

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Pengobatan herbal masih menjadi pilihan utama oleh sekitar 75-80% populasi dunia sebagai kebutuhan primer kesehatan mereka, karena mudah diterima tubuh dan efek samping yang rendah (Kamboj, 2000). Penggunaan obat bahan alam terus meningkat dari tahun ke tahun, baik yang digunakan untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan, maupun untuk pengobatan penyakit. Hal ini terjadi pada negara-negara berkembang seperti Indonesia dan juga pada negara-negara maju (BPOM, 2011). Salah satu obat bahan alam yang saat ini sering digunakan dalam pengobatan alternatif adalah *habbatussauda* atau jinten hitam (*Nigella sativa*) (Yulianti dan Junaedi, 2006).

Jinten hitam telah diketahui banyak manfaat. Secara empiris jinten hitam digunakan sebagai peluruh kentut, rematik, sakit kepala, pencegah muntah, pencahar, infeksi saluran kemih, antibiotik, dan lain-lain (Depkes RI, 1995; Ivankovic *et al*, 2006). Abdulelah dan Abidin (2007) menyatakan penggunaan tanaman obat ini di Timur Tengah sebagai obat parasit (antimalaria). Minyaknya sebagai pengawet karena mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pembusukan makanan dan bakteri patogen (Arici *et al*, 2005). Bagian yang digunakan dari jinten hitam utamanya adalah bijinya (El Tahir *et al*, 2006).

Minyak atsiri jinten hitam memiliki banyak kandungan kimia. Analisis terhadap minyak atsiri jinten hitam dari Tunisia menunjukkan adanya senyawa α -pinen, limonen, *p*-simen, karvakrol, timokuinon. Minyak atsiri jinten hitam dari Iran menunjukkan adanya komponen mayor yaitu *trans*-anetol, *p*-simen, limonen, dan karvon (Toma *et al.*, 2010; Nickavar, *et al.*, 2003). Timokuinon merupakan senyawa marker aktif pada jinten hitam. Timokuinon memiliki efek antioksidan, hipolipidemik dan hiperkolesterolemia yang menyebabkan penurunan peroksidasi lipid dan melindungi terhadap pengembangan aterosklerosis (Nader *et al.*, 2010).

Produk minyak jinten hitam sangat populer di Indonesia, sehingga banyak produsen obat herbal yang memproduksi minyak jinten hitam dengan harga yang

bervariasi. Klaim khasiat jinten hitam yang disetujui oleh BPOM adalah untuk memelihara kesehatan (BPOM, 2009). Burits dan Bucar (2000) menemukan adanya perbedaan kadar kandungan timokuinon antara biji jinten hitam dan minyak jinten hitam yang telah dipasarkan. Perbedaan kadar timokuinon dapat berpengaruh pada aksi farmakologinya karena timokuinon telah diketahui sebagai senyawa marker aktif.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder produk minyak atsiri jinten hitam yang diperoleh dari beberapa produsen di Indonesia karena belum adanya standardisasi dan kontrol kualitas berdasarkan kandungan kimianya yang dianalisis menggunakan *GC-MS*. Metode *GC-MS* dipilih karena dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif yaitu menunjukkan profil senyawa kimia dengan kadar relatif senyawa.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah kandungan metabolit sekunder pada 5 produk minyak jinten hitam (*Nigella sativa*) yang beredar di Indonesia menggunakan *GC-MS*?
2. Berapakah kadar relatif timokuinon pada 5 produk minyak jinten hitam (*Nigella sativa*) yang beredar di Indonesia menggunakan *GC-MS*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi jenis metabolit sekunder pada 5 produk minyak jinten hitam (*Nigella sativa*) yang beredar di Indonesia menggunakan *GC-MS*.
2. Menentukan kadar relatif timokuinon pada 5 produk minyak jinten hitam (*Nigella sativa*) yang beredar di Indonesia menggunakan *GC-MS*?

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman jinten hitam

a. Taksonomi

Kingdom	: Plantae	
Divisi	: Spermatophyta	
Subdivisi	: Angiospermae	
Kelas	: Dicotyledoneae	
Bangsa	: Ranunculales	
Famili	: Ranunculaceae	
Marga	: <i>Nigella</i>	
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>	(Hutapea, 1994).

b. Deskripsi tanaman dan biji jinten hitam

Tumbuhan jinten hitam tumbuh hingga mencapai tinggi 20-30 cm, dengan daun hijau lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beringgit, dan pertulangan menyirip. Bunganya majemuk, bentuk karang, kepala sari berwarna kuning, mahkota berbentuk corong berwarna antara biru sampai putih, dengan 5-10 kelopak bunga dalam satu batang pohon (Hutapea, 1994).

