

Original Article

Aktivitas Antioksidan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Profil Pengelompokannya dengan Kemometrik

Antioxidant Activity of Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) and its Classification with Chemometrics

Indah Widyastuti¹, Hanna Zaidah Luthfah¹, Yuniar Intan Hartono¹, Rosy Islamadina¹, Adelin Theresia Can¹, Abdul Rohman^{2,3*)}

¹ Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

² Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

³ Institute for Halal Industry and Systems, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

* Corresponding author: Abdul Rohman | email: abdulrohmanugm@gmail.com

Received: 1 January 2021; Revised: 30 January 2021; Accepted: 10 February 2021; Published: 14 February 2021

Abstract: Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) or Javanese turmeric is one of the medicine plants from Indonesia, which contains curcuminoid and xanthorrhizol. These compounds have large biological activity, such as antioxidant capacity. The location of this plant grows, affects the variance of the active compound which causes the changes in its activity. This study aims to evaluate antioxidant capacity, total phenolic, and total flavonoid content (TPC and TFC) of the sample collected from different markets, and to classify the samples into different clusters with chemometric techniques. The antioxidant capacity is determined by using DPPH radical scavenging assay, meanwhile, TPC and TFC are determined by Folin-Ciocalteu and AlCl₃ method using Spectrophotometry UV/Vis. These data were used to analyze the samples with chemometric principal component analysis (PCA) and cluster analysis (CA) to classify the samples into different clusters. Sample TL02 (Sambi Market, Kediri, East Java) has the highest phenolic-flavonoid content and antioxidant capacity. Clustering samples based on PCA and CA resulting in 3 clusters.

Keywords: *Curcuma xanthorrhiza*, antioxidant, phenolic, flavonoid, chemometric

Abstrak: Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat asli Indonesia, mengandung senyawa *curcuminoid* dan *xanthorrhizol* yang memiliki aktivitas biologis yang luas dalam bidang kesehatan. Lokasi tanam menyebabkan adanya perbedaan komposisi senyawa aktif sehingga menyebabkan aktivitas biologisnya juga akan berubah. Pada penelitian ini akan dibandingkan aktivitas antioksidan, kandungan fenolik dan flavonoid total (TPC dan TFC) temulawak yang berasal dari berbagai pasar, serta melakukan pengelompokan dengan teknik kemometrik. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji penangkapan radikal DPPH. Penentuan TPC dan TFC dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu dan AlCl₃ menggunakan instrumen spektrofotometer UV/Vis. Data yang diperoleh diolah dengan teknik kemometrika *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Cluster Analysis* (CA) untuk dilakukan pengelompokan temulawak menjadi beberapa *cluster*. Sampel TL02 (Pasar Sambi, Kediri, Jawa Timur) memiliki nilai TPC dan TFC, serta aktivitas antioksidan paling tinggi. Pengelompokan temulawak berdasarkan PCA dan CA menghasilkan 3 *cluster*.

Kata kunci: *Curcuma xanthorrhiza*, antioksidan, fenolik, flavonoid, kemometrik

1. PENDAHULUAN

Indonesia dikenal memiliki wilayah yang sangat luas dengan kekayaan hayati maupun hewani yang melimpah. Keragaman ini dimanfaatkan masyarakat Indonesia menjadi suatu olahan yang memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. Olahan yang dimaksud yakni jamu. Masyarakat Indonesia telah mengenal jamu sejak lama. Jamu sudah digunakan dari generasi ke generasi sejak masa nenek moyang. Pengolahan jamu dilakukan secara turun-temurun berdasarkan resep dari leluhur [1].

Meskipun Indonesia memiliki kekayaan hayati yang melimpah untuk dijadikan bahan membuat jamu, ada jenis tanaman yang merupakan bahan utama untuk membuat jamu yang biasa dikonsumsi. Tanaman tersebut merupakan anggota keluarga Zingiberaceae [1]. Beberapa jenis tanaman yang termasuk dalam keluarga ini adalah jahe, kunyit, kencur, lengkuas, dan temulawak. Tanaman ini memiliki khasiatnya masing-masing dan diolah menjadi beberapa jenis jamu yang berbeda. Tanaman keluarga Zingiberaceae merupakan jenis tanaman yang mudah ditemukan di lingkungan sekitar. Beberapa kalangan membudidayakan jenis-jenis tanaman ini dan disebut sebagai tanaman obat keluarga (TOGA).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional/jamu untuk menjaga kesehatan masyarakat Indonesia. Tidak hanya untuk menjaga kesehatan, tanaman ini biasa digunakan untuk meningkatkan nafsu makan pada anak. Tanaman ini merupakan keluarga Zingiberaceae dan memiliki banyak manfaat dalam kesehatan, salah satunya beraktivitas sebagai antioksidan [2].

Pada penelitian sebelumnya, Akinola *et al.* [3] melakukan penelitian terhadap 10 spesies tanaman dari keluarga Zingiberaceae dan melaporkan 3 spesies yang memiliki aktivitas antioksidan (DPPH dan FRAP) tertinggi yaitu ekstrak metanol kunyit (*Curcuma longa*), jahe (*Zingiber officinale*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Perbandingan pelarut pada ekstrak temulawak seperti yang dilaporkan oleh Kasai *et al.* [4] menunjukkan bahwa ekstrak metanol memberikan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak dari pelarut dapar fosfat dan air. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol temulawak pun ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol *Curcuma aromatica* dan *Curcuma zedoaria*.

Beberapa penelitian telah menemukan korelasi antara aktivitas antioksidan, kandungan fenolik (TPC), dan kandungan flavonoid (TFC). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Akinola *et al.* [5], ditemukan korelasi positif antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik menggunakan *correlation coefficients* (r). Widodo *et al.* [6] pun melaporkan hal serupa, dengan menggunakan *loading plot*, ditemukan korelasi negatif IC_{50} DPPH dengan kandungan fenolik (TPC). Kedua penelitian ini menunjukkan semakin besar kandungan fenolik dalam suatu tanaman, maka aktivitas antioksidan yang diperoleh akan semakin tinggi.

Senyawa aktif yang dilaporkan bertanggungjawab pada aktivitas biologis temulawak adalah *curcuminoid*, α -*curcumene*, *ar-turmerone*, dan *xanthorrhizol* [7]. Komposisi senyawa aktif dalam suatu tanaman dapat berbeda bergantung pada beberapa faktor, salah satunya adalah lokasi tanam [8-9]. Perbedaan komposisi senyawa aktif dalam suatu tanaman menyebabkan aktivitas biologisnya juga akan berubah. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antioksidan, kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak metanol temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar serta melakukan pengelompokan temulawak dengan *principal component analysis* (PCA) dan *cluster analysis* (CA) berdasarkan pada aktivitas antioksidan, kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak metanolnya.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Sampel temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang diperoleh dari beberapa pasar di Jawa Tengah, Jawa Timur dan D.I. Yogyakarta (Tabel 1); Metanol pro analisis; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil); akuades; akuabides; reagen Folin-Ciocalteu (FCR); 7% Na_2CO_3 ; 10% $AlCl_3$; 10% $NaNO_2$; 10% $NaOH$; asam galat; dan rutin.

