

**DISERTASI**

**PENGEMBANGAN EKSTRAK ETANOL SEMBUKAN  
(*Paederia Foetida L.*) SEBAGAI BAHAN BAKU STANDAR  
KOSMETIK PENGHAMBAT TIROSINASE**

***THE DEVELOPMENT OF ETHANOL EXTRACT (*Paederia foetida L.*) LEAVES AS COSMETIC RAW MATERIALS OF TYROSINASE INHIBITORS***

**MUKHRIANI**



**PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PENGEMBANGAN EKSTRAK ETANOL SEMBUKAN (*Paederia foetida L*) SEBAGAI BAHAN BAKU STANDAR KOSMETIK PENGHAMBAT TIROSINASE**

***THE DEVELOPMENT OF ETHANOL EXTRACT (Paederia foetida L.) LEAVES AS COSMETIC RAW MATERIALS OF TYROSINASE INHIBITORS***

**Disertasi**

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doctor**

**Program studi ilmu farmasi**

**Di susun dan di ajukan oleh**

**MUKHRIANI**

**Kepada**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**DISERTASI**

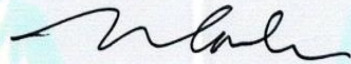
**PENGEMBANGAN EKSTRAK ETANOL SEMBUKAN  
(*Paederia foetida* L.) SEBAGAI BAHAN BAKU STANDAR  
KOSMETIK PENGHAMBAT TIROSINASE**

**MUKHRIANI  
NIM N013172002**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk rangka  
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 14 Februari 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

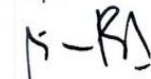
Menyetujui

Promotor



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
Nip. 19641231 199002 1 005

Ko-promotor



Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt.  
Nip.19751117 200012 2 001

Ko-promotor



Yulia Yusrini, S.Si., M.BM.Sc., M.Si., Ph.D.  
Nip.19780728 200212 2 003

Ketua Program Studi

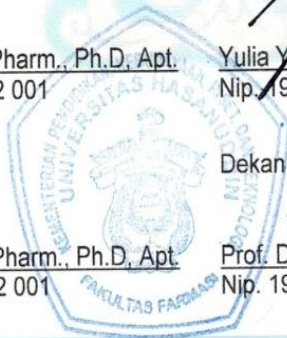


Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt.  
Nip.19751117 200012 2 001

Dekan Fakultas Farmasi



Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt.  
Nip. 19670319 199203 2 002



## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul "Pengembangan Ekstrak Etanol Sembukan (*Paederia Foetida L.*) Sebagai Bahan Baku Standar Kosmetik Penghambat Tirosinase" adalah benar karya saya sendiri dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. sebagai Promotor dan Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. sebagai ko-promotor-1 serta Yulia Yusrini, S.Si., M.BM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt. sebagai ko promotor-2. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka disertasi ini. Sebagian dari isi disertasi ini telah dipublikasikan di *Pharmacognosy Journal* Volume 12(3), Halaman 436-441, DOI: <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2020.12.67> sebagai artikel dengan judul *Chemometric Analysis of Arbutin Derivatives from Paederia foetida and Vitis vinifera with Fourier Transform Infrared (FTIR)* dan Indonesian Journal of Pharmacy dengan DOI : <https://doi.org/10.22146/ijp.4486> sebagai artikel dengan judul *Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Activity of Paederia foetida L.*

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.



Makassar, 14 Februari 2023

Mukhriani

NIM. N013172002

## PRAKATA

*Bismillaahirrahmaanirrahiim,*

Segala puji hanya bagi Allah *Subhanahu wa ta'ala* Rabb Semesta Alam Yang Maha Pengasih, Maha Penyayang, Maha Bijaksana, dan Maha Mengetahui segala sesuatu. Hanya kepada-Nya tempat meminta pertolongan, rahmat, dan karunia dalam meniti kehidupan yang fana ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad *Shallallahu 'alaihi wasallam* sebaik-baik teladan yang telah menyampaikan risalah kebenaran bagi seluruh umatnya, juga kepada keluarga, para sahabat, dan orang-orang yang mengikuti jalan Rasulullah hingga Hari Kiamat.

Penulisan disertasi ini tidaklah mungkin bisa terselesaikan tanpa izin Allah *azza wa jalla* melalui bantuan, dukungan, dan nasihat dari berbagai pihak.

1. Promotor, Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt, atas doa, ilmu, motivasi, kesabaran dan pengertian, dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan disertasi ini.
2. Ko-promotor, Ibu Hj. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. dan Ibu Yulia Yusrini, M.BM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt., yang telah memberikan ilmu, dukungan, doa, beserta kesabaran dalam membimbing penulis.
3. Tim penguji disertasi : Prof. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt (penguji eksternal), Ibu Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA. Apt, Ibu Prof. Dr. Asnah Marzuki., M.Si., Apt, Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt., Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. yang telah memberikan saran yang membangun kepada penulis dalam penyelesaian disertasi ini.
4. Dekan Fakultas Farmasi : Prof.Dr.rer.nat. Hj. Marianti Manggau M.Si., Apt atas dukungan dan fasilitas dalam penyelesaian disertasi ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga untuk sosok yang paling istimewa yaitu orang tua penulis, Hj Sami dan keluarga penulis atas doa, kasih sayang, motivasi, pengertian dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan studi. Kepada Bapak kami H.Bengnga, (*allahu yarham*), semoga Allah memberikan tempat yang terbaik di sisi-Nya, *Aamiin allahumma aamiin*.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada teman-teman seperjuangan penulis yaitu teman–teman S3 Farmasi Angkatan 2017 Universitas Hasanuddin, juga kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu penulis. Semoga setiap kebaikan dibalas oleh Allah *Subhanahu wa ta'ala*.

Penulis,

Mukhriani

## ABSTRAK

### **MUKHRIANI. Pengembangan Ekstrak Etanol Daun Sembukan ((*Paederia Foetida* L) Sebagai Bahan Baku Standar Kosmetik Penghambat Tirosinase (dibimbing oleh Gemini Alam, Yusnita Rifai dan Yulia Yusrini)**

Tanaman sembukan merupakan salah satu famili rubiceae yang sudah lama digunakan sebagai obat tradisional. Berdasarkan studi pustaka diketahui daun sembukan mengandung berbagai jenis senyawa salah satunya adalah arbutin yang memiliki aktivitas sebagai penghambat tyrosinase, sehingga potensi daun sembukan terhadap aktivitas enzim tyrosinase perlu untuk dieksplorasi lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan mendapatkan bahan baku potensial sebagai penghambat tyrosinase yang memenuhi standarisasi bahan baku yang meliputi parameter spesifik dan non spesifik. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi daun sembukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dipartisi dengan metode partisi cair- cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Fraksi etil asetat kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum, sehingga diperoleh 2 gabungan fraksi yaitu fraksi A dan fraksi B. Berdasarkan profil KLT, fraksi B di isolasi lebih lanjut secara KLTP, sehingga diperoleh 5 isolat yaitu F1, F2, F4, F5 dan F6. Penetapan kadar fenolik total (TPC) dan kandungan flavonoid total (TFC) dievaluasi dengan menggunakan Folin-Ciocalteu dan kolorimetri aluminium klorida ( $AlCl_3$ ). Metode penentuan kapasitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH), kekuatan antioksidan pereduksi besi (FRAP), dan pengurang tembaga kapasitas antioksidan (CUPRAC). Penentuan nilai SPF dilakukan berdasarkan perhitungan nilai persen Transmisi Eritema (%Te) dan nilai persen Transmisi Pigmentasi (%Tp) dengan metode spektrofotometri. Aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan menggunakan metode ELISA dengan L-tirosin sebagai substrat dan diukur pada panjang gelombang 490 nm. Hasil penelitian menunjukkan TPC pada ekstrak kasar, fraksi A, dan fraksi B berturut – turut adalah  $173,18 \pm 3,99$  QE mg/g,  $553,95 \pm 5,70$  mg QE /g dan  $405,37 \pm 33,90$  mg QE mg/g. TFC pada ekstrak kasar, fraksi A, dan fraksi B adalah  $12,79 \pm 0,25$  mg GAE /g,  $143,16 \pm 9,27$  mg GAE/g dan  $143,50 \pm 6,90$  mg GAE/g . Kapasitas antioksidan terbaik dari ekstrak tersebut ditunjukkan dengan metode DPPH ( $15,71 \pm 1,6$  mg TEAC/g dan  $100,77 \pm 8,5$  mg AAEC/g). Fraksi B menunjukkan kapasitas antioksidan terbaik pada metode FRAP ( $11,48 \pm 1,5$  TEAC/g dan  $8,39 \pm 1,2$  mg AAEC/g ) dan metode CUPRAC ( $116,34 \pm 1,9$  mg TEAC/g dan  $66,11 \pm 1,3$  mg AAEC/g). Dari pengujian SPF didapatkan nilai SPF terbaik pada fraksi A dimana konsentrasi 250 ppm menunjukkan nilai SPF 40,882 dan konsentrasi 200 ppm menunjukkan nilai SPF 19,486. Aktivitas penghambatan tirosinase menunjukkan bahwa IC50 dari fraksi A dan B masing-masing adalah 13,67 g/mL dan 13,37 g/mL. Standarisasi bahan baku dengan pengujian parameter spesifik yaitu pengamatan organoleptik ekstrak kental menunjukkan pemerian berwarna kuning. Pengujian parameter non spesifik meliputi kadar air 5,98%, susut pengeringan 6,28%, kadar abu 0,65%, kadar abu tidak larut asam 0,06%, kadar senyawa larut air 71,92%, kadar senyawa larut etanol 63,99%. Pemeriksaan logam arsen (As), Kadmium (Cd), Merkuri (Hg) dan Timbal (Pb) tidak terdeteksi. Pengujian ALT dan AKK < 10 CFU/gr. Pengujian *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aerius* menunjukkan hasil yang negatif. Dari hasil analisis isolat F5 menggunakan GC-MS diidentifikasi beberapa senyawa antara lain senyawa - D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol

sembukan memenuhi standar mutu bahan baku kosmetik penghambat tyrosinase berdasarkan pengujian parameter spesifik dan non spesifik.

Kata kunci : Sembukan, penghambat tyrosinase, karakterisasi senyawa



## ABSTRACT

### **MUKHRIANI. Development of Powdered Ethanol Extract (*Paederia Foetida* L.) as Standard Raw Material for Tyrosinase Inhibitor Cosmetics (supervised by Gemini Alam, Yusnita Rifai and Yulia Yusrini)**

Sembukan plant is one of the Rubiceae family which has long been used as a traditional medicine. Based on the literature study, it is known that sembukan leaves contain various types of compounds, one of which is arbutin which has activity as a tyrosinase inhibitor, so that the potential of sembukan leaves on tyrosinase enzyme activity needs to be explored further. This study aims to obtain potential raw materials as tyrosinase inhibitors that meet the standardization of raw materials which include specific and non-specific parameters. In this research, sembukan leaf extraction was carried out by maceration method using 96% ethanol solvent. The ethanol extract obtained was then partitioned using the liquid-liquid partitioning method using n-hexane, ethyl acetate and water as solvents. The ethyl acetate fraction was then fractionated using the vacuum liquid chromatography method, so that 2 combined fractions were obtained, namely fraction A and fraction B. Based on the TLC profile, fraction B was further isolated by TLC, in order to obtain 5 isolates namely F1, F2, F4, F5 and F6. Determination of total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) was evaluated using Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetry (AlCl<sub>3</sub>). Methods for determining antioxidant capacity were determined using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), iron-reducing antioxidant strength (FRAP), and copper-reducing antioxidant capacity (CUPRAC). Determination of the SPF value was carried out based on the calculation of the percent value of Erythema Transmission (%Te) and the percent value of Pigmentation Transmission (%Tp) using the spectrophotometric method. Tyrosinase inhibitory activity was carried out using the ELISA method with L-tyrosine as a substrate and was measured at a wavelength of 490 nm. The results showed that the TPC in the crude extract, fraction A, and fraction B were  $173.18 \pm 3.99$  QE mg/g respectively,  $553.95 \pm 5.70$  mg QE /g and  $405.37 \pm 33.90$  mg QE mg/g. The TFC in the crude extract, fraction A, and fraction B were  $12.79 \pm 0.25$  mg GAE /g,  $143.16 \pm 9.27$  mg GAE/g and  $143.50 \pm 6.90$  mg GAE/g. The best antioxidant capacity of the extract was demonstrated by the DPPH method ( $15.71 \pm 1.6$  mg TEAC/g and  $100.77 \pm 8.5$  mg AAEC/g). Fraction B showed the best antioxidant capacity in the FRAP method ( $11.48 \pm 1.5$  TEAC/g and  $8.39 \pm 1.2$  mg AAEC/g) and the CUPRAC method ( $116.34 \pm 1.9$  mg TEAC/g and  $66.11 \pm 1.3$  mg AAEC/g). From the SPF test, the best SPF value was obtained for fraction A where a concentration of 250 ppm showed an SPF value of 40.882 and a concentration of 200 ppm showed an SPF value of 19.486. Tyrosinase inhibitory activity showed that the IC<sub>50</sub> of fractions A and B were 13.67 g/mL and 13.37 g/mL, respectively. Standardization of raw materials by testing specific parameters, namely organoleptic observations of viscous extracts showed a yellow color. Non-specific parameter testing included 5.98% water content, 6.28% drying shrinkage, 0.65% ash content, 0.06% acid-insoluble ash content, 71.92% water-soluble compound content, 63% ethanol-soluble compound content .99%. Arsenic (As), Cadmium (Cd), Mercury (Hg) and Lead (Pb) were not detected. ALT and AKK testing < 10 CFU/gr. Tests for *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aerius* showed negative results. From the analysis of F5 isolates using GC-MS, several compounds were

identified, including -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate. From the results of the study it can be concluded that the ethanol extract of the spray meets the quality standards for cosmetic raw materials for tyrosinase inhibition based on testing of specific and non-specific parameters.

Keywords: Sembukan, tyrosinase inhibitor, compound characterization

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN UMUM.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Ruang Lingkup Penelitian .....	4
1.6 Kebaruan Penelitian.....	4
BAB II ANALISIS KEMOMETRIK <i>Paederia foetida</i> L DAN <i>Vitis vinifera</i> DENGAN FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) .....	6
2.1 Pendahuluan.....	6
2.2 Metode Penelitian .....	7
2.2.1 Ekstraksi dan Partisi.....	7
2.2.2 Identifikasi Senyawa Fenolik .....	8
2.2.3 Analisis Kemometrik.....	8
2.3 Hasil Penelitian dan Pembahasan .....	8
2.3.1 Principal Component Analysis (PCA) .....	12
2.3.2 Cluster Analisis (CA) .....	15
2.4 Kesimpulan.....	17
2.5 Daftar Pustaka .....	18
BAB III AKTIVITAS TYROSINASE DAN ANTIOKSIDAN <i>PAEDERIA</i> <i>FOETIDA</i> L. ....	20

3.1	Pendahuluan.....	18
3.2	Metode Penelitian .....	18
3.2.1	Penyiapan Sampel.....	18
3.2.2	Ekstraksi dan Fraksinasi .....	19
3.2.3	Kromatografi Lapis Tipis.....	19
3.2.4	Kandungan Fenolik Total .....	19
3.2.5	Kandungan Flavanoid Total .....	20
3.2.6	Metode DPPH .....	20
3.2.7	Metode FRAP .....	20
3.2.8	Metode CUPRAC .....	20
3.2.9	Aktivitas Penghambatan Tyrosinase .....	21
3.2.10	Docking Molekuler.....	21
3.2.11	Analisis Statistik .....	22
3.3	Hasil dan Pembahasan .....	22
3.3.1	Kandungan Total Fenolik dan Flavanoid .....	22
3.3.2	Kapasitas Antioksidan.....	23
3.3.3	Aktivitas Penghambatan Tyrosinase .....	25
3.3.4	Docking Molekuler.....	25
3.4	Kesimpulan.....	27
3.5	Daftar Pustaka .....	28
<b>BAB IV UJI POTENSI TABIR SURYA DAN NILAI <i>SUN PROTECTING</i></b>		
	<b><i>FACTOR (SPF) DAUN SEMBUKAN (<i>Paederia foetida</i> L)</i></b> .....	<b>30</b>
4.1	Pendahuluan .....	30
4.2	Metode Penelitian .....	31
4.2.1	Penyiapan Sampel.....	31
4.2.2	Ekstraksi dan Fraksinasi .....	32
4.2.3	Pembuatan Konsentrasi dan Pengukuran Absorbansi Bahan Uji ..	32
4.2.4	Penentuan Nilai Transmisi Eritema dan Pigmentasi .....	32
4.2.5	Penentuan Nilai SPF .....	33
4.3	Hasil dan Pembahasan .....	34
4.4	Kesimpulan.....	36
4.5	Daftar Pustaka .....	36
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN UMUM</b> .....		<b>38</b>
5.1	Ekstraksi .....	38
5.2	Partisi .....	39