Pemerian Biji : bau khas, rasa pahit. Makroskopik : biji agak keras, bentuk limas ganda dengan kedua ujungnya meruncing, limas yang satu lebih pendek dari yang lain, bersudut 3 sampai 4, panjang 1,5 mm sampai 2 mm, lebar lebih kurang 1 mm; permukaan luar berwarna hitam kecoklatan, hitam kelabu sampai hitam, berbintik-bintik, kasar, berkerut, kadang-kadang dengan beberapa rusuk membujur atau melintang. Pada penampang melintang biji terlihat kulit biji berwarna coklat kehitaman sampai hitam; endosperm berwarna kuning kemerahan, kelabu atau kelabu kehitaman; lembaga berwarna kuning pucat sampai kelabu (Depkes RI, 1979).

c. Khasiat jinten hitam

Jinten hitam mempunyai banyak manfaat bagi dunia pengobatan diantaranya secara empiris digunakan sebagai peluruh kentut, rematik, sakit kepala, pencegah muntah, pencakar, pelancar ASI, infeksi saluran kemih, antibiotik, dan lain-lain (Depkes RI, 1995; Ivankovic, 2006), anti malaria

(Abdulelah dan Abidin, 2007). Aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen digunakan dalam makanan sebagai pengawet (Arici *et al.*, 2005; Ferdous *et al.*, 1992) dan minyaknya efektif sebagai obat jamur (Islam *et al.*, 2005).

d. Minyak atsiri jinten hitam

Menurut Ketaren (1985) destilasi minyak atsiri ada 3 macam yaitu destilasi air, uap dan air, serta destilasi uap. Banyak penelitian sebelumnya menggunakan destilasi air untuk mendapatkan minyak jinten hitam antara lain Singh *et al.* (2005), Nickavar *et al.* (2003), Gerige *et al.* (2009) dan Toma *et al.* (2010), sedangkan destilasi uap dilakukan oleh Burits dan Bucar (2000). Kandungan minyak atsiri dalam biji jinten hitam adalah 0,4-0,7%. Lembaga *Goerlich Pharma Internasional* (2007) menyebutkan minyak atsiri jinten hitam mempunyai warna kuning kecoklatan, mempunyai bau yang khas, dan rasa yang pahit dan pedas, pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (Gunawan dan Mulyani, 2004).

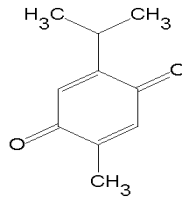
Analisis kuantitatif oleh Adamu *et al.* (2010) pada minyak atsiri jinten hitam dari Maiduguri diperoleh 2-metil-5(1-metil etil)-bisiklohek-2-en sebagai komponen mayor (62,28%) dan α -pinen sebagai komponen minor (2,28%), sedangkan dari Tunisia diperoleh kandungan α -pinen (13,75 %), limonen (2,55 %), *p*-simen (43,58 %), karvakrol (2,53 %) dan timokuinon (1,65 %) (Toma *et al.*, 2010). Penelitian minyak atsiri jinten hitam dari Iran menunjukkan adanya 4 komponen mayor yaitu *trans*-anetol (38,3%), *p*-simen (14,8%), limonen (4,3%), dan karvone (4,0%) (Nickavar, *et al.*, 2003) (Tabel 1).

Senyawa marker aktif dalam minyak atsiri jinten hitam adalah timokuinon yang merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitasnya. Nama lain dari timokuinon adalah 2-isopropil-5-metil-1,4-benzokuinon (El-Tahir *et al.*, 1993). Berat molekul 164,204g/mol. Rumus senyawa timokuinon adalah $C_{10}H_{12}O_2$ (Gambar 1) (Anonim, 2012).

