

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ETHYL P-METHOXYCINNAMATE (EPMC) DARI RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga*) SEBAGAI KANDIDAT SENYAWA ANTIKANKER

Nurhasni Hasan¹, Sitti Nur Fatimah¹, Anugerah¹, Muhammad Raihan¹, Subehan¹, Apon Zaenal Mustopa², Herman Irawan², Jabal Rahmat Haedar¹, Habibie²

¹ Departemen Farmasi Sains dan teknologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

² Departemen Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

³ Pusat Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Bogor

ABSTRAK

Indonesia kaya akan keanekaragaman tanaman obat. Salah satunya adalah rimpang kencur atau *Kaempferia galanga* L. Tanaman ini memiliki potensi besar sebagai sumber penting senyawa bioaktif yang dapat mendukung pengembangan obat-obatan alami serta mendorong penelitian lebih lanjut dalam bidang farmakologi dan pengobatan. *Kaempferia galanga* sendiri telah diteliti mengandung beragam senyawa yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai aktivitas farmakologi salah satunya adalah antikanker. Salah satu komponen senyawa yang dimiliki oleh *Kaempferia galanga* yang dapat digunakan sebagai antikanker adalah etil p-methoxycinnamate (EPMC). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa EPMC untuk memperoleh hasil isolasi yang maksimal dengan kadar EPMC yang tinggi. Metode isolasi EPMC dari tanaman kencur menggunakan soxhlet sebagai alat ekstraksi. Identifikasi dan penentuan kadar senyawa diperoleh menggunakan evaluasi KLT, GC-MS, NMR, HPLC dan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil identifikasi menunjukkan isolat dari *Kaempferia galanga* merupakan senyawa etil p-methoxycinnamate dengan berat molekul 206 dan persentase kadar EPMC menunjukkan kadar yang tinggi baik menggunakan HPLC maupun spektrofotometer UV-Vis, dimana kadar EPMC dalam isolat didapatkan sebesar $90,40 \pm 3,62\%$, dan $91,29 \pm 3,66\%$. Sedangkan untuk kadar pada ekstrak metanol *Kaempferia galanga* adalah $49,57 \pm 0,63\%$ dan $40,61 \pm 0,25\%$ berdasarkan hasil HPLC dan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa metode isolasi EPMC dari tanaman kencur (*Kaempferia galanga*) menggunakan soxhlet sebagai alat ekstraksi memberikan rendemen ekstrak dan rendemen isolat yang tinggi.

Kata Kunci :

Isolasi dan Identifikasi, Ethyl P-Methoxycinnamate, soxhlet, ekstrak metanol

PENDAHULUAN

Bahan alam memiliki peranan yang sangat penting dalam penelitian untuk menemukan obat baru (Atanasov et al. 2021). Sampai saat ini sumber bahan aktif obat sebagian besar berasal dari bahan alam, hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Harvey et al. (2008), yang mengungkapkan bahwa hampir setengah dari obat baru yang telah disetujui sejak tahun 1994 berasal dari sumber alam. Penemuan obat-obatan baru ini meliputi beragam indikasi terapeutik, termasuk namun tidak terbatas pada antikanker, antiinfeksi, antidiabetes, dan penyakit lainnya. Di tengah era modernisasi, tumbuhan masih mempertahankan peran pentingnya sebagai penyedia bahan obat, terutama di negara-negara berkembang yang tetap mengandalkan ramuan tumbuhan untuk keperluan kesehatan masyarakatnya (Salim et al., 2008).

Indonesia memiliki peran penting dalam bidang pengembangan dan penelitian tanaman obat. Data yang diperoleh dari penelitian oleh Afifa et al. (2022) menunjukkan kekayaan Indonesia dalam hal keanekaragaman tanaman obat, terdiri dari 110 spesies tanaman obat dengan lebih dari 456 kandungan senyawa yang berbeda. Kandungan senyawa ini juga menunjukkan keberagaman aktivitas biologis, dengan total 280 aktivitas yang telah teridentifikasi. Salah satu contoh tanaman obat ini adalah *Kaempferia galanga* L., yang dikenal sebagai kencur. Tanaman ini memiliki sejarah panjang dalam penggunaan herbal di masyarakat Indonesia. Kencur telah digunakan secara turun-

temurun sebagai obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit. Beberapa penelitian sebelumnya juga telah menunjukkan bahwa ekstrak dan senyawa murni dari *Kaempferia galanga* L. menunjukkan beragam aktivitas farmakologis. Penelitian oleh Elshamy et al. (2019) mengungkapkan berbagai aktivitas farmakologis yang dimiliki oleh tanaman ini. Beberapa di antaranya adalah aktivitas antikanker, antiobesitas, anti-HIV, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan antikolinesterase. Temuan ini menegaskan potensi besar tanaman *Kaempferia galanga* sebagai sumber penting senyawa bioaktif yang dapat mendukung pengembangan obat-obatan alami serta mendorong penelitian lebih lanjut dalam bidang farmakologi dan pengobatan.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menemukan senyawa aktif dari *Kaempferia galanga* dan menemukan beberapa komponen senyawa metabolit seperti etil p-methoxycinnamate, ethyl cinnamate, 3-carene, pentadecane, borneol, bornyl acetate, δ -selinene, camphor dan α pinene (Kumar, 2014; Wang et al. 2021). Penelitian-penelitian sebelumnya telah menguji aktivitas EPMC antara lain sebagai anti-inflamasi (Kumar, 2020), anti-neoplastik (Ichwan et al., 2019), antihiperlipidemik (Chowdhury et al., 2014), antibakteri (Elya et al., 2016) dan sebagai antimelanoma antimelanoma dimana EPMC mampu menghambat aktivitas "NF κ B" (Lallo et al., 2022). Dengan adanya aktivitas farmakologik ini,

