

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil determinasi tanaman

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Tujuan dilakukannya determinasi untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang digunakan penelitian agar terhindar dari kesalahan pengumpulan sampel, tercampur dengan tanaman lain dan untuk mencocokkan morfologi tanaman yang digunakan penelitian dengan kunci determinasi. Berdasarkan surat keterangan determinasi nomor 016.A.E-1/LAB.BIO/IV/2019 menunjukkan bahwa tanaman yang diteliti adalah rimpang kencur (*Kaempferia galanga*L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pembuatan serbuk rimpang kencur

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang kencur

Bobot basah	Bobot kering	Rendemen
10 kg	1,5 kg	15 %

Tabel 1 menunjukkan bahwa rimpang kencur basah sebanyak 10 kg setelah dilakukan pengeringan terjadi penyusutan sebanyak 15% sehingga diperoleh bobot serbuk sebanyak 1,5 kg. Tujuan dilakukan pengeringan untuk mengurangi kandungan air dalam rimpang supaya tidak mudah ditumbuhi jamur, mikroorganisme dan mencegah pembusukan. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 8.

3. Hasil penetapan kadar air

Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk rimpang kencur

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20,020	1,5	7,49
2	20,001	1,3	6,50
3	20,113	1,7	8,45
Rata-rata			7,48

Hasil rata-rata prosentase dari penetapan kadar air serbuk rimpang kencur adalah 7,48 % kadar tersebut telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan

sebesar kurang dari 10% (Depkes 2008). Kadar air yang baik tidak lebih dari 10 % karena jika kadarnya terlalu tinggi memudahkan tumbuhnya jamur, mikroorganisme lain serta mengakibatkan mutu serbuk menurun akibat dari terjadinya reaksi enzimatik (Faramayuda *et al.* 2010).

Tujuan melakukan penetapan kadar air untuk mengetahui prosentase kandungan air dalam serbuk kencur. Metode destilasi dipilih karena bahan yang digunakan berupa rimpang kencur yang telah dikeringkan dan mengandung minyak atsiri (Depkes 2008). Tujuan pengukuran kadar air menggunakan toluen jenuh supaya air yang terkandung didalam simplisia tidak terikat oleh toluen pada saat destilasi sehingga hasil persen kadar air yang diperoleh akurat (Faramayuda *et al.* 2010). Pelarut menggunakan toluen karena toluen merupakan salah satu pelarut yang memiliki titik didih lebih tinggi dibanding air sedangkan nilai berat jenis lebih kecil dari air. Toluene mempunyai titik didih 110,6°C dan berat jenis 0,866 g/ml (BPOM RI 2012). Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 2. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat di lampiran 8.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol rimpang kencur

Tabel 3. Hasil prosentase rendemen ekstrak etanol rimpang kencur

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1000	188	18,8

Hasil prosentase rendemen ekstrak etanol rimpang kencur diperoleh sebesar 18,8 % b/b. Rendemen ekstrak rimpang kencur yang baik tidak kurang dari 8,3% (Depkes 2008). Organoleptis ekstrak berwarna coklat tua, berbentuk kental, bau khas, rasa pedas dan tebal. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% dipilih karena efektif menarik senyawa yang bersifat polar (Diniatik 2016). Hasil perhitungan prosentase rendemen dapat dilihat pada lampiran 9.

5. Hasil fraksi ekstrak etanol rimpang kencur

Hasil fraksi rimpang kencur dapat dilihat pada tabel 4. Perhitungan rendemen dapat dilihat di lampiran 11. Berdasarkan data pada tabel 4 hasil rendemen fraksi *n*-heksan yang diperoleh sebesar 2,5%. Pada fraksi etil asetat

20%. Fraksi air rendemen yang diperoleh sebesar 31,25%. Hal tersebut menunjukkan bahwa rimpang kencur banyak mengandung senyawa yang bersifat polar dan semi polar. Fraksi rimpang kencur diperoleh sebesar 43 gram dari 80 gram ekstrak rimpang kencur. Perolehan fraksi yang sedikit dapat disebabkan karena ekstrak tidak larut sempurna dan adanya proses penyaringan ekstrak sehingga sisa ekstrak ikut terbuang.

Tabel 4. Tabel hasil fraksi etil asetat, air dan *n*-heksan

Ekstrak etanol (gram)	Fraksi (gram)			Rendemen %		
	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air
80	2	16	25	2,5	20	31,25

Fraksinasi ekstrak rimpang kencur bertujuan untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan perbedaan polaritas. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi antara lain *n*-heksan, etil asetat, dan air. Ketiga pelarut tersebut memiliki tingkat polaritas yang berbeda-beda. Pelarut *n*-heksan bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar, dan air bersifat polar. Tujuan menggunakan tiga pelarut dengan polaritas berbeda-beda agar senyawa yang bersifat non polar, semi polar, dan polar dapat tertarik pada masing-masing pelarut yang memiliki polaritas sama.

