

**PREDIKSI KADAR FLAVONOID TOTAL TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.)  
MENGUNAKAN KOMBINASI SPEKTROKOPI IR DENGAN  
REGRESI KUADRAT TERKECIL PARSIAL**

**E. Rohaeti<sup>1)</sup>, R. Heryanto<sup>1,2)</sup>, M. Rafi<sup>1,2)</sup>, A. Wahyuningrum<sup>1)</sup>, dan L. K. Darusman<sup>1,2)</sup>**

<sup>1)</sup>*Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor, Indonesia*

<sup>2)</sup>*Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Taman Kencana, Bogor, Indonesia*

### ABSTRAK

Potensi dari spektroskopi inframerah tertransformasi Fourier (FTIR) yang dikombinasikan dengan metode kemometrik dalam menentukan kandungan flavonoid total dari tempuyung (*Sonchus arvensis* L) telah dilakukan. Regresi kuadrat terkecil parsial (PLSR) dalam membuat model prediksi akan menggunakan hubungan antara kadar flavonoid total yang diperoleh dari metode referensi (metode AlCl<sub>3</sub>) dan spektrum FTIR. Aplikasi PLSR dalam penentuan kadar flavonoid total tempuyung menghasilkan nilai kebaikan model yang cukup memuaskan seperti  $r$  kalibrasi = 0.974,  $r$  validasi = 0.742, *Standard Error Calibration* = 0.023, *Root Mean Square Error Calibration* = 0.023, *Standard Error Prediction* = 0.078, *Root Mean Square Error Prediction* = 0.076, dan bias prediksi = -0.001 dengan menggunakan spektrum FTIR derivat segmen 1. Berdasarkan hasil ini, kombinasi spektrum FTIR dan PLSR dapat digunakan dalam memprediksi kadar flavonoid total dalam tempuyung.

Kata kunci : Prediksi kadar flavonoid total, tempuyung, *Sonchus arvensis* L., regresi kuadrat terkecil parsial

### ABSTRACT

The potency of Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR) combined with chemometric method for determining the total flavonoid content of tempuyung (*Sonchus arvensis* L) has been investigated. Partial least squares regression (PLSR) was used to build a prediction model based on the relationship between concentration of total flavonoids obtained from the reference method (AlCl<sub>3</sub>) and FTIR spectrum. Application of PLSR in the determination of total flavonoids content in tempuyung gave moderate value for goodness of fit of the model with  $r$  calibration = 0.974,  $r$  validation = 0.742, *Standard Error Calibration* = 0.023, *Root Mean Square Error Calibration* = 0.023, *Standard Error Prediction* = 0.078, *Root Mean Square Prediction Error* = 0.076, and bias = -0.001 using FTIR derivative spectrum segment 1. From these results, combination of FTIR spectrum and PLSR can be used for the prediction of total flavonoids content in tempuyung.

Keywords : Prediction of total flavonoids content , *tempuyung*, *Sonchus arvensis* L., partial least square regression

### PENDAHULUAN

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan tumbuhan obat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati kelebihan asam urat dan batu ginjal. Khasiat pengobatan tempuyung tersebut

diketahui merupakan hasil aktivitas golongan flavonoidnya (Soedibyo, 1998). Penelitian atas tempuyung terus dikembangkan, terlebih setelah tumbuhan ini ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan sebagai salah satu dari tiga belas spesies unggulan bahan asli obat Indonesia (Deptan, 2002).

Metode analisis kuantitatif komponen/golongan senyawa aktif tumbuhan memegang peranan penting dalam pengembangan produk kesehatan berbasis tumbuhan obat. Kromatografi cair kinerja tinggi, kromatografi gas, kromatografi lapis tipis, dan spektrometri massa adalah beberapa metode yang biasa digunakan untuk menganalisis komponen tumbuhan obat. Keempat metode tersebut mampu menghadirkan informasi definitif untuk identifikasi dan kuantifikasi komponen, namun membutuhkan standar otentik yang bervariasi, tahapan analisis yang panjang, dan waktu analisis yang cukup lama (Chang *et al.*, 2002).

