

**IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
PADA EKSTRAK RIMPANG KENCUR *Kaempferia galanga L.*
DENGAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
LATIFAH
NIM. 11630032



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
PADA EKSTRAK RIMPANG KENCUR *Kaempferia galanga L.*
DENGAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

**Oleh:
LATIFAH
NIM. 11630032**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
PADA EKSTRAK RIMPANG KENCUR *Kaempferia galanga L.*
DENGAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
LATIFAH
NIM.11630032

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 01 Desember 2015**

Pembimbing I

Pembimbing II

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 2003121 004

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA FLAVONOID
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
PADA EKSTRAK RIMPANG KENCUR *Kaempferia galanga L.*
DENGAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh :
LATIFAH
NIM.11630032

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 01 Desember 2015

Penguji Utama : Tri Kustono Adi, M.Sc (.....)
NIP. 19710311 200312 1 002

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si (.....)
NIP. 19810811 200801 2 010

Sekretaris Penguji : Elok Kamilah Hayati, M.Si (.....)
NIP. 19790620 200604 2 002

Anggota Penguji : Ahmad Abtokhi, M.Pd (.....)
NIP. 19761003 2003121 004

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Latifah

NIM : 11630032

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaemferia galanga* L. dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 Desember 2015
Yang Membuat Pernyataan,

Latifah
NIM.11630032

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbil ‘Alamin, segala puji bagi Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberikan kenikmatan tiada terukur sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Rimpang Kencur *Kaempferia Galanga L.* dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)”** dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua tercinta Ayahanda H.Basir dan Ibunda Hj.Manirah yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
2. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Elok Kamilah Hayati, M. Si. selaku Ketua Jurusan Kimia sekaligus pembimbing skripsi yang telah banyak memberikan pengarahan, pengalaman yang berharga dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.

5. Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan selalu memberi semangat pada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.
6. Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku penguji agama dan Tri Kustono Adi, M.Sc selaku penguji utama terimakasih atas saran dan masukannya untuk perbaikan naskah skripsi ini.
7. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
8. Teman-teman kimia angkatan 2011 khususnya kepada ARKIMA yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca pada umumnya. *Amiin ya Rabbal Alamiin.*

Malang, Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUTAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Prespektif Islam.....	9
2.2 Morfologi Rimpang Kencur (<i>Kaempferia Galanga L.</i>)	11
2.3 Taksonomi Rimpang Kencur	12
2.4 Kandungan Rimpang Kencur	13
2.4.1 Flavonoid	13
2.4.2 Alkaloid.....	15
2.4.3 Tanin	17
2.4.4 Saponin	18
2.4.4 Steroid/Triterpen	19
2.5 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Rimpang Kencur	20
2.5.1 Ekstraksi Maserasi	20
2.5.2 Ekstraksi Senyawa Flavonoid	23
2.6 Antioksidan	24
2.6.1 Radikal Bebas	26
2.6.2 Mekanisme Antioksidatif.....	26
2.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	28
2.8 Identifikasi Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	31
2.9 Identifikasi Flavonoid dengan UV-Vis dan pereaksi Geser.....	34
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan waktu penelitian.....	36
3.2 Alat dan Bahan.....	36
3.2.1 Alat.....	36
3.2.2 Bahan.....	36

3.3 Rancangan Penelitian	37
3.4 Tahapan Penelitian	37
3.5 Cara Kerja	38
3.5.1 Preparasi Sampel.....	38
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	38
3.5.3 Ekstraksi Maserasi	39
3.5.5 Uji Antioksidan dengan DPPH.....	40
3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	40
3.5.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan	40
3.5.5.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel.....	41
3.5.6 Uji Reagen Fitokimia pada Hasil Maserasi	42
3.5.6.1 Uji Flavonoid	42
3.5.6.2 Uji Alkaloid	42
3.5.6.3 Uji Tanin	43
3.5.6.4 Uji Saponin	43
3.5.6.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	43
3.5.7. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik.....	44
3.5.8. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif.....	45
3.5.9. Identifikasi Senyawa dengan UV-Vis dan Pereaksi Geser	46
3.5.10. Analisis Data	47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel.....	48
4.2 Analisis Kadar Air.....	48
4.3 Ekstraksi Maserasi	49
4.4. Uji Antioksidan dengan DPPH	52
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	52
4.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan.....	52
4.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel.....	54
4.5. Uji Reagen Fitokimia pada Hasil Maserasi	58
3.5.6.1 Uji Flavonoid	59
3.5.6.2 Uji Alkaloid	60
3.5.6.3 Uji Tanin	61
3.5.6.4 Uji Saponin	62
3.5.6.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	62
3.5.7. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik.....	62
3.5.8. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif.....	66
3.5.9. Identifikasi Senyawa dengan UV-Vis dan Pereaksi Geser	68
3.5.10. Pemanfaatan Rimpang Kencur dalam Perspektif Agama Islam	72
BAB V PENUTUP	76
5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Konstanta dielektikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut	22
Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan	31
Tabel 4.1 Waktu kestabilan masing-masing sampel	53
Tabel 4.2 Persen (%) Aktivitas antioksidan	56
Tabel 4.3 Nilai IC ₅₀ masing-masing Ekstrak	58
Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia reagen rimpang kencur	59
Tabel 4.5 Data penampak noda KLTA dengan eluen PE: etil asetat	65
Tabel 4.6 Data penampak noda dari KLTP senyawa flavonoid	67
Tabel 4.7 Panjang gelombang maksimum dari noda KLT preparatif	69
Tabel 4.8 Interpretasi panjang gelombang pada isolat 7	70



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rimpang kencur (<i>Kaemferia galang L.</i>)	12
Gambar 2.2 Kerang kadasar Flavonoid.....	14
Gambar 2.3 Reaksi antara flavonoid dengan logam HCl dan Mg	14
Gambar 2. Struktur senyawa alkaloid	16
Gambar 2.5 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff.....	16
Gambar 2.6 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Meyer	17
Gambar 2.7 Reaksi antara tanin dengan FeCl ₃	18
Gambar 2.8 Reaksi dugaan uji saponin	19
Gambar 2.9 Struktur dasar golongan senyawa steroid	19
Gambar 2.10 Reaksi dugaan uji steroid/triterpenoid	20
Gambar 2.11 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan O-glikosida	24
Gambar 2.12 Asam askorbat (Vitamin C)	25
Gambar 2.13 Reaksi penghambatan antioks dan primer terhadap radikal lipida.....	27
Gambar 2.14 Reaksi penghambatan antioksidan antar radikal antioksidan.....	27
Gambar 2.15 Reaksi asam askorbat dengan DPPH	29
Gambar 4.1 Dugaan reaksi mekanisme reaksi hidrolisis glikosida.....	51
Gambar 4.2 Grafik panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 Mm	52
Gambar 4.3 Grafik aktivitas antioksidan dari beberapa sampel	55
Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan DPPH	57
Gambar 4.5 Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg	60
Gambar 4.6 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen mayer.....	60
Gambar 4.7 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen dragendorff.....	61
Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara tanin dengan FeCl ₃	61
Gambar 4.9 Hasil KLT analitik eluent terbaik PE: etil asetat (5:1)	64
Gambar 4.10 Struktur dasar flavonoid	70
Gambar 4.11 Struktur dugaan senyawa flavonoid pada isolat 7	72
Gambar 4.12 Struktur kaemferol rimpang kencur	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.Rancangan Penelitian	84
Lampiran 2. Skema kerja	85
Lampiran 3. Perhitungan Reagen dan Larutan.....	92
Lampiran 4.Pembuatan Reagen dan Larutan	95
Lampiran 5.Perhitungan kadar air.....	98
Lampiran 6.Dokumentasi.....	101
Lampiran 7.Uji aktivitas antioksidan	104
Lampiran 8.Perhitungan nilai Rf.....	106
Lampiran 9.Spot hasil KLT analitik.....	107
Lampiran 10.Spektra UV-Vis	108



مستخلص البحث

لطيفة. 2015. تعرّف مجموع المستحضر فلافونويد وتجربة الفعّالية المادة المضادة للأكسدة في مقتطفات الجذور كنجور الطريقة DPPH . بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشريفة الرئيسية: إيلوك كاملة حياتي الماجستير، والمشريف الديني: أحمد أبطخي الماجستير، المشتشارة: رحمواقي نعسح الماجستير.

الكلمة الرئيسة: الجذور كنجور (*Kaempferia galanga L.*)، الفعّالية المادة المضادة للأكسدة، طبقة رقيقة اللوني التحليلي (KLTA)، الطريقة DPPH، تعريف فلافونويد بالمتفاعل المنتقل.

كنجور هو قلقاس التي نبتت في أماكن بإندونيسي ويستفيد منه للدواء. وتدل سورة الشعراء: 80 أن الصحة نعمة عظيمة قد إعطاها الله الإنسان. يهدف هذا البحث لمعرفة النشاط المادة المضادة للأكسدة ولتعرف المستحضر الحي لمعرفة جنس الفلافونويد من المقتضات الجذور.

وطريقة الإستخراج المستخدمة هي التّخليل باستخدام مسيل إيتانول 80 %، المائي وقسّم باستخدام الكلوروفورم والمياه. استعمل تجربة الفعّالية المادة المضادة للأكسدة للاستخراج إيتانول 80 % والكسر الكلوروفورم بطريقة DPPH، المستحضر النشيط بالكاشف وطبقة رقيقة اللوني التحليلي (KLTA). تفريق المجموع المستحضر النشيط باستخدام طبقة رقيقة اللوني (KLTP) وتعرف بالمتفاعل المنتقل باستخدام UV-Vis. نسبة فعالية المادة المضادة للأكسدة العالية في الاستخراج إيتانول هي 80 % وفصيلة كلوروفورم على نحو 93,63 % (100 ppm) و 9,54 % (100 ppm) بقيمة IC_{50} يعن 07,13 و 9,81 $\mu\text{g/mL}$. ينفعان استخراج إيتانول 80 % وفصيلة كلوروفورم كنبع المادة المضادة للأكسدة الطبيعية. تدل تجربة فيتوكيمياء على أن إستخرج إيتانول هي 80 % فله مستحضر فلافونويد، ألكالويد وحمض التنيك. ولكن في استخراج الفصيلة الكلوروفورم له مستحضر. حصلت 7 نقاط (رف: 06,0-96,0) ويحصل من التفريق المستحضر النشيط باستخدام طبقة رقيقة اللوني التحليلي (KLTA) وباستعمال الحامل PE:etil asetat (5:1) وكذلك ثمانية نقاط (رف: 19,0-83,0) ويحصل من التفريق المستحضر النشيط باستخدام طبقة رقيقة اللوني (KLTP). طيف من الضوء يظن مستحضر فلافونويد من حصل الطبقة رقيقة اللوني (KLTP) هو العزلات سبعة. ويظن جنس فلافونويد في الجذور كنجور هو مستحضر فلافونون او ديهيدرو فلافونول.

ABSTRAK

Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaemferia galanga* L. dengan Metode dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Utama: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing Agama: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Konsultan: Rachmawati Ningsih, M.Si.

Kata Kunci: Rimpang Kencur (*Kaemferia galanga* L.), aktivitas antioksidan, kromatografi lapis tipis, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, identifikasi flavonoid dengan pereaksi geser.

Kencur (*Kaemferia galanga* L.) merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh diberbagai daerah di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Q.S asy Syu'araa ayat 80 menunjukkan bahwa sesungguhnya kesehatan merupakan suatu nikmat besar yang Allah SWT berikan kepada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, mengidentifikasi senyawa aktif dan untuk mengetahui jenis flavonoid dari ekstrak rimpang kencur.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 80 %, hidrolisis dan dipartisi dengan kloroform dan air. Ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, senyawa aktif dengan reagen dan KLTA. Pemisahan golongan senyawa aktif dengan KLTP dan diidentifikasi dengan pereaksi geser menggunakan instrument UV-Vis.

Persen aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform pada konsentrasi 100 ppm masing-masing sebesar 64,93 % dan 54,9 % dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,07 mg/mL dan 81,9 mg/mL. Ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform sangat berpotensi bila digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 80 % mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Sedangkan pada ekstrak fraksi kloroform mengandung senyawa flavonoid. Pemisahan senyawa aktif dengan KLTA menggunakan eluen PE:etil asetat (5:1) menghasilkan 7 spot (Rf 0,06-0,96) dan pemisahan senyawa aktif dengan KLTP menghasilkan 8 spot (Rf 0,19-0,83). Hasil pola spektra dari UV-Vis pada isolat 7 mendekati pola spektra senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol. Penambahan pereaksi geser menunjukkan adanya gugus hidroksi pada cincin A, B dan C dan O-hidroksi pada cincin A.

ABSTRAK

Latifah. 2015. Identification of Flavonoid Compound Class and Antioxidant Activity Test in Extract of *Kaempferia galanga* L. Rhizome with DPPH Method (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*). Thesis. Chemistry Department, Science and Technology Faculty the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Consultant: Rachmawati Ningsih, M.Si.

Keywords: *Kaempferia galanga* L. rhizomes, antioxidant activity, thin layer chromatography, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, Identification flavonoid with sliding reagent.

Kaempferia galanga L. is a tropical plants which is spreading out in many areas in Indonesia. It is occupied as medicinal plants. Q.S Asy Syu'araa verse 80 explains that actually health is the biggest thing that Allah has given to people. The purpose of this research is to understand antioxidant activity, identify active compound and know to the knowledge of the flavonoid an extract *Kaempferia galanga* L. rhizomes.

Extraction methods is used in extraction of maceration with 80% ethanol solvent, hydrolysis and partitioned with chloroform and water. 80% of ethanol extract and chloroform fraction have done testing antioxidant activity with the methods DPPH, active compound with a reagent and analytical TLC. Separation of the active compound with preparative TLC and identified with sliding reagent use instrument UV-Vis.

Percent antioxidant activity of 80 % ethanol extract and chloroform fraction of the concentration 100 ppm each of 64,93 % and 54,9 % with value IC_{50} of 13,07 mg/mL and 81,9 mg/mL. 80 % of ethanol extract and chloroform fraction potential when used as an antioxidant source natural. Phytochemical test shows 80 % ethanol extract compound containing flavonoid, alkaloids and tannin. While in extract chloroform fraction compound containing flavonoid. Separation active compound with analytical TLC use eluen PE: ethyl acetate (5: 1) produced 7 spots (Rf 0,06-0,96) and separation active compound with preparative TLC produced 8 spots (Rf 0,19-0,83). The result from spectrum patterns of UV-Vis in the 7 isolates approaching the pattern of flavonoid compound spectrum which is categorized as flavanons or dihidroflavonol. The addition of the sliding reagent shows the presence of hydroxyl groups in ring A, B and C and O-hydroxy in ring A.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah berfirman dalam surat an Nahl ayat 11:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (١١)

"Dan Dialah (Allah) yang menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan".

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah menumbuhkan dengan air hujan tanaman-tanaman seperti zaitun, kurma, anggur, dan semua jenis tanaman lainnya juga buah-buahan, dan sayuran. Proses pertumbuhan dan penyiraman dengan air hujan menjadikan tanaman tumbuh dan berbuah. Semua proses pertumbuhan dan bagian dari tanaman tersebut mengandung tanda-tanda yang jelas bagi orang-orang yang berfikir dan merenung supaya mereka beriman.

Tanaman secara tradisional telah lama digunakan sebagai bahan obat alami yang terkenal di Indonesia adalah jamu. Jamu adalah obat tradisional yang diracik dengan menggunakan bahan tanaman sebagai penyusunnya yang disajikan dalam bentuk serbuk, seduhan, pil atau cairan. Jamu tersusun atas berbagai tanaman obat yang jumlahnya antara 5 - 10 macam atau lebih. Jamu hanya dapat dikonsumsi untuk mencegah, mengurangi atau mengatasi keluhan yang dialami seseorang bukan menyembuhkan suatu diagnosa penyakit (Lestari, 2007).

Tingkat konsumsi jamu masyarakat di Indonesia sangat tinggi, termasuk jamu ramuan Madura untuk kesehatan reproduksi wanita. Tanaman yang

digunakan antara lain *Curcuma domestika*, *Kaempferia galanga* L, *Foeniculumvulgare* Mill, *Centella Asiatica*, namun belum dilakukan studi saintifik dan standardisasi yang memadai untuk menjamin keamanan dan kemanfaatannya. Ramuan tradisional ini memiliki manfaat yang secara langsung dirasakan oleh konsumen, dimana sebagian besar (95,60%) pengguna jamu menyatakan bahwa ramuan ini mampu meningkatkan daya tahan tubuh. Disamping itu, pengguna jamu pada umumnya didominasi oleh wanita (61,87 %) karena wanita memiliki peran ganda dalam menjaga kesehatan baik kesehatan tubuh maupun kesehatan reproduksi (Armas, 1995).

Kencur merupakan satu diantara tanaman obat yang berpotensi untuk dikembangkan dalam menangani masalah kewanitaan (Wijayakusuma, 2008). Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) sudah dikenal luas di masyarakat baik sebagai bumbu makanan atau untuk pengobatan diantaranya adalah batuk, mual, bengkak, bisul dan antitoksin seperti keracunan tempe bongkrek dan jamur. Selain itu, minuman beras kencur berkhasiat untuk menambah daya tahan tubuh, menghilangkan masuk angin, dan kelelahan, dengan dicampur minyak kelapa atau alkohol untuk mengencangkan urat kaki (Gholib, 2009).

Rimpang kencur mengandung beberapa senyawa aktif. Hasil penelitian Hasanah (2011) menginformasikan bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang kencur terdeteksi mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, polifenol, tanin, kuinon, dan monoterpen / seskuiterpen. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada kencur antara lain: alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan kuinon (Fitriyani, 2009). Berdasarkan

penelitian tersebut, menunjukkan bahwa flavonoid terdapat dalam rimpang kencur (*Kaemferia galanga* L.)

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi, 1985). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppert, 1954).

Tanaman yang mengandung senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antialergi dan antihipertensi (Fauziah, 2010). Peran terpenting flavonoid dari sayuran dan buah segar adalah mengurangi resiko terkena penyakit jantung dan stroke (Safitri, 2004). Menurut Sarastani, (2002) kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tanaman yang mengandung senyawa fenol yang tersebar di seluruh bagian tanaman baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari.

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit (Subeki 1998). Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawaan yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid.

Berbagai manfaat kencur dalam bidang fitofarmaka membuat para peneliti melakukan *research* untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dan aktivitas antioksidan pada kencur. Uji aktivitas antioksidan pernah dilakukan di GITAM

University India dengan menggunakan maserasi tanpa adanya hidrolisis dan partisi. Pada penelitian Rao (2014) menggunakan variasi pelarut dengan empat macam variasi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol, metanol, etil asetat dan air dari rimpang kencur berturut-turut memiliki aktivitas inhibisi (IC_{50}) sebesar 490 $\mu\text{g/mL}$, 590 $\mu\text{g/mL}$, 640 $\mu\text{g/mL}$ dan 720 $\mu\text{g/mL}$. Adapun standar yang dipakai pada penelitian ini adalah vitamin C (asam askorbat) dengan nilai IC_{50} sebesar 230 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar rimpang kencur yang paling mendekati standar adalah pelarut etanol dengan IC_{50} 490 $\mu\text{g/mL}$.

Metode yang sering digunakan dalam pengujian antioksidan adalah DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ialah IC_{50} (konsentrasi substrat untuk menghasilkan 50% reduksi dari DPPH) (Molyneux, 2003). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hafid, 2003). Metode uji DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok untuk komponen antioksidan yang bersifat polar, karena kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol ataupun metanol. Yuliani (2010) membandingkan aktivitas antioksidan fraksi etanol jintan hitam menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), FTC (*Ferri Tiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) didapatkan nilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH sebesar 22,483% dengan nilai IC_{50} 2743,59 sedangkan pada metode FTC dan TBA memberikan aktivitas antioksidan yang tidak valid.

Nihlati (2007) melakukan uji daya antioksidan pada rimpang temu kunci *Boesenbergia pandurata Roxb* dengan pelarut etanol 96 % menggunakan metode DPPH. Pengujian antioksidan dilakukan pada ekstrak etanol dan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki IC_{50} 10,36 $\mu\text{g/mL}$.

Metode isolasi senyawa flavonoid pada penelitian (Voigt, 1995) dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 80 %. Metode maserasi digunakan karena sederhana, relatif murah dan terjadinya kontak antara sampel dengan pelarut yang cukup lama memudahkan pelarut untuk mengikat senyawa yang ada pada sampel serta dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Menurut Bimakra (2010) Etanol merupakan pelarut yang aman dengan toksisitas rendah bila dibandingkan dengan metanol. Selain itu, hasil ekstrak kasar dan konsentrasi yang tinggi dari bioaktif senyawa flavonoid pada tanaman bisa diisolasi dengan pelarut tersebut. Ekstrak kasar yang didapatkan selanjutnya dihidrolisis menggunakan HCL 2 N (Tensiska dkk., 2007) untuk mendestruksi ikatan glikosida (Bimakra dkk., 2010).

Proses ekstraksi senyawa flavonoid umbi binahong dilanjutkan dengan partisi menggunakan pelarut kloroform dan air dengan perbandingan 1:1 (Arishandy, 2010 dan Inayah, 2011). Aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1998). Pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara sederhana untuk pemisahan senyawa flavonoid berdasarkan perbedaan distribusi fasa diam dan fasa gerak sehingga akan didapatkan fraksi aktif senyawa flavonoid (Gandjar dan Rohman, 2007).

Eluen-eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid adalah butanol-asam asetat-air (3:1:1) (Marliana,dkk.,2005) menghasilkan bercak biru, metanol-kloroform (1:39) dan (1:9) (Milyasari, 2011) menghasilkan bercak lembayung gelap, fase gerak petroleum eter-etil asetat (5:1) menghasilkan bercak coklat-merah dan fase gerak kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) (Fitriani, 2011) menghasilkan bercak kuning setelah disemprot penampak bercak amonia.

