

Metabolite Profiling of Temelekar Root (*Coptosapelta tementosa* Valetton ex. K. Heyne) Using Chemometric Methods

Asril Burhan, Megawati, Alfrita Melvan Tumiwa, Reny Syahrani, Marwati

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 13,7 Daya Telp./Fax.0411-583190 Makassar 90242

Artikel info

Diterima : 11 Juni 2020
Direvisi : 16 Juni 2020
Disetujui : 23 Juni 2020

Keyword

Coptosapelta tementosa
FTIR
Chemometric

ABSTRACT

Coptosapelta tementosa Valetton ex. K. Heyne is known to contain steroid, flavonoid and phenolic compounds. The entity and content of bioactive compounds of plants are depending on the type of soil and climate of its grown place, which can cause inconsistencies in terms of quality and efficacy. This study aims to determine the metabolite profiles of the ethanol extract of temelear root, obtained from several growing places using FTIR and chemometric methods. Temelear root samples were obtained from 4 different places on the island of Kalimantan (Kuario, Babulu, Lintang Jaya, Tanjung Batu). Temelear root was extracted using reflux method with 95% ethanol. The FTIR spectrum data were processed using a chemometric analysis program with statistical analysis data using the Unscramble 10 and Minitab version 19 programs. The results showed that the metabolite profiles of temelear root from several grown places had significant differences. The similarity of variable area in Kuario and Babulu (group 1) has a similarity of 85.09%. The variable area of Lintang Jaya with the variable area of group 1 has a similarity of 79.66% (group 2). The variable area of the Tanjung Batu and the variable area of group 2 has 33.94% similarities (group 3). So, the conclusion is the grown place affect to production of secondary metabolite compounds.

Profil Metabolit Akar Temelekar (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) Dengan Metode Kemometrik

Kata kunci

Coptosapelta tementosa
FTIR
Chemometric

ABSTRAK

Akar Temelekar (*Coptosapelta tementosa* Valetton ex. K. Heyne) diketahui mengandung senyawa steroid, flavonoid dan fenolik. Entitas dan kandungan senyawa bioaktif tumbuhan bervariasi bergantung pada jenis tanah dan iklim lokasi tempat tumbuhnya, yang dapat menyebabkan inkonsistensi dalam hal kualitas dan khasiatnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit ekstrak etanol akar temelear yang diperoleh dari beberapa tempat tumbuh dengan menggunakan metode FTIR dan kemometrik. Sampel akar temelear diperoleh dari 4 tempat berbeda di Pulau Kalimantan (Kuario, Babulu, Lintang Jaya, Tanjung Batu). Akar temelear diekstraksi menggunakan metode refluks dengan etanol 95% sebagai pelarut. Data hasil spektrum FTIR, diolah menggunakan program analisis kemometrik dengan data analisis statistik menggunakan program *the unscramble* 10 dan *minitab* versi 19. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil metabolit komponen senyawa akar temelear dari beberapa tempat tumbuh memiliki perbedaan yang signifikan. Kesamaan variabel daerah Kuario dan Babulu (kelompok 1) memiliki kemiripan 85,09%. Variabel daerah Lintang Jaya dengan variabel daerah kelompok 1 memiliki kemiripan 79,66% (kelompok 2). Variabel daerah Tanjung Batu dengan daerah kelompok 2 memiliki kemiripan 33,94% (kelompok 3). Dapat disimpulkan bahwa tempat tumbuh memberikan pengaruh dalam produksi senyawa metabolit dari akar temelear.

