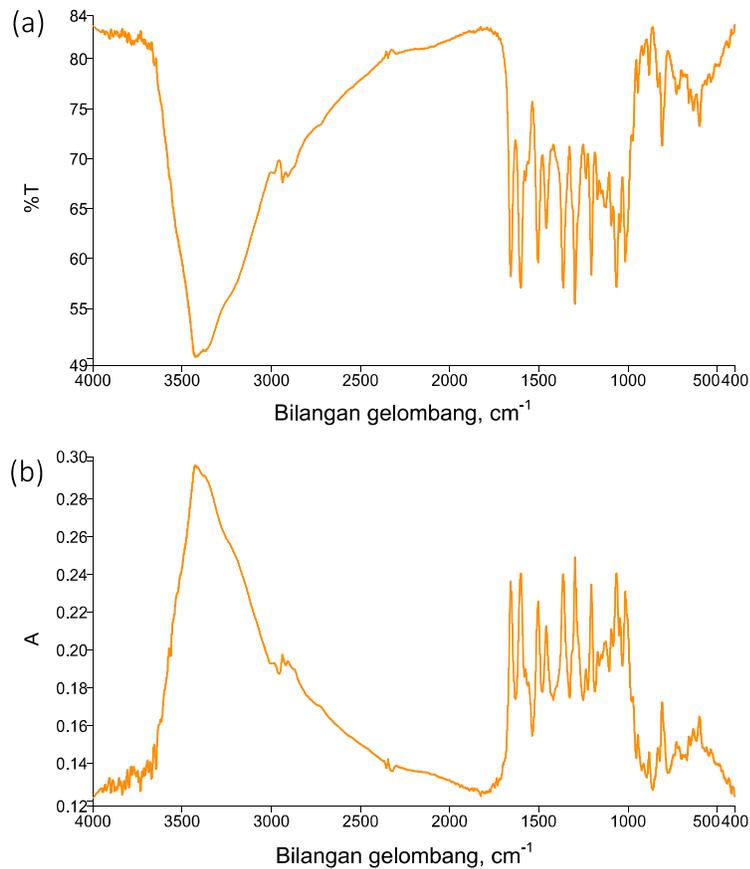
B. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah pada dasarnya merupakan teknik spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu senyawa. Namun, dalam perkembangannya, metode ini diterapkan pula dalam identifikasi dan kendali mutu obat-obat herbal. Dalam spektroskopi inframerah, radiasi yang dilewatkan melalui sampel akan diserap oleh molekul-molekul dalam sampel ketika energi radiasinya sesuai dengan energi vibrasi molekul tersebut. Besarnya radiasi yang diserap inilah yang digunakan untuk keperluan analisis.

Panjang gelombang radiasi inframerah dibagi menjadi tiga bagian, yaitu daerah inframerah jauh (*far-infrared*, $400\text{--}40\text{ cm}^{-1}$), daerah inframerah tengah (*mid-infrared*, $4.000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$), dan daerah inframerah dekat (*near-infrared*, $14.000\text{--}4.000\text{ cm}^{-1}$). Analisis obat herbal biasanya menggunakan radiasi pada daerah inframerah tengah (NIR), sehingga tekniknya dinamakan *near-infrared spectroscopy* (NIRS). Energi radiasi inframerah tidak cukup kuat untuk menyebabkan transisi elektron, tetapi cukup untuk menyebabkan vibrasi dalam molekul, sehingga spektroskopi inframerah juga dikenal sebagai spektroskopi vibrasi.

Pada spektrum inframerah, bilangan gelombang diplot pada sumbu X dan persen transmitansi (%T) diplot pada sumbu Y (gambar 4.1). Bilangan gelombang, kadang disebut dengan frekuensi, sebanding dengan energi radiasi. Persen transmitansi dapat dinyatakan juga sebagai absorbansi, yaitu intensitas serapan oleh molekul sampel. Hubungan absorbansi dan transmitansi dinyatakan dengan persamaan berikut:

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right)$$



Gambar 4.1. Contoh spektrum inframerah, (a) Bilangan gelombang vs persen transmitansi (%T), (b) Bilangan gelombang vs persen absorbansi (A)

Nilai persen transmitansi 100 artinya tidak ada frekuensi IR yang diserap oleh molekul sampel. Pada kenyataannya, hal ini tidak pernah terjadi. Selalu ada sedikit frekuensi yang diserap dan memberikan transmitansi sekitar 95%. Jadi, transmitansi 5% artinya hampir seluruh frekuensi yang dilewatkan diserap oleh molekul-molekul sampel. Serapan yang sangat tinggi ini akan memberikan informasi penting tentang ikatan antaratom dalam suatu molekul.

Spektrum inframerah yang memuat hubungan absorbansi atau persen transmitansi dengan bilangan gelombang memberikan

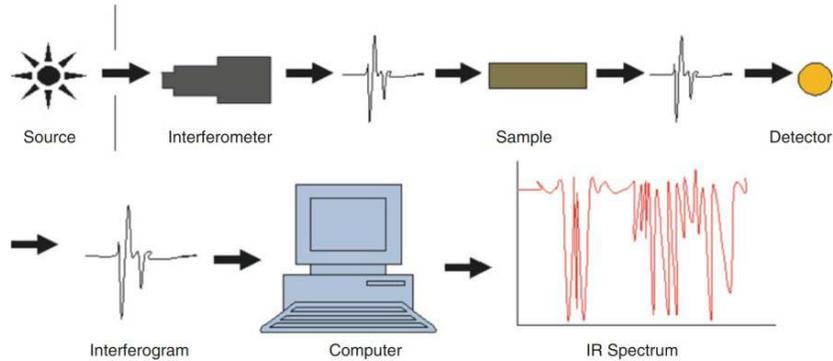
informasi tentang struktur suatu molekul. Daerah pada bilangan gelombang $4.000\text{--}1.500\text{ cm}^{-1}$ memberikan informasi tentang gugus fungsi utama, sedangkan daerah $1.500\text{--}1.000\text{ cm}^{-1}$ disebut dengan daerah sidik jari. Spektra pada daerah sidik jari dapat memberikan karakteristik unik, karena setiap molekul akan menghasilkan spektra sidik jari yang berbeda dengan molekul lainnya. Hal ini menjadikan spektroskopi inframerah sangat berguna dalam analisis kualitatif (identifikasi molekuler). Sementara itu, intensitas atau ukuran puncak dalam spektrum merupakan indikasi dari jumlah materi yang ada (kuantitatif) dalam sampel.

Awal mula instrumen spektroskopi inframerah adalah tipe dispersif, yaitu radiasi yang dipancarkan sumber energi dipisahkan menjadi frekuensi-frekuensi individu melalui prisma atau grating. Instrumen juga dilengkapi dengan detektor yang digunakan untuk mengukur frekuensi radiasi yang telah melewati sampel. Detektor ini menghasilkan spektrum inframerah yang merupakan plot intensitas serapan (absorbansi) dengan frekuensi/bilangan gelombang.

Awalnya, proses *scanning* yang lambat merupakan masalah utama dalam teknik spektroskopi inframerah. Namun, saat ini telah dikembangkan spektrometri *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Dengan cara ini, semua frekuensi inframerah dapat diukur secara bersamaan. Pada instrument, ditambahkan suatu perangkat optik yang disebut interferometer. Dengan interferometer, proses *scanning* sampel menjadi lebih cepat, hanya dalam beberapa detik. Interferometer menghasilkan suatu sinyal yang disebut interferogram yang selanjutnya dikodekan menjadi frekuensi individu, melalui transformasi *fourier* dengan algoritma tertentu dan akhirnya dihasilkan suatu spektrum inframerah.

Skema instrumen spektroskopi inframerah ditunjukkan pada gambar 4.2. Radiasi dari sumber sinar melewati celah dan diteruskan ke dalam interferometer. Selanjutnya, radiasi akan melewati sampel dan

diteruskan ke detektor. Sinyal yang terbaca oleh detektor didigitalisasi dan dikirim ke komputer tempat proses transformasi *fourier* dilakukan sehingga dihasilkan spektrum inframerah.



