

SKRIPSI

PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TANAMAN KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) TERHADAP SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Disusun dan diajukan oleh

**YUNANDAR PUTRA PALILATI
N111 15 351**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TANAMAN KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) TERHADAP SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Disusun dan diajukan oleh

YUNANDAR PUTRA PALILATI
N111 15 351

Telah dipertahankan di hadapan Panitia yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 5 April 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19750925 200112 1 002



Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002



Ketua Program Studi,

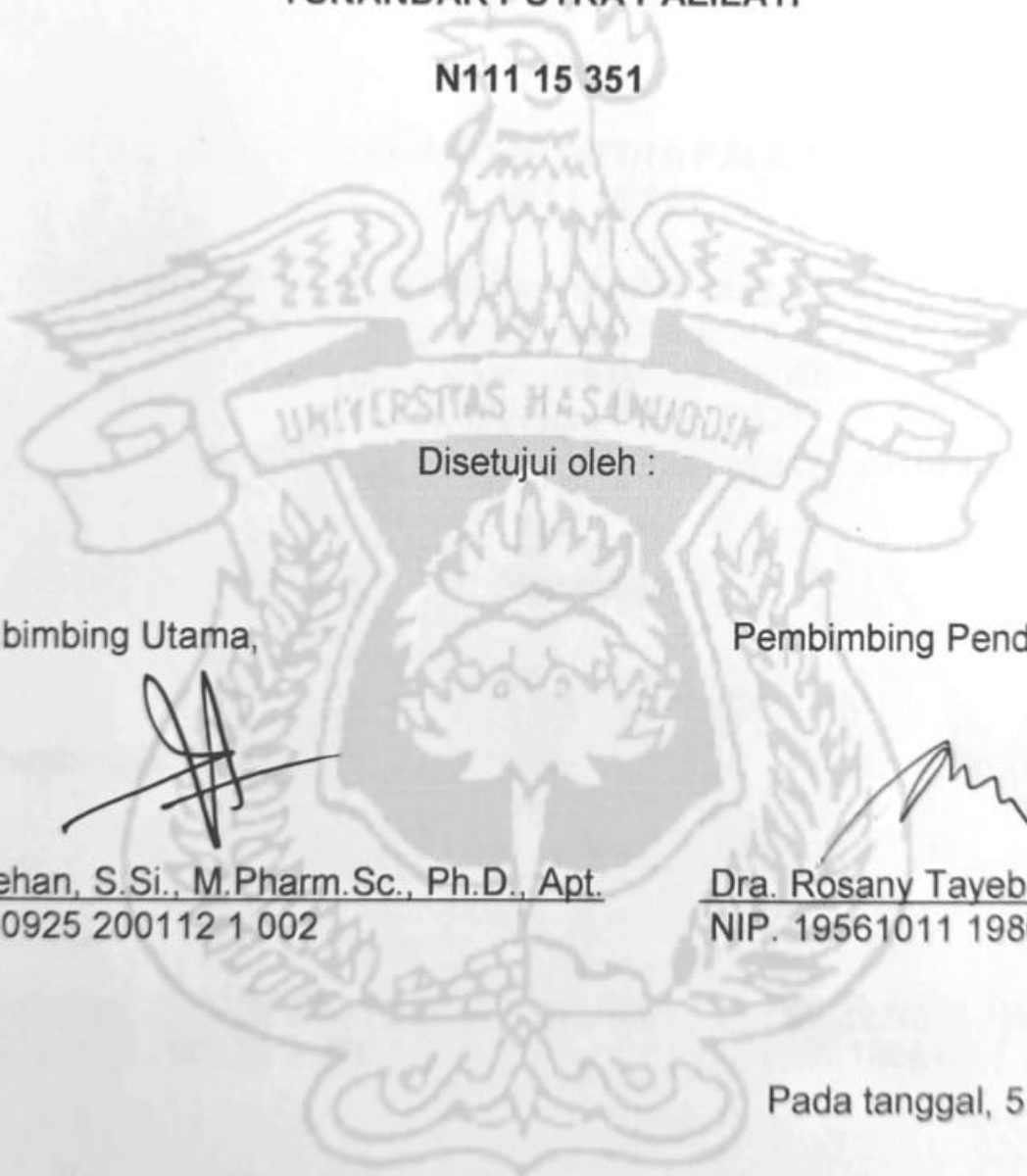


Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TANAMAN
KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) TERHADAP SENYAWA
AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN**

YUNANDAR PUTRA PALILATI

N111 15 351



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19750925 200112 1 002

Pembimbing Pendamping,

Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada tanggal, 5 April 2021

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yunandar Putra Palilati

NIM : N11115351

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Tanaman Kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap Senyawa Aktif dan Aktivitas Antioksidan

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi tersebut.

Makassar, 5 April 2021

menyatakan,



Yunandar Putra Palilati
N111 15 351

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. atas karunia dan rahmat-Nya penulis berhasil menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Tanaman Kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap Senyawa Aktif dan Aktivitas Antioksidan” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana strata I pada program studi Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini tak lepas dari dukungan, motivasi dan semangat dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. sebagai Pembimbing Utama atas waktu, ilmu, arahan, bimbingan, serta nasihat yang telah diberikan kepada penulis selama proses penelitian hingga penyelesaian penulisan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. sebagai Pembimbing Pendamping atas bimbingan, saran, dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
3. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Drs. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt. sebagai Tim Penguji skripsi penulis atas kritik dan saran yang sangat membangun untuk penyelesaian skripsi ini.

4. Dekan dan Wakil Dekan, jajaran para dosen dan pengajar, serta staff dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu dan bantuan yang telah diberikan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Bapak Muh. Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. sebagai Penasihat Akademik penulis atas nasihat, dan bimbingan kepada penulis selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
6. Orang tua penulis yaitu Alm. Eddy Palilati dan Ibu Maryam Daulima atas doa, semangat, motivasi, dan dukungan baik materi maupun non materi kepada penulis.
7. Semua teman angkatan penulis yaitu PO15ON atas kebersamaan, kerja sama, dan semangat yang diberikan.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menjadikan skripsi ini menjadi lebih baik lagi.