Tabel 1. Komponen Minyak Atsiri Jinten Hitam yang di Analisis dengan GC-MS

No	Senyawa	Kadar relatif (%)			
		Tunisia *	Iran**	India (a)***	India(b)****
1.	α -pinen	13,75	1,2	1,2	3,33
2.	Camphene	<i>Traces</i>	-	-	0,06
3.	β -pinen	3,00	1,3	1,3	3,78
4.	Sabinen	1,66	1,4	1,4	1,34
5.	β -Myrcen	0,94	0,4	0,6	-
6.	α - terpinen	<i>Traces</i>	-	-	0,47
7.	Limonen	2,55	4,3	4,3	1,76
8.	Etil heksanoat	0,96			-
9.	γ -terpinen	1,40	0,5	0,5	0,16
10.	<i>p</i> -simen	43,58	14,8	9,0	36,20
11.	Terpinolen	9,08	-	-	0,06
12.	Heptanal	<i>Traces</i>	-	-	-
13.	Etil heptanoat	1,18	-	-	-
14.	Etil oktanoat	<i>Traces</i>	-	-	-
15.	Junipen	2,41	-	-	-
16.	Bornil asetat	<i>Traces</i>	-	-	-
17.	Terpinen-4-ol	4,25	0,7	0,7	2,37
18.	α -longipinen	0,95	0,3	0,3	1,54
19.	Estragol	0,91	-	1,9	-
20.	α -amorphen	0,62	-		-
21.	Germacren	1,06	-	-	-
22.	α -bisabolen	<i>Traces</i>	-	-	0,07
23.	L-karvenol	0,79	-	-	-
24.	Etil tetradekanoat	2,12	-	-	-
25.	Timol	1,67	-	-	0,13
26.	Karvacrol	2,53	1,6	3,7	2,12
27.	Etil heksadekanoat	<i>Traces</i>	-	-	-
28.	Timokuinon	1,65	0,6	11,8	11,27
29.	Etil oktadekanoat	0,84	-	-	-
30.	Etil oleat	0,64	-	-	-
31.	α -Thujen	-	2,4	2,4	10,03
32.	α -felandren	-	0,6	0,6	-
33.	<i>Trans</i> -Anetol	-	38,3	27,1	0,61
34.	Longifolen	-	0,7	5,7	6,32
35.	<i>p</i> -simen-8-ol	-	0,4	0,4	0,09
36.	Carvon	-	-	2,0	0,16
37.	Anisaldehyd	-	1,7	1,7	-

Ket. * = Toma *et al.*, 2010**= Nickavar *et al.*, 2003***=Gerige *et al.*, 2009****=Singh *et al.*, 2005



Gambar 1. Rumus struktur metabolit sekunder dalam minyak atsiri jinten hitam (Anonim, 2012)

Timokuinon memiliki efek antioksidan, hipolipidemik dan hiperkolesterolemia yang menyebabkan penurunan peroksidasi lipid dan melindungi terhadap pengembangan aterosklerosis (Nader *et al.*, 2010). Timokuinon merupakan senyawa aktif dari jinten hitam dan jumlahnya 18,4-24% pada minyak atsiri (El-Dakhakhny, 1963). Mahgoub (2003) melaporkan bahwa dosis 5mg/kg timokuinon diberikan selama 3 hari dapat memberikan perlindungan terhadap radang usus besar, sementara perlindungan maksimal dapat dicapai pada dosis 10mg/kg. Studi lain dalam mengobati tikus dengan timokuinon 8 mg/kg/hari selama 5 hari melindungi mereka terhadap hepatotoksisitas dari karbon tetraklorida dan *doxorubicin cardiotoxicity* (Al-Shabanah *et al*, 1998). Sebuah efek yang signifikan dari enam dosis berbeda dari timokuinon (0,5, 1, 2, 4, 6 dan 8mg/kg/hari) pada lipid darah tikus tercatat setelah 4 hari oleh Bamosa *et al* (2002). Abuo-Hozaiifa (2002) menyatakan bahwa pengaruh timokuinon pada penghambatan agregasi platelet efektif hanya pada dosis 16 mg/ kg.

2. Metabolit Sekunder dan profil metabolit (*metabolite profiling*)

Metabolit sekunder didefinisikan sebagai zat kimia bukan nutrisi yang memainkan peran penting dalam proses keberadaan dan evaluasi bersama antar jenis di lingkungan (Mursyidi, 1989). Konsentrasi metabolit sekunder dan komposisinya dipengaruhi oleh faktor internal (genetik, kondisi kesehatan tanaman, umur) dan faktor eksternal (lingkungan, perawatan dengan obat) (Fancy dan 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 penentuan kuantitatif atau kualitatif dari kelompok senyawa metabolit spesifik. Metabolite profiling telah digunakan untuk menganalisis lemak, isoprenoid, saponin, karotenoid, steroid, dan asam-asam. Metabolite profiling dengan GC-MS meliputi 6 tahap (Desbrosses, 2005):

- a. Ekstraksi metabolit dari sampel
- b. Derivatisasi metabolit untuk membuatnya volatile dan mudah diterima GC (untuk senyawa yang tidak mudah menguap)
- c. Pemisahan dengan GC
- d. Ionisasi senyawa yang dielusi dari GC
- e. Deteksi ion molekuler
- f. Evaluasi data dimulai dengan mencocokkan waktu retensi dan pola fragmentasi spektra massa dari referensi database.