Gambar 4.2. Skema Spektroskopi Inframerah (Joshi, 2012)

Sebagian besar molekul menunjukkan serapan inframerah di daerah inframerah tengah ($4.000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$). Posisi dan intensitas puncak-puncak serapan menunjukkan karakteristik gerakan molekuler yang timbul dari atom-atom yang berikatan. Hal ini dapat menjelaskan ikatan kimia, konformasi, dan lingkungan kimia di sekitar atom atau kelompok atom (gugus fungsi) dalam suatu molekul. Jadi, kelompok atom tertentu menghasilkan puncak di daerah spektra yang khas. Puncak-puncak khas ini memberikan dasar empiris untuk interpretasi spektrum vibrasi.

Keuntungan utama spektroskopi IR dibandingkan teknik spektroskopi lainnya adalah bahwa hampir semua senyawa menunjukkan absorpsi terhadap radiasi inframerah. Selain itu, spektroskopi FTIR bersifat *non-destructive* (tidak merusak sampel), sehingga memungkinkan pengukuran secara *in situ*, dan tidak melibatkan preparasi sampel yang rumit (Joshi, 2012). Spektrum inframerah biasanya diuraikan dari frekuensi tinggi (4.000 cm^{-1}) menuju

ke frekuensi yang lebih rendah dan dilihat ada tidaknya absorpsi karakteristik (tabel 4.1).

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Puncak	Gugus Fungsi	Senyawa
3700-3584	Medium, sharp	O-H stretching	Alkohol
3550-3200	Strong, broad	O-H stretching	Alkohol
3500	Medium	N-H stretching	Amina primer
3350-3310	Medium	N-H stretching	Amina sekunder
3300-2500	Strong, broad	O-H stretching	Asam karboksilat
3200-2700	Weak, broad	O-H stretching	Alkohol
3000-2800	Strong, broad	N-H stretching	Garam amina
3333-3267	Strong, sharp	C-H stretching	Alkana
3100-3000	Medium	C-H stretching	Alkena
3000-2840	Medium	C-H stretching	Alkana
2830-2695	Medium	C-H stretching	Aldehid
2260-2190	Weak	C≡C stretching	Alkana (disubstitusi)
2140-2100	Weak	C≡C stretching	Alkana (monosubstitusi)
2000-1650	Weak	C-H bending	aromatik (overtone)
1815-1785	Strong	C=O stretching	Asam halide
1770-1780	Strong	C=O stretching	vinil/ fenil ester
1760	Strong	C=O stretching	Asam karboksilat (monomer)
1750-1735	Strong	C=O stretching	Ester
1750-1735	Strong	C=O stretching	δ-lakton
1740-1720	Strong	C=O stretching	Aldehid
1730-1715	Strong	C=O stretching	α,β-ester jenuh
1725-1705	Strong	C=O stretching	Keton alifatik (sikloheksanon/ siklopentenon)

1720-1706	Strong	C=O stretching	Asam karboksilat (dimer)
1690	Strong	C=O stretching	Amida primer
1685-1666	Strong	C=O stretching	Keton terkojugasi
1680	Strong	C=O stretching	Amida sekunder
1680	Strong	C=O stretching	amida tersier
1678-1668	Weak	C=C stretching	Alkena (disubstitusi - trans)
1675-1665	Weak	C=C stretching	Alkena (trisubstitusi)
1675-1665	Weak	C=C stretching	Alkena (tetrasubstitusi)
1662-1626	Medium	C=C stretching	Alkena (disubstitusi – cis)
1648-1638	Strong	C=C stretching	Alkena (monosubstitusi)
1465	Medium	C-H bending	Alkana (gugus metilen)
1450	Medium	C-H bending	Alkana (gugus metil)
1390-1380	Medium	C-H bending	Aldehyde
1500-400	Daerah sidik jari		

Tabel 4.1. Daerah serapan yang penting dalam spektrum inframerah

Sumber: *sigmaaldrich.com*

C. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif dengan NIRS

Sejak 1990an, penggunaan *near infrared spectroscopy* (NIRS) dalam analisis obat, makanan, pertanian, industri petroleum, dan lingkungan telah berkembang dengan pesat. NIRS memberikan beberapa keunggulan dalam kaitannya dengan kendali mutu (*quality control*) (Cen dan He, 2007) dan klasifikasi produk/sampel, serta analisis kualitatif dan kuantitatif obat-obat herbal. Pengembangan NIRS lebih

lanjut akan memperkuat pengawasan mutu dan pengendalian produk obat-obat herbal.

Di antara keunggulan-keunggulan NIRS, kecepatan analisis menjadi salah satu yang terpenting (Li, dkk., 2010). NIRS adalah teknik non-destruktif dan melibatkan persiapan sampel yang sederhana. Bahkan, sampel padat dan cair dalam berbagai jenis kemasan dapat diuji tanpa perlakuan yang rumit karena daya tembus serat optik yang lebih baik dalam NIRS (Xing dan Zhang, 2010). NIRS juga memberikan akurasi yang dapat diterima, baik dalam analisis kualitatif maupun kuantitatif, untuk memenuhi persyaratan kendali mutu (Hou, dkk., 2008).

Biasanya, NIRS dikombinasikan dengan model matematika dan statistika untuk pengenalan pola spektrum, sehingga memungkinkan analisis berbagai jenis sampel dengan cepat. Hal ini dapat dilakukan dengan bantuan *software* atau aplikasi tertentu. Proses pengolahan dan pemrosesan data berbasis komputer yang melibatkan matematika dan statistik ini dikenal sebagai kemometri. Kemometri dapat digunakan untuk merancang atau memilih prosedur eksperimen dan pengukuran yang optimal serta memberikan informasi kimia secara lengkap berdasarkan data-data kimia yang ada (Bansal, dkk., 2014). Contoh penggunaan metode kemometri adalah dengan analisis komponen utama (*principal component analysis, PCA*) dan *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA) untuk mengekstraksi informasi kimia yang relevan dari spektrum inframerah. Pada bagian ini, diulas penerapan NIRS untuk analisis kualitatif dan kuantitatif, beberapa di antaranya dilakukan dengan melibatkan metode kemometri.

1. Identifikasi Tanaman dan Obat Herbal

Salah satu permasalahan yang terkait dengan tanaman obat dan obat herbal adalah pemalsuan. Sering kali suatu tumbuhan herbal diganti dengan tumbuhan lain yang terlihat mirip namun tidak memiliki efek terapeutik (Chen dan Lei, 2002; Li, dkk.,

2009; Liu dan Chen, 2012). Untuk menghindari pemalsuan, NIRS memberikan metode analisis yang lebih reliabel dan tidak subjektif. Sebelumnya, tumbuhan herbal dikenali secara konvensional, yaitu dengan melihat morfologinya. Metode ini sangat subjektif dan tergantung dari keahlian dan pengalaman pengamat. Subjektivitas ini dapat dihindari dengan NIRS. Sebagai contoh, sebanyak 269 sampel Bai-Zhi (*Radix Angelicae Dahuricae*) dan 350 sampel Dan-Shen (*Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae*) dapat diidentifikasi dan diklasifikasikan menggunakan NIRS dengan akurasi yang sangat baik, yaitu 99% untuk Bai-Zhi dan 95% untuk Dan-Shen(Liu et al., 2006).

Penggunaan bahan obat yang asli sangat penting untuk menjaga kualitas dan efek terapeutiknya. Namun demikian, beberapa tanaman obat yang langka dan mahal sering kali dipalsukan (Zhao, dkk., 2009). Pemalsuan Dong-Chong-Xia-Cao (*Cordyceps*), salah satu tanaman obat tradisional Tiongkok yang penting dan mahal adalah salah satu contohnya. Untungnya, NIRS mampu mengidentifikasi Dong-Chong-Xia-Cao dengan cepat dan mudah serta akurasi yang tinggi, yaitu 95%. Contoh lain adalah Hong-Qu (*Rubrum Fermentum*) yang sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan di Tiongkok dan beberapa negara Asia. Banyak tanaman lain yang mirip dengan Hong-Qu sehingga identifikasi morfologi secara langsung maupun dengan dengan bantuan mikroskop akan sulit dilakukan. Untuk kasus ini, NIRS yang dikombinasikan dengan analisis kluster mampu mengidentifikasi Hon-Qu secara efektif (Liu. dkk., 2002; Xing, dkk., 2001).

