

# MASERASI SEBAGAI ALTERNATIF EKSTRAKSI PADA PENETAPAN KADAR KURKUMINOID SIMPLISIA TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb)

Mujahid R, Awal PKD, Nita S

Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu

## ABSTRAK

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan salah satu bahan yang cukup banyak digunakan pada klinik saintifikasi djamoe Hortus Medicus. Oleh sebab itu kontrol kualitas dari temu lawak sangat penting dilakukan untuk menjamin kesinambungan kualitas. Dalam analisa dibutuhkan metode yang sederhana, cepat, efisien dan tidak mahal. Farmakope Herbal Indonesia 2008 menyebutkan bahwa ekstraksi temulawak untuk penetapan kadar kurkuminoid adalah dengan refluks, ini dipandang kurang praktis dan efisien karena membutuhkan peralatan khusus, waktu yang relatif lama, energi dan bahan kimia yang cukup banyak. Oleh sebab itu telah dilakukan modifikasi tahapan ekstraksi penetapan kadar kurkuminoid dalam simplisia temulawak dan dibandingkan terhadap metode refluks yaitu dengan metode maserasi 24 jam dan sonikasi 15 menit. Sistem penetapan kadar secara KLT Densitometri dengan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub>, fase gerak n-heksan: etil asetat (1:1) dan deteksi pada panjang gelombang 425 nm.

Kadar kurkuminoid temulawak yang tertetapan dengan metode ekstraksi refluks, sonikasi dan maserasi berturut-turut adalah :  $1,17 \pm 0,05\%$ ;  $1,13 \pm 0,16\%$  dan  $1,36 \pm 0,11\%$ . Uji anova *single factor* menunjukkan adanya perbedaan tidak nyata dengan nilai  $F_{hit} 3,455$  dan  $F_{tab} 5,143$  dari validasi metode diperoleh LOD 11,95ng/spot, dan LOQ 0,40%, 0,61% dan 0,27% untuk ekstraksi secara refluks, sonikasi dan maserasi. Metode yang dapat diterapkan sebagai alternatif ekstraksi yang sederhana dalam penetapan kadar kurkuminoid pada simplisia temulawak adalah maserasi.

Kata kunci : Maserasi, penetapan kadar, kurkuminoid, temulawak

## PENDAHULUAN

Temulawak merupakan salah satu obat asli Indonesia yang penggunaannya paling luas baik di negara-negara Asia bahkan di seluruh dunia. Temulawak tumbuh dengan subur di berbagai negara khususnya yang memiliki iklim tropis. Sekitar 70% dari jamu yang beredar di Indonesia memakai bahan utama temulawak. (Kertia, 2007). Secara tradisional rimpang temulawak dimanfaatkan untuk tujuan perbaikan pencernaan, pada anak-anak yang kurang mempunyai nafsu makan, peluruh batu empedu, pelancar ASI, pelancar pencernaan, penurun panas, peluruh batu ginjal, penurun kolesterol (Sudarsono dkk., 1985). Adapun cara pemakaian umum di masyarakat adalah dengan menyeduh rimpang temulawak.

Metabolit yang terdapat dalam rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb, suku Zingiberaceae) yang menopang manfaat di bidang kesehatan antara lain kurkumin, desmetoksi kurkumin (suatu zat warna kuning, turunan diaril heptanoid) dan minyak atsiri (terutama komponen seskuiterpen antara lain: xanthorrhizol, ar-turmeron, alpha-Phelan-dren). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurkumin, desmetoksi kurkumin dan xanthorrhizol berefek pada stimulasi cairan empedu. Hasil penelitian terhadap kurkuminoid rimpang temulawak menunjukkan adanya efek kolekinetik (Schneider, 1985).

Mengingat aktifitas yang dimiliki oleh kurkuminoid dan xanthorrhizol maka kedua senyawa ini digunakan sebagai senyawa identitas yang digunakan sebagai parameter mutu dari temulawak. Bahkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (2008) dengan tegas menyebutkan bahwa parameter kandungan kimia untuk simplisia temulawak adalah kandungan kurkuminoid.

Refluks merupakan prosedur baku ekstraksi yang disarankan Farmakope Herbal Indonesia untuk penetapan kadar kurkuminoid dalam simplisia temulawak. Ekstraksi secara refluks membutuhkan peralatan khusus, waktu yang relatif lama, energi dan bahan kimia yang cukup banyak, sehingga diperlukan alternatif ekstraksi yang lebih sederhana, cepat, efisien dan tidak mahal, namun tetap memenuhi kaidah-kaidah analisis. Ekstraksi secara sonikasi sangat tepat diterapkan pada analisa dalam jumlah massif dengan waktu yang terbatas. Sedangkan maserasi merupakan cara yang sangat sederhana dan tidak membutuhkan peralatan khusus sehingga dapat diterapkan di semua laboratorium.

