

Original Article

Autentikasi Kumis Kucing (*Orthosiphon Aristatus*) Menggunakan Kombinasi Spektrum Ultraviolet-Tampak Dan *Partial Least Square Regression*

Mohamad Rafi^{1,2*}, Nurul Sakinah W¹, Wulan Tri Wahyuni¹, Zulhan Arif¹, Rudi Heryanto^{1,2}

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, IPB University, Jalan Tanjung Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Tropical Biopharmaca Research Center- Institute of Research and Community Services, IPB University, Jalan Taman Kencana No. 3 Kampus IPB Taman Kencana, Bogor 16128, Indonesia

*Corresponding author: Mohamad Rafi | Email: mra@apps.ipb.ac.id

Received: 1 Maret 2021; Revised: 9 Juli 2021; Accepted: 25 Juli 2021; Published: 29 Juli 2021

Abstrak: Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak digunakan dalam mencegah maupun mengobati berbagai penyakit seperti memperlancar pengeluaran air kemih (diuretik), mengobati rematik, batuk, encok, masuk angin, sembelit, batu ginjal, kencing manis, dan albuminuria. Daun kumis kucing memiliki kemiripan dengan daun tekelan dan babadotan dalam bentuk daunnya, sehingga kedua daun tersebut dapat menjadi bahan pemalsu daun kumis kucing. Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode analisis untuk mengidentifikasi dan mengautentikasi kumis kucing dari babadotan dan tekelan. Kombinasi spektrum ultraviolet-tampak dan partial least square regression digunakan dalam pengembangan metode tersebut. Kisaran panjang gelombang yang digunakan untuk identifikasi dan autentikasi adalah 210-500 nm. Prapemrosesan sinyal untuk data matriks spektrum ultraviolet-tampak dilakukan dengan transformasi detrending karena menghasilkan galat yang lebih kecil dibandingkan dengan proses transformasi lainnya. Hasil yang didapat menunjukkan nilai koefisien determinasi di atas 0.9 untuk kalibrasi dan validasi. Nilai *root mean square error calibration* yang sudah cukup rendah dan nilai *root mean square error prediction* yang tidak terlalu tinggi menunjukkan bahwa model yang dikembangkan masih cukup baik dalam menentukan adanya bahan pemalsu dalam sampel kumis kucing.

Kata kunci: babadotan, kumis kucing, tekelan, kemometrik, autentikasi, spektrum UV-Vis

1. PENDAHULUAN

Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan tumbuhan obat yang banyak digunakan sebagai obat tradisional, seperti memperlancar pengeluaran air kemih (diuretik), mengobati rematik, batuk, encok, masuk angin, sembelit, radang ginjal, batu ginjal, kencing manis, dan albuminuria [1]. Dalam klasifikasi tanaman, kumis kucing termasuk ke dalam genus *Orthosiphon* dari suku *Lamiaceae*. Selain sebagai obat tradisional, kumis kucing juga memiliki beberapa aktivitas biologis, seperti antiinflamasi [2], antioksidan, antikanker dan diuretik [3], hepatoprotektif dan gastroprotektif [4], antihipertensi [5], antibakteri [6], dan antidiabetes [7]. Aktivitas biologis ini ditimbulkan karena adanya metabolit bioaktif yang terkandung dalam kumis kucing seperti metabolit dari golongan monoterpena, diterpena, triterpena, saponin, asam organik, dan flavonoid [8].

Secara umum, kumis kucing banyak diperdagangkan dalam bentuk simplisia kering, kapsul, tablet, minuman, dan ekstrak, sehingga dimungkinkan adanya pemalsuan bahan baku

kumis kucing dengan tumbuhan lain yang memiliki kemiripan morfologi terutama pada bentuk daunnya. Telah diketahui sebelumnya, daun kumis kucing memiliki kemiripan bentuk daun dengan daun babadotan (*Ageratum conyzoides*) dan tekelan (*Eupatorium riparium*) walaupun mereka berasal dari genus yang berbeda. Kesulitan membedakan tiga tanaman ini mungkin akan terjadi jika mereka telah diperdagangkan dalam bentuk serbuknya. Oleh karena itu, daun babadotan dan tekelan dapat menjadi salah satu pemalsu untuk daun kumis kucing. Untuk mengidentifikasi dan mengautentikasi daun kumis kucing dari daun babadotan maupun tekelan secara teliti dan akurat maka perlu adanya suatu metode kendali mutu. Kendali mutu ini bertujuan menjamin keaslian dan keamanan sebelum dikonversi menjadi produk akhirnya, sehingga tidak menurunkan khasiat dari produk yang dihasilkan [9].