2.2. Instrumentasi dan Perangkat Lunak

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV/Vis Double Beam seri U-2900 (Hitachi, Tokyo, Japan). Data diolah dengan Microsoft Excel (Windows) untuk kemudian dilakukan analisis kemometrik PCA dan CA menggunakan perangkat lunak Minitab versi 19.1 (Windows).

2.3. Metode Ekstraksi Rimpang Temulawak

Metode ekstraksi rimpang temulawak mengacu pada Widodo *et al.* [6]. Rimpang temulawak dicuci, dikupas dan dipotong kemudian dilakukan pengeringan dengan oven (40°C) selama 1 hari. Setelah dikeringkan, dilakukan penumbukan hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk temulawak selanjutnya dimaserasi dengan metanol (1:10 b/v) dengan dilakukan 2 kali maserasi. Maserasi 1 digunakan 60% dari total metanol yang digunakan selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari. Maserasi 2 digunakan 40% dari total volume metanol yang digunakan, dilakukan selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari. Setelah maserasi selesai, dilakukan penguapan untuk diperoleh ekstrak kental temulawak.

2.4. Metode Penentuan Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total (TPC) dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu mengacu pada Chun *et al.* [10] dengan beberapa modifikasi. Sejumlah sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ditambahkan dengan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan dengan Na₂CO₃ 7% sebanyak 4 mL dan di buat hingga batas tanda dengan akuabides. Setelah didiamkan selama 73 menit (OT), absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang maksimum 728 nm.

2.5. Metode Penentuan Kandungan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total menggunakan metode AlCl₃ dengan mengacu pada [11] dengan sedikit modifikasi. Sejumlah sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ditambahkan dengan 4 mL akuades dan 0,3 mL NaNO₂ 10%. Setelah 5 menit, ditambahkan 0,3 mL AlCl₃ 10% ke dalam labu takar dan didiamkan selama 5 menit. Lalu dilakukan penambahan 4 mL NaOH 10% dan ditambahkan hingga tanda 10 mL dengan akuades. Larutan digojog hingga homogen kemudian didiamkan di tempat gelap selama 25 menit (OT). Selanjutnya, absorbansi dibaca menggunakan Spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang maksimum 510 nm.

2.6. Metode Penangkapan Radikal DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH yang mengacu pada [12]. Sejumlah sampel ditambahkan dengan 1 mL DPPH 0,4 mM dan di tambahkan hingga tanda 5 mL dengan metanol. Campuran divortex dan didiamkan selama 30 menit (OT) pada suhu ruang di tempat gelap. Dibaca absorbansi dengan Spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Larutan DPPH tanpa sampel digunakan sebagai kontrol.

2.7. Metode Analisis

Data yang diperoleh dihitung nilai rata-rata dan nilai simpangan bakunya (SD) menggunakan Microsoft Excel. Kemudian dilakukan analisis kemometrik PCA dan CA menggunakan software Minitab versi 19.1 dengan variabel aktivitas antioksidan (IC₅₀), kandungan fenolik (TPC) dan kandungan flavonoid (TFC) yang menghasilkan *score plot* yang digunakan untuk melihat kemiripan antar sampel, *loading plot* untuk mengevaluasi korelasi antarvariabel, serta dendrogram yang digunakan untuk mengelompokkan sampel menjadi beberapa *cluster*.

Tabel 1. Daftar sampel *Curcuma xanthorrhiza* yang digunakan pada penelitian ini

Kode Sampel	Pasar
TL01	Niten (Bantul, DIY)
TL02	Sambi (Kediri, Jawa Timur)
TL03	Muntilan (Magelang, Jawa Tengah)
TL04	Kranggan (Kota Yogyakarta, DIY)
TL05	Wonokriyo (Kebumen, Jawa Tengah)
TL06	Beringharjo (Kota Yogyakarta, DIY)
TL07	Sumberpucung (Malang, Jawa Timur)
TL08	Sentul (Kota Yogyakarta, DIY)
TL09	Kleco (Surakarta, Jawa Tengah)
TL10	Garum (Blitar, Jawa Timur)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Preparasi Sampel

Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temulawak yang diperoleh dari beberapa pasar di Jawa Tengah, Jawa Timur, dan D.I. Yogyakarta (Tabel 1). Pengumpulan sampel dilakukan dari bulan Juni s.d. November 2019. Rimpang temulawak yang dikumpulkan mempunyai ciri berwarna kuning kecoklatan dan bau aromatik.

Ekstrak yang diperoleh mempunyai ciri organoleptik berwarna coklat tua dengan bau khas. Kemudian ekstrak kental yang telah diperoleh ditunggu dingin kemudian dilakukan penimbangan. Bobot ekstrak tersebut digunakan untuk mengetahui rendemen yang dihasilkan dari 150 g serbuk rimpang temulawak dari berbagai pasar. Sebagaimana diketahui, rendemen dapat ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Dari rumus rendemen di atas, diperoleh data hasil rendemen yang ditampilkan pada Tabel 2. Menurut Departemen Kesehatan [13], rendemen ekstrak kental temulawak tidak boleh kurang dari 18,0%. Namun hasil rendemen yang diperoleh hanya ditemukan 1 sampel yang memenuhi kriteria tersebut, yaitu sampel dengan kode TL07 yang berasal dari Pasar Beringharjo (Yogyakarta). Rendemen yang diperoleh lebih sedikit dari teoritis yang mana hal ini dapat dikarenakan oleh waktu maserasi yang lama dan cara penguapan yang salah dengan menggunakan metode konvensional. Namun, hasil perolehan rendemen tidak menjadi masalah karena fokus penelitian ini adalah untuk melakukan pengelompokan ekstrak temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar dengan teknik kemometrik.

Tabel 2. Persen (%) rendemen ekstrak yang dihasilkan

Kode Sampel	Bobot Wadah + Ekstrak	Bobot Wadah	Bobot Ekstrak	%Rendemen
TL01	102	88,9	13,1	8,73
TL02	98,1	82,1	16	10,67
TL03	130,1	110,5	19,6	13,07
TL04	88,3	61,4	26,9	17,93
TL05	101,7	88,5	13,2	8,80
TL06	90,1	61,6	28,5	19,00
TL07	94,5	81,3	13,2	8,80
TL08	135,3	115,2	20,1	13,40
TL09	103,6	89,8	13,8	9,20
TL10	100,7	88,3	12,4	8,27

Sebelum dilakukan uji kuantifikasi terhadap ekstrak kental temulawak, terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel untuk mendapatkan larutan stok sampel yang akan digunakan untuk uji fenolik, flavonoid, dan uji aktivitas antioksidan. Ditimbang kurang lebih 100 mg ekstrak kental untuk dilarutkan dengan metanol p.a. dalam labu takar 100 mL. Pelarutan ekstrak dalam metanol dibantu

dengan menggunakan sonikator. Diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/mL dengan masing-masing sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

3.2. Penentuan Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total (TPC) dalam penelitian ini menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan mengacu pada [10] dengan beberapa modifikasi. Metode ini adalah metode yang paling sering digunakan untuk menentukan kandungan fenolik [14-19]. TPC dinyatakan dengan mg ekuivalen asam galat/g sampel (mg GAE/g) yaitu jumlah kesetaraan mg asam galat dalam 1 gram sampel. Nilai TPC dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku $y = 0,1051x + 0,0176$ ($r = 0,9978$).