Contoh lain adalah pada uji autentisitas (keaslian) ginseng. Ginseng termasuk salah satu bahan herbal dengan aktivitas terapeutik tinggi. Sayangnya, sering kali ginseng di pasaran dicampur dengan produk lain yang dapat mengurangi khasiatnya. Oleh karena itu, penjaminan kualitas sangat diperlukan untuk

produk-produk ginseng, baik yang berupa kapsul, serbuk, teh, ataupun yang lain. Yap, dkk. telah mengembangkan cara cepat untuk membedakan antara ginseng Asia (*Panax ginseng*) dan ginseng Amerika (*Panax quinquefolius*) dengan ginseng palsu, *Platycodon grandiflorum*. Pola spektrum inframerah yang diperoleh dianalisis dengan bantuan analisis komponen utama (PCA) (Yap, dkk., 2007). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ginseng dapat dibedakan dari *Platycodon grandiflorum*.

Tanaman obat dari jenis yang sama apabila tumbuh di daerah yang berbeda iklim dan kondisi tanahnya akan menghasilkan herbal dengan kualitas yang berbeda. NIRS dapat digunakan untuk mengidentifikasi hal tersebut, yaitu menunjukkan asal daerah suatu sampel tanaman obat. Jin-Yin-Hua (*Flos Lonicerae Japonicae*), sebagai contoh, ditanam secara luas di Provinsi Henan, Hebei, Hunan, Shandong, dan Guangxi, Tiongkok. Analisis kualitatif dengan NIRS mampu mengidentifikasi 22 sampel dari Provinsi Henan dengan akurasi 100%. Selain itu, 68 sampel yang berasal dari provinsi lain juga dapat diidentifikasi dengan tepat dan hanya 9 sampel yang tidak tepat (Li, dkk., 2013).

FTIR juga telah digunakan untuk menganalisis secara bersamaan (simultan) komponen-komponen utama dalam sampel ekstrak bunga krisan (*Chrysantemum*) dari berbagai daerah dalam pelarut yang berbeda (Bunaciu, dkk., 2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel bunga krisan yang berbeda memiliki karakter sidik jari yang berbeda dalam spektrum FTIR. Sidik jari ini memberikan informasi struktural untuk sampel yang diuji. Liu, dkk. telah dapat mengidentifikasi komponen utama dari ekstrak yang berbeda dan membedakan asal-usul sampel krisan dengan mengamati spektrum sidik jari (Liu, dkk., 2010).

Grinding sering kali dilakukan dalam preparasi obat tradisional sebagai bagian dari proses ekstraksi dan pemurnian komponen

yang diinginkan dari komponen-komponen pengotornya. Proses *grinding* ini menghasilkan herbal berupa serbuk sehingga menghilangkan karakteristik yang biasa digunakan sebagai dasar identifikasi secara morfologi. Akibatnya, proses identifikasi secara konvensional sulit dilakukan. Selain itu, beberapa tanaman obat tradisional memiliki bentuk, warna, dan sifat mikroskopik yang hampir sama (Duan, dkk., 2010). Sebagai contoh, Bai-Zhi (*Radix Angelicae Dahuricae*), Ye-Ge (*Puerariae Lobatae*), Cang-Zhu (*Rhizoma Atractylodis*), Bai-Shao (*Radix Paeoniae Alba*) dan Dang Gui (*Radix Angelicae Sinensis*) menunjukkan hanya sedikit perbedaan dari kenampakan morfologinya, dan setelah *grinding* menjadi semakin sulit membedakannya (Ding, dkk., 2008). Meskipun demikian, penggunaan PCA dan analisis kluster untuk mengklasifikasi data spektrum NIRS memungkinkan bentuk serbuk tadi dapat diidentifikasi dan diklasifikasikan secara akurat. NIRS sekarang juga telah dipertimbangkan sebagai salah satu teknik untuk kendali mutu obat-obatan tradisional Tiongkok (Xu dan Ling, 2010; Zeng dan Han, 2011).

2. Kuantifikasi Tanaman dan Obat Herbal

Sebagaimana analisis kualitatif, analisis kuantitatif dengan NIRS juga membutuhkan bantuan model matematika untuk memberikan hasil analisis yang akurat. Untuk obat-obatan dengan komposisi yang relatif sederhana dan berisi komponen-komponen dengan kemurnian tinggi, penentuan model matematika relatif mudah dan dapat memberikan hasil yang bagus dalam analisis kuantitatif (Liu, dkk., 2008; Zou, dkk., 2012). Namun, penetapan model menjadi lebih sulit apabila sampel obat herbal mengandung banyak komponen, terlebih lagi jika konsentrasinya rendah. Jadi, analisis kuantitatif obat herbal dengan NIRS relatif masih membutuhkan pengembangan dan validasi (Shi, dkk., 2006).

Analisis kuantitatif dengan NIRS yang melibatkan pemodelan membutuhkan spektra yang mencukupi untuk membuat set pengukuran sampel dan set validasi. Set pengukuran sampel digunakan untuk menetapkan model matematika, sedangkan set validasi digunakan untuk menguji dan memverifikasi akurasi model yang dibuat. Model juga perlu dioptimasi dengan sampel yang telah diketahui komposisinya (Qu, dkk., 2007).

Pemilihan *range* bilangan gelombang dan *pre-treatment* spektra perlu dilakukan sebelum memproses spektra. Pemilihan *range* bilangan gelombang ini penting untuk membatasi informasi yang dikumpulkan. Selain itu, ketiadaan sinyal dalam *range* bilangan gelombang tertentu dari suatu spektra dapat memengaruhi akurasi hasil. Jadi, pemilihan bilangan gelombang yang memberikan korelasi positif dan penghilangan bilangan gelombang yang memberikan korelasi negatif perlu dilakukan. *Pre-treatment* spektra adalah prosedur untuk mengoptimasi data dan menghindari gangguan karena perubahan *baseline*. *Pre-treatment* umum di antaranya merata-rata (*averaging*), menghaluskan (*smoothing*), dan normalisasi menggunakan spektra turunan pertama dan kedua (Lei, dkk., 2010). Turunan pertama dapat mengeliminasi kesalahan akibat pergeseran dan turunan kedua dapat mengeliminasi kesalahan rotasi (*tilt*) (Svante, dkk., 1998). Metode lain untuk mengekstrak informasi dari spektra juga ada, termasuk *Multiplicative Scatter Correction* (MSC), Savitzky–Golay method (SG) dan *Standard Normal Variate* (SNV) (Ni dan Lin, 2011).

Metode koreksi juga perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil analisis kuantitatif yang akurat. Koreksi dapat dilakukan berdasarkan *multiple linear regression* yang berguna untuk mendapatkan informasi secara lengkap (Gimet dan Luong, 1987). Metode *multiple linear regression* yang biasa digunakan adalah *Principal Component Regression* (PCR), *Partial Least-*

Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) dan *Partial Least-Squares Regression* (PLS) (Jarkko, dkk., 1998; Yip, dkk., 2012).

a. Analisis Ekstrak Tanaman Herbal

Ekstrak tanaman herbal merupakan bentuk antara tanaman asli dan komponen aktif yang sudah diisolasi. Untuk menghindari berkurangnya aktivitas terapeutik, formulasi obat herbal sebaiknya semirip mungkin dengan tanaman aslinya (C. Zhang dan Su, 2014). Meskipun demikian, perlakuan fisika dan kimia yang dilakukan untuk menghilangkan zat-zat pengotor dapat memengaruhi efek farmakodinamik dari komponen-komponen aktif.