Spektrofometer inframerah tertransformasi Fourier (*Fourier transformed infrared spectrophotometer*, FTIR) dapat mengukur secara cepat contoh tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Penggunaan FTIR dalam analisis tumbuhan masih terbatas karena matriks dan spektrum yang dihasilkan cukup kompleks. Dukungan kemometrik memperluas potensi spektroskopi FTIR sebagai metode alternatif untuk menganalisis komponen tumbuhan. Metode analisis ini dikembangkan dengan memanfaatkan informasi pola sidik jari yang bersifat khas, sebagai variabel yang mempengaruhi penampakan kimiawi contoh seperti aktivitas hayati, konsentrasi, dan polarisabilitas (Wold *et al.*, 2001). Kemometrik memanfaatkan ciri serapan IR yang khas dari setiap molekul untuk mengklasifikasi contoh atau untuk membuat model kalibrasi multivariat (dengan melibatkan data referensi) yang dapat digunakan dalam prediksi hasil pengukuran suatu contoh (Naes *et al.*, 2002).

Aplikasi kombinasi spektrum FTIR dengan metode kemometrik telah banyak digunakan di antaranya model klasifikasi asal daerah meniran (Dharmaraj *et al.*, 2006), kadar senyawa atau golongan senyawa aktif tumbuhan obat (Rohaeti *et al.*, 2006), metode deteksi pemalsuan atau diskriminasi bahan baku pangan atau obat herbal (Liu *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009) serta prediksi kapasitas antioksidan total pada minuman anggur (Versari *et al.*, 2010). Pemakaian yang luas tersebut karena teknik ini memberikan hasil yang cukup teliti dan akurat

walaupun dengan matriks contoh yang kompleks.

Dalam penelitian ini, metode kemometrik digunakan untuk menemukan korelasi statistika antara data spektrum dan informasi yang telah diketahui dari sampel, yang dalam hal ini berupa konsentrasi flavonoid total. Konsentrasi flavonoid total dari setiap sampel diukur dengan menggunakan metode rujukan yang diakui, yaitu metode  $\text{AlCl}_3$ . Spektrum FTIR dari sampel yang telah diketahui konsentrasi flavonoid totalnya tersebut lalu digunakan untuk membentuk suatu model kalibrasi multivariat dengan metode statistika yaitu regresi kuadrat terkecil parsial (*partial least square regression*, PLSR). Kebaikan model kalibrasi prediksi kadar flavonoid total yang terbentuk dievaluasi menggunakan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) kalibrasi maupun validasi, SEC (*Standar Error of Calibration*), dan SEP (*Standard Error of Prediction*)

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang dipakai ialah simplisia kering daun tempuyung dari 3 tempat tumbuh yang berbeda yaitu Tawangmangu (Jawa Tengah), Cimanggung (Jawa Barat), dan Leuwiliang (Jawa Barat), kuersetin (Sigma-Aldrich, Palo Alto, USA),  $\text{AlCl}_3$ , pelarut organik untuk proses ekstraksi dan pengukuran kadar flavonoid total.

### Peralatan

Alat-alat ukur analitis yang digunakan untuk penelitian ini ialah spektrofotometer FTIR Tensor 37 (Bruker Optics), komputer pengolah data (Toshiba Mobile Intel Pentium III, 128 MB, 696 MHz), dan Spectronic-20D+.

### Cara Kerja

#### Metode

Simplisia dibagi menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok ini kemudian diukur kadar flavonoid total dan spektrum inframerah tertransformasi Fourier sehingga dari 3 sampel tempuyung diperoleh 15 pasang data.

***Penetapan kadar flavonoid total (Metode  $AlCl_3$ )***

Kadar flavonoid total secara eksperimen ditetapkan berdasarkan parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat yang diterbitkan oleh Departemen Kesehatan RI (2000). Langkah yang dilakukan meliputi ekstraksi dan penetapan kadar secara spektrofotometri.

***Ekstraksi:***

Sebanyak 10 g simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat 50 mL dan kemudian ditambahkan etanol teknis. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 6 jam dengan beberapa kali pengocokan. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring, setelah itu dilakukan refluks terhadap maserat selama 3 jam menggunakan etanol teknis dengan pengulangan sebanyak 2 kali. Ekstrak hasil refluks dan maserasi kemudian dipekatkan dengan radas penguap berputar hingga terbentuk ekstrak kental.

