

ANALISIS PROFIL METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK LEMPUYANG EMPRIT DENGAN KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROSKOPI MASSA

Dedi Hanwar¹, Andi Suhendi², Ika Trisharyanti³, Broto Santoso⁴, Meisa Safitri⁵, dan Haryoto⁶

¹⁻⁶Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

¹email: dedi.hanwar@ums.ac.id

²email: andi.suhendi@ums.ac.id

³email: kyandika@yahoo.com

⁴email: broto.santoso@ums.ac.id

⁵email: meisafitri@ymail.com

⁶email: har254@ums.ac.id

Abstract

Lempuyang emprit (Zingiber amaricans Bl) is one of the plants species that contain secondary metabolites that are important in diseases treatment. This study was conducted to determine the secondary metabolites contained in the ethanol extract of lempuyang emprit from two regions (Semarang and Yogyakarta) after derivatized and determine its zerumbone level. Metabolite profile analysis performed by gas chromatography with mass spectroscopy detector, split injection system, and helium as the mobile phase at a constant rate of 3.0 mL/min and derivatized with BSTFA (N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroasetamid). While zerumbone levels determined by the same method but without derivatization. The results showed that there were differences in secondary metabolite profiles of ethanol extract of lempuyang emprit from Semarang and Yogyakarta, and the zerumbone levels also differ in the two extracts were 24.04% w/w (Semarang) and 30.32% w/w (Yogyakarta).

Keywords: *Zingiber amaricans Bl, GC-MS, BSTFA, Metabolite profiling, zerumbone*

1. PENDAHULUAN

Zingiber amaricans Bl. memiliki nama lokal lempuyang emprit (Tjitrosoepomo dan Gembong, 1993) banyak dibudidayakan oleh masyarakat di pulau Jawa (Backer dan Van Den Brink, 1965) kini telah banyak diteliti. Riyanto (2007) dan Sukari *et al.*, (2008) telah meneliti kandungan utama lempuyang emprit menggunakan GC-MS, diketahui bahwa kandungan utama lempuyang emprit adalah zerumbon yaitu suatu senyawa sekunder. Zerumbon adalah sesquiterpen monosiklik, yang memiliki potensi anti-inflamasi dengan efek seperti piroksikam (Somchit, 2012). Zerumbon juga mampu menghambat HIV dan sitotoksik. Zerumbon dilaporkan berpotensi sebagai agen kemoterapi pada pengobatan kanker serviks dan ovarium, zerumbon mampu menghambat pertumbuhan sel kanker tersebut (Abdelwahab *et al.*, 2012). Selain itu zerumbon dapat digunakan juga untuk mengobati leukimia (Huang *et al.*,

2005), dan juga digunakan sebagai agen imunomodulator (Keong *et al.*, 2010).

Metabolite profiling adalah suatu metode identifikasi dan penentuan kuantitatif dari sejumlah besar metabolit, yang umumnya berhubungan dengan jalur metabolit spesifik (Ellis *et al.*, 2007). Penggunaan profil metabolit dapat memberikan tampilan komparatif fungsi gen. Profil metabolit memiliki potensi tidak hanya dapat memberikan wawasan lebih dalam proses regulasi yang kompleks, tetapi juga dapat menentukan fenotipe secara langsung (Fiehn *et al.*, 2000).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit yang terkandung dalam rimpang lempuyang emprit menggunakan metode analisis GC-MS dengan derivatisasi. Analisis metabolit berbasis GC-MS memiliki aplikasi yang spesifik dalam menemukan analit suatu obat atau herbisida. Selain itu dapat membantu mengungkapkan ekspresi gen yang berubah karena metabolisme dalam

aplikasi bioteknologi. Keunggulan *GC-MS* pada profil metabolit adalah cepat, handal dan Identifikasi yang jelas. Hal ini berlaku untuk ratusan metabolit yang sangat kompleks, seperti plasma darah, ekstrak, tanaman yang kompleks, mikroba intraseluler, dan sampel hewan (Schauer, 2005). Derivatisasi dilakukan untuk mengubah suatu senyawa menjadi senyawa lain, sehingga senyawa tersebut memiliki sifat-sifat yang sesuai untuk dilakukan analisis menggunakan *GC* (Rohman, 2007).

2. KAJIAN LITERATUR

Profil Metabolit

Metabolit sekunder adalah zat kimia bukan nutrisi yang memainkan peran penting dalam proses keberadaan dan evaluasi bersama antar jenis di lingkungan (Mursyidi, 1989). Peran umum dari metabolit sekunder pada tanaman adalah mekanisme pertahanan terhadap herbivora (vertebrata dan serangga), mikroba (bakteri, jamur, dan virus), dan kompetisi untuk bertahan hidup. Jalur metabolisme metabolit sekunder yang terkandung dalam rimpang lempuyang gajah dapat melalui jalur asam asetat, jalur asam sikimat dan jalur asam mevalonat.