5.3 Fraksinasi .....	40
5.4 Kromatografi Kolom .....	41
5.5 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif .....	42
5.6 Spektrofotometer FT-IR .....	43
5.7 Gas Chromatography-Mass Spektrofotometri .....	46
5.8 Total Fenolik dan Total Flavanoid .....	49
5.9 Kapasitas Antioksidan.....	50
5.10 Potensi Tabir Surya .....	53
5.11 Pengujian Tyrosinase .....	57
5.12 Standarisasi .....	59
BAB VI KESIMPULAN .....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN .....	64

## DAFTAR TABEL

NOMOR	HALAMAN
1. Data spektrum IR .....	11
2. Intensitas puncak spektrum .....	15
3. Kandungan total fenol dan flavanoid ekstrak dan fraksi daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	23
4. Kapasitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	24
5. Ikatan hidrogen antara ligan dengan residu MET, ASN, ARG, MET .....	26
6. Interaksi hidrofobik antara ligan dan residu VAL .....	26
7. %Te dan %Tp ekstrak daun <i>Paederia foetida</i> L. ....	34
8. %Te dan %Tp fraksi A daun <i>Paederia foetida</i> L. ....	34
9. %Te dan %Tp fraksi B daun <i>Paederia foetida</i> L. ....	34
10. Nilai SPF ekstrak, fraksi A dan fraksi B daun <i>Paederia foetida</i> L. ....	3p
11. Hasil ekstraksi daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	39
12. Hasil partisi daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	39
13. Hasil Pengukuran ekstrak dengan Instrumen Spektrofotometer FT-IR ..	45
14. Hasil Pengukuran Isolat dengan Instrumen Spektrofotometer FT-IR .....	47
15. Daftar komponen mayor pada ekstrak dan isolat <i>Paederia foetida</i> (F1, F2, F3, F4, F5, F6) yang dideteksi dgn GC-MS .....	48
16. Komponen Bioaktif pada ekstrak dan isolate <i>Paederia foetida</i> (F1, F2, F3, F4, F5, F6) .....	50
19. Nilai persen (%) transmisi eritema ekstrak sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	52
20. Nilai persen (%) transmisi pigmentasi ekstrak sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	52
21. Nilai SPF ekstrak sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	52
22. Nilai persen (%) transmisi eritema Fraksi A sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	53
23. Nilai persen (%) transmisi pigmentasi Fraksi A sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	53
24. Nilai SPF Fraksi A sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	53
25. Nilai persen (%) transmisi eritema Fraksi B sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	54
26. Nilai persen (%) transmisi pigmentasi fraksi B sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	54
27. Nilai SPF fraksi B sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	54
28. Nilai persen (%) transmisi eritema fraksi C sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	54
29. Nilai persen (%) transmisi pigmentasi fraksi C daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	55
30. Nilai SPF fraksi C daun sembukan ( <i>Paederia foetida</i> L.) .....	56
31. Efek ekstrak dan fraksi terhadap penghambatan tyrosinase .....	57
32. Parameter Uji ekstrak (standarisasi) .....	58

## DAFTAR GAMBAR

NOMOR	HALAMAN
1. Spektrum IR arbutin, daun dan batang sembukun, anggur .....	11
2. Spektrum IR arbutin .....	12
3. Spektrum IR daun sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	12
4. Spektrum IR batang sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	13
5. Spektrum IR daun anggur ( <i>Vitis vinifera</i> ).....	13
6. PCA score plot.....	15
7. PCA loading plot dari PC1 - PC2 .....	15
8. Dendrogram pada analisis cluster .....	16
9. Struktur tersier tyrosinase .....	22
10. Total fenolik dan flavonoid .....	24
11. Kapasitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	25
12. Aktivitas penghambatan tyrosinase sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	26
13. Pola pengikatan antara ligan dan reseptor .....	27
14. Grafik %Te dan %Tp ekstrak dan fraksi daun sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	35
15. Grafik SPF ekstrak dan fraksi daun sembukun ( <i>Paederia foetida</i> L.).....	36
16. Profil KLT hasil fraksinasi, menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat (3:1) dan fase diam lempeng silika GF254 yang diamati pada (a) UV 254 nm; (b) setelah penyemprotan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%.....	41
17. Profil KLT hasil fraksinasi, menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat (3:1) dan fase diam lempeng silika GF254 yang diamati pada (a) UV 254 nm; (b) setelah penyemprotan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%.....	42
18. Profil KLTP, menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat (3:1) dan fase diam lempeng silika PF254 yang diamati pada UV 254 nm .....	43
19. Profil KLT isolat, menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat (3:1) dan fase diam lempeng silika GF254 yang diamati pada (a) UV 254 nm; (b) setelah penyemprotan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%.....	44
20. Spektrum Hasil Pengukuran ekstrak dengan Instrumen Spektrofotometer FT-IR .....	45
21. Spektra FTIR Isolat <i>Paederia Foetida</i> berturut – turut dari atas ke bawah (F1, F2, F4, F5, F6)	
22. Spektra FTIR isolat F1, F2, F4, F5 dan F6 .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

NOMOR	Gambar	HALAMAN
1.	Publikasi .....	64
2.	Kerangka teori .....	65
3.	Kerangka konsep .....	66
4.	Tanaman sembukan .....	67
5.	Partisi cai- cair .....	67
6.	Hasil Partisi.....	67
7.	Kromatografi cair vakum .....	67
8.	Kromatografi kolom.....	68
9.	Alat GC-MS.....	68
10.	Penyiapan sampel pengujian eritema .....	69
11.	Penyiapan sampel pengujian tyrosinase .....	69
12.	Skema pengujian tyrosinase .....	70
13.	Skema kerja ekstraksi dan isolasi .....	71
14.	Skema Uji Penetapan Kadar Fenolik dan flavanoid.....	71
15.	Skema Uji Kapasitas Antioksidan DPPH,FRAP,CUPRAC.....	72
16.	Skema Kerja Potensi Tabir Surya .....	73
17.	Skema Uji Penghambatan Aktivitas Enzym Tyrosinase .....	74
18.	Spektra FTIR F1, F2, F4, F5, F6.....	75

### Tabel

1.	Daftar Senyawa Ekstrak Sembukan yang terdeteksi pada GC-MS .....	76
2.	Daftar Senyawa Isolate Sembukan F1 yang terdeteksi pada GC-MS.....	77
3.	Daftar Senyawa Isolate Sembukan F2 yang terdeteksi pada GC-MS.....	78
4.	Daftar Senyawa Isolate Sembukan F4 yang terdeteksi pada GC-MS.....	79
5.	Daftar Senyawa Isolate Sembukan F5 yang terdeteksi pada GC-MS.....	80
6.	Daftar Senyawa Isolate Sembukan F6 yang terdeteksi pada GC-MS ...	81
7.	Penetapan Kadar Fenolik Total dan Penetapan Kadar Total Flavanoid .	82
8.	Kapasitas Antioksidan Sembukan dengan Metode DPPH.....	83
9.	Kapasitas Antioksidan Sembukan dengan Metode FRAP .....	84
10.	Kapasitas Antioksidan Sembukan dengan Metode CUPRAC.....	85
11.	Transmisi Eritema dan Pigmentasi (ekstrak, fraksi A, B dan C).....	86
12.	Pengujian statistik kadar fenolik dan flavanoid .....	153
13.	Pengujian statistik kapasitas antioksidan .....	154
14.	Pengujian statistik SPF .....	155
15.	Pengujian statistik tyrosinase .....	156
16.	Parameter uji .....	157



## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
A	Absorbansi
Å	Angstrom
AAEC	Asam ascorbat equivalent content
CUPRAC	<i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
CA	<i>Cluster Analysis</i>
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
<i>et al.</i>	<i>et all</i> , kawan - kawan
FRAP	<i>Ferric reducing ability of plasma</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
g	Satuan bobot gram
hTyr	<i>human tyrosinase</i>
KLT	Kromatografi lapis tipis
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry</i>
<i>met</i>	Met-tirosinase
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
MITF	<i>microphthalmia-associated transcription factor.</i>
Oxy-T	Oxy-tirosinase
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
p.a	Pro Analisis
ppm	<i>Part per million</i>
PPO	Prophenoloxidase
Rf	<i>Retardation factor</i>
TEAC	<i>Trolox equivalent antioksidan content</i>
TPTZ	Tripyridyl-S-triazine
UFLC	Ultra fast liquid chromatography
UV	Ultraviolet
Vis	<i>Visible</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN UMUM

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Popularitas obat herbal telah meningkat secara signifikan selama beberapa tahun terakhir ini. Hampir di seluruh pulau di Indonesia, jumlah tanaman yang digunakan sebagai obat herbal telah berkembang pesat. Oleh karena itu diakui bahwa konsumen menganggap obat yang berasal dari sumber tumbuhan lebih aman daripada yang sintetis. Penelitian sebelumnya mengungkapkan beberapa tanaman memiliki sifat antioksidan yang signifikan, oleh karena itu kebutuhan untuk mengidentifikasi beberapa sumber tanaman dengan kemampuan antioksidan telah mendapatkan relevansi yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir (Al-Dabbas, 2017).