Makassar, 5 April 2021

Yunandar Putra Palilati

ABSTRAK

YUNANDAR PUTRA PALILATI. *Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Tanaman Kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap Senyawa Aktif dan Aktivitas Antioksidan* (dibimbing oleh Subehan dan Rosany Tayeb).

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) merupakan tanaman yang telah banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari termasuk dalam bidang kesehatan. Menurut berbagai penelitian yang telah dilakukan, diketahui tanaman kencur memiliki senyawa bioaktif diantaranya senyawa fenolik yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh tanaman kencur terhadap senyawa aktif dan aktivitas antioksidan. Tanaman dikumpulkan dari dua tempat yang berbeda dengan ketinggian 43 mdpl dan 921 mdpl. Ekstraksi tanaman dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan diperoleh persen rendemen yaitu ekstrak kencur dataran rendah sebesar 8,34% dan ekstrak kencur dataran tinggi sebesar 6,24%. Penentuan profil kromatogram dari tanaman kencur menggunakan metode KLT dan instrumen HPLC. Profil KLT menggunakan fase diam *Sillica gel* 60 F₂₅₄ dan fase gerak heksan : etil asetat (4:1). Profil KLT menunjukkan adanya senyawa etil *p*-metoksisinamat dengan nilai R_f = 0,58. Pada analisis profil HPLC menunjukkan ekstrak dataran rendah memiliki 15 puncak dan ekstrak dataran tinggi memiliki 14 puncak. Terdapat 6 puncak yang mirip pada waktu retensi 12,0; 12,4; 15,7; 16,0; 19,6; dan 21,7. Pada luas area dari senyawa penanda etil *p*-metoksisinamat ekstrak dataran rendah memiliki luas area sebesar 8308156 sedangkan pada ekstrak rimpang kencur dataran tinggi didapatkan luas area sebesar 7493809. Pengukuran aktivitas antioksidan tanaman kencur dilakukan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazin*). Pengujian aktivitas antioksidan sampel kencur dataran rendah diperoleh IC₅₀ yang paling baik yaitu sebesar 743 bpj sedangkan pada sampel kencur dataran tinggi diperoleh IC₅₀ sebesar 913 bpj. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ketinggian tempat tumbuh tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) berpengaruh terhadap senyawa aktif dan aktivitas antioksidan.

Kata Kunci : Rimpang kencur, *Kaempferia galanga* L., uji aktivitas antioksidan, metode DPPH, profil kromatogram

ABSTRACT

YUNANDAR PUTRA PALILATI. *The Effect of Altitude of Kencur plant (Kaempferia galanga L.) on Its Active Compounds and Antioxidant Activity* (Supervised by Subehan and Rosany Tayeb)

Kencur rhizome (*Kaempferia galanga* L.) is a plant that has been widely used in everyday life, including in the health sector. According to various studies that have been conducted, it is known that kencur plants have bioactive compounds including phenolic compounds which have antioxidant activity. This research was conducted with the aim to determine the effect of altitude of the kencur plants on its active compounds and antioxidant activity. Plants were collected from two different places with altitude 43 masl and 921 masl. Plant extraction was carried out by maceration using 96% ethanol solvent. The yield percent was obtained lowland kencur extract is 8.34% and the highland kencur extract is 6.24%. Chromatogram profile of kencur plants was determined using TLC method and HPLC instrument. The TLC profile using Sillica gel 60 F₂₅₄ as the stationary phase and hexane : ethyl acetate (4:1) as the mobile phase showed the presence of ethyl *p*-methoxycinamate with R_f = 0.58. The HPLC profile analysis showed that the lowland extract had 15 peaks and the upland extract had 14 peaks. There are 6 similar peaks at retention time 12.0; 12.4; 15.7; 16.0; 19.6; and 21.7 minutes. In the area of the ethyl *p*-methoxycinamate as the marker compound, the lowland extract had an area 8308156 while the highland kencur extract had an area 7493809. Measurement of the antioxidant activity of kencur was carried out using the DPPH method (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazin*). The test for the antioxidant activity of the lowland kencur sample obtained the best IC₅₀ with 743 ppm, while the highland kencur sample obtained IC₅₀ 913 ppm. From the results, it can be concluded that the altitude of kencur (*Kaempferia galanga* L.) plants affects the active compounds and antioxidant activity.

Keywords: Kencur rhizome, *Kaempferia galanga* L., antioxidant activity test, DPPH method, chromatogram profile

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Uraian Lengkap Tanaman Kencur	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Kencur.....	3
II.1.2 Morfologi Tanaman Kencur.....	3
II.1.3 Kandungan Kimia.....	4
II.1.4 Aktivitas Farmakologi	8
II.2 Senyawa Penanda Kencur.....	8

II.3 Simplisia.....	11
II.4 Ekstraksi	12
II.5 Radikal bebas	13
II.6 Antioksidan	14
II.6.1 Pengertian Antioksidan	14
II.6.2 Jenis-Jenis Antioksidan.....	15
II.6.3 Mekanisme Antioksidan	16
II.6.4 Metode Uji Antioksidan	17
II.7 Spektrofotometri.....	20
II.7.1 Pengertian Spektrofotometri	20
II.7.2 Cara Kerja Spektrofotometri.....	20
II.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	22
II.8.1 Pengertian.....	22
II.8.2 Cara Kerja dan Instrumentasi KCKT	23
II.9 Pengaruh Lingkungan Terhadap Metabolit Sekunder	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
III.1 Alat dan Bahan	28
III.2 Cara Kerja.....	28
III.2.1 Penyiapan Sampel Penelitian	28
III.2.2 Pembuatan Ekstrak.....	29

