

Karakterisasi Sampel Kuku Manusia dengan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) melalui Metode *Chemometric PCA* dan *Clustering*

Characterization of Human Nails Samples Using FTIR (Fourier Transform Infrared) Through Chemometric Methods PCA and Clustering

Shinta Shaleha Juwita^{1*}, Ni Luh Putu Trisnawati¹, Hery Suyanto¹

¹Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Bali, Indonesia 80361

Email: *shalehajuwita@student.unud.ac.id; trisnawati@unud.ac.id; hery@unud.ac.id

Abstrak – Telah dilakukan penelitian tentang karakterisasi sampel kuku manusia dengan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) melalui metode *Chemometric PCA* dan *Clustering*. Sampel yang digunakan yaitu kuku jari tengah tangan kiri (TTK) dari tiga orang satu keluarga (SKR) dan dua orang bukan keluarga (BKR). Pengujian dilakukan pada sampel kuku TTK dengan perbandingan massa kuku TTK dengan KBr 3:1. Hasil karakterisasi dengan FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H, C=O, N-H, C-N, P=O, C-O-C, nitrat dan nitrit pada sampel kuku TTK. Hasil analisis dengan metode *Chemometric PCA* dan *Clustering* menunjukkan bahwa sampel kuku TTK dapat memperlihatkan kemiripan satu keluarga. Hal ini berdasarkan kemiripan jenis-jenis molekul dan nilai absorbansinya. Selain itu berdasarkan hasil analisis *loading PCA* didapatkan identitas bilangan gelombang sampel kuku TTK yaitu pada rentang 1597-1479 cm^{-1} .

Kata kunci: Kuku, FTIR, bilangan gelombang, PCA, Clustering.

Abstract – Research has been carried out on the characterization of human nail samples by FTIR (*Fourier Transform Infrared*) using *Chemometric PCA* and *Clustering* methods. The sample used was left middle fingernail (TTK) from three people from one family (SKR) and two people who were not family (BKR). The test was carried out on TTK nail samples with a mass ratio of TTK nails with KBr 3:1. The results characterization by FTIR showed the presence of functional group O-H, C-H, C=O, N-H, C-N, P=O, C-O-C, nitrate, and nitrite in the TTK nail samples. The results of the analysis using the *Chemometric PCA* and *Clustering* methods showed that the TTK nail samples showed similarity in one family. This is based on the similarity of the types of molecules and their absorbance values. In addition, based on the results of *PCA loading analysis*, the wavenumber identity of the TTK nail samples were found in the range 1597-1479 cm^{-1} .

Key words: Nail, FTIR, wavenumber, PCA, Clustering.

1. Pendahuluan

DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) merupakan rantai ganda (*double helix*) yang mengandung potongan-potongan gen pengendali sifat dan ciri morfologi seperti warna kulit, jenis rambut, bentuk jari dan sifat-sifat khusus pada manusia [1]. Bagian biologis yang biasanya digunakan sebagai sumber DNA yaitu darah, epitel mukos mulut, rambut, urin, kuku dan lain-lain [2]. Penelitian DNA kuku telah dilakukan oleh Ahda, dkk (2012) dengan metode isolasi, PCR (*Polmerase Chain Reaction*) dan Elektroforesis dalam menentukan kualitas suatu DNA [3]. Kelebihan dari metode ini adalah keakuratan hasil tes DNA sangat terjamin, namun kekurangan dalam tes DNA membutuhkan waktu yang cukup lama yaitu berkisar 4-8 hari serta biayanya mahal [2], untuk itu perlu digunakan metode lain yang memudahkan proses tes DNA agar lebih cepat dan akurat, yaitu dengan menggunakan FTIR.

Fourier Transform Infrared (FTIR) dapat dijadikan suatu metode baru dalam menganalisis biomaterial. FTIR merupakan identifikasi gugus fungsi pada senyawa organik berupa padatan. Metode ini didasarkan pada interaksi antara radiasi inframerah dengan materi. Interaksi mengakibatkan

penyerapan radiasi pada bilangan gelombang yang berhubungan dengan energi transisi antara berbagai keadaan energi vibrasi pada molekul. Setiap gugus fungsi atau ikatan memiliki bilangan gelombang yang khas [4]. Instrumen optik ini telah banyak digunakan sebagai media dalam penelitian yang menggunakan sampel biologis seperti kuku yang telah diteliti oleh S. Torak, et al (2020), dimana penelitian ini mempelajari potensi dari metode spektroskopi raman dan FTIR untuk mendeteksi klorin dalam sampel kuku [5]. Oleh karena itu penggunaan FTIR merupakan suatu teknik yang dapat digunakan untuk menganalisis sampel biomaterial.