Identifikasi dan autentikasi daun kumis kucing dapat dilakukan menggunakan beberapa teknik, salah satunya menggunakan spektrokopi UV-Vis. Teknik ini menjadi pilihan yang menarik karena memiliki beberapa kelebihan, antara lain cepat, murah, serta preparasi sampel dan instrumen yang sederhana, sehingga lebih efisien bila digunakan dalam proses kendali mutu [10]. Akan tetapi, spektroskopi UV-Vis juga menghasilkan pola spektrum yang kompleks dan tidak mudah diinterpretasi secara langsung, sehingga dibutuhkan bantuan analisis kemometrik untuk mempermudah interpretasi data, salah satunya menggunakan *partial least square regression* (PLSR). Kombinasi antara teknik spektroskopi dengan analisis multivariat telah berhasil digunakan dalam mengidentifikasi, mengautentikasi, dan mendiskriminasi berbagai jenis tanaman maupun makanan, diantaranya identifikasi dan autentikasi cabai merah [11], karakterisasi spesies *Solanum* dari bagian *Erythrotrichum* [12], dan diskriminasi kopi luwak [13]. Akan tetapi, belum ada penelitian yang melaporkan pengembangan metode identifikasi dan autentikasi daun kumis kucing dari babadotan dan tekelan. Oleh karena itu, dalam artikel ini kami telah mengembangkan metode identifikasi dan autentikasi kumis kucing dari dua tumbuhan yang memiliki morfologi daun yang sama (babadotan dan tekelan) menggunakan kombinasi spektrum UV-Vis dan PLSR.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain etanol p.a (Merck, Darmstadt, Jerman), 29 sampel yang terdiri dari 10 sampel kumis kucing, 10 sampel babadotan, dan 9 sampel tekelan yang dikumpulkan dari 3 provinsi di Pulau Jawa, Indonesia (Tabel 1). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu spektrofotometer UV-Vis 1700 PC (Shimadzu, Kyoto, Jepang), ultrasonic cleaner US-3 38 KHz (Ogawa Seiki, Tokyo, Jepang), dan peranti lunak The Unscrambler X versi 10.1 (CAMO, Oslo, Norwegia).

Tabel 1. Kode dan asal sampel

Kode Sampel ^a	Sumber (Wilayah, Kabupaten/Kota, Provinsi)	Kode Sampel ^a	Sumber (Wilayah, Kabupaten/Kota, Provinsi)
KK1	Dramaga, Bogor, Jawa Barat	B6	Binong, Subang, Jawa Barat
KK2	Ciapus, Bogor, Jawa Barat	B7	Pagerwangi, Bandung, Jawa Barat
KK3	Parung, Bogor, Jawa Barat	B8	Parung, Bogor, Jawa Barat
KK4	Ciputat, Tangerang Selatan, Banten	B9	Kadudampit, Sukabumi, Jawa
KK5	Sukajadi, Bandung, Jawa Barat	B10	Ciracas, Jakarta Timur, Jakarta
KK6	Mancak, Serang, Banten	T1	Cisarua, Bogor, Jawa Barat

Lanjutan Tabel 1...

