

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI RIMPANG KENCUR (*Kaempferia rhizoma*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE PEREDAMAN
1,1 Diphenil-2-picrylhydrazil (DPPH)**

Zahrah Muhafidzah¹, Seniwati², Rezky Amriati Syarif¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar
Email: seniwatid@gmail.com

ABSTRACT

Kaempferia is one of the most widely used plants in society is a traditional at the medicine. Empirically *Kaempferia rhizome* has a special quality as a wound healer, good for digestion, antibacterial, and as an antioksidant. Based on research been conducted that *Kaempferia* extract has antioxidant activity. This research aimed to test antioxidant activity base on IC_{50} value on *Kaempferia rhizome* fraction by the reduction method 1,1 diphenil-2-phicrylhydrazil (DPPH). The extract obtained was fractionated using a vacuum liquid chromatography method, then performed free radical reduction measurements using UV-VIS spectrophotometry. A positive fraction of antioxidants activity is the n-hexane fraction : ethyl acetate (7:3 and 8:2). The n-hexane fraction 8:2 showed higher antioxidant activity with IC_{50} 731.832 μ g/mL. The n-hexane fraction: ethyl acetate 7:3 with IC_{50} 829.737 μ g/mL.

Key words : *Kaempferia rhizoma*, antioxidant, DPPH, IC_{50}

PENDAHULUAN

Indonesia dengan keaneka ragam hayati terkenal dengan sumber daya alamnya yang melimpah, salah satunya yaitu memiliki aneka ragam tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional.¹ Salah satu tanaman yang paling banyak digunakan di masyarakat adalah kencur. Kencur merupakan tanaman obat yang bernilai ekonomis cukup tinggi sehingga banyak dibudidayakan.²

Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang kencur terdeteksi mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, steroid, monoterpen dan seskuiterpen.³ Ekstrak dari rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, nematisida, penolak nyamuk, larvisida, vasorelaksan, sedatif, antineoplastik, antimikroba, antioksidan, antialergi, dan penyembuh luka.⁴

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas, sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit yang terkait dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskular, dan penuaan.⁵ Dalam arti lain, antioksidan adalah senyawa yang dapat melawan dan menetralkan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan oksidatif pada molekul biologis.⁶

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak etanol 80% rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,070 µg/ml.⁷ Dari uraian tersebut, uji aktivitas antioksidan rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) diketahui masih terbatas pada uji terhadap ekstrak saja, oleh karena itu maka pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan fraksi n-heksan dan etil asetat rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) dengan menggunakan metode peredaman DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil).

METODE PENELITIAN

Pengambilan dan pengolahan sampel

Rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) yang diperoleh dari

Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir. Selanjutnya, sampel dipotong-potong kecil lalu dikeringkan dalam lemari pengering. Setelah kering, sampel diserbukkan.⁸

Pembuatan ekstrak sampel

Sampel ditimbang sebanyak 400 gram dimasukkan dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 1 liter hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya matahari sambil diaduk secara periodik. Setelah 3 x 24 jam dilakukan penyaringan dan residunya dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang baru. Maserasi dilakukan sebanyak 2 kali dan diperoleh ekstrak etanol cair. Hasil maserasi kemudian diuapkan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*).⁹

Fraksinasi ekstrak sampel

Penyiapan kolom

Kolom kromatografi dibersihkan dan dipasang tegak lurus, Sebanyak 30 g adsorben silika gel 60 F₂₅₄ (0,2-0,5 mm) berbanding 10 g dengan silika gel 60 F₂₅₄ (0,063-0,200 mm) dicampurkan, kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dimampatkan

Aktivitas antioksidan fraksi rimpang kencur (Kaempferia rhizoma) dengan menggunakan metode peredaman 1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)

dengan menggunakan n-heksan. Pengisian kolom dilakukan dalam keadaan vakum, agar diperoleh kerapatan maksimum.¹⁰

Fraksinasi ekstrak

Ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) ditimbang sebanyak 8 gram, kemudian diletakkan diatas permukaan adsorben yang sebelumnya telah dimasukkan kedalam kolom, diatas ekstrak tersebut diletakkan kertas saring, selanjutnya dielusi secara bergradien menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (n-heksan, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 dan etil asetat) kemudian pompa vakum dijalankan, fraksi yang dihasilkan kemudian ditampung dalam botol kaca.¹¹

Uji pendahuluan

Pengujian dilakukan dengan cara sampel hasil fraksinasi dilarutkan dengan etanol. Kemudian ditotolkan pada lempeng silika gel F254 dengan menggunakan pipa kapiler. Lempeng yang sudah ditotol dielusi dengan eluen yang sesuai. Selanjutnya disemprot dengan larutan DPPH.⁹

Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif dengan Metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH 25 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH

sebanyak 2,5 mg dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a dalam labu terukur. Kemudian dipipet sebanyak 4 mL dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.⁹

Pembuatan larutan sampel.

Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Dari masing-masing seri tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan 3,5 mL DPPH. Diinkubasi pada suhu 37 °C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.⁹

Pembuatan larutan pembanding.