Antioksidan berfungsi menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Manongkoa 2020). Radikal bebas dapat memulai reaksi berantai yang mengakibatkan desintegrasi membrane sel karena sering dikaitkan dengan berbagai proses penyakit seperti peradangan, penuaan dan kanker (Zukhruf *et al.*, 2021). Proses penuaan termasuk penuaan kulit disebabkan oleh banyak faktor (Farage *et al.*, 2008). Salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi adalah paparan sinar matahari terhadap kulit sehingga dapat menyebabkan gangguan pigmentasi.

Hiperpigmentasi tidak hanya menjadi masalah estetika tetapi juga masalah dermatologi (Lin *et al.*, 2008). Pigmen melanin pada kulit manusia sebenarnya merupakan sebuah mekanisme pertahanan utama terhadap radiasi sinar ultraviolet. Salah satu agen penyebab utama terjadinya hiperpigmentasi adalah sinar radiasi ultraviolet (Gilcrest *et al.*, 1996). Akibat terpapar langsung dengan sinar matahari (sinar UV), maka pada kulit dapat terjadi melanogenesis dan untuk mencegahnya adalah dengan menggunakan inhibitor tyrosinase (Seo *et al.*, 2003). Melanogenesis merupakan proses pembentukan melanin, yaitu pigmen yang memberi warna pada kulit, rambut, dan iris mata. Melanin merupakan polimer dari berbagai senyawa indol yang disintesis dari *L-tyrosine* dan banyak terdapat di epidermis kulit.

Penggunaan inhibitor tyrosinase merupakan salah satu cara untuk mencegah hiperpigmentasi kulit (Nerya *et al.*, 2004). Adapun inhibitor tyrosinase yang telah dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik oleh pabrik kosmetik diantaranya hidrokuinon (Briganti *et al.*, 2003; Solano *et al.*, 2006; Picardo dan Carrera, 2007), merkuri (Karioti *et al.*, 2007), asam azelaic (Grimes, 1995), dan asam kojat (Shiino *et al.*, 2003; Badreshia-Bansal dan Draelos, 2007) dan saat ini arbutin (Lim Y *et al.*, 2009). Hydroquinone menghambat proses melanogenesis dengan sangat efektif, sehingga digunakan sebagai agen depigmentasi (Chavin *et al.*, 1998. Markino *et al.*, 2013). Namun saat ini penggunaannya dalam kosmetik telah dilarang di Eropa Union dan Badan Pengawasan Obat dan Makanan AS (FDA) (Migas *et al.*, 2015). Dibandingkan dengan hydroquinone, arbutin menunjukkan aktivitas hipopigmentasi yang non toksik (Sugai T., 1992).

Beberapa upaya sudah dilakukan untuk menyelidiki inhibitor tyrosinase yang aman dan efektif baik berasal dari senyawa alami maupun sintetik (Ley dan Bertram, 2001; Um *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2006). Meskipun telah banyak penelitian dan informasi tentang inhibitor tyrosinase namun hanya sedikit inhibitor yang dapat diterapkan karena keterbatasannya dalam hal sitotoksisitas, selektivitas, dan stabilitas (Seo *et al.*, 2003; Karioti *et al.*, 2007). Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan inhibitor tyrosinase banyak diinvestigasi, termasuk di dalamnya adalah senyawa arbutin (Garcia-Jimenez *et al.*, 2017; Masyita *et al.*, 2021).

Tanaman sembukan (*Paederia foetida*) merupakan salah satu tanaman yang disebutkan memiliki kandungan arbutin (Utami, 2006; Aronson, 2009) dan belum pernah dilakukan isolasi arbutin dari tanaman tersebut. Tanaman ini mengandung senyawa kimia pada batang dan daun yaitu asperuloside, deacetyl asperuloside, scandoside, paederosid, paederosidic acid, gama-sitosterol, arbutin, oleanolic acid, dan minyak menguap (Utami, 2008). Tanaman sembukan memiliki potensi antioksidan kuat dengan kandungan fenolik yang tinggi (Bardoloi *et al.*, 2016). *Paederia foetida* merupakan familia rubiaceae, telah lama digunakan sebagai obat tradisional di negara subtropis (Afroz, 2006).

Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data ilmiah tentang efektivitas daun sembukan (*Paederia foetida* L.) dalam menghambat aktivitas enzim tyrosinase. Teori ilmiah mengenai pengaruh molekuler tanaman obat yang berkhasiat sebagai pemutih kulit alami sangat diperlukan untuk pengembangan sediaan kosmetik yang aman dan selektif.

Potensi daun semburan terhadap aktivitas enzim tirosinase perlu untuk dieksplorasi lebih lanjut. Penelitian awal ditunjukkan bahwa tanaman semburan mengandung arbutin yang telah dibuktikan melemahkan aktivitas tyrosinase tanpa mempengaruhi ekspresi mRNA, dan menghambat polimerase asam 5,6-dihidroksiindola-2-karboksilat (Chakraborty AK *et al.*, 1998). Selain itu, ditemukan bahwa modifikasi dalam struktur arbutin menyebabkan peningkatan aktivitas antipigmentasi. Kurangnya efek merugikan yang signifikan dari arbutin dan turunannya membuat arbutin menjadi alternatif yang berharga hydroquinone. Oleh karena itu, minat yang meningkat pada arbutin dan turunannya diamati terutama di industri kosmetik (Migas and Krauze-Baranowska 2015). Berdasarkan penelitian di atas, maka dilakukan penetapan kadar fenolik, flavonoid, kapasitas antioksidan, penetapan nilai SPF, pengujian enzim tyrosinase dan penelusuran senyawa penghambat tyrosinase dengan menggunakan GC.MS, penentuan parameter spesifik dan non spesifik pada daun semburan sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut, untuk mendukung pengembangannya sebagai salah satu sumber bahan alam yang berperan sebagai penghambat tyrosinase.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan utama dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana kapasitas Antioksidan dan perbandingan metode pengujian terhadap kapasitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L.
2. Bagaimana efektivitas tabir surya dan nilai SPF dari ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L.
3. Bagaimana aktivitas penghambatan tyrosinase dari ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L.
4. Bagaimana karakterisasi senyawa dari *Paderia foetida* L.
5. Bagaimana standarisasi dari ekstrak *Paderia foetida* L.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Menentukan kapasitas antioksidan dan metode pengujian yang paling sesuai untuk ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L

2. Menentukan efektivitas tabir surya dan nilai SPF dari ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L.
3. Menentukan uji aktivitas penghambatan tyrosinase dari ekstrak dan fraksi *Paderia foetida* L.
4. Menentukan karakterisasi senyawa dengan menggunakan Spektro IR dan GC.MS.
5. Menentukan standarisasi dari ekstrak *Paderia foetida* L..

#### 1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan bahan alam yang memiliki penghambatan aktivitas tyrosinase . Selain itu penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi terhadap kemajuan pemanfaatan bahan alam, terutama kemandirian dalam bahan baku obat tradisional khususnya dalam sediaan kosmetik.

#### 1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah melakukan pengujian kapasitas antioksidan dengan membandingkan metode pengujian DPPH, CUPRAC dan FRAP, melakukan uji terhadap potensi dan aktivitas ekstrak/Fraksi daun semburan (*Paederia foetida* Lin.) sebagai tabir surya dan menetapkan nilai SPF nya, melakukan pengujian enzyme tyrosinase dan melakukan karakterisasi dengan menggunakan spektro IR, GC-MS, UV Vis.