Masuk 15-08-2023

Revisi 24-08-2023

Diterima 28-12-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i3.28335

Korespondensi

Nurhasni Hasan

Nurhasni.hasan@unhas.ac.id

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi - Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Desember 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



EPMC diharapkan dapat menjadi salah satu kandidat obat baru.

Kandidat obat baru dari bahan alam diperoleh melalui berbagai metode ekstraksi dan isolasi (Sasidharan et al., 2011). Salah satu metode yang digunakan adalah ekstraksi soxhlet yang dapat mengekstraksi secara kontinyu dengan efisiensi ekstraksi tinggi dan memerlukan waktu serta pelarut lebih sedikit (Zhang et al., 2018). Penelitian oleh (Umar et al., 2014) dan (Hakim et al., 2018) dan telah berhasil mengisolasi EPMC menggunakan metode soxhlet dengan yield 4.33% dan 40.83%. Pengembangan metode isolasi yang dilakukan telah menunjukkan peningkatan hasil isolasi. Namun, masih diperlukan optimasi metode isolasi yang tepat sehingga memperoleh kadar EPMC yang tinggi dibanding penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa EPMC dari rimpang kencur.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan

Bahan yang digunakan adalah rimpang *Kaempheria galanga* diperoleh dari dari provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia. Standar EPMC (Tokyo Chemical Industry, Japan), etanol 96%, n-heksan, etil asetat, kloroform, aquadest, metanol pro analisis (P.A.), acetonitrile for gradient, methanol for gradient, dan water for injection (WFI).

Alat-alat yang digunakan adalah oven simplisia, blender, waterbath Memmert®, TLC silica gel 60 F254, rotary evaporator Heidolph®, alat soxhlet Iwaki®, corong pisah, labu Erlenmeyer sumbat, gelas ukur, gelas beaker, vial, labu tentukur Iwaki®, Dragonlab® Micropipette, GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu, Nuclear Magnetic Resonance (NMR), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Shimadzu, dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu.

Penyiapan Rimpang *Kaempheria galanga*

Rimpang *Kaempheria galanga* dikoleksi dari Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia. Rimpang disortasi, dicuci dengan air mengalir dan dibersihkan kemudian dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil lalu dikeringkan pada oven simplisia dengan suhu 50°C selama 3×24 jam. Simplisia kering kemudian diserbukkan dan disimpan pada kontainer (Prasetyo dan Entang, 2023).

Ekstraksi dan Isolasi EPMC dari Penyiapan Rimpang *Kaempheria galanga*

Serbuk rimpang *Kaempheria galanga* sebanyak 20 gram diekstraksi menggunakan alat soxhlet dengan 500 ml pelarut etanol 96%, proses ekstraksi dilakukan selama 8 siklus. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut disuspensikan dalam 50 mL aquadest, kemudian dipartisi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan 25 mL etil asetat sebanyak 3 kali penyarian. Ekstrak yang larut dalam etil asetat dikumpulkan kemudian diuapkan (75 ml). Setelah penguapan ekstrak, dilakukan rekristalisasi dengan 10 mL n-heksan dan beberapa tetes kloroform hingga semua ekstrak larut. Ekstrak yang telah larut didiamkan semalaman hingga terbentuk kristal EPMC. Kristal yang terbentuk dipisahkan dari fase cairnya, kemudian dicuci menggunakan n-heksan dingin dan dikeringkan di atas kertas penyerap. Senyawa hasil isolasi kemudian diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan ditentukan strukturnya menggunakan

spektroskopi NMR dan GC-MS dengan pembandingan sesuai pada referensi (Lallo, et al. 2022).

Identifikasi Ethyl p- Methoxycinnamate

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi secara kualitatif isolasi EPMC menggunakan Thin-layer chromatography (TLC Silica gel 60 F254 20×20 cm). Isolat EPMC dan EPMC standar dilarutkan ke dalam 1 mL metanol pro analisis (P.A.). Fase diam silika gel diaktifkan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 30 menit, dan fase gerak menggunakan n-heksan:etil asetat (7:3), dan pembandingan EPMC Standar. Hasil elusi diidentifikasi pada sinar UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai R_f (Lallo, et al.2022).

Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS)

Penyiapan sampel analisis GCMS dengan menimbang 0.2 g isolat EPMC ditambahkan metanol (P.A.) sebanyak 5 mL dan disonikasi menggunakan sonikator selama 20 menit pada suhu 40°C. Isolat dimasukkan ke dalam vial GC-MS.