***Penetapan kadar flavonoid total:***

Ekstrak kental yang setara dengan 200 mg simplisia ditimbang dan dimasukkan ke labu bulat. Sistem hidrolisis yang digunakan yaitu 1.0 mL larutan heksametilentetramina 0.5% b/v, 20 mL aseton, dan 2.0 mL HCl 25% ditambahkan ke dalamnya. Selanjutnya, ekstrak dihidrolisis dengan pemanasan hingga mendidih selama 30 menit. Campuran hasil hidrolisis disaring dengan kapas ke dalam labu ukur 100 mL. Residunya kemudian ditambahkan 20 mL aseton dan dididihkan kembali (dilakukan 2 kali dan filtrat dikumpulkan ke dalam labu ukur lalu ditera). Sebanyak 20 mL filtrat hasil hidrolisis dan 20 mL akuades dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu diekstraksi dengan etil asetat (ekstraksi yang pertama dengan 15 mL etil asetat, ekstraksi kedua dan ketiga dengan 10 mL etil asetat). Fraksi etil asetatnya dikumpulkan dalam labu ukur 50 mL kemudian ditera. Ekstraksi dilakukan duplo untuk setiap ekstrak. Sebanyak 10 mL larutan fraksi etil asetat dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu direaksikan dengan 1 mL larutan berisi 2 g  $AlCl_3$  dalam 100 mL larutan asam asetat glasial 5% v/v (dalam metanol) dan ditera dengan larutan asam asetat glasial 5% v/v (triplo untuk setiap fraksi etil asetat). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 370,8 nm. Kurva

kalibrasi dibuat menggunakan standar kuersetin dengan konsentrasi 3, 6, 12, 15, dan 24 ppm. Kadar flavonoid total diperoleh dari persamaan garis kurva kalibrasi yang diperoleh.

***Pembuatan spektrum FTIR***

Sebanyak 0.5 mg serbuk daun tempuyung dicampurkan dengan 180 mg KBr, dihomogenisasi, lalu dibentuk pelet menggunakan *hand press* Shimadzu (tekanan 8 ton selama 10 menit). Pengukuran spektrum FTIR dilakukan pada daerah IR tengah ( $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ) dengan melibatkan pengontrol kerja berupa personal komputer yang dilengkapi perangkat lunak OPUS versi 4.2. Spektrum dihasilkan dengan kecepatan 32 detik dan resolusi  $4\text{ cm}^{-1}$ . Tampilan data spektrum yang mengandung 1866 titik serapan kemudian diubah ke dalam format DPT (*data point table*) untuk keperluan pengolahan data. Data ini dapat dibuka dengan program *Microsoft Excel*. Selanjutnya data dengan 1789 titik serapan (telah dihilangkan serapan  $CO_2$ -nya pada  $2399-2252\text{ cm}^{-1}$ ) diolah dengan program *The Unscrambler* versi 9.5 (CAMO, Norwegia) yang dijalankan dengan sistem operasi *Microsoft Windows XP Professional*. Selain data spektrum asli, dihasilkan pula data dengan perlakuan pendahuluan berupa koreksi garis dasar, normalisasi (nilai serapan diatur sehingga serapan tertinggi bernilai satu dan serapan terendah bernilai nol), derivatisasi, dan penghalusan hasil derivatisasi dengan metode Savitsky-Golay dengan jumlah titik 13.

***Pembuatan model prediksi flavonoid total***

Model kalibrasi multivariat dibuat dengan program *The Unscrambler* versi 9.5 menggunakan metode regresi PLS. Pembentukan model prediksi flavonoid total dilakukan oleh PLS dengan melibatkan variabel  $x$  (hasil pengukuran FTIR) dan variabel  $y$  (data hasil analisis metode  $AlCl_3$ ). Kalibrasi dan validasi model diolah dengan teknik validasi silang. Keakuratan model dapat dilihat pada nilai korelasi atau koefisien determinasi dan nilai kesalahan yang dihasilkan. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration SEC*, *standar error of cross validation SECV* atau *standard error of*

prediction SEP) rendah dan nilai korelasi atau koefisien determinasinya tinggi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Flavonoid Total Tempuyung

Tahapan analisis flavonoid dengan metode kolorimetrik menggunakan  $AlCl_3$  sebagai pereaksi kromogenik merupakan tahapan analisis yang cukup panjang. Tahapan ini diawali dengan ekstraksi flavonoid oleh pelarut polar, pemekatan ekstrak, hidrolisis dengan asam untuk memutuskan gula dari aglikon, pemisahan aglikon dari gula dengan ekstraksi cair-cair, pembentukan kompleks aglikon- $AlCl_3$ , hingga pengukuran dengan spektrofotometer.