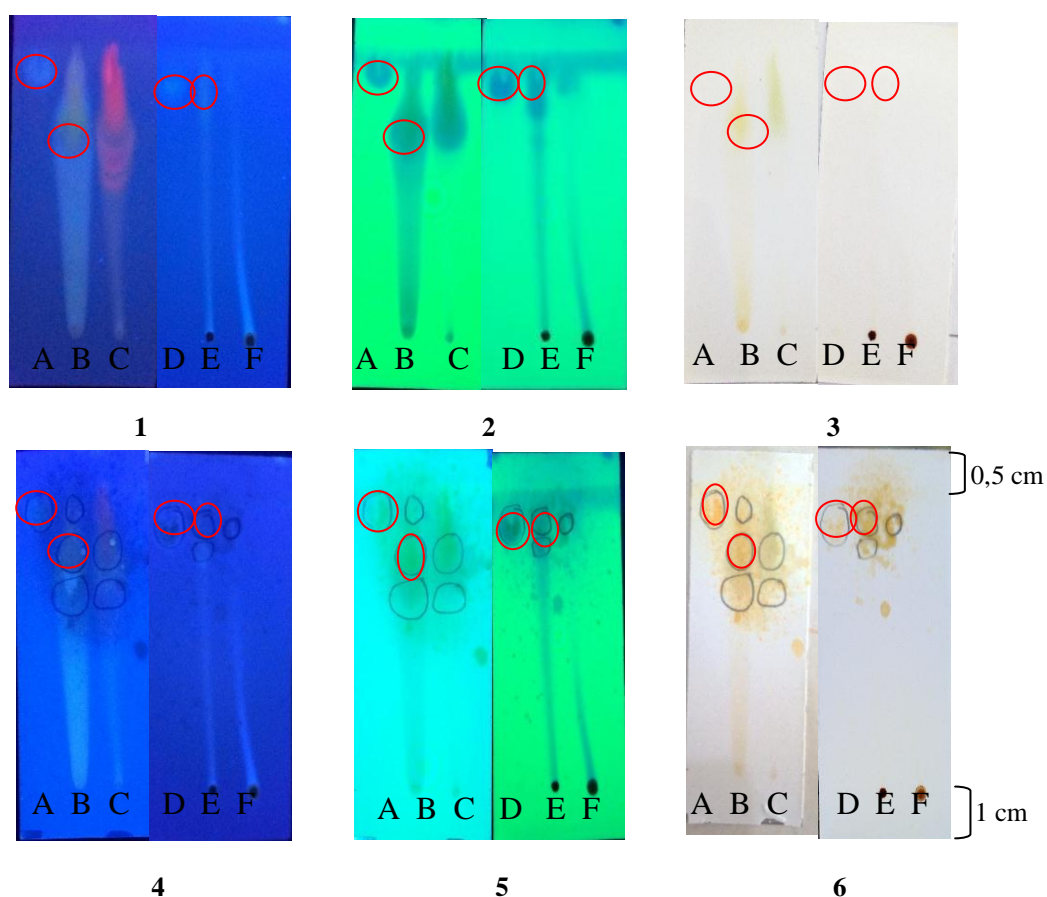
Fraksinasi diulangi beberapa kali bertujuan agar senyawa yang terkandung didalam ekstrak dapat tertarik secara maksimal. Tujuan penggunaan pelarut non polar diawal fraksinasi supaya senyawa non polar yang terkandung didalam ekstrak ikut terlarut semua didalamnya (Edawati 2012).

6. Hasil pengujian kandungan kimia serbuk dan ekstrak rimpang kencur

Serbuk dan ekstrak rimpang kencur diidentifikasi kandungan kimia menggunakan uji tabung. Tujuan uji tabung dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri yang terkandung dalam rimpang kencur. Hasil uji tabung serbuk dan ekstrak dapat dilihat pada tabel 5. Foto hasil uji tabung dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil pengujian kandungan senyawa kimia rimpang kencur berdasarkan tabel 5 bahwa serbuk dan ekstrak etanol rimpang kencur positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri.

