

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Teori

##### 1. Tanaman Kencur

Kencur merupakan tanaman obat dan aromatik yang bernilai tinggi dari famili Zingiberaceae. Tanaman ini berasal dari India, dan kencur dibudidayakan terutama di Asia Tenggara juga China. Di Indonesia, kencur dikenal dengan beberapa nama daerah, diantaranya kencor (Madura), ceuko (Aceh), kencur (Jawa), cikur (Sunda), cakue (Minangkabau) dan bataka (Ternate, Tidore). Menurut Preetha, *et al.* (2016), klasifikasi tanaman kencur ialah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)  
Sub Divisi : Angiospermae (Biji tertutup)  
Kelas : Monocotyledonae (Biji keping satu)  
Ordo : *Zingiberales*  
Famili : Zingiberaceae  
Genus : *Kaempferia* L.  
Spesies : *Kaempferia galanga* L.

Tanaman kencur tumbuh di iklim yang lembab dan hangat, yang dapat tumbuh pada ketinggian 1.500 mdpl. Susunan tubuh tanaman kencur terdiri dari akar, rimpang, batang, daun, bunga dan buah. Akar tanaman kencur termasuk

kedalam jenis akar tunggal yang mempunyai cabang halus dan menempel pada umbi akar (rimpang). Rimpang kencur umumnya berbentuk bulat dan berwarna putih pada bagian tengahnya serta kecoklatan pada bagian pinggirnya dan berbau harum.



**Gambar 1.** Tanaman kencur

Batang tanaman kencur berupa batang semu yang sangat pendek dan terbentuk dari pelepah yang saling menutupi. Daun tanaman kencur tumbuh tunggal, mendatar hampir rata dengan tanah dan melebar. Jumlah daun sekitar 8-10 helai dan berbentuk elip melebar hingga bundar berukuran 7-12 cm dan mempunyai lebar daun 3-6 cm, daun ini mempunyai daging agak tebal.

Bunga tanaman kencur berwarna putih, ungu hingga lembayung, dan keluar dalam bentuk buliran setengah duduk di sela-sela daun pada ujung tanaman. Tiap tangkai bunga mempunyai 4-12 kuntum bunga. Buah

kencur termasuk buah kotak yang mempunyai tiga ruang dengan bakal buah yang letaknya tenggelam. Buah kencur ini sulit untuk menghasilkan biji.

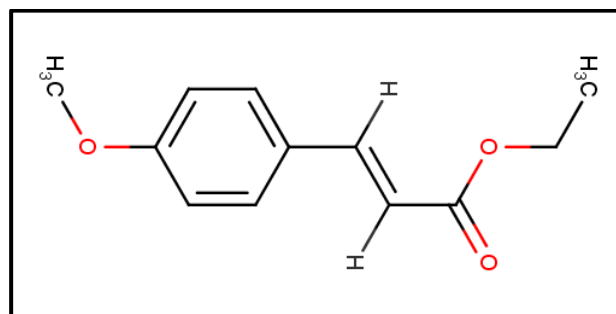
## 2. Kandungan dan Manfaat Kencur

Menurut Preetha (2016), kandungan yang terdapat dalam rimpang kencur yaitu minyak yang bersifat volatil (2,5-4%), beberapa jenis alkaloid, pati, mineral dan lemak. Kandungan *volatile oil* yang terdapat dalam rimpang lebih tinggi daripada yang terdapat dalam akar kencur. Kandungan minyak esensial dilaporkan mengandung 54 komponen dengan komponen utamanya yaitu etil-p-metoksisinamat (16,5%), pentadekana (9%), 1,8-sineol (5,7%), g-carene (3,3%) dan borneole (2,7%).

Sebagai tambahan, rimpang kencur juga mengandung camphene, kaempferol, kaempferide, sinamaldehyde, asam p-metoksisinamat, dan etil sinamat. Minyak yang mengandung terpen sebesar 16,4%. Komponen kimiawi dan aktivitas biologis dari *volatile oil* telah terbukti. Daun dan bunga dari *Kaempferia galanga* L. Menunjukkan aktivitas antiinflamasi.