Dari pembacaan absorbansi sampel, diperoleh data sebagaimana pada Tabel 3. Data tersebut menunjukkan nilai TPC tertinggi dimiliki oleh sampel TL02 (Pasar Sambu, Kediri, Jawa Timur) dengan nilai TPC $170,44 \pm 7,68$ mg GAE/g sedangkan nilai TPC terendah dimiliki oleh sampel TL08 (Pasar Sentul, Yogyakarta, D.I. Yogyakarta) dengan nilai $115,61 \pm 15,07$ mg GAE/g. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh [15], yakni nilai TPC $73,5 \pm 2,4$ mg GAE/g, dengan metode ekstraksi dan penentuan TPC yang sama. Hasil TPC penelitian ini juga lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh [14], dengan nilai TPC $85,32 \pm 0,83$ mg GAE/g, yang menggunakan pelarut ekstraksi sama namun dengan metode ekstraksi yang berbeda.

Tabel 3. Nilai kandungan fenolik total (TPC) rata-rata tiap sampel temulawak dari berbagai pasar

Kode Sampel	TPC rata-rata ± SD (mg GAE/g)
TL01	148,43 ± 8,21
TL02	170,44 ± 7,68
TL03	129,39 ± 33,98
TL04	154,23 ± 6,44
TL05	137,75 ± 9,47
TL06	153,89 ± 3,44
TL07	145,21 ± 4,41
TL08	115,61 ± 15,07
TL09	131,33 ± 11,39
TL10	149,24 ± 1,82

3.3. Penentuan Kandungan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total (TFC) dalam penelitian ini menggunakan metode $AlCl_3$ mengacu pada [11] dengan sedikit modifikasi. Metode ini didasarkan pada pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol [20]. Beberapa penelitian yang menggunakan metode ini yaitu [20-24]. Nilai TFC dinyatakan sebagai mg ekuivalen rutin/g (mg RE/g) yaitu jumlah kesetaraan mg rutin dalam 1 g sampel. Nilai TFC dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku $y = 0,01236x - 0,02443$ ($r = 0,99726$).

Dari pembacaan absorbansi sampel, diperoleh nilai TFC ekstrak metanol temulawak sebagaimana yang ditampilkan pada Tabel 4. Dari data tersebut diketahui bahwa nilai TFC tertinggi dan terendah masing-masing dimiliki oleh sampel TL02 (Pasar Sambu, Kediri, Jawa Timur) dan TL03 (Pasar Muntilan, Magelang, Jawa Tengah) dengan nilai $392,39 \pm 16,14$ mg RE/g dan $267,01 \pm 60,03$ mg

RE/g. Belum ditemukan penelitian terkait penentuan nilai TFC ekstrak metanol temulawak dengan metode sama untuk dibandingkan. Namun, beberapa penelitian terkait temulawak yang menentukan nilai TFC yaitu Sukweenadhi *et al.* [25] untuk ekstrak etanol ($34,62 \pm 1,58$ mg QE/100g) dan [24] untuk ekstrak air-etanol ($2,77 \pm 2,58$ g QE/100g). QE adalah *quercetin equivalent*.

Nilai TFC yang tinggi tidak selalu menunjukkan kandungan flavonoid yang tinggi dalam suatu tanaman. Namun, nilai TFC yang tinggi bisa dikarenakan oleh senyawa lain yang ikut terukur dengan metode $AlCl_3$, senyawa yang memiliki gugus orto hidroksi karbonil, seperti kurkuminoid. Seperti yang dilaporkan oleh [26], meskipun kurkuminoid bukan termasuk ke dalam kelompok senyawa flavonoid, namun senyawa ini bersifat sama dengan flavonoid, sehingga ikut bereaksi dengan $AlCl_3$.

Tabel 4. Nilai kandungan flavonoid total (TFC) rata-rata tiap sampel temulawak dari berbagai pasar

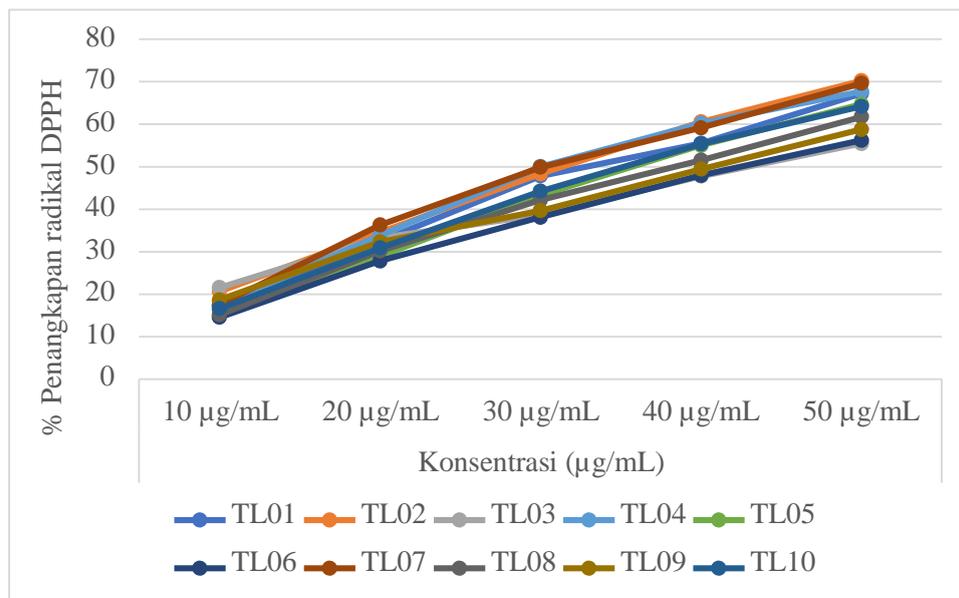
Kode Sampel	TFC rata-rata \pm SD (mg RE/g)
TL01	$334,80 \pm 6,50$
TL02	$392,39 \pm 16,14$
TL03	$267,01 \pm 60,03$
TL04	$355,53 \pm 5,23$
TL05	$305,16 \pm 4,50$
TL06	$294,57 \pm 2,24$
TL07	$363,78 \pm 19,23$
TL08	$302,13 \pm 29,52$
TL09	$287,70 \pm 6,75$
TL10	$311,49 \pm 10,79$

3.4. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penangkapan radikal DPPH mengacu pada [12]. Metode ini banyak dipilih karena mudah, sederhana, cepat dan peka serta hanya diperlukan sedikit sampel. Menurut [27], aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal DPPH didasarkan atas penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan dalam ekstrak temulawak seperti *curcuminoid*, *α -curcumene*, *ar-turmerone*, dan *xanthorrhizol* [7]. Senyawa tersebut bertindak sebagai antioksidan yang mengubah radikal menjadi bentuk stabil melalui transfer radikal hidrogen. Kemampuan antioksidan dalam ekstrak temulawak untuk menjerap radikal DPPH terlihat dari adanya perubahan warna. Perubahan intensitas warna DPPH dari ungu menjadi kuning terjadi melalui mekanisme transfer radikal hidrogen. Semakin banyak radikal hidrogen yang disumbangkan, maka warna ungu akan semakin memudar dan mendekati warna kuning-cokelat, yang menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan ekstrak.