Pradana (2014) telah melakukan identifikasi flavonoid pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) steenis). Pemisahan senyawa flavonoid dipisahkan dengan KLT diperoleh eluen terbaik yaitu BAA (4:1:5) dihasilkan 6 spot dengan nilai (Rf) 0,38 hijau muda, 0,65 hijau 0,69 merah muda, 0,81 merah, 0,9 hijau tua 0,94 hijau tua. Windono (2012) dari fraksi etil asetat rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet SM*) pemisahan senyawanya menggunakan KLT dengan fase gerak campuran butanol-asam asetat-air (4:1:5) menghasilkan nilai Rf 0,87 yang diasumsikan senyawa flavonoid karena menunjukkan warna merah pada uji sianidin dan berflourosensi kuning setelah dilakukan hidrolisis. Senyawa yang diduga adalah flavonol dengan C-3 tersubstitusi gula dengan gugus OH bebas pada C-4', C-5 dan C-7.

Hasil penelitian Nugrahaningtyas (2005) tentang isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari rimpang temulawak (*Curcuma aeruginosa R.*) bahwa pereaksi positif uji kandungan flavonoid dari ekstrak petroleum eter dengan pereaksi vanilin-HCl, Mg-HCl, FeCl₃ 5% dan AlCl₃ 5% berturut-turut menghasilkan warna merah jambu, merah, hitam atau abu-abu warna kuning flourosens. Menurut Saman (2012) fraksi ekstrak metanol rimpang jeringau positif mengandung senyawa flavonoid dengan pereaksi Mg-HCl, H₂SO₄ dan NaOH

berturut-turut mengalami perubahan dari warna orange tua menjadi orange muda, orange tua menjadi merah dan orange tua menjadi coklat kehitaman.

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada bilangan gelombang 200 - 400 nm. Kemudian diamati pergeseran puncak serapannya sebelum dan sesudah ditambahkan pereaksi geser. Pereaksi geser tersebut diantaranya NaOH 2 M, AlCl₃ 5%, AlCl₃ 5%/HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃ (Hayati dkk., 2010). Kedudukan gugus hidroksi fenol bebas pada inti flavonoida dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati puncak serapan yang terjadi (Markham, 1988).

Dari ulasan diatas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rimpang kencur *Kaempferia galanga* L. dengan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform rimpang kencur *Kaempferia galanga* L. menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) ?
2. Bagaimana hasil pemisahan senyawa flavonoid rimpang kencur *Kaempferia galanga* L. dengan KLT analitik dan KLT preparatif?
3. Golongan flavonoid apa yang terkandung dalam ekstrak rimpang kencur *Kaempferia galanga* L. secara spektroskopi ?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform rimpang kencur (*Kaemferia galanga L.*) menggunakan metode DPPH.
2. Mengetahui hasil pemisahan senyawa flavonoid rimpang kencur (*Kaemferia galanga L.*) dengan KLT analitik dan KLT preparatif.
3. Mengetahui jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak rimpang kencur (*Kaemferia galanga L.*).

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan rimpang kencur yang diperoleh dari Materia Medica Kota Batu.
2. Ekstraksi rimpang kencur dengan metode maserasi dan ekstraksi cair-cair.
3. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DDPH.
4. Pemisahan senyawa aktif flavonoid dengan KLT analitik dan KLT preparatif.
5. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan pereaksi geser.
6. Pereaksi geser yang digunakan diantaranya NaOH 2 M, AlCl₃ 5%, AlCl₃ 5%/HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang potensi senyawa flavonoid yang terkandung dalam kencur (*Kaemferia galanga L.*). Senyawa flavonoid dapat digunakan untuk pembuatan ramuan maupun obat-obatan, sehingga mempermudah pengkajian lebih lanjut tentang aktivitas dan pemanfaatan senyawa flavonoid dalam bidang kesehatan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Prespektif Islam

Al-Qur'an banyak menyebutkan tentang tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Thaha: 53 yaitu:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ
شَتَّىٰ (53)

“Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha : 53).”

Menurut Shihab (2002), dalam tafsir Al-Mishbah bahwa aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptanya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan salah satunya dapat digunakan sebagai tanaman obat dan bumbu dapur.

Umat Islam diperintahkan dalam al-Qur'an untuk mempelajari setiap kandungan ayat ataupun surat yang diturunkan untuk manusia. Sehingga kita sebagai manusia perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al-Qur'an, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang luar biasa terhadap segala sesuatu yang telah diciptakan Allah SWT untuk manusia, termasuk alam semesta.

Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuhan, mulai dari tumbuhan tingkat tinggi sampai tingkat rendah dan dibalik penciptaannya tersimpan banyak manfaat yang dapat kita ambil darinya, karena tidak ada sesuatu yang diciptakan Allah itu sesuatu yang sia-sia, sekecil apapun ciptaanya pasti memiliki manfaat bagi kelangsungan hidup manusia. Misalnya, kencur (*Kaempferia galanga*) yang merupakan salah satu dari jenis tanaman rimpang atau dikenal dengan nama rempah-rempah yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Hal di atas didukung dengan firman Allah SWT dalam surat al-Insan ayat 17:

وَيُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَ مِزَاجُهَا زَنْجَبِيلًا (17)

“Di dalam surga itu mereka diberi minum segelas (minuman) yang campurannya adalah jahe.” (QS: Al Insan 76 : 17)

Dalam Tafsir Nurul Qur’an Sayyid Kalam Faqih, beliau mengutip dari perkataan Ibnu Abbas bahwa: “Kenikmatan-kenikmatan yang telah disebutkan Allah dalam al Qur’an adalah yang namanya kita kenal. Misalnya, Dia menyebutkan “minuman segar di campur zanjabil”, zanjabil adalah nama untuk jahe, yaitu tanaman akar-akaran yang aromanya sangat disukai oleh orang Arab (Faqih, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman kelompok akar-akaran atau yang dikenal dengan rempah-rempah diterangkan secara jelas kandungan dan manfaatnya dalam al-Qur’an. Tanaman-tanaman yang tumbuh di alam semesta ini merupakan tanaman yang baik seperti yang telah dijelaskan dalam al-Qur’an surat Asy-syu’ara ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (7)

“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. asy Syu’ara: 7).

Ayat di atas telah menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang disifati-Nya. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Savitri, 2008). Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dan dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan sebaik-baiknya, tidak terkecuali tanaman rimpang kencur.

2.2. Morfologi Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga L.*)

Kencur (*Kaempferia galanga L*) merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh diberbagai daerah di Indonesia sebagai tanaman yang dipelihara. Tanaman ini banyak digunakan sebagai ramuan obat tradisional dan sebagai bumbu dalam masakan sehingga para petani banyak yang membudidayakan tanaman kencur sebagai hasil pertanian yang diperdagangkan dalam jumlah yang besar. Bagian dari tanaman kencur yang diperdagangkan adalah akar yang tinggal didalam tanah yang disebut dengan rimpang kencur atau rizoma (Soeprapto,1986).

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 induk daun yang nyata (Backer,1986).

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.

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 berbentuk corong pendek.

2.3 Taksonomi Rimpang Kencur

Klasifikasi *Kaempferia galanga L.* di dalam dunia botani adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermaiophyta
Sob Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Subfamili	: Zingiberoideae
Genus	: Kaempferia
Spesies	: Kaempferia galanga L.



Gambar 2.1 *Kaempferia galanga L.*

Nama *Kaempferia galanga L.* diberbagai daerah di Indonesia yaitu Sumatera: ceuku (Aceh), tekur (Gayo), kaciwer (Karo), cakue (Minangkabau) Cokur (lampung). Jawa: kencur (jawa), cikur (Sunda), kencor (Madura). Sulawesi: batako (Manado), watan (Minahsa), (Gorontalo), cakuru (Makasar),

ceku (Bugis). Nusa Tenggara: cekuh (Bali), cekur (Sasak), cekur, (Sumba), sokus (Roti) Sukung (Timor). Maluku: suha (Seram), assuli (Ambon), onegai (Buru) dan Irian: ukap (Irian).

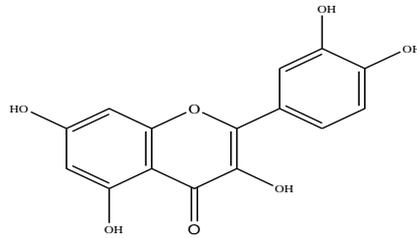
2.4 Kandungan Rimpang Kencur

Kandungan kencur antara lain: alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan kuinon pada rimpang kencur (Fitriyani, 2009). Sedangkan hasil skrining fitokimia ekstrak rimpang kencur adalah Alkaloid, Flavonoid, Polifenol, Tanin, Monoterpen, Sesquiterpen, Steroid (Hasanah, 2011).

Tanaman kencur mempunyai kandungan kimia antara lain minyak atsiri 2,4-2,9% yang terdiri atas etil parametoksi sinamat (30%). Kamfer, borneol, sineol, penta dekana. Adanya kandungan etil para metoksi sinamat dalam kencur yang merupakan senyawa turunan sinamat (Inayatullah, 1997 dan Jani, 1993).

2.4.1 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$ (Lenny, 2006). Kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksilnya. Salah satu kelompok senyawa flavonoid adalah Quersetin yang memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH (Rahayu dkk., 2014). Struktur Quersetin dapat dilihat pada Gambar 2.2:



Gambar 2.2 Kerangka golongan flavonoid(Quersetin) (Robinson, 1995)

Pada tumbuhan tingkat tinggi flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono, di atau triglikosida (Achmad, 1986). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol ataupun air.

Septyaningsih (2010) menjelaskan bahwa jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Reaksi dugaan antara flavonoid dengan logam HCl dan Mg:

Gambar 2.3 Reaksi antara flavonoid dengan logam HCl dan Mg

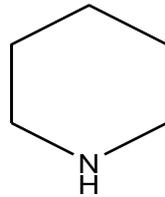
Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena

sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Mariana, 2013).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron atau sebuah atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi. Oleh karena itu, flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim.

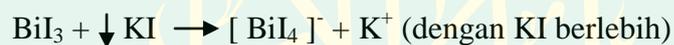
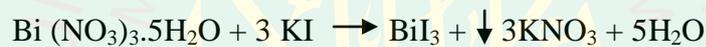
2.4.2 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad, 1986). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995). Struktur dasar senyawa alkaloid ditunjukkan gambar 2.4 berikut :

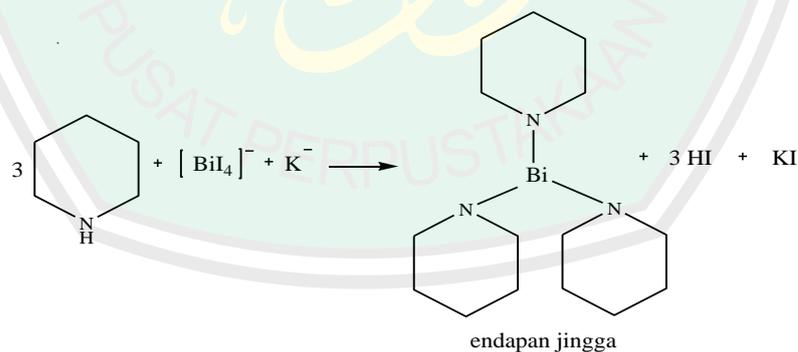


Gambar 2.4 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Harborne (1987) ekstrak yang positif alkaloid akan membentuk endapan jingga dengan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih dengan reagen Meyer. Endapan yang terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan pada gambar 2.5 berikut:



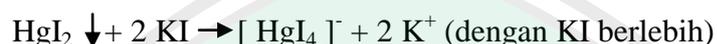
(Kalium tetraiodobismutat)



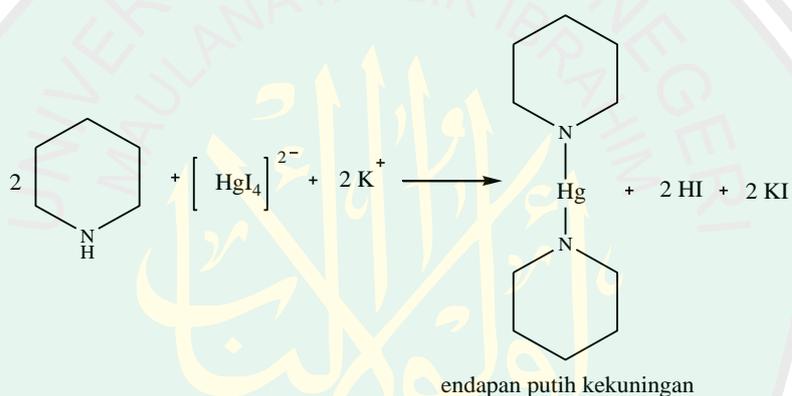
Gambar 2.5 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008).

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam

berat atom tinggi (Sirait, 2007). Alkaloid adalah senyawa yang tersusun dari atom nitrogen yang PEB (Pasangan Elektron Bebas) yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Marliana, 2005). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Meyer ditunjukkan pada gambar 2.6.



(Kalium tetraiodomerkurat (II))



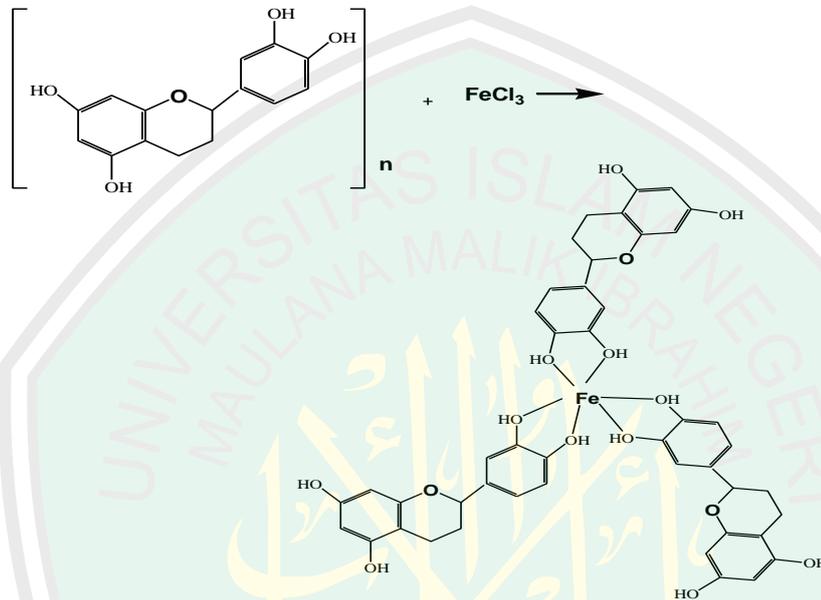
Gambar 2.6 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Meyer (Lutfillah, 2008)

2.4.3 Tanin

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Tanin terdiri dari sekelompok zat – zat kompleks yang terdapat secara meluas dalam dunia tumbuh–tumbuhan, antara lain terdapat pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah–buahan. Ada beberapa jenis tumbuhan yang mengandung senyawa tanin antara lain : tanaman pinang, tanaman akasia, gabus, bakau, pinus, pepaya dan gambir (Fitriyani, 2009).

Tanin apabila direaksikan dengan FeCl_3 akan membentuk warna hijau. Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks

antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom nonlogam (Effendy, 2007). Persamaan Reaksi antara senyawaan tanin dengan FeCl_3 dilihat pada gambar 2.7.



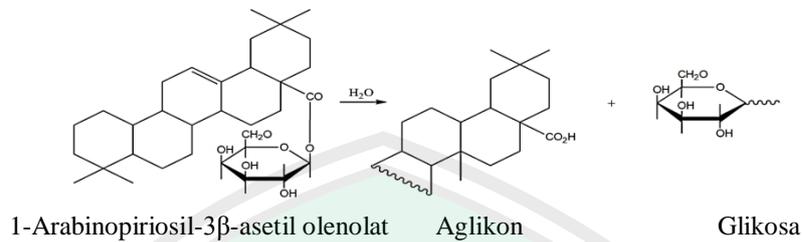
Gambar 2.7 Reaksi antara tanin dengan FeCl_3

2.4.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter (Aswin, 2008). Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air dan beracun bagi binatang berdarah dingin (Mutiah dkk., 2011).

Pada uji saponin positif bila ditambahkan dengan aquades panas akan terbentuk busa/buih selama 15 menit. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang

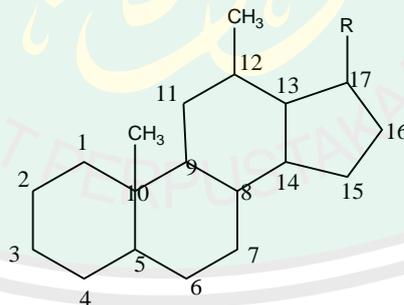
terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, 2005). Reaksi yang diduga pada uji saponin dapat dilihat pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi dugaan uji saponin

2.4.5 Steroid / Triterpen

Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar (Febriany, 2004). Semua sterol diduga hanya pada binatang, namun sekarang telah diketahui bahwa sterol juga terdapat dalam tumbuhan (fitosterol).

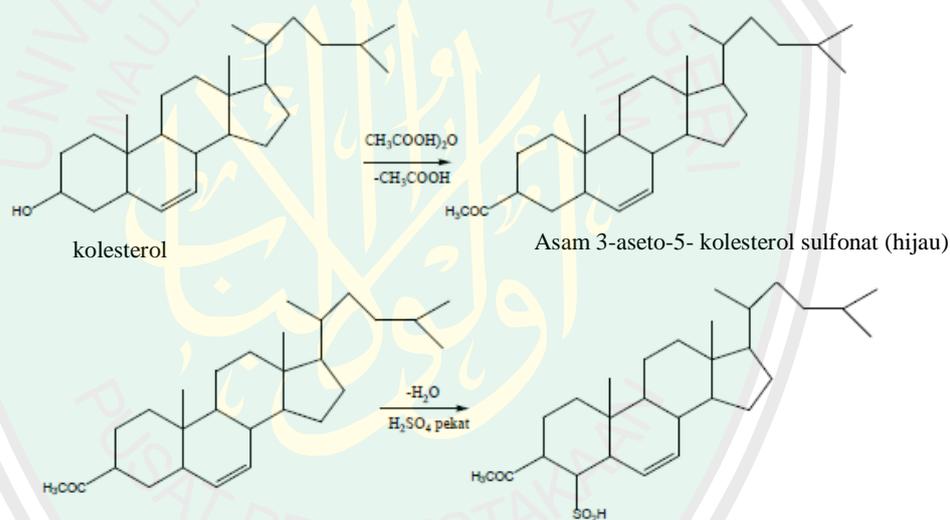


Gambar 2.9 Struktur dasar golongan senyawa steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa ini paling umum

ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995).

Triterpenoid tertentu dikenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Senyawa triterpenoid/steroid dapat mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995). Adapun reaksi dugaan uji terpenoid/steroid dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Reaksi dugaan uji steroid/triterpenoid

2.5 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Rimpang Kencur

2.5.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan, pada temperatur ruangan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut (Lenny, 2006).

Maserasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Ferdiansyah, 2006). Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan, selain itu dikhawatirkan senyawa yang terkandung dalam kencur merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Untuk mendapatkan ekstrak dalam waktu yang relatif cepat dapat dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker* berkekuatan 120 rpm selama 24 jam (Yustina, 2008).

Maserasi merupakan proses yang sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam. Perendaman sampel tumbuhan dengan maserasi akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama. Terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Sehingga, pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Hal ini membuat ekstraksi senyawa berlangsung sempurna karena lama perendaman yang dilakukan (Baraja, 2008).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloroform dan etanol didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut juga semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya. Titik didih masing-masing pelarut tersebut adalah kloroform adalah 61 °C dan etanol 78 °C (Sudarmadji, 2003)

Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Tabel 2.1 menunjukkan sifat fisik beberapa jenis pelarut organik yang dapat digunakan dalam penelitian ini. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji, *et al.*, 2007). Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.1 (Sax, 1998).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Petroleum eter	2,28	TL	60
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Butanol	15,80	S	117,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax (1998), HAM (2006), Fesenden dan Fesenden (1997), dan Mulyono (2006)

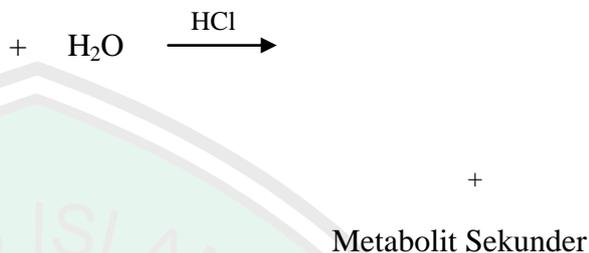
2.5.2 Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga merupakan senyawa polar (Markham, 1988). Bimakra dkk. (2010) melakukan isolasi flavonoid dengan pelarut metanol, etanol *p.a* dan etanol 80 %. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pelarut dengan kepolaran yang lebih rendah dapat mengekstrak flavonoid dalam konsentrasi tinggi. Etanol *p.a* dan etanol 80 % merupakan pelarut yang aman dengan toksisitas rendah daripada metanol. Selain itu, konsentrasi flavonoid yang tinggi juga dapat diisolasi dengan pelarut tersebut.

Flavonoid di alam sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, 2008). Apabila suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosidanya maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Sehingga pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut-pelarut polar, senyawa yang bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula dan pada proses pemisahan senyawa dengan KLT akan cenderung tertahan pada fase diamnya (Saifudin dkk., 2006).

Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semi polar maupun non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004). Hasil penelitian Kaur and Murphy (2012) menyebutkan bahwa melalui proses hidrolisis asam (HCl 2 N) dapat meningkatkan kandungan isoflavon (daidzein dan genistein) dari tanaman *Vigna unguiculata* L. yang ditunjukkan dengan meningkatnya peak atau puncak daidzein

dan genistein ketika dianalisis dengan HPLC. Reaksi pemutusan ikatan glikosida dengan HCl dan penetralan membentuk garam adalah:



Gambar 2.11 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Mardiyah, 2012)

Proses ekstraksi senyawa flavonoid umbi binahong dipartisi menggunakan pelarut kloroform dan air dengan perbandingan 1:1 (Arishandy, 2010 dan Inayah, 2011). Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut polar dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1998).

2.6 Antioksidan

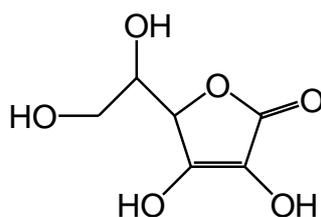
Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat

menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Penggunaan senyawa antioksidan juga antiradikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan. Antioksidan mempunyai kemampuan sebagai penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang reaktif (Tahir, *et al.*, 2003).

Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, *et al.*, 1996). Antioksidan sintetik BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintetik. Karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintetis.

Vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan alami yang penting dan larut dalam air. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Adapun struktur vitamin C dapat dilihat pada Gambar 2.12.



L- Asam Askorbat

Gambar 2.12 Asam askorbat (Vitamin C)

2.6.1 Radikal Bebas

Dewasa ini, dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas (*free radical*) dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Tampaknya oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Molekul ini sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena memberikan energi pada proses metabolisme dan respirasi, namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan kondisi degeneratif, seperti artritis, kanker, dan lain-lain (Winarsi, 2007).

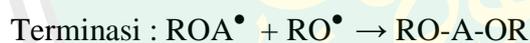
Radikal bebas adalah atom atau molekul apa saja yang memiliki satu atau lebih atom tak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas dijumpai sebagai zat antara yang tak dapat diisolasi usia pendek karena sangat reaktif dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dapat dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

2.6.2 Mekanisme Antioksidatif

Menurut Gordon (1990), antioksidan mempunyai dua fungsi berdasarkan mekanisme kerjanya. Fungsi pertama, antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang memiliki fungsi tersebut disebut juga sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke

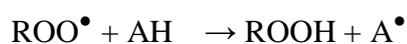
radikal lipid (R^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara hasil reaksi radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding dengan radikal lipid. Fungsi kedua, antioksidan merupakan antioksidan sekunder yaitu berfungsi untuk memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme pemutusan rantai oksidasi di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi. Hal ini merupakan perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil.

Radikal-radikal antioksidan (A^\bullet) yang terbentuk pada reaksi autooksidasi relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru seperti gambar 2.13 (Gordon, 1990).



Gambar 2.13 Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida

Autooksidasi dapat dihambat dengan menambahkan antioksidan (AH) dalam konsentrasi rendah yang dapat berasal dari penginterferensian rantai propagasi atau inisiasi. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non-radikal (Hamilton, 1994).



} Produk non-radikal

Gambar 2.14 Reaksi penghambatan antioksidan antar radikal antioksidan

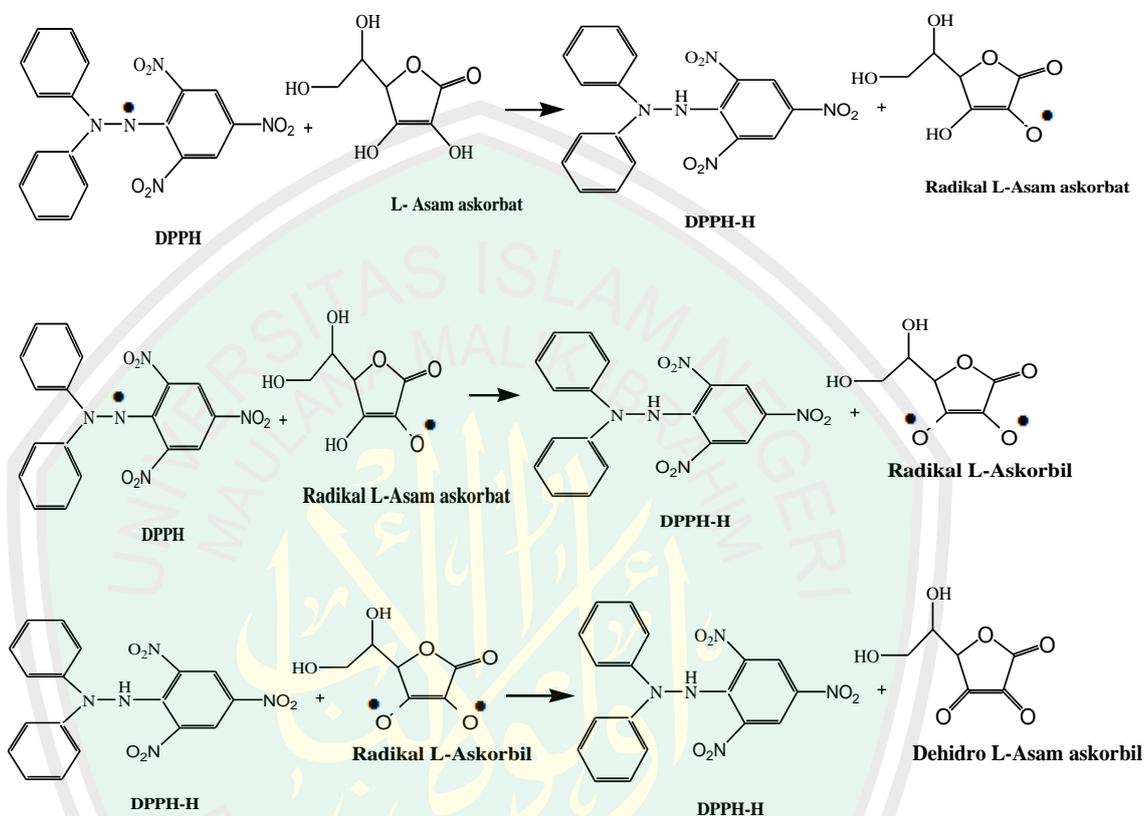
2.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Aktivitas antioksidan dari suatu makanan dapat berbeda bila diuji dengan metode yang berbeda. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain mempunyai kemampuan yang terbatas untuk mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisa. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak ataupun dalam air (Prakash, *et al.*, 2001).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, *et al.*, 2001).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin dan radikal antioksidan (Prakash, *et al.*,

2001). Mekanisme aktivitas antioksidan asam askorbat dengan DPPH ditunjukkan pada gambar 2.15 dibawah ini:



Gambar 2.16 Reaksi asam askorbat dengan DPPH (Nishizawa, 2005)

Asam askorbat mampu mereduksi radikal bebas DPPH dengan mendonorkan 1 atom hidrogen sehingga menghasilkan produk radikal L-asam askorbat. Radikal L-asam askorbat akan segera berubah menjadi radikal L-askorbil dan dan dehidro L-asam askorbil. Radikal-radikal yang terbentuk bersifat stabil. Hal tersebut disebabkan kemampuan radikal untuk menstabilkan diri dengan cara beresonansi.

Berdasarkan mekanisme kerjanya asam askorbat termasuk dalam antioksidan sekunder. Antioksidan ini berfungsi sebagai sistem pertahanan

preventif yaitu dengan cara memotong atau memutuskan reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Senyawa oksigen reaktif yang terbentuknya dihambat dengan menangkap oksigen dan mengubahnya menjadi spesies non radikal. Asam askorbat memberikan senyawa radikal nitrogen 2 atom H. Meskipun telah mendonorkan atom H-nya, asam askorbat tetap stabil dengan mengubah dirinya menjadi dehidro-L-Asam askorbat (Nishizawa, 2005).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan 2.1 (Molyneux, 2003).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \% \quad (2.1)$$

Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata, *et al.*, 2009). Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003).

Dalam metode DPPH terdapat parameter IC_{50} . Parameter IC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, 2005).

Mardawati (2008) menyebutkan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis menggunakan DPPH pada fraksi metanol memberikan nilai IC_{50} sebesar 8,00 mg/L. Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.2. dibawah ini:

Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai IC_{50}	Kekuatan
< 50 ppm	Sangat kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat lemah

Sumber: Hidajat (2005)

Faten (2009) menyebutkan bahwa dalam pengujian aktivitas antioksidan ekstrak alga merah *Gracilaria verucosa* dengan metode DPPH dan didapatkan hasil untuk ekstrak kasar etanol memiliki nilai IC_{50} 85 mg/L, sedangkan untuk ekstrak petroleum eter dan etil asetat memberikan nilai IC_{50} 130 mg/L dan 135 mg/L, dan untuk ekstrak air dan *n*-butanol memberikan nilai IC_{50} 180 mg/L dan 190 mg/L.

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat digunakan untuk tujuan analitik dan preparatif. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) analitik digunakan untuk

menganalisa senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil misalnya, menentukan jumlah komponen dalam campuran dan menentukan pelarut yang tepat untuk pemisahan dengan KLT preparatif. Sedangkan KLT preparatif digunakan untuk memisahkan campuran senyawa dari sampel dalam jumlah besar berdasarkan fraksinya, yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dikumpulkan dan digunakan untuk analisa berikutnya (Sastrohamidjojo, 2007).

Fasa diam dalam KLT berupa silika gel (biasanya berupa plat silika gel F₂₅₄) yang mampu mengikat senyawa yang akan dipisahkan. Sedangkan fasa geraknya berupa berbagai macam pelarut atau campuran pelarut. Proses pengembangan/ elusi ialah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan fase diam. Jarak hasil pemisahan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan atau harga R_f. KLT dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan menggunakan harga R_f dimana harga R_f dinyatakan dengan (Sastrohamidjojo, 2007):

$$R_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}} \dots\dots\dots (2.2)$$

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan yang sedikit. Untuk penelitian pendahuluan kandungan flavonoid suatu ekstrak umumnya pengembang beralkoho. Larutan pengembang pertama pada KLT misalnya butanol-asam asetat-air (BAA) (Markham, 1998). Pemisahan flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyemprot amoniak/uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010).

Nugrahaningtiyas (2005) melakukan identifikasi senyawa flavonoid dalam rimpang lempuyang gajah *Curcuma aeruginosa* R. ekstrak petroleum eter (PE) secara KLT dengan menggunakan eluen PE : kloroform (1:9). Pemisahan senyawa flavonoid dari tanaman rimpang tersebut menghasilkan 10 noda dengan 9 noda positif golongan senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam di bawah sinar UV pada λ 254 nm menggunakan pereaksi FeCl_3 . Sedangkan, dibawah sinar UV pada λ 366 nm noda 2 menghasilkan warna biru muda, 9 dan 10 menghasilkan warna kuning.

Nihlati, (2010) melakukan uji daya antioksidan ekstrak atanol rimpang temu kunci *Boesenbergia pandurata* R. dan pemisahan senyawanya menggunakan KLT dengan eluen petroleum eter-etil asetat (5:1). Hasil dari pemisahan menunjukkan ada 10 noda dan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid ada 6 noda yang ditunjukkan dengan warna merah-coklat setelah disemprot FeCl_3 . Milyasari (2011) melakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan eluen metanol-kloroform (1:9) memperlihatkan satu noda yang memberikan warna lembayung dan tidak terjadi perubahan warna setelah di uapi amonia.

Fitriani (2011) memisahkan flavonoid dari ekstrak metanol daun Sirih merah menggunakan eluen pengembang kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) menghasilkan 2 noda, 1 noda dengan Rf 0,5 (kuning pucat menjadi kuning intensif setelah diuapi dengan amoniak tanpa sinar UV) diindikasikan sebagai senyawa flavonoid. Arishandy (2011) memperoleh eluen terbaik metanol-kloroform (1:39) yang diuapi amoniak, menghasilkan 9 noda dengan 2 noda diindikasikan sebagai senyawa flavonoid.

2.9 Identifikasi Flavonoid dengan UV-Vis dan Pereaksi Geser

Kedudukan gugus hidroksi fenol bebas pada inti flavonoida dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati puncak serapan yang terjadi. Langkah pertama yang dilakukan dalam menafsirkan spektrum yaitu menentukan jenis flavonoida dengan memperhatikan bentuk umum spektrum dalam metanol, panjang gelombang pita serapan dan data kromatografi kertas. Langkah kedua adalah memperhatikan arti perubahan spektrum yang disebabkan oleh penambahan berbagai pereaksi geser (Markham, 1988).

a. Spektrum natrium metoksida

Natrium metoksida merupakan basa kuat yang dapat mengionisasi hampir semua gugus hidroksi pada inti flavonoida. Spektrum ini biasanya merupakan petunjuk sidik jari pola hidrosilasi dan juga bermanfaat untuk mendeteksi gugus hidroksi yang lebih asam dan tidak tersubstitusi. Degradasi atau pengurangan kekuatan spektrum setelah waktu tertentu merupakan petunjuk baik akan adanya gugus yang peka terhadap basa. Pereaksi pengganti natrium metoksida yang cocok ialah larutan NaOH 2 M dalam air geser (Markham, 1988).

b. Spektrum AlCl_3 dan AlCl_3/HCl

AlCl_3 membentuk kompleks tahan asam dengan gugus hidroksi (pada C_3 atau C_5) dan keton, juga membentuk kompleks tak tahan asam dengan gugus orto-dihidroksil, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut. Spektrum AlCl_3/HCl hanya berguna untuk mendeteksi gugus hidroksi yang bertetangga dengan gugus keton, karena gugus tersebut dengan AlCl_3 akan membentuk senyawa kompleks yang tahan asam.

c. Spektrum natrium asetat

Natrium asetat hanya menyebabkan pengionan yang berarti pada gugus hidroksil flavonoida yang paling asam. Jadi natrium asetat digunakan terutama untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil bebas atau yang setara.

d. Spektrum natrium asetat/asam borat

Natrium asetat dan asam borat menjebatani kedua gugus hidroksi pada gugus orto-dihidroksi dan membentuk senyawa kelat, sehingga pereaksi ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya gugus orto-dihidroksi pada senyawa flavonoida. Isolat-isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif, dilarutkan dengan kloroform:air dan disentrifuse kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Masing-masing isolat sebanyak 2 mL dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrumnya pada bilangan gelombang 200 - 400 nm. Identifikasi dilanjutkan dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl₃ 5%, AlCl₃ 5%/HCl, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃ (Hayati dkk., 2010).

Hasil penelitian Asih dan Setiawan (2008) menyatakan bahwa jenis golongan senyawa flavonoid pada ekstrak n-butanol kulit batang bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) adalah flavanon, hal ini dapat diidentifikasi setelah diamati pergeseran spektrumnya melalui spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai Agustus 2015 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, gunting, oven, erlenmeyer, cawan porselen, desikator, gelas arloji, spatula, neraca analitik, *shaker*, pipet tetes, lemari asap, bola hisap, kertas saring, corong *buchner vacuum*, inkubator, *rotary evaporator vacuum*, corong pisah, *hot plate*, *stirer*, botol larutan, bejana pengembang, aluminium foil, plat KLT silika gel F₂₅₄, penggaris, spektronik 20+ dan UV-vis.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman kencur *kaemferia galanga* L. yang diperoleh dari Materia Medika. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah etanol 80 %, HCl 2 %, kloroform, NaOH, asam asetat glasial, petroleum eter, n-butanol, aquades, H₂SO₄, logam Mg, larutan FeCl₃, reagen Dragendrofff, reagen Meyer, pereaksi Lieberman Burchard, Na-asetat, *DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)*, standar vitamin C, gas N₂, logam Mg, HCl pekat, asam asetat anhidrat, amonia dan KLT Gel 60 F₂₅₄.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang digunakan adalah rimpang kencur *kaemferia galanga* L. Sampel tersebut dibersihkan dan dicuci kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah kering kemudian diblender untuk memperluas permukaan sampel. Kemudian dilakukan uji kadar air. Pada proses ekstraksi serbuk sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian diekstraksi maserasi selama 24 jam dengan menggunakan etanol 80 % dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat kemudian dihitung nilai rendeman dan diuji flavonoid dengan KLTA dengan komposisi eluen yang berbeda-beda dilanjutkan dengan KLTP. Ekstrak senyawa flavonoid diuji aktivitas antioksidannya pada konsentrasi 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm, begitu pula untuk pembanding asam askorbat (vitamin C) kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya dan ditentukan nilai IC50 (*effective concentration*) menggunakan persamaan regresi.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel.
2. Analisa kadar air.
3. Ekstraksi flavonoid dari rimpang kencur *kaemferia galanga* L. dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 80 % dan ekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform:air (1:1).

4. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm.
5. Uji reagen fitokimia pada hasil maserasi.
6. Pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT analitik dan KLT preparatif.
7. Identifikasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis dan pereaksi geser.
8. Analisis data.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Diambil sampel tanaman rimpang kencur, dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel, lalu dikering anginkan kemudian sampel dipotong kecil-kecil. Setelah itu, sampel kering dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh merupakan sampel penelitian yang kemudian ditentukan kadar airnya.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Sampel kering yang telah dipreparasi, dianalisis kandungan kadar airnya dengan analisis gravimetri metode penguapan. Langkah awal yaitu dipanaskan cawan pada suhu 105 °C selama ± 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, lalu didinginkan di dalam desikator selama 10 menit. Kemudian cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105° C selama 1 jam untuk menguapkan air yang terkandung pada sampel. Setelah itu, didinginkan sampel kering dalam desikator selama ± 15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini

diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

Diharapkan kadar air sampel kering tidak melebihi 10 % untuk menghindari tumbuhnya mikroba dan jamur yang dapat merusak senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam rimpang kencur (*Kaemferia Galanga L.*).

3.5.3 Ekstraksi Maserasi

Sampel rimpang kencur *kaemferia galanga* ditimbang sebanyak 60 gram. Kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol sebanyak 180 mL. kemudian diaduk dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) selama 24 jam. Larutan ekstrak disaring menggunakan corong buchner. Kemudian ampas yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak tiga kali dengan pelarut dan perlakuan yang sama. Selanjutnya disaring. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Filtrat ekstrak rimpang kencur *kaemferia galanga L.* dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemannya dengan persamaan 3.2 :

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

Ekstrak pekat sebanyak 2,5 gram yang diperoleh selanjutnya dihidrolisis dengan HCl 2 N sebanyak 5 mL kemudian dihomogenkan selama 1 jam dengan

magnetic stirrer kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1:1) dan ekstraksi dilakukan secara bertahap ($3 \times 12,5$ mL). Fasa air dan fasa organik yang diperoleh masing-masing dipisahkan. Masing-masing lapisan yaitu lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) yang diduga sebagai ekstrak flavonoid dipisahkan dengan *rotary evaporator* kemudian ditentukan nilai rendemennya, dan dilakukan identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan uji aktivitas antioksidan dan KLT.

3.5.4 Uji Antioksidan dengan DPPH

3.5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dibuat larutan ekstrak 100 ppm sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37°C . Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu, dimasukkan ke dalam kuvet, dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rastuti dan Purwati, 2012).

3.5.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Dibuat larutan ekstrak 100 ppm sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37°C . Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan pada rentangan waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektrometri UV pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya (Suroso, 2011).

3.5.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

- a. Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol *p.a* sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.
- b. Sampel dilarutkan dalam etanol *p.a* dengan konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm (Djamil dkk., 2012). Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 3.3 (Triyem, 2010) :

Persamaan aktivitas antioksidan :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidan, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai IC_{50} dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”.

- c. Perbandingan asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel pada konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm, akan tetapi sampel diganti dengan asam askorbat (vitamin C).

3.5.5 Uji Reagen Fitokimia pada Hasil Maserasi

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 80 % rimpang kencur. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 80 % rimpang kencur dilarutkan dalam masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid (Indrayani dkk, 2006).

3.5.5.1 Uji Flavonoid

Ekstrak rimpang kencur diambil 1 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. Kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.5.2 Uji Alkaloid

Ekstrak daun rimpang kencur diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen

Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendorf) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Meyer) menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.5.3 Uji Tanin

Ekstrak rimpang kencur diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin Katekol (Halimah, 2010).

3.5.5.4 Uji Saponin

Ekstrak rimpang kencur diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, bila busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak rimpang kencur diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

3.5.6 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik (Gandjar dan Rohman, 2007)

Pada Plat KLT yang digunakan adalah plat silika gel dengan ukuran 60 mesh yang mampu berflourosensi dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm (silika G₆₀F₂₅₄). Plat KLT disiapkan dengan melapiskan diatas permukaan lapisan kaca ketebalan 250 µm, dibuat ukuran 1 cm x 10 cm dengan pensil, penggaris dan cutter. Selanjutnya garis digambar pada bagian bawah plat untuk menunjukkan posisi awal totalan (1 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penanda pada garis dibagian bawah plat untuk menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel GF₂₅₄ diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 60-80 °C selama 1 jam untuk menghilangkan kadar airnya yang terdapat pada plat KLT.

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 20 - 30 menit. Cara mengetahui eluen sudah jenuh atau belum dapat digunakan kertas saring untuk memeriksanya yaitu dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

Ekstrak pekat rimpang kencur dilarutkan dengan pelarutnya (dibuat konsentrasi 0,6 gr dalam 1 mL pelarutnya). Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1µL (1 – 10 total) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan dengan *hair drryer*.

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, diletakkan setinggi 0,5 cm dari dasar plat,

kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak $\pm 0,5$ cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan.

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel $G_{60}F_{254}$ kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, disemprot dengan penampak noda, dipanaskan di oven pada suhu $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit, kemudian diamati masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan menghitung nilai R_f noda.

Adapun eluen pengembang dan reagen penguji/penyemprot golongan senyawa flavonoid yaitu menggunakan eluen campuran butanol-asam asetat-air (3:1:1) (Marliana, 2005), butanol-asam asetat-air (9:2:6) (Rohyami, 2008), butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Koeriwa, 2010), kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) (Fitriyani, 2011), dan metanol-kloroform (1:39) (Arishandi, 2011) yang diuapi uap amoniak akan terbentuk noda-noda dengan flourosensi kuning, biru lembayung, kuning redup, kuning pucat, hijau kehitaman, jingga dan merah. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Eluen yang memberikan pemisahan paling baik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT preparatif.

3.5.7 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif

Pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan plat silika gel $60 F_{254}$ dengan ukuran 10×20 cm. Ekstrak pekat flavonoid dilarutkan dalam etanol 80 %, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi dan jarak satu sama lainnya 1 cm. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan pelarut yang memberikan pemisahan terbaik hasil KLT analitik.

Masing-masing senyawa flavonoid akan membentuk noda yang terpisah berdasarkan harga R_f nya. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Plat hasil elusi dikeringkan, noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

Masing-masing noda yang telah dikerok lalu dilarutkan dalam etanol 80 %, dan disentrifuge untuk mengendapkan silikanya (perlakuan ini dilakukan sampai silikanya berwarna putih). Masing-masing supernatant yang diperoleh dipekatkan dengan gas N_2 /desikator vacuum sehingga diperoleh isolat dari masing-masing noda berdasarkan harga R_f nya.