III.2.3 Analisis Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis	29
III.2.4 Analisis Profil Metabolit Menggunakan HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	30
III.2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
IV.1 Ekstraksi Sampel.....	33
IV.2 Profil Kromatografi Lapis Tipis.....	35
IV.3 Analisis Profil HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>) ...	37
IV.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan DPPH	39
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	41
IV.1 Kesimpulan.....	41
IV.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kandungan senyawa fitokimia hasil isolasi ekstrak kencur (<i>Kaempferia galanga</i> L.)	5
2. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH	19
3. Persen rendemen hasil ekstraksi rimpang tanaman kencur	33
4. Persamaan kromatogram pada analisis profil HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	38
5. Hasil pengukuran IC ₅₀ asam askorbat	49
6. Hasil pengukuran IC ₅₀ sampel kencur (dataran rendah)	51
7. Hasil pengukuran IC ₅₀ sampel kencur (dataran tinggi)	53
8. Data profil HPLC sampel dataran rendah	54
9. Data profil HPLC sampel dataran tinggi	55
10. Data profil HPLC Pembanding etil <i>p</i> -metoksisinamat	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rimpang dari tanaman kencur	3
2. Struktur Kimia Etil <i>p</i> -metoksisinamat	11
3. Rumus struktur DPPH	18
4. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan	19
5. Reaksi resonansi pada radikal DPPH	19
6. Profil kromatogram ekstrak	35
7. Profil kromatogram rimpang kencur dataran rendah	54
8. Profil kromatogram rimpang kencur dataran tinggi	55
9. Profil Kromatogram pembanding etil <i>p</i> -metoksisinamat	56
10. Pengukuran ketinggian sampel dataran rendah	58
11. Pengukuran ketinggian sampel dataran tinggi	58
12. Pengeringan sampel kencur	58
13. Simplisia rimpang kencur	58
14. Ekstrak dataran rendah	58
15. Ekstrak dataran tinggi	58
16. Elusi pada KLT	59
17. Uji antioksidan	59
18. Uji antioksidan dengan spektrofotometer	59
19. Instrumen HPLC	59
20. Analisa profil kromatogram	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	45
2. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan	46
3. Hasil Profil HPLC	52
4. Dokumentasi Kegiatan	55

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kencur (*Kaempferia galanga* L.) merupakan tanaman herba dari famili Zingiberaceae yang telah dikenal memiliki efek pengobatan oleh masyarakat. Tanaman kencur merupakan tanaman asli asia tropis meliputi China, Indonesia, Thailand, Taiwan, Malaysia dan India. Sebagai sumber senyawa bioaktif, kencur terutama rimpang telah digunakan dalam banyak macam pengobatan tradisional india (*Ayurvedic*). Rimpang kencur telah digunakan dalam pengobatan diare, migrain, inflamasi, malaria, bronkitis, penyakit kulit, helminthiasis, batuk, asma, luka, reumatik, demam, ulser dan hemoroid (Preetha *et al*, 2016). Senyawa penanda kencur yaitu Etil *p*-metoksisinamat merupakan komponen terbesar dalam tanaman dan bertanggung jawab pada sebagian besar aktivitas biologis (Umar *et al*, 2012).

Dari beberapa aktivitas biologis yang telah dilaporkan, salah satunya adalah rimpang kencur dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Yao *et al*, 2018). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi dari radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa oksidan yang merusak molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida sehingga memicu stress oksidatif. Resiko penyakit kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis,

osteoporosis dan penyakit lainnya dapat diturunkan dengan mengonsumsi antioksidan yang cukup (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Produksi senyawa aktif berbeda pada tanaman satu sama lain dikarenakan pengaruh dari fase pertumbuhan dan faktor lingkungan (tempat tumbuh tanaman). Faktor tempat tumbuh seperti ketinggian, kadar air, intensitas matahari dan kondisi tanah (pH, mineral, mikroorganisme, senyawa pada tanah) mempengaruhi biosintesis metabolit baik primer maupun sekunder (Nugroho, 2017).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian pengaruh ketinggian tempat tumbuh tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap senyawa aktif dan aktivitas antioksidan.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh tempat tumbuh tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap senyawa aktif dan aktivitas antioksidannya?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh tempat tumbuh tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap senyawa aktif dan aktivitas antioksidannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Uraian Lengkap Tanaman Kencur

II.1.1 Klasifikasi Tanaman Kencur

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Phanerogamae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Scitaminales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Kaempferia
Spesies	: <i>Kaempferia galanga</i> L. (Shetu <i>et al</i> , 2018)



Gambar 1. Rimpang dari tanaman kencur (koleksi pribadi)

II.1.2 Morfologi Tanaman Kencur

Daun kencur berbentuk bulat lebar, tumbuh mendatar diatas permukaan tanah dengan jumlah daun tiga sampai empat helai. Permukaan daun sebelah atas berwarna hijau sedangkan sebelah bawah berwarna hijau pucat. Panjang daun berukuran 10-12 cm dengan lebar 8-10 cm mempunyai sirip daun yang tipis dari pangkal daun tanpa tulang tulang induk daun yang nyata (Soleh *et al*, 2019).

Rimpang kencur terdapat didalam tanah bergerombol dan bercabang cabang dengan induk rimpang ditengah. Kulit ari berwarna coklat dan bagian dalam putih berair dengan aroma yang tajam. Rimpang yang masih muda berwarna putih kekuningan dengan kandungan air yang lebih banyak dan rimpang yang lebih tua ditumbuhi akar pada ruas ruas rimpang berwarna putih kekuningan (Soleh *et al*, 2019).

Bunga kencur berwarna putih berbau harum terdiri dari empat helai daun mahkota. Tangkai bunga berdaun kecil sepanjang 2-3 cm, tidak bercabang, dapat tumbuh lebih dari satu tangkai, panjang tangkai 5-7 cm berbentuk bulat dan beruas ruas. Putik menonjol keatas berukuran 1-1,5 cm, tangkai sari berbentk corong pendek (Soleh *et al*, 2019).