3. *Marker Profiling dan Kontrol kualitas*

Adanya ketidakkonsistenan komposisi dari obat bahan alam dapat berpengaruh pada aksi farmakologinya. Faktor-faktor lingkungan seperti kondisi tanah, ketersediaan cahaya dan air, temperatur, dan lokasi geografis mempengaruhi akumulasi kandungan senyawa pada tumbuhan. Selain itu penanaman dan cara panen, pengolahan pascapanen, dan metode penyimpanan juga mempengaruhi fisik tanaman dan kualitas kimia. Hal ini menunjukkan parameter kualitas tidak hanya untuk bahan tanaman tetapi juga untuk sediaan akhir (Mukherjee, 2010).

Li et al (2008) menggolongkan senyawa marker menjadi 8, antara lain: marker aktif, bioaktif, sinergis, karakteristik, utama, korelatif, beracun, dan marker spesifik untuk spesies, genus dan famili yang sama. Pemilihan senyawa marker sangat penting untuk kontrol kualitas obat bahan alam. Senyawa marker yang baik adalah senyawa yang memiliki efek terapi. Senyawa marker aktif memiliki efek terapi langsung dari obat bahan alam. Senyawa marker aktif dapat digunakan sebagai penanda kimia untuk penilaian kualitatif dan kuantitatif.

Kontrol kualitas obat bahan alam bertujuan untuk menjamin konsistensi, keamanan dan efek terapi obat bahan alam. Senyawa marker harus digunakan

pada setiap tahap pembuatan dan pengembangan obat herbal, seperti otentikasi spesies yang berbeda, panen, evaluasi kualitas produk jadi, dan stabilitas. Beberapa contoh senyawa marker yang digunakan untuk kontrol kualitas obat bahan alam dan sebagai komponen yang potensial untuk perkembangan industri obat bahan alam antara lain:

a. Identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa marker pada produk

Kapsul *Qingfu Guanjie Shu* (QGS) merupakan produk yang digunakan penyakit *rheumatoid arthritis* dan inflamasi akut. Formula QGS terdiri dari 5 herbal anti-inflamasi dan anti-arthritis, antara lain *Caulis Sinomenii*, *Radix Paeoniae Alba*, *Cortex Moutan*, *Rhizoma Curcumae Longae* and *Radix Aconiti Lateralis Preparata*. Sinomenin, paeoniflorin, paeonol, curcumin dan hipaconitin merupakan senyawa mayor pada ke-5 herbal tersebut yang memiliki efek signifikan sebagai anti-inflamasi, analgetik, anti-arthritis dan immunosupresi. Ke-5 senyawa tersebut digunakan sebagai marker dalam analisis menggunakan HPLC. Hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan ke-5 senyawa marker tersebut pada 3 *batch* sampel produk QGS.

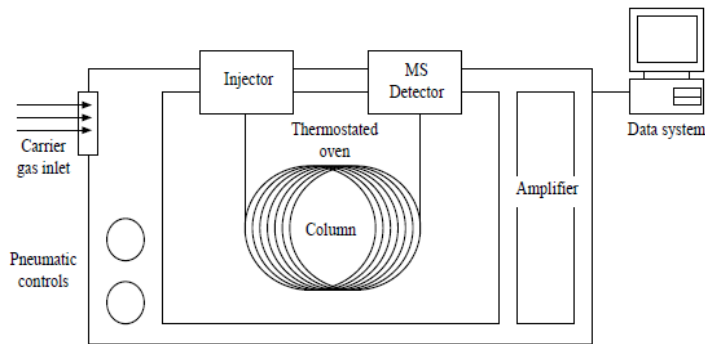
b. Senyawa marker sebagai kontrol kualitas obat baru

Komponen yang memiliki efek farmakologi dapat digunakan sebagai senyawa marker pada obat baru. Asam gambogic merupakan salah satu senyawa mayor golongan xanthon dari tanaman gamboges dan digunakan sebagai senyawa marker dalam kontrol kualitas dan evaluasi keamanan dari gamboges. Asam gambogic potensial sebagai obat anti kanker dan di Cina sudah diakui sebagai salah satu obat yang digunakan untuk pengobatan kanker (Li *et al*, 2008).

4. *Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS)*

Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing–masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). Kebanyakan analisis dengan kromatografi gas–spektrometri massa (*GC–MS*) dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu: kualitatif dan kuantitatif. Kedua analisis tersebut menggunakan spektrometer massa sebagai detektor (Munson, 1991). Satu keuntungan dari *GC–MS* adalah identifikasinya

berdasarkan waktu retensi dan spektrum massa (pola fragmentasi senyawa) (Anonim^a, 2009).