KK7	Binong, Subang, Jawa Barat	T2	Cipanas, Cianjur, Jawa Barat
KK8	Cibitung, Bekasi, Jawa Barat	T3	Cimenyan, Bandung, Jawa Barat
KK9	Kragilan, Cikarang, Jawa Barat	T4	Pagerwangi, Bandung, Jawa Barat
KK10	Jatisempurna, Bekasi, Jawa Barat	T5	Sukajadi, Bandung, Jawa Barat
B1	Cipanas, Cianjur, Jawa Barat	T6	Soreang, Bandung, Jawa Barat
B2	Dramaga, Bogor, Jawa Barat	T7	Tajur, Bogor, Jawa Barat
B3	Ciapus, Bogor, Jawa Barat	T8	Pamijahan, Bogor, Jawa Barat
B4	Ciputat, Tangerang Selatan, Banten	T9	Kadudampit, Sukabumi, Jawa Barat
B5	Mancak, Serang, Banten		

*KK: Kumis Kucing, B: Babadotan, T: Tekelan

2.1. Preparasi Sampel

Sampel yang telah dikumpulkan kemudian diidentifikasi keautetikkannya di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor dan vucer spesimen disimpan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB. Sampel daun segar dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C. Simplisia kemudian digiling dan disaring menggunakan saringan 40 mesh sehingga didapatkan serbuk sampel dengan ukuran yang seragam.

2.2. Pembuatan Spektrum Sampel Tunggal dan Campuran Menggunakan Spektrofotometer Ultraviolet-Tampak

Sebanyak ± 0.0125 g serbuk sampel (kumis kucing, babadotan, tekelan, kumis kucing+babadotan, serta kumis kucing+tekelan) ditimbang dan ditambahkan 25 mL etanol kemudian diekstrak dengan metode sonikasi pada suhu ruang berdasarkan waktu optimum yang telah diperoleh. Filtrat disaring dalam labu takar 25 mL dan ditera dengan etanol. Larutan tersebut diencerkan menggunakan etanol dalam labu takar 10 mL hingga konsentrasi optimum. Larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer ultraviolet-tampak pada panjang gelombang 200-800 nm dengan menggunakan etanol sebagai blangko. Spektrum yang dihasilkan memuat data berupa panjang gelombang dan absorbans yang dikonversi ke dalam MS. Excel. Konsentrasi masing-masing sampel untuk set kalibrasi dan validasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase komposisi sampel campuran untuk set kalibrasi dan validasi

Sampel	Kalibrasi		Validasi	
	Kumis kucing	Bahan Pemalsu ^a	Kumis kucing	Bahan Pemalsu ^a
1	97.5	2.5	100.0	0.0
2	95.0	5.0	97.0	3.0
3	90.0	10.0	93.0	7.0
4	80.0	20.0	83.0	17.0
5	75.0	25.0	78.0	22.0
6	70.0	30.0	73.0	27.0
7	60.0	40.0	63.0	37.0
8	50.0	50.0	53.0	47.0
9	25.0	75.0	28.0	72.0
10	0.0	100.0	3.0	97.0

^aPemalsu: Babadotan atau Tekelan

2.3. Pembuatan Model Autentikasi

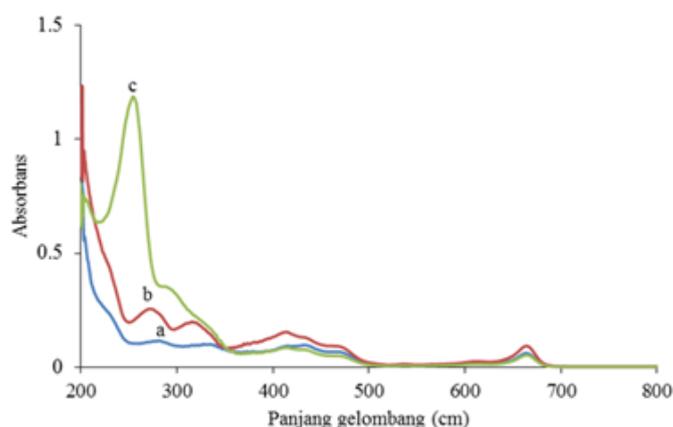
Data spektrum yang telah diperoleh perlu diberi proses pendahuluan. Proses pendahuluan yang dilakukan adalah *smoothing*, *baseline*, *normalize*, dan *detrending*. Selanjutnya dilakukan analisis PLSR pada data tersebut menggunakan perangkat lunak The Unscrambler X versi 10.1 (CAMO, Oslo, Norwegia), sehingga dapat dilakukan autentikasi kumis kucing terhadap babadotan dan tekelan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Spektrum UV-Vis Kumis Kucing, Babadotan, dan Tekelan

