

Original Research

DETEKSI TESPONG (*Oenanthe javanica*) PADA BAHAN BAKU DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei*) MENGGUNAKAN METODE FTIR YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN PCA

DETECTION OF TESPONG (*Oenanthe javanica*) IN ASHITABA (*Angelica keiskei*) LEAVES RAW MATERIAL USING FTIR METHOD COMBINED WITH PCA

Anne Yuliantini¹ *, Wanda Rizky Amala², Fauzan Zein Muttaqin³, Aiyi Asnawi⁴

^{1,2,3,4}Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia, 40614

*E-mail: anne.yuliantini@bku.ac.id

Diterima; 14/09/2020

Direvisi: 24/09/20

Disetujui: 23/10/20

Abstrak

Ashitaba (*Angelica keiskei*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional dan tespong (*Oenanthe javanica*) diketahui sebagai tanaman yang satu famili dengan ashitaba. Karena ketersediaan ashitaba yang sedikit ditambah dengan harganya yang relative mahal, dapat menjadi alasan ditambahkannya bahan lain dalam bahan baku ashitaba. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya tespong pada serbuk daun ashitaba menggunakan metode FTIR yang dikombinasikan dengan PCA. Penelitian ini terdiri dari 4 tahapan utama, yaitu determinasi tanaman, maserasi dengan etanol, pengukuran spektrum IR, dan analisis PCA. Hasil analisis PCA menunjukkan nilai PC1 dan PC2 berturut-turut sebesar 71 % dan 22% dengan nilai eigen value lebih dari 1 dan plot PCA menggambarkan keterpisahan daerah antara ashitaba dan tespong. Dari ketiga sampel yang diproyeksikan terhadap plot PCA, terdapat sampel yang diduga mengandung tespong dan bahan campuran lain. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa metode FTIR yang dikombinasikan dengan PCA dapat menjadi metode alternative dalam mendeteksi tespong dalam bahan baku ashitaba dan dari 3 sampel bahan baku ashitaba yang diuji terdapat satu sampel yang positif mengandung tespong.

Kata kunci: Ashitaba; FTIR; PCA; Tespong

Abstract

Ashitaba (*Angelica keiskei*) is one of the plants used as raw material for traditional medicine and tespong (*Oenanthe javanica*) is known as a plant in the same family as Ashitaba. Due to the small availability of Ashitaba coupled with the relatively expensive price, it could be the reason for the addition of other ingredients in the raw material of Ashitaba. The purpose of this study was to identify the presence of tespong in ashitaba leaf powder using the FTIR method combined with PCA. This research consisted of 4 main stages, namely plant determination, maceration with ethanol, IR spectrum measurement, and PCA analysis. The results of the PCA analysis showed that the PC1 and PC2 values were 71 and 22%, respectively, with an eigen value of more than 1 and the PCA plot depicts the separation of areas between ashitaba and tespong. Of the three samples projected onto the PCA plot, there were samples that were thought to contain tespong and other mixed materials. From the results of this study, it is concluded that the FTIR method combined with PCA can be an alternative method for detecting tespong in ashitaba raw materials and in 3 samples of ashitaba raw material, one of them is positive containing tespong.

Keywords: Ashitaba; FTIR; PCA; Tespong

PENDAHULUAN

Ashitaba (*Angelica keiskei*) adalah salah satu tanaman dari keluarga Apiaceae dari Umbelliferae yang merupakan salah satu tanaman introduksi berasal dari Jepang. Ashitaba dikenal juga sebagai seledri jepang, daun malaikat, *tomorrowleaf* atau jamu umur panjang [1]. Tanaman ini banyak digunakan sebagai makanan dan bahan baku obat tradisional. Ashitaba memiliki beberapa aktivitas farmakologi termasuk anti-kanker, anti-oksidan, anti-peradangan, anti-hipertrigliseridemia dan anti-diabetes [2]. Selain itu, bangsa Tiongkok menggunakan ashitaba sebagai obat herbal tradisional untuk meningkatkan energi dalam tubuh dengan menyuplai nutrisi penting dalam darah dan memperbaiki sirkulasi aliran darah [3]. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman ashitaba diantaranya β -karoten, vitamin B1, B2, B3, B5, B6, B12, biotin, asam folat dan vitamin C, dan juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potasium, fosfor, seng dan tembaga [4]. Ashitaba memiliki kandungan kalkon yang merupakan cairan pekat berwarna kuning yang terdapat pada batang dan daun. Kalkon mengandung dua senyawa flavonoid penting yang khas yaitu 4-hydroxyderricin dan xanthoangelol [5] yang dianggap sebagai senyawa aktif utama untuk berbagai biofungsi termasuk anti-tumor, anti-inflamasi dan anti-diabetes [6]. Ashitaba berpotensi sebagai sumber antioksidan karena kandungan tanin dan kalkonnya [7]. Nilai total aktivitas antioksidan dari ashitaba berkisar 1890 ± 30 mg/g berat kering herba [8].