Rimpang dan akarnya bersifat pahit, termogenik, tajam, karminatif, aromatis, depuratif, diuretik, ekspektoran, mudah dicerna, rentan, anthelmentik, penurun panas dan stimulan. Rimpang kencur ini baik digunakan untuk mengobati dispepsia, lepra, penyakit kulit, rematik, asma, batuk, bronkitis, luka, bisul, helminthiasis, demam, malaria, splenopathy, tumor inflamasi, hidung tersumbat dan wasir.

EPMS atau  $C_{12}H_{14}O_3$  merupakan senyawa terbanyak yang terkandung dalam kencur. EPMS mempunyai nama IUPAC ethyl (E)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-enoate. Senyawa ini merupakan turunan dari asam sinamat, dengan demikian jalur biosintesis senyawa ini melalui jalur biosintesis asam sikhimat. EPMS termasuk dalam senyawa ester yang mengandung gugus karbonil yang mengikat etil sehingga bersifat sedikit polar dan juga mengandung cincin benzen dan gugus metoksi yang bersifat non polar sehingga dalam melakukan ekstraksi dapat menggunakan pelarut yang mempunyai kepolaran bervariasi yaitu etanol, etil asetat, air, n-heksan dan metanol (Barus, 2009). Dalam pemilihan pelarut pada suhu kamar didapatkan hasil bahwa penggunaan pelarut n-heksan adalah pelarut yang paling sesuai. Hal ini ditandai dengan persentase hasil isolasi n-heksan mendapatkan yang tertinggi, yaitu sebesar 2,111% kemudian diikuti etanol (1,434%) dan etil asetat (0,542%), sedangkan akuades tidak terdapat kristal (Taufikkurohmah, 2005).



**Gambar 2.** Struktur Etil P-Metoksisinamat

### 3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan kromatografi planar, yaitu suatu teknik pemisahan komponen campuran dari suatu senyawa antara padatan penyerap (fase diam, adsorben) yang dilapiskan pada aluminium atau plat kaca dengan suatu pelarut (fase gerak) yang mengalir melalui adsorben (padatan penyerap). Proses pengaliran pelarut dikenal sebagai proses elusi atau proses pengembangan oleh pelarut. KLT memiliki peran penting dalam pemisahan senyawa organik maupun anorganik, karena analisisnya relatif cepat dan sederhana (Atun, 2014). Fase diam pada KLT merupakan serbuk halus lapis tipis yang dilapiskan pada lempeng kaca, logam atau plastik secara merata, yang umum digunakan yaitu lempeng kaca. (Farmakope Herbal, 2009). Fase diam yang paling digunakan yaitu *silica* dan serbuk selulosa. Fase gerak merupakan pelarut pengembang yang akan terus bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh gravitasi pada pengembangan menurun (*descending*) atau pengaruh kapiler pada pengembangan mekanis (*ascending*) (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 4. Uji *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)

Kromatografi gas-spektrometri massa atau GC-MS merupakan metode kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa guna menganalisis berbagai senyawa dalam suatu sampel. Kromatografi gas dan spektrometri massa memiliki prinsip kerja yang berbeda, namun keduanya dapat

digabungkan untuk mengidentifikasi suatu senyawa baik kualitatif maupun kuantitatif (Setyowati, dkk, 2013).

Kromatografi gas dan spektrometri massa dalam banyak hal mempunyai banyak kesamaan dalam teknisnya. Untuk keduanya, sampel yang dibutuhkan dalam bentuk fase uap, dan sama-sama membutuhkan jumlah sampel umumnya kurang dari 1 ng. Disisi lain, kedua teknik tersebut memiliki perbedaan yang berarti yaitu pada kondisi operasinya. Senyawa yang terdapat pada kromatografi gas digunakan sebagai gas pembawa dalam alat GC dengan tekanan  $\pm 760$  torr, sedangkan spektrometri massa beroperasi pada kondisi vakum dengan tekanan  $10^{-6} - 10^{-5}$  torr (Setyowati, dkk, 2013).