Koresponden author

Asril Burhan
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km 13.7 Daya, Sulawesi Selatan, 90242, Indonesia
Email: asrilburhan@gmail.com

PENDAHULUAN

Coptosapelta tementosa merupakan salah satu spesies tumbuhan dari famili Rubiaceae yang banyak dijumpai di hutan tropis Kalimantan. Tanaman ini umumnya dikenal dengan nama lokal Merung di Kalimantan Timur dan Manireng di Kalimantan Selatan. Tumbuhan ini secara tradisional biasa digunakan sebagai obat afrodisiak, peluruh darah (menstruasi), radang atau bengkak, reumatik, diare serta inflamasi dan tonik. Bagian akar dari tumbuhan merung, juga biasa dimanfaatkan untuk obat keputihan dan kontrasepsi untuk wanita (Supriningrum *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Karolina *et al.* (2018) ekstrak etanol akar temelear mengandung senyawa steroid, flavonoid dan fenolik (Karolina *et al.*, 2018). Diketahui secara luas bahwa entitas dan kandungan senyawa bioaktif tumbuhan obat sangat bervariasi yang salah satunya bergantung pada jenis tanah dan iklim pada lokasi tempat tumbuhnya. Variasi ini dapat menyebabkan inkonsistensi dalam hal kualitas dan khasiatnya (Rafi *et al.*, 2015). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian yang mengarah pada diferensiasi asal geografis bahan baku dari suatu tumbuhan. Komposisi kimia yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan sangat kompleks, sehingga dibutuhkan teknik analisis yang dapat menggambarkan secara menyeluruh karakteristik kimianya. Salah satu teknik analisis tersebut ialah teknik Fourier Transform Infrared (FTIR). Spektrum sidik jari FTIR yang dihasilkan merupakan informasi data yang sangat kompleks sehingga akan menggambarkan secara menyeluruh karakteristik kimia suatu bahan (Tarapoulouzi *et al.*, 2020). Perubahan yang terjadi pada posisi pita dan intensitasnya dalam spektrum FTIR akan berhubungan dengan perubahan komposisi kimia dalam suatu bahan. Oleh karena itu spektrum FTIR dapat digunakan untuk membedakan tumbuhan berdasarkan tempat tumbuhnya. Selain itu juga FTIR telah digunakan secara luas dan alat untuk kendali mutu dalam industri termasuk industri obat herbal. Spektroskopi FTIR juga memiliki keuntungan diantaranya mudah digunakan, efisien, cepat dan murah (Rohman *et al.*, 2020; Valand *et al.*, 2020; Vogt *et al.*, 2019).

Aplikasi kombinasi spektrum FTIR dengan metode kemometrik telah banyak digunakan diantaranya identifikasi dan autentikasi tanaman obat (Wulandari *et al.*, 2016), determinasi dan analisis *finger print* tanaman murbei sebagai bahan baku obat tradisional (Umar *et al.*, 2016) dan diskriminasi dan autentikasi dari produk herbal (Rohman *et al.*, 2019). Dalam industri farmasi profil metabolit secara luas digunakan untuk studi penemuan kandidat obat baru, produk metabolisme obat dan efek perawatan terapi. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang profil metabolit akar temelear dengan metode kemometrik.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel

Sampel diambil dari beberapa tempat di Pulau Kalimantan dengan Kabupaten yang berbeda yaitu Kuaro (Kabupaten Paser, Kalimantan Timur), Babulu (Kabupaten Penajam Paser Utara, Kalimantan

Timur), Tanjung batu (Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur), Lintang Jaya (Kabupaten Kotabaru, Kalimantan Selatan). Selanjutnya, sampel di determinasi di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawaman, Samarinda.

Pembuatan simplisia akar temelear

Sampel dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan pada suhu 60°C hingga menjadi simplisia (Umar *et al.*, 2016).

Ekstraksi

Simplisia akar temelear sebanyak 300 g diekstraksi menggunakan metode refluks dengan pelarut etanol 95% selama 4 jam. Ekstrak cair hasil refluks selanjutnya diuapkan hingga didapatkan hasil berupa ekstrak kental.

Pengukuran dengan FTIR

Sejumlah tertentu ekstrak akar temelear masing-masing dicampurkan secara seragam dengan KBr membentuk pelet dengan menggunakan alat kempa. Pelet dimasukkan ke dalam wadah sampel dan dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer FTIR. Kemudian spektrum yang diperoleh dari hasil pengukuran disimpan dengan menggunakan nama yang sesuai.