Pada ekstrak *Ginkgo biloba*, flavonoid adalah komponen farmakodinamik yang penting (Wang dan Yang, 2001). Menurut *The Chinese Pharmacopoeia*, perhitungan total flavonoid diperoleh dari jumlah total flavonoid glikosida dan total terpen lakton yang dapat ditentukan dengan HPLC. Total flavonoid glikosida merupakan jumlah dari banyaknya kuersetin, kaempferide, dan isohamnetin. Sementara itu, total terpen lakton diperoleh dari banyaknya bilobalide, ginkgolide A, ginkgolide B, and ginkgolide C.

Asesmen kualitas ekstrak adalah sesuatu yang kompleks, namun dapat diatasi dengan lebih sederhana menggunakan NIRS daripada HPLC. Menggunakan *range* panjang gelombang 1.100–2.500 nm, *pre-treatment* spektra dengan SNV, dan evaluasi metode-metode regresi (PCR, PLS, dan PLS termodifikasi) menghasilkan suatu pengujian dengan kesalahan absolut dan relatif yang dapat diterima. Selain itu, tingkat akurasi juga baik (Hu, dkk., 2004). Contoh lain yang menggunakan NIRS dan PLS dalam model regresi adalah analisis kuantitatif total asam fenolik dalam ekstrak Huang-Qi (*Radix Salvia*) and

Dan-Shen (*Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae*) (Li dan Qu, 2010). NIRS dengan model PLS juga telah diterapkan pada analisis komponen utama farmakodinamik (polisakarida dan triterpenoid) dalam ekstrak Ling-Zhi (*Ganoderma lucidum*) dan Hei-Ling-Zhi (*Ganoderma atrum*). Analisis ini juga memberikan hasil yang akurat (Chen, dkk., 2012). Analisis kuantitatif total alkaloid dalam ekstrak Huang-Bai (*Cortex Phellodendri*) juga menunjukkan keunggulan dan kepraktisan metode NIRS (Chan, dkk., 2007).

b. Analisis Obat herbal

Produk obat-obatan herbal dibuat dari satu atau lebih komponen herbal. Obat herbal dengan komponen tunggal dapat dianalisis dengan HPLC, *spectrofotometer* UV, ataupun NIRS. Dalam analisis kendali mutu komponen tunggal, NIRS memiliki keunggulan, yaitu prosedurnya lebih sederhana dan dapat mengurangi hambatan-hambatan teknis dalam pengukuran (Xu, dkk., 2009).

NIRS dapat pula diterapkan pada analisis obat herbal yang kompleks/campuran. Contoh untuk kasus ini adalah obat tradisional Tiongkok Tan-Re-Qing yang dibuat dari campuran Huang-Qin (*Radix Scutellariae*), Xiong-Dan-Fen (empedu beruang), Shan-Yang-Jiao (*Cornu Caprae Hircus*), Jin-Yin-Hua (*Flos Lonicerae Japonicae*) and Lian-Qiao (*Fructus Forsythiae*). NIRS digunakan untuk menentukan kandungan obat herbal tersebut. Spektra NIRS juga digunakan untuk menentukan kandungan asam klorogenik, asam kafeat, luteoloside, baicalin, asam ursodesoksikolik, dan asam senodeoksikolik dari 120 sampel obat herbal (Li, dkk., 2010). Pengukuran dengan NIRS ini menunjukkan hasil yang akurat sebagaimana hasil analisis dengan HPLC.

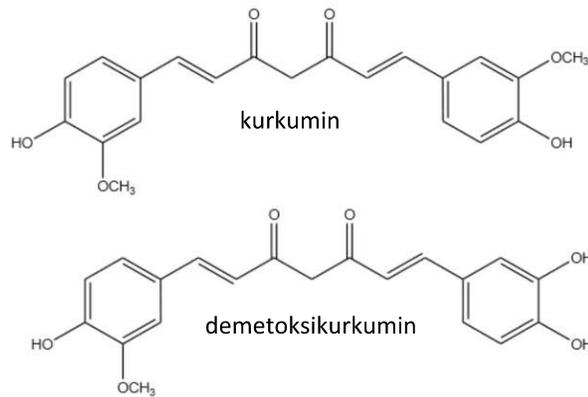
Model matematika yang baik akan menentukan keakuratan analisis kuantitatif dengan NIRS. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti akurasi terhadap bahan pembanding (*reference*), banyaknya spektra yang mewakili model, faktor alat/instrument, dan juga faktor manusia (analisis). Jumlah sampel yang cukup dan representatif, kontrol yang ketat terhadap kondisi eksperimen, dan penggunaan metode pemrosesan data yang cocok akan memberikan pengaruh pada akurasi hasil pengukuran. Jika spektra yang ada cukup dan tidak ada gangguan (*interference*), analisis kuantitatif untuk sistem multikomponen dapat dilakukan. Contohnya adalah pada analisis komponen-komponen aktif terapeutik dalam Shan-Zhu-Yu (*Fructus Corni*), yaitu astilbin dan asam ursolat. Astilbin berkhasiat mengatur sistem imun dan asam ursolat dapat memberikan efek sedasi dan antibakteri pada analisis ini, spektra NIRS pada bilangan gelombang 4638–7659 cm^{-1} dan 8197–9441 cm^{-1} memberikan banyak informasi sehingga menghasilkan data analisis yang akurat sebagaimana hasil pengukuran dengan HPLC (Zhang, 2011).

D. Contoh Analisis dengan Spektroskopi Inframerah

1. Analisis Kurkuminoid

Kurkuminoid, khususnya kurkumin dan demetoksikurkumin (gambar 4.3) disebut memiliki beberapa aktivitas biologi, seperti antioksidan, antikanker, dan anti-inflamatori (Rohman, 2012). Kurkuminoid juga biasa digunakan sebagai *marker* kimia dalam studi aktivitas biologi genus kurkuma. Beberapa produk farmasetik yang mengandung ekstrak kurkuma telah tersedia secara komersial di pasaran dalam beberapa bentuk formulasi seperti sirup kurkuma (Wahyono dan Hakim, 2007), kapsul, dan tablet (Rajashree, dkk., 2013). Penentuan kurkuminoid, baik secara kualitatif maupun

kuantitatif pada formulasi-formulasi tersebut diperlukan untuk menjamin kualitasnya.



Gambar 4.3. Struktur Kimia Kurkumin dan Demetoksikurkumin

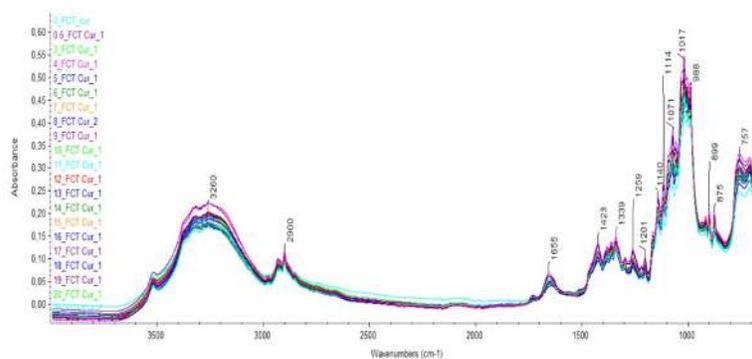
Metode-metode kromatografi telah banyak diterapkan pada analisis kurkuminoid karena terbukti mampu menghasilkan pemisahan dengan baik (Long, dkk., 2014; Syed, dkk., 2015; Q. Zhang dan Acworth, 2013). Meskipun demikian, metode kromatografi membutuhkan preparasi sampel dan proses pengukuran yang relatif lama. Oleh karena itu, metode-metode spektroskopi dikembangkan untuk mengatasi hal-hal tersebut.

Spektrofotometri UV adalah metode lain yang dipilih untuk menentukan kurkuminoid dalam formulasi yang mengandung kurkuminoid murni, tetapi metode ini tidak cocok untuk produk-produk yang mengandung kurkuminoid dalam ekstrak tanaman yang komposisinya kompleks (Sharma, dkk., 2012). Untuk sampel dengan komposisi yang kompleks seperti pada ekstrak tanaman, FTIR dapat dijadikan pilihan karena banyak puncak yang dapat diperoleh sebagai variabel analisis.