Dibuat larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang sebanyak 10 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm , 8 ppm dan 10 ppm. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 mL DPPH. Selanjutnya diinkubasi pada suhu

Aktivitas antioksidan fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) dengan menggunakan metode peredaman 1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)

37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.⁹

Perhitungan nilai IC₅₀

Setelah itu aktivitas antioksidan dari sampel fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) serta perbandingan kuersetin dinyatakan dengan presentase penghambatan radikal bebas (persen inhibisi), yang

dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$: = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan : $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus $IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil uji kuantitatif fraksi n-heksan : etil asetat (8:2) rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*)

Konsentrasi (ug/mL)	Peredaman Radikal bebas (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
20	12,643	
40	13,793	
60	14,798	731,832
80	15,948	
100	16,810	

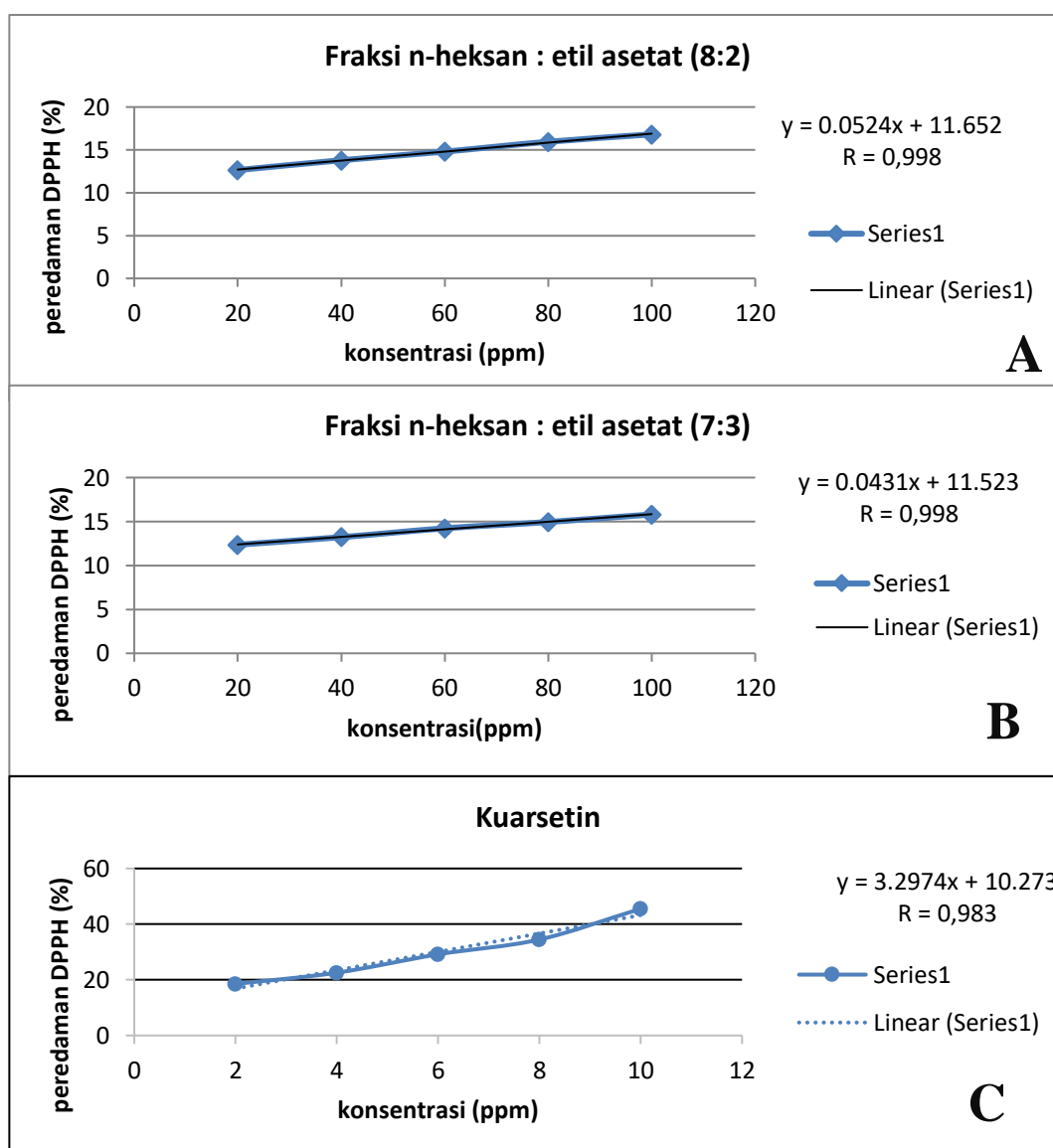
Tabel 2. Hasil uji kuantitatif fraksi n-heksan : etil asetat (7:3) rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*)

Konsentrasi (ug/mL)	Peredaman Radikal bebas (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
20	12,356	
40	13,218	
60	14,224	829.737
80	14,942	
100	15,804	

Aktivitas antioksidan fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) dengan menggunakan metode peredaman 1,1 Difenil-2-picrylhydrazil (DPPH)

Tabel 3. Hasil uji kuantitatif kuarsetin

Konsentrasi (ug/mL)	Peredaman Radikal bebas (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
2	18,534	
4	22,557	
6	29,166	12,049
8	34,482	
10	45,545	



Gambar 1. Grafik hubungan; (A) Hubungan antara konsentrasi fraksi n-heksan:etil asetat (8:2) rimpang kencur dengan persen peredaman DPPH; (B) Hubungan antara konsentrasi fraksi n-heksan:etil asetat (7:3) rimpang kencur dengan persen peredaman DPPH; (C) Hubungan antara konsentrasi kuarsetin dengan persen peredaman DPPH.

