

## Isolasi, Validasi Metode dan Optimasi Awal Proses Ekstraksi Senyawa Penanda Eurycomanon dari Akar Tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*)

Prasetyawan Yunianto\*, Nurhadi, Agus Supriyono

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Gedung 611 LAPTIB, Kawasan Puspiptek, Tangerang Selatan, 15314,

\*Penulis korespondensi: [prasetyawan.yunianto@bppt.go.id](mailto:prasetyawan.yunianto@bppt.go.id)

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n2.14690>

**Abstrak:** Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*) secara etnofarmakologi digunakan sebagai obat herbal tradisional yang digunakan untuk afrodisiak dan vitalitas. Eurycomanon digunakan sebagai senyawa penanda dari ekstrak akar pasak bumi, namun kadar yang diperbolehkan dalam ekstrak pasak bumi sesuai standar Malaysia pada kisaran 0,8–1,5%, karena sifatnya yang toksik. Senyawa eurycomanon sebagai senyawa penanda dari pasak bumi masih jarang dan harganya cukup mahal. Oleh karena itu, sangat diperlukan isolasi eurycomanon dan validasi metode analisisnya serta proses ekstraksinya. Proses isolasi diawali dengan ekstraksi metode maserasi menggunakan pelarut metanol terhadap akar pasak bumi yang sudah dibuat serbuk. Hasil ekstraksi dipekatkan dan difraksinasi dengan pelarut air dan metanol secara bertahap dari 0% - 100% metanol menggunakan kolom resin stiren-divinilbenzen. Fraksi target dicek menggunakan UPLC-MS dan dilakukan isolasi lebih lanjut dengan HPLC semi preparatif menggunakan kolom RP C-18. Hasil isolasi dicek kemurnian dan spektrum UV-nya dengan HPLC analitis dengan detektor PDA (*photo diode array*) dan dilakukan elucidasi stuktur dengan NMR. Hasil isolat yang terkonfirmasi sebagai eurycomanon dilakukan validasi metode analisa dan digunakan untuk menganalisa hasil optimasi awal proses ekstraksi. Fraksi target diperoleh dari fraksi 25% metanol dan disolasi lebih lanjut menggunakan HPLC semi preparatif. Isolat yang diperoleh telah dikonfirmasi dengan elucidasi stuktur NMR sebagai senyawa eurycomanon dari akar pasak bumi dengan kemurnian 96%. Metode analisa diperoleh dengan menggunakan HPLC secara gradien elusi (asetonitril:air) pada detektor UV 254 nm dengan kolom RP C-18, 150 × 46 mm, 5 µm. Kajian awal proses menunjukkan bahwa ekstraksi terbaik untuk akar pasak bumi dengan kadar etanol 30% pada suhu 50°C. Kajian ini dapat digunakan sebagai pembandingan proses ekstraksi akar pasak bumi yang berbeda dengan Buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan berbasis Ekstrak dari BPOM tahun 2013 Volume 2, yaitu menggunakan sistem maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10.