Spektroskopi inframerah dikombinasikan dengan beberapa teknik kemometri telah dikembangkan sebagai metode analisis

yang cukup andal dalam aplikasi farmasi (Chakraborty, 2016). Hal ini terutama karena adanya karakteristik dalam spektra sidik jari inframerah (Sim, dkk., 2004). Dalam aplikasi analisis obat herbal, kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometri telah digunakan untuk analisis kuantitatif bahan aktif farmasi (Rohman, 2013), untuk membedakan *Ganoderma lucidum* yang tumbuh liar dan yang dibudidayakan (Wu, dkk., 2017), dan untuk penjaminan mutu obat herbal (Rohman, dkk., 2014). Spektroskopi FTIR dikombinasikan dengan *Partial Least Square* dan *Principal Component Regression* telah digunakan untuk kuantifikasi kurkuminoid dalam ekstrak *Curcuma longa* dan *Curcuma xanthorrhiza* (Rohman, dkk., 2015).

Berikut ini adalah hasil analisis kurkuminoid dalam sampel tablet menggunakan FTIR dan kalibrasi multivariat (Siregar, dkk., 2018). Spektra FTIR dari sampel tablet yang mengandung ekstrak *C. xanthorrhiza* dengan komponen aktif kurkuminoid dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Spektra FTIR tablet yang mengandung kurkumin dan demetoksikurkumin *C. xanthorrhiza* pada bilangan gelombang 4000–650 cm^{-1} (Siregar, dkk., 2018)

Puncak-puncak yang ada menunjukkan gugus-gugus fungsi pada dua kandungan kurkuminoid utama yang ada dalam *C. xanthorrhiza*, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin (Lestari,

dkk., 2017). Puncak lebar pada bilangan gelombang 3200 cm^{-1} merupakan puncak vibrasi regangan dari hidroksil (-OH) pada kurkuminoid, sementara puncak pada 2950 dan 2900 cm^{-1} adalah vibrasi regangan dari gugus metil (-CH₃) dan metilen (-CH₂). Vibrasi tekuk dari -CH₃ dan -CH₂ juga muncul pada bilangan gelombang 1339 dan 1423 cm^{-1} . Gugus karbonil terkonjugasi muncul pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} , lebih rendah dari bilangan gelombang gugus karbonil tak terkonjugasi (Prabaningdyah, dkk., 2018). Keberadaan gugus-gugus fungsi tersebut dan beberapa gugus fungsi lain, membuktikan bahwa tablet yang diuji mengandung ekstrak kurkuma.

Spektroskopi FTIR dioptimasi pada bilangan gelombang spesifik pada daerah inframerah tengah ($4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$) untuk memprediksi kurkumin dan demetoksikurkumin. Hasil optimasi akan memberikan korelasi yang paling tinggi antara nilai kurkumin dan demetoksikurkumin yang telah ditentukan dengan HPLC dan hasil prediksi dengan FTIR. *Range* bilangan gelombang yang dipilih untuk memprediksi kurkumin dan demetoksikurkumin didasarkan pada kemampuannya untuk memberikan koefisien determinasi (R^2) yang paling tinggi. Untuk mendapatkan nilai korelasi ini, dua kalibrasi multivariat, yaitu *partial least square regression* (PLSR) and *principal component regression* (PCR) digunakan untuk mengoptimasi.

Akurasi dan presisi kombinasi spektroskopi FTIR dan kalibrasi multivariat dapat dinyatakan dengan R^2 , *Root Mean Square Error of Calibration* (RMSEC), dan *Root Mean Squer Error in Prediction* (RMSEP). Model yang menghasilkan prediksi terbaik memiliki R^2 lebih tinggi serta RMSEC dan RMSEP yang lebih rendah (Sim, dkk., 2004).

Berdasarkan hasil optimisasi dengan beberapa parameter (kalibrasi multivariat, daerah bilangan gelombang, *treatment*

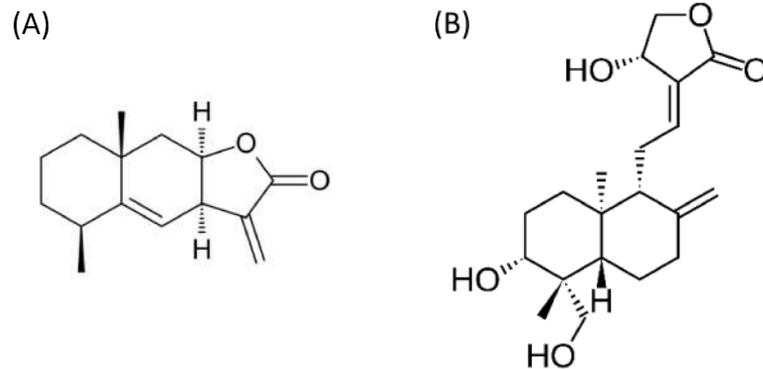
spektra berdasarkan spektra normal dan spektra turunan pertama), kurkumin lebih cocok untuk dikuantifikasi menggunakan spektra turunan pertama pada bilangan gelombang 2975–660 cm^{-1} dengan 7 faktor. R^2 yang diperoleh dari analisis kuantitatif kurkumin menggunakan PLSR adalah 0,9968 untuk kalibrasi dan 0,9964 untuk validasi. Sementara itu, nilai RMSEC dan RMSEP masing-masing 0,126% dan 0,254%. Hasil PLSR menggunakan bilangan gelombang 1784–1587 cm^{-1} dengan 5 faktor cocok untuk kuantifikasi demetoksikurkumin dalam tablet dengan nilai R^2 untuk kalibrasi dan validasi masing-masing 0,9954 dan 0,9916. Nilai RMSEC and RMSEP yang diperoleh berturut-turut 0,000427% and 0,000754%. Metode pengukuran ini cepat dan cocok untuk analisis rutin. Namun, jika komposisi tablet yang dianalisis berbeda, harus dikembangkan model baru dan tentunya model tersebut harus divalidasi terlebih dahulu.

2. Analisis Total Lakton

Para peneliti telah mengembangkan berbagai teknik analisis untuk kuantifikasi polifenol, saponin, alkaloid, dan terpenoid, termasuk lakton sesquiterpen (Harborne, 1998). Lakton sesquiterpen adalah metabolit sekunder penting yang terdapat dalam marga *Asteraceae*, *Apiaceae* dan *Magnoliaceae* dengan kemotaksonomi dan aktivitas biologi yang beragam. Terdapat lebih dari 5.000 senyawa dalam golongan ini (Schmidt, 2006) yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamatori (Siedle, dkk., 2003), antitumor (G. Xu, dkk., 2006), dan antimikroba (Obafemi, dkk., 2006).

Shivali, dkk. melakukan validasi metode analisis kuantitatif dengan spektroskopi inframerah untuk penentuan total lakton dalam *Inula racemose* dan *Andrographis paniculata* (Shivali, dkk.,

2012). Dua senyawa lakton utama dalam kedua tanaman tersebut adalah isoallantolakton dan andrografolid (Gambar 4.5).