Pengerjaan dengan GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu meliputi: kondisi instrumen GC-MS Suhu injektor 250°C dengan mode Splitless, tekanan 76,9 kPa dan laju alir 14 mL/min dan rasio 1:10. Suhu sumber ion dan interface 200°C dan 280°C, waktu solvent cut 3 menit, 400-700 m/z. Jenis kolom SH-Rxi-5Sil MS panjang kolom 30 m dengan diameter dalam 0,25 mm. Suhu awal kolom 700°C dengan waktu tahan 2 menit dan suhu dinaikkan hingga 200°C dengan laju 100°C/min dan suhu akhir 280°C dengan waktu tahan 9 menit dengan laju 50°C/min sehingga total waktu analisa 36 menit. Data kromatogram yang diperoleh dibaca dengan menggunakan library NIST 17 dan Wiley 9.

NMR

Identifikasi EPMC menggunakan spektroskopi 1H-NMR dan 13C-NMR. Kloroform-d digunakan sebagai pelarut dalam analisis ini dan diukur pada instrumen NMR JNM-ECZ500R/S1, 500 MHz.

Penetapan Kadar EPMC dalam Isolat dan Ekstrak *Kaempheria galanga*

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Penyiapanan larutan standar EPMC sebanyak 10 mg ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml (1000 µg/mL) dengan metanol for gradient, disonikasi selama 5 menit pada suhu kamar. Kemudian disaring menggunakan membran nilon 0,45 µm. Seri konsentrasi yang digunakan adalah 2 - 10 µg/mL. Isolat EPMC dan ekstrak kencur dibuat dengan konsentrasi masing-masing 8 µg/mL dan 20 µg/mL dan dibuat sebanyak tiga replikasi (Srivastava et al. 2021). Kadar ditetapkan dengan menghitung area under curve (AUC) isolat dan ekstrak kencur berdasarkan persamaan garis linear yang diperoleh dari kurva baku.

Kondisi kolom yang digunakan dalam penetapan kadar EPMC dalam ekstrak *Kaempheria galanga* dilakukan pada suhu 30°C menggunakan HPLC reverse phase dan kolom Simetri C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm). Fase gerak menggunakan air: asetonitril (40:60, v/v), laju elusi 1,0 mL/menit, dan volume injeksi diatur sebesar 20 µL. Data kromatografi diukur dalam kisaran 200–400 nm, penetapan kadar dilakukan pada panjang gelombang maksimal senyawa yaitu 308 nm (Srivastava et al. 2021).

Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg standar EPMC kemudian dilarutkan pada 10 ml metanol PA dalam labu tentukur, konsentrasi larutan stok adalah 1000 µg/mL (1000 bpj).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan larutan EPMC dengan konsentrasi 10 µg/mL yang diperoleh dari larutan 1000 bpj. Larutan kemudian dipindai menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

Penyiapan Larutan Standar

Larutan standar untuk kurva baku disiapkan dengan lima seri konsentrasi dari 2-10 µg/mL, lima seri konsentrasi masing-masing dibuat sebanyak tiga kali, dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

Penyiapan Larutan Sampel Isolat dan Ekstrak *Kaempferia galanga*

Larutan isolat dan ekstrak *Kaempferia galanga* dibuat dengan konsentrasi masing-masing 8 µg/mL dan 20 µg/mL. Masing-masing konsentrasi dibuat dengan tiga replikasi dan diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar EPMC dari isolat dan ekstrak *Kaempferia galanga* dihitung berdasarkan persamaan garis kurva baku.

HASIL

Isolasi Kristal Ethyl p-Methoxycinnamate (EPMC)

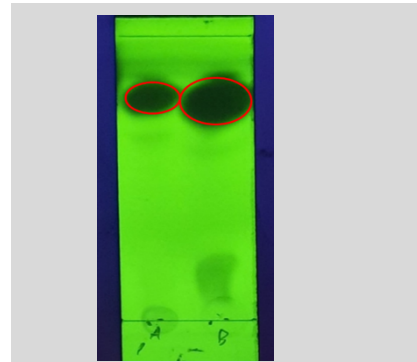
Ethyl p-methoxycinnamate (EPMC) diisolasi dari kencur (*Kaempferia galanga* L.) menggunakan metode ekstraksi soxhlet, memberikan hasil persen rendemen ekstrak 16.5% dan rendemen isolat 83.33%± 0.005. Isolat EPMC yang diperoleh berbentuk kristal yang berwarna kuning pucat (Gambar 1)



Gambar 1. Bentuk kristal EPMC yang diisolasi dari *Kaempferia galanga*

Identifikasi Isolat Kristal Ethyl p-Methoxycinnamate (EPMC)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



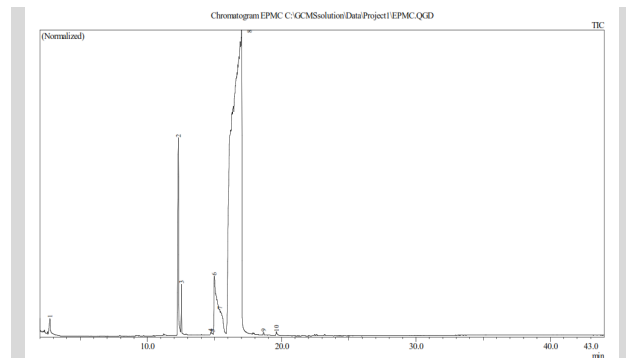
Gambar 2. Spot noda standar EPMC (A), dan isolat EPMC (B) pada sinar UV panjang gelombang 254 nm kristal EPMC yang diisolasi dari *Kaempferia galanga*

Identifikasi kualitatif isolat kristal EPMC menggunakan KLT, hasil elusi dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil spot noda pada sinar UV panjang gelombang 254 nm menunjukkan bahwa standar EPMC (A) dan isolat EPMC (B) memberikan nilai Rf sama yaitu 0.6.

Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS)

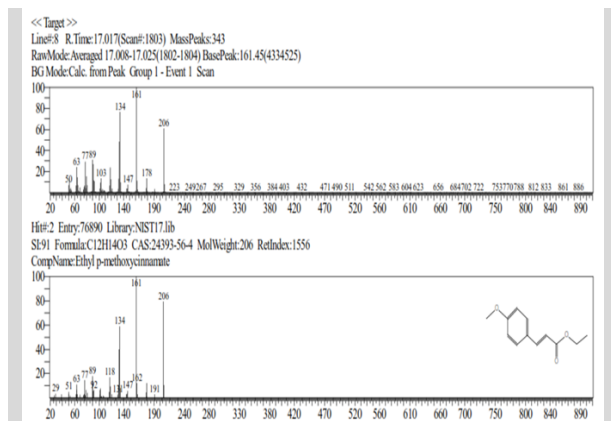
Table 1. Data komponen senyawa dalam isolat *Kaempferia galanga* menggunakan kromatografi gas

Nomor Peak	Waktu Retensi	Area	% Area	A/H	Nama Senyawa
1	2,749	9649528	0,53	6,07	Butanoic acid
2	12,305	83463393	4,56	4,10	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester
3	12,533	10463873	0,57	2,02	Heptadecane
4	14,702	1782014	0,10	6,54	Dihydrofuranno(3,2-f)coumaran (11E,13Z)-1,11,13-Octadecatriene #
5	14,805	890133	0,05	4,44	Methyl 3-(3-methoxyphenyl)prop-2-enoate
6	14,988	102113413	5,58	16,88	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, methyl ester
7	15,392	39164597	2,14	15,13	Ethyl p-methoxycinnamate
8	17,016	1577654095	86,28	50,62	Ethyl p-methoxycinnamate
9	18,654	1032207	0,06	3,52	Hexadecanoic acid, methyl ester
10	19,606	2387406	0,13	6,33	5-(3,4-Dimethoxyphenyl)cyclohexane-1,3-dione



Gambar 3. Kromatogram isolat *Kaempferia galanga* menggunakan kromatografi gas

Identifikasi isolat EPMC dikonfirmasi menggunakan GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu, kemudian dibandingkan dengan senyawa data referensi (Batubara et al., 2011; Hasali et al., 2013; Nasution et al., 2021). Berdasarkan kromatogram GC (Gambar 3) terdapat 10 peak yang muncul menandakan terdapat 10 senyawa dengan 1 senyawa yang memiliki % area tertinggi (Tabel 1). Peak nomor 8 dengan puncak tertinggi dan luas area terbesar dibandingkan sembilan senyawa lainnya menunjukkan berat molekul m/z 206. Perbandingan pola fragmentasi peak 8 dengan database NIST1.7 memperlihatkan kemiripan dengan fragmentasi yang dihasilkan dari senyawa ethyl p-methoxycinnamate (Gambar 4). Prediksi ion-ion fragment yang dihasilkan dari senyawa ini



Gambar 4. Pola fragmentasi isolat dari *Kaempheria galanga* menunjukkan kemungkinan terdapatnya EPMC menggunakan spektroskopi massa kristal EPMC yang diisolasi dari rimpang kencur

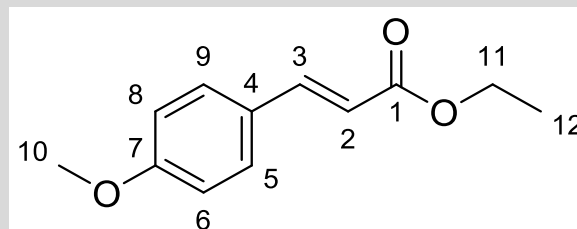
dapat dilihat pada Gambar 5. Senyawa dengan berat molekul 206 tersebut terfragmentasi menjadi m/e 178 dengan melepaskan C₂H₅ dan terfragmentasi menjadi m/e 161 dengan perkiraan atom yang terlepas adalah O. Kemudian terfragmentasi menjadi m/e 134 dengan melepaskan C=O. Lalu terfragmentasi menjadi m/e 103 dengan melepaskan OCH₃, dan terfragmentasi menjadi m/e 77 dengan melepaskan H₂C=CH₂ sehingga tersisa gugus benzen. Ethyl p-methoxycinnamate mengalami fragmentasi menjadi beberapa ion yang dapat dilihat pada Gambar 4.