Tabel 5. Hasil uji tabung kandungan senyawa kimia serbuk dan kestrak rimpang kencur

Kandungan senyawa kimia	Pustaka	Hasil	
		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Jingga	+	+
Alkaloid Mayer	Endapan putih	+	+
Alkaloid Wagner	Coklat kemerahan	+	+
Alkaloid Dragendorff	Jingga	+	+
Minyak atsiri	Merah	+	+

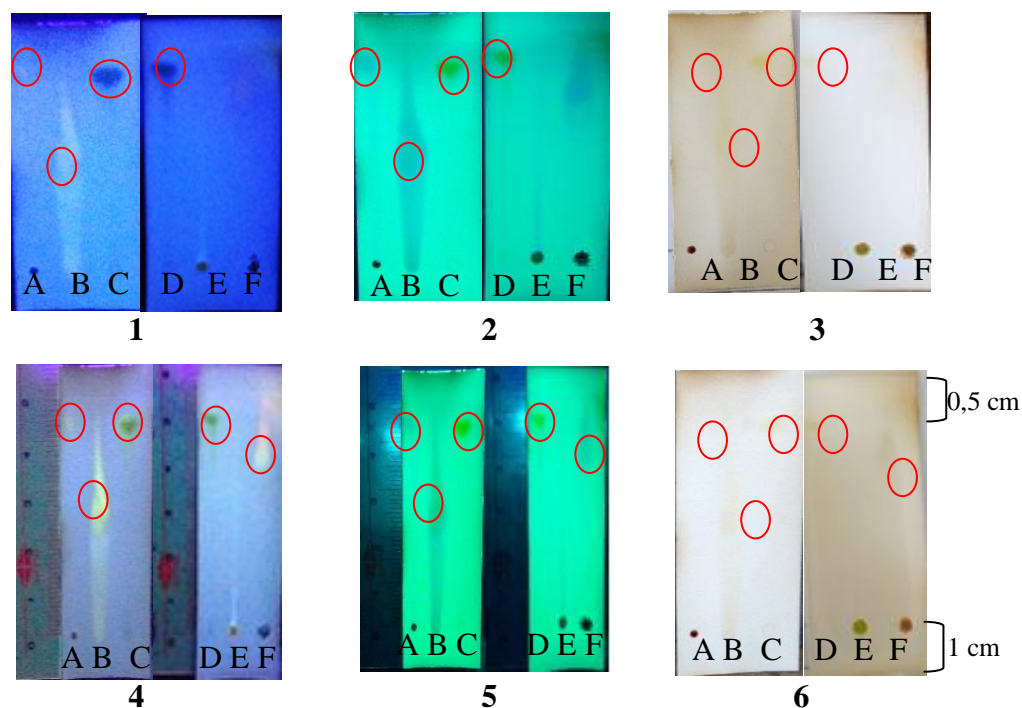
7. Hasil KLT

Gambar 5. Profil kromatogram senyawa alkaloid, A) standart piperin; B) fraksi etil asetat; C) fraksi *n*-heksan; D) standart piperin; E) ekstrak; F) fraksi air; 1) UV₃₆₆ sebelum disemprot; 2) UV₂₅₄ sebelum disemprot; 3) sinar tampak; 4) UV₃₆₆ sesudah disemprot; 5) UV₂₅₄ sesudah disemprot; 6) sesudah disemprot Dragendorff.

Tabel 6. Hasil identifikasi alkaloid ekstrak dan fraksi secara KLT

Tanda	Sampel cuplikan	Rf	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Pereaksi Dragendorff	Keterangan
A	Standar piperin	0,83	Meredam	Biru	Jingga	+
B	Fraksi etil asetat	0,67	Meredam	Kuning	Jingga	+
C	Fraksi <i>n</i> -heksan	0	Meredam	Merah	Hijau	-
D	Standar piperin	0,75	Meredam	Kuning	Jingga	+
E	Ekstrak	0,75	Meredam	Kuning	Jingga	+
F	Fraksi air	0	Meredam	Kuning	Kuning	-