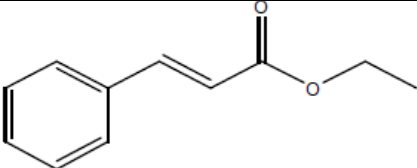
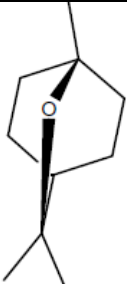
II.1.3 Kandungan Kimia

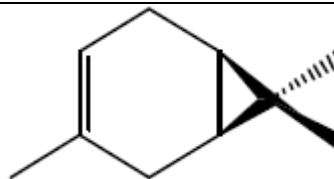
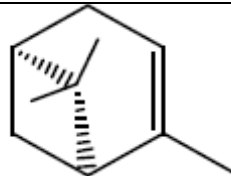
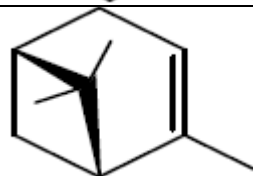
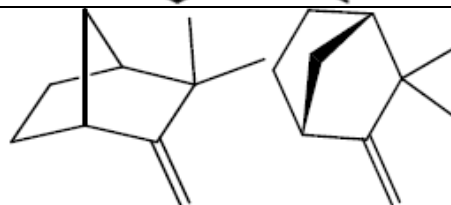
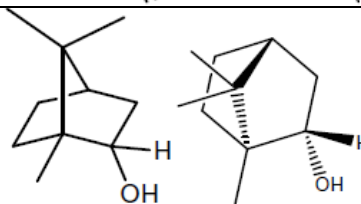
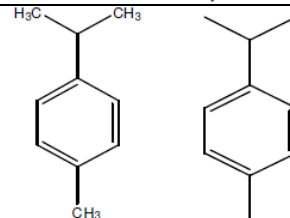
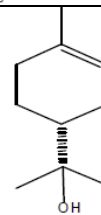
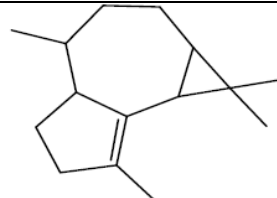
Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi dan isolasi kandungan kimia dari ekstrak polar dan non polar dari tanaman kencur. *Ethyl-cinnamate* dan etil para-metoksisinamat ditemukan paling banyak dalam ekstrak diklorometana (Othman *et al*, 2006), heksan (Yu *et*

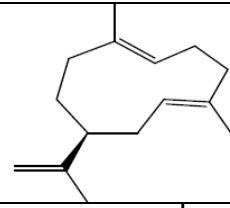
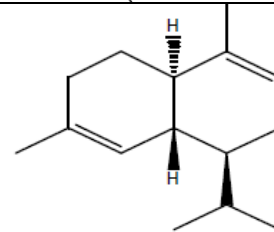
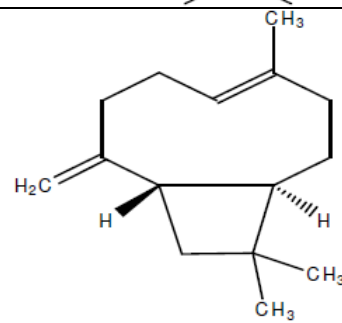
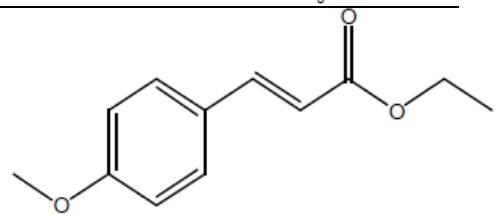
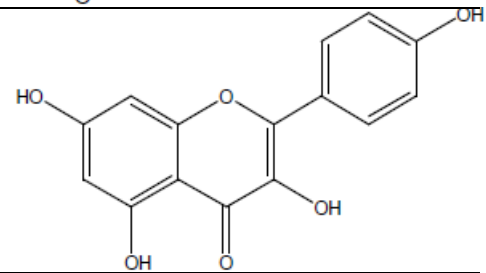
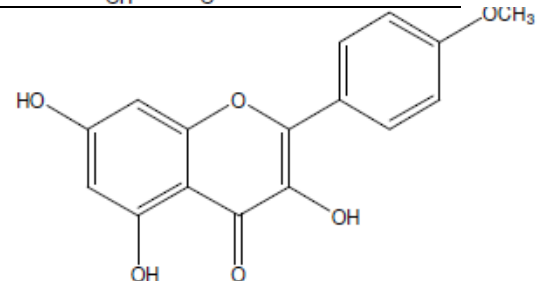
al, 2000) dan ekstrak metanol (Huang et al, 2008). 98,98% dari kandungan minyak atsiri telah diisolasi dan diidentifikasi dimana 1,11% belum diketahui (Sutthanont et al, 2010).

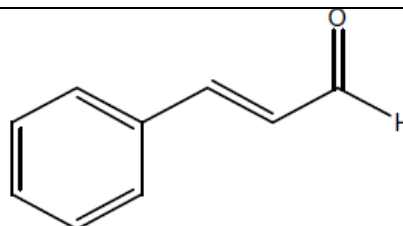
Senyawa minyak atsiri yang berlimpah yang diketahui termasuk asam propanoat, pentadekan, etil-*p*-metoksisinamat. Konstituen minyak atsiri lainnya adalah 1,8-*cineol*, *undecanone*, *isopropyl cinnamate*, *dicyclohexylpropane-dinitril*, dipenten dioksida, 9-hidroksi, 2-*nonanone*, 2,7-oktadiena-1-yl asetat, etil sikloheksil asetat, *cis*-11-*tetradecenyl acetate*, 2-*heptadecanone*, 4-*methylisopulegone*, *camphidine*, *trans*, *trans*-octa-2, 4-*dienyl asetat*, 10-*undecyn-1-ol*, 3,7-*dimethoxycoumarin*, delta-3-*carene*, *alpha pinene*, *camphene*, *borneol*, *cymene*, *alpha terpineol*, *alpha gurjunene*, *germacrenes*, *cadinene*, *caryophyllenes*, *luteolin* dan *apigenin*. Kandungan senyawa kimia penting pada ekstrak kencur dapat dilihat pada tabel 1 (Shetu et al, 2018).