NMR

Untuk identifikasi lebih lanjut, isolat EPMC dianalisis menggunakan ¹H-NMR dan ¹³C-NMR menggunakan kloroform-d sebagai pelarut, data yang diperoleh dibandingkan dengan data referensi (Hasali et al., 2013; Nasution et al., 2021). Analisis spektrum ¹H-NMR (Gambar 6) isolat menunjukkan sebuah sinyal singlet metil pada δ_H 3,82 ppm mengindikasikan keberadaan sebuah gugus oksimetil. Hal ini kemudian dikonfirmasi dengan kemunculan sinyal karbon oksimetil (δ_C 55,5 ppm) pada spektrum ¹³C-NMR (Gambar 7). Selanjutnya, terdapat empat sinyal dublet di medan rendah (6-8 ppm) merupakan proton yang terikat pada karbon sp² termasuk gugus aromatik dan alkena. Dua sinyal dublet pada δ_H 6,89 ppm, J = 9,5 Hz dan δ_H 7,46 ppm, J = 9 Hz masing-masing memiliki nilai integrasi sebesar 2H dan

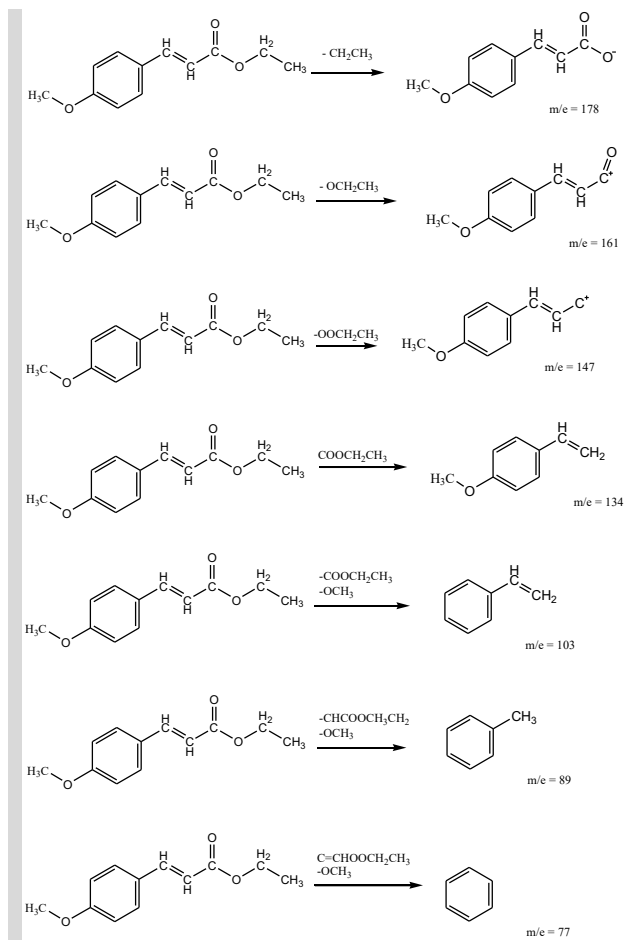
nilai konstanta kopling diatas 7 Hz adalah karakteristik dari gugus cincin aromatik p-tersubstitusi. Analisis ¹³C-NMR juga menunjukkan sinyal pada δ_C 114,4 ppm dan δ_C 129,8 ppm dengan intensitas tinggi mempertegas adanya gugus benzen tersubstitusi ganda pada isolat EPMC. Dua sinyal dublet lainnya (δ_H 7,63 ppm, J = 15 Hz dan δ_H 6,29 ppm, J = 16 Hz) merupakan proton vinylic dengan konfigurasi trans, diindikasikan oleh nilai konstanta kopling yang relatif besar pada masing-masing sinyal proton. Selain itu, terdapat sebuah sinyal quartet metilen yang bersebelahan dengan atom oksigen (δ_H 4,24 ppm, J = 7 Hz; δ_C 60,4 ppm) dan sebuah sinyal triplet metil (δ_H 1,32 ppm, J = 7 Hz; δ_C 14,5 ppm) mengacu pada keberadaan gugus oksietil pada isolat EPMC. Spektrum ¹³C-NMR isolat juga menunjukkan sebuah karbon pada medan rendah, δ_C 167,5 ppm, yang merupakan sinyal dari karbon karbonil ester. Dengan demikian, terdapat lima bagian struktur yang dapat diidentifikasi pada isolat EPMC termasuk gugus oksimetil, p-tersubstitusi benzen, sebuah ikatan rangkap dengan konfigurasi trans, sebuah gugus oksietil, dan sebuah gugus karbonil ester.

Tabel 2. Data spectra ¹H- NMR (500 MHz, CDCl₃) dan ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) isolat EPMC.

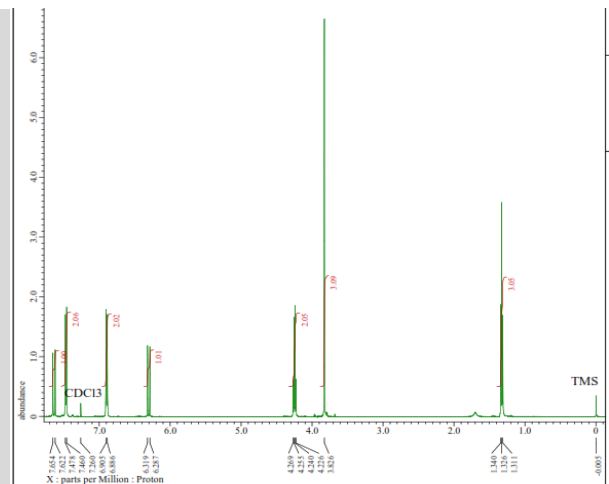


Posisi	δ _C , Jenis Karbon	δ _H , mult. (J dalam Hz)
10	55,5; OCH ₃	3,82; s
7	161,4; C	-
5, 9	114,4; CH	6,89; d (9.5)
6, 8	129,8; CH	7,46; d (9)
4	127,3; C	-
3	144,4; CH	7,63; d (15)
2	115,9; CH	6,29; d (16)
1	167,5; C	-
11	60,4; OCH ₂	4,24; q (7)
12	14,5; CH ₃	1,32; t (7)