ANALISIS DATA

Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan program *Unscramble 10* dan *Minitab* versi 19.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan profil komponen senyawa akar temelear dari beberapa tempat tumbuh. Sampel penelitian diambil dari 4 lokasi berbeda yaitu Lintang Jaya Kabupaten Kotabaru Kalimantan Selatan, Kuaro Kabupaten Paser Kalimantan Timur, Babulu Kabupaten Penajam Paser Utara dan Tanjung Batu Kabupaten Kutai Kartanegara Kalimantan Timur.

Pembentukan senyawa bioaktif dalam bagian tumbuhan yang akan dipanen dipengaruhi oleh waktu panennya. Oleh karena itu, pengambilan sampel akar temelear dilakukan pada sore hari saat hasil fotosintesis telah diedarkan oleh xilem dari organ daun ke seluruh bagian tumbuhan yang akan mempengaruhi kadar senyawa bioaktif pada akar tumbuhan. Selain itu, pengambilan akar dilakukan sewaktu proses pertumbuhan tumbuhannya berhenti yang ditandai dengan daun tumbuhan itu mulai menguning (Zhang *et al.*, 2019) 2019.

Setelah dilakukan pengumpulan bahan baku, akar temelear disortasi basah. Sortasi basah dimaksudkan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing atau bagian tumbuhan yang lain yang tidak dibutuhkan. Pencucian sampel dilakukan dengan air mengalir agar diperoleh akar yang bersih dan bebas dari pengotor atau tanah yang melekat pada akar. Selanjutnya, akar temelear di keringkan dengan cara diangin-anginkan terhindar dari matahari langsung. Tujuan dari proses pengeringan ialah untuk menurunkan kadar air sehingga simplisia tidak mudah ditumbuhi kapang

Tabel 1. Letak geografis

No.	Asal Daerah	Letak Geografis	Ketinggian (mdpl)
1	Lintang Jaya	2°21'15"LS, 116°20'07"BT	40,88
2	Kuaro	1°51'26"LS, 116°02'27"BT	87,02
3	Babulu	1°30'24"LS, 116°25'28"BT	17,34
4	Tanjung Batu	0°23'40"LS, 117°02'53"BT	27,25

dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam pengelolaan proses selanjutnya. Akar temelear kemudian dipotong-potong menjadi lebih kecil. Tujuan simplisia dirajang ialah untuk mempermudah penyimpanan serta memperbesar luas permukaan simplisia dan memiliki ukuran yang sama, semakin halus dan homogen bentuk simplisia maka proses ekstraksi makin efektif dan efisien (Riani, 2016).

Simplisia sebanyak 300 g masing-masing diekstraksi dengan metode refluks selama 3-4 jam menggunakan pelarut etanol 95%. Metode refluks dipilih karena karakteristik simplisia yang memiliki tekstur kasar dan keras. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%. Etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut yang umum digunakan untuk ekstraksi serta memiliki polaritas yang tinggi sehingga etanol dapat mengekstraksi metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan dengan pelarut organik lainnya (Bahman & Ihwan, 2019). Etanol lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam konsentrasi alkohol lebih dari 20% sehingga mencegah tumbuhnya jamur pada ekstrak. Filtrat hasil ekstraksi selanjutnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Spektroskopi FTIR merupakan suatu teknik analisis yang cepat, sederhana dan non-destruktif dengan seluruh sifat kimia dalam sampel dapat ditelusuri dan dimunculkan pada spektra FTIR. Spektrum inframerah menunjukkan banyaknya puncak pita pada bilangan gelombang yang karakteristik. Hasil pembacaan spektrum inframerah ekstrak etanol akar temelear menggunakan FTIR dengan bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} senyawa bioaktif dalam simplisia. IC_{50} pada metode pengeringan dengan matahari langsung yaitu 31,78 ppm. Hal ini disebabkan pada pengeringan metode sinar matahari dapat mendegradasi senyawa fitokimia yang terkandung dalam simplisia (Roshanak *et al.*, 2016).