Untuk mendapatkan akurasi hasil yang tinggi, maka analisis sampel biomaterial dengan FTIR masih membutuhkan analisis lanjutan atau tambahan. Hal ini disebabkan karena hampir semua material organik mengandung gugus fungsi yang mirip, sehingga sulit dibedakan secara langsung dengan metode FTIR. Untuk itu analisis biomaterial dengan FTIR butuh metode tambahan. Metode tambahan diantaranya menggunakan analisis *Principle Component Analyze* (PCA) dan *Clustering* [6]. Namun dari penelitian sebelumnya belum ada satupun yang menggunakan sampel biologis seperti kuku yang diambil dari satu keluarga. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dibahas karakterisasi kuku manusia menggunakan FTIR dengan bantuan *Chemometric PCA* dan *Clustering*.

2. Landasan Teori

2.1 Kuku

Kuku merupakan tambahan dari kulit, merupakan lempeng tanduk yang bertugas melindungi ujung-ujung jari tangan dan kaki. Tanpa kuku, sensitifitas jari dapat berkurang sebanyak 50%, dan kemampuan memegang sesuatu akan menjadi sulit, karena tidak adanya tekanan kuku terhadap jari. Kuku tersusun atas lipatan kuku dimana strukturnya mirip dengan kulit tetapi tidak memiliki kelenjar minyak dan berfungsi untuk melindungi struktur kulit dibagian dasar kuku dari lingkungan. Matriks kuku merupakan bagian utama dari sel-sel yang membentuk keratin pada lempeng kuku yang berfungsi untuk mendorong keluar dan menggantinya dengan keratin baru. Palung kuku merupakan tempat kuku berada, terdapat pembuluh darah yang menyediakan makanan untuk pertumbuhan kuku. Lempeng atau badan kuku terletak pada lapisan paling luar yang biasanya berbentuk melengkung dengan warna yang merah muda akibat kapiler dermal yang mendasarinya. Unsur penyusun kuku terdiri atas materi protein yaitu keratin dan memiliki unsur kimia seperti karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, belerang serta unsur mineral dalam jumlah kecil, seperti tembaga, mangan, seng, dan besi. [7].

2.2 Metode Multivariat

Metode multivariat (*Chemometric Methods*) merupakan metode yang bertujuan untuk menganalisis data yang terdiri dari banyak variabel yang saling berhubungan antar satu sama lain. Metode multivariat juga dapat digunakan sebagai desain penelitian untuk mendapatkan informasi yang berharga dari sebuah penelitian yang telah dilakukan. Analisis ini dapat juga digunakan untuk analisis hasil karakterisasi dari instrumen analitik yang merupakan sebuah data yang kompleks. Metode multivariat terdiri dari dua klasifikasi yaitu klasifikasi *dependence* (tergantung) dan *interdependence* (saling ketergantungan). Teknik dependensi adalah sebuah metode yang berfungsi untuk menjelaskan dan memprediksi variabel terikat dengan menggunakan dua atau lebih variabel bebas. Analisis yang termasuk dalam klasifikasi dependensi adalah regresi, varians, korelasi kanonik, diskriminan dan logit. Teknik interdependensi merupakan analisis multivariat yang melibatkan analisis secara serentak dari semua variabel dalam satu kumpulan tanpa membedakan antara variabel terikat ataupun variabel bebas. Teknik analisis interdependensi berguna dalam memberikan makna terhadap sekelompok variabel atau membuat kelompok-kelompok secara bersama-sama. Beberapa analisis yang merupakan bagian dari klasifikasi ini adalah analisis PCA, *Clustering* dan *Log-linier* [8, 9].