#### 1.6 Kebaruan Penelitian

Kebaruan penelitian adalah karakterisasi senyawa dan pengujian enzyme tyrosinase *Paederia foetida*. Dalam hal ini didapatkan senyawa -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate dan  $\alpha$ -D-Glucofuranose, 6-O-(trimethylsilyl)-, cyclic 1,2:3,5-bis(butylboronate) yang diperkirakan mampu menghambat melanogenesis karena memiliki kemiripan dengan senyawa gula yang terdapat pada arbutin (D-

Glucopyranoside). Sedangkan senyawa non gulanya dalam hal ini methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate memiliki kemiripan dengan senyawa methyl-2-acetylamino-3-(4-hydroxyl-3,5-dimethoxybenzoylthio) propanoate (MAHDP) yang dapat menekan melanogenesis melalui jalur pensinyalan ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) yang dimediasi degradasi proteasomal MITF (*Microphthalmia-associated transcriptionfactor*). MAHDP melemahkan produksi melanin dalam sel-sel -MSH (melanocyte stimulating hormone) yang dirangsang-B16F1. MAHDP menurunkan ekspresi tirosinase, protein terkait tirosinase-1 (TRP-1), dan protein terkait tirosinase-2 (TRP-2) (Ji Hoo ha 2018). Dalam hal ini pada prinsipnya, diasumsikan bahwa senyawa yang struktur kimianya mirip memiliki sifat biologis yang mirip.

## **BAB II**

# **ANALISIS KEMOMETRIK *Paederia foetida* L. DAN *Vitis vinifera* DENGAN FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)**

### **Abstrak**

*Paederia foetida* dan *Vitis vinifera* dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan karena adanya kandungan fitokimia polifenolnya. Arbutin dapat dimasukkan sebagai senyawa aktif dari tanaman tersebut. Analisis kemometrik digunakan untuk mengidentifikasi kesamaan gugus fungsi pada senyawa arbutin dengan senyawa yang ada pada *Paederia foetida* dan *Vitis vinifera*. Metode yang digunakan adalah partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksan dan air, diikuti oleh partisi etil asetat dan air. Hasil partisi dianalisis menggunakan spektroskopi FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsional. Selanjutnya dianalisis menggunakan metode kemometrik (Principal Analisis Komponen dan Analisis Cluster). Hasil spektroskopi FTIR, gugus fungsi pada *Paederia foetida* L. dan *Vitis vinifera* identik dengan gugus fungsi yang ditemukan dalam arbutin. Analisis PCA dicapai dengan menggunakan komponen utama dari nilai eigenvalue sekitar 75% dari total varians. Kesimpulan: Analisis CA menunjukkan bahwa turunan arbutin memiliki kedekatan yg lebih dekat dengan *Paederia foetida* dengan kemiripan 77,61% dibandingkan dengan *Vitis Vinifera*.

## **2.1 PENDAHULUAN**

Arbutin ( $\beta$ -arbutin) adalah pemutih alami senyawa turunan glikosilasi dari hidrokuinon sebagai inhibitor tyrosinase. Senyawa ini dapat diperoleh dari Ericaceae (berberry, strawberry, huckleberry), Saxifragaceae, Asteraceae, Rosaceae, Lamiaceae, Apiaceae dan ditemukan pada buah pir (*Pyrus communis* L.). Persentase arbutin pada tanaman sangat bervariasi sesuai dengan masing – masing spesies (17% dalam daun *Arctostaphylos uva ursi*, 5% di daun *Origanum majorana*) (EMEA, 2012). Beberapa upaya telah dilakukan untuk menyelidiki inhibitor tyrosinase yang aman dan efektif dari keduanya senyawa alami dan senyawa sintesis (Ley J P et al., 2001; Um S J et al., 2003; Park K H et al., 2006). Meskipun sudah banyak penelitian dan informasi tentang inhibitor tyrosinase, hanya beberapa inhibitor dapat diterapkan karena keterbatasan dalam hal sitotoksitas, selektivitas dan stabilitas (Seo S Y et al., 2003; Karioti et al., 2007; Satooka H et al., 2012). *Paederia foetida* L. adalah salah satu tanaman yang

memiliki kandungan arbutin dan belum pernah dilakukan isolasi arbutin dari tanaman tersebut. Tanaman ini mengandung senyawa kimia dalam batang dan daun yaitu asperuloside, deacetylasperuloside, scandoside, paederosid, asam paederosidic, gamma sitosterol, arbutin, asam oleanolic, dan menguap minyak (Utami P, 2006). Tanaman anggur (*Vitis vinifera*) memiliki kandungan senyawa polifenol berupa antosianin, tanin, flavonoid, resveratrol dan asam fenolik. Senyawa polifenol dari anggur memiliki efek menguntungkan yang dapat menghambat berbagai penyakit seperti penyakit jantung, kanker, mengurangi oksidasi plasma dan memperlambat penuaan.

## **2.2. METODE PENELITIAN**

Bahan dan Alat : Etanol, etil asetat, kloroform, heksana, air demineralisasi dan dimetil sulfoksida (DMSO) ( Merck). *Rotary evaporator* digunakan untuk penguapan pelarut. Data IR dikumpulkan pada IRPrestige-21 menggunakan pelet KBr.

### **2.2.1 Ekstraksi dan partisi**

Daun sembukan (*Paederia foetida* L. ) dan daun anggur (*Vitis vinifera* L.) diekstraksi secara terpisah dengan metode maserasi menggunakan etanol. Sampel yang telah kering ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan etanol 96% hingga benar-benar terendam. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam ditempat yang terlindung dari sinar matahari langsung, sambil sesekali diaduk. Kemudian ekstrak disaring dan dipisahkan dari ampas dan filtratnya. Filtrat etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* . Partisi cair-cair kemudian dilakukan dengan pelarut n-heksana dan air. Filtrat n-hexan dikumpulkan dan diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kering. Kemudian fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan dipartisi ulang dengan etil asetat dan air. Prosedur ini diulangi 2 sampai 3 kali.



### 2.2.2 Identifikasi senyawa fenolik

Untuk mengidentifikasi senyawa meliputi uji polifenol, ekstrak ditambahkan larutan FeCl 1%. Hasil yang ditampilkan berupa warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman (Harborne J B, 1998).

### 2.2.3 Analisis kemometrik

Perangkat lunak Minitab (Rilis 18; Minitab, *State College*, PA) digunakan untuk analisis kemometrik termasuk analisis komponen utama (PCA) dan analisis kluster (CA) untuk absorbansi spektrum FTIR.

## 2.3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan bahan alam yang memiliki penghambatan aktivitas tyrosinase. Selain itu penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi terhadap kemajuan pemanfaatan bahan alam, terutama kemandirian dalam bahan baku obat tradisional.

Kemometrik menjadi salah satu bagian penting dalam pengembangan obat herbal yang memiliki sistem yang kompleks dengan multivariat variabel yang ada. Kemometrik dapat digunakan mulai dari standarisasi bahan baku hingga sampai menjadi produk jadi obat herbal. Studi yang melibatkan aplikasi kemometrik yang dikombinasikan dengan metode analisis seperti FTIR telah banyak dilakukan untuk mengetahui kualitas mutu tumbuhan obat.

Spektroskopi FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa. Spektrum IR senyawa arbutin diidentifikasi sebagai gugus hidroksil, regangan OH ( $3380\text{ cm}^{-1}$ ), regangan CH ( $2989$ ,  $2929$  dan  $2881\text{ cm}^{-1}$ ), dan regangan CO ( $1218$  dan  $1291\text{ cm}^{-1}$ ). Serapan medium kuat pada daerah  $1650$  dan  $1450\text{ cm}^{-1}$  sering menunjukkan adanya cincin aromatik yaitu pada daerah  $1513$  dan  $1460\text{ cm}^{-1}$ .