Gambar 2. *Gas Chromatography mass spectroscopy (GC-MS)*

Unsur-unsur penting dalam sistem *GC-MS*:

a. Gas pembawa

Faktor yang menyebabkan suatu senyawa bergerak melalui kolom kromatografi gas ialah keatsiriannya, aliran gas yang melalui kolom yang diukur dalam satuan ml/menit, serta penurunan tekanan antara pangkal dan ujung kolom. Pemilihan gas pembawa tergantung pada detektor yang dipakai. Kemurnian gas pembawa sangat penting. Sebagai gas pembawa pada *GC-MS* biasanya digunakan helium karena ringan, relatif mudah dihilangkan dengan sistem pompa hampa (Munson, 1991).

b. Detektor

Detektor dalam *GC-MS* adalah spektroskopi massa yang terdiri atas sistem ionisasi dan sistem analisis (Agusta, 2000). Spektroskopi massa berdasarkan atas ionisasi dari molekul solut dalam sumber ion dan pemisahan ion didasarkan dari hasil unit analisis rasio massa (Fowlis, 1994). Salah satu keuntungan teknik ini adalah sensitivitasnya tinggi. Spektroskopi massa dapat mendeteksi senyawa dalam jumlah mikrogram (Sarker *et al.*, 2006).

c. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor utama yang menentukan hasil analisis kromatografi gas dan spektrometri massa. Ada tiga macam suhu yang penting untuk pemisahan yang baik dalam *GC*, yaitu suhu tempat injeksi, suhu kolom dan suhu detektor (McNair dan Bonelli, 1998).

Pemisahan pada *GC* dapat dilakukan pada suhu tetap yang biasanya disebut dengan pemisahan *isothermal* dan dapat dilakukan dengan menggunakan suhu yang berubah secara terkendali yang disebut dengan pemisahan suhu terprogram (Gandjar dan Rohman, 2007)

d. Sistem injeksi

Sampel campuran seperti minyak atsiri, pemasukan sampel harus melalui sistem *GC*, sedangkan untuk sampel murni dapat langsung dimasukkan ke dalam ruang pengion (*direct inlet*) (Agusta, 2000).

e. Sistem ionisasi

Electron *Impact ionization (EI)* adalah metode ionisasi yang umum digunakan (Agusta, 2000). *EI* merupakan proses ionisasi yang diperoleh dari interaksi antara elektron dan molekul ketika elektron lewat berdekatan. Proses ini menghasilkan perpindahan satu elektron dari molekul sampel, dengan anggapan ion ini tidak mengalami fragmentasi ditunjukkan sebagai “ion molekuler”. Elektron dihasilkan oleh lewatnya arus tertentu menembus *tungsten filament*. Elektron ini menyebabkan analit menjadi diionisasi dan difragmentasi. Semua muatan positif ion dibentuk dalam sumber ion dimasukkan kedalam *quadrupole* (Anonim^b, 2009).

f. Metode *GC-MS*

Penelitian tentang komposisi minyak atsiri jinten hitam dengan *GC-MS* telah banyak dilakukan. Beberapa sistem *GC-MS* yang pernah dipakai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sistem *GC-MS* yang Pernah Dipakai untuk Analisis Minyak Atsiri Jinten Hitam

Peneliti	Temperatur	Gas	Flow rate (ml/menit)	split ratio
Toma <i>et al.</i> , 2010	Temperatur kolom dari 50-280°C kenaikan suhu 5°C/ menit	Helium	1,0	-
Nickavar <i>et al.</i> , 2003	Temperatur kolom dari 60-260°C kenaikan suhu 4°C/ menit	Helium	0,8	1:10.
Gerige <i>et al.</i> , 2009	Temperatur oven 50°C selama 5 menit dan dinaikkan dari 50-280°C selama 40 menit	Helium	2,0	1:30
Singh <i>et al.</i> , 2005	Temperatur oven dari 60-185°C dengan kenaikan suhu 1,5°C/ menit, ditahan selama 1 menit, 185-275°C dengan kenaikan suhu 9°C/ menit, ditahan selama 2 menit.	Helium	1,0	1:30

E. Keterangan Empiris

Hasil penelitian ini memberikan informasi tentang kandungan metabolit sekunder dan kadar relatif timokuinon pada 5 produk minyak jinten hitam (*Nigella sativa*) yang beredar di Indonesia.