3.5.8 Identifikasi Senyawa dengan UV-Vis dan Pereaksi Geser

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, masing-masing isolat sebanyak 2 mL dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200-800 nm. Identifikasi dilanjutkan dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, $AlCl_3$ 5 %, $AlCl_3$ 5 %/HCl, NaOAc, NaOAc/ H_3BO_3 , kemudian diamati pergeseran puncak serapannya, tahapan kerja penggunaan pereaksi geser adalah sebagai berikut (Hayati dkk., 2010):

1. Isolat yang dapat diamati pada panjang gelombang 200 - 400 nm, direkam dan dicatat spektrum yang dihasilkan.
2. Isolat dari tahap 1 ditambah dengan NaOH 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian dikocok hingga homogen dan diamati spektrum yang dihasilkan. Sampel didiamkan selama 5 menit dan diamati spektrum yang dihasilkan.
3. Isolat dari tahap 1 kemudian ditambah 6 tetes pereaksi $AlCl_3$ 5 % dalam metanol kemudian dicampur hingga homogen dan diamati spektrumnya.

Sampel ditambah 3 tetes HCl kemudian dicampur hingga homogen dan diamati spektrumnya.

4. Isolat dari tahap 1 ditambah serbuk natrium asetat 250 mg. Campuran dikocok hingga homogen menggunakan vorteks dan diamati lagi spektrumnya, selanjutnya larutan tersebut ditambah asam borat \pm 150 mg. Dikocok hingga homogen dan diamati spektrumnya.

3.5.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dengan memperhatikan pola pemisahan dari kromatogram dari berbagai eluen yang digunakan. Eluen yang dipilih dari KLT analitik yakni yang menghasilkan jumlah dan pola pemisahan noda yang terbaik, kemudian eluen tersebut digunakan untuk memisahkan senyawa tanin pada KLT preparatif. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan memperhatikan bentuk umum spektrum UV-Vis sampel dalam aseton : air, perubahan spektrum yang disebabkan oleh berbagai pereaksi penggeser sehingga dapat ditentukan jenis senyawa flavonoid yang terdapat dalam rimpang kencur.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kencur yang berasal dari Balai Materia Medika Kab. Batu Jawa Timur. Tahapan preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pencucian sampel dilakukan untuk menghilangkan kotoran seperti tanah maupun sampah-sampah organik yang menempel pada rimpang kencur. pengeringan dilakukan dengan dianginkan pada suhu ruang bertujuan menghilangkan kadar air dalam sampel agar terhindar dari perkembangbiakan mikroba, selain itu dianginkan pada suhu ruang agar senyawa aktif pada sampel tidak rusak. Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kecil dan halus. Penyerbukan sampel dimaksudkan untuk menyeragamkan ukuran sampel yakni 60 mesh, sehingga mempermudah saat proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya dan interaksi kontak pelarut dalam ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin efektif (Voight, 1995). Ukuran 60 mesh merupakan ukuran yang sesuai untuk jenis sampel rimpang atau akar dalam proses ekstraksi (Sembiring, 2005).

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air menggunakan metode gravimetri, yang berprinsip menghilangkan kadar air dalam sampel dengan pemanasan menggunakan oven. Suhu yang digunakan pada waktu pemanasan adalah 10–105 °C agar air yang terikat secara fisik dalam sampel dapat teruapkan, hingga diperoleh berat konstan. Penentuan kadar air pada serbuk rimpang kencur (*Kaemferia galanga* L.)

bertujuan untuk mengetahui kandungan air pada sampel yang digunakan. Penentuan kadar air ini penting dilakukan karena menentukan *acceptability*, kesegaran dan daya tahan suatu sampel, apabila kadar air kecil maka kestabilan optimum suatu bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dihindari (Winarno, 2002).

Hasil pengukuran kadar air pada serbuk rimpang kencur yakni 14,1%. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Semakin kecil nilai kadar air maka proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut akan lebih maksimal karena tidak terhalang oleh air yang ada pada bahan alam (sampel).

4.3 Ekstraksi Maserasi

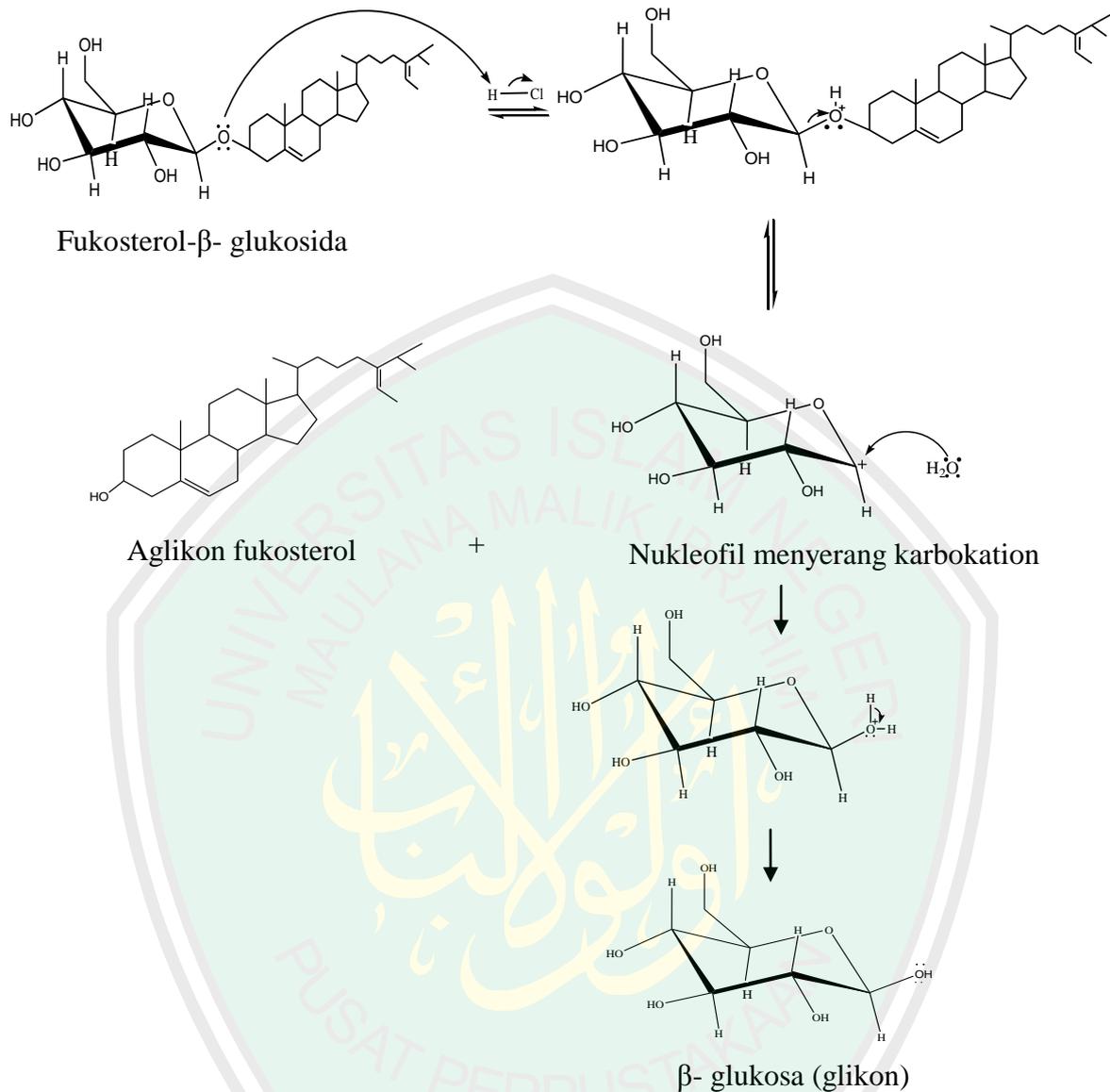
Proses ekstraksi serbuk rimpang kencur menggunakan metode maserasi. Prinsipnya adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya *like dissolves like* (Khopkar, 2008). Metode ini didasarkan pada perendaman sampel didalam pelarut sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut dalam pelarut yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang berdekatan terdesak keluar. Peristiwa tersebut akan berlangsung terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan yang di luar dengan yang ada di dalam sel (Voight, 1995).

Maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 80 % karena memiliki nilai kepolaran yang lebih tinggi daripada etanol p.a., titik didih yang rendah sehingga mudah diuapkan, dan sifat ketoksikan yang rendah daripada

pelarut alkohol lainnya (Guenther, 2006). Selanjutnya, dilakukan pengadukan menggunakan *shaker* pada laju 120 rpm selama 3 jam. Hal tersebut untuk mempercepat dan memaksimalkan hasil ekstraksi. Ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan corong *Buchner* dan diperoleh filtrat berwarna hijau bening.

Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dialiri gas N_2 untuk menghilangkan sisa pelarutnya. Prinsip dari *rotary vacuum evaporator* yaitu proses pemisahan ekstrak dari pelarut dengan pemanasan yang diatur dengan mempercepat putaran dari labu alas bulat. Pelarut dapat menguap pada suhu $5 - 10\text{ }^\circ\text{C}$ dibawah titik didihnya karena adanya penurunan tekanan (Sudjaji, 1988). Ekstrak pekat yang dihasilkan sebanyak 5 gram dengan warna hijau pekat.

Ekstrak pekat etanol 80 % dihidrolisis menggunakan HCl 2N. Penambahan HCl bertujuan untuk mempercepat pemutusan ikatan glikosida antara senyawa glikon (gula) dan aglikon (bukan gula). Kemudian, hasil hidrolisis di partisi dengan kloroform dan air. Pemilihan pelarut ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai (Voight, 1994). Prinsip partisi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Khopkar, 2003). Proses partisi dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Komponen glikon akan terdistribusi pada fase air sedangkan senyawa metabolit sekunder (aglikon) akan terdistribusi pada fase organik. Dugaan mekanisme pada reaksi hidrolisis glikosida dengan penambahan HCl 2 N ditunjukkan pada Gambar 4.1. berikut :



Gambar 4.1 Dugaan mekanisme reaksi hidrolisis glikosida (Lailah, 2014)

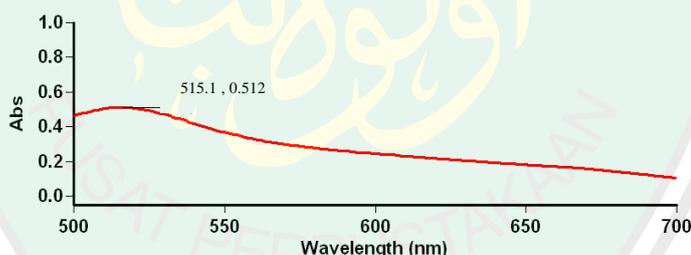
Selanjutnya, fraksi hasil partisi dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N_2 . Ekstrak pekat fraksi kloroform yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidan, uji senyawa aktif dengan reagen, KLTA, KLTP dan pereaksi geser.

4.4 Uji Antioksidan dengan DPPH

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Pada daerah sekitar panjang gelombang maksimum, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer terpenuhi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Prakash, 2007). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh λ_{maks} sebesar 515,1 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Grafik panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM

4.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Penentuan waktu kestabilan berfungsi untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh sampel untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna. Waktu kestabilan ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang konstan pada rentang waktu 5 - 120 menit. Setiap sampel memiliki laju reaksi yang berbeda, oleh karenanya perlu dilakukan penentuan waktu kestabilan yang diindikasikan reaktan telah

mencapai reaksi yang sempurna (Lu dkk., 2000 dalam Molyneux, 2003). Pengukuran waktu kestabilan dilakukan dengan cara menggunakan inkubasi dengan suhu 37 °C. Hasil penentuan waktu kestabilan dari masing-masing fraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Waktu kestabilan masing-masing sampel

Sampel	Waktu kestabilan (menit) inkubasi 37°C
Ekstrak Etanol 80%	60 – 70
Fraksi Kloroform	75 – 85
Vitamin C	50 – 60

Pengukuran waktu kestabilan maksimum diinkubasi dalam suhu 37 °C, Suroso (2007) membandingkan pengukuran waktu kestabilan DPPH dari sampel yang diinkubasi dengan suhu ruang dan pada suhu 37 °C didapatkan hasil bahwa pada suhu 37 °C reaksi DPPH dengan sampel lebih stabil yang ditandai dengan nilai absorbansi yang tidak jauh berbeda pada menit ke 30-55. Oleh karenanya, sebelum dilakukan pengukuran nilai aktivitas antioksidan, sampel diinkubasi pada suhu 37 °C agar hasil yang diperoleh maksimal.

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), pada saat awal terjadi reaksi absorbansi senyawa yang berwarna meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh waktu yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak atau terurai sehingga intensitas warnanya turun akibatnya absorbansinya juga turun. Oleh karena itu, sangat penting dilakukan pengukuran senyawa berwarna (hasil suatu reaksi kimia) pada waktu kestabilannya.

Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Radikal DPPH adalah suatu

senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi, perubahan ini dapat diukur dan dicatat dengan spektrofotometer (Asih dkk., 2010).

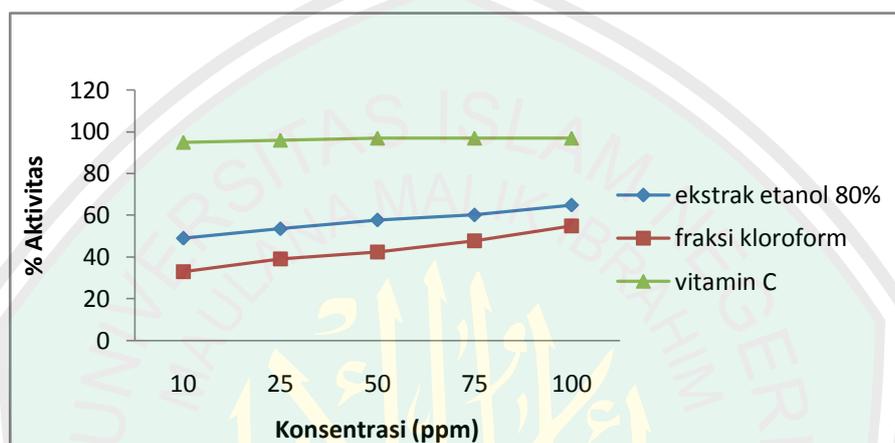
Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning juga disebabkan karena atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi $n-\sigma^*$. Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan keadaan tereksitasi. Hal ini menyebabkan warna DPPH yang awalnya berwarna ungu menjadi DPPH-H yang berwarna kuning. Warna kuning memiliki panjang gelombang 450 - 480 nm yaitu merupakan perbatasan antara panjang gelombang sinar ultraviolet dan sinar tampak (Gandjar dan Rohman, 2007).

4.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

Pengujian potensi antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang 515 nm selama waktu kestabilan. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya adalah ekstrak etanol 80 %, fraksi kloroform dan vitamin C digunakan sebagai pembanding aktivitas antioksidan sampel.

Pada pengukuran potensi aktivitas antioksidan digunakan kontrol larutan DPPH 0,2 mM. Hal ini sangat diperlukan karena larutan kontrol berguna sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel (Arindah, 2010). Selain itu, larutan kontrol berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH

sebelum direduksi oleh sampel. Selisih absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan absorbansi kontrol merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar selisihnya semakin besar aktivitas antioksidan sampel. Perhitungan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 4.3:



Gambar 4.3 Grafik aktivitas antioksidan beberapa sampel

Persen (%) aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Semakin tinggi persen (%) aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan oleh senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi DPPH-H (Rahayu dkk, 2010).

Ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) mengalami perubahan warna setelah diinkubasi. Hasil pengukuran sampel ketika ditambahkan larutan DPPH mengalami perubahan warna dari ungu tua menjadi ungu pudar sampai kuning. Perubahan warna ini menandakan bahwa masing-masing ekstrak memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari

senyawa antioksidan. Pengurangan intensitas warna ungu tua (DPPH) mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

Pengujian antioksidan rimpang kencur (*Kaemferia galanga* L.) dilakukan pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform dengan pembanding vitamin C. Tujuannya adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak. Apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (Yuliani, 2010). Data persen (%) aktivitas antioksidan dari sampel dan pembanding ditunjukkan pada Tabel 4.2 berikut:

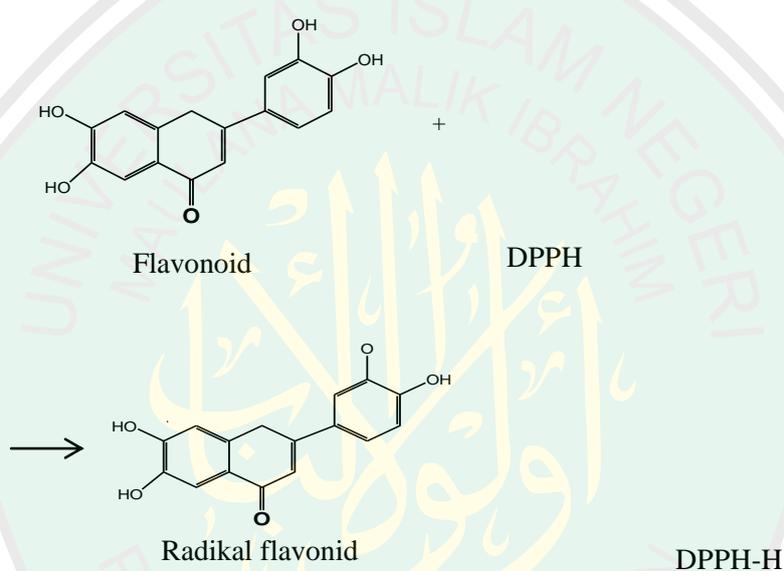
Tabel 4.2 Persen (%) Aktivitas antioksidan

Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan		
	Ekstrak Etanol 80 %	Fraksi Kloroform	Vitamin C
10	49	33	95
25	53,53	39,2	96
50	57,78	42,5	97
75	60,19	47,8	97
100	64,93	54,9	97

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Gambar 4.3 diketahui bahwa persen (%) aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel adalah ekstrak etanol 80 % sebesar 64,93 % (100 ppm), kemudian fraksi kloroform 54,9 % (100 ppm). Ekstrak etanol 80 % memiliki kemampuan sebagai antioksidan paling besar bila dibandingkan dengan ekstrak fraksi kloroform, dimungkinkan karena beberapa kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak tersebut.

Adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform menyebabkan ekstrak tersebut mempunyai % aktivitas antoksidan yang

cukup baik. Hal tersebut dikarenakan senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksi (OH). Atom hidrogen dari hidroksi tersebut dapat didonorkan pada senyawa radikal sehingga senyawa tersebut dapat terstabilkan. Fitriyani (2009) menyebutkan bahwa flavonoid merupakan golongan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan DPPH ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan DPPH

Ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform mengalami kenaikan aktivitas antioksidan seiring dengan naiknya konsentrasi. Ekstrak etanol 80 % memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih besar daripada fraksi kloroform. Karena ekstrak etanol 80 % selain mengandung senyawa flavonoid juga terdapat senyawa tanin dan alkaloid sehingga aktivitasnya lebih tinggi bila dibandingkan fraksi kloroform. Senyawa tanin dan alkaloid memiliki gugus OH yang atom hidrogennya dapat didonorkan ke radikal bebas sehingga menjadi senyawa yang non radikal (DPPH-H). Namun keduanya sama-sama memiliki aktivitas antioksidan yang

bagus. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} dari ekstrak kasar dan fraksi kloroform yang rendah.

IC_{50} merupakan konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50 % aktivitas DPPH (Molyneux, 2003). Berikut ini merupakan nilai IC_{50} dari masing – masing sampel :

Tabel 4.3 Nilai IC_{50} masing-masing ekstrak

Ekstrak	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol 80 %	13,07
Fraksi kloroform	81,09
Vitamin C	0,04

Semakin kecil nilai IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan sehingga konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH sebesar 50 % semakin kecil (Widyaningsih, 2010). Nilai IC_{50} vitamin C sebesar 0,04 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak kasar 13,07 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi kloroform 81,09 $\mu\text{g/mL}$, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform untuk meredam radikal bebas sangat kuat. Menurut (Ariyanto,2006 dalam Sufiana,2014) kekuatan aktivitas antioksidan dilihat dari IC_{50} yaitu >50 menunjukkan aktivitas yang sangat kuat dan 50 - 100 menunjukkan aktivitas yang kuat. Ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform cukup berpotensi bila digunakan sebagai sumber antioksidan alami.

4.5 Uji Reagen Fitokimia pada Hasil Maserasi

Uji fitokimia reagen merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Prinsip dasarnya adanya reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna (Kristanti, 2008). Uji fitokimia reagen dilakukan

pada ekstrak etanol 80 % rimpang kencur (*Kaemferia galanga* L.) dan ekstrak pekat hasil partisi yaitu fraksi kloroform. Berikut ini hasil pengujian fitokimia reagen dapat dilihat pada Tabel 4.4:

Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokimia Reagen Rimpang Kencur

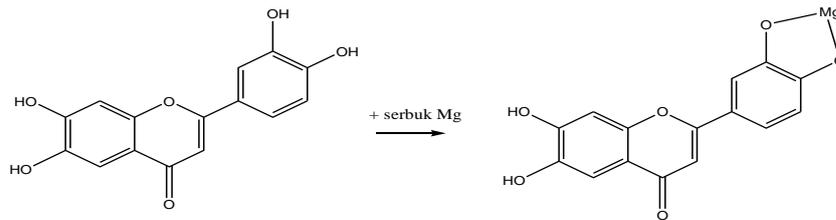
Golongan senyawa aktif	Ekstrak		Keterangan Hasil Positif
	Etanol 80 %	Fraksi kloroform	
Flavonoid	+	+	Berwarna jingga
Alkaloid			
- Mayer	+	-	Endapan jingga
- Dragendroff	+	-	Endapan kuning
Tanin	+	-	Berwarna hijau kehitaman
Saponin	-	-	Tidak ada busa atau gelembung
Triterpenoid	-	-	Tidak terbentuk cincin coklat

Keterangan: + = Positif mengandung senyawa
- = Tidak terkandung senyawa

4.5.1 Uji Flavonoid

Uji golongan senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform. Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform rimpang kencur, dilarutkan dengan etanol kemudian ditambahkan metanol 50 % panas, serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan metanol 50 % panas untuk melarutkan ekstrak dan penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Flavonoid yang tereduksi dengan Mg dan HCl dapat memberikan warna merah, kuning atau jingga (Baud, 2014).