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kencur yang diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Kencur kemudian dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Muslim Indonesia. Hasil ekstraksi dari rimpang kencur diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 28,9506 gram dari 400 gram sampel dan diperoleh persentase rendamen ekstrak yang menandakan bahwa kandungan metabolit yang tersari oleh pelarut ialah 7,2376 %. Selanjutnya, dilakukan pemisahan dengan menggunakan metode kromatografi vakum cair, dari proses fraksinasi diperoleh sebanyak 11 fraksi. Selanjutnya, fraksi tersebut dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan menggunakan perbandingan eluen n-heksan: etil asetat (5:5) dan dilanjutkan penyemprotan DPPH. Dimana terjadi perubahan warna spot noda dari warna ungu ke kuning menandakan adanya senyawa antioksidan yang aktif.

Hasil pengujian kuantitatif aktivitas antioksidan fraksi-fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) dengan menggunakan metode peredaman DPPH yang diukur

absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Dari hasil penelitian seperti yang terlihat pada Tabel 1 dan Tabel 2, menunjukkan bahwa fraksi-fraksi rimpang kencur (*kaempferia rhizoma*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ fraksi n-heksan : etil asetat (7:3 dan 8:2) adalah 829,737 µg/mL, 731,832 µg/mL.

Adapun kuarsetin sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat 12,049 µg/mL karena nilai IC₅₀ berada pada range <50 µg/mL seperti yang terlihat pada Tabel 3. Fraksi-fraksi rimpang kencur memiliki aktivitas antioksidan lemah, hal ini disebabkan tingkat polaritas pelarut yang digunakan pada saat fraksinasi memiliki nilai polaritas yang jauh berbeda, dimana nilai polaritas n-heksan dan etil asetat berdasarkan konstanta dielektriknya adalah 2,0 dan 6,0, jadi kemungkinan senyawa yang mengandung antioksidan tidak tertarik pada tingkat polaritas eluen tersebut. Selain itu, diduga kurang aktif disebabkan oleh adanya senyawa pengganggu seperti protein, lemak dan senyawa lainnya yang dapat terlarut dalam pelarut senyawa non-polar, dalam hal ini adalah pelarut n-

Aktivitas antioksidan fraksi rimpang kencur (*Kaempferia rhizoma*) dengan menggunakan metode peredaman 1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)

heksan, sehingga menghalangi proses penangkapan radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat rimpang kencur (*Kaempferia Rhizoma*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yaitu 829,737 µg/mL, 731,832 µg/mL

DAFTAR PUSTAKA

1. Gholib D. Daya Hambat Ekstrak Kencur terhadap Pertumbuhan Jamur *Tripchophyton mentagrobhytes* dan *Cryptococcus neoformans* Jamur Penyebab Penyakit Kurap pada Kulit dan Penyakit Paru. *Bul Littro*. 2009;20(1):59-67.
2. Rostiana OSM, Rosita H, Wawan, Supriadi, Siti A. Status Pemuliaan Tanaman Kencur. *Perkembangan Teknologi Tro*. 2003;15(2):25-38.
3. Hasanah AN, Nazaruddin F, Febrina E, Zuhrotun A. Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) . *Jurnal Matematika & Sains*.2011:147-153.
4. Umar MI, Muhammad ZBA, Amirin S, Rabia A, Muhammad AI. *Phytochemistry and medical Properties of Kaempferia galangal* L. 2011.
5. Halliwell B, and JMC Gutteridg. *Free radical in biology and medicine*. New York: Oxford University Press., 2000.
6. Vimala S, MI Adenan, AR Ahmad, and S Rohana. *Nature`s choice to wellness:antioxidant vegetables/ulam*. Kuala Lumpur: Forest Research Institut, 2003.
7. Latifah. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Skripsi). Malang: Fakultas Sains Dan Tehnologi, Universitas Islam Negeri, 2015.
8. Alfira A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok (*Cinnamomum sintoc* Blume) (Skripsi). Jakarta; Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, 2014.
9. Handayani V, Ahmad AR, Sudir M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) Rm Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*. 2014:10(1).
10. Rahim A, Alam G, Agustina R, Rusydi M. Skrining Toksisitas Ekstrak Herba Bantotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2012:99-106.
11. Pratiwi E. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan fraksi Aktif Temukunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb.) Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian, 2009.