Sampel-sampel yang telah dikumpulkan dan dibuat serbuknya diekstraksi secara ultrasonikasi menggunakan etanol sebagai pelarut pengekstraksi. Ekstraksi dilakukan selama 60 menit pada suhu ruang dengan konsentrasi sampel sebesar 250 $\mu\text{g/mL}$. Cara ekstraksi dengan ultrasonikasi dipilih karena memiliki beberapa keuntungan, seperti biaya yang murah, instrumen yang digunakan sederhana, serta dapat digunakan untuk ukuran sampel yang beragam. Selain itu, ekstraksi dengan gelombang ultrasonik juga dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut, sehingga menyebabkan perpindahan massa metabolit bioaktif dari sel tumbuhan ke pelarut akan semakin cepat [14].

Ekstrak yang diperoleh diukur absorbansnya pada panjang gelombang 200-800 nm. Spektrum UV-Vis representatif dari ketiga sampel yang digunakan ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan spektrum UV-Vis yang dihasilkan, daun kumis kucing memiliki pola serapan yang cukup mirip dengan daun babadotan, sedangkan daun tekelan memiliki bentuk pita serapan yang khas dengan nilai absorbans yang tinggi pada panjang gelombang 255 nm. Hal ini menandakan komposisi metabolit dalam ketiga jenis tanaman memiliki perbedaan.



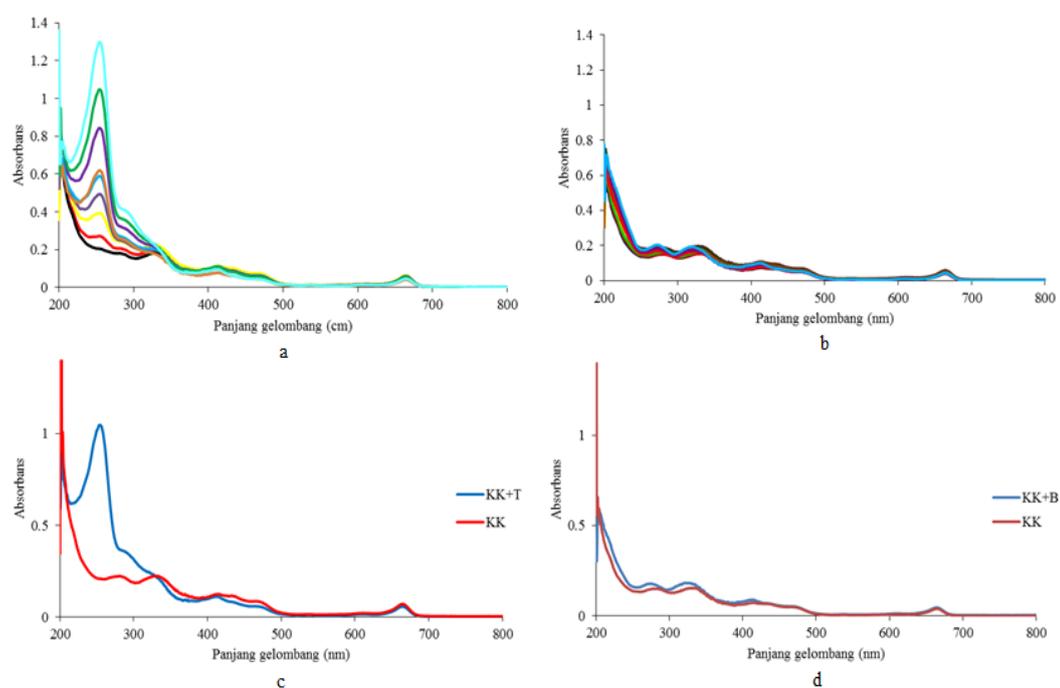
Gambar 1. Spektrum sampel (a) kumis kucing, (b) babadotan, dan (c) tekelan