Konsentrasi metabolit sekunder dan komposisinya dipengaruhi oleh faktor internal (genetik, kondisi kesehatan tanaman, umur) dan faktor eksternal (lingkungan, perawatan dengan obat) (Fancy and Rumpel, 2008). Metabolit sekunder mempunyai peran yang mendukung keberadaan organisme di lingkungan, yaitu sebagai hasil detoksifikasi metabolit primer, signal intraorganisme, signal komunikasi antar organisme, dan sistem keseimbangan ekologi (Mursyidi, 1989).

Salah satu analisis metabolit adalah *metabolite profiling*, yaitu metode untuk identifikasi dan penentuan kuantitatif dari sejumlah besar metabolit, yang umumnya berhubungan dengan jalur metabolit spesifik (Ellis *et al.*, 2007). *Metabolite profiling* harus cepat, sensitif, bisa diotomatisasi, reliabel, dan mampu mencakup banyak metabolit (Fiehn *et al.*, 2000). *Metabolite profiling*

digunakan untuk membaca sekilas semua metabolit yang dapat dideteksi dengan menggunakan metode analisis yang sesuai (Villas-Boas *et al.*, 2005).

Kromatografi gas spektroskopi massa (KGSM) telah lama digunakan sebagai metode *metabolite profiling* karena memiliki reproduktibilitas yang baik dan aplikasi yang luas untuk berbagai jenis kelas metabolit (Dunn *et al.*, 2005; Fiehn *et al.*, 2000). Profil metabolit dengan KGSM untuk sampel biologi adalah salah satu teknologi kunci untuk *metabolite profiling* (Kopka, 2006). *Metabolite profiling* dengan KGSM meliputi 6 tahap yaitu ekstraksi metabolit dari sampel, derivatisasi metabolit untuk membuatnya volatil dan mudah diterima KG (untuk senyawa yang tidak mudah menguap), pemisahan dengan KG, ionisasi senyawa yang dielusi dari KG, deteksi ion molekuler, dan evaluasi data dimulai dengan mencocokkan waktu retensi dengan pola fragmentasi spektra massa dari referensi database (Desbrosses, 2005).

Lempuyang emprit (*Zingiber amaricans* Bl.)

Berdasarkan penelitian identifikasi dan isolasi Riyanto (2007) terhadap *Zingiber amaricans* Bl. yang diperoleh dari pasar Bringharjo-Yogyakarta dengan *GC-MS* diperoleh komponen utama dari rimpang *Zingiber amaricans* Bl. adalah zerumbon. Sedangkan komponen lainnya adalah campuran dari phytosterol yaitu Cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, β -Sitosterol. Sukari *et al* (2008) mengidentifikasi kandungan kimia dari minyak atsiri rimpang *Zingiber amaricans* Bl. dengan *GC-MS* didapatkan sesquiterpen teroksigenasi dengan komponen utamanya adalah zerumbon (40,7%), komponen lainnya adalah ester aromatik, benzil heptanoat (23,5%), monoterpen (8,2%), monoterpen teroksigenasi (10,6%). Sedangkan profil metabolit dari ekstrak rimpang lempuyang emprit belum dilakukan.

3. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

- i. Alat yang digunakan
Neraca analitik, sonikator (Branson 2510), seperangkat alat gelas, seperangkat Kromatografi Gas Shimadzu-GC 2010 dilengkapi dengan Shimadzu-GC 2010S mass selective detector dengan kolom RxiTM-IMS.
- ii. Bahan yang digunakan
Ekstrak etanol 96% *Zingiber amaricans* Bl. dari dua daerah yang berbeda dengan pelarut metanol, BSTFA (N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroasetamid).