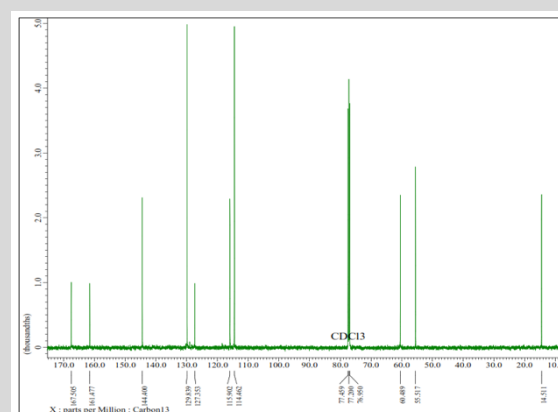
Sebuah sinyal karbon pada δ_C 161.4 ppm merupakan indikasi penting bahwa salah satu substituen dari gugus cincin aromatik adalah oksimetil atau oksietil sebagai alternatif. Analisis dari fragmentasi GC/MS isolat EPMC (Gambar 5.), menunjukkan bahwa oksimetil berikatan dengan salah satu karbon benzen, sedangkan gugus oksietil berikatan dengan karbonil ester. Bagian struktur yang tersisa yaitu sebuah ikatan rangkap menjadi substituen lain dari benzen yang menghubungkan cincin aromatik dan karbonil ester merupakan ciri khas dari jenis senyawa cinnamat. Hal ini dapat dikonfirmasi dengan analisis ¹³C-NMR dengan munculnya sinyal karbon tersier benzen pada δ_C 127.3 ppm (C₄) dan juga sinyal karbon vinylic pada, δ_C 115.9 ppm (C₂), dan δ_C 144.4 ppm (C₃) (Tabel 2.). Sehingga, berdasarkan analisis NMR yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa isolat memiliki struktur berupa ethyl p-methoxycinnamate.



Gambar 5. Perkiraan pola fragmentasi spektroskopi massa kemungkinan terdapatnya EPMC pada peak nomor 8



Gambar 6. Spektrum 1H-NMR isolat EPMC (kloroform-d, 500 MHz)



Gambar 7. Spektrum 13C-NMR isolat EPMC (kloroform-d, 125 MHz)

Presentase Kadar EPMC dalam Isolat dan Ekstrak Metanol *Kaempheria galanga*

Penentuan kadar isolat EPMC dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan HPLC. Perhitungan kadar menggunakan HPLC reverse phase dan kolom Simetri C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm). Fase gerak menggunakan air:

asetonitril (40:60, v/v), laju elusi 1,0 ml/menit, dan volume injeksi diatur sebesar 20 μl. Waktu retensi standar EPMC, isolat EPMC, dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* berturut-turut adalah 5,482; 5,471; dan 5,465 menit, dimana dapat dilihat pada kromatogram HPLC isolat EPMC (Gambar 8). Persentase kadar EPMC yang terdapat pada isolasi senyawa dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* adalah $90,40 \pm 3,62\%$ dan $49,57 \pm 0,630\%$ (Tabel 3.).

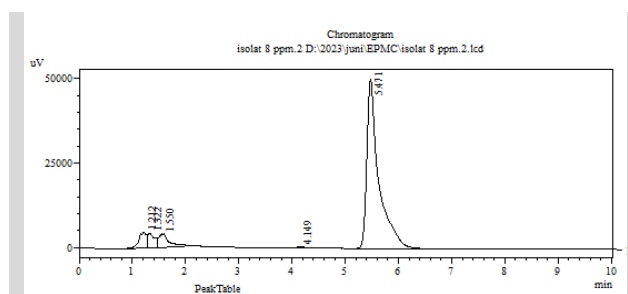
Tabel 3. Hasil perhitungan kadar isolat EPMC dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* dalam metanol P.A. menggunakan HPLC

Nama	Replikasi	Konsentrasi yang ditambahkan (μg/ml)	Konsentrasi yang ditemukan (μg/ml)	% kadar	Rata-rata ± Standar Deviasi (SD, %)
Isolat EPMC	1	8	7,00	87,51	90,40 ± 3,62
	2	8	7,13	89,12	
	3	8	7,56	94,55	
Ekstrak Kencur	1	20	9,42	47,10	49,57 ± 0,63
	2	20	9,70	48,50	
	3	20	10,62	53,12	

Tabel 4. Hasil perhitungan kadar isolat EPMC dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* dalam metanol P.A. menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