Hasil pengujian menggunakan spektroskopi FTIR menunjukkan bahwa akar temelear mengandung

berbagai macam gugus fungsi (Tabel 2). Berdasarkan hasil spektroskopi FTIR, spektra yang dihasilkan dari 4 sampel akar temelear memperlihatkan kemiripan dengan sedikit perbedaan pada spektra. Pada spektra akar temelear dari daerah Tanjung Batu terlihat puncak pada panjang gelombang 3169,15 cm^{-1} , 1151,54 cm^{-1} dan 582,52 cm^{-1} , sedangkan pada spektra dari ketiga daerah lainnya tidak terlihat. Pada spektra akar temelear dari daerah Kuaro dan Babulu terlihat puncak pada panjang gelombang 1514,17 cm^{-1} yang tidak terlihat pada kedua daerah lainnya. Kemudian pada spektra akar temelear dari daerah Babulu terlihat puncak pada panjang gelombang 864,14 cm^{-1} dan daerah Tanjung Batu pada panjang gelombang 877,64 cm^{-1} , sedangkan pada akar temelear dari daerah Lintang Jaya dan Kuaro tidak terlihat. Selanjutnya pada spektra akar temelear dari daerah Lintang Jaya terlihat puncak pada panjang gelombang 559,38 cm^{-1} dan daerah Babulu pada panjang gelombang 567,09 cm^{-1} , sedangkan pada kedua daerah lainnya tidak terlihat. Pada spektra akar temelear dari daerah Kuaro terlihat puncak pada panjang gelombang 516,94 cm^{-1} dan daerah Babulu pada panjang gelombang 515,01 cm^{-1} yang tidak terlihat pada akar temelear dari daerah Lintang Jaya dan Tanjung Batu. Selain itu pada spektra akar temelear dari daerah Kuaro terlihat puncak pada panjang gelombang 466,75 cm^{-1} dan daerah Tanjung Batu pada panjang gelombang 474,50 cm^{-1} . Kemiripan spektra yang diperoleh dari hasil analisis spektroskopi FTIR selanjutnya dianalisis menggunakan teknik PCA (*Principle Component Analysis*).

PCA dilakukan pada data yang telah didapatkan melalui hasil pengukuran FTIR, yang selanjutnya direduksi menjadi komponen utama atau *principle component* (PC) yang dapat mewakili struktur dan varians dalam data (Biancolillo & Marini, 2018). Penggunaan PCA bertujuan untuk mendukung dan mengkonfirmasi data yang dihasilkan dari spektra FTIR dengan mereduksi data multivariat antara variabel objek (sampel) dengan komponen utama mempunyai sifat fisika kimia yang hampir sama. Oleh karena itu, PCA dapat digunakan untuk mengelompokkan akar temelear yang memiliki tempat tumbuh berbeda.

Tabel 1 Persen rendemen ekstrak

Sampel	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Lintang jaya	300	28,62	9,54
Kuaro	300	22,97	7,65
Babulu	300	28,50	9,5
Tanjung Batu	300	31,25	16,73

Tabel 2. Gugus Fungsi

No	Asal Daerah	Bilangan gelombang	Gugus Fungsi
1.	Lintang Jaya	3416,05 2933,83 1639,55 1047,38	O-H (alkohol, fenol) C-H (alkana) N-H (amina) C-N (amina alifatik)
2.	Kuaro	3429,55 2929,97 1645,33 1460,16 1049,31	O-H (alkohol, fenol) C-H (alkana) N-H (amina) C-C (aromatik) C-N (amin alifatik)
3.	Babulu	3315,74 2891,39 1645,33 1456,30 1359,86 1051,25	O-H (alkohol, fenol) C-H (alkana) N-H (amina) C-C (aromatik) C-H (alkana) C-N (amin alifatik)
4.	Tanjung Batu	3535,64 2893,21 1666,55 1460,16 1269,20 1151,54	O-H (alkohol, fenol) C-H (alkana) N-H (amina) C-C (aromatik) C-H (alkana) C-N (amin alifatik)