Pemanfaatan ashitaba sebagai obat herbal sudah mulai banyak diminati meskipun harganya yang relatif lebih mahal dibandingkan dengan obat herbal yang lain. Akan tetapi, budidaya ashitaba masih jarang dilakukan oleh petani di Indonesia sehingga memungkinkan untuk dilakukannya penambahan bahan lain ke dalam produk ashitaba yang dijual di pasaran. Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan deteksi seledri (*Apium graveolans*) pada obat tradisional daun ashitaba yang hasilnya menunjukkan bahwa terdapat dua sampel yang diduga positif mengandung seledri. Seledri sendiri merupakan tanaman yang satu famili dengan ashitaba, yaitu apiaceae. Selain harganya yg relatif murah, seledri pun mudah didapatkan di pasaran sehingga dapat menjadikan alasan untuk menambahkan seledri pada ashitaba [9].

Pada penelitian ini dilakukan deteksi bahan lain yang masih satu keluarga dengan ashitaba, yaitu tespong (*Oenanthe javanica*). Tespong dipilih karena memiliki bentuk daun yang mirip dan memiliki bau yang tidak terlalu menyengat dibandingkan bahan lain sebelumnya (seledri) dan harganya yang jauh lebih murah dari ashitaba sehingga memungkinkan menjadi bahan tambahan lain dalam ashitaba.

Beragam metode telah dikembangkan untuk menguji keaslian bahan baku herbal, seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT) [10], KLT kinerja tinggi [11], kromatografi cair kinerja tinggi, dan spektroskopi infra merah [12] yang dikombinasikan dengan metode kemometrik. Pada penelitian ini metode FTIR dipilih untuk mendeteksi adanya tespong pada bahan baku daun ashitaba karena telah menjadi alternatif yang menarik untuk digunakan sebagai metode analisis karena sampel yang diperlukan sedikit, analisis cepat, dan penggunaan pelarut berbahaya diminimalkan [13].

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : daun ashitaba dan tespong yang diambil dari tiga daerah yang berbeda yaitu daerah Jawa Barat, Jawa Timur dan NTB, Indonesia pada bulan November 2019 dan telah dilakukan determinasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Jawa Barat, dan serbuk daun ashitaba yang berada di pasaran dengan tiga produsen yang berbeda, silika gel, etanol 96 % (Merck, pa).

Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat maserator, rotary vaporator, spektrometr FTIR tipe Agilent Cary 630, neraca analitik, kompor, penangas air, serta alat-alat gelas.

Prosedur kerja

Terdiri dari 3 tahapan utama, yaitu penyiapan ekstrak, analisis spectrum FTIR, dan analisis PCA. Penyiapan ekstrak dilakukan dengan cara daun ashitaba dan tespong dipisahkan dari tanaman, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Daun kering dan sampel diserbukkan dan ditimbang sebanyak 50 g untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan 500 mL etanol, direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Maserat yang diperoleh dipisahkan dan dipindahkan ke beaker glass lain, sedangkan ampasnya diperlakukan sama sebanyak 2 kali maserasi. Maserat yang diperoleh dari hasil ekstraksi disatukan kemudian dipisahkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan cara menguapkan ekstrak kental dicawan penguap menggunakan water bath dan kompor listrik, kemudian disimpan di dalam desikator berisi silika gel dan didiamkan selama beberapa hari sebelum dianalisis.