Jalannya Penelitian

- i. Preparasi sampel
Preparasi sampel dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam metanol *p.a.*, dilakukan replikasi 3x.
- ii. Optimasi suhu kolom
Proses optimasi dilakukan dengan memprogram suhu injektor 280° C, suhu kolom diprogram 70° (5 menit) – 270° C (15 menit) dengan kenaikan suhu diatur 10° C/menit. Kecepatan gas pembawa 3,0 mL/menit.
- iii. Derivatisasi
Proses derivatisasi pada penelitian ini menggunakan BSTFA dengan pemanasan. Masing-masing 10 mg ekstrak dimasukkan kedalam vial, dilarutkan dengan metanol *p.a.* sampai 5 mL, sampel diambil 100 µL dan dikeringkan, kemudian ditambahkan 100 µL BSTFA. Vial di Vortex dan dipanaskan pada suhu 60°C – 70°C selama 10 menit. Setelah dingin sampel diinjeksi 100µL.
- iv. Analisis metabolit sekunder ekstrak lempuyang emprit menggunakan GC-MS
Analisis dilakukan dengan menggunakan Shimadzu-GC 2010 dilengkapi dengan Shimadzu-GCMS 2010S mass selective detector dan kolom kapiler RxiTM-IMS (30m x 0,25mm, ketebalan lapisan 0,25µm). Gas pembawa digunakan helium dengan laju konstan 1 mL/menit, diinjeksikan sebanyak 1 µL (split ratio 10:1), suhu injector 280°C, suhu kolom diprogram 70° (5 menit) – 270° C (15menit) dengan kenaikan suhu diatur 10°

C/menit. Kondisi GC-MS : ion source temp 250° C, interface temp 300° C dan solvent cut time 3 menit (Mulyani, 2010). Komponen diidentifikasi dengan membandingkan spektra massa sampel dengan internal Willey Library.

- v. Penetapan kadar zerumbon
Pembuatan kurva baku zerumbon dibuat dengan MS program: waktu mulai 10 menit, waktu akhir 17 menit, metode: SIM (107, 135, 96, dan 41). Penetapan kadar zerumbon menggunakan persamaan regresi linier $Y = bx + a$ dari 5 seri konsentrasi.

Pembuatan sampel dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam metanol *p.a.* Dilakukan pengenceran 2x, yaitu dengan mengambil larutan sebanyak 500 µL dengan mikro pipet ke dalam tabung ependrof, kemudia ditambahkan metanol *p.a.* sampai 1 mL.

Analisis Data

Profil metabolit sekunder didapatkan dengan membandingkan kandungan metabolit sekunder yang telah diperoleh dengan spektra massa sampel terhadap internal Willey Library. Optimasi dilakukan dengan Suhu injektor 280°C, suhu kolom diprogram 70° (5 menit) – 270° C (15menit) dengan kenaikan suhu diatur 10° C/menit. Kondisi GC-MS : ion source temp 250° C, interface temp 300° C dan solvent cut time 3 menit.

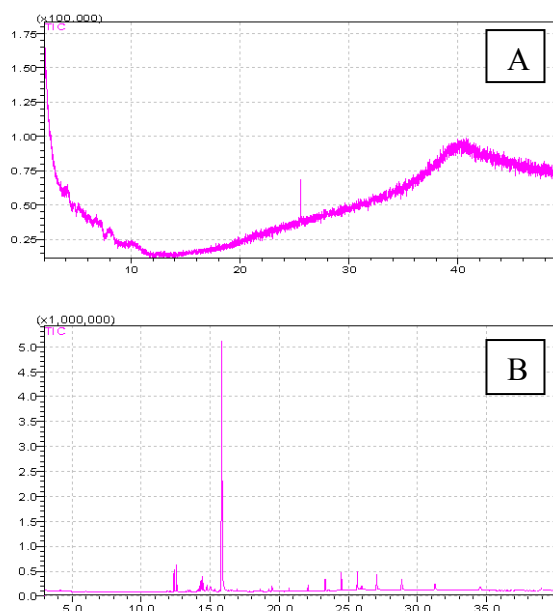
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Suhu Kolom

Optimasi yang dilakukan dalam menganalisis profil metabolit ekstrak rimpang lempuyang emprit yaitu berupa optimasi suhu kolom. Optimasi ini dilakukan agar didapatkan pemisahan yang optimal. Penerapan suhu kolom dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Riyanto (2007) dengan suhu injektor diprogram 60° C, suhu kolom diprogram 80° (2 menit) – 265° C (10 menit) dengan kenaikan suhu diatur 3° C/menit. Penerapan metode optimasi yang dilakukan oleh

Riyanto (2007) pada penelitian ini belum memberikan pemisahan yang baik.