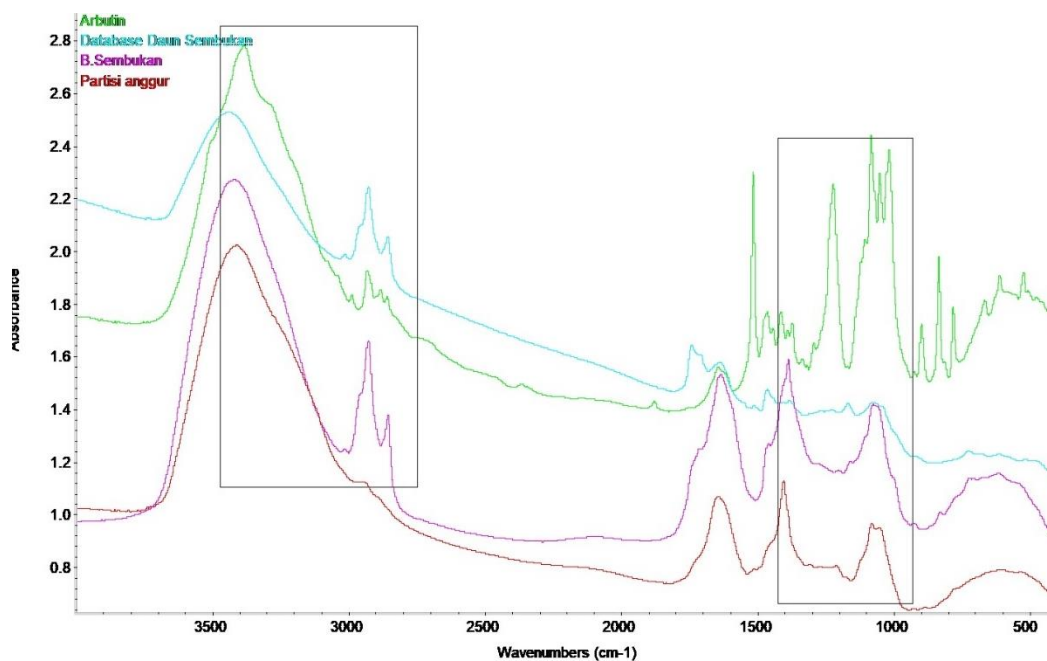
Spektrum IR dari ekstrak daun *Paederia foetida* diidentifikasi dengan gugus hidroksil, regangan OH ( $3437$  dan  $3011\text{ cm}^{-1}$ ), regangan CH ( $2925$  dan  $2854\text{ cm}^{-1}$ ), dan regangan CO ( $1223$  dan  $1164\text{ cm}^{-1}$ ). Spektrum IR dari ekstrak batang *Paederia foetida* diidentifikasi untuk dengan gugus hidroksil, regangan OH ( $3417$  dan  $3011\text{ cm}^{-1}$ ), regangan CH ( $2925$  dan  $2853\text{ cm}^{-1}$ ), dan regangan CO ( $1200\text{ cm}^{-1}$ ).

Spektrum IR dari ekstrak daun *Vitis vinifera* diidentifikasi gugus hidroksil, OH regangan ( $3407\text{ cm}^{-1}$ ), regangan CH ( $2990\text{ cm}^{-1}$ ), dan regangan CO ( $1207\text{ cm}^{-1}$ ).

Adanya gugus fungsi -OH, CH, C=C, cincin aromatik mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun sembukun mengandung golongan senyawa fenolik dalam hal ini arbutin (tabel 1). Tanaman sembukun mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, physterol, terpenoid, gula, minyak atsiri, asam lemak, embelin, friedelanol, vitamin c, glikosida iridoid, asperuloside, paederoside dan scandoside, sitosterol, stigmasterol.

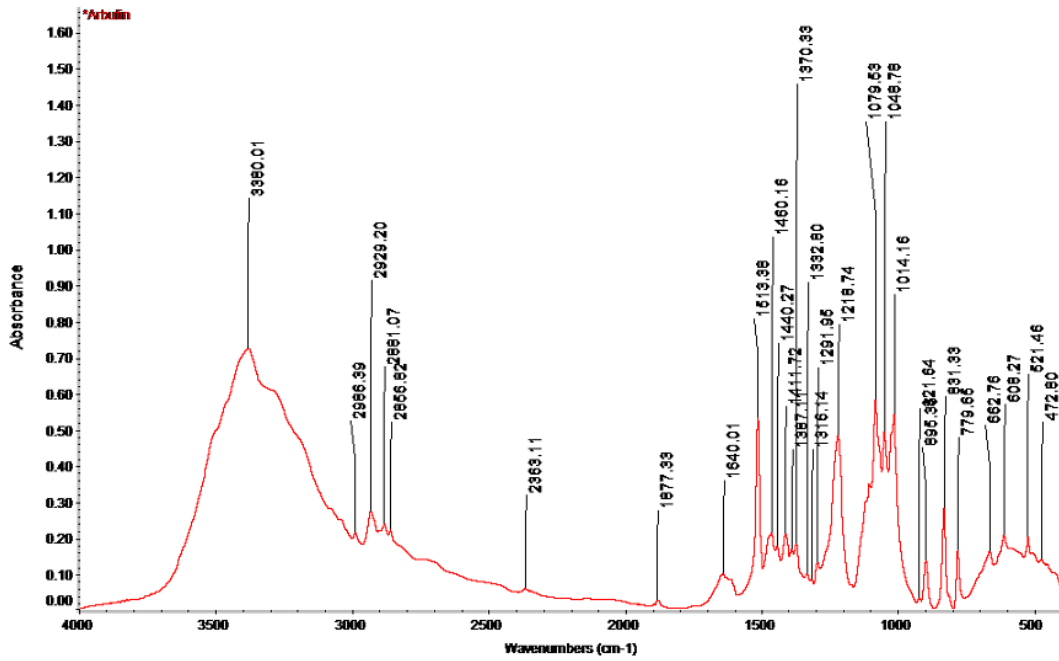
**Tabel 1 : Data spektrum IR**

Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )				Gugus fungsi
Arbutin	Daun <i>Paederia foetida</i>	Batang <i>Paederia foetida</i>	<i>Vitis vinifera</i>	
3380	3437, 3011	3417, 3011	3407	OH stretching
2986, 2929, 2881	2925, 2854	2926, 8, 2853, 7	2990	CH stretching
1513	1510			C=C, C=N
1460, 2	1460, 9		1401	CH stretching
1292, 1218, 7	1223			