Gambar 4.5. Struktur Kimia A) Isoallantolakton dan B) Andrografolid

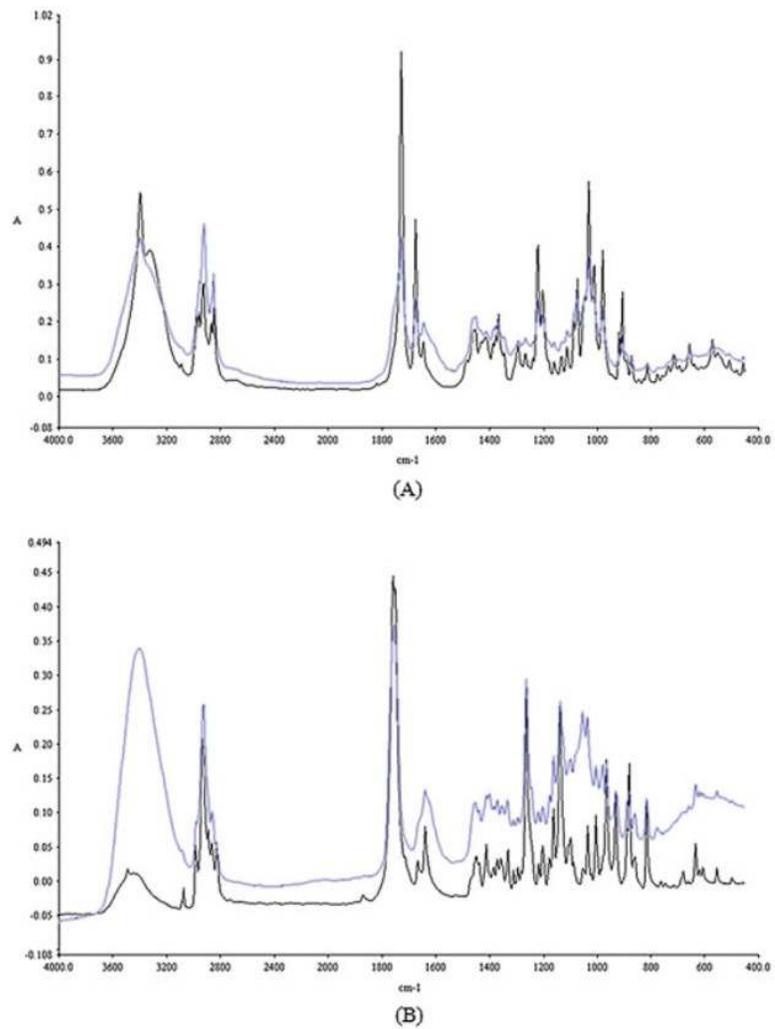
Isoallantolakton merupakan lakton sesquiterpena utama dari *Inula racemose*. Senyawa ini telah diuji aktivitas antimikroba terhadap beberapa bakteri dan jamur patogen (Changhong, dkk., 2001). Selain itu, senyawa ini juga menunjukkan aktivitas sebagai pengusir serangga, insektisida, dan fitotoksik (C. Liu, dkk., 2006). Sementara itu, andrografolid menunjukkan aktivitas koleretik, hepatoprotektif, dan hipoglikemik (Dev, 2006).

Penggunaan HPLC untuk analisis golongan lakton sudah banyak dilakukan, namun memiliki keterbatasan karena ketidakmampuan detektor UV pada HPLC untuk mendeteksi lakton yang memiliki absorbansi pada spektrum UV rendah, yaitu antara 200–210 nm. Sementara itu, spektrofotometri UV yang dikombinasikan dengan teknik lain seperti HPLC-NMR dan LC-MS memberikan sensitivitas yang lebih tinggi, tetapi cara ini tergolong mahal sehingga tidak cocok jika diterapkan untuk analisis rutin seperti untuk kendali

mutu produksi. Teknik TLC dapat juga dilakukan dengan cepat dan murah, namun identifikasi kromatogramnya dengan reagen semprot tidak spesifik untuk lakton (Koobkokkruad, dkk., 2007). Metode spektroskopi inframerah dapat dijadikan alternatif analisis golongan lakton yang cepat dan sederhana.

Pada penelitian Shivali, dkk., spektra inframerah diperoleh dengan menggunakan spektrometer inframerah yang dilengkapi dengan detektor mercury cadmium telluride A (MCTA) dan optik KBr (Shivali, dkk., 2012). Spektra standar dan sampel diukur dengan metode pellet KBr. Validasi dilakukan dengan menentukan linearitas, akurasi, presisi, *limit of detection* (LoD) and *limit of quantification* (LoQ). Hasil pengukuran dengan spektroskopi inframerah ini juga dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV yang sudah tervalidasi dalam penentuan total lakton pada *A. paniculata*.

Spektra absorbansi standar dan ekstrak hasil pengukuran (gambar 4.6) diperoleh pada bilangan gelombang 4.000–1.000 cm^{-1} . Spektra FTIR isoallantolakton dan ekstrak *I. racemose* menunjukkan puncak yang kuat pada 1.751 cm^{-1} . Puncak ini menunjukkan frekuensi regangan karbon karbonil dalam lakton sesquiterpen. Sementara itu, untuk andrografolid dan ekstrak *A. paniculata* memiliki puncak pada 1.727 cm^{-1} yang menunjukkan keberadaan lakton diterpen (Chan, dkk., 1962). Untuk analisis kuantitatif, luas area puncak dihitung pada *range* 1.740–1.762 cm^{-1} untuk isoallantolakton dan antara 1.715–1.730 cm^{-1} untuk andrografolid. Konsentrasi lakton dalam ekstrak dihitung menggunakan persamaan regresi linear.



Gambar 4.6. Spektra FTIR A) Andrografolid Standar (Hitam) dan Ekstrak Kaya Lakton *A. Paniculata* (Biru), B) Standar Isoallantolakton (Hitam) dan Ekstrak Kaya Lakton *I. racemose* (Shivali, dkk., 2012).

Hasil validasi metode ditunjukkan pada tabel 4.2. *Range* linearitas untuk isoallantolakton dan andrografolid masing-masing 120–1.142 µg dan 140–825 µg. Nilai koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh adalah 0,9965 untuk isoallantolakton dan 0,9968 untuk andrografolid. Rata-rata persen *recovery* untuk isoallantolakton adalah 99–102% dan 99–101% untuk andrografolid. Data presisi yang berupa keterulangan

(*repeatability*) dan ketertiruan (*reproducibility*) dinyatakan sebagai RSD (*relative standard deviasi*). Baik untuk standar maupun ekstrak, nilai RSD yang diperoleh adalah ≤ 2 . Limit deteksi untuk isoallantolakton adalah 1 μg dan untuk andrografolid 1,5 μg . Sementara, untuk limit kuantifikasi adalah 10 μg untuk isoallantolakton dan 15 μg untuk andrografolid.

Parameter	Hasil	
	Isoallantolakton	Andrografolid
Akurasi (persen recovery)	99 – 102%	99 – 101%
Limit deteksi	1 μg	1,5 μg
Limit kuantifikasi	10 μg	15 μg
Spesifisitas	1740-1762 cm^{-1}	1715-1730 cm^{-1}
Linearitas	0,9965	0,9968
Range linear	120-1142 μg	140-825 μg

Tabel 4.2. Parameter validasi metode kuantifikasi isoallantolakton pada *I. racemose* dan andrografolid pada *A. paniculata* dengan spektroskopi FTIR

Spesifisitas metode dinilai dari puncak lakton yang tidak *overlap* dengan senyawa-senyawa lain. Senyawa-senyawa lain ini di antaranya asam-asam fenolat, flavonoid, dan alkaloid yang ada dalam ekstrak herbal di mana puncak karbonilnya mungkin *overlap* dengan puncak lakton dari ekstrak sampel. Selain itu, senyawa-senyawa lain juga diuji, yaitu asam gallat, quersetin, piperin, dan umbelliferon yang juga memiliki gugus karbonil. Puncak karbonil untuk keempat senyawa tersebut berturut-turut 1.703, 1.662, 1.664 dan 1.682 cm^{-1} . Keempat puncak tersebut tidak *overlap* dengan puncak karbonil dari isoallantolakton dan andrografolid.

Hasil pengukuran total lakton dari ekstrak *A. paniculata* dengan spektroskopi FTIR dan spektrofotometri UV berturut-turut $8,65 \pm 0,51\%$ ($n = 3$) dan $8,42 \pm 0,36\%$ ($n = 3$). Hasil yang didasarkan pada standar andrografolid ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dapat

disimpulkan, metode spektroskopi FTIR ini akurat, presisi, dan spesifik. Selain itu, metode ini juga memiliki limit deteksi dan limit kuantifikasi yang rendah, baik untuk isoallantolakton maupun andrografolid. Metode ini tergolong cepat, sederhana, dan praktis dibandingkan dengan HPLC ataupun spektrofotometer UV.