Optimasi selanjutnya menggunakan metode yang dilakukan oleh Mulyani (2010) terhadap fraksi kristal minyak *Zingiber zerumbet* dimana suhu injektor diprogram 280° C, suhu kolom diprogram 70° (5 menit) – 270° C (15 menit) dengan kenaikan suhu diatur 10° C/menit. Kecepatan gas pembawa 3,0 mL/menit. Penerapan metode ini memberikan hasil pemisahan yang cukup baik (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit (A) metode optimasi kolom Ryanto (2007), (B) metode Mulyani (2010)

Derivatisasi

Derivatisasi ditujukan untuk memperbaiki sifat volatilitas suatu senyawa sehingga dapat dianalisis dengan kromatografi gas. Metode derivatisasi yang digunakan adalah sililasi. Reaktifitas derivat sililasi berdasarkan kemampuan penyumbang silil. Derivat ini sering digunakan untuk menggantikan eter akil pada analisis sampel yang bersifat polar. BSTFA (N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroasetamid) merupakan agen pembentuk derivat trimetilsilil (TSM) yang

selektif dan merupakan agen pilihan untuk gugus amino (Rohman, 2009).

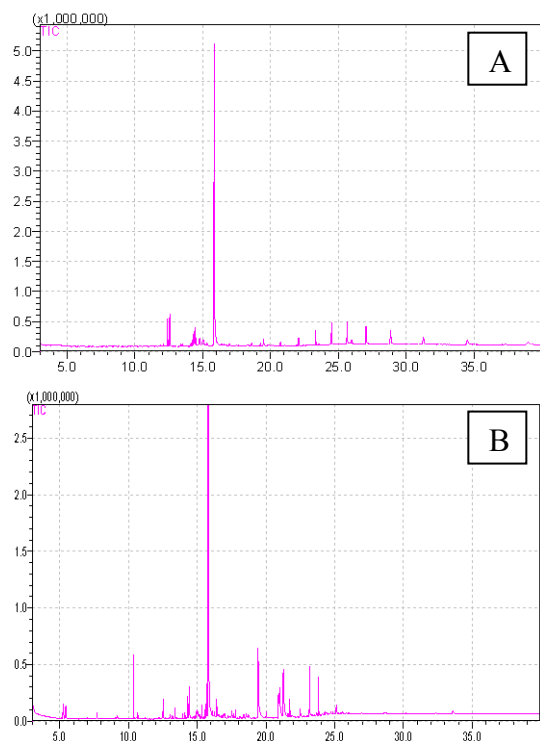
Analisis profil metabolit *Z. amaricans* menggunakan GC-MS dengan derivatisasi BSTFA dilakukan dengan pemanasan pada suhu 60°-70°C. BSTFA merupakan derivat yang memiliki keunggulan yaitu merupakan derivat yang mampu menderivatisasi banyak analit. Adapun pemanasan pada proses derivatisasi ditujukan untuk memastikan kelarutan metabolit sekunder seperti amina sekunder, alkohol tersier, dan amida. Senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus fungsional yang sukar diderivatisasi sehingga memerlukan pemanasan. Identifikasi dan isolasi *Zingiber amaricans* Bl. dengan GC-MS yang dilakukan oleh Riyanto (2007) mengungkapkan bahwakomponen utama *Zingiber amaricans* Bl. adalah zerumbon, selain itu dia juga menemukan komponen kecil lainnya berupa campuran phytosterol yaitu Cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, β -Sitosterol. Analisis dengan derivatisasi pada penelitian ini mengungkapkan pula senyawa-senyawa lain seperti senyawa-senyawa asam, kolesterol, karipilen oksid, alpha-Humulen, valerianol, myrtenol, skavalen, dan zerumbon sebagai senyawa mayor.

Analisis Profil Kromatografi dengan Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS)

Analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol lempuyang emprit dari dua daerah yang berbeda. Kriteria utama untuk pemilihan puncak yang sesuai untuk dilakukan identifikasi memiliki puncak (>0,05 %) (Mahdi *et al*, 2010). Hasil analisis GC-MS diekspresikan dalam bentuk puncak (peak), mewakili senyawa yang berbeda. Masing-masing puncak dianalisis menggunakan spektrometer massa dan dibandingkan dengan *internal Willey Library* versi 7 yang telah terintegrasi dengan GC-MS. Metode GC-MS memiliki kelemahan berupa waktu analisis yang lambat, perlunya modifikasi kimia, dan terbatasnya jumlah

molekul yang dapat dianalisis (Want *et al.*, 2005).

Profil kromatogram menunjukkan pola yang berbeda antara ekstrak rimpang lempuyang emprit tanpa dan dengan derivatisasi. Analisis ekstrak rimpang lempuyang emprit dengan derivatisasi menunjukkan *peak-peak* yang lebih banyak (Gambar 2).