Hasil KLT kandungan senyawa alkaloid pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dapat dilihat pada gambar 5. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis kandungan alkaloid sebelum disemprot dengan pereaksi Dragendorff pada sinar UV₃₆₆ bercak berwarna biru untuk baku standar, ekstrak, dan fraksi air, sedangkan bercak fraksi etil asetat berfluoresensi kuning, bercak fraksi *n*-heksan berwarna merah. Warna bercak pada sinar UV₂₅₄ meredam semua. Lempeng KLT di sinar tampak terdapat warna kecoklatan pada bercak fraksi etil asetat dan kehijauan pada bercak fraksi *n*-heksan. Selanjutnya lempeng KLT disemprot menggunakan pereaksi Dragendorff untuk memperjelas warna pada bercak. Perubahan warna bercak terlihat jelas jika dilihat di sinar tampak. Bercak berubah warna menjadi jingga. Hal tersebut dapat terjadi karena terjadi ikatan kovalen koordinat antara nitrogen pada alkaloid dan ion K⁺ sehingga pada lempeng KLT terbentuk bercak berwarna coklat sampai jingga (Marliana *et al.* 2005). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid. Fase diam menggunakan silika gel GF₂₅₄ sedangkan fase gerak menggunakan *n*-heksan:etil asetat (7:3). Baku pembanding alkaloid menggunakan piperin. Nilai Rf untuk baku pembanding sebesar 0,83, fraksi etil asetat 0,67, fraksi air 0 dan fraksi *n*-heksan 0 sedangkan pada baku pembanding dan ekstrak sebesar 0,75. Rf sampel dengan Rf baku pembanding meskipun memiliki kesamaan tetapi sampel ekstrak dan fraksi rimpang kencur tidak mengandung piperin karena dibawah sinar UV₃₆₆ warna totonan yang dihasilkan berbeda. Berdasarkan hasil identifikasi bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat dinyatakan positif mengandung alkaloid karena warna hasil KLT memiliki kesamaan dengan pustaka (Harborne 1987).



Gambar 6. Profil kromatogram senyawa flavonoid, A) ekstrak; B) fraksi etil asetat; C) standart quersetin; D) standart quersetin; E) fraksi *n*-heksan; F) fraksi air; 1) UV₃₆₆ sebelum disemprot; 2) UV₂₅₄ sebelum disemprot; 3) sinar tampak; 4) UV₃₆₆ sesudah disemprot; 5) UV₂₅₄ sesudah disemprot; 6) sesudah disemprot sitroborat.

Tabel 7. Hasil identifikasi flavonoid ekstrak dan fraksi secara KLT

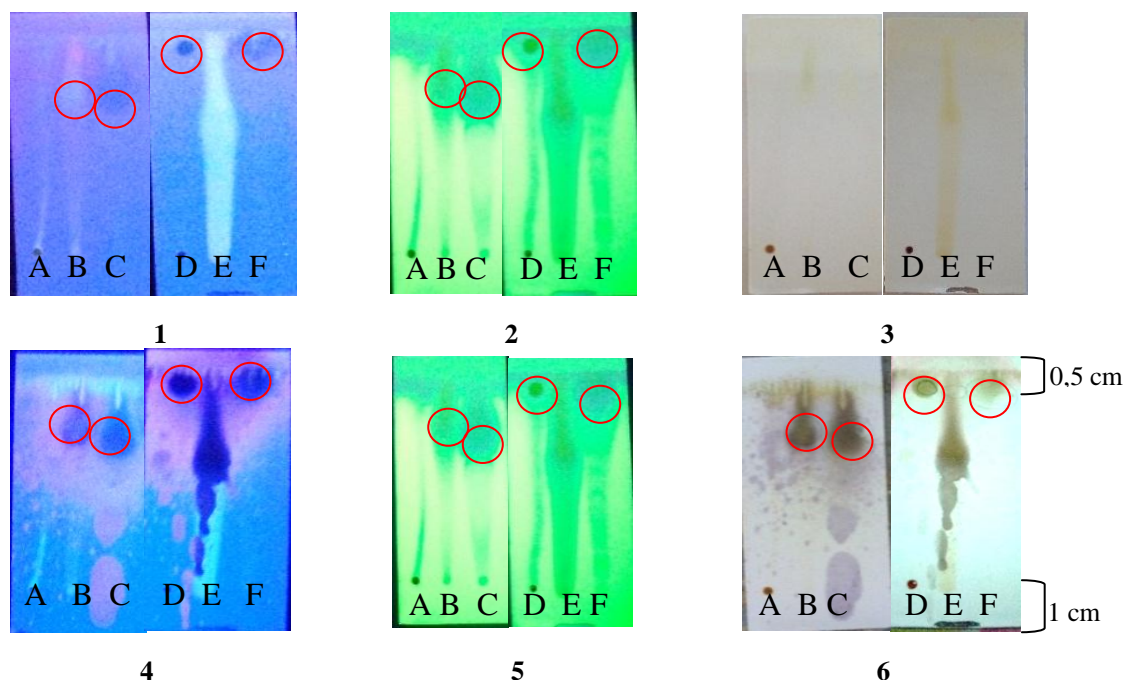
Tanda	Sampel cuplikan	Rf	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Pereaksi Sitroborat	Keterangan
A	Ekstrak	0,75	Meredam	Kuning	Kuning	+
B	Fraksi etil asetat	0,45	Meredam	Kuning	Kuning	+
C	Standar quersetin	0,75	Kuning	Meredam	Kuning	+
D	Standar quersetin	0,83	Kuning	Meredam	Kuning	+
E	Fraksi <i>n</i> -heksan	0	Meredam	-	-	-
F	Fraksi air	0,67	Meredam	Merah kuning	Kuning	+