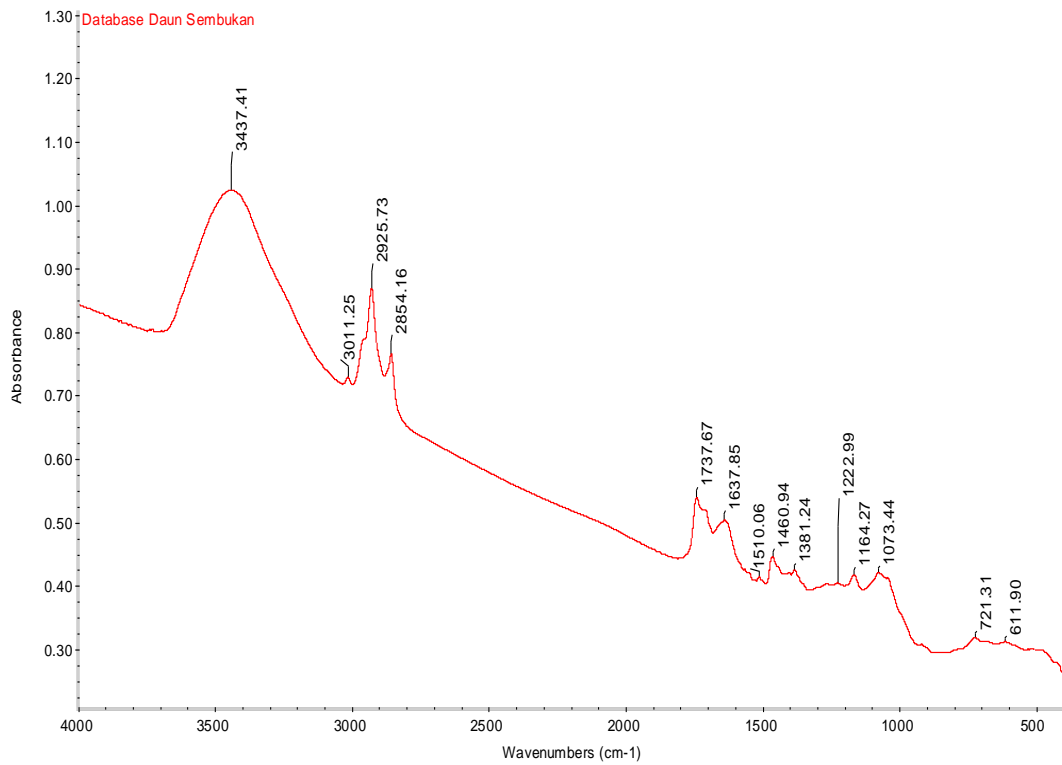


**Gambar 1.** Spektrum IR arbutin, daun sembukun, batang sembukun dan daun anggur dalam pelet KBr

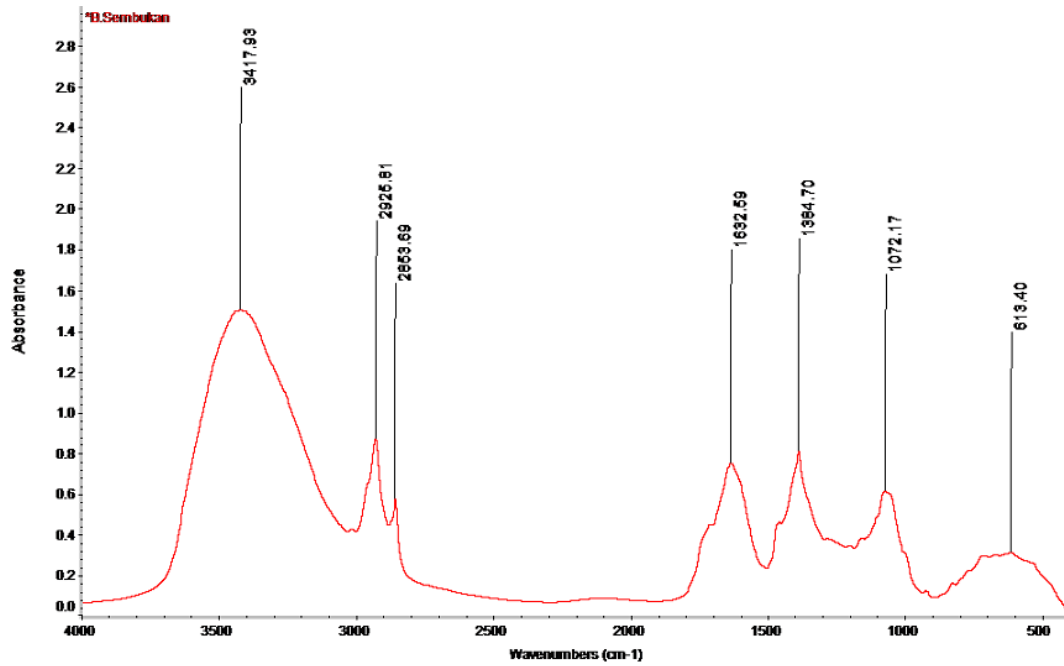
Keterangan : Hijau : Arbutin  
 Biru toska : Daun sembukan  
 Ungu : Batang sembukan  
 Merah : Daun anggur



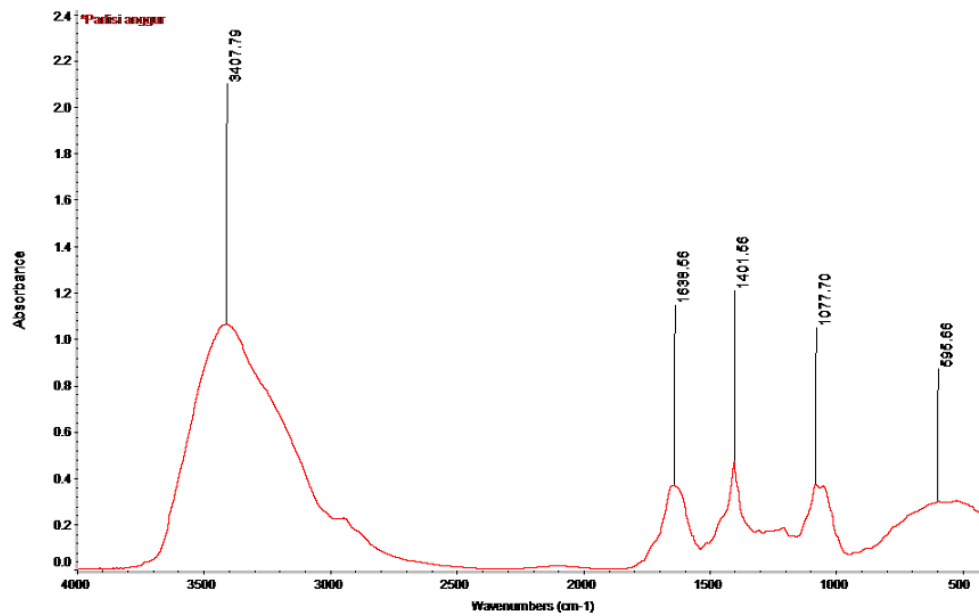
Gambar 2. Spektrum IR arbutin dalam pelet KBr



**Gambar 3.** Spektrum IR daun sembuk (*Paederia foetida* L.)



**Gambar 4.** Spektrum IR batang sembuk (*Paederia foetida* L.) dalam pelet KBr

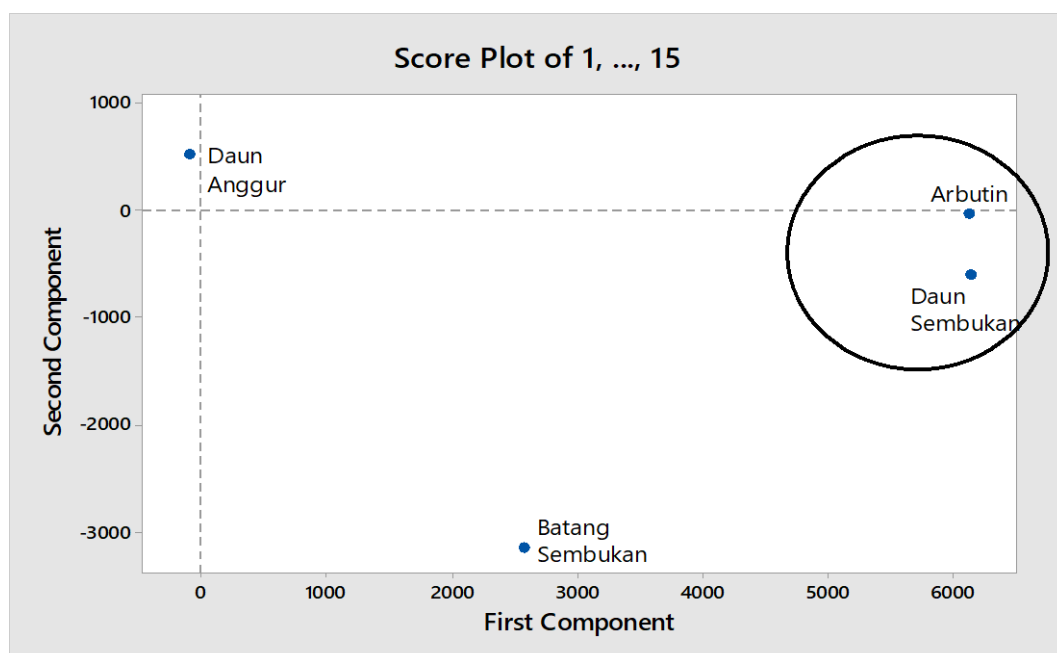


**Gambar 5.** Spektrum IR daun anggur (*Vitis vinifera*) dalam pelet KBr

### 2.3.1 Principal component analysis (PCA)

Analisis komponen utama (PCA) adalah metode pengenalan pola yang digunakan dalam analisis multivariat (Granato D et al., 2017). PCA merupakan metode analisis multivariat yang bertujuan untuk mereduksi data yang terdiri dari banyak variabel saling terkait satu dengan yang lainnya. Tujuan utama dari PCA adalah identifikasi data, mengurangi dimensi data dan identifikasi variabel data yang berkorelasi. Dalam penelitian ini, analisis PCA dilakukan dengan menggunakan absorbansi spektrum FTIR dari 4 sampel yang dievaluasi pada 15 puncak spektrum seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. PCA memberikan skor dan plot pemuatan, yang menunjukkan distribusi sampel dan variabel yang digunakan pada masing – masing komponen utama (PC). Jika PCA cukup baik, maka dengan plot PC dapat memberikan gambaran yang representatif tentang kemiripan individu.

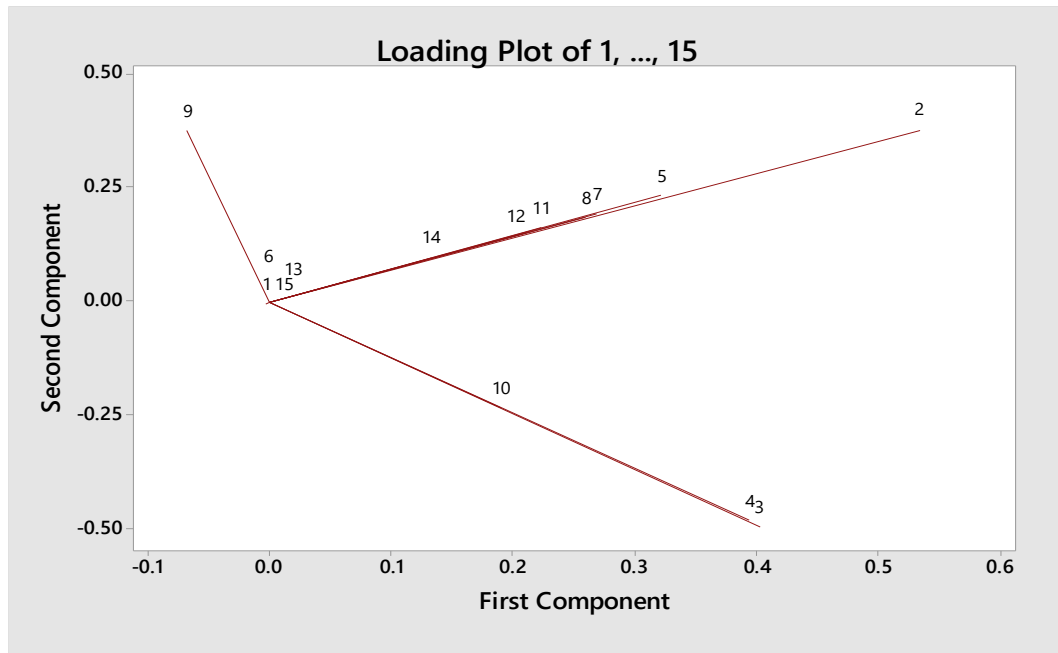
PCA score plot (gambar 6) menunjukkan pola yang berkorelasi positif dengan karakteristik sampel dalam hal ini terdapat kemiripan/kedekatan data spektrum IR antara arbutin dan daun sembukan sehingga terjadi pengelompokan data yang lebih dekat antara sampel dengan arbutin . Nilai eigen sekitar 75% dan 2% variasi dicapai dengan menggunakan 15 PC. Studi plot beban mengungkapkan distribusi variabel dan korelasinya (Farrés-Cebrián M et al., 2016).