Gambar 2. (A) kromatogram lempuyang emprit tanpa derivatisasi; (B) kromatogram lempuyang emprit dengan derivatisasi

Metabolit dengan kadar relatif tinggi seperti zerumbon dan asam palmitat selalu muncul pada kromatogram baik tanpa maupun dengan derivatisasi, tetapi metabolit-metabolit dengan kadar relatif yang rendah tidak selalu muncul. Analisis ekstrak rimpang lempuyang emprit tanpa derivatisasi tidak dapat mengungkapkan metabolit-metabolit asam dengan baik. Senyawa-senyawa asam memiliki sifat polar dimana senyawa yang memiliki sifat polar memiliki sifat volatilitas yang kurang baik sehingga pada sampel tanpa derivatisasi tidak dapat

mengungkap metabolit-metabolit asam dengan baik.

Tabel 1. Perbandingan metabolit ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit dari Semarang tanpa dan dengan derivatisasi

Metabolit	Tanpa derivatisasi	Dengan derivatisasi
Acetylen	-	+
Alpha-Humulen	+	+
Asam 11-Cis-Octadecenoat	-	+
Asam Dihidroxymaleic	+	+
Asam Hydroxymalonic	-	+
Asam Laktat	-	+
Asam Linoleic	-	+
Asam Malic	-	+
Asam Malonic	-	+
Asam Mandelic	-	+
Asam Mercaptoacetic	+	+
Asam Miristat	-	+
Asam Oxalat	+	+
Asam Palmitat	+	+
Asam Stearat	-	+
Asam Trans-9-Octadecenoat	-	+
Gamma-Hydroxybutyric	-	+
Glyoxalic Hydrate	+	+
Myrtenol	-	+
Skavalen	-	+
Tertadecamethylhexasil oxane	+	+
Tryptophane	+	-
Valerianol	-	+
Zerumbon	+	+

Keterangan: (+) ada metabolit; (-) tidak ada metabolit

Analisis terhadap ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit dilakukan hanya pada lempuyang emprit asal Semarang. Analisis ini ditujukan untuk membandingkan profil metabolit yang mendapat perlakuan tanpa dan dengan derivatisasi. Analisis diamati pada *integrationarea* 150.000. Didapatkan 9 metabolit tanpa derivatisasi dan 22 metabolit dengan derivatisasi yang dapat teridentifikasi (Tabel 1).

Analisis terhadap sampel dengan derivatisasi mampu mengungkapkan metabolit-metabolit asam dan kolesterol yang

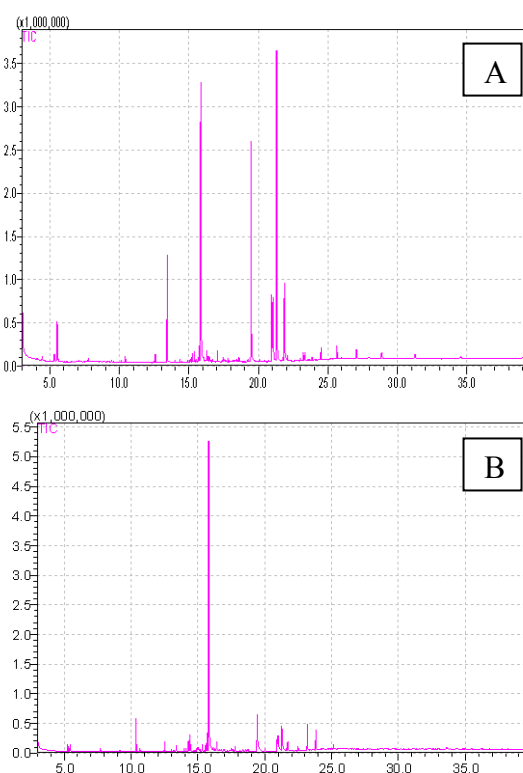
sebelumnya tidak muncul pada kromatogram tanpa derivatisasi. Selain senyawa asam yang memiliki sifat volatilitas yang buruk sehingga sulit dilakukan identifikasi dengan GC, kolesterol juga memiliki kendala untuk dilakukan identifikasi menggunakan GC. Kolesterol merupakan senyawa yang sulit terdeteksi oleh GC. Derivatisasi mampu meningkatkan deteksi dari kolesterol (Rohman, 2009). Derivatisasi sililasi mampu memperbaiki sifat-sifat senyawa asam dan meningkatkan deteksi pada senyawa kolesterol sehingga cocok untuk dilakukan analisis dengan GC. Kolesterol muncul pada profil metabolit sekunder lempuyang emprit dari Yogyakarta.

Analisis terhadap ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit dari dua daerah yang berbeda yaitu Semarang dan Yogyakarta diamati pada *integration area* 150.000 mengungkapkan sekitar 19-22 variasi metabolit dan kadar relatif yang dapat terdeteksi oleh GC-MS.