3. Metode Penelitian

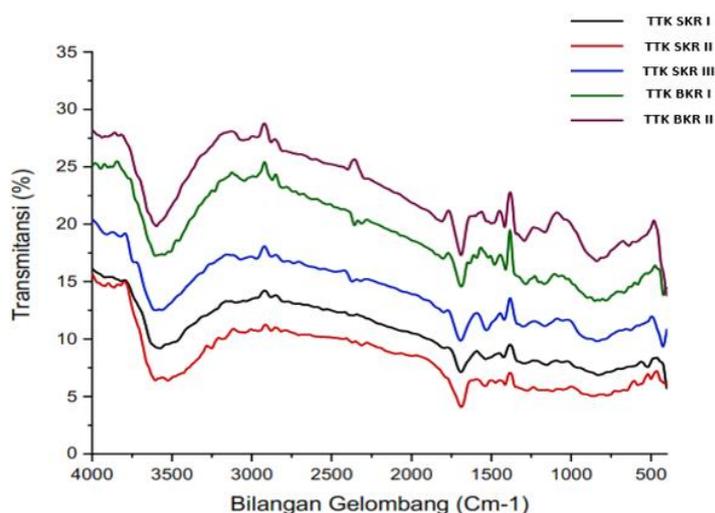
Pada penelitian ini digunakan sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK), karena sampel ini memiliki karakteristik yang sama pada manusia [10]. Dengan demikian kuku TTK dapat digunakan sebagai indikator utama untuk karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR dari tiga orang satu keluarga (SKR) dan dua orang bukan keluarga (BKR), dimana SKR I merupakan anak keempat dari empat saudara yang berusia 15 tahun dan berjenis kelamin perempuan, SKR II merupakan anak ketiga dari empat saudara yang berusia 19 tahun dan berjenis kelamin laki-laki, SKR III merupakan ibu dari kedua anak tersebut

yang berusia 49 tahun, BKR I berusia 22 tahun dan berjenis kelamin laki-laki, BKR II berusia 23 tahun dan berjenis kelamin perempuan. Pengambilan data diawali dengan memotong kuku hingga menyerupai serpihan, pada penelitian ini perbandingan antara sampel dengan KBr 3:1, dimana nilai perbandingan ini menunjukkan spektra FTIR yang ideal dan lebih jelas. Setelah dikarakterisasi dengan FTIR maka didapatkan data berupa spektra yang meliputi nilai transmitansi (%) dan bilangan gelombang, kemudian data spektra dianalisis menggunakan *software* The Unscrambler X. 10.5 untuk menghasilkan *plotting* PCA dan *Dendogram Clustering*.

4. Hasil Dan Pembahasan

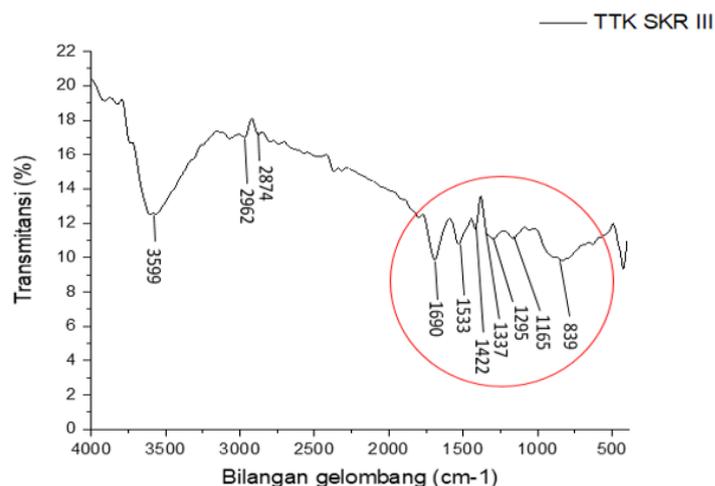
4.1 Hasil Data FTIR

Hasil data spektra FTIR kuku TTK pada Gambar 1 menunjukkan pola spektra yang sangat mirip serta memiliki puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang yang sama, hanya transmitansinya (%) yang berbeda [11].



Gambar 1. Spektra FTIR untuk sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK).

Pada Gambar 2 menampilkan spektra FTIR sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK) satu keluarga ke-tiga (SKR III) sebagai salah satu contoh. Pada spektra tampak puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 3599 cm^{-1} yang merupakan vibrasi gugus OH [12]. Puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 2962 cm^{-1} dan 2874 cm^{-1} merupakan daerah C-H *stretching* yang mengandung asam lemak dan lipid [12].