Hasil pengujian fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna jingga. Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg ditunjukkan pada Gambar 4.5.

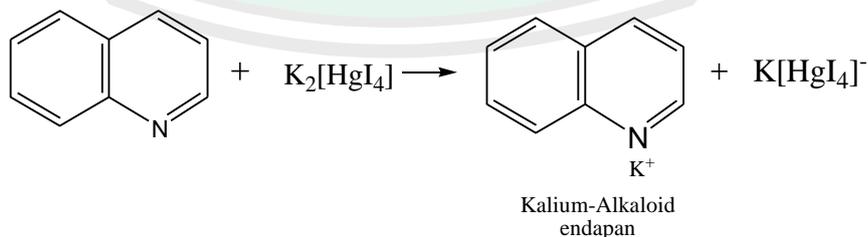


Gambar 4.5 Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg (Marliana, 2005)

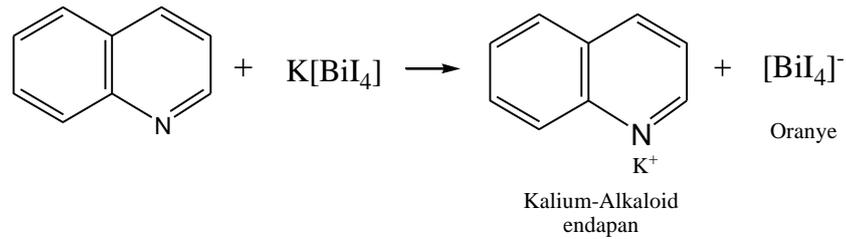
4.6.2 Uji Alkaloid

Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen Dragendorf dan Mayer. Hasil uji ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform terjadi perubahan warna ekstrak dari kuning kehijauan menjadi oranye dengan endapan jingga setelah diberi pereaksi Dragendorf, sedangkan pada uji Mayer didapatkan endapan kekuningan-kuningan. Hasil analisis menggunakan kedua reagen tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak etanol 80 % positif dan fraksi kloroform negatif mengandung alkaloid.

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan menggunakan reagen mayer dan reagen dragendorf ditunjukkan pada Gambar 4.6 dan 4.7.



Gambar 4.6 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Mayer (Marliana dkk, 2005)

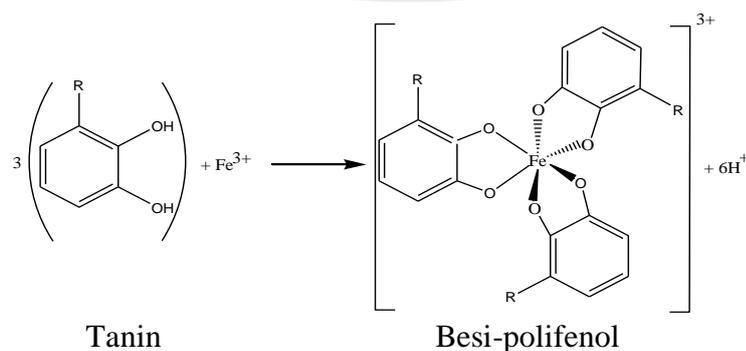


Gambar 4.7 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff (Marliana dkk, 2005)

4.5.3 Uji Tanin

Uji fitokimia senyawa golongan tanin dilakukan dengan cara menambah ekstrak dengan reagen $FeCl_3$ 1 %. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kehitaman atau biru tinta. Penambahan $FeCl_3$ 1 % digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol dalam sampel. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harborne, 1987).

Hasil uji senyawa tanin ekstrak etanol 80 % menggunakan $FeCl_3$ 1 % memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$ disebabkan karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Effendy, 2007). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji tanin dapat dilihat pada Gambar 4.8:



Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara tanin dengan $FeCl_3$

4.5.4 Uji Saponin

Saponin merupakan zat yang memiliki senyawa aktif permukaan dan bersifat sabun. Hasil pengujian fitokimia senyawa saponin menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan fraksi kloroform negatif karena tidak ada busa stabil yang terbentuk. Sedangkan menurut Harbone (1978), uji reagen yang positif akan menimbulkan busa yang mantap ketika dikocok dengan air, busa merupakan bukti adanya senyawa saponin dalam sampel.

4.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Uji reagen Lieberman-Burchard merupakan uji reagen yang spesifik pada senyawa triterpenoid. Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Ketika senyawa ini ditetesi oleh H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi maka anhidrida asetat akan bereaksi dengan asam sehingga atom C pada anhidrida membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus $-OH$ yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat. Namun, pada uji ini negatif karena tidak terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut yang menunjukkan senyawa triterpenoid (Afif, 2013).

4.6 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik (Gandjar dan Rohman, 2007)

Hasil uji fitokimia pada fraksi kloroform menunjukkan bahwa rimpang kencur *Kaemferia galanga* L. mengandung senyawa flavonoid. Pembuktian kandungan flavonoid diperkuat dengan adanya identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen

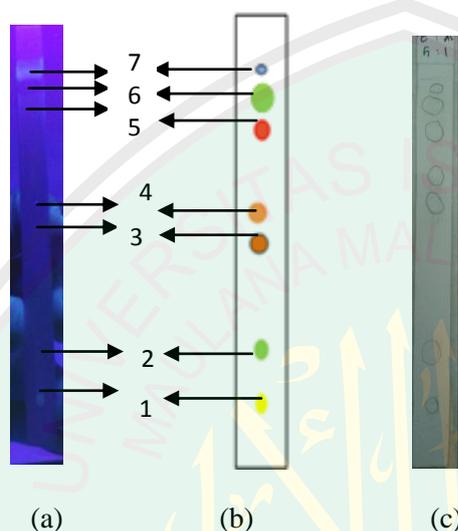
terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa flavonoid. Eluen yang baik adalah eluen yang menghasilkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Penggunaan beberapa eluen diharapkan mampu memisahkan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak rimpang kencur *Kaemferia galanga* L. dengan baik.

KLT yang digunakan terbuat dari silika dengan ukuran 1×10 cm G₆₀ F₂₅₄ (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan asam-asam amino, fenol, flavonoid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika G₆₀ F₂₅₄ diaktifasi pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007). Sampel ditotolkan pada jarak 1 cm dari batas bawah plat. Pemisahan KLT akan optimal jika ukuran bercak penotolan dibuat sekecil mungkin. Penotolan sampel yang tidak tepat akan menyebabkan noda yang menyebar dan puncak ganda (Gandjar, 2007).

Pengamatan noda dilakukan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm untuk menampakkan warna hasil pemisahan pada KLT. Jika tampak noda ditandai menggunakan pensil dan untuk mengetahui spot yang diperoleh positif flavonoid dapat digunakan FeCl₃ dan uap NH₃. Data penampakan noda dari hasil fasa organik yang dihasilkan KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen dapat dilihat pada lampiran 9.

Hasil jumlah noda KLT analitik dari 4 variasi eluen digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid pada fraksi kloroform dengan KLT analitik menunjukkan bahwa variasi eluen terbaik adalah PE:etil asetat (5:1) yang

ditunjukkan dengan hasil spot sebanyak 7. Spot yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara satu spot dengan spot lainnya jelas. Kepolaran eluen pada proses KLT sangat berpengaruh terhadap hasil noda yang terbentuk. Hasil KLT analitik dari fraksi kloroform ditunjukkan pada Gambar 4.9:



Gambar 4.9 Hasil KLT analitik eluen terbaik PE: etil asetat (5:1)

- (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV 366 nm
 (b) Ilustrasi gambar, (c) Tanpa disinari UV

Eluen PE: etil asetat (5:1) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Eluen PE bersifat kurang polar sedangkan etil asetat bersifat polar. Karena perbandingan PE lebih besar dibandingkan etil asetat maka campuran eluen ini cenderung bersifat kurang polar. Adapun dugaan senyawa flavonoid pada eluen PE: etil asetat (5:1) terdapat pada spot 6 dan 7, hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut:

Tabel 4.6 Data penampakan noda dari KLT analitik senyawa flavonoid dengan eluen PE: etil asetat (5:1) pada panjang gelombang 366 nm

Spot	Nilai Rf	Warna	Dugaan senyawa
1	0,06	Kuning	-
2	0,19	Hijau	-
3	0,6	Lembayung gelap	-
4	0,7	Oranye	-
5	0,85	Merah	-
6	0,91	Hijau	Flavonoid
7	0,96	Biru florosense	Flavonoid

Mekanisme pemisahan KLT analitik pada Tabel 4.6 dimulai saat eluen mengenai spot sampel, dengan segera sampel akan berinteraksi dengan kedua fase dengan prinsip *solvent dissolve like*. Kemudian akan terjadi distribusi diantara kedua fase, senyawa yang polar akan lebih banyak terdistribusi di dalam fase yang polar, sedangkan senyawa yang non polar akan lebih banyak terdistribusi di dalam fase yang non polar. Terjadinya pemisahan disebabkan adanya salah satu komponen sampel yang tertahan oleh fase diam dan yang lain dibawa oleh fase gerak. Sehingga, terjadi perbedaan kecepatan migrasi (partisi) dari masing-masing komponen yang ditandai dengan adanya noda atau bercak dengan nilai Rf yang berbeda.

Nilai Rf yang lebih besar menunjukkan senyawa cenderung lebih terdistribusi pada fase geraknya (PE:etil asetat) yang bersifat kurang polar. Sedangkan fase diamnya bersifat polar (silika), sehingga proses migrasi isolat berlangsung lebih cepat. Distribusi zat terlarut dalam kedua fase disebut koefisien distribusi (K) sebagaimana persamaan:

$$K = \frac{C_s}{C_m} \dots \dots \dots \text{persamaan 4.1}$$

Konsentrasi analit dalam fase diam disebut C_s , sedangkan konsentrasi analit dalam fase gerak disebut C_m . Noda dengan Rf yang tinggi seperti noda 7

memiliki harga K yang rendah, karena K berbanding lurus dengan Cs. Jumlah molekulnya berada pada fase gerak, sehingga waktu yang dibutuhkan pada proses distribusi relatif cepat.

Berdasarkan nilai koefisien distribusi di atas menunjukkan bahwa ekstrak flavonoid yang kami uji sudah tidak memiliki ikatan glikosida, sehingga cenderung terelusi oleh pelarut yang kurang polar. Menurut Saifuddin (2006), apabila pada suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosida maka cenderung bersifat polar.

4.7 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif

Hasil pemisahan senyawa flavonoid menggunakan KLT analitik yang telah diketahui eluen terbaiknya, selanjutnya eluen terbaik tersebut digunakan pada KLT preparatif untuk memisahkan campuran senyawa dari fraksi kloroform dalam jumlah yang lebih besar. Hasil pemisahan dengan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan pada plat dan ukuran plat KLT yang digunakan.

Plat yang digunakan pada plat KLT preparatif adalah plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄ dengan ukuran yang lebih besar yaitu 10 cm × 20 cm. Eluen yang digunakan pada KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan pada KLT analitik yaitu PE: etil asetat dengan perbandingan (5:1). Noda yang dihasilkan pada plat KLT preparatif menghasilkan 8 noda dibawah sinar lampu UV 366 nm. Gambar hasil pemisahan KLT preparatif dapat dilihat pada Lampiran 7. Warna dan dugaan senyawa golongan flavonoid yang mungkin dari masing-masing noda di bawah sinar UV 366 nm disajikan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Data penampak noda dari KLTP senyawa flavonoid fraksi kloroform rimpang kencur *Kaemferia galanga* L. pada panjang gelombang 366 nm

Isolat	Warna Noda	Rf
1	Kuning	0,19
2	Hijau	0,24
3	Merah muda	0,39
4	Kuning	0,53
5	Merah muda	0,58
6	Oranye	0,69
7	Hijau	0,72
8	Biru	0,83

Jumlah noda yang dihasilkan dari KLT preparatif berbeda dengan KLT analitik. Pada KLT preparatif dihasilkan 8 noda, sedangkan pada KLT analitik dihasilkan 7 noda. Ditinjau dari hasil pemisahan KLT analitik dan KLT preparatif, keduanya memiliki perbedaan jumlah noda dan nilai Rf. Adanya perbedaan nilai Rf dimungkinkan karena perlakuan pada KLT analitik dan KLT preparatif tidak dilakukan dihari yang sama, sehingga menyebabkan isolat yang digunakan tidak homogen.

Diantara 8 noda yang diperoleh, terdapat 3 noda yang dikerok untuk uji selanjutnya yaitu noda 6, 7 dan 8. Karena diduga menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan noda yang berwarna biru, hijau dan oranye. Menurut Markham (1988), senyawa flavonoid menunjukkan warna hijau atau kuning. Noda-noda yang positif tersebut selanjutnya akan diuji menggunakan UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser. Penambahan pereaksi geser bertujuan untuk lebih memastikan bahwa pada noda 6, 7 dan 8 menghasilkan λ maks di daerah 250 - 280 pita II dan 310 - 385 pada pita I (Markham, 1988).

4.8 Identifikasi Senyawa dengan UV-Vis dan Pereaksi Geser

Spektrofotomeer UV-Vis digunakan untuk menentukan secara deskriptif senyawa flavonoid yang didapat dari pemisahan menggunakan KLT preparatif. Metode ini berguna untuk menganalisis struktur flavonoid dan mengidentifikasi jenis flavonoid dan pola oksigenasinya. Spektrum khas jenis flavonoid utama dengan pola oksigenasi yang setara (5,7,4') dapat dilihat pada lampiran 11. Ciri khas spektrum tersebut mempunyai kekuatan yang rendah pada pita I dalam dihidroflavon, dihidroflavonol dan isoflavon serta kedudukan pita I pada spektrum khalkon, auron dan antosianin yang terdapat pada panjang gelombang yang tinggi. Ciri ini tidak berubah walaupun pola oksigenasinya berubah.

Serapan khas senyawa flavonoid pada UV-Vis mempunyai dua pita. Panjang gelombang pada pita I antara 300 - 550 nm, maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, seperti ikatan C=C terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 1991). Sedangkan pada pita II mempunyai panjang gelombang antara 210 - 285 nm, maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, seperti C=C terkonjugasi serta ikatan $n \rightarrow \pi^*$, berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O (Sastrohamidjojo, 1991). Disamping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi yaitu pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengganti pergeseran puncak serapan yang terjadi. Pereaksi geser berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol.

Penentuan spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl₃ 5 %, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc dan NaOAc/H₃BO₃ disajikan pada Tabel 4.8.

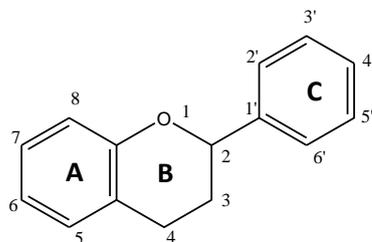
Tabel 4.8 Panjang gelombang maksimum dari noda KLT preparatif menggunakan eluen PE:kloroform (5:1) dan penambahan pereaksi geser.

Isolat	Panjang gelombang maksimum (nm) dengan penambahan pereaksi geser						
	EtOH	EtOH + NaOH	EtOH + NaOH 5 menit	EtOH + AlCl ₃	EtOH + AlCl ₃ /HCl	EtOH + NaOAc	EtOH + NaOAc/H ₃ BO ₃
6	291,1	285,0	289,0	292,9	292,0	291,1	284,9
7	308,0	307,0	308,0	308,0	309,1	307,0	302,0
	217,7	216,0	219,0	-	-	217,0	220,0
8	280,0	280,1	281,8	281,8	282,6	280,0	282,9

Dari data spektrum di atas didapatkan senyawa flavonoid yang mungkin dari hasil KLT preparatif dibawah sinar UV 366 nm adalah isolat 7. Hal ini dikarenakan isolat 7 tersebut memiliki 2 panjang gelombang maksimum pada daerah 210 - 285 nm (pita II) dan 300 - 550 nm (pita I). Isolat yang lain diduga bukan merupakan senyawa flavonoid karena setelah ditambahkan pereaksi geser panjang gelombang maksimum pada pita I dan pita II tidak sesuai dengan data literatur. Sehingga diperkirakan isolat-isolat tersebut dimungkinkan merupakan senyawa polifenol yang lain.

Menurut Markham (1988), perbedaan nilai panjang gelombang maksimum antara data percobaan dengan data literatur disebabkan masih adanya metilasi atau glikolisasi (terutama 3, 5, 7 dan 4'-hidroksil) yang mengakibatkan pergeseran panjang gelombang yang lebih rendah. Bentuk spektra dari spektrofotometer UV-Vis dengan beberapa pereaksi geser dapat dilihat pada Lampiran 10.

Penentuan struktur flavonoid harus diinterpretasikan untuk mengetahui jenis senyawa yang terdapat dalam sampel. Pada struktur flavonoid perubahan penyulihan pada cincin A cenderung tercerminkan pada serapan pita II, sedangkan perubahan penyulihan pada cincin B dan C cenderung lebih jelas tercermin pada serapan pita I.



Gambar 4.10 Struktur dasar flavonoid

Interpretasi dari isolat 7 dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada tabel 4.9 dibawah ini.

Tabel 4.9 Interpretasi perubahan panjang gelombang dari Isolat 7 dengan penambahan pereaksi geser

Isolat	Panjang gelombang λ maks (nm)		Pergeseran Panjang gelombang λ maks (nm)		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Etanol	308,0	217,5			
Etanol + NaOH	307,0	216,0	-1	+1,5	Ada gugus -OH pada cincin A
Etanol + NaOH 5 menit	308,0	219,0	-	-1,5	Ada gugus o-diOH pada cincin A
Etanol + AlCl ₃	308,0	-	-		Mungkin 5-OH dengan gugus prenil pada 6
Etanol + AlCl ₃ + HCl	309,1	-	+1,1		Mungkin o-diOH pada cincin B
Etanol + NaAc	307,0	217,0	-1	+0,5	7-OH atau ada gugus yang peka terhadap basa misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH
Etanol + NaAc + H ₃ BO ₃	302,0	220,0	-6	-2,5	ada gugus o-diOH pada cincin A dan B (6,7 atau 7,8)
Keterangan :	(+) pergeseran panjang gelombang yang lebih panjang (-) pergeseran panjang gelombang yang lebih pendek				

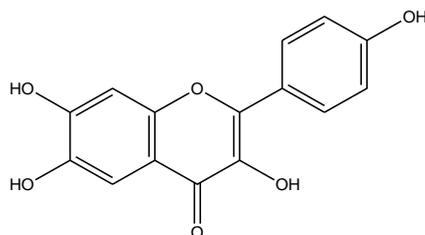
Pada Tabel 4.9 menunjukkan bahwa pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 1,5 pada pita II, yang menunjukkan adanya gugus hidroksi pada cincin A yaitu pada atom C-7. Dugaan ini diperkuat dengan pergeseran batokromik pada pita II, setelah penambahan pereaksi geser NaOAc pada isolat.

Penambahan pereaksi geser NaOH setelah 5 menit menunjukkan adanya pergeseran hipsokromik pada pita II, hal ini menunjukkan bahwa ada gugus orto dihidroksi pada cincin A. Hal ini diperkuat dengan adanya pergeseran hipsokromik pada pita II setelah penambahan pereaksi geser H_3BO_3 , yang menunjukkan adanya gugus orto dihidroksi pada atom C-6,C-7 atau C-7,C-8.

Penambahan $AlCl_3$ tidak menyebabkan pergeseran panjang gelombang, hal ini menunjukkan bahwa 5-OH dengan gugus prenil pada cincin 6. Sedangkan, penambahan $AlCl_3/HCl$ menghasilkan pergeseran batokromik pada pita I sebesar 1,1 nm yang memungkinkan adanya gugus o-diOH pada cincin B dari auron dan khalkon.

Pergeseran batokromik yang terjadi pada penambahan pereaksi geser NaAc menunjukkan adanya gugus 7-OH atau ada gugus yang peka terhadap basa seperti pada C-6,C-7 atau C-7,C-8 atau C-3,C-4'-dihidroksi. Pergeseran hipsokromik yang terjadi pada pita I dan pita II, setelah penambahan pereaksi geser NaAc dan H_3BO_3 menunjukkan adanya gugus orto dihidroksi pada cincin A dan B pada atom C-6,C-7 atau C-7,C-8.

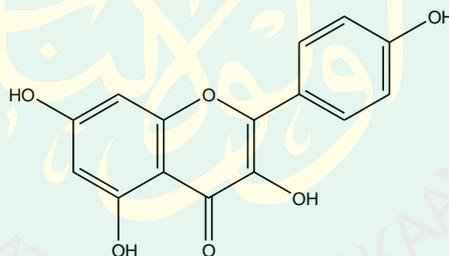
Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum isolat 7 dari spektrofotometer UV-Vis maka senyawa flavonoid yang mungkin dari isolat 7 termasuk golongan flavanon atau dihidroflavonol, karena spektrum yang terbentuk merupakan ciri khas dari flavanon atau dihidroflavonol dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-3,C-6, C-7, dan C-4'.



3.6.7. 4' Tetrahidroksi dihidroflavonol

Gambar 4.11 Struktur dugaan senyawa flavonoid pada isolat 7

Penafsiran senyawa pada isolat 7 ini didukung oleh penelitian Umar (2011), menyatakan bahwa dalam rimpang kencur mengandung beberapa senyawa yang salah satunya adalah kaemferol. Struktur pada 4.11 dan 4.12 hanya memiliki perbedaan dari segi letak gugus hidrosilnya. Hal ini dimungkinkan karena pelarut yang digunakan berbeda pada proses ekstraksi maupun proses elusi dengan KLT. Struktur kaemferol dapat dilihat pada Gambar 4.12 berikut:



Gambar 4.12 Struktur kaemferol rimpang kencur (Umar, 2011)

4.10 Pemanfaatan Rimpang Kencur dalam Perspektif Agama Islam

Allah SWT menciptakan alam semesta beserta isinya tidak akan ada yang sia-sia dan segala ciptaan-Nya semata-mata untuk makhluk-Nya. Semua ciptaan Allah mengandung banyak manfaat dan pelajaran yang harus kita teliti. Al Qur'an telah mengabarkan pada umat manusia tentang fakta-fakta ilmiah yang kemudian ditemukan dan dibuktikan oleh eksperimen dengan perantara manusia. Al Qur'an merupakan landasan dalam memahami kekuasaan Allah SWT di alam semesta ini,

sebagaimana rimpang kencur yang merupakan bagian dari kekuasaan-Nya. Penelitian tentang rimpang kencur ini mengkaji tentang jenis senyawa kimia yang terkandung didalamnya yang mempunyai potensi sebagai antioksidan.