**Gambar 6.** PCA score plot arbutin, daun sembukan, batang sembukan dan daun anggur

**Tabel 2.** Intensitas puncak spektrum

Sampel	Bilangan gelombang (cm-1)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>Arbutin</b>	3380	2986.4	2929.2	2881.1	1877.3	1640	1513.4	1460.2	1411.7	1387.1	1292	1218.7	1079.5	779.66	608.27
<b>Daun sembukan</b>	3417.4	3011.3	2925.7	2854.2	1737.7	1637.9	1510.1	1460.9	0	1381.2	1223	1164.3	1073.4	721.31	611.9
<b>Batang sembukan</b>	3417.9	0	2926.8	2853.7	0	1632.6	0	0	0	1384.7	0	0	1072.2	0	613.4
<b>Daun Anggur</b>	3407.8	0	0	0	0	1638.6	0	0	1401.6	0	0	0	1077.7	0	595.66

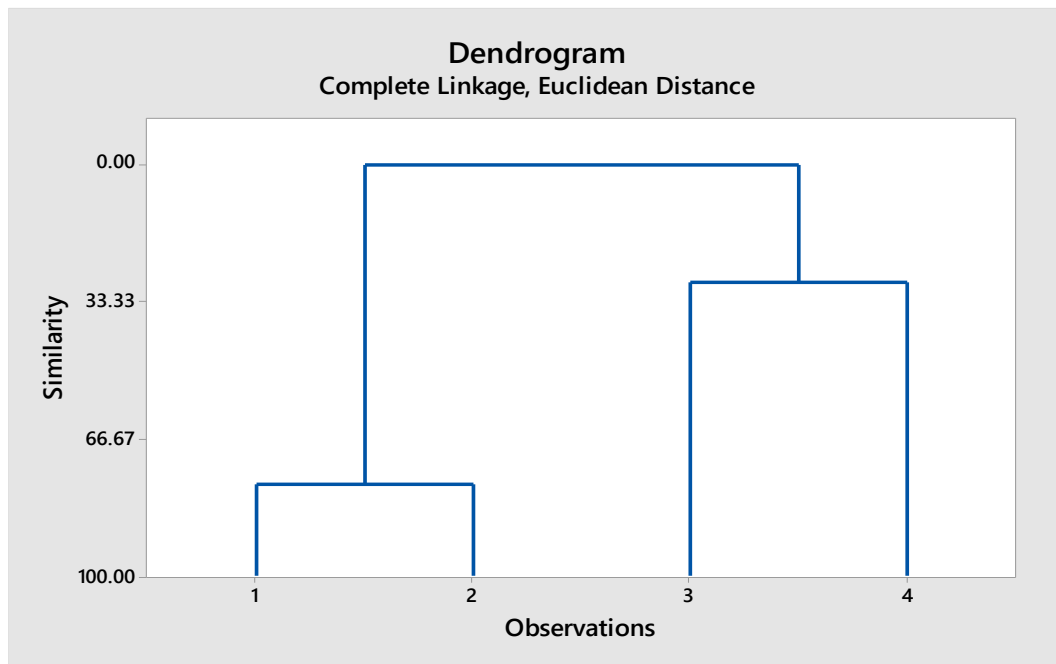


**Gambar 7.** PCA loading plot arbutin dan daun sembukan

PCA loading plot (gambar 7) menunjukkan daerah puncak spektrum arbutin dan daun sembukan yang memiliki kemiripan berturut – turut pada 1(3380; 3417), 2 (2986; 3011), 7(1513,4; 1510,1), 8(1460,2; 1460,9), 11(1292; 1223), 12(1218,7; 1164,3), 14(779,66; 721,31) dan 15 (608,27; 611,9) memberikan kontribusi yang lebih besar terhadap model PCA.

### 2.3.2 Cluster analysis

Analisis kluster (CA) adalah algoritma untuk membangun hierarki kluster untuk menetapkan pengamatan ke grup yang berada di kelas yang sama. Dalam CA, cluster divisualisasikan dalam grafik dendogram (Cebi N et al., 2017). Gambar 8 menunjukkan dendogram yang terbagi menjadi dua kelompok: kelompok pertama arbutin dan daun *Paederia foetida* L. dengan kemiripan 77,61%, kelompok kedua batang sembukan dan daun anggur. Pada penelitian ini, hasil CA sesuai dengan hasil PCA yang menunjukkan kelas yang sama.



**Gambar 8.** Dendrogram pada analisis cluster

Keterangan : 1. Arbutin

2. Ekstrak daun sembukun

3. Batang sembukun

4. Ekstrak daun anggur

## 2.4 KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, hasil partisi ekstrak sembukun (*Paederia foetida*) dan Ekstrak anggur (*Vitis vinifera*) menunjukkan spektrum spektroskopi FTIR dengan menggunakan analisis kemometrik terlihat kesamaan dalam sifat fisika dan sifat kimia. Analisis CA menunjukkan bahwa turunan arbutin memiliki kedekatan yg lebih dekat dengan *Paederia foetida* dengan kemiripan 77,61% dibandingkan dengan *Vitis Vinifera* .



## 2.5 DAFTAR PUSTAKA

- Cebi N, Yilmaz MT, Sagdic O. A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses. *Food Chem.* 2017;229(15):517-2
- EMA. 2012. *European Medicines Agency. Assessment report on Arctostaphylos 376 uva-ursi (L.) Spreng., folium.* 2012.
- Farrés-Cebrián M, Seró R, Saurina J, Núñez O. HPLC-UV Polyphenolic Profiles in the Classification of Olive Oils and Other Vegetable Oils via Principal Component Analysis. *Separations.* 2016;3(4):33.
- Karioti A, Protopappa A, Megolaus N, Skaltsa H. Identification of tyrosinase inhibitors from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*. *Bioorganic Med Chem.* 2007;15(7):2708-14.
- Ley JP, Bertram HJ. Hydroxy- or Methoxy-Substituted Benzaldoximes and Benzaldehyde-O-alkyloximes as Tyrosinase Inhibitors. *Bioorganic Med Chem.* 2001;9(7):1879-85.
- Park, K.H., Y.D. Park, J.M. Han, K.R. Im, B.W. Lee, I.Y. Jeong, T.S. Jeong, W.S. Le.. Anti-atheroclerotic and anti-inflammatory activities of catecholic xanthenes and flavonoids isolated from *Cudrania tricuspidata*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2006, 16: 5580-5583.
- Seo SY, Sharma VK, Sharma N. Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects. *J Agr Food Chem.* 2003;5(10):2837-53.
- Satooka H, Kubo I. Effects of Thymol on B16-F10 Melanoma Cells. *J Agric Food Chem.* 2012;60(10):2746-52.
- Rossow GC, Orchard BA, Suklje K, Smith JP, Barril P, Deloira A, Holzapfel BP. *Vitis vinifera* root and leaf metabolic composition during fruit maturation: implications of defoliation. *Physiol Plant.* 2017;161(4):434-50.
- Um SJ, Park MS, Park SH, Han HS, Kwon YJ, Sin HS. Synthesis of new glycyrrhetic acid (GA) derivatives and their effects on tyrosinase activity. *Bioorganic Med Chem.* 2003;11(24):5345-52.
- Utami P. *Buku Pintar Tanaman Obat.* Redaksi Agromedia.Jakarta. 2006
- Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int J of Mol Sci.* 2010;11(2):622-46.