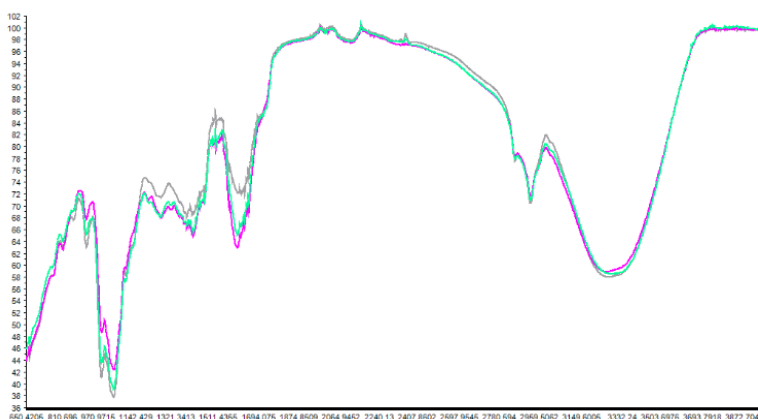
Selanjutnya, ekstrak kering ashitaba, tespong, dan sampel diukur spectrum IR-nya menggunakan spektrometer FT-IR tipe Agilent cary 630 dengan Spectra Manager Version 2.01.03 sebagai aplikasi instrument. Spektrum IR diukur pada bilangan gelombang 4000 – 650 cm^{-1} dan resolusi 4 cm^{-1} , dengan teknik pengambilan sampel secara reflektan.

Dan terakhir, hasil spektrum IR dianalisis dengan metode kemometrik, yaitu menggunakan metode Principal Component Analysis (PCA) dengan perangkat lunak Unscrambler® X 10.4 versi trial, dengan minimal enam replikasi.

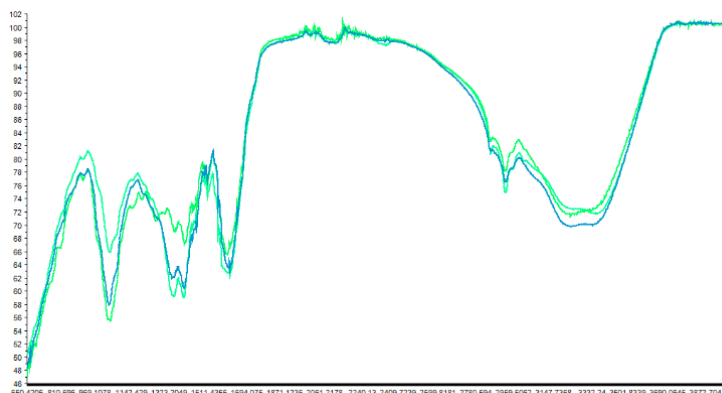
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman obat yang diperjualbelikan mudah dipalsukan dengan mengganti atau menambahkan bahan lain yang tidak diinginkan dan umumnya lebih murah sehingga penjual memperoleh keuntungan yang lebih tinggi. Hal ini merugikan pembeli karena dapat mengurangi kualitas produk [14]. Ashitaba merupakan salah satu tanaman obat yang sulit didapatkan dan dijual dengan harga yang relative mahal. Pada penelitian sebelumnya, sampel obat herbal ashitaba diduga mengandung seledri yang merupakan tanaman yang satu famili dengan ashitaba [9]. Pada penelitian ini, dilakukan deteksi bahan lain yang satu keluarga dengan ashitaba di family apiaceae, yaitu tespong. Metode FTIR merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya bahan tambahan lain dalam suatu tanaman obat dengan menggunakan profil spectrum IR yang dikombinasikan dengan analisis statistika secara kemometrik dengan metode Analisis Komponen Utama (PCA). Kemometrik merupakan aplikasi prosedur matematika untuk mengolah, mengevaluasi dan menginterpretasikan sejumlah besar [15]. Metode kemometrik digunakan untuk menemukan korelasi statistika yang telah diketahui dari sampel. Dukungan kemometrik memperluas potensi spektroskopi FT-IR sebagai metode alternatif untuk mendeteksi komponen lain dari suatu tumbuhan.

Sebanyak 50 g simplisia kering daun ashitaba dan tespong dari ketiga daerah masing-masing diekstraksi dengan pelarut etanol dan diperoleh ekstrak kering dengan rendemen ekstrak sekitar 10 %. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diukur spektrumnya menggunakan spectrometer FTIR dengan teknik reflektan dan didapatkan hasil pengukuran sebagai berikut.