Tabel 1. Kandungan senyawa fitokimia hasil isolasi ekstrak kencur (*Kaempferia galanga* L.)

Nama Senyawa	Struktur
<i>Ethyl-cinnamate</i>	
1,8- <i>cineole</i>	

Delta 3 Carene*(+)Alpha Pinene**(-)Alpha Pinene**Camphene**Borneol**Cymene**Alpha Terpineol**Alpha Gurjunene*

Germacrene*Cadinenes**Beta-Caryophyllen**Ethyl-p-methoxycinnamate**Kaempferol**Kaempferide*

Cinnamaldehyde

II.1.4 Aktivitas Farmakologi

Dari review yang ditulis oleh Shetu dkk (2018) diketahui ekstrak rimpang tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) memiliki aktivitas farmakologi antioksidan, antimikroba, analgesik, antiinflamasi, sedatif, vasorelaksan, nematisidal, anti nyamuk, larvasidal, antiprotozoa, dan penyembuh luka.

II.2 Senyawa Penanda Kencur

Berdasarkan data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), sediaan herbal tradisional menyumbang 30-50% dari total konsumsi obat di china. Adanya kekhawatiran tentang komposisi obat yang tidak konsisten atau adanya komponen yang beracun maka pengawasan mutu obat herbal penting untuk memastikan konsistensi, keamanan dan khasiatnya. Sidik jari kimia (*Chemical fingerprint*) telah digunakan sebagai metode yang efektif untuk mengontrol kualitas obat herbal. *European Medicines Agency* (EMA) menggunakan senyawa penanda untuk mengontrol obat herbal terlepas apakah senyawa tersebut memiliki aktivitas terapeutik. Menurut Songlin dkk. (2008) senyawa penanda terdiri dari :

1. Komponen terapeutik

Komponen terapeutik memiliki efek terapeutik langsung dari obat herbal. Senyawa ini dapat digunakan sebagai uji kualitatif dan kuantitatif. Contohnya pada Artemisinin dari *herba Artemisiae annuae* memiliki aktivitas anti malaria.

2. Komponen bioaktif

Komponen bioaktif adalah bahan kimia yang berbeda secara struktural dalam pengobatan herbal. Komponen tunggal mungkin tidak memiliki efek terapeutik secara langsung tetapi kombinasi bioaktifnya berkontribusi pada efek terapeutik. Contoh pada isoflavonoid, saponin dan polisakarida *Radix astragali* menunjukkan efek farmakologis pada sistem imun dan sirkulasi darah. komponen bioaktif isoflavonoid dan saponin digunakan secara bersamaan dalam evaluasi kualitas *Radix astragali*.

3. Komponen sinergis

Komponen sinergis tidak berkontribusi pada efek terapeutik atau bioaktivitas secara langsung. Namun, bertindak secara sinergis untuk memperkuat bioaktivitas komponen lain sehingga memodulasi efek terapeutik dari obat herbal.

4. Komponen karakteristik

Komponen karakteristik merupakan komponen yang spesifik atau dapat menjadi ciri dari obat herbal. *Terpen lacton* dalam daun *Ginkgo biloba* L. merupakan contoh komponen karakteristik.

5. Komponen utama

Komponen utama merupakan komponen yang paling besar dalam suatu tanaman melebihi komponen lainnya. Komponen utama dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif obat-obatan herbal terutama untuk evaluasi diferensiasi dan stabilitas.

6. Komponen korelatif

Komponen korelatif adalah komponen yang memiliki keterkaitan erat satu sama lain. Komponen ini bisa merupakan prekursor, produk, atau metabolit dari reaksi kimia atau enzimatik. Komponen korelatif dapat digunakan sebagai penanda kimia untuk menilai kualitas jamu yang berasal dari wilayah geografis yang berbeda dan disimpan untuk periode waktu yang berbeda.

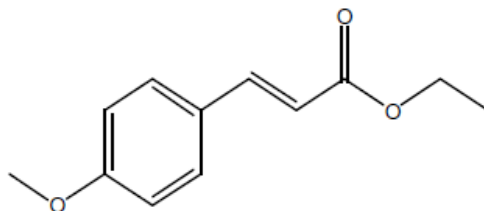
7. Komponen toksik

Komponen toksik digunakan dalam pengobatan tradisional dan studi toksikologi untuk mendokumentasikan komponen beracun dari tanaman obat. Misalnya senyawa asam aristolochic (AAs) digunakan sebagai penanda untuk kontrol tanaman yang menyebabkan nefrotoksik. *American Herbal Product Association* (AHPA) memberikan peringatan terhadap obat herbal yang mengandung senyawa pyrrolizidine alkaloid karena memiliki efek hepatoksik.

8. Komponen umum

Komponen umum adalah komponen yang ada dan spesifik pada spesies, genus atau famili tertentu. Komponen ini dapat digunakan sebagai sidik jari untuk kendali mutu.

Pada tanaman kencur, senyawa etil *p*-metoksisinamat (EPMS) merupakan komponen utama pada tanaman. Berdasarkan review oleh Umar dkk. (2012) senyawa isolat EPMS bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi kencur meliputi antiinflamasi, nematisidal, pembunuh nyamuk, anti neoplastik, dan anti mikroba. Kadar EPMS merupakan komponen tertinggi dalam tanaman kencur sehingga senyawa ini digunakan sebagai senyawa penanda tanaman pada farmakope herbal Indonesia.