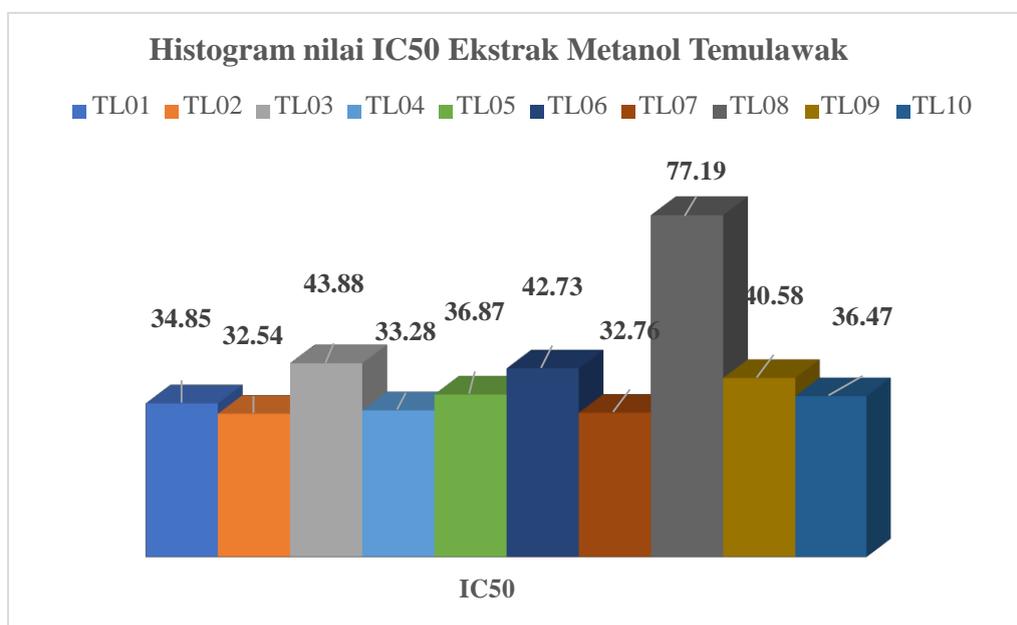
Tabel 5. Nilai IC_{50} rata-rata tiap sampel temulawak dari berbagai pasar

Kode Sampel	$IC_{50} \pm$ SD (μ g/mL)
TL01	$34,85 \pm 0,36$
TL02	$32,54 \pm 0,92$
TL03	$43,88 \pm 11,06$
TL04	$33,28 \pm 1,11$
TL05	$36,87 \pm 0,38$
TL06	$42,73 \pm 2,00$
TL07	$32,76 \pm 0,23$
TL08	$77,19 \pm 0,74$
TL09	$40,58 \pm 1,84$
TL10	$36,47 \pm 0,83$



Gambar 1. Perbandingan % penangkapan radikal DPPH antar sampel temulawak dari berbagai pasar

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan % penangkapan radikal untuk kemudian diperoleh nilai IC_{50} yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk mencapai kemampuan penangkapan 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} rata-rata yang diperoleh ditampilkan pada Tabel 5. Dari data yang diperoleh, dilakukan perbandingan % penangkapan radikal dan IC_{50} antar sampel pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL seperti yang ditampilkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 2. Histogram nilai IC_{50} ekstrak metanol temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar

Nilai IC_{50} rata-rata yang diperoleh bervariasi dari $32,54 \pm 0,92$ µg/mL hingga $77,19 \pm 0,74$ µg/mL. Nilai IC_{50} rata-rata tertinggi dimiliki oleh sampel TL08 yang berasal dari Pasar Sentul, Kota Yogyakarta, DIY, sedangkan untuk nilai IC_{50} rata-rata terendah dimiliki oleh sampel TL02 yang berasal dari Pasar Sambu, Kediri, Jawa Timur. Semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan, begitu pun sebaliknya [27]. Hal ini menunjukkan sampel TL08 memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH paling rendah, sedangkan sampel TL02 memiliki

aktivitas penangkapan radikal DPPH paling tinggi. membagi intensitas aktivitas antioksidan menjadi 5 kategori sebagaimana pada Tabel 6. Seluruh sampel temulawak memiliki intensitas aktivitas antioksidan yang sangat kuat kecuali untuk sampel TL08 (Pasar Sentul, Kota Yogyakarta, DIY).

Tabel 6. Intensitas aktivitas antioksidan berdasarkan IC₅₀ temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar [28].

Kode Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)	Intensitas				
		Sangat Kuat (< 50 µg/mL)	Kuat (50–100 µg/mL)	Sedang (100–250 µg/mL)	Lemah (250–500 µg/mL)	Inaktif (> 500 µg/mL)
TL01	34,85	√				
TL02	32,54	√				
TL03	43,88	√				
TL04	33,28	√				
TL05	36,87	√				
TL06	42,73	√				
TL07	32,76	√				
TL08	77,19		√			
TL09	40,58	√				
TL10	36,47	√				

Widodo *et al.* [6] melaporkan adanya korelasi antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan. Sehingga apabila memiliki kandungan fenolik yang tinggi, maka IC₅₀ yang dihasilkan akan rendah. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa sampel TL02 (Pasar Sambi, Kediri) memiliki kandungan fenolik dan flavonoid tertinggi, begitu pula aktivitas antioksidannya yang ditandai dengan paling rendahnya IC₅₀ yang dihasilkan oleh sampel TL02. Korelasi lebih lanjut antar variabel ini akan dibahas dalam analisis kemometrik.