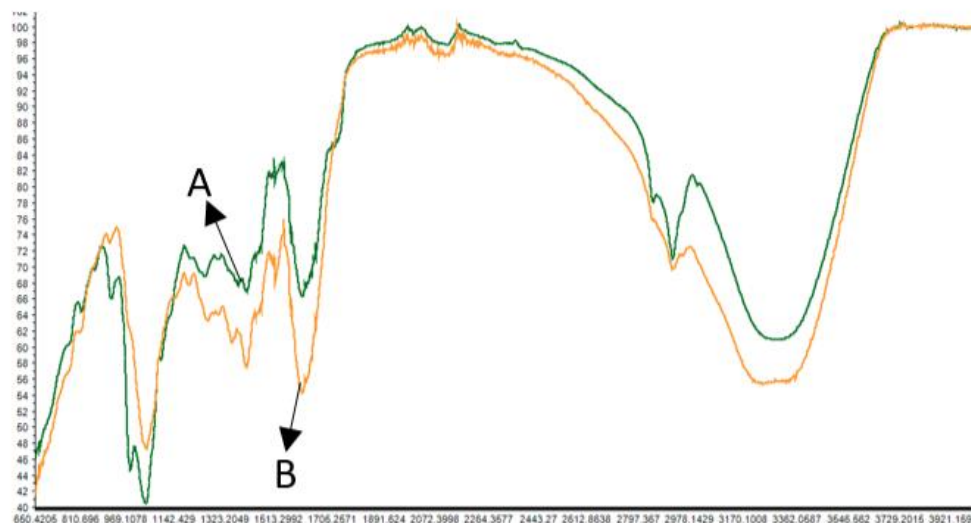
(i)



(ii)

Gambar 1. Pola spektrum IR ekstrak ashitaba (i) dan tespong (ii) dari daerah NTB, Jawa Timur, dan Jawa Barat pada bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1}

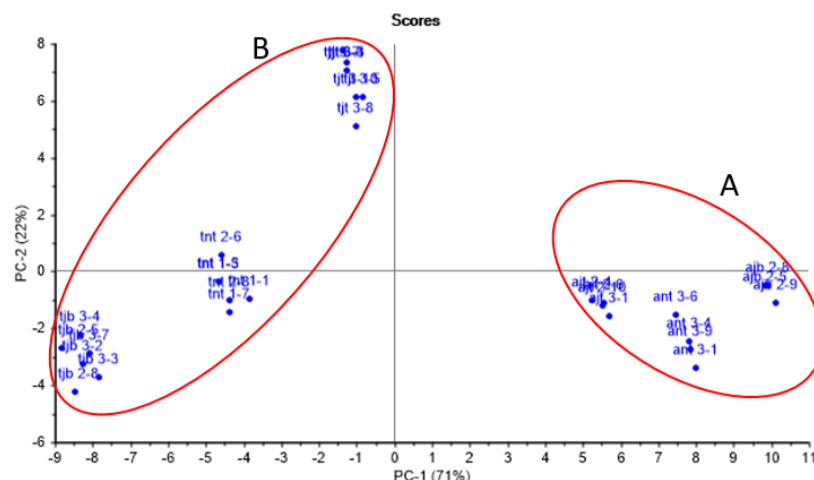
Spektrum inframerah pada ekstrak daun ashitaba yang diambil dari tiga daerah pada bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} (Gambar 1.i). Pita serapan yang dimunculkan oleh ekstrak baku ashitaba Jawa Barat, ekstrak baku ashitaba Jawa Timur dan ekstrak baku ashitaba NTB dihasilkan: pita A (1742-1669 cm^{-1}) mengindikasikan adanya vibrasi ulur C=O; pita B (2366-1941 cm^{-1}) menandakan adanya vibrasi ulur C=C; pita C (2966-2843 cm^{-1}) menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H dari CH_2 . Spektrum inframerah pada ekstrak daun ashitaba menunjukkan pola serapan yang mirip hanya terdapat perbedaan panjang gelombang 1172-933 dan 1638-1198 cm^{-1} . Sementara pada Gambar 1.ii, spektrum tespong dari tiga daerah yang berbeda yaitu Jawa Barat, Jawa Timur dan NTB pada bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} menunjukkan pola spektrum daerah NTB menunjukkan perbedaan pola spektrum dan terlihat dari perbedaan masing masing nilai absorbannya. Pita serapan yang dimunculkan oleh ekstrak baku tespong Jawa Barat, ekstrak baku tespong Jawa Timur dan ekstrak baku tespong NTB di hasilkan : pita A (1507-1457 cm^{-1}) mengindikasikan adanya vibrasi tekuk C-H dari alkana, pita B (1645-1587 cm^{-1}) mengindikasikan adanya vibrasi tekuk C=C dari aromatik dan pita C (2167-2038 cm^{-1}) mengindikasikan adanya vibrasi ulur -C=C-. Spektrum tespong dari ke tiga daerah menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia yang terkandung berbeda, ada perbedaan panjang gelombang 1410-970 cm^{-1} . Spektrum IR ashitaba (Gambar 1.i) dan tespong (Gambar 1.ii) dari tiga daerah: NTB, Jawa Timur dan Jawa Barat menunjukkan pola serapan yang mirip hanya ada beberapa titik bilangan gelombang yang menghasilkan respon serapan yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kadar kandungan zat yang dimiliki oleh tanaman antar daerah karena perbedaan tempat tumbuhnya sedangkan perbedaan pola serapan spectrum ditunjukkan oleh spectrum ashitaba dan tespong yang telah dioverlay seperti yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Overlay spektrum IR ekstrak daun ashitaba (A) dan tespong (B).