Gambar 7 merupakan hasil identifikasi flavonoid secara Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase diam silika GF₂₅₄ dengan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (7:3). Baku pembanding yang digunakan adalah quersetin. Hasil identifikasi flavonoid lempeng KLT di sinar UV₃₆₆ dan UV₂₅₄ meredam kecuali bercak baku quersetin di UV₂₅₄ berwarna kuning. Pada sinar tampak bercak tidak terlihat. Setelah lempeng disemprot dengan pereaksi sitroborat dan dipanaskan pada suhu 100°C kemudian diamati dibawah sinar UV₃₆₆ maka bercak berubah

berfluoresensi kuning. Lempeng diamati dibawah UV₂₅₄ bercak meredam. Pada sinar tampak semua bercak tidak terlihat, hanya berkas baku quersetin yang terlihat. Pada totalan fraksi *n*-heksan tidak terdapat bercak. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi tersebut tidak mengandung senyawa flavonoid. Nilai Rf ekstrak sebesar 0,75, fraksi etil asetat 0,45, baku quersetin 0,75, baku quersetin 0,83 dan fraksi air 0,67. Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air positif mengandung flavonoid sedangkan fraksi *n*-heksan negatif mengandung flavonoid hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung merupakan aglikon memiliki sifat yang kurang polar

Hasil identifikasi minyak atsiri dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sebelum disemprot dengan anisaldehyd asam sulfat, lempeng dilihat dengan sinar UV₃₆₆ bercak fraksi *n*-heksan dan baku sinamaldehyd berfluoresensi kuning sedangkan bercak fraksi air dan fraksi etil asetat meredam. Pada UV₂₅₄ bercak meredam. Bercak di sinar tampak tidak terlihat. Setelah disemprot dan dipanaskan pada suhu 100°C bercak pada sinar tampak berwarna ungu kecoklatan, sedangkan bercak fraksi air tidak terlihat. Pada sinar UV₃₆₆ dan UV₂₅₄ meredam. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi air dan fraksi etil asetat negatif mengandung minyak atsiri sedangkan ekstrak dan fraksi *n*-heksan positif mengandung minyak atsiri. Hal tersebut dapat disebabkan karena minyak atsiri yang bersifat non polar sehingga fraksi air dan fraksi etil asetat tidak mampu menarik senyawa tersebut. Nilai Rf fraksi *n*-heksan sebanding dengan baku sinamaldehyd yaitu 0,67. Pada lempeng kedua nilai Rf ekstrak sebanding dengan baku sinamaldehyd sebesar 0,92. Hasil KLT minyak atsiri dapat dilihat pada gambar 7. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu *n*-heksan : etil asetat (7:3) dan fase diam menggunakan silika gel GF₂₅₄.

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kencur mengandung minyak atsiri, alkaloid dan flavonoid sedangkan fraksi etil asetat mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Fraksi air mengandung flavonoid. Fraksi *n*-heksan mengandung minyak atsiri. Hasil KLT dapat dilihat pada tabel 8.



Gambar 7. Profil kromatogram senyawa minyak atsiri, A) fraksi air; B) fraksi *n*-heksan; C) standart sinamaldehyd; D) ekstrak; E) fraksi etil asetat; F) standart sinamaldehyd; 1) UV₃₆₆ sebelum disemprot; 2) UV₂₅₄ sebelum disemprot; 3) sinar tampak; 4) UV₃₆₆ sesudah disemprot; 5) UV₂₅₄ sesudah disemprot; 6) sesudah disemprot sitroborat.

Tabel 8. Hasil identifikasi minyak atsiri ekstrak dan fraksi secara KLT

Tanda	Sampel cuplikan	Rf	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Pereaksi anisaldehyd asam sulfat	Keterangan
A	Fraksi air	0	-	-	Kuning	-
B	Fraksi <i>n</i> -heksan	0,67	Meredam	Meredam	Coklat	+
C	Standart sinamaldehyd	0,67	Meredam	Meredam	Coklat	+
D	Ekstrak	0,92	Meredam	Meredam	Coklat	+
E	Fraksi etil asetat	0	Meredam	Meredam	Ungu kecoklatan	-
F	Standar sinamaldehyd	0,92	Meredam	Meredam	Coklat	+