**Kata kunci:** ekstraksi, eurycomanon, pasak bumi (*Eurycoma longifolia*), validasi metode analisa

**Abstract:** Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*) was mostly used as a traditional herbal medicine for aphrodisiac and vitality. The marker compound from root of pasak bumi extract is Eurycomanon. The standardization of extract of pasak bumi in Malaysian standard require eurycomanon in the extract in the range of 0.8 to 1.5%, because it is toxic nature. Eurycomanon as a marker compound of pasak bumi is still rare and quite expensive. Therefore, it is necessary to isolate eurycomanon, and validate the method of analysis and process of extraction. The isolation process was initiated by the extraction of powder of pasak bumi. Method of extraction was used through maceration by methanol. After maceration, the macerate was concentrated by rotary evaporator. The methanolic extract was fractionated with water and methanol mixture gradually from 0% methanol to 100% using a styren-divinylbenzen resin column. The target fraction was analyzed using UPLC-MS and further isolation was done by semi preparative HPLC with RP C-18 column. The isolate monitored for its purity and UV spectra with analytic HPLC PDA (*photo diode array*) detector and structure elucidation of isolate with NMR. The isolated compound was confirmed as eurycomanon, and used to validate the method of analysis and to analyze the results of the extraction process. The target was obtained from the 25% methanol fraction and followed by semi preparative HPLC. The compound has been confirmed by NMR as an eurycomanon and has 96% purity. The analysis method performed by using gradient eluent for HPLC (acetonitrile:water) at 254 nm UV detector with RP C-18, 150 × 46 mm, 5 µm columns. A preliminary review of the process indicate that the best extraction for the root of pasak bumi was 30% ethanol at 50°C. This study can be used as alternative to the manual book of "Teknologi Formulasi Sediaan berbasis Ekstrak" from BPOM 2013 Volume 2, which use maceration system with 96% ethanol as solvent with a ratio of 1:10.

**Keywords:** Eurycomanon, Extraction, Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*), Validation of method analysis

## PENDAHULUAN

Pasak Bumi atau dikenal pula dengan tongkat Ali merupakan famili dari Simaroubaceae dan terdapat 4 spesies yang sudah diketahui yaitu *Eurycoma longifolia*, *Entomophthora apiculata*, *Polyathia bullata* dan *Goniothalamus* sp. Diantara keempat spesies tersebut, yang paling banyak digunakan adalah *E. longifolia*, terutama bagian akarnya (Aziz *et al.* 2003). Di negara-negara Asia Tenggara terutama di Malaysia dan Indonesia, Pasak Bumi secara etnofarmakologi digunakan sebagai obat herbal tradisional yang digunakan untuk afrodisiak dan vitalitas. Selain sebagai afrodisiak, dari beberapa penelitian pasak bumi telah dilaporkan memiliki aktivitas biologi lain sebagai antimalaria, antiulcer (Tada *et al.* 1991), antipiretik (Chan *et al.* 1995) dan sitotoksik untuk sel-sel kanker (Morita *et al.* 1990).

Menurut Low *et al.* (2013), eurycomanon dan 13a (21)-dihidroeurycomanon merupakan senyawa yang dapat meningkatkan kadar testosteron, oleh karena itu kedua senyawa tersebut dapat digunakan sebagai marker dengan khasiat sebagai afrodisiak. Sedangkan Hajjouli *et al.* (2014), melaporkan bahwa senyawa eurycomanon mempunyai aktivitas sebagai anti kanker yang selektif. Agar eurycomanon yang bersifat toksik pada kadar tertentu tidak membahayakan konsumen, Malaysia telah membuat standar bahwa kadar eurycomanon dalam ekstrak pasak bumi kisaran 0,8 - 1,5% (Khari *et al.* 2014).

Dari permasalahan kadar senyawa marker dari pasak bumi berupa senyawa eurycomanon, maka standarisasi memegang peranan sangat penting terutama untuk produksi ekstrak pasak bumi. Departemen Kesehatan pada tahun 2008 telah mengeluarkan Farmakope Herbal Indonesia (FHI) sebagai standarisasi kadar kandungan dari simplisia dan ekstrak, namun untuk standarisasi pasak bumi belum ada karena senyawa eurycomanon sebagai senyawa penanda dari pasak bumi yang masih jarang dan harganya sekitar 110 USD/mg. Oleh karena itu, sangat diperlukan suatu metode untuk memperoleh senyawa eurycomanon sebagai penanda dari tanaman pasak bumi serta metode analisisnya.

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) telah mengeluarkan rekomendasi untuk proses ekstraksi akar pasak bumi dalam Buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan berbasis Ekstrak dari BPOM tahun 2013 Volume 2, yaitu menggunakan sistem maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Proses ini jika digunakan di industri akan mahal, karena menggunakan etanol 96%. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dikaji proses yang efisien untuk memperoleh kadar eurycomanon dan rendamen yang besar dalam proses ekstraksi pasak bumi.