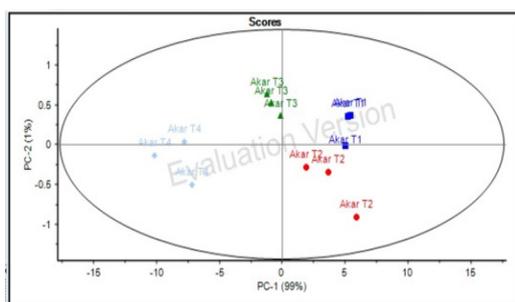
Hasil dari gambar *score plot* menggunakan PCA berupa *score plot* yang digunakan untuk pengelompokan berdasarkan PC1 dan PC2 yang memiliki nilai variabel terbesar sehingga dapat mewakili keseluruhan komponen. Analisis PCA memberikan informasi bahwa PC1 memiliki keseragaman data yang paling besar diperoleh 99% dan PC2 1%. Berdasarkan dari kuadran maka daerah Lintang jaya berada pada kuadran I, Babulu berada pada kuadran II, Tanjung batu berada pada kuadran III dan kuaro pada kuadran IV. Pola pengelompokan dari sampel akar temelear menggunakan analisis PCA dapat membedakan antara keempat tempat tumbuh, berdasarkan plot daerah Lintang Jaya dan Kuaro memiliki karakteristik yang hampir sama yang ditandai dengan berdekatnya jarak antara titik. Semakin dekat jarak antara titik satu dengan yang lain maka semakin besar kemiripan kandungan senyawa pada akar temelear. Analisis *cluster* merupakan metode untuk membagi sekelompok objek menjadi kelas-kelas sehingga yang serupa berada dalam kelas yang sama (Biancolillo & Marini, 2018).

Berdasarkan hasil analisis kluster (Gambar 3) diketahui bahwa variabel daerah Kuaro dan variabel

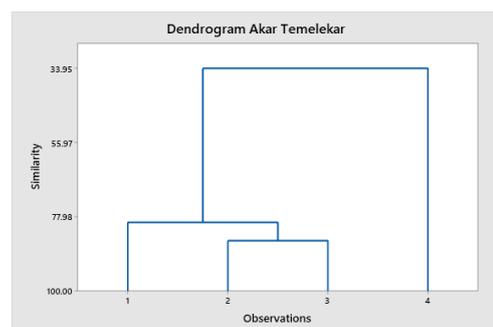
daerah Babulu memiliki kemiripan paling tinggi yaitu 85,09% dan digolongkan pada kelompok 1. Selain itu, variabel daerah Lintang Jaya dengan variabel daerah kelompok 1 juga memiliki kemiripan yang cukup tinggi yaitu 79,66% digolongkan pada kelompok 2. Presentasi kemiripan paling rendah yaitu 33,94% didapatkan sebagai hasil kemiripan antara variabel daerah Tanjung Batu dengan variabel daerah kelompok 2. Semakin rendah nilai jarak antar sampel maka memiliki ketidaksamaan yang rendah atau kesamaan yang tinggi. Sehingga diketahui hasil dendrogram pengelompokan 4 daerah akar *C. tementosa* memiliki ketidaksamaan yang tinggi atau perbedaannya signifikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa profil metabolit komponen senyawa pada akar temelear dari 4 tempat tumbuh di daerah Lintang Jaya, Kuaro, Babulu dan Tanjung Batu memiliki perbedaan yang signifikan, dengan pengelompokan kesamaan variabel daerah Kuaro dan Babulu (kelompok 1) dengan kemiripan 85,09%. Variabel daerah Lintang Jaya dengan variabel daerah



Gambar 1 Score plot analisis PCA



Gambar 2 Diagram Dendrogram hasil analisis kluster (1: Variabel daerah Lintang Jaya; 2: Variabel daerah Kuaro; 3: Variabel daerah Babulu; 4: Variabel daerah Tanjung Batu)

kelompok 1 memiliki kemiripan 79,66% (kelompok 2). Variabel daerah Tanjung Batu dengan daerah kelompok 2 memiliki kemiripan 33,94% (kelompok 3). Sehingga menunjukkan bahwa perbedaan tempat tumbuh mempengaruhi produksi metabolit sekunder.