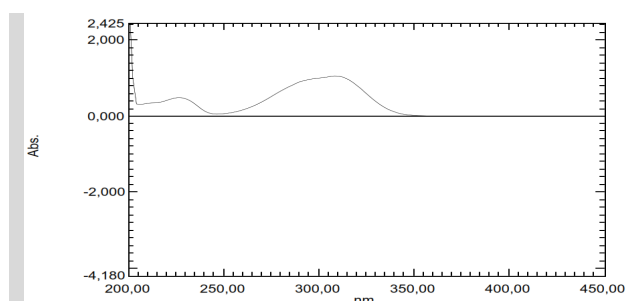
Nama	Replikasi	Konsentrasi yang ditambahkan (µg/ml)	Konsentrasi yang ditemukan (µg/ml)	% kadar	Rata-rata ± SD (%)
Isolat EPMC	1	8	0,8751	87,5126	91,29± 3,66
	2	8	0,9506	95,0578	
	3	8	0,9129	91,2852	
Ekstrak Kencur	1	20	0,4154	41,5443	40,61± 0,25
	2	20	0,3918	39,1801	
	3	20	0,4109	41,0915	

Pada penentuan kadar menggunakan spektrofotometer UV-Vis, panjang gelombang maksimum (λ_{max}) standar EPMC dalam pelarut metanol diperoleh sebesar 308 nm (Gambar 9). Persentase kadar EPMC yang terdapat pada isolasi senyawa dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* adalah 91,29 ± 3,66 % dan 40,61 ± 0,25 % (Tabel 4.).



Gambar 8. Kromatogram HPLC Isolasi EPMC

PEMBAHASAN



Gambar 9. Panjang gelombang maksimum EPMC pada Spektrofotometer UV-Vis

Obat dari bahan alam memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penemuan obat baru. Beberapa komponen senyawa dari bahan alam telah dipelajari aktivitas farmakologinya, dan beberapa bahkan sudah digunakan sebagai obat. Komponen utama *Kaempheria galanga* yaitu ethyl p-methoxycinnamate diisolasi menggunakan pelarut etanol. Pada penelitian ini kristal EPMC yang diperoleh diidentifikasi dengan KLT, GC-MS, dan NMR sementara kadar kristal EPMC dihitung menggunakan HPLC dan spektrofotometer UV-Vis.

Identifikasi kualitatif isolat EPMC menggunakan KLT yang dielus pada fase gerak dan diamati spot noda yang terbentuk. Perbandingan spot noda standar dan isolat EPMC (Gambar 2.) menunjukkan bahwa EPMC terdapat dalam hasil isolasi *Kaempheria galanga*. Identifikasi lanjutan isolat EPMC menggunakan GC-MS, 1H-NMR, dan 13C-NMR. Identifikasi menggunakan data GC-MS, membuktikan bahwa isolasi senyawa dari *K. galanga* kemungkinan besar mengandung senyawa EPMC. Karena ciri-ciri EPMC yang ditunjukkan sama dengan senyawa hasil isolasi yang telah dianalisis

menggunakan GC-MS antara lain: EPMC mempunyai BM 206 sama seperti senyawa dalam isolat *Kaempheria galanga*. Selain itu, EPMC juga memiliki gugus yang sama dengan fragmen-fragmen dalam senyawa yang dianalisis. Apabila fragmen tersebut disatukan akan menjadi struktur EPMC. EPMC dari hasil analisis memiliki luas area 1577654095 dengan presentase area (% area) sebesar 86,28% dari total isolasi *Kaempheria galanga*.

Pada penelitian ini selain mengidentifikasi senyawa EPMC pada isolasi dari *Kaempheria galanga*, dilakukan pula perhitungan kadar isolat EPMC dan ekstrak metanol *Kaempheria galanga* menggunakan dua alat yaitu HPLC dan spektrofotometer UV-Vis. Penggunaan dua alat ini untuk membandingkan kadar EPMC pada masing-masing alat. Berdasarkan perhitungan kadar diperoleh nilai dari kedua alat tersebut tidak jauh berbeda yaitu pada kadar isolat senyawa menggunakan HPLC dan spektrofotometer UV-Vis adalah 90,40 ± 3,62 %, dan 91,29 ± 3,66 %. Sedangkan untuk kadar ekstrak metanol *Kaempheria galanga* menggunakan HPLC dan spektrofotometer UV-Vis adalah 49,57 ± 0,63 % dan 40,61 ± 0,25 %.

KESIMPULAN

Metode isolasi EPMC dari tanaman kencur (*Kaempheria galanga*) menggunakan soxhlet sebagai alat ekstraksi memberikan rendemen ekstrak dan rendemen isolat yang tinggi. Hasil identifikasi menunjukkan isolasi dari *Kaempheria galanga* merupakan senyawa ethyl p-methoxycinnamate. Menggunakan metode ini pula presentase kadar EPMC menunjukkan kadar yang tinggi yaitu kadar pada isolat senyawa menggunakan HPLC dan spektrofotometer UV-Vis adalah 90,40 ± 3,62%, dan 91,29 ± 3,66%. Sedangkan untuk kadar ekstrak metanol *Kaempheria galanga* adalah 49,57 ± 0,63% dan 40,61 ± 0,25%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Studi ini didukung secara finansial oleh Direktorat Pendanaan Riset dan Inovasi Badan Riset dan Inovasi Nasional. Pelaksanaan program Riset dan Inovasi untuk Indonesia Maju Gelombang 2 Tahun 2022 (No. 96/IV/KS/11/2022 dan No. 4538/UN4.22/PT.01.03/2022).