Berdasarkan hasil pengukuran spektrum UV-Vis ketiga sampel, dipilih spektrum UV-Vis yang menunjukkan serapan tertinggi dan terendah pada panjang gelombang maksimumnya untuk melihat pengaruh intensitas serapan terhadap model identifikasi dan autentikasi yang dikembangkan. Sampel kumis kucing yang digunakan sebagai sampel utama, yaitu kumis kucing yang berasal dari Sukajadi (KK5) untuk yang serapan tinggi dan Binong (KK7) untuk serapan rendah. Sampel tekelan yang digunakan sebagai bahan pemalsu, yaitu sampel yang berasal dari Sukajadi (T5) untuk serapan tinggi dan Tajur (T7) untuk serapan rendah, sedangkan sampel

babadotan yang digunakan sebagai pemalsu berasal dari Pagerwangi (B5) untuk serapan tinggi dan Mancak (B7) untuk serapan rendah. Tahap pencampuran sampel dilakukan terhadap keenam sampel terpilih. Kedua sampel kumis kucing dicampurkan dengan sampel babadotan dan tekelan tersebut untuk pembuatan model identifikasi dan autentikasi menggunakan spektrum UV-Vis yang dikombinasikan dengan kemometrik.

3.2. Autentikasi Kumis Kucing terhadap Babadotan dan Tekelan

Metode Identifikasi dan autentikasi kumis kucing menggunakan model kalibrasi multivariat PLSR dikembangkan agar tidak terjadi pemalsuan terhadap bahan baku kumis kucing sehingga produk akhirnya memiliki konsistensi dalam khasiatnya. Model PLSR menghitung regresi dengan algoritma kuadrat terkecil yang menghubungkan antara dua matriks, yaitu data spektrum pada matriks X dan nilai referensi pada matriks Y. Model ini sering digunakan untuk analisis campuran yang kompleks karena mampu menentukan tiap-tiap komponen dalam campuran secara cepat dan bersama-sama dalam waktu yang singkat [15].



Gambar 1. Spektrum sampel campuran (a) kumis kucing+tekelan, (b) kumis kucing+babadotan, (c) kumis kucing tunggal dan kumis kucing+tekelan, dan (d) kumis kucing tunggal dan kumis kucing+babadotan

Kisaran panjang gelombang yang digunakan untuk identifikasi dan autentikasi adalah 210-500 nm. Kisaran panjang gelombang ini digunakan karena serapan sampel campuran cukup signifikan, sehingga data spektrum tersebut sangat berguna dalam proses autentikasi (Gambar 2). Berdasarkan spektrum yang dihasilkan, semakin tinggi konsentrasi tekelan dalam campuran kumis kucing+tekelan maka akan semakin tinggi serapan yang terjadi pada daerah panjang gelombang 255 nm (Gambar 2a), sedangkan pada spektrum sampel campuran kumis kucing+babadotan tidak terlihat perbedaan yang cukup jelas dengan meningkatnya konsentrasi babadotan dalam campuran (Gambar 2b). Hal ini disebabkan karena spektrum tunggal kedua sampel tersebut memiliki kemiripan (Gambar 2d). Prapemrosesan sinyal pada spektrum UV-Vis yang diperoleh perlu

dilakukan untuk mengurangi pengaruh interferensi gelombang dan derau pada data spektrum yang didapat agar diperoleh model yang lebih akurat dan stabil. Ada berbagai proses pendahuluan yang dapat diaplikasikan, seperti *smoothing*, *normalize*, *baseline*, dan *detrending* (Tabel 3). *Smoothing* merupakan metode yang digunakan untuk mengurangi derau. Koreksi garis dasar (*baseline*) dilakukan untuk menghindari masalah akibat pergeseran garis dasar. Normalisasi spektrum merupakan metode transformasi yang akan mengoreksi sesuai intensitas ataupun area puncak. *Detrending* merupakan metode transformasi yang akan menghapus tren nonlinier dalam data spektroskopi. Metode ini akan menghitung fungsi baseline sebagai kuadrat terkecil dari polinomial untuk spektrum sampel. Hasil dari berbagai proses pendahuluan tersebut menunjukkan bahwa *detrending* memiliki nilai kesalahan (RMSEC dan RMSECV) paling kecil dibandingkan nilai kesalahan proses pendahuluan yang lain.