Salah satu ciptaan Allah yang memiliki banyak manfaat adalah tumbuh-tumbuhan yang hijau seperti temu-temuan yang banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Banyak ayat al Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan yang ada di sekeliling kita agar mendapat manfaat yang lebih banyak, Allah berfirman dalam surat asy syu'araa ayat 80:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبُهِرْتُ بِشِفَائِهِ (8.)

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku”(QS. asy Syu'ara: 80).

Firman Allah SWT dalam surat asy Syu'ara ayat 80 diatas menunjukkan bahwa sesungguhnya kesehatan merupakan suatu kenikmatan besar yang Allah berikan kepada setiap umat manusia, akan tetapi terkadang nikmat yang begitu besar tersebut kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan oleh Allah SWT. Segala penyakit yang diturunkan oleh Allah tentunya sudah disediakan oleh-Nya. Melalui ayat ini Allah SWT menganjurkan umat-Nya untuk senantiasa berserah diri apabila menderita suatu penyakit dengan tetap berusaha dan ikhtiar kepada-Nya. Salah satu usaha tersebut adalah mencari obat dari alam yang berasal dari tanaman dan meneliti kegunaannya. Tanaman merupakan salah satu makhluk Allah yang dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu mau berfikir.

Allah SWT juga berfirman dalam al Qur'an surat Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (1.)

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”(QS. Luqman:10)

Kata كَرِيمٍ yang terdapat dalam surat Luqman ayat 10 tersebut digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik, sesuai obyeknya. Rizqi yang *kariim* adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Pasangan tumbuhan yang *kariim* adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya (Shihab, 2002). Salah satu hasil yang diharapkan dari tanaman adalah pemanfaatannya yang dapat digunakan sebagai obat. Sebagaimana dalam penelitian ini yaitu menggunakan tanaman rimpang kencur sebagai subyek penelitian untuk mencari potensi pemanfaatannya sebagai obat.

Pengkajian lebih lanjut diperlukan adanya penggolongan suatu materi agar lebih mudah untuk mendalaminya, karena materi di alam ini begitu banyak dan beragam macamnya, baik jumlah maupun jenisnya. Dari penggolongan materi tersebut yang akan kami kaji adalah senyawa, yang mana merupakan kelompok materi zat tunggal. Senyawa merupakan suatu zat yang dibentuk oleh dua atau lebih unsur dengan perbandingan tetap yang menentukan susunannya. Sebagai contoh, air merupakan senyawa yang mengandung hidrogen dan oksigen dengan perbandingan dua terhadap satu. Senyawa dibentuk dan diuraikan oleh reaksi kimia. Adapun firman Allah SWT tersebut tersirat dalam QS. al Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

“*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”

(QS.al Qamar: 49).

Dalam proses pembentukannya, perbandingan massa unsur-unsur dalam senyawa selalu tetap sekalipun dibentuk dengan cara yang berbeda. Jadi untuk membentuk senyawa, perbandingan massa unsur-unsur penyusunnya tidak boleh sembarangan, sebab jika perbandingannya tidak sesuai maka ada kemungkinan bisa terbentuk senyawa lain atau terbentuk senyawa yang dimaksud, tetapi ada unsur penyusunannya yang tersisa.

Rimpang kencur merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dengan baik. Tumbuhan ini menjadi alternatif pengobatan alamiah yang disediakan Allah untuk hambaNya. Berdasarkan penelitian ini, ekstrak kasar dan fraksi kloroform rimpang kencur memiliki aktivitas antioksidan yang bagus karena memiliki nilai IC_{50} yang rendah yaitu IC_{50} 13,07 $\mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} 81,09 $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan fraksi kloroform rimpang kencur memiliki potensi sebagai antioksidan. Rimpang kencur telah terbukti dapat menangkal radikal bebas yang merugikan tubuh karena Aktivitas antioksidannya yang kuat.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 80 % dan fraksi kloroform dari rimpang kencur masing-masing sebesar 13,07 $\mu\text{g/mL}$ dan 81,9 $\mu\text{g/mL}$.
2. Eluen terbaik dari hasil KLT analitik adalah PE:etil asetat (5:1) dengan menghasilkan 7 spot. Hasil KLT preparatif menghasilkan 8 spot dan spot 7 diduga mengandung senyawa flavonoid.
3. Jenis senyawa flavonoid dari hasil pola spektra UV-Vis isolat 7 mendekati pola spektra senyawa flavonoid golongan flavon atau dihidroflavonol.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan metode kromatografi kolom untuk mendapatkan fraksi yang spesifik dan diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan NMR atau MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Penerbit Karunika.
- Afif, S. 2013. Ekstraksi Uji toksisitas dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*eucheuma Spinosum*) dari perairan Sumenep Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum muricatum* Aiton) yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Arishandy, D.N.A.T.A. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle* L.var *rebrum*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Armas EJ, 1995. *Learning Together A woman's Story*. In: Learning about Sexuality. A Practical Beginning. Editor: Sondra Zeidenstein and Kristen Moore. New York, The Population Council International Women's Health Coalition. P. 33–44.
- Asih, I.A.R.A. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia*, Vol.3, No.1: 33 - 40.
- Aswin, L. (2008). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Pada Tikus Wistar, *Jurnal, Penelitian Sains & Teknologi*, Vol 5. No 3.
- Backer, C.A. and Bakhuizen, V.B. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. Vol. II. Groningen: N.V.P. Noordhoff.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastic nois ex lume Terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Frmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bimakra, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Ganjloo, A., Salleh, L.M., Selamat, J., Hamid, A., Zaidul, I.S.M. 2010. Comparisson of Different Extraction Methods for the Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves. *Journal Food and Bioproducts Procesing*. Malaysia.

- Brand, W.W. 1995. *Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant activity*. London: Elsevier Applied Science. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.
- Cakrabauana, H. 2011. Uji Aktifitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*).*Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Cuppett, S.M., dan Schrepf, C. Hall III. 1954. *Natural Antioxidant Are They Reality*. Dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications, AOCS Press, Champaign, Illinois: 12-24.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Faten, M., Abou, E., and Emad, A.S .2009. Antioxidant Activity of Extract and Semi-Purified Fractions of *Marine Red Macroalga, Gracilaria Verrucosa*. Australian. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Kairo: Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo University. 3(4), 3179-318.
- Fauziah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun ketela Pohon (*manihot utilissiima pohl*). <http://miss-purplepharmacy.blogspot.com>. Diakses tanggal 25 September 2015.
- Febriany, S. 2004. *Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In Vitro*. Bogor: Fakultas MIPA IPB.
- Ferdiansyah, I.A. 2006. Ekstraksi Daun Mindi (*Melia Adedarach Linn*) Kering Secara Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 90%. Malang: FTP UNIBRAW.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S. dan Nuri. 2011. *Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum ruiz & Pav) pada Tikus Putih*. *Majalah Obat Tradisional*: 16 (1), 34-42.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsevier Applied Science.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. Jakarta : UI Press.

- Gunawan, I W. G., Gede B. dan Sutrisnayati. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthusniruri Linn*). *Jurnal Kimia*: 31-39 ISSN 1907-9850.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica Linn.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Hamilton, R.J. and Allen, J.C. 1994. *Rancidity in Foods*. London: Blackie Academic and Professional.
- Hanani, E., Abdul, M., dan Ryany, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia sp Dari Kepulauan Seribu*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II (3) :127-133. ISSN: 1693-9883.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Hasanah, A. N., Nazaruddin, F., Febrina, E., dan Zuhrotun, A. (2011). Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*) . *Jurnal Matematika & Sains*. 147-153.
- Hayati, E.K., dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Test Against *Artemia salina* Leach Anting-anting (*Achalypha indica Linn.*) Plant Ekstract. *ALCHEMY*. Vol. 2: 53-103.
- Hidajat, B. 2005. Penggunaan Antioksidan Pada Anak. *Artikel Kimia*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Inayah, F. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Methanol Tanaman Anting-Anting (*Achalypha indica linn*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Maliki Malang.
- Inayatullah. M. S.1997. Standarisasi Rimpang Kencur dengan Parameter Etil Para Metoksi sinamat. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Erlangga Surabaya.
- Kaur, N. dan Murphy, J.B. 2012. *Enhanced Isoflavone Biosynthesis in transgenic Cowpea (Vigna unguiculata L) Callus*. Urbana-Campaign, USA: University of Illinois Departement of Crop Sciences. *Academy Journal-Plant Mol Biol Biotechnol* 2012 3(1):1-8.
- Khopkar. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analisis*. Jakarta: Universitas Indonesia.

- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, W. I. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal*. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurnia, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Laila, N. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sidarhombifolia*L.) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: FMIPA Farmasi Universitas Indonesia.
- Lu, Y. and Foo, L.Y. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace, *Jurnal Food Chemistry*, 68: 81-85.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Mardawati, E. 2008. Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Laporan Akhir Penelitian*. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran.
- Mardiyah, U. 2012. Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksi dan Terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheumaspinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Markham, K.R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Terjemahan Kosasih Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB.

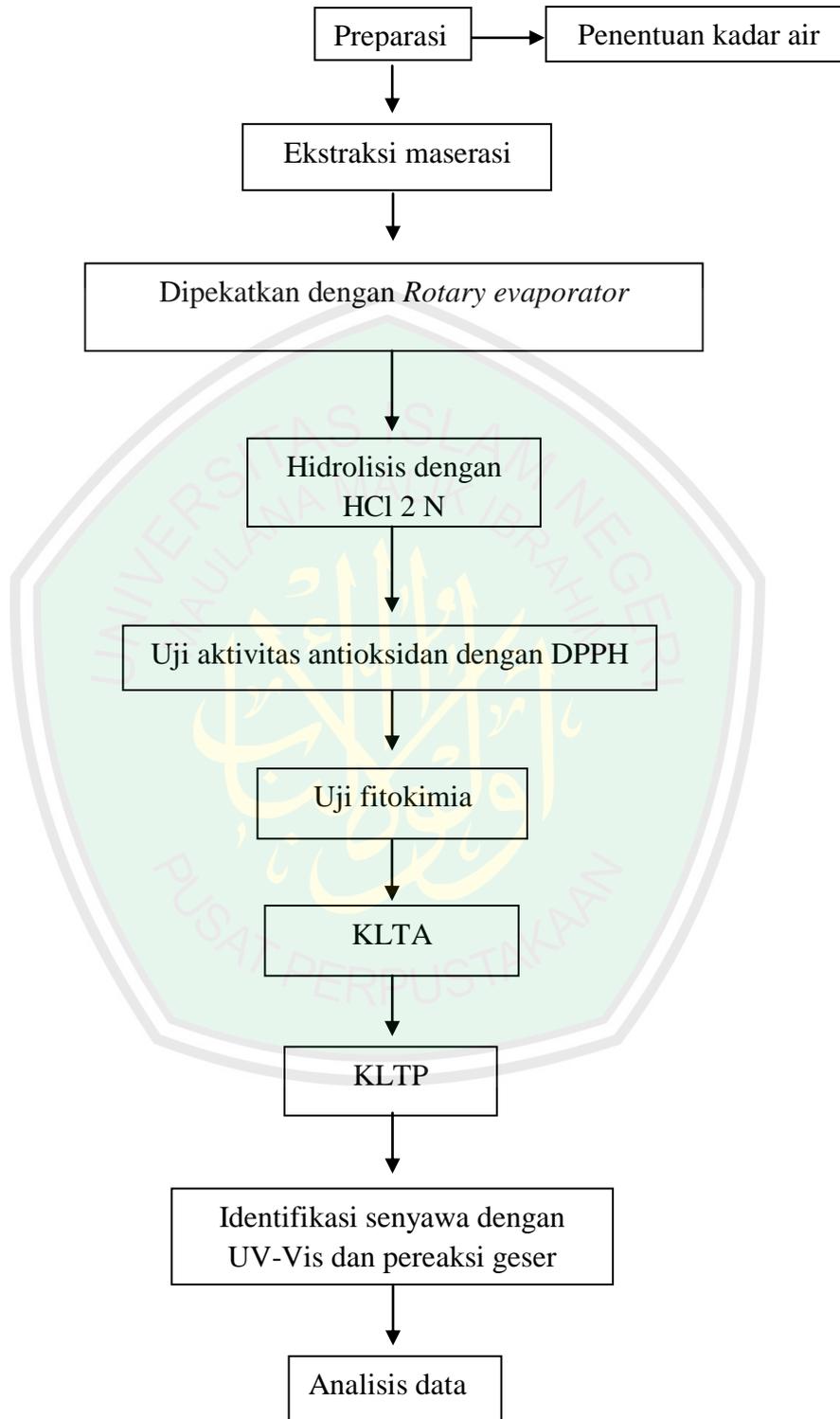
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*, Volume 11, Nomor 1, April 2012 ISSN 1412-498X.
- Milyasari, C. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *E.coli* dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi. L*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Publishing Corporation and SNTC Publishers of Technical Literatur.
- Molyneux, P. 2003. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. Institute of Food Research Colney, Norwich, United Kingdom. Vol 26(2) : 211-219.
- Nihlati I. A., Rohman A., Hertiani T. 2007. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechth] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*.
- Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R., dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. ISSN: 1907-9850. Vol. 3 (1): 7-13.
- Pradana, F. 2014. Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia Ten. Steenis*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Alokasan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Progress. Vol 10, No. 2.
- Rahayu, D dan Hastuti, S.D. 2009. Stabilitas Saponin sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe barbandis miller pada Variasi Suhu dan Lama Simpan. *Jurnal*. Malang: Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*), *J. Agritech*. Vol, 25 No 3;131-136.
- Safitri, R. 2004. *Sayuran dan Buah-buahan Pencegah Penyakit Jantung*. Cakrawala, Kamis 17 Juni 2004

- Saifudin, A., Suparti, F.A. dan Da'i, M. 2006. *Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Catharanthus roseus [L] G.Don Berbunga Merah*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* Vol. 7 No. 2 2006-92-102.
- Sarastani, D., Suwarna T., Soekarto, T., Muchtadi, R. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. XIII. No. 2. 149-156.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press.
- Sax, D., dan Lewis, R., 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, kesan dan keserasian Al Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Soeprapto, S.1986. *Jamu Jawa Asli*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Edisi Pertama. Yogyakarta: Kanisius.
- Suroso, H.C. 2007. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Tanaman Anting-anting (*Achalypha Indica* L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Tahir, I., Wijaya, K., dan Widianingsih, D. 2003. Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/Flavonol. *Artikel Seminar Chemometrics-Chemistry*. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Takashi, Miyake and Takayumi, S. 1997. Antioxidant Activities of Natural Compound Found in Plants. *Journal Agric Food Chem*. 45.1819-1822

- Voight, R.1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press
- Widyaningsih ,W. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami* ISBN : 978-979-18458-2-3.
- Wijayakusuma, H. 2008. *Pengobatan Herbal dengan Ramuan Tionghoa*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Winarno. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Winata, H. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimiawi Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.
- Yuliani, D. 2010. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa, L.*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Yustina, L. 2008, Daya Antibakteri Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare mill*) dan Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii* bl, [http:// www. Usd.Ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf](http://www.Usd.Ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf), diakses 1 September 2015

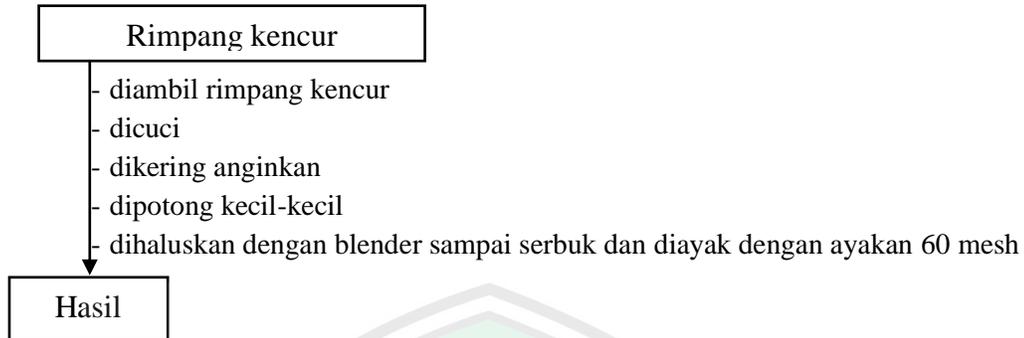
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

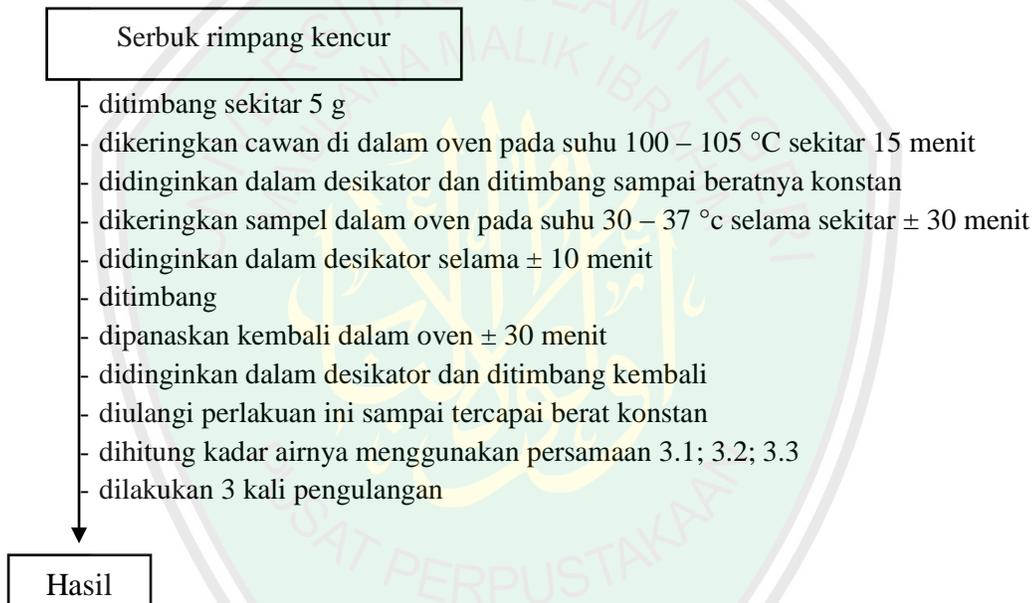


Lampiran 2. Skema Kerja

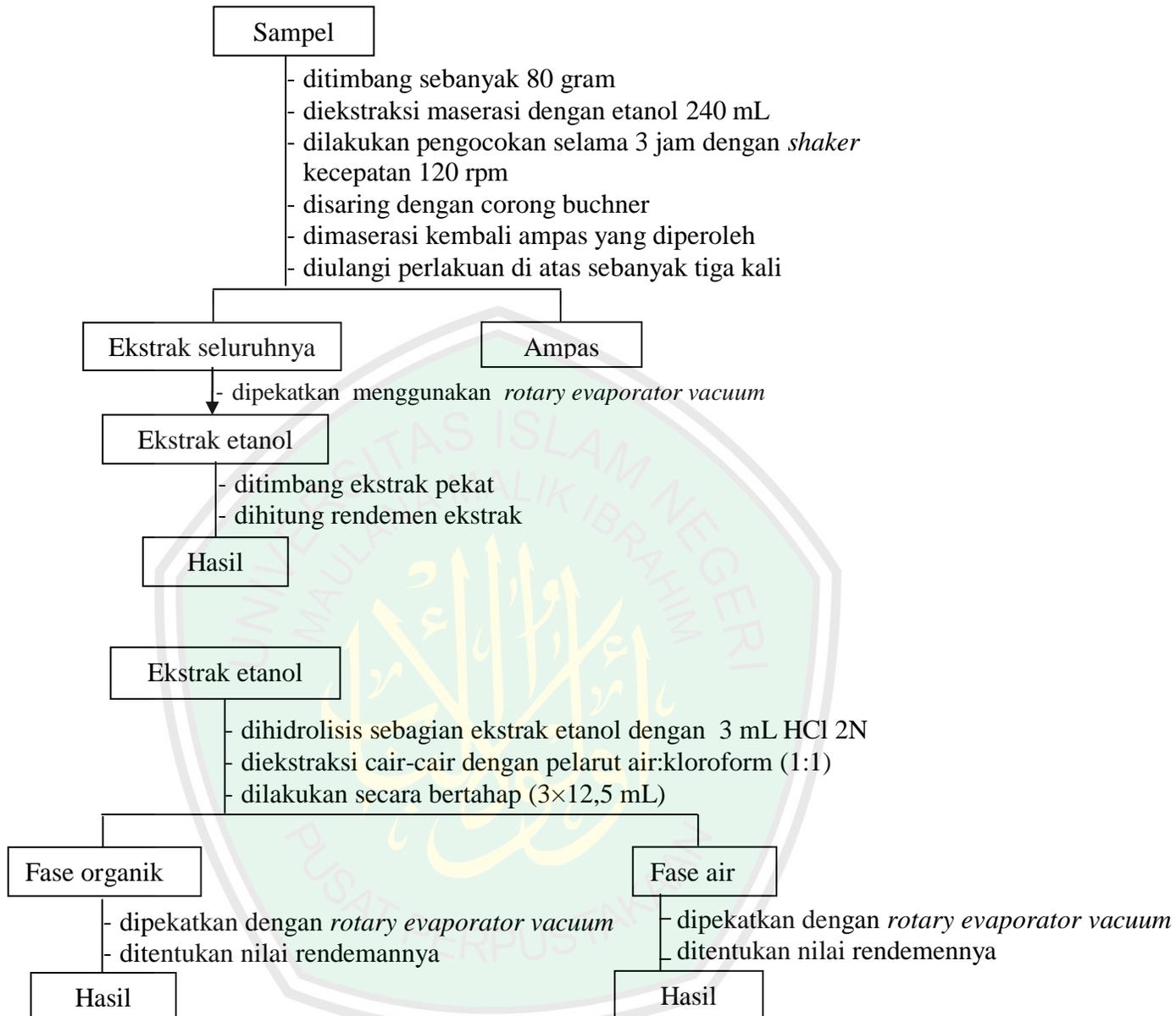
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisa Kadar Air