Berdasarkan metode analisis ini, flavonoid total yang terukur merupakan sumbangan dari golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak karena hanya kedua kelompok inilah yang mampu membentuk kompleks stabil dengan  $AlCl_3$  pada gugus keto C-4 dan C-3 atau C-5 dari gugus hidroksil yang dimiliki (Chang *et al.*, 2002). Tabel 1 memperlihatkan hasil pengukuran flavonoid total tempuyung dengan kadar <1% b/b oleh karenanya senyawa flavonoid pada tempuyung senyawa flavonoid termasuk ke dalam konstituen minor.

Tempuyung asal Cimanggu memiliki kadar flavonoid yang sedikit berbeda dibandingkan

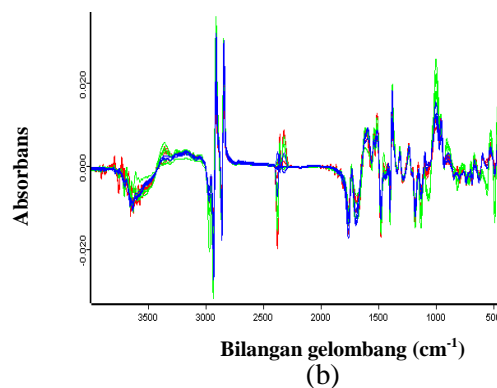
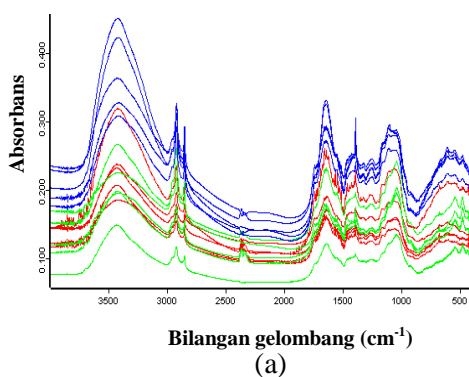
tempuyung asal Tawangmangu dan Leuwiliang. Tempuyung dari Tawangmangu dan Leuwiliang mengandung sekitar 0.80% flavonoid total, sedangkan tempuyung Cimanggu hanya sekitar 0.60%. Perbedaan kadar flavonoid dari tempuyung tersebut salah satunya menggambarkan adanya keragaman konstituen kimia tumbuhan sebagai akibat perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh. Suhu, sinar ultraviolet, hara, ketersediaan air, dan kadar  $CO_2$  pada atmosfer adalah beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi metabolisme tumbuhan (Summanen, 1999)

Tabel 1. Hasil pengukuran flavonoid total tempuyung

Asal Tempuyung	Rerata Kadar Flavonoid Total (% b/b $\pm$ sd)(n = 5)
Tawangmangu	0.80 $\pm$ 0.065
Cimanggu	0.62 $\pm$ 0.035
Leuwiliang	0.82 $\pm$ 0.035

### Spektrum FTIR Ekstrak Tempuyung

Pola spektrum FTIR sel utuh contoh hayati merupakan pola spektrum sidik jari hasil serapan vibrasi dari seluruh konstituen yang ada dalam sel, seperti protein, lipid, karbohidrat, dan beragam metabolit sekunder (Naumann, 1998). Pola inilah yang terlihat pada spektrum FTIR tempuyung di bawah ini (Gambar 1).



Keterangan :

- : tempuyung Cimanggu
- : tempuyung Tawangmangu
- : tempuyung Leuwiliang

Gambar 1. Spektrum inframerah asli tempuyung (a) dan dengan proses pendahuluan (b)

Secara umum, spektrum IR tempuyung terlihat memiliki puncak serapan yang cukup lebar pada daerah  $3500\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan keberadaan gugus OH. Puncak yang tajam, sempit, dan berdekatan pada bilangan gelombang  $\sim 2925\text{ cm}^{-1}$  dan  $\sim 2853\text{ cm}^{-1}$  menandakan vibrasi ulur C-H. Vibrasi ulur karbonil (C=O) terlihat pada bilangan gelombang  $1600\text{-}1760\text{ cm}^{-1}$ , dan ikatan C=C aromatik pada bilangan gelombang  $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ . Puncak serapan yang cukup berbeda tampak pada daerah sidik jari kedua spektrum contoh. Pada daerah ini ciri khas dari setiap contoh dapat dilihat, namun perbedaan intensitas dan kekhasan serapan konstituen yang sangat halus tidak dapat teramati. Informasi ini hanya dapat diamati dengan kemometrik.