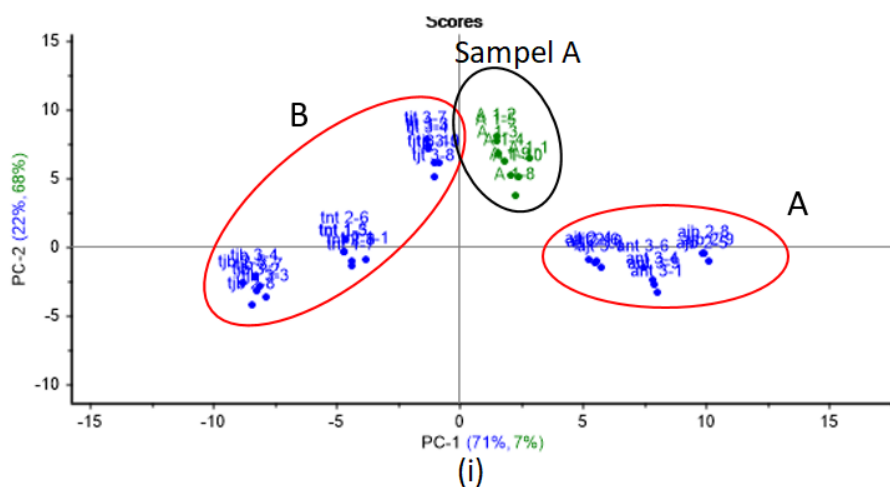
Pola spektrum ekstrak baku ashitaba yang ditunjukkan oleh spektrum berwarna hijau dan ekstrak tespong yang ditunjukkan oleh spektrum berwarna jingga yang diukur secara keseluruhan pada bilangan gelombang $4000-650\text{ cm}^{-1}$ menghasilkan pola spektrum yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kandungan dan kadar zat yang terkandung dalam tanaman ashitaba dan tespong.