Gambar 2. Spektra FTIR sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK).

Daerah transmitansi pada bilangan gelombang 1750-800 cm^{-1} yang ditandai dengan lingkaran merah merupakan daerah karakterisasi dari protein keratin, yang mana keratin merupakan rantai panjang asam amino yang dihubungkan bersama dengan ikatan amida yang terkandung pada sampel kuku [13]. Daerah transmitansi utama dari rantai peptida adalah amida I, II, III. Puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 1690 cm^{-1} merupakan amida I (C=O *stretch*), puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 1533 cm^{-1} merupakan amida II (-NH *bending* dan C-N *stretching*) dan puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 1295 cm^{-1} merupakan amida III (C-N *stretching* dan N-H *bending*) [13].

Daerah transmitansi lainnya yaitu pada daerah bilangan gelombang 1485-750 cm^{-1} , dimana tampak puncak transmitansi di sekitar bilangan gelombang 1422 cm^{-1} merupakan daerah C-H *bending* yang mengandung asam lemak dan lipid, puncak transmitansi tampak di sekitar bilangan gelombang 1337 cm^{-1} merupakan vibrasi dari ikatan *organic phosphates* (P=O) *stretch*, puncak transmitansi tampak di sekitar bilangan gelombang 1165 cm^{-1} merupakan vibrasi dari ikatan C-O-C *stretch* [13]. Serta senyawa anorganik yang terdapat pada puncak transmitansi sekitar bilangan gelombang 867 cm^{-1} merupakan nitrat dan puncak transmitansi sekitar bilangan gelombang 844 cm^{-1} merupakan nitrit [14]. Tabel gugus fungsi sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK) selengkapnya ditunjukkan pada Tabel 1.

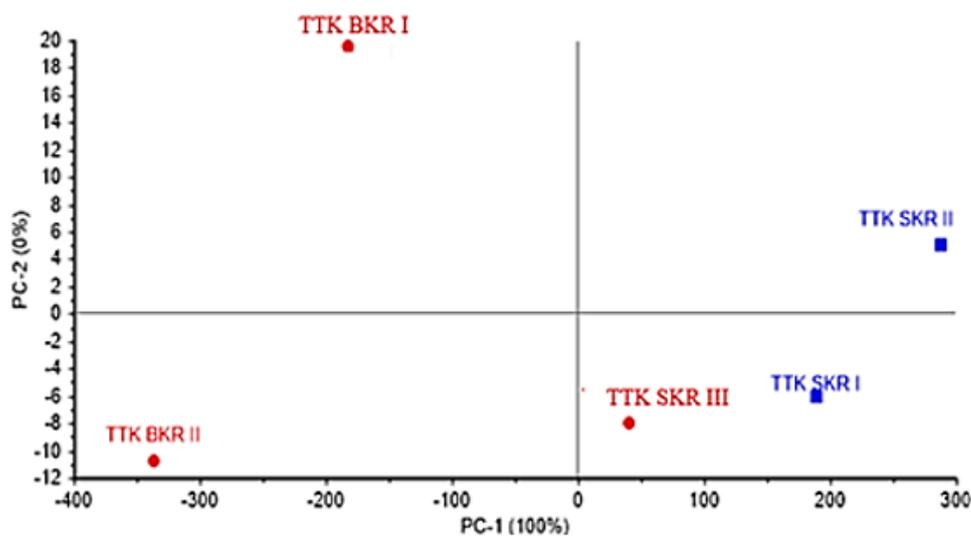
Tabel 1. Gugus fungsi sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK).