#### **Model Prediksi Flavonoid Total Ekstrak Tempuyung**

PLS mengekstraksi informasi spektrum yang relevan dengan suatu sifat kimia tertentu yang dibutuhkan. Sebagai salah satu metode pengenalan pola terawasi, model regresi PLS mencari korelasi linear antara variabel  $x$  hasil

pengukuran spektrum (variabel prediktor) dan variabel  $y$  hasil penampakan kimiawi atau aktivitas hayati contoh (variabel respon). Pada analisis flavonoid tempuyung, variabel  $x$  merupakan nilai absorbans pada bilangan gelombang tertentu sedangkan variabel  $y$ -nya merupakan kadar flavonoid total tempuyung hasil analisis metode  $\text{AlCl}_3$ .

Berhubung hanya melibatkan satu komponen respons dari spektrum yaitu dalam bentuk kadar flavonoid total, maka analisis regresi PLS dilakukan dengan metode PLS-1. Kesahihan model yang terbentuk diuji dengan teknik validasi silang. Teknik ini bermanfaat untuk menentukan jumlah komponen yang optimum dari jumlah contoh yang sedikit selain juga mampu melakukan tes secara independen (Stchur *et al.*, 2002). Suatu model hasil regresi PLS digolongkan sebagai model yang dapat dipercaya bila nilai parameter yang dihasilkan, diantaranya nilai korelasi ( $r$ ) dan nilai galat, serupa untuk setiap tahapan pembuatan model. Nilai korelasinya harus bernilai tinggi sedangkan galatnya bernilai rendah (Baranska *et al.*, 2005).

Tabel 2. Nilai parameter model prediksi flavonoid total dalam tempuyung

Kode Spektrum	Korelasi		Galat						Faktor
	Kalibrasi	Validasi	SEC	RMSEC	BIAS	RMSEP	SEP	BIAS	
<b>Tempuyung</b>									
Asli	0.926	0.564	0.039	0.038	0.000	0.091	0.094	0.009	5
Asli gabung	0.969	0.701	0.026	0.025	0.000	0.084	0.087	0.003	7
Asli segmen 1	0.975	0.806	0.023	0.022	0.000	0.061	0.063	-0.004	8
Asli segmen 2	0.978	0.844	0.021	0.021	0.000	0.055	0.057	-0.003	7
<b>Derivat</b>	<b>0.996</b>	<b>0.864</b>	<b>0.009</b>	<b>0.009</b>	<b>0.000</b>	<b>0.052</b>	<b>0.054</b>	<b>0.003</b>	<b>9</b>
Derivat gabung	0.996	0.853	0.009	0.009	0.000	0.054	0.056	0.004	9
<b>Derivat segmen 1</b>	<b>0.974</b>	<b>0.742</b>	<b>0.023</b>	<b>0.023</b>	<b>0.000</b>	<b>0.076</b>	<b>0.078</b>	<b>-0.001</b>	<b>7</b>
Derivat segmen 2	0.996	0.849	0.010	0.009	0.000	0.055	0.057	0.004	9

Tabel 2 menampilkan parameter model prediksi flavonoid total tempuyung. Secara umum, tampilan parameter hasil kalibrasi terlihat lebih tinggi daripada hasil validasi. Naes *et al.* (2002) menggolongkan model dengan kondisi