Gambar 2. Struktur Kimia Etil *p*-metoksisinamat (Koh, 2009)

II.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-anginin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan

lain. Suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Farmakope Herbal, 2011).

II.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut yang dipisahkan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia dari dalam tanaman. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan terjadinya difusi. Proses ini terus berlangsung hingga tercapai keseimbangan konsentrasi zat aktif di luar dan di dalam sel (Ditjen POM, 1986).

Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi disebut dengan ekstrak. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati, hewani dengan menggunakan pelarut tertentu, kemudian hampir semua atau semua pelarut diuapkan hingga diperoleh massa atau serbuk (Depkes, 1995).

Metode ekstraksi dibagi menjadi 2, yaitu metode ekstraksi dingin dan panas. Ekstraksi secara panas antara lain refluks, soklet, infus, dekokta, destilasi uap air, sedangkan ekstraksi secara dingin antara lain perkolasi dan maserasi (Ditjen POM, 2000).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang sederhana. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam

menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan zat aktif dalam sampel simplisia. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel. Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari sambil sesekali diaduk untuk mempercepat proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan berulang kali sehingga zat aktif terekstraksi secara sempurna yang ditandai dengan pelarut yang digunakan tidak berwarna lagi. Proses ini disebut dengan remaserasi (Ditjen POM, 1986).

Keuntungan cara ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan, sedangkan kerugiannya ialah pengerjaan yang membutuhkan waktu yang lama dan memerlukan banyak pelarut (Ditjen POM, 1986).

II.5 Radikal bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang tidak stabil dan reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluar. Ketidakstabilan ini menyebabkan radikal bebas akan bereaksi dengan molekul lain untuk memperoleh pasangan elektron. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion) atau tidak bermuatan. Radikal bebas dianggap berbahaya karena akan menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektron. Molekul yang

elektronnya terambil akan menjadi radikal bebas baru sehingga mengakibatkan reaksi berantai yang dapat merusak sel (Yuslianti, 2018)

Reaksi terjadinya radikal bebas terjadi dalam 3 tahap (Yuslianti, 2018) :

1. Tahap inisiasi. Merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas
2. Tahap propagasi. Merupakan tahap pemanjangan rantai radikal atau pemanjangan reaksi dimana radikal bebas akan diubah menjadi radikal bebas lain.
3. Tahap terminasi. Merupakan tahap reaksi senyawa radikal dengan senyawa radikal lainnya atau dengan penangkap radikal sehingga potensi radikalnya rendah.

Menurut Langseth (1995), reaksi antara radikal bebas dan molekul normal akan menimbulkan kerusakan DNA pada inti sel, protein, dan membran fosfolipid.

II.6 Antioksidan

II.6.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang dapat menghambat oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang mentransfer elektron atau hidrogen dari suatu zat-zat pengoksidasi. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas ini dapat memulai reaksi berantai, ketika reaksi berantai terjadi di dalam sel, maka dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Disinilah peran antioksidan menghentikan reaksi berantai ini dengan menghilangkan zat antara radikal bebas dan menghambat reaksi oksidatif lainnya. Antioksidan

seringkali merupakan agen pereduksi seperti tioal, asam askorbat, atau polifenol (Moharram, 2014).

II.6.2 Jenis-Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3 bagian berdasarkan sumbernya (Irianti *et al*, 2017).

1. Antioksidan alami

Antioksidan alami dapat ditemukan pada berbagai jenis sayur, buah, tumbuhan dan rempah-rempah. Antioksidan alami bertindak sebagai reduktor, peredam pembentukan oksigen singlet, penangkal radikal bebas dan pengkhelat logam. Antioksidan alami dapat berupa beta karoten (vitamin A), alfatokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), senyawa polifenol atau fenolik, flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin dan asam organik.

2. Antioksidan sintetik

Merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. contoh antioksidan sintetik di antaranya *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxyrotoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydro guaretic acid* (NDGA).

3. Antioksidan endogen

Adalah Antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh manusia. Dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim

Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).

Berdasarkan fungsi, antioksidan dapat dibedakan menjadi (Irianti *et al*, 2017) :

1. Antioksidan primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas pada tahap propagasi. Cara kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk untuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan memutus reaksi berantai (polimerisasi) dengan istilah *chain breaking antioxidant*. antioksidan primer antara lain transferin, feritin, dan albumin.
2. Antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya adalah Vitamin E, Asam askorbat, dan betakaroten.
3. Antioksidan tersier atau disebut *repair enzyme* yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase dan lipase.

II.6.3 Mekanisme Antioksidan

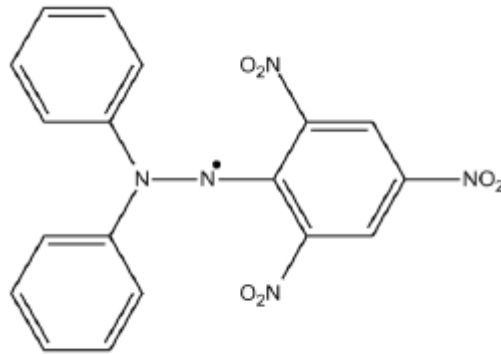
Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang

teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 (empat) macam mekanisme reaksi yaitu (Sayuti & Yenrina, 2015) :

1. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
2. Pelepasan elektron dari antioksidan
3. Adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan.
4. Pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

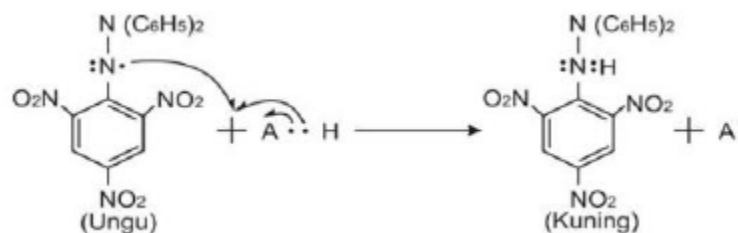
II.6.4 Metode Uji Antioksidan

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi atau menganalisis aktivitas antioksidan salah satunya yaitu dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenil-1-pikrilhidrazil*). DPPH merupakan senyawa radikal nitrogen yang berwarna ungu tua. Metode ini ditemukan dan diperkenalkan oleh Brand-williams (*Prior et al*, 2005). DPPH yang bersifat radikal akan mengambil elektron atau hidrogen sehingga membentuk molekul stabil. Adanya serapan warna violet pada panjang gelombang 517 nm ditimbulkan oleh delokalisasi elektron (Winarsi, 2011). Kelebihan metode DPPH yaitu merupakan metode yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti metode lain. Selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (*Prakash et al*, 2001). Adapun struktur kimia DPPH ditunjukkan pada gambar 3.