Gugus Fungsi	Refrensi*	Bilangan Gelombang (cm^{-1}); Transmitansi (%)				
		SKR I	SKR II	SKR III	BKR I	BKR II
O-H <i>Stretch</i>	3650-3584	3575; 9,22	3529; 6,39	3599; 12,44	3553; 17,33	3591; 19,89
CH ₃ (<i>Methyl</i>) C-H <i>Asymmetric stretch</i>	2970-2950	2963; 13,59	2951; 10,76	2962; 17,02	2978; 24,07	2978; 27,61
CH ₃ (<i>Methyl</i>) C-H <i>symmetric stretch</i>	2880-2860	2877; 13,65	2877; 10,76	2874; 17,18	2870; 23,88	2882; 27,17
C=O <i>Stretch</i> (Amida I)	1690-1600	1690; 7,16	1687; 4,11	1690; 9,9	1686; 14,6	1686; 17,34
N-H <i>Bend</i> , C-N <i>Stretch</i> (Amida II)	1575-1480	1533; 8,25	1540; 5,91	1533; 10,8	1517; 17,16	1517; 20,2
C-N <i>Stretch</i> , N-H <i>Bend</i> (Amida III)	1320-1210	1294; 7,87	1275; 5,52	1295; 11,06	1284; 14,83	1299; 18,56
P=O <i>Stretch</i>	1350-1250	1343; 8,16	1349; 5,94	1337; 11,3	1353; 15,6	1341; 19,17
C-O-C <i>Stretch</i>	1150-1050	1152; 7,74	1115; 5,46	1165; 11,17	1153; 14,83	1165; 19,31
CH ₂ , CH ₃ <i>bending asym</i> <i>modes of lipid, protein</i>	1485-1430	1423; 8,38	1475; 6,23	1422; 11,67	1479; 16,5	1483; 20,13
Nitrat	870-833	860; 7,90	866; 7,22	867; 9,81	865; 14,27	855; 18,33
Nitrit	850-750	845; 8,86	843; 6,46	844; 8,67	830; 12,87	832; 17,22

* dari ref [12-14].

4.2 Analisis Hasil PCA dan Clustering

Hasil data spektra FTIR untuk sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK) pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa masing-masing sampel memiliki gugus fungsi yang sama serta memiliki pola spektra yang mirip sehingga sulit untuk dibedakan secara langsung. Hal ini dapat diatasi dengan menganalisis data spektra tersebut melalui metode *Chemometrics* khususnya dengan algoritma PCA dan *Clustering* [6]. Hasil PCA sampel kuku TTK dengan FTIR pada Gambar 3 menunjukkan bahwa sampel kuku TTK SKR (Satu keluarga) terlihat cukup renggang dan terdapat satu sampel SKR III yang masuk ke dalam kelompok BKR (bukan keluarga). Hal ini berdasarkan sebaran titik data TTK SKR II pada Gambar 3, dimana TTK SKR II memiliki jarak ke PC-2 (sumbu-y) yang lebih dekat dengan TTK BKR II. Sehingga pada saat pengelompokan berdasarkan warna, TTK SKR II memiliki warna yang sama atau berada pada satu kelompok yang sama dengan sampel TTK BKR.



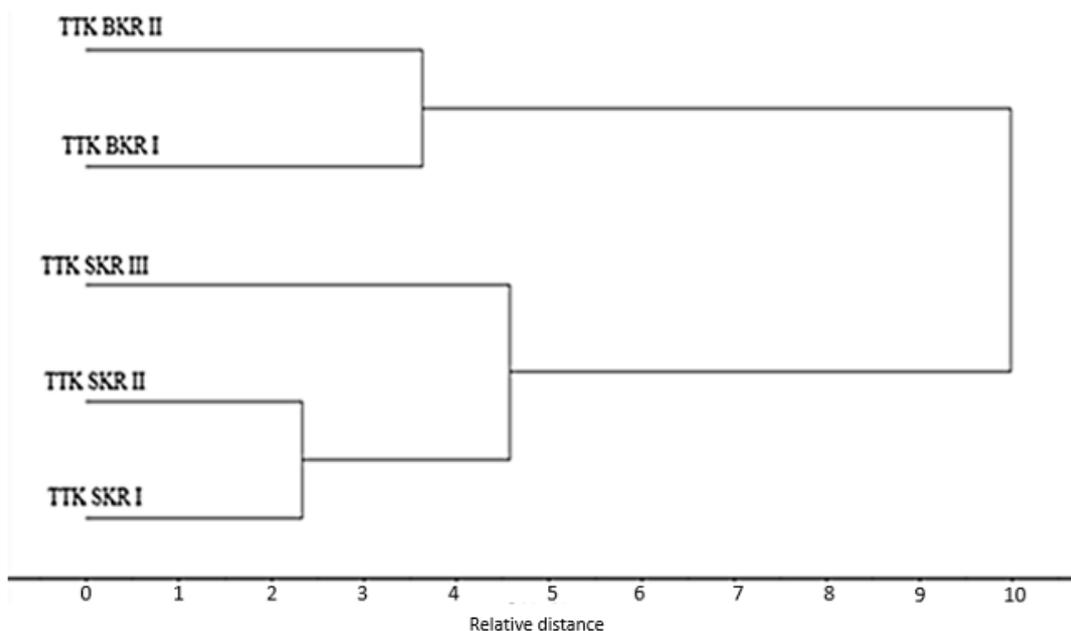
Gambar 3. Hasil PCA sampel kuku tengah tangan kiri (TTK) FTIR.