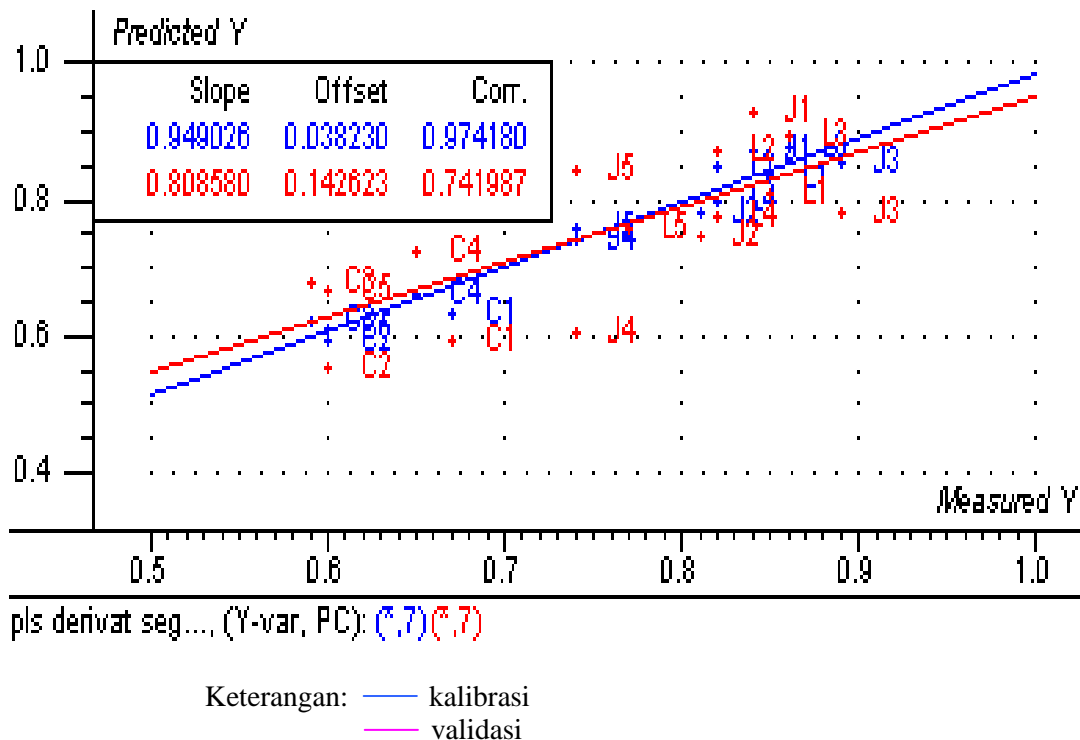
seperti ini sebagai model yang *overfitted*. Artinya, model ini menghasilkan terlalu banyak variasi yang spesifik untuk proses kalibrasi dan melibatkan jumlah komponen yang terlalu tinggi.

Kondisi *overfitted* akan menurunkan kemampuan prediksi model.

Pengaruh proses pendahuluan pada pembentukan model juga terlihat pada Tabel 2. Pada model prediksi flavonoid tempuyung, perlakuan pendahuluan terhadap spektrum mampu meningkatkan tampilan parameter model melalui pengurangan perubahan latar belakang.

Model prediksi flavonoid total tempuyung cenderung kurang stabil karena ketidakhadiran dari satu contoh tempuyung akan menghasilkan model yang berbeda nyata dari model yang sebenarnya (Davies, 1998). Kecenderungan pemanfaatan model untuk tempuyung adalah pada model yang terbentuk dari data spektrum berkode derivat segmen 1. Model data spektrum ini walaupun memiliki nilai korelasi yang jauh lebih rendah daripada

nilai korelasi spektrum derivat ( $r$  derivat segmen 1 = 0.974, dan  $r$  derivat = 0.996), namun tingkat kestabilannya cenderung lebih baik, diperlihatkan oleh nilai galat validasinya yang hanya berkisar tiga kali lipat daripada nilai galat kalibrasinya (RMSEC = 0.023, RMSEP = 0.076). Model ini juga hanya melibatkan 7 faktor utama sebagai komponen utama penciri flavonoid. Gambar 3 menunjukkan regresi PLS tempuyung dari data spektrum berkode derivat segmen 1. Plot regresi memperlihatkan mutu model regresi yang dihasilkan. Model yang baik akan menghasilkan titik-titik yang berdekatan sepanjang garis regresi dengan nilai slope mendekati 1 (sudut 45°) dengan nilai kalibrasi dan validasi yang saling berdekatan atau berimpitan (Naes *et al.* 2002)