8. Hasil uji tonikum

Pengujian tonikum menggunakan metode *Natatory Exhaustion*. Metode ini adalah salah satu metode untuk mengetahui lokomotorik hewan uji yang bertujuan melihat efek obat terhadap koordinasi gerak khususnya pada penurunan kontrol syaraf pusat (Vogel 2002). Pemilihan metode ini berdasarkan kelebihan yang dimiliki yaitu dapat melihat langsung peningkatan aktifitas, waktu pengamatan singkat, dan rangkaian alat yang relatif sederhana. Prinsip metode ini adalah

memasukkan hewan uji ke dalam kolam berukuran luas alas 50 cm x 30 cm, tinggi kolam 25 cm diisi air dengan ketinggian 18 cm (Turner 1965). Waktu lelah hewan uji baik sebelum ataupun sesudah diberi perlakuan harus dicatat untuk mengetahui selisih waktu lelahnya. Apabila kepala hewan uji berada di bawah permukaan air ± 7 detik maka hewan uji tersebut dapat dikatakan telah mengalami kelelahan (Turner 1965). Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Data waktu lelah sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok perlakuan	Rata-rata waktu lelah T ₀ (menit) \pm SD	Rata-rata waktu lelah T ₁ (menit) \pm SD	Selisih waktu lelah (menit) \pm SD	Efek tonikum (%) \pm SD
Kontrol negatif (aquades)	2,79 \pm 0,45	2,82 \pm 0,46	0,03 \pm 0,02 ^b	1,02 \pm 0,70
Kontrol positif (kafein)	2,81 \pm 0,66	11,27 \pm 0,17	8,46 \pm 0,63 ^a	320,13 \pm 79,62
Ekstrak	3,08 \pm 0,82	4,23 \pm 0,20	1,15 \pm 0,63 ^{ab}	45,02 \pm 29,43
Fraksi <i>n</i> -heksan	2,35 \pm 0,54	3,05 \pm 0,05	0,70 \pm 0,51 ^b	37,91 \pm 35,46
Fraksi etil asetat	2,74 \pm 0,32	5,14 \pm 0,13	2,40 \pm 0,43 ^{ab}	90,61 \pm 25,14
Fraksi air	2,18 \pm 0,34	3,26 \pm 0,21	1,08 \pm 0,51 ^b	55,29 \pm 39,19

Keterangan :

Semua kelompok perlakuan terdapat penambahan waktu lelah.

a = berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif aquades

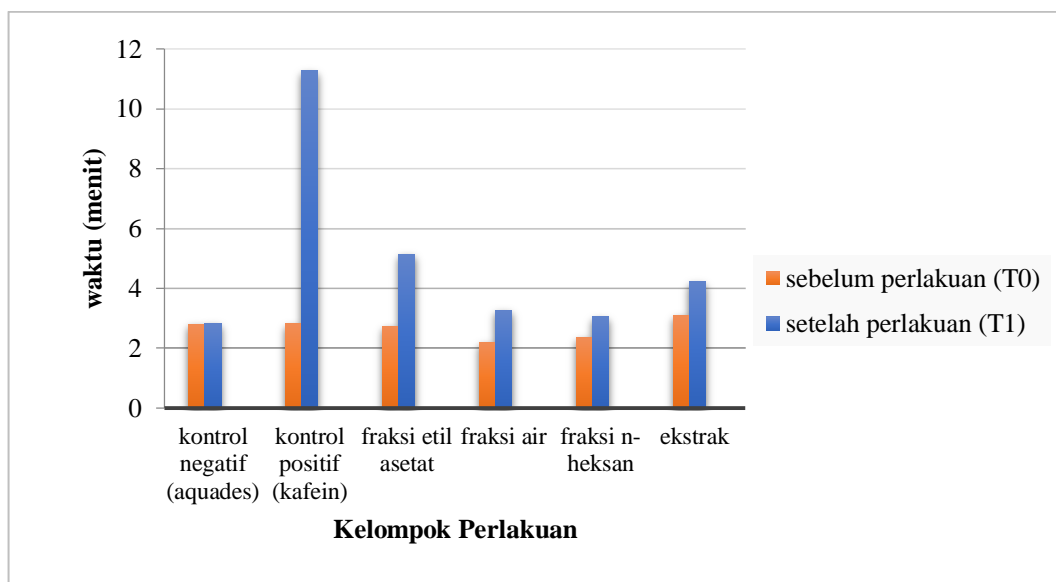
b = berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif kafein