## **METODOLOGI**

### **Bahan Penelitian**

Bahan yang dibutuhkan adalah simplisia temulawak, baku kurkuminoid Aldrich (94% HPLC), alkohol, n-heksan, etil asetat, plat TLC Silika gel F<sub>245</sub>.

### **Alat Penelitian**

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, sonikator, refluks set, sentrifuse, Camag Linomat 5, Camag TLC Scanner 3, bejana kromatografi dan alat alat gelas.

### **Jalannya Penelitian**

#### **Preparasi sampel**

##### **a. Refluks (Anonim, 2008)**

Ditimbang seksama 500,0 mg serbuk simplisia temulawak, dimasukkan dalam labu alas bulat 250 ml; 20 ml etanol ditambahkan; direfluks selama 30 menit; diangkat dan disaring, filtrat disisihkan; ampas direfluks kembali dengan 15 ml etanol selama 30 menit; diangkat dan disaring, filtrat disisihkan; ampas kembali direfluks dengan 15 ml etanol selama 30 menit; diangkat dan disaring. Filtrat dikumpulkan dan digenapkan menjadi 50,0 ml menggunakan labu takar (sampel siap ditotolkan).

##### **b. Sonikasi**

Ditimbang seksama 100,0 mg serbuk simplisia temulawak, sampel dimasukkan dalam botol bertutup 25 ml; 10,0 ml etanol ditambahkan secara seksama; disonikasi selama 15 menit; didiamkan selama 30 menit, 1 ml bagian bening diambil dan dimasukkan dalam tabung sentrifuse; sampel disentrifuse selama 5 menit pada 10.000 rpm (sampel siap ditotolkan).

##### **c. Maserasi**

Ditimbang seksama 100,0 mg serbuk simplisia temulawak, sampel dimasukan dalam botol bertutup 25 ml; 10,0 ml etanol ditambahkan secara seksama; sampel disimpan pada tempat gelap selama 24 jam; 1 ml bagian bening diambil dan dimasukan dalam tabung sentrifuse; sampel disentrifus selama 5 menit pada 10.000 rpm (sampel siap ditotolkan).

#### ***Standard Addition Methode (SAM)***

Untuk menetapkan perolehan kembali dan LOQ masing masing metode ekstraksi dilakukan dengan SAM. Simplisia uji ditambahkan sejumlah baku kurkuminoid yang

setara dengan 0,25 dan 0,50%; selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan ketiga macam metode tersebut.

### Preparasi baku

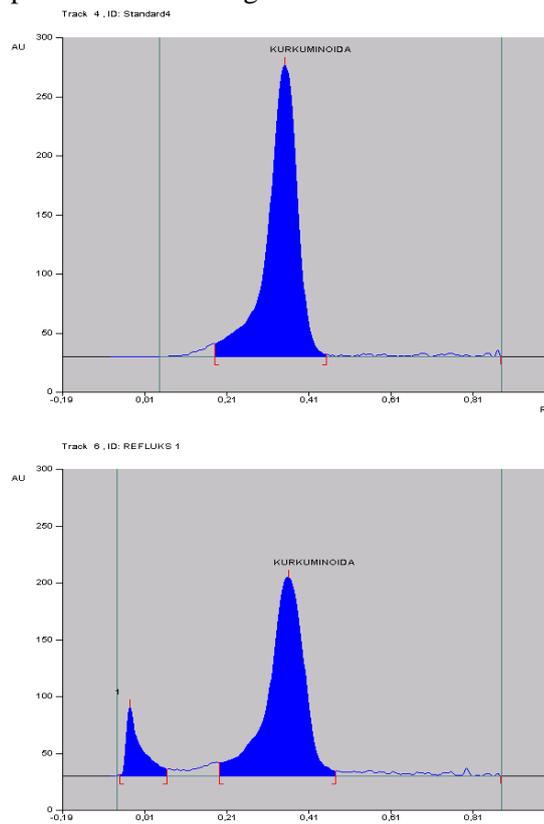
Ditimbang seksama 1,8171 mg baku kurkuminoid aldrich (94% HPLC). Ditambahkan dengan seksama 10,0 ml etanol, sehingga diperoleh kadar kurkuminoid setara 0,1708  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ .

### Sistem KLT

Fase diam yang digunakan adalah Silica gel F<sub>254</sub> Merck, sampel ditotolkan menggunakan Camag Linomat 5 dengan jarak dari dasar 10mm, jarak antar totolan 10mm, lebar totolan 2mm. Baku kurkuminoid ditotolkan sejumlah 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8  $\mu\text{l}$  atau setara dengan 17,08; 34,15; 68,30; 102,45 dan 135,5 ng/spot, sedangkan sampel masing-masing ditotolkan 0,5  $\mu\text{l}$ . Fase gerak berupa campuran n-heksan etil asetat (1:1), jarak pengembangan 8 cm. Dideteksi dengan Camag TLC Scanner 3 menggunakan program Wincats versi 1.4.4 pada panjang gelombang 425 nm.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

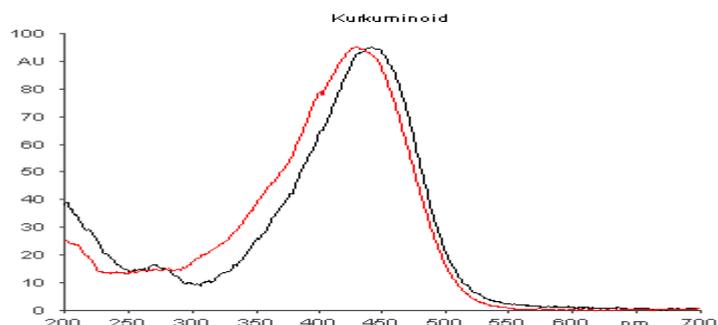
Pada sistem KLT Densitometri yang dilakukan, diperoleh kromatogram baku kurkuminoid dan sampel temulawak sebagai berikut:



**Gambar 1. Kromatogram baku kurkuminoid dan sampel temulawak.**

Tampak adanya puncak/spot pada Rf 0,35-0,40 baik pada baku maupun sampel. Data pemindaian panjang gelombang juga menunjukkan adanya kesesuaian panjang gelombang maksimum dan spektra antara baku dan sampel dengan tingkat kesesuaian

96,83%. (Gambar 2) dengan data ini berarti dalam sampel temulawak secara kualitatif mengandung kurkuminoid.



**Gambar 2. Spektrum baku kurkuminoid dan sampel temulawak pada spot/puncak dengan Rf 0,35-0,40**

Data kurva baku yang nantinya digunakan dalam perhitungan penerapan kadar ditampilkan dalam tabel 1. Dari data tersebut diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$Y = (82,27 \pm 3,92) X + (1.121,35 \pm 327,73)$$

Nilai korelasi  $R^2 = 0,971$  telah memenuhi parameter analitik yang disarankan Shoum, 2010 yaitu 0,514 (untuk  $n=15$ ). Perhitungan lebih lanjut (Miller and Miller, 1988) diperoleh nilai batas deteksi minimum (LOD) sebesar 11,95 ng/spot, dalam arti bahwa jumlah kurkuminoid paling kecil (minimum) yang masih dapat dideteksi keberadaannya dalam sistem totalan KLT tersebut adalah 11,95 ng/totalan.

**Tabel I. Data kurva baku kurkuminoid**

Jumlah Kurkuminoid (ng/spot)	Luas Area (AU)
17,08	2.013,30
	1.855,41
	1.895,73
34,15	4.408,42
	3.894,25
	4.102,16
68,30	7.747,08
	7.093,14
	7.272,15
102,45	10.430,98
	9.368,81
	9.622,67
135,50	12.701,02
	11.139,89
	11.527,75

Dari data kurva baku tersebut juga dapat diperoleh nilai koefisien variasi (CV) yang merupakan salah satu parameter presisi (ketelitian). Koefisien variasi metode KLT Densitometri untuk penetapan kadar kurkuminoid adalah 4,76%. Secara umum koefisien variasi disarankan kurang dari 2% (Hamirta, 2004), sedangkan US FDA (2001) menyatakan koefisien variasi harus kurang dari 15%. Dengan demikian metode KLT Densitometri cukup layak digunakan dalam penetapan kadar kurkuminoid.

Hasil penetapan kadar kurkuminoid dalam simplisia temulawak disajikan dalam Tabel II. Uji anova satu jalan didapatkan nilai  $F_{hitung}$  3,455 ( $F_{tabel}=5,143$ ), hal ini

menunjukkan bahwa perlakuan ekstraksi memberikan hasil yang **berbeda tidak bermakna** terhadap penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak.