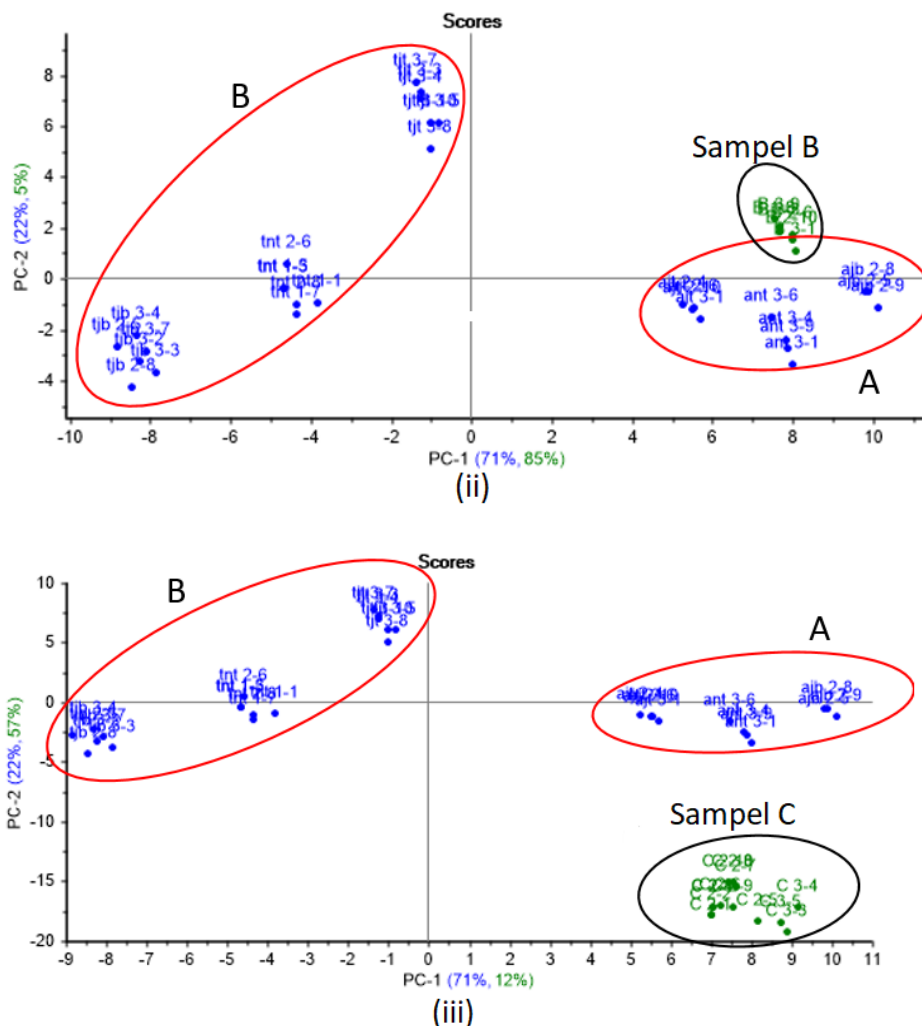
Hasil dari pengukuran spectrum IR dianalisis lebih lanjut menggunakan kemometrik. Metode kemometrik yang digunakan adalah analisis komponen utama/ *Principal Component Analysis* (PCA). PCA adalah analisis statistika multivariate yang dapat digunakan untuk mengklasifikasikan kelompok yang satu dengan yang lain tanpa mengetahui tentang keanggotaannya. Hasil analisis PCA berupa kurva score plot yang digunakan untuk menaksir struktur data yaitu sebagai dasar perbedaan antara ekstrak baku ashitaba dan tespong. Jarak antara sampel menunjukkan kesamaan antar sampel, semakin jauh jarak, maka semakin sedikit kesamaan yang dimiliki antara sampel tersebut, jika semakin dekat letak antara sampel pada score plot, maka semakin besar kemiripan diantara sampel tersebut. Berikut ini merupakan hasil analisis PCA dari ekstrak daun ashitaba dan tespong dari ketiga daerah di Indonesia :



Gambar 3. Hasil score plot PCA ekstrak baku ashitaba (A) dan tespong (B) PC-1 terhadap PC2.

Hasil analisis PCA di Gambar 3 menunjukkan bahwa karakteristik ashitaba dan tespong dari masing-masing daerah memiliki karakter yang berbeda, hal ini dapat dilihat dari perbedaan titik perkumpulan ashitaba dan tespong antar daerah. Akan tetapi, secara keseluruhan analisis PCA ini mampu membedakan antara ekstrak baku ashitaba (A) dan tespong (B) yang ditunjukkan dengan terpisahnya daerah ashitaba dan tespong. Hasil kurva score plot PC-1 terhadap PC-2 sebesar 93% (PC-1 =71% dan PC-2 = 22%) yang menunjukkan persentasi keterwakilan data, semakin mendekati 100 % maka data yang digunakan semakin baik, dengan nilai eigen value lebih dari 1. Setelah mendapatkan kurva score plot ekstrak ashitaba da tespong, dilanjutkan dengan analisis sampel, yaitu dengan memproyeksikan hasil pengukuran spectrum IR ekstrak kering sampel ke dalam plot PCA baku ashitaba dan tespong, seperti yang ada pada gambar 4 berikut ini.





Gambar 4. Hasil proyeksi score plot PCA ekstrak baku ashitaba (A), ekstrak baku tespong (B) dengan ekstrak serbuk daun ashitaba sampel A (i), B (ii), dan C (iii) PC-1 terhadap PC-2.