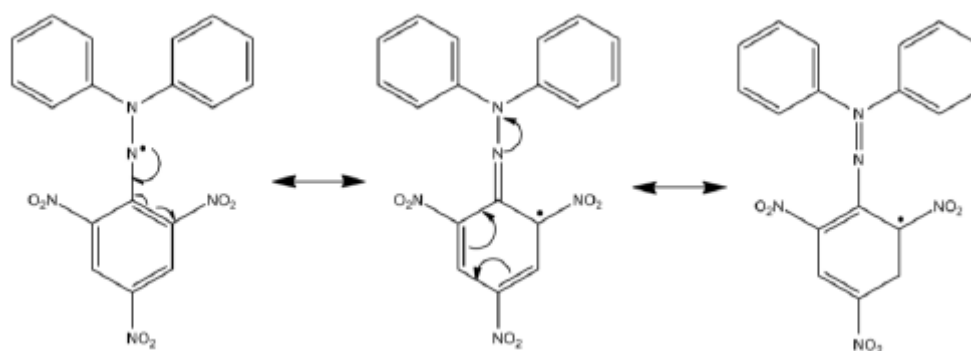


Gambar 3. Rumus struktur DPPH

Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH menetralkan sifat radikal bebas DPPH. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang (λ_{max}) 517 nm dan berwarna ungu gelap. Apabila semua elektron pada DPPH berpasangan maka warna larutan akan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang. Perubahan warna tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplot terhadap konsentrasi. Perubahan intensitas warna diakibatkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan elektron oleh zat antioksidan menyebabkan elektron tidak dapat beresonansi (gambar 5). Reaksi antara DPPH dan antioksidan dapat dilihat pada gambar 4 (Irianti *et al*, 2017).



Gambar 4. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan (Prakash, 2001)



Gambar 5. Reaksi resonansi pada radikal DPPH (Prakash, 2001)

Parameter untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah konsentrasi inhibisi (IC_{50}). IC_{50} adalah konsentrasi suatu bahan antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal (Windono, *et al.*, 2001). Semakin rendah nilai IC_{50} semakin baik aktivitas antioksidannya. Adapun tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH ditunjukkan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat aktif	<50
Aktif	50-100
Sedang	101-250
Lemah	250-500
Tidak aktif	>500

(Blois, 2003)

II.7 Spektrofotometri

II.7.1 Pengertian Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang sering digunakan untuk menganalisis suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. (Triyati, 1985).

Spektrofotometer UV-VIS sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa berdasarkan absorbansi foton. Persyaratan kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia didasarkan pada acuan ISO 17025, *Good Laboratory Practice* (GLP) atau rekomendasi dari *farmakope* (Irawan, 2019).

Metode Spektrofotometri Ultra-violet dan Sinar Tampak telah banyak diterapkan untuk penetapan senyawa-senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil (Skoog & West, 1971).

II.7.2 Cara Kerja Spektrofotometri

Prinsip kerja spektrofotometri yakni berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh suatu larutan. Jumlah cahaya atau energi radiasi yang diserap memungkinkan pengukuran jumlah zat penyerap dalam larutan secara kuantitatif (Skoog & West, 1971).

Metode Spektrofotometri bekerja berdasarkan pada hukum *Lambert-Beer*. Hukum tersebut menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya

Tampak, Ultra-violet dan cahaya-cahaya lain yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan. Hukum ini secara sederhana dapat dinyatakan dalam rumus berikut : (Skoog & West, 1971).

$$A = a.b.c$$

Dimana : A = Absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Secara garis besar Spektrofotometer terdiri dari 4 bagian (Gandjar, 2007) :

1. Sumber Lampu

Sumber lampu pada Spektrofotometer harus memiliki pancaran radiasi yang stabil. Ada beberapa lampu yang digunakan yaitu, lampu deuterium yang digunakan pada daerah panjang gelombang UV (190-359 nm) dan lampu tungsten atau halogen kuarsa untuk daerah *visible* (350-900 nm)

2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang berfungsi untuk mengatur cahaya polikromatis menjadi beberapa komponen panjang gelombang tertentu (monokromatis) yang berbeda (terdispersi).

3. Kuvet

Kuvet Spektrofotometer adalah suatu wadah yang digunakan sebagai tempat sampel atau cuplikan yang akan dianalisis. Kuvet

biasanya terbuat dari kwarsa, plexiglass, kaca, plastik dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1 x 1 cm dan tinggi 5 cm. Pada pengukuran di daerah UV dipakai kuvet kuarsa atau plexiglass. Sedangkan kuvet dari kaca tidak dapat dipakai sebab kaca mengabsorpsi sinar UV. Semua macam kuvet dapat dipakai untuk pengukuran di daerah sinar tampak (*Visible*).

4. Detektor

Peranan detektor adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang, detektor akan mengubah cahaya menjadi sinyal listrik yang selanjutnya akan ditampilkan oleh penampil data dalam bentuk jarum penunjuk atau angka digital.