E. Simpulan

Metode spektroskopi inframerah telah banyak dikembangkan untuk analisis tanaman dan obat herbal, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Metode ini mampu memberikan hasil yang akurat sebagaimana diperoleh dari metode lain, seperti kromatografi cair (HPLC) dan spektrofotometri UV. Dibanding kedua metode tersebut, metode ini memiliki beberapa keunggulan, yaitu lebih cepat, sederhana, non-destruktif, dan praktis. Oleh karena itu, metode ini cocok untuk diterapkan pada analisis rutin, misalnya untuk keperluan pengendalian mutu (*quality control*) pada industri obat-obatan herbal.

Daftar Pustaka

- Alam, P., Parvez, M. K., Arbab, A. H., & Al-dosari, M. S. (2017). Quantitative analysis of rutin , quercetin , naringenin , and gallic acid by validated RP- and NP-HPTLC methods for quality control of anti-HBV active extract of *Guiera senegalensis*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1317–1323.
- Bansal, A., Chhabra, V., Rawal, R. K., & Sharma, S. (2014). Chemometrics: A new scenario in herbal drug standardization. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 4(4), 223–233.
- Bunaciu, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Fleschin, S. (2011). Recent Applications of Fourier Transform Infrared Spectrophotometry in Herbal Medicine Analysis. *Applied Spectroscopy Reviews*, 46(4), 251–260.

- Cen, H., & He, Y. (2007). Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science & Technology*, *18*(2), 72–83.
- Chakraborty, D. (2016). Instrumentation of FTIR and its herbal. *World J Pharm Pharmaceutical Sci*, *5*(3), 498–505.
- Chan, C. O., Chu, C. C., Mok, D. K., Daniel, K. W., & Chau, F. T. (2007). Analysis of berberine and total alkaloid content in Cortex Phellodendri by near infrared spectroscopy (NIRS) compared with high-performance liquid chromatography coupled with ultra-visible spectrometric detection. *Anal Chim Acta*, *592*, 121–131.
- Chan, W., Haynes, L., Cava, M., Johnson, L., & Weinsten, B. (1962). The structure of andrographolide. *Tetrahedron*, *18*(397–403).
- Changhong, L., Mishra, A., Bing, H., & Renxiang, T. (2001). Antimicrobial activity of isoallantolactone, a major sesquiterpene lactone of *Inula racemosa*. *Chin Sci Bull*, *46*, 498–501.
- Chen, K. L., & Lei, Q. M. (2002). Identification of Chinese medicinal materials after extraction. *Chin Pharmacol J*, *37*, 463.
- Chen, Y., Xie, M. Y., Zhang, H., Wang, Y. X., Nie, S. P., & Li, C. (2012). Quantification of total polysaccharides and triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma atrum* by near infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Chem*, *135*, 268–275.
- Dev, S. (2006). *A Selection of Prime Ayurvedic Plant Drugs: Ancient-Modern Concordance*. Anamaya Publisher.
- Ding, N. Y., Li, W., Feng, X. W., & Zhu, Z. L. (2008). Classification and identification of Chinese traditional medicines with NIR diffuse reflection. *Comput Appl Chem*, *25*, 499–502.

- Duan, L. Q., Cui, B. H., & Liu, S. F. (2010). Identification of Chinese medicine pieces with similar appearance of formulations drug decoction. *Chin J Clin Ration Drug Use*, 3, 75–76.
- Gimet, R., & Luong, A. T. (1987). Quantitative determination of polymorphic forms in a formulation matrix using the near infrared reflectance analysis technique. *J Pharm Biomed*, 5, 205–211.
- Harborne, J. (1998). *Phytochemical method - a guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Hou, S. R., Feng, Y. C., & Hu, C. Q. (2008). Development of a near infrared method for rapid determination water content in ceftriaxone sodium for injection. *Chin J Pharm Anal*, 28, 936.
- Hu, G. L., Lu, X. Y., Wu, J. G., Shao, S. R., & Shi, C. H. (2004). Direct determination of total flavones in powder of Ginkgo biloba extract by near-infrared diffuse reflection spectroscopy. *Chin J Pharm Anal*, 24, 18–20.
- Jarkko, H., Leppämäki, M., Paatero, E., & Pentti, M. (1998). Monitoring the kinetics of the ion-exchange resin catalysed esterification of acetic acid with ethanol using near infrared spectroscopy with partial least squares (PLS) model. *Chemom Intell Lab Syst*, 44, 341–352.
- Joshi, D. D. (2012). *FTIR Spectroscopy: Herbal Drugs and Fingerprints BT - Herbal Drugs and Fingerprints: Evidence Based Herbal Drugs* (D. D. Joshi (ed.); pp. 121–146). Springer India.
- Koobkokkrud, T., Chochai, A., Kerdmanee, C., & De-Eknamul, W. (2007). TLC densitometric analysis of artemisinin for rapid screening of high producing plantlets of *Artemisia annua* L. *Phytochem Anal*, 18, 229–234.

- Lei, D. Q., Hu, C. Q., Feng, Y. C., & Feng, F. (2010). Feasibility of the extended application of near infrared universal quantitative models. *Acta Pharm Sin*, 45, 1421–1426.
- Lestari, H. P., Martono, S., Wulandari, R., & Rohman, A. (2017). Simultaneous analysis of Curcumin and demethoxycurcumin in *Curcuma xanthorrhiza* using FTIR spectroscopy and chemometrics. *International Food Research Journal*, 24(5), 2097–2101.
- Li, W., Cheng, Z., Wang, Y., & Qu, H. (2013). Quality control of *Lonicerae Japonicae Flos* using near infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 33–39.
- Li, W. H., & Qu, H. B. (2010). Rapid quantification of phenolic acids in *Radix Salvia miltorrhiza* extract solutions by FT-NIR spectroscopy in transfective mode. *J Pharm Biomed*, 52, 425–431.
- Li, W. H., Xing, L. H., Fang, L. M., Wang, J., & Qu, H. B. (2010). Application of near infrared spectroscopy for rapid analysis of intermediates of tanreqing injection. *J Pharm Biomed*, 53, 350–358.
- Li, W. L., Liu, S. Y., Xue, D. S., & Qu, H. B. (2010). Rapid analysis of bear gall powder extracts with near infrared diffused reflectance spectroscopy. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 45(19), 1500–1503.
- Li, Z. S., Mu, J., Dong, L. R., Yin, M., & Shi, M. Z. (2009). Situation analysis of 30 kinds of false and bad Chinese medicines (pieces). *Yunnan J Tradit Chin Med Mater*, 30, 29–31.
- Liu, C., Mishra, A., & Tan, R. (2006). Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoallantolactone from *Inula racemosa*. *Crop Prot*, 25, 508–511.

- Liu, H., Zhou, Q., Sun, S.-Q., & Bao, H.-J. (2010). Discrimination of different Chrysanthemums with Fourier transform infrared spectroscopy. *J Mol Struct*, *90*, 1071–1080.
- Liu, L. L., Xing, W. X., Jia, N., Lin, P. Y., Mi, H. M., & Wu, Y. T. (2002). Identification of red kojie with elustering analysis by near-infrared diffuse reflectance spectrometry. *Acad J Second Mil Med Univ*, *23*, 1230–1232.
- Liu, S., Zhang, X., Zhou, Q., & Sun, S. (2006). Determination of geographical origins of Chinese medical herbs by NIR and pattern recognition. *Spectrosc Spectr Anal*, *26*(4), 629–632.
- Liu, X. P., Feng, Y. C., Hu, C. Q., & Ding, L. (2008). Construction of universal quantitative models for determination of cefradine capsules. *Chin J Pharm Anal*, *28*, 722–726.
- Liu, Y., & Chen, K. (2012). Several common types of counterfeit and inferior drugs in Chinese medicinal materials market. *Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica*, *37*(8), 1089–1092.
- Long, Y., Zhang, W., Wang, F., & Chen, Z. (2014). Simultaneous determination of three curcuminoids in *Curcuma longa* L. by high performance liquid chromatography coupled with electrochemical detection. *J Pharma Anal*, *4*(5), 325–330.
- Ni, Y. N., & Lin, W. (2011). Near-infrared spectra combined with partial least squares for pH determination of toothpaste of different brands. *Chin Chem Lett*, *22*, 1473–1476.
- Nugraha, A. S., & Keller, P. A. (2011). Revealing indigenous Indonesian traditional medicine: anti-infective agents. *Natural Product Communications*, *6*(12), 1953–1966.
- Obafemi, C., Sulaimon, T., Akinpelu, D., & Olugbade, T. (2006). Antimicrobial activity of extracts and a germacranolide type

sesquiterpene lactone from *Tithonia diversifolia* leaf extract. *Afr J Biotechnol*, 5, 1254–1258.