Kelebihan dari kromatografi gas yaitu kolom yang digunakan dapat lebih panjang, sehingga hasil efisiensi pemisahan lebih tinggi, analisis relatif singkat dan sensitivitas tinggi karena uap dan gas memiliki tingkat viskositas yang rendah, sehingga kesetimbangan partisi antara cairan dan gas berlangsung cepat. Reaktivitas fase gas terhadap zat-zat terlarut dan fase diam lebih rendah daripada fase cair. Metode ini memiliki kekurangan yaitu terbatasnya jenis sampel yang dapat dianalisis, yaitu hanya zat yang mudah menguap yang dapat dianalisis menggunakan GC-MS (Khopkar, 2003).

## 5. Reseptor Asetilkolin

Reseptor adalah suatu protein spesifik dalam tubuh yang dapat berinteraksi dengan obat atau metabolitnya. Reseptor merupakan tempat berinteraksinya molekul obat membentuk suatu kompleks yang reversibel sehingga menimbulkan respon (Basuki, 2017). Asetilkolin (Ach) adalah neurotransmitter yang berperan dalam fungsi sistem saraf otonom (sistem involunter: berfungsi untuk mengontrol aktivitas tubuh tanpa mempengaruhi kesadaran). Dalam sistem pernapasan, asetilkolin yang diproduksi baik melalui neuronal (saraf parasimpatetik) ataupun non neuronal (sel epitel dan endotel) bekerja melalui reseptor muskarinik untuk mengatur fungsi-fungsi fisiologis yang penting dari paru-paru, yaitu sebagai pertukaran gas dan penghalang serta pertahanan melawan patogen dan kotaminan lingkungan. Asetilkolin juga berperan dalam kontraksi otot polos saluran napas, mengatur sekresi mukus dan bronkokonstriksi (Buels dan Fryer., 2012).

Terdapat dua jenis asetilkolin, yaitu asetilkolin nikotinik dan muskarinik. Reseptor asetilkolin nikotinik merupakan reseptor yang terhubung dengan ligan saluran ion, sedangkan reseptor asetilkolin muskarinik terhubung ligan protein G berpasangan. Walaupun asetilkolin nikotinik terdapat di paru-paru dan berperan penting untuk neurotransmisi saraf parasimpatetik antara pre dan post ganglion, reseptor asetilkolin muskarinik merupakan target fisiologis utama untuk asetilkolin pada paru-paru.

Reseptor asetilkolin muskarinik terdapat lima subtipe, yaitu  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$ , dan  $M_5$ . Semua subtipe terdapat di paru-paru. Subtipe  $M_1$ ,  $M_3$ , dan  $M_5$  secara khas berpasangan dengan  $G\alpha_{q/11}$  sedangkan subtipe  $M_2$  dan  $M_4$  secara khas berpasangan dengan  $G\alpha_{i/o}$ . Saat ini, bukti kuat untuk peran fungsional hanya ada pada subtipe  $M_1$ ,  $M_2$ , dan  $M_3$ . Untuk obat-obatan antagonis muskarinik yang menargetkan reseptor tersebut biasanya digunakan untuk mengobati beberapa penyakit paru, diantaranya asma dan Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) (Buels dan Fryer, 2012).

Menurut Fisher, *et al.* (2004), dalam percobaan secara *in vivo* pada tikus yang mengalami kekurangan defisiensi gen reseptor muskarinik menunjukkan bahwa hanya reseptor  $M_3$  yang berkontribusi pada bronkokonstriksi yang diinduksi oleh stimulasi listrik saraf vagus atau *methalcoline* intravena. Dalam penelitian yang lainnya (Buels dan Fryer, 2012) menunjukkan bahwa kontraksi yang diinduksi oleh ligan reseptor muskarinik pada trakea dan bronkus yang terisolasi dimediasi oleh reseptor  $M_3$  pada seluruh spesies termasuk manusia.

## **6. Interaksi Obat dengan Reseptor**

### **a. Agonis dan Antagonis**

Obat agonis merupakan obat yang jika berikatan dengan reseptornya akan memberikan efek baik secara langsung ataupun tidak langsung. Beberapa agonis mengaktifkan satu jenis reseptor untuk menghasilkan semua fungsi biologisnya, dan ada juga yang secara selektif mengeluarkan salah satu fungsi reseptor lebih daripada yang lain (Katzung, *et al.*, 2012).