3.5. Analisis Kemometrik

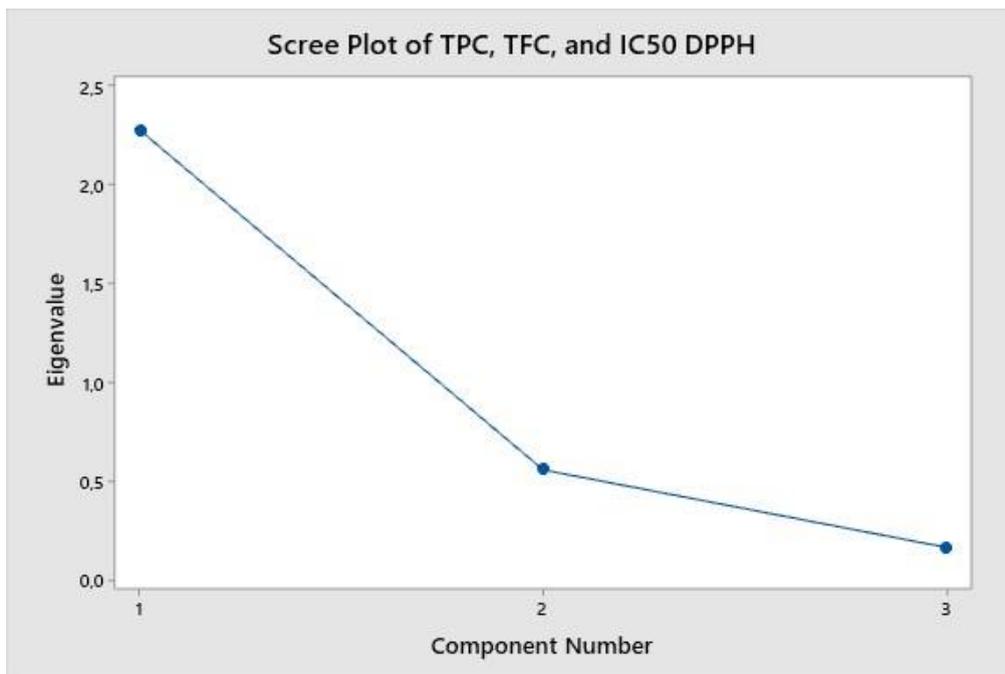
Pada tahap ini data kandungan fenolik total (TPC), kandungan flavonoid total (TFC), serta aktivitas antioksidan (IC₅₀) yang diperoleh dianalisis menggunakan teknik kemometrik *principal component analysis* (PCA) dan *cluster analysis* (CA) dengan software Minitab (Windows). PCA digunakan untuk mereduksi data variabel seperti yang dilaporkan oleh [29]. Selain itu, PCA dapat melihat kemiripan antar objek dan korelasi antar variabelnya [30].

Eigenanalysis of the Correlation Matrix

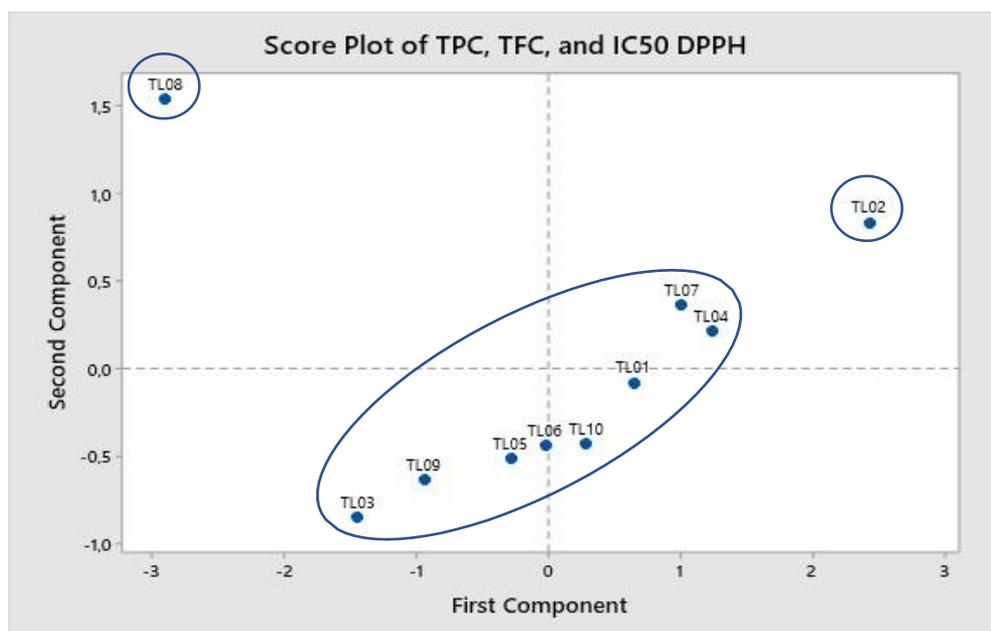
```
Eigenvalue 2,2754 0,5584 0,1663
Proportion 0,758 0,186 0,055
Cumulative 0,758 0,945 1,000
```

Gambar 3. Eigenvalue yang diperoleh untuk mereduksi jumlah variabel data

Eigenvalue yang diperoleh (Gambar 3) menunjukkan bahwa PC1, PC2, dan PC3 memiliki kontribusi terhadap variansi variabel masing-masing sebanyak 75,8%; 18,6%; dan 5,5%. Hubungan antara tiap PC dan eigenvalue digambarkan seperti pada Gambar 4. Pada analisis kali ini, hanya digunakan PC1 dan PC2 yang sudah mewakili 94,5% variabel.

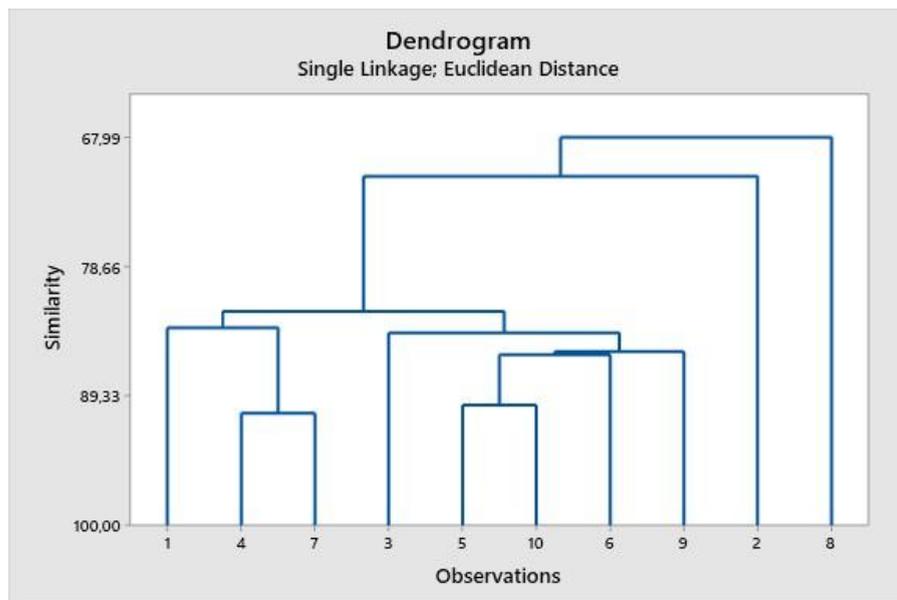


Gambar 4. Scree plot hubungan tiap PC dengan eigenvalue



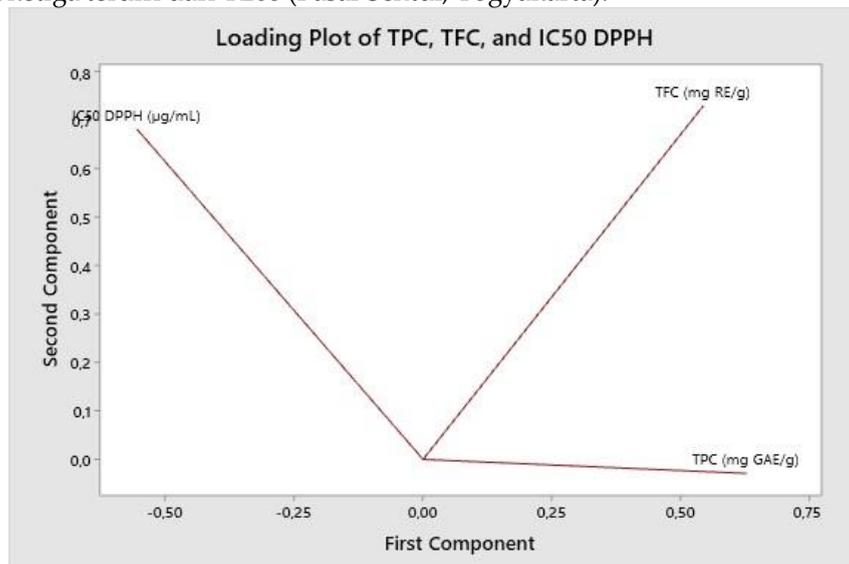
Gambar 5. Score plot dari setiap sampel temulawak terhadap PC1 dan PC2