Prabaningdyah, N. K., Riyanto, S., & Rohman, A. (2018). Application of FTIR spectroscopy and multivariate calibration for analysis of curcuminoid in syrup formulation. *J Appl Pharm Sci*, 8(3), 172–179.

Qu, N., Li, X. S., Y. Dou, H. M., & Y. Guo, Y. R. (2007). Nondestructive quantitative analysis of erythromycin ethylsuccinate powder drug via short-wave near-infrared spectroscopy combined with radial basis function neural networks. *Eur J Pharm Sci*, 31, 156–164.

Rajashree, R., Divya, G., Sushma, P., Kanchan, I., & Sachin, K. (2013). Analytical Study of Curcumin Content in Different Dosage Forms Containing Turmeric Extract Powder and Turmeric Oleoresin. *Int. J. Pharm. Pharm.Sci.*, 4(3), 182–185.

Rohman, A. (2012). Analysis of curcuminoids in food and pharmaceutical products. *International Food Research Journal*, 19(1), 19–27.

Rohman, A., A, N., E, L., & Sudjadi. (2014). Application of vibrational spectroscopy in combination with chemometrics techniques for authentication of herbal medicine. *Appl Spectrosc Rev*, 49(8), 603–613.

Rohman, A., Sudjadi, D, R., & A, N. (2015). A, Sudjadi, Ramadhani D, Nugroho A. Analysis of Curcumin in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* Using FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Res J Med Plant*, 9(4), 179–186.

Schmidt, T. (2006). Structure activity relationship of sesquiterpene lactones. In A. Rahman (Ed.), *Studies in natural product chemistry* (pp. 309–392). Elsevier.

- Sharma, K., Agrawal, S., & Gupta, M. (2012). Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in bulk drug and pharmaceutical dosage forms. *Int J Drug Dev Res*, 4(2), 375–380.
- Shi, C. X., Yang, Y. W., Guo, Z. X., & Zhu, G. G. (2006). Quantitative analysis on Radix Salviae miltiorrhizae by NIR. *J Chin Med Mater*, 29, 897–899.
- Shivali, G., Praful, L., & Vijay, G. (2012). A validated Fourier transform infrared spectroscopy method for quantification of total lactones in *Inula racemosa* and *Andrographis paniculata*. *Phytochemical Analysis : PCA*, 23(2), 171–176.
- Siedle, B., Gustavsson, L., Johansson, S., Murillo, R., Castro, V., Bohlin, L., & Merfort. (2003). The effect of sesquiterpene lactones on the release of human neutrophil elastase. *Biochem Pharmacol*, 65, 897–903.
- Sim, C. O., Hamdan, M. R., Ismail, Z., & Ahmad, M. N. (2004). *Assessment of Herbal Medicines by Chemometrics - Assisted Interpretation of FTIR Spectra*.
- Siregar, C., Martono, S., & Rohman, A. (2018). Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy coupled with multivariate calibration for quantitative analysis of curcuminoid in tablet dosage form. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(08), 151–156.
- Slamet, A., & Andarias, S. H. (2018). Studi Etnobotani dan Identifikasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Masyarakat Sub Etnis Wolio Kota Baubau Sulawesi Tenggara. *Proceeding Biology Education Conference*, 15(1), 721–732.

- Svante, W., Henrik, A., Fredrik, L., & Jerker, Ö. (1998). Orthogonal signal correction of near-infrared spectra. *Chemom Intell Lab Syst*, *44*, 175–185.
- Syed, H. K., Liew, K. Bin, Loh, G. O. K., & Peh, K. K. (2015). Stability indicating HPLC–UV method for detection of curcumin in *Curcuma longa* extract and emulsion formulation. *Food Chemistry*, *170*, 321–326.
- Syukri, Y., Martien, R., Lukitaningsih, E., & Nugroho, A. E. (2016). Quantification of Andrographolide Isolated from *Andrographis paniculata* Nees Obtained from Traditional Market in Yogyakarta Using Validated HPLC. *Indones. J. Chem.*, *16*(2), 190–197.
- Syukri, Y., Nugroho, A. E., Martien, R., & Lukitaningsih, E. (2015). Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Menggunakan HPLC. *JSFK*, *2*(1), 8–14.
- Wahyono, D., & Hakim, A. R. (2007). Effect of the curcuma plus® syrup on the pharmacokinetics of rifampicin in rats. *Indonesian J Pharm*, *18*(4), 163–168.
- Wang, Y., & Yang, Y. F. (2001). The research of Ginkgo biloba pharmacology. *Chin J Mod Appl Pharm*, *18*, 1.
- Wu, Z., Y, Z., J, Z., & Y, W. (2017). Quality Assessment of *Gentiana rigescens* from Different Geographical Origins Using FT-IR Spectroscopy Combined with HPLC. *Molecules*, *22*, 1238.
- Xing, J. S., & Zhang, X. B. (2010). Development of a near-infrared method for rapid determination of ampicillin capsules. *Chin J Pharm Anal*, *30*, 2408–2411.

- Xing, W., Liu, L., Jia, N., Lin, P., Mi, H., & Wu, Y. (2001). Identification of red kojic from different habitats with clustering analysis by near-infrared diffuse reflectance spectrometry. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 24(8), 561—563.
- Xu, D. L., & Ling, G. L. (2010). Construction of NIR models for determination of water in hard capsule of Chinese traditional medicine. *Chin J Pharm Anal*, 30, 2170—2172.
- Xu, G., Liang, Q., Gong, Z., Yu, W., He, S., & Xi, L. (2006). Antitumor activities of four sesquiterpene lactones from *Elephantopus scaber* L. *Exp Oncol*, 28, 106—109.
- Xu, T., Zhou, M., Wang, L. L., Ye, L. M., Chen, C., & Tang, Y. (2009). Determination of taxol in taxol injection using near infrared transmission spectroscopy. *J Biomed Eng*, 26, 982—984.
- Yap, K., Chan, S., & Lim, C. (2007). Authentication of traditional Chinese medicine using infrared spectroscopy: distinguishing between ginseng and its morphological fakes. *J Biomed Sci*, 14, 265—273.
- Yip, W. L., Gausemel, I., Sande, S. A., & Dyrstad, K. (2012). Strategies for multivariate modeling of moisture content in freeze-dried mannitol-containing products by near-infrared spectroscopy. *J Pharm Biomed*, 70, 202—211.
- Zeng, H. J., & Han, Y. (2011). Establishment of near infrared qualitative model for tongxinluo capsules. *Chin Pharm Aff*, 25, 373—374.
- Zhang, C., & Su, J. (2014). Application of near infrared spectroscopy to the analysis and fast quality assessment of traditional Chinese medicinal products. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(3), 182—192.
- Zhang, Q., & Acworth, I. (2013). The quantitative analysis of curcuminoids in a food additive and foods evaluated using rapid HPLC with electrochemical, UV or fluorescence detection. *Planta Med*, 79.

- Zhang, Z. (2011). Development of a near-infrared diffuse method for rapid determination of astilbin and ursolic acid in Alcohol extract from *Cornus officinalis*. *Anhui Med Pharm*, *15*, 955–957.
- Zhao, Q. C., Du, Z. C., Zhang, L., Song, Q. Y., & Shi, G. B. (2009). Determination content of ursolic acid in 5 kinds of Chinese herbal medicine by HPLC. *Chin Tradit Herb Drug*, *40*, 1821–1823.
- Zou, W. B., Feng, Y. C., Song, D. Q., & Hu, C. Q. (2012). Construction of a universal quantitative model for the determination of azithromycin in granules using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Chin Pharmacol J*, *21*, 459–467.