T₀ = waktu lelah sebelum perlakuan

T₁ = waktu lelah setelah perlakuan

Pada tabel 9 memperlihatkan bahwa data waktu lelah setelah perlakuan pada masing-masing kelompok lebih besar dibandingkan waktu lelah sebelum perlakuan, meskipun pada kelompok kontrol negatif tidak naik secara signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi air dan fraksi *n*-heksan mempunyai efek tonikum. Efek tonikum tertinggi adalah kelompok kontrol positif karena sediaan yang diberikan mengandung kafein sedangkan efek tonikum terendah adalah kelompok kontrol negatif karena aquades tidak dapat memberikan efek tonikum. Kafein merupakan senyawa yang memiliki efek psikotonik paling kuat (Mutschler 1989). Kafein dipilih sebagai kontrol positif karena kafein terbukti memiliki efek tonikum. Aquades dipilih sebagai kontrol negatif karena tidak memiliki zat aktif yang dapat meningkatkan stamina (tonikum). Mekanisme kafein pada sel ada 3 yaitu menggerakkan Ca²⁺ masuk kedalam intraselular, meningkatkan nukleotid siklik AMP dan GMP dan menghambat reseptor adenosin (Sunaryo 1995). Mekanisme pertama yaitu kafein dengan dosis tinggi lebih dari 10 mol/L maka kafein mampu berinteraksi dengan

reseptor H_1 mengakibatkan jalur fosfolipase C aktif sehingga terjadi katalis reaksi hidrolisis fosfoinositol 4,5-difosfat (PIP_2) menjadi inositol 1,4,5 trifosfat (IP_3) dan diasil gliserol (DAG). IP_3 berikatan dengan reseptornya yang ada di retikulum endoplasma menyebabkan kanal *Transient Receptor Potential* terbuka sehingga kalsium lepas mengakibatkan kadar kalsium di intraseluler meningkat. Peningkatan ini dapat membuka kanal kalsium menyebabkan kalsium di intraseluler dan ekstraseluler meningkat (Gosen *et al.* 2006). Kafein juga mampu menghambat enzim *phosphodiesterase* nukleotid siklik sehingga terjadi peningkatan siklik AMP atau GMP menyebabkan terjadinya relaksasi otot polos (Sunaryo 1995). Kedua mekanisme tersebut berlaku untuk kafein dengan konsentrasi yang sangat tinggi lebih dari 100 mcM sehingga mekanisme yang paling relevan adalah sebagai penghambat reseptor adenosin (Sunaryo 1995). Reseptor adenosin memiliki 2 macam yaitu adenosin yang sensitiv terhadap analog adenosin dan adenosin yang dapat menstimulasi atau menginhibisi sintesis siklik AMP (Sunaryo 1995).



Gambar 8. Diagram waktu lelah sebelum dan sesudah perlakuan. Keterangan: *(kontrol positif kafein terdapat perbedaan signifikan dengan semua kelompok)

Pada gambar 8 menunjukkan diagram waktu lelah sebelum (T_0) dan sesudah perlakuan (T_1). Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* pada lampiran 15 data T_1 menunjukkan bahwa kelompok aquades berbeda signifikan dengan

kelompok kafein, fraksi etil asetat dan ekstrak karena memiliki nilai signifikan $0,000 < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna. Pada kelompok kafein berbeda signifikan dengan kelompok lain dengan nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,05$ menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna. Kelompok ekstrak dengan semua kelompok memiliki nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,05$. Hal tersebut menggambarkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan.

Pada gambar 8 menunjukkan diagram selisih waktu lelah pada hewan uji yang telah diberi perlakuan secara oral. Penelitian ini dikuatkan dengan uji statistik dengan SPSS 21.0. Berdasarkan hasil uji statistik *Post Hoc Test* pada lampiran 15 menunjukkan bahwa selisih waktu lelah pada kelompok aquades berbeda signifikan dengan kafein dan fraksi etil asetat dengan nilai signifikan $0,000 < 0,05$ sedangkan dengan ekstrak nilai signifikan $0,041 < 0,05$. Kelompok kafein berbeda signifikan dengan aquades, ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi air dan fraksi etil asetat dengan nilai signifikan $0,000 < 0,05$. Kelompok fraksi etil asetat berbeda signifikan dengan kelompok aquades dengan nilai signifikan $0,000 < 0,05$, kafein $0,000 < 0,05$, fraksi air $0,11 < 0,05$, *n*-heksan $0,001 < 0,05$ dan ekstrak $0,019 < 0,05$. Kelompok ekstrak tidak berbeda signifikan dengan kelompok fraksi *n*-heksan dengan nilai signifikan $0,797 > 0,05$, fraksi air $1,000 > 0,05$, sedangkan dengan kelompok aquades $0,041 < 0,05$, kafein $0,000 < 0,05$, fraksi etil asetat $0,019 < 0,05$ memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai signifikan lebih kecil dari $0,05$. Tahapan uji statistik diawali dengan uji *Saphiro-Wilk Test* untuk mengetahui data telah terdistribusi normal atau tidak sehingga dapat dilanjutkan uji *One way ANOVA*. Hasil data uji *Saphiro-Wilk Test* diperoleh nilai signifikan $0,171 > 0,05$ menunjukkan data penelitian telah terdistribusi normal. Uji statistik dilanjutkan menggunakan *One Way ANOVA* menghasilkan nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,05$. Berdasarkan nilai signifikan tersebut dapat menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan.