Pengelompokan sampel dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan *score plot* dan dendrogram. *Score plot* menjelaskan kemiripan suatu sampel dengan sampel yang lainnya berdasarkan PC1 dan PC2, yang ditandai dengan titik-titik yang saling berdekatan. Semakin dekat kedua titik, menunjukkan semakin mirip pula kedua sampel tersebut. Sebaliknya, semakin jauh jarak kedua titik, menunjukkan semakin tidak mirip kedua sampel tersebut berdasarkan nilai TPC, TFC, dan IC₅₀ DPPH-nya. Sedangkan dendrogram di sini melakukan pengelompokan berdasarkan *Euclidean distance* yang diukur berdasarkan titik terdekat dari suatu objek (*Single linkage*) [30]. Semakin kecil nilai yang dihasilkan, menunjukkan semakin mirip suatu sampel.



Gambar 6. Dendrogram yang dihasilkan dari *Euclidean distance*

Berdasarkan *score plot* (Gambar 5) dan dendrogram (Gambar 6) yang dihasilkan, sampel dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok, Kelompok pertama terdiri dari TL01 (Pasar Niten, Bantul), TL03 (Pasar Muntilan, Magelang), TL04 (Pasar Kranggan, Yogyakarta), TL05 (Pasar Wonokriyo, Kebumen), TL06 (Pasar Beringharjo, Yogyakarta), TL07 (Pasar Sumberpucung, Malang), TL09 (Pasar Kleco, Surakarta), dan TL 10 (Pasar Garum, Blitar); kelompok kedua terdiri dari TL02 (Pasar Sambu, Kediri); dan kelompok ketiga terdiri dari TL08 (Pasar Sentul, Yogyakarta).



Gambar 7. Kurva *loading plot* terhadap variabel kandungan total fenolik (TPC), kandungan total flavonoid (TFC), dan aktivitas antioksidan (IC_{50} DPPH)

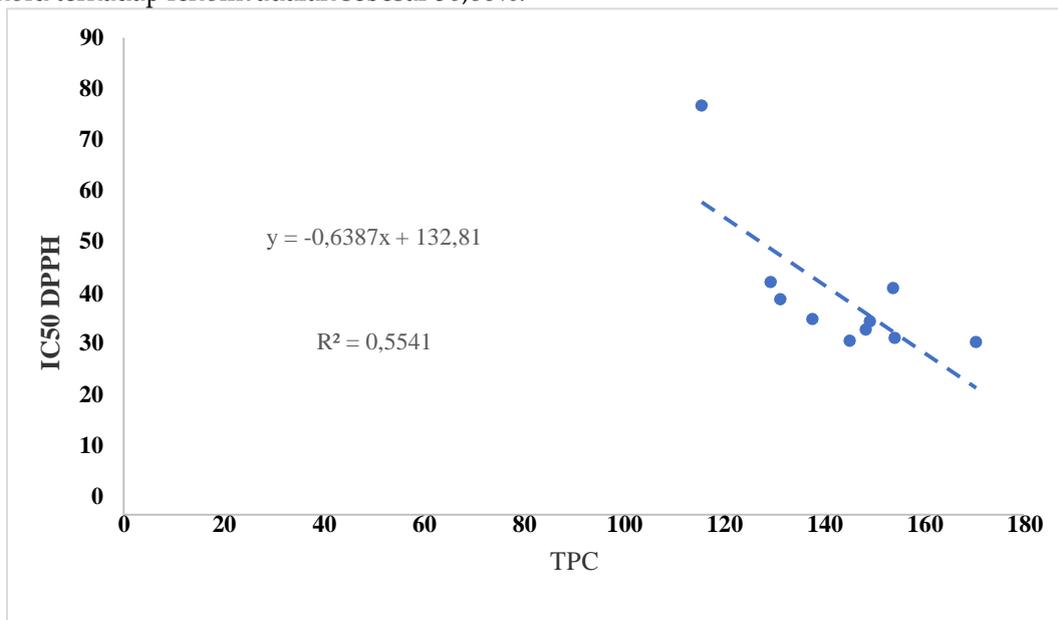
Untuk melihat korelasi antar variabel TPC, TFC, dan IC_{50} DPPH, *loading plot* dapat digunakan. *Loading plot* menunjukkan seberapa kuat tiap variabel mempengaruhi PC dengan menggambarannya sebagai vektor. Jika kedua vektor membentuk sudut kurang dari 90° , kedua variabel berkorelasi positif. Jika membentuk sudut sekitar 90° , kedua variabel tidak mungkin berkorelasi. Sedangkan apabila membentuk sudut lebih lebar (lebih dari 90°) atau sekitar 180° , kedua variabel menunjukkan korelasi negatif [6]. Korelasi antar variabel yang digambarkan dengan *scatter plot* dapat dilihat pada Gambar 8, Gambar 9, dan Gambar 10.

Korelasi antar TPC dan IC_{50} DPPH dapat dilihat pada *loading plot* (Gambar 7) yang membentuk sudut lebar mendekati 180° dan *scatter plot* (Gambar 8) yang memberikan nilai koefisien korelasi (r) = -