## BAHAN DAN METODE

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, hot plate Heidolph MR 3001 K,

HPLC Knauer dengan detektor Photo Diode Array (PDA), HPLC semipreparative detektor UV (Waters), oven memmert, rotavapor Heidolph, timbangan analitik, corong pisah, ultrasonic bath (Elma Transonic 700/H), UV cabinet Camag, vacuum pump, dan mikropipet.

Penentuan berat molekul UPLC Alliance 2695 (Waters) dilakukan di Balai Bioteknologi-BPPT, PUSPITEK, Tangerang Selatan. Sedangkan elusidasi struktur dengan NMR Jeol 500 Mhz dilakukan di Pusat Kimia LIPI PUSPITEK, Tangerang Selatan.

### Bahan

Bahan penelitian berupa akar pasak bumi diperoleh dari persediaan PT Djago, Semarang (asal Kalimantan Timur) dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor.

### Ekstraksi

Simplisia pasak bumi untuk keperluan ekstraksi diserut sebelum dilakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut metanol pada perbandingan 1:9 selama 1 malam dan dilakukan proses penyaringan. Hasil penyaringan dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* sedangkan proses maserasi dilakukan tiga kali.

### Fraksinasi

Ekstrak kental metanol pasak bumi yang diperoleh, dilakukan fraksinasi pada kolom resin stiren-divinilbenzen. Proses fraksinasi dilakukan dengan cara elusi gradien dengan fasa gerak dari air 100% sampai metanol 100%. Masing-masing fraksi dipekatkan dan dicek dengan TLC serta profil kromatogramnya dengan HPLC analitik.

### Isolasi Eurycomanon

Fraaksi hasil kolom isolasi dengan resin stiren-divinilbenzen pada fasa gerak 25% metanol dilakukan isolasi lebih lanjut dengan HPLC semi preparatif untuk memperoleh senyawa target eurycomanon. Isolasi senyawa secara HPLC preparatif dilakukan dengan fasa gerak 8% asetonitril (A) dan 92% asam asetat 0,5% (B) dari menit ke 0 sampai menit ke 16. Kolom yang digunakan RP-18, 150 × 100 mm, 5 µm merek Inertsil ODS 3 GL Science.

### Elusidasi Stuktur Eurycomanon

Isolat senyawa hasil pemisahan dicek kemurniannya dan serapan maksimum UV-nya dengan HPLC analitik PDA (photo diode array). Selain itu, dilakukan analisa berat molekul menggunakan UPLC-MS/MS untuk menentukan isolat yang diduga eurycomanon dan dibandingkan dengan literatur. Konfirmasi lebih lanjut terhadap isolat eurycomanon dilakukan elusidasi struktur dengan NMR.

### Validasi Metode Eurycomanon (HPLC)

Pada proses validasi metode eurycomanon, langkah pertama adalah mencari fasa gerak yang paling baik, selanjutnya untuk melakukan validasi metode analisa digunakan fasa gerak yang baik. Pada percobaan ini dilakukan variasi gerak isokratik asetoniril:air dan metanol:air serta asetontril:air dengan berbagai variasi perbandingan pelarut. Kolom yang digunakan sama ODS-3, 150×46 mm, 5 µm, dengan detektor UV pada panjang gelombang 254 nm.

Parameter yang digunakan dalam validasi metode analisa eurycomanon dalam percobaan ini berupa: linearitas dan rentang, keberulangan, perolehan kembali (*recovery*), batas deteksi dan batas kuantitasi.