Namun setelah dianalisis dari sebaran titik proyeksi PC pada Tabel 2 sampel SKR III berada pada satu kelompok yang sama dengan sampel SKR lainnya.

Tabel 2. Nilai sebaran titik proyeksi pada sampel kuku TTK dengan FTIR.

Sampel kuku TTK	PC 1	PC 2
SKR I	189,678	-6,024
SKR II	287,918	5,036
SKR III	41,161	-7,962
BKR I	-182,202	19,644
BKR II	-336,555	-10,694

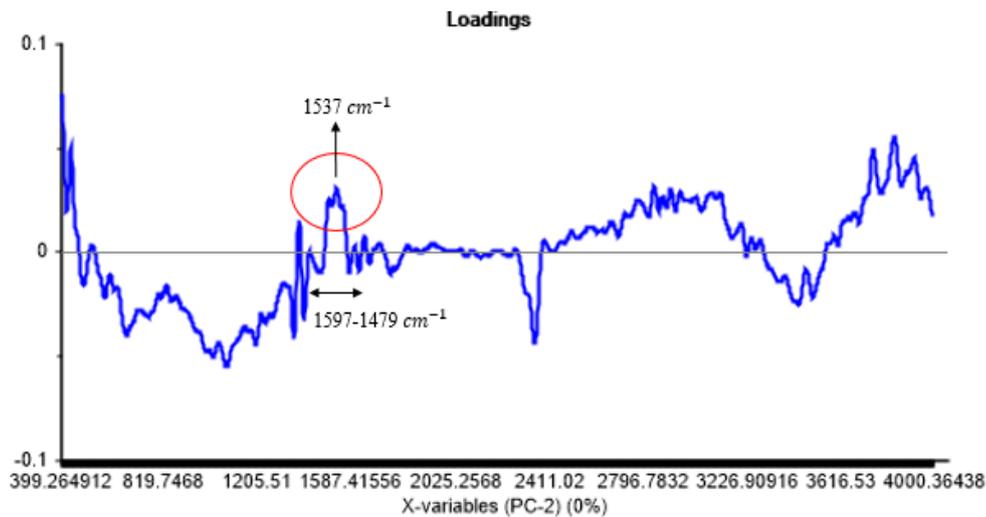
Hal ini sesuai dengan hasil kluster pada Gambar 4, dimana ketiga sampel SKR berada pada satu kluster yang sama. Dari hasil ini dapat dinyatakan bahwa sampel kuku TTK SKR dengan FTIR dapat menunjukkan hubungan satu keluarga.



Gambar 4. Hasil clustering sampel kuku tengah tangan kiri (TTK) FTIR.

4.3 Variabel Yang Dominan Dari Nilai Loading TTK (Jari tengah Tangan Kiri)

Dalam menentukan variabel atau bilangan gelombang yang dominan dari sampel kuku TTK dapat dilakukan melalui analisis PCA dalam bentuk *loading plot*. Hasil *loading* dari analisis PCA sampel kuku TTK dengan FTIR ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil *loading* sampel kuku tengah tangan kiri (TTK) dengan FTIR.

Pada Gambar 5 ditampilkan hasil analisis PCA dengan *loading plot*, dari hasil *loading* tersebut didapatkan identitas bilangan gelombang sampel kuku TTK dengan FTIR yaitu pada rentang bilangan gelombang $1597\text{-}1479\text{ cm}^{-1}$. Rentang bilangan gelombang $1597\text{-}1479\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan puncak yang memperlihatkan adanya intensitas yang tinggi dari suatu molekul atau gugus fungsi [15]. Menurut Barton (2011) daerah bilangan gelombang $1597\text{-}1479\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan gugus fungsi dari amida II (*-NH bending dan C-N stretching*) [13].