DAFTAR PUSTAKA

1. Afifa, R. M., Kusuma, W. A., & Annisa, A. (2022). Ontology Data Modeling of Indonesian Medicinal Plants and Efficacy. *INTENSIF: Jurnal Ilmiah Penelitian dan Penerapan Teknologi Sistem Informasi*, 6(2), 218-232.
2. Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2021). Natural products in drug discovery: Advances and opportunities. *Nature reviews Drug discovery*, 20(3), 200-216.
3. Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life sciences*, 78(5), 431-441.
4. Batubara, I., Assaat, L., Irawadi, T., Mitsunaga, T., & Yamauchi, K. (2011). Effect of sniffing of kencur (*Kaemferia galanga*) essential oils in rats. *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants* 1023,

5. Chowdhury, M. Z., Al Mahmud, Z., Ali, M. S., & Bachar, S. C. (2014). Phytochemical and pharmacological investigations of rhizome extracts of *Kaempferia galanga*. *Int. J. Pharmacogn*, 1(3), 185-192.
6. Elshamy, A. I., Mohamed, T. A., Essa, A. F., Abd-El Gawad, A. M., Alqahtani, A. S., Shahat, A. A., ... & Hegazy, M. E. F. (2019). Recent advances in *Kaempferia* phytochemistry and biological activity: A comprehensive review. *Nutrients*, 11(10), 2396.
7. Elya, B., Kusuma, I. M., Jufri, M., & Handayani, R. (2016). Antibacterial tests against acne in vitro, the physical stability and patch test using cream containing ethyl p-methoxycinnamate extracted from *Kaempferia galanga* L., Rhizoma. *Research Journal of Medicinal Plant*, 10(8), 426-434.
8. Hakim, A., Andayani, Y., & Rahayuan, B. D. (2018). Isolation of ethyl p-methoxy cinnamate from *Kaempferia galanga* L. *Journal of Physics: Conference Series*.
9. Harvey, A. L. (2008). Natural products in drug discovery. *Drug discovery today*, 13(19-20), 894-901.
10. Hasali, N. H. M., Omar, M. N., Zuberdi, A. M., & Alfarrar, H. Y. (2013). Biotransformation of ethyl p-methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L. using *Aspergillus niger*. *International Journal of Biosciences*, 3(7), 148-155.
11. Ichwan, S. J., Husin, A., Suriyah, W. H., Lestari, W., Omar, M. N., & Kasmuri, A. R. (2019). Anti-neoplastic potential of ethyl-p-methoxycinnamate of *Kaempferia galanga* on oral cancer cell lines. *Materials Today: Proceedings*, 16, 2115-2121.
12. Kumar, A. (2020). Phytochemistry, pharmacological activities and uses of traditional medicinal plant *Kaempferia galanga* L.—An overview. *Journal of ethnopharmacology*, 253, 112667.
13. Lallo, S., Hardianti, B., Sartini, S., Ismail, I., Laela, D., & Hayakawa, Y. (2022). Ethyl P-Methoxycinnamate: An Active Anti-Metastasis Agent and Chemosensitizer Targeting NFκB from *Kaempferia galanga* for Melanoma Cells. *Life*, 12(3), 337.
14. Nasution, R., Candain, C. N., Saidi, N., Bahi, M., & Marianne, M. (2021). Isolation of Ethyl p-Methoxycinnamate from *Azadirachta indica* Root Bark as Hong Kong Caterpillar (*Tenebrio molitor*) Antifeedant. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(6), 1348-1357.
15. Salim, A. A., Chin, Y. W., & Kinghorn, A. D. (2008). Drug discovery from plants. *Bioactive molecules and medicinal plants*, 1-24.
16. Prasetyo, Prasetyo dan Entang, Inorah Sukarjo., (2013) PEMBUATAN SIMPLISIA. In: PENGELOLAAN BUDIDAYA TANAMAN OBAT-OBATAN (Bahan Simplisia). Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB, Bengkulu, pp. 17-25. ISBN 978-602-9071-10-8.
17. Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 8(1).
18. Srivastava, N., Mishra, S., Iqbal, H., Chanda, D. and Shanker, K., 2021. Standardization of *Kaempferia galanga* L. rhizome and vasorelaxation effect of its key metabolite ethyl p-methoxycinnamate. *Journal of ethnopharmacology*, 271, p.113911
19. Umar, M. I., Asmawi, M. Z., Sadikun, A., Majid, A. M. S. A., Al-Suede, F. S. R., Hassan, L. E. A., Altaf, R., & Ahamed, M. B. K. (2014). Ethyl-p-methoxycinnamate isolated from *Kaempferia galanga* inhibits inflammation by suppressing interleukin-1, tumor necrosis factor- α , and angiogenesis by blocking endothelial functions. *Clinics*, 69, 134-144.
20. Wang, S.Y., Zhao, H., Xu, H.T., Han, X.D., Wu, Y.S., Xu, F.F., Yang, X.B., Göransson, U. and Liu, B., 2021. *Kaempferia galanga* L.: Progresses in phytochemistry, pharmacology, toxicology and ethnomedicinal uses. *Frontiers in Pharmacology*, 12, p.67535

Sitasi artikel ini: Hasan N, Fatimah SN, Anugerah, Raihan M, Subehan, Mustopa AZ, Irawan H, Haedar JR, Habibie. Isolasi dan Identifikasi Ethyl P-Methoxycinnamate (EPMC) dari Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga*) sebagai Kandidat Senyawa Antikanker *MFF 2023;27(3):140-146*