Tabel 3. Perbandingan nilai RMSEC dan RMSECV berbagai proses pendahuluan

Sampel	<i>Smoothing</i>		<i>Baseline</i>		<i>Normalize</i>		<i>Detrending</i>	
	RMSEC	RMSECV	RMSEC	RMSECV	RMSEC	RMSECV	RMSEC	RMSECV
KK5+T5	3.3697	4.4860	3.3054	4.4102	10.1694	14.1434	2.1152	2.7445
KK5+T7	2.6896	3.2152	2.4217	2.8602	7.8539	10.9731	1.8507	2.5970
KK5+B5	0.9871	4.6612	0.8468	5.3116	2.1583	4.6814	1.0439	4.5695
KK5+B7	2.7954	5.7828	2.7016	5.6437	1.8191	2.9460	2.6435	4.8672
KK7+T5	2.2148	4.2208	2.1162	4.1342	5.2479	9.1329	1.5811	3.1634
KK7+T7	4.6924	7.6721	6.9654	8.5053	11.0674	15.2837	1.1081	9.9121
KK7+B5	11.8528	83.1046	5.1033	48.2817	20.5343	29.0329	1.8293	11.9079
KK7+B7	2.4584	4.4945	3.5737	6.1786	3.4215	4.8981	2.4451	10.7082

Kebaikan model kalibrasi multivariat PLSR dapat dilihat dari beberapa parameter, seperti nilai R^2 (square) dan nilai RMSEC (*root mean square error calibration*). Nilai R^2 menunjukkan linieritas antara variabel prediktor terhadap variabel respon, sedangkan nilai RMSEC menunjukkan variasi dari nilai yang dihasilkan oleh model PLS terhadap nilai observasi (Brereton 2000). Semakin tinggi nilai R^2 (mendekati 1) dan semakin rendah nilai RMSEC menunjukkan model kalibrasi PLS semakin baik.

Model kalibrasi PLS sampel KK5 dan KK7 yang ditambahkan pemalsu T5, T7, B5, dan B7 menghasilkan nilai R^2 mendekati 1 dan juga nilai RMSEC yang didapat dari kedua model lebih kecil dari 3. Tingginya nilai R^2 dan rendahnya nilai RMSEC tersebut menunjukkan bahwa model kalibrasi multivariat PLSR mampu memperkirakan konsentrasi tekelan dan babadotan yang dicampur dengan kumis kucing yang memiliki serapan UV-Vis tinggi maupun rendah.

Model kalibrasi PLSR yang dibuat kemudian digunakan dalam memprediksi konsentrasi pemalsu di dalam kumis kucing menggunakan sampel independen yang disebut sebagai set data validasi atau prediksi. Hal ini dilakukan untuk menilai kemampuan prediksi dari model yang dikembangkan. Kebaikan model ini dilihat dari nilai R^2 (square) dan nilai RMSEP (*root mean square error prediction*). Nilai R^2 menunjukkan proporsi keragaman total nilai-nilai variabel respon yang

dapat diterangkan oleh variabel prediktor dalam model yang digunakan, sedangkan RMSEP adalah nilai varians dari residual yang dapat menunjukkan keakuratan suatu model. RMSEP mempunyai nilai minimal 0, semakin kecil nilai RMSEP menunjukkan bahwa perbedaan antara nilai dugaan hasil pemodelan dengan data aktualnya semakin kecil pula. Semakin tinggi nilai R^2 (mendekati 1) dan semakin rendah nilai RMSEP menunjukkan kesuksesan model regresi PLS (Rohman dan Che Man 2011).