### Kajian Awal Proses Ekstraksi dari Pasak Bumi yang Terbaik

Proses produksi ekstrak pasak bumi dilakukan variasi perlakuan pelarut yaitu membandingkan metode ekstraksi sesuai dengan kondisi dari Buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 2, yaitu menggunakan pelarut etanol 96% dengan suhu 50°C selama 5 jam dibandingkan dengan proses ekstraksi variasi pelarut 30, 50, 70, dan 96% etanol dengan suhu 50°C selama 5 jam. Masing-masing perlakuan dengan berat dan perbandingan pelarut yang sama dimasukkan ke dalam botol 250 mL. Jumlah botol masing-masing variasi perlakuan sebanyak 3 sampel. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan shaker inkubator dengan suhu 50°C. Selama 5 jam, kecepatan putaran shaker dibuat sama, yaitu 100 rpm.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi dan fraksinasi

Hasil yang diperoleh dari ekstraksi serbuk pasak bumi sebanyak 2 kg dengan metode maserasi dan pelarut metanol (1:9) selama 18 jam dan diulang 3

kali diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 53,4 gram dengan rendemen 2,67%.

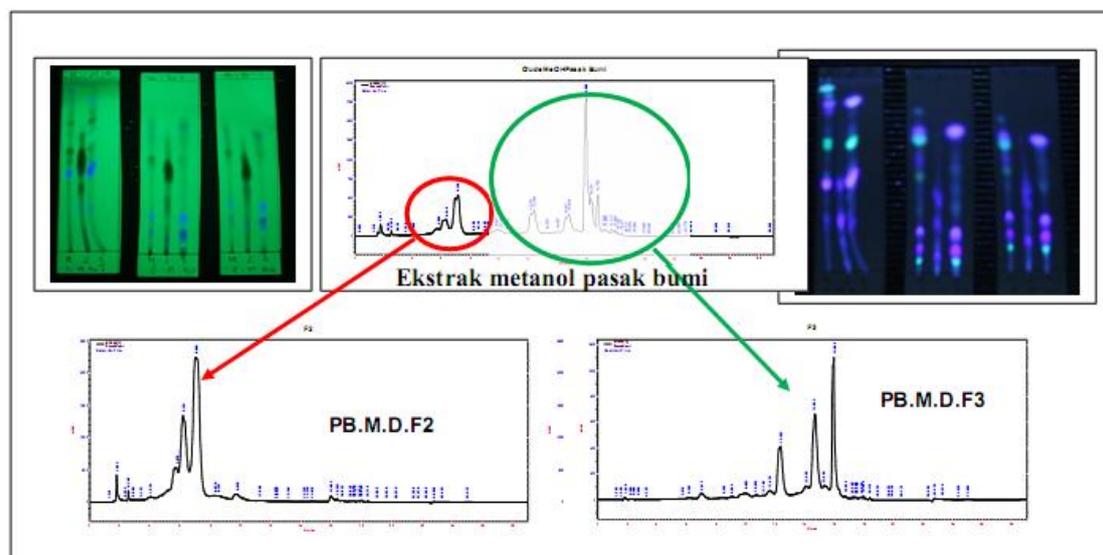
Hasil fraksinasi dengan kolom resin diperoleh 5 fraksi. Berdasarkan analisis TLC dan HPLC menunjukkan bahwa pemisahan dengan kolom resin dapat memisahkan fraksi polar dan non polar dengan baik (Gambar 1).