Profil metabolit sekunder yang ditunjukkan lempuyang emprit dari Semarang dan Yogyakarta mengungkapkan adanya variasi metabolit dan kadar relative (Gambar 3). Suatu metabolit dapat ditemukan pada lempuyang emprit dari Semarang tetapi tidak ditemukan pada lempuyang emprit dari Yogyakarta, begitu juga sebaliknya.

Sebelumnya Riyanto (2007) menemukan konstituen utama rimpang *Zingiber amaricans* adalah 2,6,9 humulatrien-8-satu (zerumbon), dan konstituen kecil adalah campuran phytosterol terdiri β -sitosterol, kolesterol, campesterol dan stigmasterol, sementara itu Sukari *et al* (2008) mengidentifikasi kandungan kimia dari rimpang *Zingiber amaricans* dengan GC-MS didapatkan sesquiterpen teroksigenasi dengan komponen utamanya adalah zerumbon (40,7%), komponen lainnya adalah ester aromatik, benzil heptanoat (23,5%), monoterpen (8,2%), monoterpen teroksigenasi (10,6%). Namun pada penelitian ini ditemukan juga senyawa-senyawa asam, caryophyllene oxide, kolesterol, alpha-Humulen, valerianol, myrtenol, skvalen, dan zerumbon. Zerumbon

merupakan senyawa mayor. Senyawa mayor inilah yang akan menjadi senyawa marker pada rimpang lempuyang emprit (Tabel 2).



Gambar 3. Kromatogram lempuyang emprit dengan derivatisasi BSTFA dari Semarang (A) dan Yogyakarta (B)

Keberadaan metabolit berdasarkan kadar relatifnya terdiri dari senyawa mayor dengan kadar relatif (>5%) dan senyawa minor dengan kadar relatif kecil (<5%)(Faizah, 2012). Dari identifikasi yang terungkap ditemukan variasi metabolit dari tiap-tiap daerah. Suatu senyawa metabolit dapat ditemukan dalam suatu sampel, namun tidak ditemukan pada sampel yang lain, begitu juga sebaliknya. Selain itu juga terdapat perbedaan tingkat metabolit. Hal ini mungkin terjadi karena beberapa alasan seperti tingkat analit rendah (<0,05-1%) dan juga puncak tumpang tindih. Selain itu beberapa penelitian menyatakan bahwa faktor-faktor seperti iklim, zat polutan buatan, dan kompetisi dengan spesies lain dapat mempengaruhi pembentukan senyawa sekunder (Harborne, 1988). Sementara itu

menurut Saifudin *et al.*, (2011) faktor genetik, lingkungan tempat tumbuh, penambahan bahan pendukung pertumbuhan, waktu panen, penanganan pasca panen dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas metabolit sekunder, lanjutnya teknologi ekstraksi, teknologi pengentalan dan pengeringan ekstrak, serta cara penyimpanan ekstrak merupakan faktor penentu mutu ekstrak.

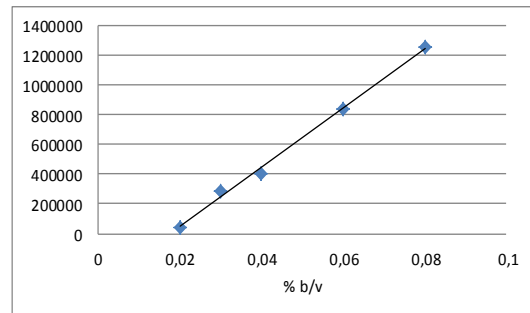
Tabel 2. Waktu retensi, keberadaan metabolit, dan level konsentrasi ekstrak lempuyangemprit dari Semarang dan Yogyakarta