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan standarisasi terhadap akar temelear dari beberapa tempat tumbuh, terutama pada daerah yang telah diuji.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahman DS, Ihwan Y. Efek akar *Garcinia rostrata* Hassk. ex Hook.f terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **2019**;13(1); 21-29
- Biancolillo A, Marini F. Chemometric methods for spectroscopy-based pharmaceutical analysis. *Frontiers in Chemistry*. **2018**;6; e576
- Karolina A, Pratiwi DR, Erwin E. Uji fitokimia dan toksisitas ekstrak merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume). *Jurnal Atomik*. **2018**;3(2); 79-82
- Rafi M, Purwakusumah ED, Ridwan T, Barus B, Sutandi A, Darusman L. Geographical classification of java tea (*Orthosiphon stamineus*) from Java Island by FTIR spectroscopy combined with canonical variate analysis. *Jurnal Sains dan Matematika*. **2015**;23(1); 25-31
- Riani C. Efektifitas metode pengeringan pada pembuatan simplisia akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Radix). *Jurnal Sains dan Terapan Hasnur*. **2016**;6(2); 1689-99
- Rohman A, Ghazali MAB, Windarsih A, Irnawati, Riyanto S, Yusof FM, Mustafa S. Comprehensive review on application of FTIR spectroscopy coupled with chemometrics for authentication analysis of fats and oils in the food products. *Molecules*. **2020**;25(22); e33238638
- Rohman A, Windarsih A, Hossain M, Johan M, Ali M, Fadzilah N. Application of near- and mid-infrared spectroscopy combined with chemometrics for discrimination and authentication of herbal products: A review. *J Appl Pharm Sci*. **2019**;9(3); 137-47
- Roshanak S, Rahimmalek M, Goli SAH. Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*. **2016**;53(1); 721-29
- Supriningrum R, Sapri S, Pranamala VA. Uji toksisitas akut ekstrak etanol akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **2017**;2(2); 161-65
- Tarapoulouzi M, Kokkinofita R, Theocharis CR. Chemometric analysis combined with FTIR spectroscopy of milk and Halloumi cheese samples according to species' origin. *Food science & nutrition*. **2020**;8(7); 3262-73
- Umar AH, Syarhuni R, Burhan A, Maryam F, Astuti A, Masero. Determinasi dan analisis finger print tanaman murbei (*Morus alba* L.) sebagai bahan baku obat tradisional dengan metode spektroskopi FT-IR dan kemometrik Pharmacon *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **2016**;5(1); 79-90
- Valand R, Tanna S, Lawson G, Bengtström L. A review of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy used in food adulteration and authenticity investigations. *Food Additives & Contaminants: Part A*. **2020**;37(1); 19-38
- Vogt S, Löffler K, Dinkelacker AG, Bader B, Autenrieth IB, Peter S, Liese J. Fourier-Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for typing of clinical enterobacter cloacae complex isolates. *Frontiers in Microbiology*. **2019**;10; e2582
- Wulandari L, Retnaningtyas Y, Nuri, Lukman H. Analysis of flavonoid in medicinal plant extract using infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. **2016**;2016; e4696803
- Zhang S, Wu X, Cui J, Zhang F, Wan X, Liu Q, Zhong Y, Lin T. Physiological and transcriptomic analysis of yellow leaf coloration in *Populus deltoides* Marsh. *PloS one*. **2019**;14(5); e0216879