Model validasi PLSR sampel KK5 dan KK7 yang ditambahkan pemalsu T5, T7, B5, dan B7 menghasilkan nilai R^2 yang sudah mendekati 1 (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa model tersebut dapat dikatakan linear. Akan tetapi, nilai RMSEP yang diperoleh masih cukup besar (Tabel 4) yang menandakan model yang telah dibuat belum terlalu akurat dalam menentukan kadar pemalsu dalam kumis kucing akan tetapi masih cukup baik untuk mengidentifikasi secara kualitatif adanya pemalsuan.

Tabel 4. Nilai R^2 dan RMSEP model validasi PLSR sampel KK5 dan KK7 dengan pemalsu T5, T7, B5, dan B7

Sampel	R^2				RMSEP			
	T5	T7	B5	B7	T5	T7	B5	B7
KK5	0.9884	0.9901	0.9512	0.9732	3.2156	2.9744	6.5961	4.8876
KK7	0.9887	0.9760	0.9888	0.9508	3.1765	4.6225	3.1583	6.6212

Kesesuaian model yang dikembangkan juga dapat dilihat dari nilai standar deviasi (S_y) dan nilai kesalahan standar estimasi ($S_{y/x}$). Nilai kesalahan standar estimasi menunjukkan ketepatan persamaan estimasi untuk menjelaskan nilai variabel tidak bebas yang sesungguhnya. Model regresi linear dikatakan memiliki kesesuaian yang baik jika $S_{y/x} < S_y$. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai $S_{y/x}$ yang didapat lebih kecil dari nilai S_y (Tabel 5), sehingga dapat dikatakan bahwa model yang dikembangkan memiliki kesesuaian yang baik untuk memprediksi pemalsu dalam serbuk kumis kucing walaupun untuk penentuan kadar bahan pemalsu masih belum terlalu akurat.

Tabel 5. Nilai kesesuaian model regresi PLS

Sampel	Validasi	
	S_y	$S_{y/x}$
KK5+T5	34.1706	1.9443
KK5+T7	31.1632	3.2445
KK5+B5	25.5709	3.1333
KK5+B7	32.4450	4.7796
KK7+T5	30.8288	2.8132
KK7+T7	33.6145	3.1331
KK7+B5	30.3430	2.7158
KK7+B7	37.6949	5.4874

4. KESIMPULAN

Sampel kumis kucing dapat diautentikasi dari sampel tekelan dan babadotan menggunakan spektrum UV-Vis yang dikombinasikan dengan metode kalibrasi multivariat PLS. Nilai R^2 yang didapat sudah mendekati 1 baik untuk kalibrasi ataupun validasi. Nilai RMSEC yang didapat sudah cukup rendah. Namun, nilai RMSEP yang didapat masih cukup tinggi. Kalibrasi multivariat PLS sudah mampu menduga konsentrasi pemalsu di dalam sampel walaupun belum terlalu akurat dan dapat digunakan untuk sampel yang memiliki serapan UV-Vis rendah dan tinggi.

Funding: Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui skema penelitian dasar unggulan perguruan tinggi dengan nomor kontrak penelitian 3/E1/KP.PTNBH/2019 and 4167/IT3.L1/PN/2019.