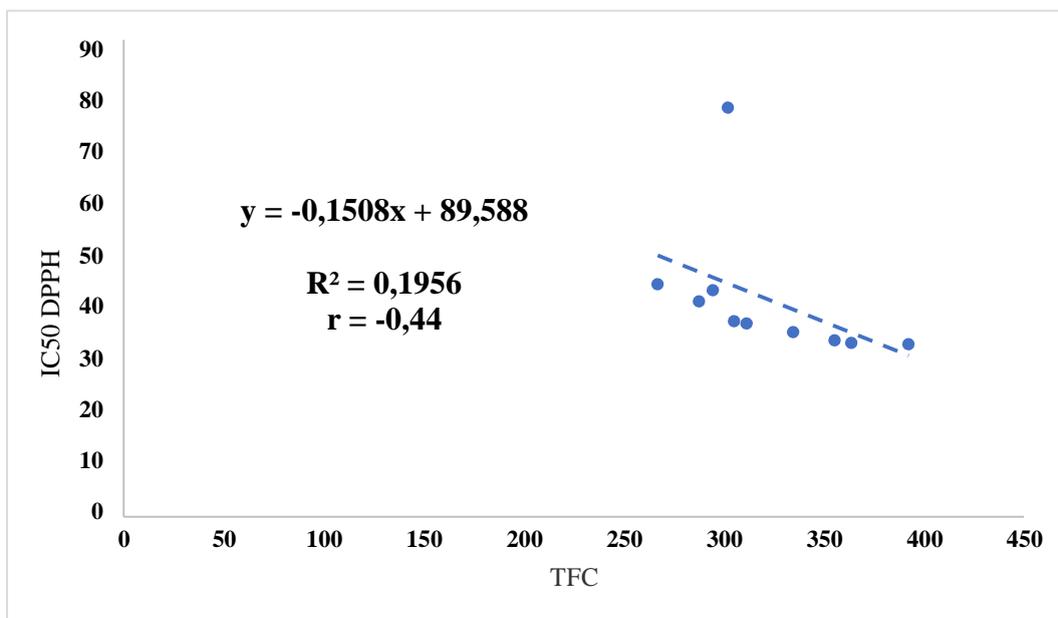
0,7444, menunjukkan korelasi negatif yang kuat antar kedua variabel tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai TPC maka akan semakin rendah nilai IC_{50} DPPH atau dapat dinyatakan dengan semakin tinggi suatu kandungan fenolik maka aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin tinggi. Berdasarkan nilai koefisien determinasi (r^2) = 0,5541 menunjukkan kontribusi fenolik sebesar 55,41% terhadap IC_{50} DPPH.

Korelasi antar variabel TFC dengan IC_{50} DPPH menunjukkan korelasi negatif yang sedang (tidak signifikan) dikarenakan kedua vektor pada Gambar 7 tersebut membentuk kurang dari 90° dan nilai r = -0,4423. Dari nilai koefisien determinasi (r^2 = 0,1956) menunjukkan variabel flavonoid berkontribusi sebesar 19,56% terhadap IC_{50} DPPH.

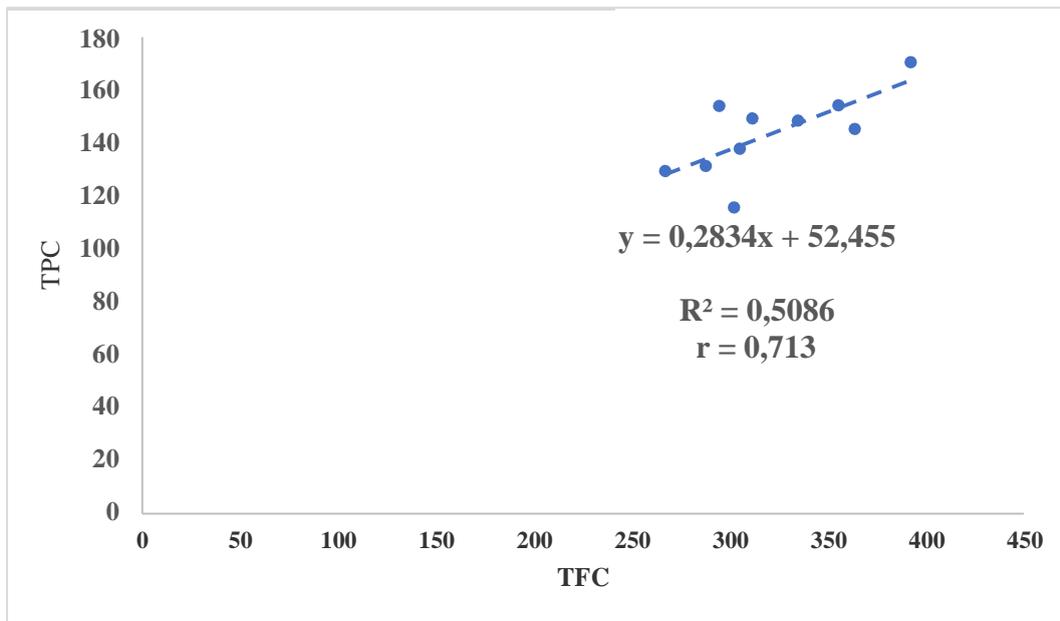
Sedangkan untuk variabel TPC dan TFC membentuk sudut sempit kurang dari 90° dan nilai r = 0,7132 (Gambar 7 dan Gambar 10) sehingga menunjukkan korelasi positif yang kuat di antara kedua variabel tersebut. Berdasarkan nilai koefisien determinasinya (r^2 = 0,5086), kontribusi senyawa flavonoid terhadap fenolik adalah sebesar 50,86%.



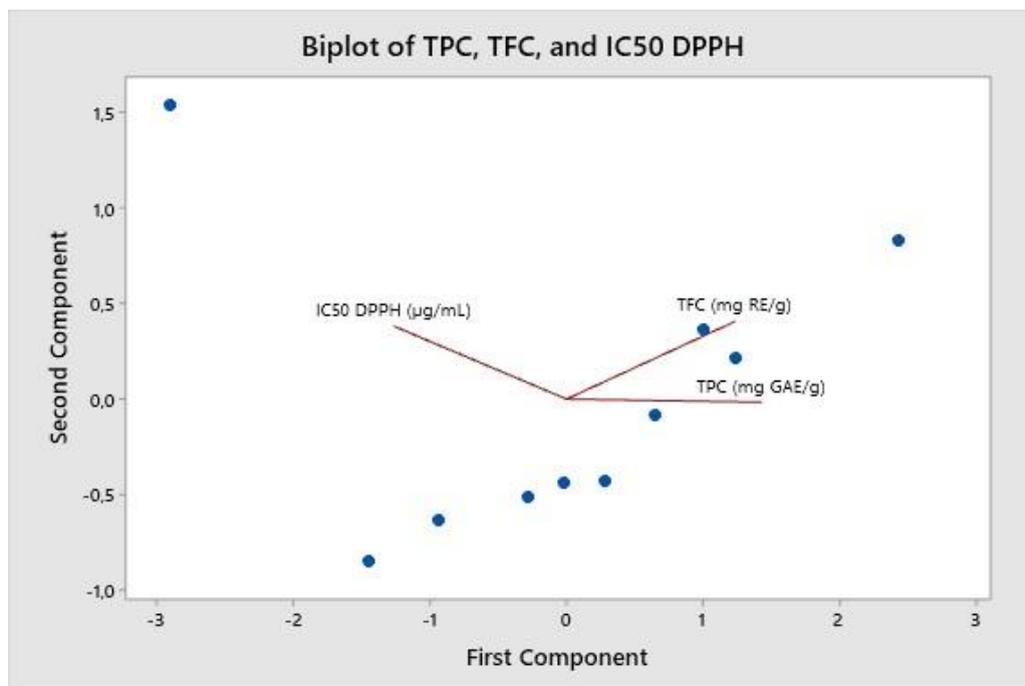
Gambar 8. Korelasi antar variabel kandungan total fenolik (TPC) dan IC_{50} DPPH dengan *scatter plot* sampel temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar



Gambar 9. Korelasi antar variabel kandungan total flavonoid (TFC) dan IC_{50} DPPH dengan *scatter plot* sampel temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar



Gambar 10. Korelasi antar variabel kandungan total fenolik (TPC) dan kandungan total flavonoid (TFC) dengan *scatter plot* sampel temulawak yang diperoleh dari berbagai pasar



Gambar 11. Kurva *biplot* gabungan dari *score plot* dan *loading plot*

4. KESIMPULAN

Temulawak menghasilkan nilai TPC, TFC, dan IC₅₀ yang bervariasi. Sampel yang memiliki kandungan fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan sampel lain. Pengelompokan temulawak berdasarkan PCA dan CA dengan variabel kandungan total fenolik, kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang dimiliki, menghasilkan 3 kelompok. Dilihat dari *loading plot* dan *scatter plot* yang dihasilkan, terdapat korelasi negatif yang kuat antara IC₅₀ DPPH dengan kandungan fenolik, yang menunjukkan apabila kandungan fenolik semakin tinggi, maka aktivitas antioksidan yang diberikan akan semakin tinggi; korelasi negatif yang sedang antara IC₅₀ DPPH dengan kandungan flavonoid, yang menunjukkan semakin tinggi kandungan flavonoid akan mengakibatkan semakin tingginya aktivitas antioksidan yang dihasilkan; serta korelasi positif yang kuat antara kandungan fenolik dan kandungan flavonoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset dan Teknologi serta Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini melalui skema World Class Research 2020.

DAFTAR PUSTAKA

1. Army, R. *Jamu Ramuan Tradisional Kaya Manfaat*; Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan: Jakarta Timur, 2018.
2. Purwakusumah, E.D.; Royani, L.; Rafi, M. Evaluasi Aktivitas Antioksidan dan Perubahan Metabolit Sekunder Mayor Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) pada Umur Rimpang yang Berbeda. *Jurnal Jamu Indonesia*. 2016, 1, 1, 10–17.
3. Akinola, A.A.; Ahmad, S.; Maziah, M. Total Anti-oxidant Capacity, Flavonoid, Phenolic Acid and Polyphenol Content in Ten Selected Species of Zingiberaceae Rhizomes. *African Journal of Traditional Complementary Alternative Medicine*. 2014, 11, 3, 7–13.
4. Kasai, H.; Yamane, Y.; Ikegami-Kawai, M.; Sudo, H. Analysis of Compounds of Curcuma Rhizome Using Mass Spectrometry and Investigation of the Antioxidant Activity of Rhizome Extracts. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2019, 8, 4, 336–342.
5. Akinola A,A.; Ahmad, S.; Maziah, M. Total Antioxidant Capacity, Total Phenolic Compounds and the Effects of Solvent Concentration on Flavonoid Content in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* Rhizomes. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2014, 3, 2, 3–6.
6. Widodo, H.; Sismindari, S.; Asmara, W.; Rohman, A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2019, 9, 6, 99–105.
7. Itokawa, H.; Shi, Q.; Akiyama, T.; Morris-Natschke, S.L.; Lee, K.H. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine*. 2008, 3, 1–13.
8. Alaerts, G.; Dejaegher, B.; Smeyers-Verbeke, J.; Vander Heyden, Y. Recent Developments in Chromatographic Fingerprints from Herbal Products: Set-Up and Data Analysis. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2010, 13, 10, 900–922.
9. Sahoo, N.; Manchikanti, P.; Dey, S. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia*. 2010, 81, 6, 462–471.
10. Chun, O.K.; Kim, D.O.; Lee, C.Y. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 27, 8067–8072.
11. Zou, Y.; Lu, Y.; Wei, D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, 52, 16, 5032–5039.
12. Kikuzaki, H.; Hisamoto, M.; Hirose, K.; Akiyama, K.; Taniguchi, H. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 7, 2161–2168.
13. DepKes, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*; Departemen Kesehatan RI; Jakarta, 2008.
14. Mustafa, R.A.; Hamid, A.A.; Mohamed, S.; Bakar, F.A. Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of Food Science*. 2010, 75, 1.
15. Saputri, F.C.; Jantan, I. Effects of selected medicinal plants on human low-density lipoprotein oxidation, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and human platelet aggregation. *Journal of Medicinal Plant Research*. 2011, 5, 26, 6182–6191.
16. Halim, M.R.A.; Tan, M.S.M.Z.; Ismail, S.; Mahmud, R. Standardization and Phytochemical Studies of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012, 4, 3, 606–610.
17. Nurcholis, W.; Priosoeryanto, B.P.; Purwakusumah, E.D.; Katayama, T.; Suzuki, T. Antioxidant, Cytotoxic Activities and Total Phenolic Content of Four Indonesian Medicinal Plants. *Jurnal Kimia VALENSI*, 2012, 2, 4.
18. Ratnayani, K.; Mayu, L.A.; Indah, S.P.N. Kadar Total Senyawa Fenolat Pada Madu Randu Dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Dengan Metode DPPH (Difenilpicril Hidrazil). *Jurnal Kimia*. 2012, 6, 2, 163–168.

19. Rollando; Monica, E. Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br), *Scientia : Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, **2018**, *8*, 1, 29–36.
20. Azizah, D.N.; Kumolowati, E.; Faramayuda, F. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. **2014**, *2*, 2, 45–49.
21. Grubešić, R.J.; Vuković, J.; Kremer, D.; Vladimir-Knežević, S. Flavonoid content assay: Prevalidation and application on *Plantago* L. Species. *Acta Chimica Slovenica*. **2007**, *54*, 2, 397–406.
22. Eghdami, A.; Sedeghi, F. Determination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of *Achillea millefolium*. *Org. Chem. J.* **2010**, *2*, 81–84.
23. El Guiche, R.; Tahrouch, S.; Amri, O.; El Mehrach, K.; Hatimie, A. Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of 30 Medicinal and Aromatic Plants Located in The South of Morocco. *International Journal of New Technology and Research*. **2015**, *1*, 3, 7–11.
24. Kartini, K.; Setiawan, F.; Sukweenadhi, J.; Yunita, O.; Avanti, C. Selection of potential Indonesian plant species for antioxidant. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. **2020**, *457*, 1.
25. Sukweenadhi, J.; Yunita, O.; Setiawan, F.; Siagian, M.T.; Danduru, A.P.; Avanti, C. Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. *Biodiversitas*. **2020**, *21*, 5, 2062–2067.
26. Sepahpour, S.; Selamat, J.; Manap, M.Y.A.; Khatib, A.; Razis, A.F.A. Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. *Molecules*. **2018**, *23*, 402, 1-17.
27. Rosidi, A.; Khomsan, A.; Setiawan, B.; Briawan, D. Potensi temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai Antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Hasil-hasil Penelitian & Pengabdian*. **2014**, 1–8.
28. Jun, M.; Fu, H.Y.; Hong, J.; Wan, X.; Yang, C.S.; Ho, C.T.; Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata* Ohwi). *Journal of Food Science*. **2003**, *68*, 2117–2122.
29. Miller, J.N.; Miller, J.C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th Ed.; Pearson: England, **2010**.
30. Gemperline, P. *Practical Guide to Chemometrics*, 2nd Ed.; CRC Press: USA, **2006**.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).