**Tabel II. Hasil penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak yang diekstraksi dengan metode refluks (Anonim, 2008), sonikasi dan maserasi**

No	Kadar Kurkuminoid Simplisia (%)		
	Refluks	Sonikasi	Maserasi
1	1,23	0,95	1,44
2	1,15	1,17	1,24
3	1,12	1,27	1,40
<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>1,17 ± 0,05</b>	<b>1,13 ± 0,16</b>	<b>1,36 ± 0,11</b>

Ketepatan (*accuracy*) dari suatu metode analisis dapat dinilai dari perolehan kembali (*recovery*) dengan *Standard Addition Methode* (SAM). Tabel III menyajikan perolehan kembali penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak masing-masing adalah 109,34; 117,58 dan 108,37%, untuk metode ekstraksi refluks (Anonim,2008), sonikasi dan maserasi. Dari uji anova satu jalan nilai perolehan kembali antara ketiga macam metode tersebut **berbeda bermakna**, yang ditunjukkan dengan nilai  $F_{hitung}$  4,562 dan  $F_{tabel}$  3,683. Uji lebih lanjut menunjukkan perolehan kembali ekstraksi cara refluks **berbeda tidak bermakna** dengan cara maserasi.

**Tabel III. Perolehan kembali penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak yang diekstraksi dengan metode refluks (Anonim, 2008), sonikasi dan maserasi**

Perlakuan	Sampel + baku (%)	Jumlah Kurkuminoid (mg)		Perolehan Kembali (%)	
		Riil	Hasil PK	(%)	Rata rata
Refluks	0,00	6,10			
	0,00	5,78			
	0,00	5,58			
	0,25	7,12	8,05	113,06	109,34
	0,25	7,04	7,44	105,68	
	0,25	7,08	7,60	107,34	
	0,50	8,36	8,95	107,06	
	0,50	8,40	9,66	115,00	
	0,50	8,37	9,03	107,89	
Sonikasi	0,00	0,93			
	0,00	1,16			
	0,00	1,25			
	0,25	1,36	1,74	127,94	117,58
	0,25	1,41	1,55	109,93	
	0,25	1,36	1,42	104,41	
	0,50	1,66	1,97	118,67	
	0,50	1,67	2,03	121,56	
	0,50	1,61	1,98	122,98	
Maserasi	0,00	1,44			
	0,00	1,23			
	0,00	1,38			
	0,25	1,58	1,71	108,23	108,37
	0,25	1,59	1,69	106,29	
	0,25	1,65	1,73	104,85	
	0,50	1,85	2,10	113,51	
	0,50	1,86	1,99	106,99	
	0,50	1,83	2,02	110,38	

Dengan rumus yang diungkapkan Miller *and* Miller (1988) didapatkan kadar kurkuminoid terkecil (LOQ) dalam simplisia temulawak yang dapat ditetapkan secara KLT Densitometri adalah 0,40%; 0,61 dan 0,27% untuk metode ekstraksi refluks (Anonim, 2008), sonikasi dan maserasi.

## KESIMPULAN

1. Penetapan kadar kurkuminid dalam simplisia temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb.) dengan metode KLT Densitometri mendapatkan nilai LOD 11, 95 ng/spot.
2. Kadar kurkuminoid dalam simplisia temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb.) yang ditetapkan dengan ekstraksi secara refluks, sonikasi dan maserasi adalah berbeda tidak bermakna dengan hasil  $1,17 \pm 0,05\%$ ;  $1,13 \pm 0,16\%$  dan  $1,35 \pm 0,11\%$  dengan LOQ 0,40 %; 0,61 dan 0,27%.
3. Maserasi dapat digunakan sebagai alternatif ekstraksi yang sederhana, dan murah dalam penetapan kadar kurkuminid dalam simplisia temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb.)

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Departemen Kesehatan RI, hal 150-154, 162-166 dan 175
- Hamirta, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **1** (3), hal 117 – 135
- Kertia N., Sudarsono, 2007, Kontroversi Penggunaan Temulawak Sebagai Obat Asli Indonesia Untuk Menangani Masalah Kesehatan Khususnya Osteoarthritis, dalam *Seminar Nasional Tanaman Obat dan Obat Tradisional : Obat Tradisional Yang Aman, Berkhasiat Dan Bermutu Mendukung Pelayanan Kesehatan Masyarakat*.
- Miller, JC. and Miller, JN., 1988, *Statistics for Analytical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> Edition John Wiley & Sons, New York hal 109-120
- Shoum, B, 2010, Statistics and data analysis, *LC-GC Europe Online Supplement*, hal 13-18
- Sudarsono, Ngatidjan, Subagus Wahyuono, Didiek Gunawan, Sudrajat, 1985, *Tumbuhan Obat I*, Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
- Schneider G., 1985, *Pharmazeutische Biologie*, BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim Setton, L.A., Elliot, DM, and Mow, V.C. 1999. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage*; 7: 2-14.
- US Department of Health and Human Services Food and drug Administration (US FDA): Guidande for Industry: Bioanalytical Method Validation, 2001. <http://www.fda.gov/cder/guidance/425fnl.pdf>. Accessed May 2, 2006.