Berdasarkan hasil proyeksi pada Gambar 4, menunjukkan bahwa sampel A diduga mengandung tespong, sampel B diduga mengandung ashitaba murni, sementara pada sampel C positif mengandung adulterant lain. Hal ini dapat dilihat dari posisi sampel terhadap titik ashitaba dan tespong.

KESIMPULAN

Metode FTIR yang dikombinasikan dengan PCA mampu mendeteksi tespong pada bahan baku daun ashitaba sehingga dapat menjadi metode alternatif dalam menguji kualitas bahan baku daun ashitaba dari bahan lain khususnya tespong dan dari ketiga sampel bahan baku ashitaba yang diuji, terdapat satu sampel yang positif mengandung tespong.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih atas pendanaan penelitian ini melalui Riset Internal dalam skema penelitian dasar oleh LPPM Universitas Bhakti Kencana pada tahun 2020.

DAFTAR RUJUKAN

1. Harmanto, N. Mahkota Dewa Panglima Penakluk Kanker. Jakarta: AgroMedia Pustaka; 2004.
2. Son, D.J., Park, P.O., Yu, C., Lee, S.E., Park, Y.H. Bioassay-guided isolation and identification of anti-platelet-active compounds from the root of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz). Natural Product Research. 2014, 28(22).
3. Nagata J, Morino T, Saito M. Effects of dietary *Angelica keiskei* on serum and liver lipid profiles, and body fat accumulations in rats. Journal of Nutrition Scientific Vitaminology, National Institute of Health and Nutrition. 2007.
4. Hida, K. Ashitaba A Medicinal Plant and Health Method. 2007. www.Organicasihitaba.com/articles.html. 9 Desember 2009.
5. Baba, K., Taniguchi, M., Shibano, M., Minami, H. The components and line breeding of *Angelica keiskei* koidzumi. J Bunseki Kagaku. 2009, 58(12).
6. Zhang, T., Yamashita, Y., Yasuda, M., Yamamoto, N., Ashida, H. Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Extract Prevents Adiposity In High-Fat Diet-Fed C57BL/6 Mice. Royal Society Of Chemistry. 2014
7. Li, L., G. Aldini, M. Carini, C.Y.O. Chen, H. Chun, S. Choo, K, Park, C.R. Correa, R.M. Russell et al. Characterisation, extraction efficiency, stability and antioxidant activity of phytonutrients in *Angelica kesikei*. Food chemistry. 2009, 115, 227-232.
8. Chen, I., H. Chang, H. Yang dan G. Chen. Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and chines herbs : a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP System in microplates. J. Food and Drug Analysis. 2004, 12, 29 - 33.
9. Yuliantini A, Salafiah F, Asnawi A. Rapid Detection Of Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Herbal Medicine Adulteration Using FTIR And Principal Component Analysis Method. Rasayan J Chem. 2020, 13(1), 535-540.
10. Pothitirat, W., Gritsanapan, W. Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC densitometry. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005, 32(12), 23-30.
11. Ashraf, K., Mujeeb, M., Ahmad, A., Amir, M., Mallick, M.N., Sharma, D. Validated HPTLC analysis method for quantification of variability in content of curcumin in *Curcuma longa* L (turmeric) collected from different geographical region of India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012, 2(2), S584-S588.
12. Rohman, A., Devi, Sudjadi, Ramadhani, D., Nugroho, A. Analysis of Curcumin in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* using FTIR spectroscopy and chemometrics. Research Journal of Medicinal Plants. 2015, 9, 179-186.
13. Subramanian, A., Alvarez, V.B., Harper, W.J., Harper., Rodriguez-Saona, L.E. Monitoring Amino Acids, Organic Acids And Ripening Changes In Cheddar Cheese Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. International Dairy Journal. 2011, 21, 434-440.
14. Emawati E, Yesinta, Usman A.N., Asnawi A, Deteksi Adulteran Dalam Sediaan Jamu Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Menggunakan Metode Analisis Sidik Jari KLT Video Densitometri. Pharmaceutical Journal of Indonesia. 2018, 15(2), 158-170.

15. Rafi, M., Anggundari, W.C., Irawadi, T.T. Potensi Spektroskopi FT-IR-ATR Dan Kemometrik Untuk Membedakan Rambut Babi, Kambing Dan Sapi. Indonesian Journal of Chemical Science. 2016, 5(3).