RT ± SD (n = 3)	Metabolit	Keberadaan metabolit		Level konsentrasi	
		S	Y	S	Y
5,25 ± 0,01	Asam Butanoat	-	+	-	2
5,50 ± 0,01	Asam Laktat	+	+	2	2
10,37 ± 0,00	Gliserin	-	+	-	2
12,57 ± 0,00	α-Humulon	+	+	2	2
13,37 ± 0,00	Asam Malat	-	+	2	2
13,42 ± 0,00	Asam Malonat	+	-	1	-
14,29 ± 0,00	β-Selinon	-	+	-	2
14,42 ± 0,00	Kariopilen Oksid	-	+	-	2
15,21 ± 0,00	γ-Hidroksibutirat	+	-	2	-
15,59 ± 0,00	Valerianol	+	+	2	2
15,69 ± 0,00	Myrtenol	-	+	2	-
15,84 ± 0,00	Zerumbon	+	+	3	3
16,24 ± 0,00	Linalool Oksid	+	+	-	2
17,47 ± 0,00	Asam Miristat	+	-	2	-
19,43 ± 0,01	Asam Palmitat	+	+	3	2
20,95 ± 0,00	Asam Linoleat	+	+	-	2
21,02 ± 0,00	Asam Trans-9-Oktadenoat	+	-	2	-
21,08 ± 0,01	Asam 11-Cis-Oktadenoat	+	-	2	-
21,27 ± 0,01	Asam Stearat	+	+	3	-
21,72 ± 0,02	Kolesterol-Oleat	-	+	-	2
21,86 ± 0,00	Asetilen	+	-	2	-
22,48 ± 0,00	Skvalen	-	+	2	-
23,17 ± 0,00	Parterol	-	+	-	2
23,32 ± 0,00	Asam	+	-	2	-
23,81 ± 0,00	Dihidroksimaloat	-	+	-	2
24,49 ± 0,00	Asam Undekandioat	+	-	2	-
25,58 ± 0,00	Asam Oksalat	-	+	-	2
25,64 ± 0,00	Hidroksimalonat	+	-	2	-
27,04 ± 0,00	Hidrat Glyoxalat	+	-	2	-
28,85 ± 0,00	Tetradekametil hexasiloksan	+	-	2	-
31,26 ± 0,00	Asam	+	-	2	-
33,59 ± 0,01	Merkaptoasetat	+	-	2	2
34,52 ± 0,02	Asam Mandelat	-	+	-	2
	Kolesterol	+	-	1	2
	Asam	+	-	1	2
	Hidroksimalonat				

Keterangan: S: Semarang, Y: Yogyakarta; (+) ada metabolit; (-) tidak ada metabolit; (1): level <0,5%; (2): level 0.5-10%; (3): level >10%

Penetapan Kadar Zerumbon menggunakan GC-MS

Penetapan kadar zerumbon dilakukan dengan membuat beberapa seri konsentrasi (Gambar 4).



Gambar 4. Regresi linier seri kadar vs luas area

Kurva baku yang diperoleh adalah $Y = 2.10^7x - 355625$, dengan $R^2 = 0,9967$. Hasil persamaan regresi linier digunakan untuk mengetahui kadar rata-rata zerumbon yang terkandung dalam ekstrak etanol lempuyang emprit yang diperoleh dari Semarang dan Yogyakarta dengan replikasi 2 kali. Pada preparasi sampel, sampel tidak mendapat perlakuan derivatisasi. Hal ini dikarenakan zerumbon telah memiliki sifat volatilitas yang baik.

Hasil perhitungan kadar zerumbon rata-rata ekstrak lempuyang emprit dari Semarang sebesar 24,04% b/b sedangkan kadar rata-rata zerumbon pada ekstrak lempuyang emprit dari Yogyakarta sebesar 30,32 % b/b. Muklas (2013) menemukan kadar zerumbon ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit Yogyakarta diperoleh kadar rata-rata sebesar 31,07 %b/b. Menurut Oh *et al.*, (2002) variasi senyawa metabolit dipengaruhi faktor lingkungan, diferensial gen, dan faktor intrinsik seperti ketersediaan nutrisi. Variasi ekspresi gen dapat juga menyebabkan variasi dalam konsentrasi metabolit (Mahdi *et al.*, 2010).

5. SIMPULAN

- a. Analisis profil metabolit sekunder ekstrak lempuyang emprit (*Zingiber amiricans* BI.) menggunakan GC-MS dengan derivatisasi dari dua

daerah yang berbeda menunjukkan adanya variasi metabolit.

- b. Dari analisis kromatogram, zerumbon merupakan senyawa mayor. Selain itu ditemukan juga senyawa-senyawa asam, alpha-Humulen, kariofilen oksida, kolesterol, valerianol, myrtenol, dan skavalen.
- c. Kadar zerumbon rata-rata ekstrak lempuyang emprit dari Semarang sebesar 24,04% b/b dan dari Yogyakarta sebesar 30,32 % b/b.