Obat antagonis mengikat reseptor namun tidak mengaktifkan pembentukan sinyal sehingga kemampuan agonis untuk mengaktifkan reseptor terganggu. Efek dari apa yang disebut antagonis “murni” pada suatu sel atau pasien sepenuhnya tergantung pada pencegahan molekul agonis terikat oleh reseptor dan menghalangi tindakan biologis mereka. Adapun mekanisme antagonis yang lainnya, selain menghambat pengikatan agonis, mereka menekan sinyal basal aktivitas (“konstitutif”) dari reseptor tersebut (Katzung, *et al.*, 2012).

#### **b. Hubungan Konsentrasi Obat dengan Respon**

Dalam sistem *in vitro*, hubungan antara konsentrasi obat dengan efeknya dapat dijelaskan secara matematis, dan digambarkan oleh kurva hiperbolik dengan rumus sebagai berikut:

$$E = \frac{E_{max} \times C}{C + EC_{50}}$$

Dimana E merupakan efek yang diamati saat konsentrasi C,  $E_{max}$  merupakan respon maksimal yang dapat dihasilkan obat, dan  $EC_{50}$  yaitu konsentrasi obat yang menghasilkan 50% efek maksimal (Katzung, *et al.*, 2012). Parameter afinitas agonis terhadap reseptor ( $pD_2$ ) dapat dicari melalui nilai  $EC_{50}$ . Nilai  $pD_2$  merupakan  $-\text{Log } EC_{50}$ . Semakin besar nilai  $pD_2$  maka afinitas agonis terhadap reseptor semakin besar (Janković, *et al.*, 1999).

## 7. Uji Organ Terisolasi

Uji organ terisolasi digunakan untuk menganalisis hubungan dosis dan respon senyawa obat. Uji ini masih dianggap metode yang baik untuk meneliti aktivitas farmakologi suatu organ meskipun telah tersedia beberapa metode molekuler (Lullman, *et al.*, 2000).

Dengan mengisolasi organ target, respons organ tersebut dapat dipelajari dengan lebih akurat. Sebagai contoh, agen vasokonstriktor dapat diuji aktivitasnya pada beberapa bagian pembuluh darah yang diisolasi, misal vena *saphenous*, *mesentery*, koroner dan arteri basiler. Pada banyak kasus, organ atau bagian organ yang diisolasi dapat bertahan selama beberapa jam di luar tubuh jika dikondisikan dalam media nutrisi yang sesuai dan cukup oksigen serta disimpan pada suhu yang sesuai.

Rangsangan fisiologis dan farmakologis terhadap organ terisolasi dapat tercatat dengan alat perekam yang tepat. Dengan demikian, menyempitnya / kontraksinya pembuluh darah dapat terekam saat pembuluh darah tersebut dalam kondisi dibantu oleh dua penjepit sedemikian rupa dalam alat tersebut dengan sedikit diberi tekanan (Lullman, *et al.*, 2005)

Menurut Lullman, *et al.* (2005), dalam uji organ terisolasi terdapat beberapa kelebihan, yaitu:

1. Konsentrasi obat pada jaringan biasanya diketahui dengan pasti.
2. Menurunkan kompleksitas dan memudahkan dalam mengamati hubungan rangsangan dan efek.

3. Metode ini memungkinkan untuk menghindari kompensasi respon yang sebagiannya dapat mencegah efek primer di organisme utuh.
4. Metode ini dapat mengukur efek obat hingga efek maksimum.

Pada metode uji organ terisolasi terdapat pula beberapa kelemahan, yaitu:

1. Kerusakan jaringan yang tidak dapat dihindari ketika dilakukan pembedahan.
2. Hilangnya regulasi fisiologis dari fungsi jaringan yang terisolasi.
3. Lingkungan fisiologis tidak sepenuhnya sama dengan lingkungan fisiologis yang sebenarnya di dalam tubuh, sehingga lama kelamaan memungkinkan terjadi kerusakan.