### Isolasi Eurycomanon

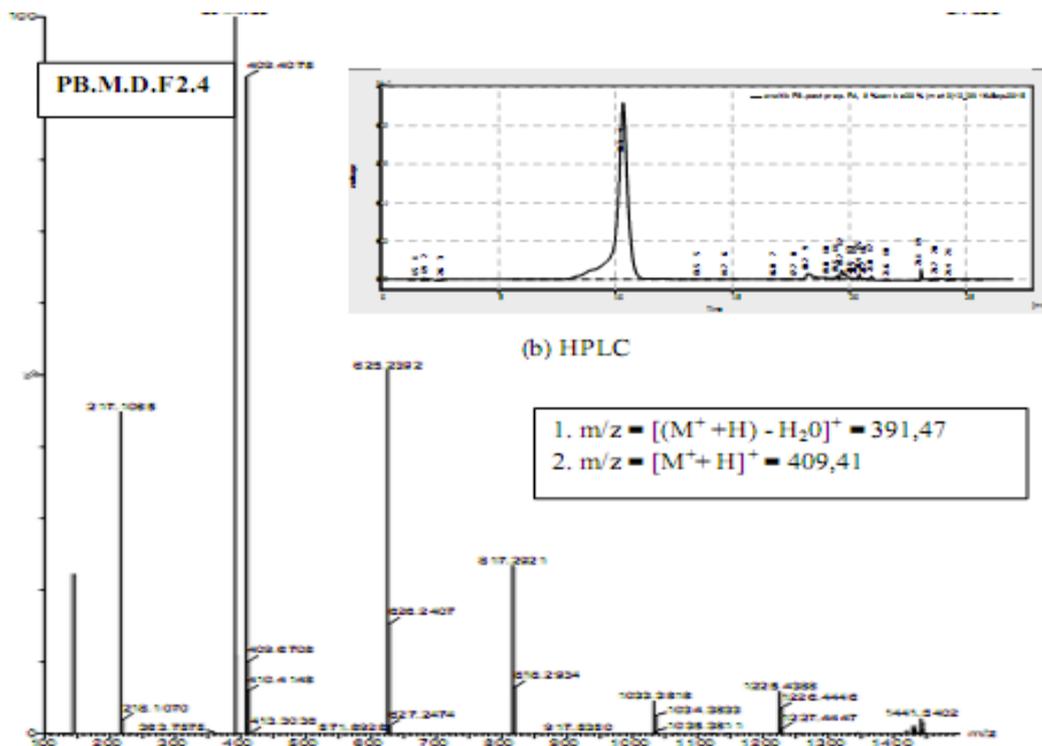
Hasil yang diperoleh dari isolasi lanjut terhadap fraksi 2 dengan metode HPLC semi preparatif diperoleh 5 isolat senyawa berdasarkan pemisahan dengan puncak yang ada. Lima isolat senyawa hasil isolasi HPLC preparatif dilakukan analisa HPLC dengan metode yang sama, untuk mengetahui kemurniannya. Analisa terhadap 5 isolat tersebut juga dilakukan analisa UPLC-MS untuk mengetahui berat molekul masing-masing senyawa hasil isolasi.

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada isolat senyawa PB.M.D.F2,4 terdapat 1 puncak berdasarkan UPLC-MS, yaitu puncak pada waktu retensi 3,43 menit. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil analisa HPLC analitis, yaitu hanya terdapat 1 puncak pada waktu retensi 10,3 menit. Senyawa ini relatif stabil dan merupakan senyawa mayor pada fraksi PB.M.D.F2. Berdasarkan data UPLC-MS, berat molekul senyawa pada menit ke 3,43 menit adalah 408,41 g/mol dengan dibuktikan adanya intensitas 100% dari peak ion  $m/z = [(M++ H) - H_2O]^+ = 391,47$  dan sekitar 96% peak ion  $m/z = [M++ H]^+ = 409,41$ ). Hasil penelusuran literatur senyawa ini diduga sebagai eurycomanon, sebagai target fraksi pada penelitian ini yang perlu dikonfirmasi elusidasi strukturnya dengan data NMR.