II.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

II.8.1 Pengertian

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau disebut juga dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan instrumen yang digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa serta untuk analisis kuantitatif senyawa tersebut. KCKT dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif senyawa obat dengan mendasarkan pada parameter waktu retensi senyawa standar dan senyawa dalam sampel (Gandjar, 2007).

KCKT sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar senyawa

senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi (Wahyuni, 2003).

Keunggulan KCKT dari kromatografi cair lainnya adalah (Baskoro, 2018) :

1. Kolom KCKT dapat dipakai berulang kali tanpa perlu diregenerasi (diperbarui).
2. Tercapainya pemisahan yang memuaskan pada kolom.
3. Peralatan KCKT dapat dioperasikan secara otomatis dan kuantitatif.
4. Waktu analisis yang relatif singkat.
5. Untuk keperluan preparatif (pemurnian) dapat dilakukan dalam skala besar.

II.8.2 Cara Kerja dan Instrumentasi KCKT

Prinsip kerja KCKT tidak berbeda dengan prinsip-prinsip kromatografi yang lain, yaitu pemisahan komponen-komponen sampel dengan cara melewatkan sampel pada suatu kolom, yang selanjutnya dilakukan pengukuran kadar masing-masing komponen-komponen tersebut dengan suatu detektor. Kerja detektor bermacam-macam, tetapi pada dasarnya membandingkan respon dari komponen sampel dengan respon dari larutan standar (Wahyuni, 2003).

Prinsip pemisahan KCKT yaitu perbedaan distribusi komponen di antara fase gerak dan fase diam yang menyebabkan migrasi diferensial komponen-komponen analit dalam kolom kromatografi (Wahyuni, 2003).

Komponen-komponen utama KCKT yaitu :

1. Wadah fase gerak
2. Pompa untuk mengalirkan fase gerak
3. Alat untuk memasukkan sampel
4. Kolom
5. Detektor
6. Wadah penampung buangan fase gerak
7. Tabung penghubung
8. Suatu komputer atau integrator untuk mengolah data sinyal sehingga diperoleh suatu kromatogram (Gandjar, 2012).

II.9 Pengaruh Lingkungan Terhadap Metabolit Sekunder

Kandungan fitokimia pada suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara di dalam tanah dan ketinggian tempat tumbuh. Metabolit sekunder berperan dalam adaptasi tanaman pada perubahan lingkungan. Faktor eksternal sering memberi pengaruh besar pada level biosintesis dan kualitas metabolit sekunder pada tanaman (Coley, 1987). Adapun faktor lingkungan yang mempengaruhi metabolit sekunder antara lain :

1. Cahaya

Cahaya merupakan faktor terpenting yang dibutuhkan tanaman untuk tumbuh dan berkembang. Kelangsungan hidup tanaman sangat

bergantung pada kemampuan untuk melakukan fotosintesis. tanaman mengembangkan kapasitas yang sensitive untuk merasakan perbedaan spektrum cahaya dan sinar UV. Untuk mendapatkan manfaat optimal tanaman mengembang mekanisme biokimia sebagai perlindungan dari radiasi seperti sinar UV-B yang dapat merusak tanaman, transkripsi gen, translasi dan juga fotosintesis. Radiasi sinar UV-B yang diterima tanaman memberikan pengaruh terhadap kandungan metabolit termasuk senyawa-senyawa fenolik, terpenoid dan alkaloid (Ncube *et al*, 2012).

2. Unsur hara tanah

Keseimbangan nutrisi pada tanah mempengaruhi produksi metabolit sekunder. Kandungan proanthocyanidins meningkat seiring dengan terbatasnya unsur fosfat di tanah, juga rendahnya kandungan zat besi dapat menstimulasi biosintesis senyawa fenolik. Ketidakseimbangan karbon dan nitrogen dapat menurunkan kandungan metabolit sekunder. Metabolit sekunder meningkat secara relatif akibat melimpahnya sumber nutrisi terutama nitrogen. Hal ini dikarenakan metabolit primer didahulukan sebelum pembentukan metabolit sekunder dimana unsur karbon dan nitrogen dialokasikan ke produksi metabolit sekunder setelah kebutuhan untuk pertumbuhan tanaman terpenuhi. Terbatasnya sumber unsur nitrogen dapat mengurangi produksi senyawa yang mengandung nitrogen seperti alkaloid dan cyanogenic glikosida (Ncube *et al*, 2012).

3. Kelembaban

Kurangnya kelembaban atau peristiwa kekeringan dapat berdampak besar pada keberlangsungan tanaman. Penurunan pertumbuhan terjadi pada kondisi kekeringan dikarenakan pengurangan kadar air dapat menghambat laju fotosintesis. Pada studi yang dilakukan kandungan fenolik dan saponin ditemukan bervariasi pada berbagai musim. Pada musim dingin didapatkan kadar fenolik yang tinggi pada berbagai spesies tanaman (Ncube *et al*, 2012).

4. Suhu

Stress suhu pada tanaman menginduksi peningkatan enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, peroksidase dan antioksidan lainnya. Tekanan suhu dapat mempengaruhi proses fisiologis, biokimia dan perubahan molekul pada tanaman seperti denaturasi protein dan gangguan pada membran. Pengaruh suhu dapat mempengaruhi konsentrasi metabolit sekunder di jaringan tanaman yang sering digunakan sebagai indikator stress. Pada suhu rendah ditemukan adanya peningkatan produksi senyawa fenolik seperti antosianin (Ncube *et al*, 2012).

5. Ketinggian

Ketinggian tempat tumbuh berperan dalam produksi metabolit sekunder. Pada dataran tinggi terjadi penurunan suhu serta peningkatan radiasi UV-B yang dapat memicu radikal bebas berbahaya pada jaringan dan penurunan suhu. Sebagai respon dari kondisi stress akibat radiasi

dan suhu, maka tanaman pada dataran tinggi akan memproduksi senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai mekanisme pertahanan terhadap kondisi lingkungan (Rana *et al*, 2020).