6. REFERENSI

Abdelwahab, S.I., Abdul A. B, Zain, Z. N., Abdul, A. H, 2012, Zerumbone inhibits interleukin-6 and induces apoptosis and cell cycle arrest in ovarian and cervical cancer cells, *International Immunopharmacology*, 12 (4) : 594-602

Backer, C. A., and Van Den Brink, R. C. B., 1965, *Flora of Java: Spermatophytes only* Volume 3, N. V. P. Noordhoff-Groningen-The Netherlands, 45

Ellis, D.I., Dunn, W.B., Griffin, J.L., Allwood, J.W., Goodacre, R., 2007, Metabolic Fingerprinting as A Diagnostic Tool, *Pharmacogenomic Review*, 8(9), 1243-1266

Desbrosses, G., Steinhäuser, D., Kopka, J. & Udvardi, M., 2005. Metabolome Analysis Using GC-MS, *Lotus Japonicus Handbook*, Chapter 4.6, p. 166, Max-Planck-Institute Of Molecular Plant Physiology, Plant Nutrition Group, Germany

Dunn, W.B., Bailey, N.J.C. & Johnson, H.E., 2005. Measuring the metabolome: current analytical technologies, *Analyst*, 130, 606-625

Fancy, S.A., dan Rumpel, K., 2008. GC-MS-Based Metabolomics, dalam *Methods in Pharmacology and Toxicology: Biomarker Methods in Drug Discovery and*

Development, Humana Press, Totowa, hal 317–340

Fiehn, O., Kopka, J., Dormann, P., Altmann, T., Trethewey, R.N., Willmitzer, L., 2000, Metabolite profiling for plant functional genomics, *Nat. Biotech.* 18, 1157–1161

Harbone, 1988, *Introduction Of Ecological Biochemistry*. Edisi Ketiga. London. Academic Press

Huang, G. C., Chien, T. Y. Chen, L. G., Wang, C. C., 2005, Antitumor effects of zerumbone from *Zingiber zerumbet* in P-388D1 cells in vitro and in vivo, *Plant Med.* 71(3), 219-224

Keong Y.S., Alitheen, N. B., Mustafa, S., Aziz, S.A, Adul, R, M., Ali, A. M., 2010, Immunomodulatory Effects of Zerumbone Isolated from Roots of *Zingiber zerumbet*, *Pak J Pharm Sci.* 23(1) : 75-82

Kopka, J., 2006. Current Challenges and Developments in GC-MS Based Metabolite Profiling Technology, *Journal of Biotechnology*, 124 : 312–322

Mahdi H.J., Andayani R., Ishak, 2010, Metabolic Fingerprinting of Three Malaysian Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *American Journal of Applied Sciences* 7 (1): 17-23, 2010

Mukhlis, A., 2013, Penentuan Profil Kromatogram Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit (*Zingiber amaricans* Bl.) dan Penetapan Kadar Zerumbon-Nya Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Mulyani, S., 2010, Komponen dan antibakteri dari fraksi kristal minyak *Zingiber zerumbet*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(3), 178 – 184

- Mursyidi, A., 1989. *Analisis Metabolite Sekunder*. PAU Bioteknologi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, hal 1–7, 71–81
- Oh, M.K., Rohlin, L., Kao K.C., Liao, J.C., 2002. Global expression profiling of acetate-grown *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 277: 1375-1383
- Riyanto, S., 2007, Identification Of Isolated Compounds From *Zingiber amaricans* Bl. Rhizome, *Indo. J. Chem.*, 7 (1) : 93 – 96
- Rohman, A., 2009, *Kromatografi untuk Analisis Obat*, Graha Ilmu, Yogyakarta, hal. 442-443
- Saifudin, A., Rahayu, V., Teruna, H. Y., 2011, *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Yogyakarta, Graha Ilmu
- Schauer, N., Steinhäuser, D., Strelkov, S., Schomburg, D., Allison, G., Moritz, T., *et al.*, 2005, GC–MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples, *FEBS Letters*, 579, 1332–1337
- Somchit, M. N., 2012, Zerumbone Isolated from *Zingiber zerumbet* Inhibits Inflammation an Pain in Rats, *Juornal of Medicinal Plants Research*, 6 (2): 117-180
- Sukari, M. A., Sharif, N. W. M., Yap, A. L. C., Tang, S. W., Noeh, B. K., Rahman M., *et al.*, 2008, Chemical Constituents Variatiosns of Essential Oils from Rhizomes of Four Zingiberaceae Species, *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 12 (3): 638-644
- Tjitrosoepomo dan Gembong, 1989, *Taksonomi Tumbuhan obat-obatan*, hal. 113, 130, 394, 421-423, hal. 113, 130, 394, 421-423, Yogyakarta, UGM Press
- Villas-Boâs, S.G., Mas,S., Akesson, M., Smedsgaars, J. & Nielsen, J., 2005. Mass Spectrofotometry in Metabolome Analysis, *Mass Spectrofotometry Review*, 24, 613-646
- Want, E. J., Cravatt, B. F., Siuzdak, G., 2005, The Expanding Role of Mass Spectrometry in Metabolite Profiling and Characterization, *ChemBioChem*, 6, 1941-1951.