Berdasarkan hasil uji tonikum dari ekstrak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang memiliki aktivitas tonikum lebih tinggi adalah fraksi etil asetat, karena berdasarkan hasil KLT fraksi etil asetat mengandung senyawa alkaloid dan

flavonoid berupa kaemferol. Kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid diduga dapat memberikan efek tonikum. Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa senyawa flavonoid dan alkaloid dapat memberikan efek tonikum (Sumarny *et al.* 2013) (Tary *et al.* 2017). Efek tonikum pada ekstrak lebih rendah dibanding pada fraksi etil asetat karena ada senyawa yang mekanisme kerjanya berlawanan sehingga lebih efektif bekerja secara tunggal.

Kelelahan dapat terjadi karena adanya gangguan kontraksi di otot akibat dari peningkatan asam laktat sehingga pH pada jaringan otot dan darah menurun dan konsentrasi ion hidrogen meningkat akibatnya jumlah ATP berkurang. Hal tersebut dapat mengganggu transmisi pada *neuro muscular junction* (Simatupang 2015). Selain itu dapat timbul efek samping dari proses biokimia dan fisiologis yang dapat membahayakan tubuh, jadi untuk mengurangi kelelahan pada tubuh dengan mereduksi asam laktat (Huang *et al.* 2011). Pencegahan terjadinya kelelahan dapat menggunakan tanaman yang mengandung flavonoid dan alkaloid.

Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memiliki efek tonikum tertinggi karena mengandung flavonoid dan alkaloid. Mekanisme alkaloid sebagai tonikum dengan menduduki reseptor adenosin agar adenosin tidak dapat berikatan dengan reseptornya mengakibatkan terjadinya peningkatan gerakan otot, suasana hati, aliran darah ke otak sehingga badan kembali segar (Febrinasari *et al.* 2016). Flavonoid memiliki mekanisme menghambat ikatan ATP dengan kanal kalsium ATPase sehingga penyerapan kalsium ke dalam retikulum sarkoplasma terhambat (Susilo *et al.* 2013). Retikulum sarkoplasma adalah cairan sel otot tempat miofibril dan miofilamen berada. Miofibril merupakan serat otot untuk kontraksi atau relaksasi sedangkan miofilamen merupakan otot yang memendek apabila dalam keadaan kontraksi karena dipengaruhi oleh protein aktin dan memanjang apabila kondisi relaksasi yang dipengaruhi oleh protein miosin. Hambatan ini menyebabkan kadar kalsium di sitosol berikatan dengan troponin yang bekerja mengatur kontraksi otot pada otot jantung dan otot rangka, ikatan kalsium dengan troponin menyebabkan kontraksi otot sehingga tidak terjadi kelelahan (Susilo *et al.* 2013). Alkaloid dan flavonoid merupakan senyawa golongan penghambat enzim *fosfodiesterase* (Mill & Bone 2000).

Efek tonikum dari ekstrak rimpang kencur lebih rendah dibanding dengan fraksi etil asetat. Berdasarkan hasil KLT bahwa ekstrak mengandung minyak atsiri, flavonoid dan alkaloid. Meskipun ekstrak mengandung senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan fraksi etil asetat tapi efek tonikunya lebih rendah diduga karena mekanisme kerja dari senyawa flavonoid dan alkaloid yang sinergis sedangkan minyak atsiri memiliki mekanisme yang berlawanan. Fraksi air memiliki efek tonikum lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat karena fraksi tersebut hanya mengandung senyawa flavonoid.

Fraksi *n*-heksan memiliki efek tonikum paling rendah dibandingkan dengan fraksi air dan etil asetat. Berdasarkan hasil KLT fraksi *n*-heksan mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri kencur memiliki efek tonikum dengan mekanisme penetrasi kedalam membran mukosa sehingga mengaktifasi sekresi neurotransmitter mengakibatkan terjadinya vasodilatasi pada saraf parasimpatis dan relaksasi otot polos vaskuler . Berdasarkan mekanisme tersebut minyak atsiri mampu memperlebar pembuluh darah (vasodilatasi) dan meningkatkan aliran darah sehingga mampu membersihkan konsentrasi asam laktat yang meningkat (Ching lin *et al.* 2018).