Gambar 2. Plot regresi PLS tempuyung model derivat segmen 1

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Metode kemometrik dapat digunakan untuk mengekstraksi data spektrum FTIR dengan memanfaatkan informasi spektrum yang khas sebagai variabel yang mempengaruhi kenampakan kimiawi atau aktivitas hayati contoh. Model prediksi kadar flavonoid total yang dapat digunakan untuk contoh tempuyung adalah model hasil bentukan spektrum berkode derivat segmen 1 ( $r$  kalibrasi = 0.974,  $r$  validasi = 0.742, SEC dan RMSEC = 0.023, RMSEP 0.076, SEP = 0.078, dan bias prediksi = -0.001). Prediksi dapat dilakukan dengan memasukkan data spektrum FTIR hasil proses pendahuluan dari sel utuh atau serbuk contoh ke dalam model regresi PLS sebagai data uji.

### Saran

Disarankan untuk dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui produk akhir dari

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Program Penelitian Dasar, Direktorat Jenderal pendidikan Tinggi, Depdiknas dengan Nomor Perjanjian 026/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baranska, M., Schulz, H., Siuda, R., Strehle, M.H., Rosch, P., Popp, J., Joubert, and E., Manley, M., 2005, Quality Control of *Harpagophytum procumbens* and Its Related Phytopharmaceutical Products by Means of NIR-FT-Raman Spectroscopy, *Biopolymers*, 77 : 1-8
- Chen, H., Bao, Y., He, Y., and Sun, D. W., 2007, Visible and Near Infrared Spectroscopy for Rapid Detection of Citric and Tartaric Acids in Orange Juice, *J Food Engineering*, 82 : 253-260
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *J. Food. Drug Anal*, 10 : 178-182
- Davies, A. M. C., 1998, Cross Validation: Do We Love It Too Much?, *Spectrosc. Eur.*, 10 : 24-25
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI, Jakarta
- [Deptan] Departemen Pertanian, 2002, Rumusan Forum Koordinasi Kelembagaan Produksi Aneka Tanaman. *Prosiding Forum Koordinasi Kelembagaan Produksi Aneka Tanaman*, 13-16 November 2002, Jakarta
- Dharmaraj, S., Jamaludin, A. M., Razak, H. M., Valliappan, R., Ahmad, N. A., and Ismail, Z. A., 2006, The Classification of *Phyllanthus niruri* Linn, According to Location by Infrared Spectroscopy, *Vibrational Spectrosc.*, 41 : 68-72
- Liu, D., Li, Y. G., Xu, H., Sun, S. Q., and Wang, Z. T., 2008, Differentiation of The Root of Cultivated Ginseng, Mountain Cultivated Ginseng and Mountain Wild Ginseng using FT-IR and Two-Dimensional Correlation IR Spectroscopy. *J. Mol. Struc.*, 883-884 : 228-235
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., and Davies, T., 2002, *A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publication, Chichester
- Naumann, D., 1998, *Infrared Spectroscopy in Microbiology*, Meyers, R. A., Encyclopedia of Analytical Chemistry, John Wiley and Sons, Berlin
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Kurniasari, I., and Darusman, L. K., 2006, Rapid Analysis of Total Flavonoids from Medicinal Herb: Interpretation of Chemometrics on Infrared Spectra of *Phyllanthus niruri*, *Prosiding of The 2006 Seminar on Analytical Chemistry 9 Maret 2006*, Departemen Kimia Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Soedibyo, M., 1998, *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat, dan Kegunaan*, Balai Pustaka, Jakarta

- Stchur, P., Cleveland, D., Zhou, J., and Michel, R. G. 2002. A Review of Recent Applications of Near Infrared Spectroscopy and of The Characteristics of Novel Pbs CCD Arraybased NIR Spectrometers, *Appl. Spectrosc.Rev.*, 37 : 383-428
- Summanen, J. A., 1999, A Chemical and Ethnopharmalogical Study on *Phyllanthus emblica* (*Euphorbiaceae*), *Disertasi*, Faculty of Science, University of Helsinki, Helsinki
- Wold, S., Sjostrom, M., and Eriksson, L., 2001, PLS-Regression: a Basic Tool of Chemometrics, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 58 :p 109-130
- Versari, A., Parpinello, G. P., Scazzina, F., and Rio, D. D., 2010. Prediction of Total Antioxidant Capacity of Red Wine by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Food Control*, 21 : 786–789