Acknowledgments: -

Conflicts of interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Siska; Sunaryo, H.; Jamaliah. Pemanfaatan daun kumis kucing (*Orthosiphon spicatus* B.B.S.) sebagai antiglaukoma. *J. Sains Teknol. Farm.* 2012, 17(1), 16–20.
2. Ameer, O.Z.; Salman, I.M.; Asmawi, M.Z.; Ibraheem, Z.O.; Yam, M.F. *Orthosiphon stamineus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *J. Med. Food*, 2012, 15(8), 678–690. doi:10.1089/jmf.2011.1973.
3. Adnyana, I.K.; Setiawan, F.; Insanu, M. From ethnopharmacology to clinical study of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2013, 5(3), 66-73.
4. Yam, M.F.; Ang, L.F.; Salman, I.M.; Ameer, O.Z.; Lim, V.; Ong, L.M.; Ahmad, M.; Asmawil, M.Z.; Basir, R. *Orthosiphon stamineus* leaf extract protects against ethanol-induced gastropathy in rats. *J. Med. Food*, 2009, 12, (5), 1089–1097. doi:10.1089/jmf.2008.0005.
5. Koay, Y.C.; Amir, F. A survey of the chemical constituents and biological activities of *Orthosiphon stamineus*. *Sci. Int.* 2012, 24(2), 133–138.
6. Ho, C.H.; Noryati, I.; Sulaiman, S.F.; Rosma, A. In vitro antibacterial and antioxidant activities of *Orthosiphon stamineus* Benth. extracts against food-borne bacteria. *Food Chem.*, 2010, 122(4), 1168–1172. doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.110.
7. Mohamed, E.A.H.; Mohamed, A.J.; Asmawi, M.Z.; Sadikun, A.; Ebrika, O.S.; Yam, M.F. Antihyperglycemic effect of *Orthosiphon stamineus* Benth leaves extract and its bioassay guided fractions. *Molecules*, 2011, 16(5), 3787–3801. doi:10.3390/molecules16053787.
8. Singh, M.K.; Gidwani, B.; Gupta, A.; Dhongade, H.; Kaur, C.D.; Kashyap, P.P.; Tripathi, D.K. A review of the medical plants of genus *Orthosiphon* (Lamiaceae). *Int. J. Biol. Chem.* 2015, 9(6), 318–331. doi:10.3923/ijbc.2015.318.331.
9. Breemen, R.B.V.; Harry, H.S.V.; Norman, R.F. The role of quality assurance and standardization on the safety of botanical dietary supplements. *Chem. Res. Toxicol.* 2007, 20(4), 577–582. doi:10.1021/tx7000493.
10. Barbosa-Garcia, O.; Ramos-Ortiz, G.; Maldonado, J.L.; Phicardo-Molina, J.L.; Maneses-Nava, M.A.; Landgrave, J.E.A.; Cervantes-Martinez, J. UV-vis absorption spectroscopy and multivariate analysis as a method to discriminate tequila. *Spectrochim. Acta A*, 2007, 66(1), 129–134. doi:10.1016/j.saa.2006.02.033.
11. Rohaeti, E.; Muzayanah, K.; Septaningsih, D.A.; Rafi, M. Fast analytical method for authentication of chili powder from synthetic dyes using UV-Vis spectroscopy in combination with chemometrics. *Indones. J. Chem.* 2019, 19(3), 668-674. doi:10.22146/ijc.36297.
12. Basilio, I.J.; Moura, R.K.P.; Bhattacharyya, J.; Agra, M.F. Application of UV/VIS spectrophotometry and multivariate analysis to characterization of the species *Solanum* sect. *Erythrotrichum* child. *Chem. Biodivers.*, 2012, 9(6), 1114–1124. doi:10.1002/cbdv.201100302.
13. Yulia, M.; Suhandy, D. Indonesian palm civet coffee discrimination using UV-visible spectroscopy and several chemometrics methods. *IOP Journal Physics: Conference Series*, 2017, 835, 1–6. doi:10.1088/1742-6596/835/1/012010.

14. Ashley, K.; Andrews, R.N.; Cavazosa, L.; Demange, M. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, 16, 1147–1153. doi:10.1039/b102027g.
15. Maggio, R.M.; Kaufman, T.S.; De Carlo, M.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Cichelli, A.; Compagnone, D. Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by fourier transformed infra red (FTIR) spectroscopy. *Food Chem.*, 2009, 114(4), 1549–1554. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.029.
16. Brereton, R.G. Introducing to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst*, 2000, 125, 2125–2154. doi:10.1039/b003805i.
17. Rohman, A.; Che Man, Y.B. Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy combined with chemometrics for authentication of cod-liver oil. *Vib. Spectrosc.*, 2011, 55(2), 141–145. doi:10.1016/j.vibspec.2010.10.001.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).