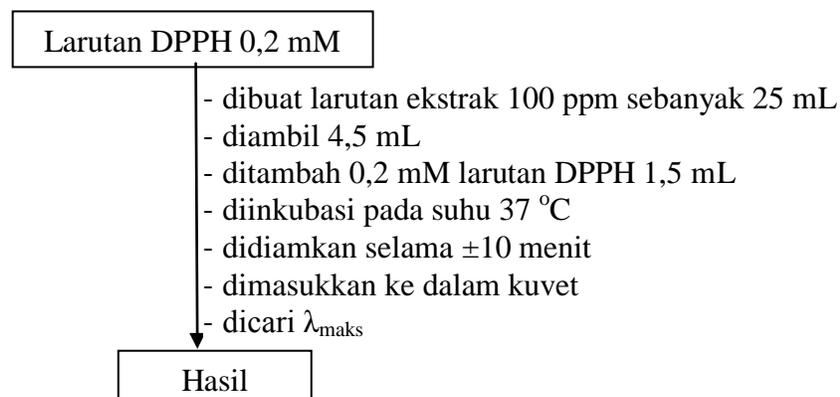


L.2.3 Ekstraksi Maserasi

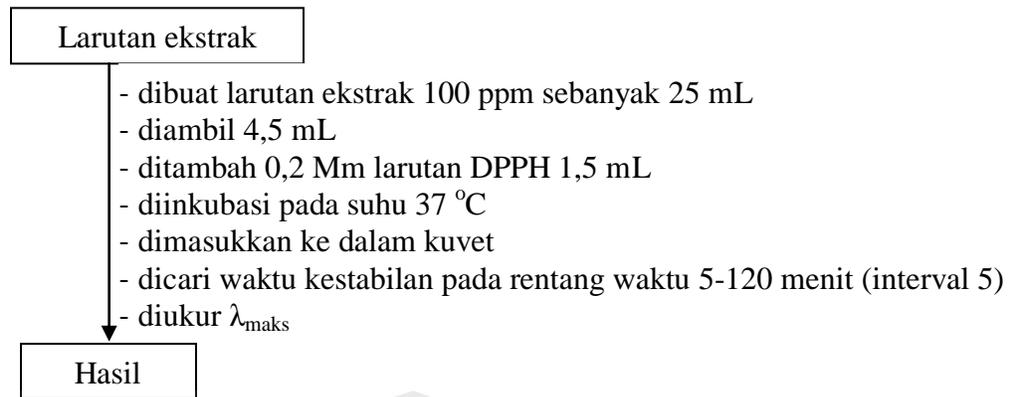


L.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

L.2.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

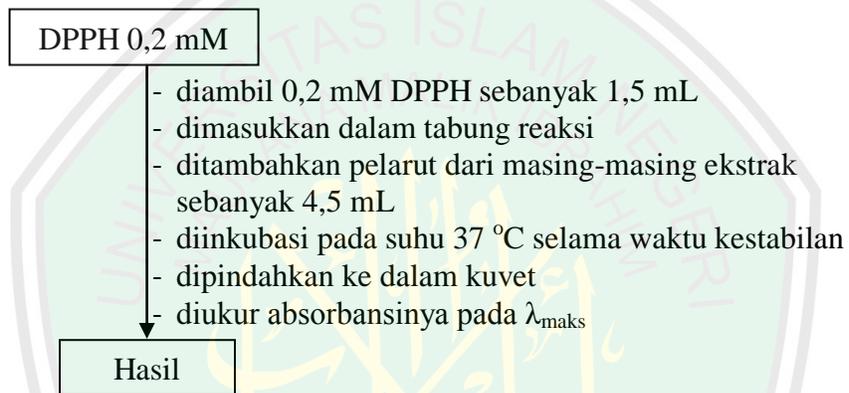


L.2.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

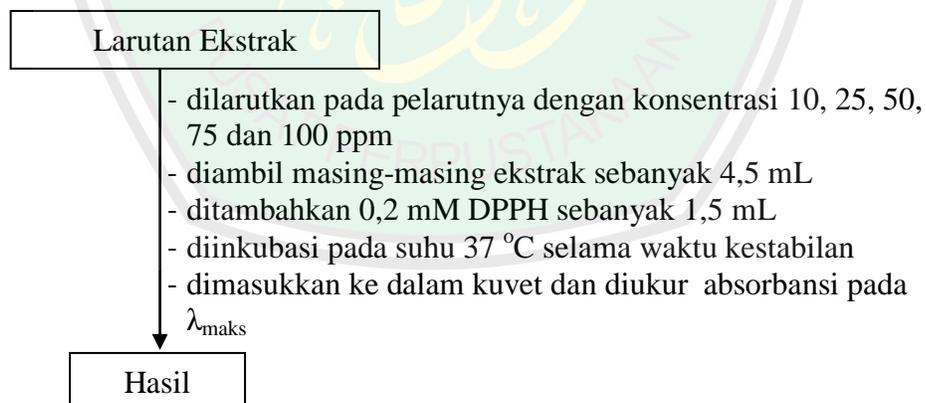


L.2.4.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm

L.2.4.3.1 Absorbansi Kontrol



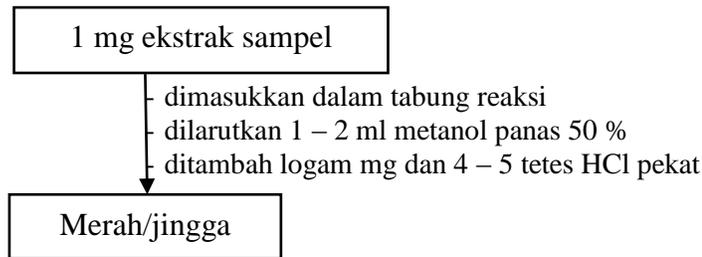
L.2.4.3.2 Absorbansi Sampel Variasi Konsentrasi



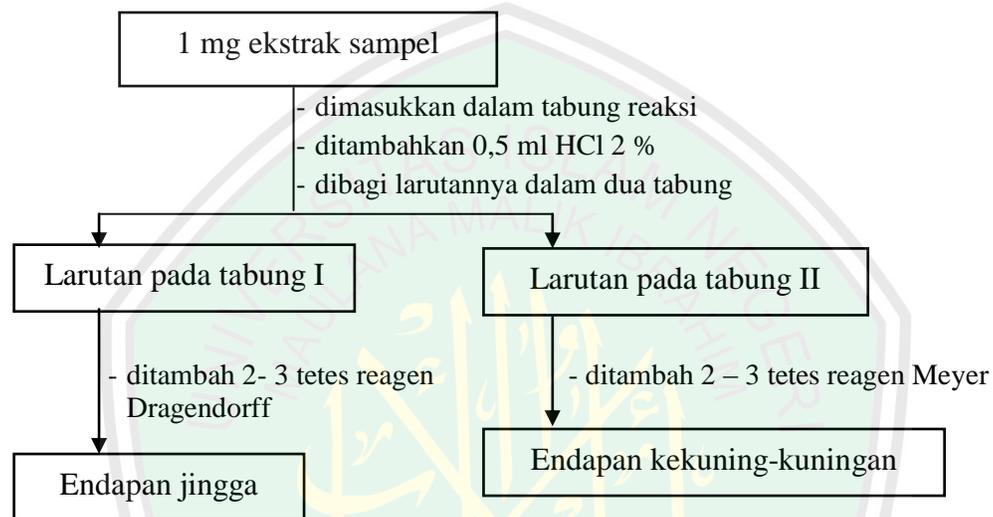
*Pembanding asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat (vitamin C)

L.2.5 Uji Fitokimia

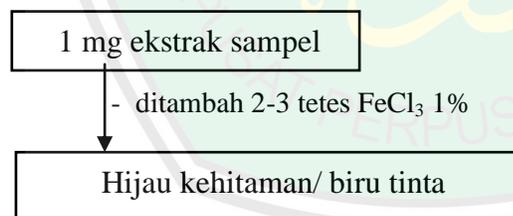
L.2.5.1 Uji Flavonoid



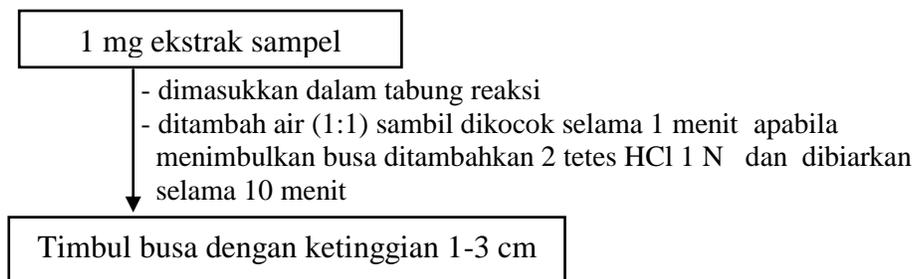
L.2.5.2 Uji alkaloid



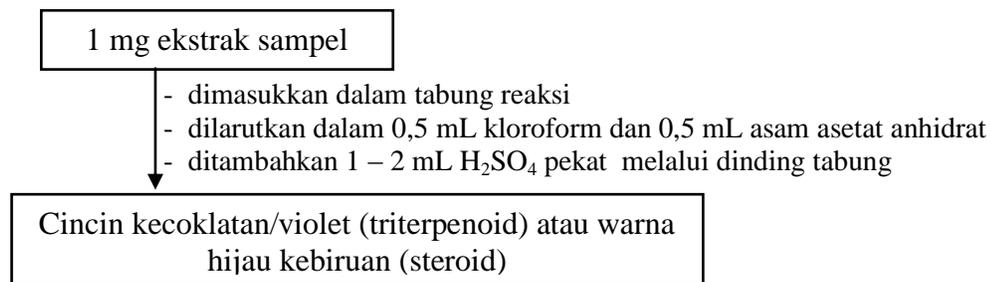
L.2.5.3 Uji Tanin dengan FeCl₃



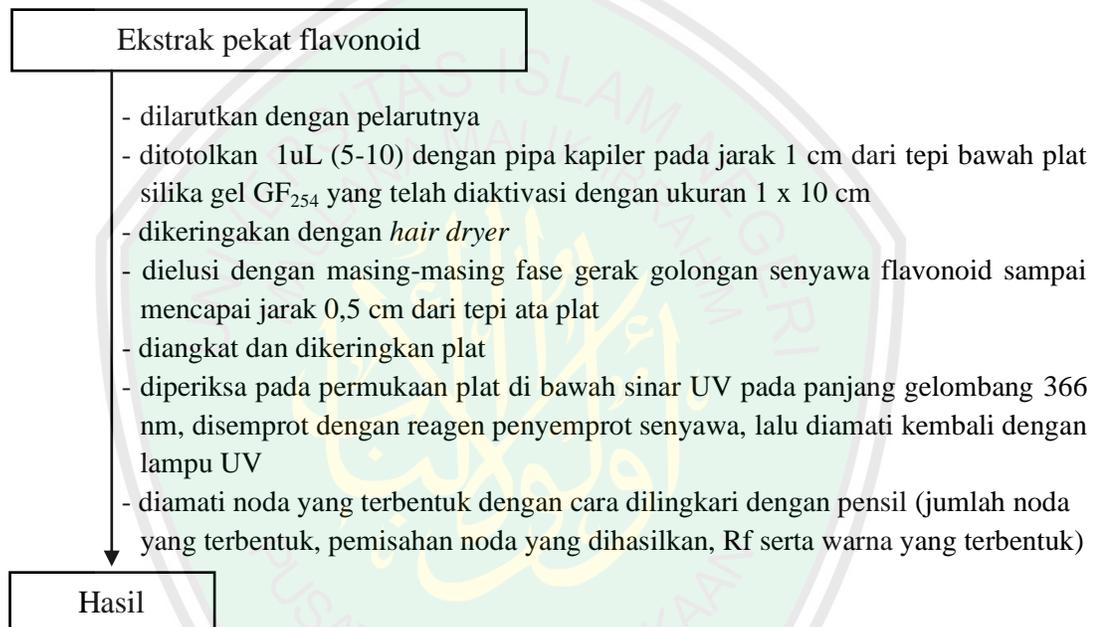
L.2.5.4 Uji Saponin



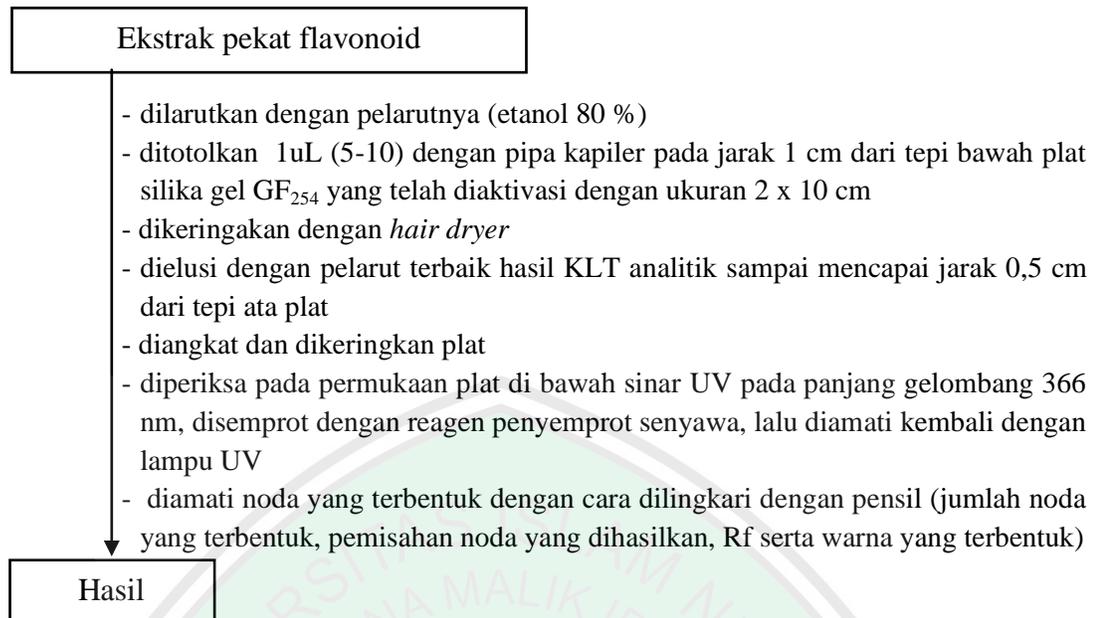
L.2.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid



L.2.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik

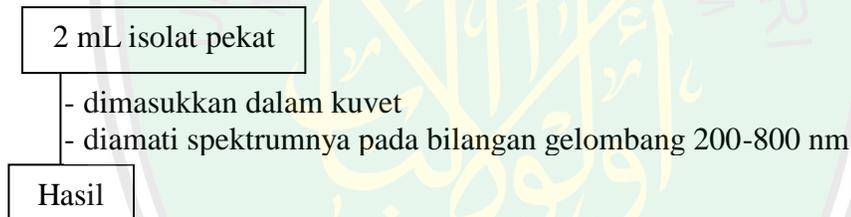


L.2.7 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif



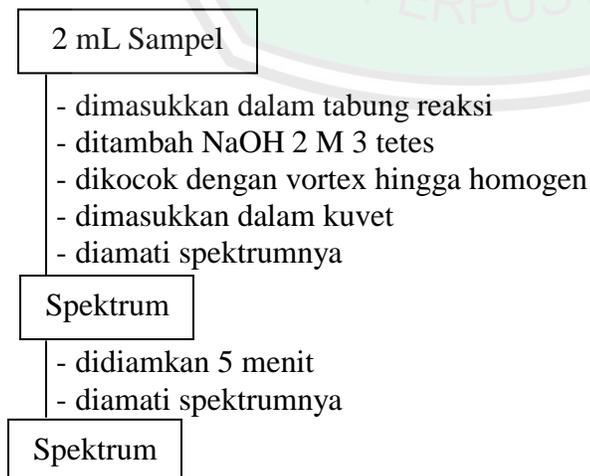
L.2.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid

2.8.1 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



2.8.2 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Penambahan Pereaksi Geser

a. Penambahan Natrium Hidroksida 2 M



b. Penambahan AlCl_3 5 %/ HCl

2 mL Sampel

- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambah 6 tetes AlCl_3 5 % dalam metanol
- dikocok dengan vortex hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

- ditambah 3 tetes HCl
- dikocok dengan vortex hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

c. Penambahan $\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$

2 mL Sampel

- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambah 250 mg serbuk natrium asetat
- Dikocok dengan vortex hingga homogen
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diamati spektrumnya

Spektrum

- Ditambah 150 mg asam borat
- Dikocok dengan vortex hingga homogen
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diamati spektrumnya

Spektrum

Lampiran 3. Perhitungan Reagen dan Larutan

A. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 M

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol (98 %)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\begin{aligned}\text{Mol DPPH} &= 50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 50 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\ &= 0,01 \text{ mmol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Mg DPPH} &= 0,01 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,01 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 3,9433 \text{ mg}\end{aligned}$$

B. Pembuatan Larutan HCl 2 N

$$\rho = 1,19 \text{ g/mL}$$

$$\text{BM} = 36,46 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{\rho \times \% \times 10}{\text{BM HCl}} = 1 \times \frac{1,19 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 37 \% \times 10}{36,46 \text{ g/mol}} = 12,07 \frac{\text{mol}}{\text{mL}} \text{ (N)}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,07 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,57 \text{ mL} = 16,5 \text{ mL}$$

C. Pembuatan Larutan Etanol 80 %

Perhitungan pembuatan larutan etanol 80 % dibuat dari etanol *p.a.*, etanol *p.a* yang diperlukan adalah:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 98 \% = 200 \text{ mL} \times 80 \%$$

$$V_1 = 163 \text{ mL}$$

D. Pembuatan FeCl₃ 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{g terlarut}}{\text{g terlarut} + \text{g pelarut}} \times 100 \%$$

$$\text{g terlarut} + \text{g pelarut} = \frac{\text{g terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \%$$

$$1 \text{ g} + \text{g pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \%$$

$$\text{g pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/ml}} = 99 \text{ mL}$$

E. Pembuatan Larutan HCl 2%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,54 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

F. Pembuatan Larutan HCl 1N

$$\rho = 1,19 \text{ g/mL}$$

$$\text{BM} = 36,46 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{\rho \times \% \times 10}{\text{BM HCl}}$$

$$= 1 \times \frac{1,19 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 37 \% \times 10}{36,46 \text{ g/mol}} = 12,07 \frac{\text{mol}}{\text{mL}} \text{ (N)}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,07 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

G. Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel**❖ Pembuatan antioksidan pembanding 100 ppm**

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 100 \text{ ppm} \times 0,05 \text{ L} = 5 \text{ mg}$$

❖ Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 12,5 \text{ mL}$$

❖ Pembuatan Larutan Sampel 75 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 75 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 9,375 \text{ mL}$$

❖ Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 6,25 \text{ mL}$$

❖ Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 3,125 \text{ mL}$$

❖ Pembuatan Larutan Sampel 10 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 1,25 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Pembuatan Reagen dan Larutan

A. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 M

Larutan DPPH dibuat dengan ditimbang serbuk DPPH sebanyak 3,9433 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 25 ml, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml dan ditambah aquades sampai tanda batas.

B. Pembuatan Larutan HCl 2 N

Cara pembuatannya yaitu dipipet HCl pekat 37% dengan pipet ukur 25 mL sebanyak 16,5 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi 15 mL aquades. Ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Perlakuan ini dilakukan dalam lemari asap.

C. Pembuatan Larutan Etanol 80 %

Cara pembuatannya yaitu dipipet dengan pipet ukur 100 mL etanol *p.a* sebanyak 163 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 200 mL, lalu ditanda bataskan dengan aquades.

D. Pembuatan FeCl₃ 1%

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan.

E. Pembuatan Larutan HCl 2%

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL menggunakan pipet volume 0,5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

F. Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

Cara pembuatannya yaitu dipipet sebanyak 5mL asam asetat anhidrat dan 5 mL asam sulfat konsentrat, kemudian ditambahkan secara hati-hati melalui dindingnya ke dalam 50 mL etanol *p.a* dalam keadaan dingin (Wagner, 2001).

G. Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O .

H. Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

I. Pembuatan Larutan HCl 1N

Cara pembuatannya yaitu ditambahkan aquades 5 mL kedalam labu ukur 10 mL, lalu dipipet dengan pipet ukur 1 mL HCl pekat 37 % sebanyak 0,8 mL. Ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Perlakuan ini dilakukan dalam lemari asap.

J. Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

❖ Pembuatan antioksidan pembanding 200 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat larutan sample 200 ppm ditimbang 5 mg sampel, kemudian dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 50 mL.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat 25 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm. Larutan stok 200 ppm dipipet sebanyak 12,5 mL menggunakan pipet ukur 10 mL, kemudian yang dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 75 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat 25 mL larutan sampel 75 ppm. Larutan stok 200 ppm dipipet sebanyak 9,375 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat 25 mL larutan sampel 50 ppm. Larutan stok 200 ppm dipipet sebanyak 6,25 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat 25 mL larutan sampel 25 ppm. Larutan stok 200 ppm dipipet sebanyak 3,125 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 10 ppm

Cara pembuatannya yaitu membuat 25 mL larutan sampel 10 ppm. Larutan stok 200 ppm dipipet sebanyak 1,25 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 80 % dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas.

Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air

1. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Rimpang Kencur

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)				Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	55,2421	55,2387	55,2382	55,2382	55,2382
A2	61,0711	61,0679	61,0679	61,0678	61,0679
A3	54,0331	54,0293	54,0287	54,0287	54,0287

Ulangan sampel	Berat Cawan+Sampel (gr)									Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	
A1	60,2382	59,6894	59,6852	59,6705	59,6475	59,6054	59,5969	59,5961	59,5944	59,5958
A2	66,0678	65,5479	65,4985	65,4270	65,4210	65,4051	65,3302	65,3213	65,3209	65,3241
A3	59,0287	58,4791	58,4044	58,3960	58,3264	58,3169	58,3075	58,3032	58,3029	58,3045

Keterangan: - P= Perlakuan

- Tanda merah menunjukkan angka yang sudah konstan (2 angka dibelakang koma sama)

1.1 Perhitungan kadar air sampel basah

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}}$$

% kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan+ sampel setelah dikeringkan

a) Ulangan ke-1 (A1)

$$\text{Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{60,2382 - 59,5958}{60,2382 - 55,2382} \times 100\% \\
 &= \frac{0,6424}{5} \times 100\% \\
 &= 12,85 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 12,85 \%} \\
 &= 1,147 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 12,85 \% - 1,147 \% \\
 &= 11,7 \%
 \end{aligned}$$

b) Ulangan ke-2 (A2)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\
 &= \frac{66,0678 - 65,3241}{66,0678 - 61,0679} \times 100\% \\
 &= \frac{0,7437}{4,9999} \times 100\% \\
 &= 14,87\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 14,87\%}
 \end{aligned}$$

$$= 1,174 \%$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 14,87\% - 1,174 \% \\
 &= 13,7\%
 \end{aligned}$$

c) Ulangan ke-3 (A3)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\
 &= \frac{59,0287 - 58,3045}{59,0287 - 54,0292} \times 100\% \\
 &= \frac{0,7242}{4,9995} \times 100\% \\
 &= 14,48\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 14,48\%} \\
 &= 1,169 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 14,48\% - 1,169 \% \\
 &= 13,31 \%
 \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{12,84\%+14,87\%+14,48\%}{3} \\ &= 14,1\% \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata faktor koreksi} &= \frac{1,147\%+1,174\%+1,169\%}{3} \\ &= 1,163\% \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air terkoreksi} &= \frac{11,7\%+13,7\%+13,31\%}{3} \\ &= 12,90\% \end{aligned}$$



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

L. 6.1 Preparasi Sampel



Penyerbukan rimpang kencur

L. 6.2 Analisis kadar Air



Pengovenan + sampel



Desikator (cawan+sampel)

L. 6.3 Ekstraksi Maserasi dan Partisi Daun Rumpun Bambu



Ekstraksi Maserasi
dengan etanol 80%



Pengadukan dengan
Shaker 120 rpm



Penyaringan dengan
corong *buchner*



Hasil filtrat maserasi



Pemekatan dengan
Rotary evaporator



Pemekatan dengan
dialiri gas N_2



Hidolisis dengan HCl



partisi dengan kloroform:air

L. 6.4 Uji Senyawa Aktiv dengan Uji Reagen

1. Ekstrak etanol 80 %



Flavonoid (++)

Tanin
(++)Saponin
(-)Triterpenoid
(-)

2. Fraksi kloroform



Flavonoid (++)

L. 6.5 Uji Aktivitas Antioksidan



Larutan DPPH 0,2 M



Uji Waktu Kestabilan



Larutan konsentrasi ekstrak etanol
80%



Uji Aktivitas Antioksidan
ekstrak etanol 80%



Larutan konsentrasi fraksi kloroform



Uji Aktivitas Antioksidan fraksi
kloroform

Lampiran 7. Uji Aktivitas Antioksidan

L.7.1 Penentuan Waktu Kestabilan Antioksidan Sampel dan Pemanding

Inkubasi 37 °C

Waktu Kestabilan (Menit)	Ekstrak Etanol 80%	Fraksi Kloroform	Vitamin C
5	0,13	0,39	0,025
10	0,12	0,38	0,025
15	0,09	0,37	0,024
20	0,085	0,36	0,022
25	0,075	0,35	0,024
30	0,065	0,35	0,025
35	0,06	0,34	0,021
40	0,055	0,34	0,025
45	0,05	0,34	0,024
50	0,048	0,33	0,025
55	0,045	0,33	0,025
60	0,04	0,33	0,025
65	0,04	0,33	0,025
70	0,04	0,32	0,022
75	0,035	0,33	0,022
80	0,032	0,33	0,025
85	0,03	0,33	0,022
90	0,029	0,32	0,025
95	0,029	0,33	0,025
100	0,028	0,33	0,025
105	0,025	0,33	0,025
110	0,025	0,33	0,025
115	0,025	0,35	0,022
120	0,025	0,37	0,025

L.7.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

➤ Ekstrak Etanol 80%

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
10	0,6422	0,3270	0,3263	0,3265	0,3266	49 %	1
25	0,6435	0,2987	0,2989	0,2994	0,2990	53,53 %	1,39
50	0,6403	0,2706	0,2700	0,2704	0,2703	57,78 %	1,69
75	0,6391	0,2546	0,2542	0,2544	0,2544	60,19 %	1,87
100	0,6362	0,2231	0,2235	0,2227	0,2231	64,93 %	2

➤ Fraksi Kloroform

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
10	0,4123	0,2752	0,2756	0,2743	0,2750	33 %	1
25	0,4123	0,2514	0,2500	0,2510	0,2507	39,2 %	1,39
50	0,4119	0,2367	0,2373	0,2370	0,2370	42,5 %	1,69
75	0,4102	0,2140	0,2137	0,2145	0,2141	47,8 %	1,87
100	0,4133	0,1867	0,1867	0,1863	0,1866	54,9 %	2

➤ Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
10	0,4588	0,0209	0,0207	0,0206	0,0207	95 %	1
25	0,4579	0,0140	0,0137	0,0140	0,0139	96 %	1,39
50	0,4556	0,0129	0,0128	0,0128	0,0128	97 %	1,69
75	0,4560	0,0130	0,0131	0,030	0,0130	97 %	1,87
100	0,4570	0,0135	0,0137	0,0137	0,0135	97 %	2

Lampiran 8. Perhitungan Nilai Rf (*Retardation Factor*) Hasil KLTA dan KLTP Rimpang Kencur (*Kaemferia galanga* L.)

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

1. Hasil nilai Rf KLTA Fraksi Kloroform

➤ **Senyawa Flavonoid**

a. Eluen 1= PE : etil asetat (5:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,19$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{5,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98$$

b. Eluen 2 = PE : etil asetat (19:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,06$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,13$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,38$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{5,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,69$$

c. Eluen 3 = PE : kloroform (1:9)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,23$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{4,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93$$

d. Eluen 3 = metanol : kloroform (1:19)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 1$$

2. Hasil nilai Rf KLTP Fraksi Kloroform

a. Eluen 1= PE : etil asetat (5:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{3,5 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,19$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{4,3 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,24$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{7 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,39$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{9,5 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,53$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{10,5 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,58$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{18 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,69$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{13 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,72$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{15 \text{ cm}}{18 \text{ cm}} = 0,83$$

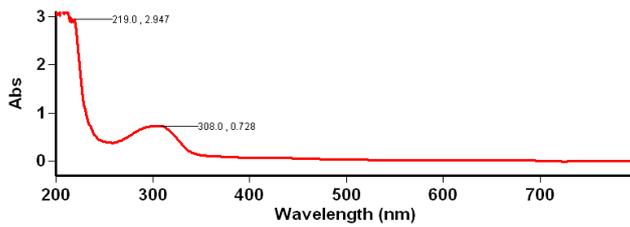
Lampiran 9. Profil KLT analitik

Data penampak noda dari KLT analitik senyawa flavonoid fraksi kloroform rimpang kencur *Kaemferia galanga* L. pada panjang gelombang 366 nm

No	Fase Gerak	Jumlah Noda	Tanpa FeCl ₃	Dengan FeCl ₃	Nilai Rf
1	PE:etil asetat (5:1)	7	Kuning	-	0,06
			Hijau	-	0,19
			Lembayung gelap	-	0,6
			Oranye	-	0,7
			Merah	-	0,85
			Hijau	Hijau	0,91
			Biru floresense	Biru pudar	0,96
2	PE:etil asetat (19:1)	5	Merah	-	0,06
			Oranye	-	0,13
			Biru	-	0,25
			Hijau	-	0,38
			Hitam	-	0,69
3	PE:kloroform (1:9)	5	Kuning	Abu-abu	0,23
			Kuning	Abu-abu	0,61
			Merah	Abu-abu	0,68
			Hijau	Abu-abu	0,8
			Merah	Abu-abu	0,93
No	Fase Gerak	Jumlah Noda	Tanpa NH₃	Dengan NH₃	Nilai Rf
1	Metanol:kloroform (1:19)	1	Merah	Abu-abu	1

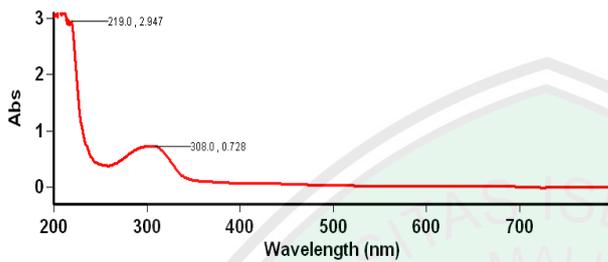
Lampiran 10

Lamdha Maks Isolat 7 (hijau)



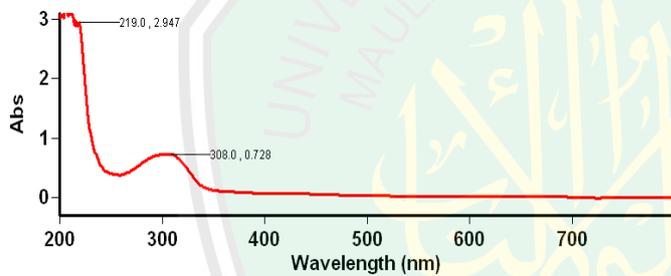
Wavelength (nm)	Abs
597.0	0.017
308.0	0.684
217.5	2.831

1. Isolat 2+NaOH



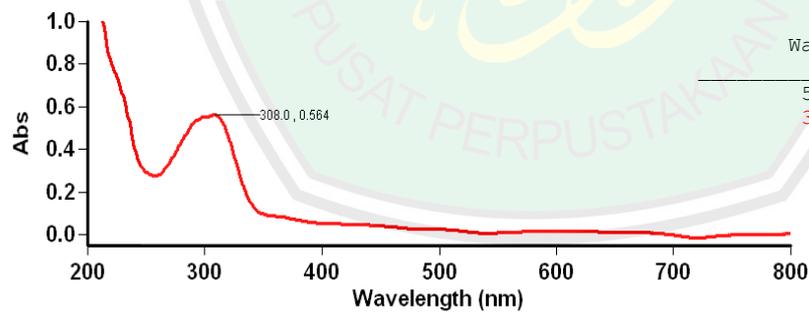
Wavelength (nm)	Abs
307.0	0.678
216.0	2.851
208.9	3.095
204.2	3.001
200.9	3.005

2. Isolat 2+NaOH setelah 5 menit



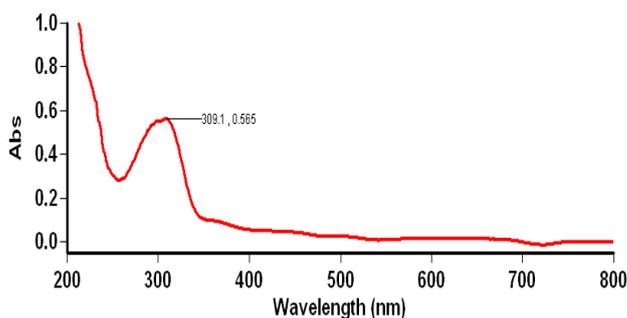
Wavelength (nm)	Abs
308.0	0.728
219.0	2.947
217.0	2.951
215.0	2.977
209.9	3.195
205.1	3.271
201.9	3.075

3. Isolat 2+AlCl₃ 5%

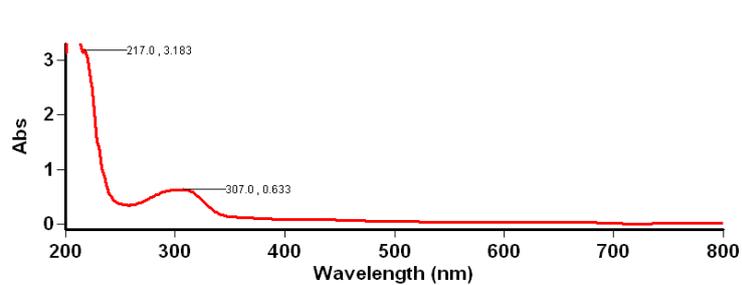


Wavelength (nm)	Abs
590.1	0.020
308.0	0.564

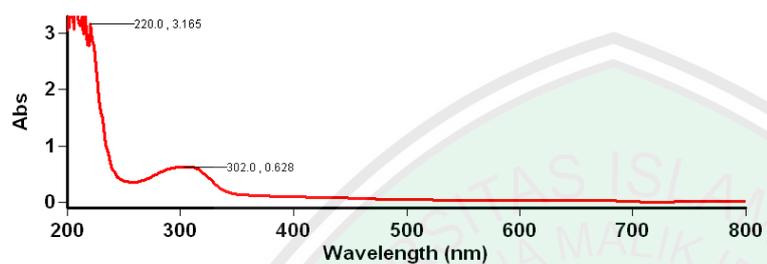
4. Isolat 2+AlCl₃ 5%+HCl



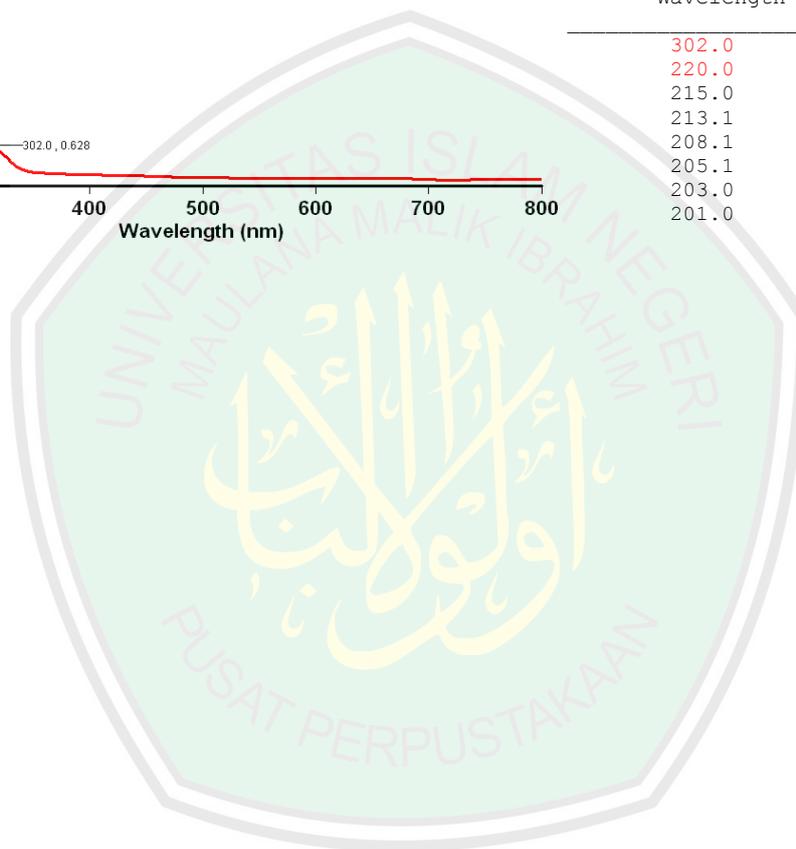
Wavelength (nm)	Abs
309.1	0.565

5. Isolat 2+NaAc

Wavelength (nm)	Abs
307.0	0.633
217.0	3.183
211.0	3.491
207.0	10.000
205.1	4.440
201.9	4.208

6. Isolat 2+NaAc+H₃BO₃

Wavelength (nm)	Abs
302.0	0.628
220.0	3.165
215.0	3.920
213.1	3.281
208.1	10.000
205.1	10.000
203.0	3.611
201.0	3.294



Comparison of Fits
 Null hypothesis
 Alternative hypothesis
 P value
 Conclusion (alpha = 0.05)
 Preferred model
 F (DFn, DFd)

Can't calculate
 LogIC50 different for each data set
 LogIC50 same for all data sets

 Models have the same DF
 LogIC50 different for each data set

LogIC50 different for each data set

Best-fit values
 Bottom = 0.0
 Top = 100.0
 LogIC50 1.913
 HillSlope 0.3633
 IC50 81.90
 Span = 100.0
 Std. Error
 LogIC50 0.07628
 HillSlope 0.06176
 95% Confidence Intervals
 LogIC50 1.671 to 2.156
 HillSlope 0.1668 to 0.5598
 IC50 46.83 to 143.2
 Goodness of Fit
 Degrees of Freedom 3
 R square 0.9253
 Absolute Sum of Squares 20.79
 Sy.x 2.632
 Constraints
 Bottom Bottom = 0.0
 Top Top = 100.0

LogIC50 same for all data sets

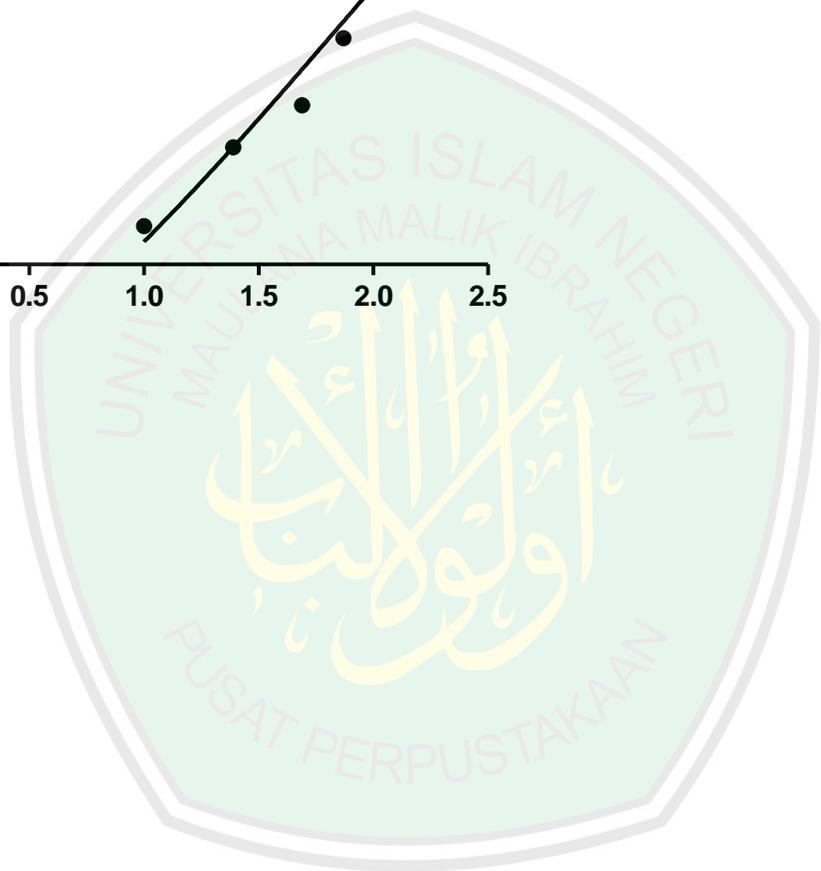
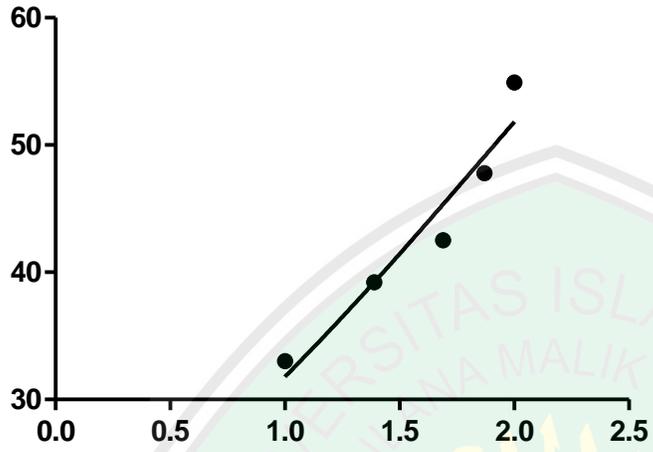
Best-fit values
 Bottom = 0.0
 Top = 100.0
 LogIC50 1.913
 HillSlope 0.3633
 IC50 81.90
 Span = 100.0
 Std. Error
 LogIC50 0.07628
 HillSlope 0.06176
 95% Confidence Intervals
 LogIC50 1.671 to 2.156
 HillSlope 0.1668 to 0.5598
 IC50 46.83 to 143.2
 Goodness of Fit
 Degrees of Freedom 3
 R square 0.9253
 Absolute Sum of Squares 20.79
 Sy.x 2.632

Constraints
Bottom
Top
LogIC50
Number of points
Analyzed

Bottom = 0.0
Top = 100.0
LogIC50 is shared

5

Data 1



Best-fit values
 Bottom = 0,0
 Top = 100,0
 LogIC50 1,116
 HillSlope 0,2639
 IC50 13,07
 Span = 100,0
 Std. Error
 LogIC50 0,06998
 HillSlope 0,03176
 95% Confidence Intervals
 LogIC50 0,8935 to 1,339
 HillSlope 0,1629 to 0,3650
 IC50 7,826 to 21,82
 Goodness of Fit
 Degrees of Freedom 3
 R square 0,9591
 Absolute Sum of Squares 6,128
 Sy.x 1,429
 Constraints
 Bottom Bottom = 0,0
 Top Top = 100,0

LogIC50 same for all data sets

Best-fit values
 Bottom = 0,0
 Top = 100,0
 LogIC50 1,116
 HillSlope 0,2639
 IC50 13,07
 Span = 100,0
 Std. Error
 LogIC50 0,06998
 HillSlope 0,03176
 95% Confidence Intervals
 LogIC50 0,8935 to 1,339
 HillSlope 0,1629 to 0,3650
 IC50 7,826 to 21,82
 Goodness of Fit
 Degrees of Freedom 3
 R square 0,9591
 Absolute Sum of Squares 6,128
 Sy.x 1,429
 Constraints
 Bottom Bottom = 0,0
 Top Top = 100,0
 LogIC50 LogIC50 is shared
 Number of points
 Analyzed 5