5. Kesimpulan

Hasil karakterisasi dengan FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H, C=O, N-H, C-N, P=O, C-O-C, nitrat dan nitrit pada sampel kuku TTK. Hasil analisis dengan metode *Chemometric PCA* dan *Clustering* menunjukkan bahwa sampel kuku jari tengah tangan kiri (TTK) dapat memperlihatkan kemiripan satu keluarga. Hal ini berdasarkan kemiripan jenis-jenis molekul dan nilai absorbansinya. Selain itu berdasarkan hasil analisis *loading PCA*, didapatkan identitas bilangan gelombang sampel kuku TTK yaitu pada rentang $1597\text{-}1479\text{ cm}^{-1}$.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Program Studi Fisika FMIPA dan LAB Bersama FMIPA UNUD atas segala dukungan dan fasilitas yang telah diberikan dalam pelaksanaan penelitian Tugas Akhir dan publikasi ilmiah ini.

Pustaka

- [1] T. Hartatik, *Deteksi Polimorfisme DNA Sapi Aceh*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 2019, pp. 12.
- [2] V. Jaehuda, Ekstrasi DNA Dari Sperma Pada alat kontrasepsi Dan Kain Yang Tersimpan Sampai Dua Belas Hari, *Jurnal Simbiosis*, vol.1, 2013, pp. 28-39.
- [3] Ahda Yuni, M. Ihra Rozi, R. Dewi Hilda, Kualitas DNA Hasil Isolasi Dari Beberapa Bagian Batang Rambut Untuk Bahan Analisis DNA Forensik, *EKSAKTA*, vol.1, 2013, pp. 87-93.
- [4] Dachriyanus, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LIPTK) Universitas Andalas, 2004, pp. 26-36.
- [5] S. Toprak, F. Kahriman, Z. Dogan, et al., The Potential Of Raman Spectroscopic Methods For The Detection Of Chlorine In Human Nail Samples, *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 2020, pp. 633-640.

- [6] N. L. P. Trisnawati, A. Krisandi, I. G. A. Widagda, *et al.*, A comparison of different strategies in Principle Component Analysis (PCA) algorithm for clustering human tooth surface using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), *Journal of Physics: Conference Series, The 9th International Conference on Theoretical and Applied Physics (ICTAP)*, 2020, pp. 1-7.
- [7] N.S. Suarnianti, *Anatomi Dan Fisiologi Pada Tubuh Manusia*, Yogyakarta: Indomedia Pustaka, 2016, pp. 29.
- [8] S. Roussel, J. S. Preys, Lallemand, *Multivariate Data Analysis Chemometrics*, Analytical For The Food industry, Clapiers France, 8th Edition, vol.301, 2014.
- [9] J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistic and Chemometrics For Analytical Chemistry*, 6th Edition, Ashford Colour Press Ltd, Gosport UK, 2010, pp. 221-248.
- [10] J. Lehtinen, Spectroscopic Studies of Human Hair, Nail, and Saliva Samples Using a Cantilever Based Photoacoustic Detection, *International Journal of Thermophysics*, vol. 34, no. 6, 2013, pp. 1-7.
- [11] I. W. Sari, O. N. Wolfharditia, Ni Nyoman Rupiasih, *et al.*, Pengaruh Paparan Radiasi UVC Terhadap Struktur dan Swelling Membran Kitosan Yang Terpapar Medan Magnet, *Jurnal Buletin Fisika*, vol. 20, no. 2, 2019, pp. 35-40.
- [12] J. Coates, *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications Theory and Instrumentation*, John Wiley & Sons, 2006, pp. 1-23.
- [13] P. M. J. Barton, Forensic Investigation of Single Human Hair Fibers Using FTIR-ATR Spectroscopy And Chemometrics, *Ph.D. Thesis*, School of Physical and Chemical Sciences, Queensland University of Technology, Brisbane, 2011.
- [14] R. M. Silverstein, G. Clayton and C. Morrill, *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik*, Edisi ke-4, Jakarta: Erlangga, 1986, pp. 131.
- [15] A. A. Damayanti, Ni Luh Putu Trisnawati, Hery Suyanto, Identifikasi Bilangan Gelombang Daun Sirih (*Piper sp.*) Menggunakan Metode Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA), *Buletin Fisika*, 2020, vol. 22, no. 2, pp. 60-66.