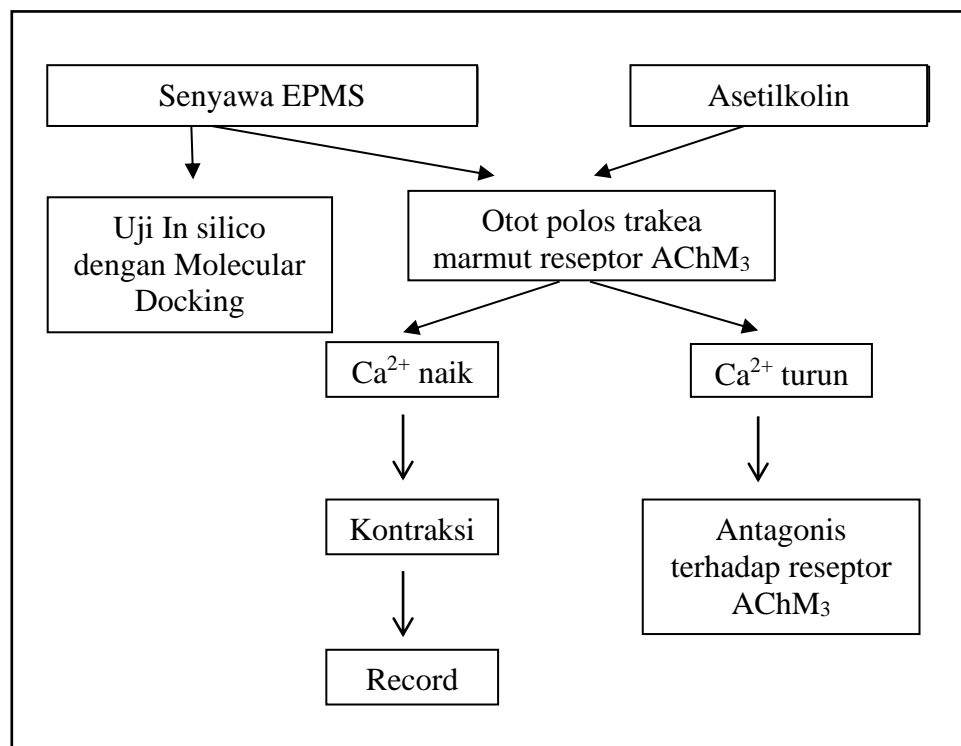
#### **8. Metode *in silico* menggunakan *Docking Molecular***

*Docking molecular* merupakan teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi antara biomolekul dengan molekul kecil atau ligan pada suatu kompleks molekul. Interaksi tersebut untuk mencapai suatu kestabilan. Tujuan dari *Docking Molecular* yaitu pemodelan struktur dan memprediksi aktivitasnya secara akurat (Kitchen, *et al.*, 2004). Proses pengikatan molekul terhadap molekul target tidak sederhana, faktor yang mempengaruhi antara molekul kecil dan molekul target tersebut yaitu entropi dan entalpi (Alonso, *et al.*, 2006).

Dalam *molecular docking* terdapat dua aspek, yaitu penggunaan algoritma dan fungsi *scoring*. Penggunaan algoritma pada *docking* berfungsi untuk mengidentifikasi energi yang dihasilkan dari konformasi molekuler

kemudian dicari konformasi yang paling rendah energi bebasnya dalam sistem. *Autodock* merupakan salah satu *software* yang digunakan untuk *docking* ligan baik *rigid* ataupun fleksibel menggunakan *grid based force field* untuk mengevaluasi interaksi suatu kompleks senyawa (Krane dan Raymer, 2003).

## B. Kerangka Konsep



**Gambar 3.** Kerangka konsep

## C. Hipotesis

1. Senyawa EPMS memiliki sifat antagonisme terhadap reseptor AChM<sub>3</sub> sehingga dapat menghambat kontraksi otot polos trakea *Cavia porcellus*.
2. Skor yang dihasilkan dari isolat EPMS mampu berikatan dengan reseptor AChM<sub>3</sub> berdasarkan analisis *docking molecular*.