Berdasarkan data perbandingan UPLC-MS dan literatur, maka senyawa PB.M.D.F2,4 merupakan eurycomanon, namun perlu dikonfirmasi dengan analisa NMR untuk mengelucidasi strukturnya. Hasil analisa NMR baik untuk  $^1H$ -NMR dan  $^{13}C$ -NMR yang dibandingkan dengan data  $^1H$ -NMR dan



**Gambar 1.** Analisis TLC dan HPLC dari fraksi hasil kolom resin dengan ekstrak awal



**Gambar 2.** Isolat senyawa PB.M.D,F2,4 terdapat 1 puncak yaitu waktu retensi 3,43 menit (UPLC-MS) atau menit ke 10,3 di HPLC analitis (b). Berat molekul senyawa pada menit ke 3,43 adalah 408,41 g/mol ( $m/z = [(M+ +H) - H_2O]^+ = 391,47$  dan  $m/z = [M++ H]^+ = 409,41$ ) diduga sebagai senyawa eurycomanon

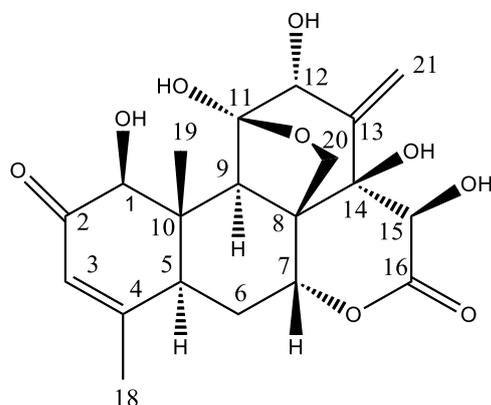
**Tabel 1.** Perbandingan antara  $^1\text{H-NMR}$  dari  $^{13}\text{C-NMR}$  isolat senyawa PB.M.D,F2,4 dengan eurycomanon (Darise *et al.* 1982)

Posisi	$\delta^1\text{H}$ (ppm), $J_{\text{H-H}}$ (Hz) in DMSO- $d_6$ (100 MHz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm), in DMSO- $d_6$ (25,15 MHz)	$\delta^1\text{H}$ (ppm), $J_{\text{H-H}}$ (Hz) in DMSO- $d_6$ (500 MHz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm), in DMSO- $d_6$ (125,76 MHz)
	Eurycomanon <sup>*)</sup>		PB.M.D.F2-4	
1	4,49 (1H, s)	82,5	4,34 (1H, s)	82,4
2	-	197,1	-	197,2
3	6,16 (1H, s)	124,9	5,69 (1H, s)	124,8
4	-	162,7	-	162,7
5	-	40,7	3,02 (1H, br d, 13,0)	40,8
6 a	-	24,7	1,97 (1H, br d, 13,0)	24,6
b	-	-	2,08 (1H, dd, 2,60)	-
7	5,23 (1H,t)	70,6	4,57 (1H, d, 2,60)	70,5
8	-	51,3	-	51,2
9	3,76 (1H, s)	46,2	3,72 (1H, s)	46,1
10	-	44,8	-	44,8
11	-	107,8	-	107,9
12	4,75 (1H, s)	79,2	5,19 (1H,s)	79,2
13	-	146,0	-	146,1
14	-	78,0	-	78,0
15	5,60 (1H, s)	74,8	5,25 (1H, s)	74,7
16	-	172,4	-	172,4
18	1,81 (3H,s)	22,4	1,93 (3H, s)	22,4
19	1,62 (3H,s)	9,7	1,04 (3H, s)	9,6
20 a	4,50 (1H, d, 8,00)	66,2	3,52 (1H, d, 8,40)	66,1
b	4,02 (1H, d, 8,00)	-	3,65 (1H, d, 8,40)	-
21 a	5,63 (1H, br s)	118,9	5,37(1H, d, 1,30)	118,8
b	6,07 (1H, br s)	-	5,98(1H, d, 1,30)	-

<sup>\*)</sup> Muhsin Darise dkk. 1982

$^{13}\text{C}$ - NMR dari Darise *et al.* (1982) seperti terlihat pada Tabel 1.

Konfirmasi bahwa senyawa PB.M.D,F2,4 adalah eurycomanon (Gambar 3), selain data NMR juga berdasarkan data MS (berat molekul = 408,41 g/mol) dan data serapan UV maksimum = 242 nm.

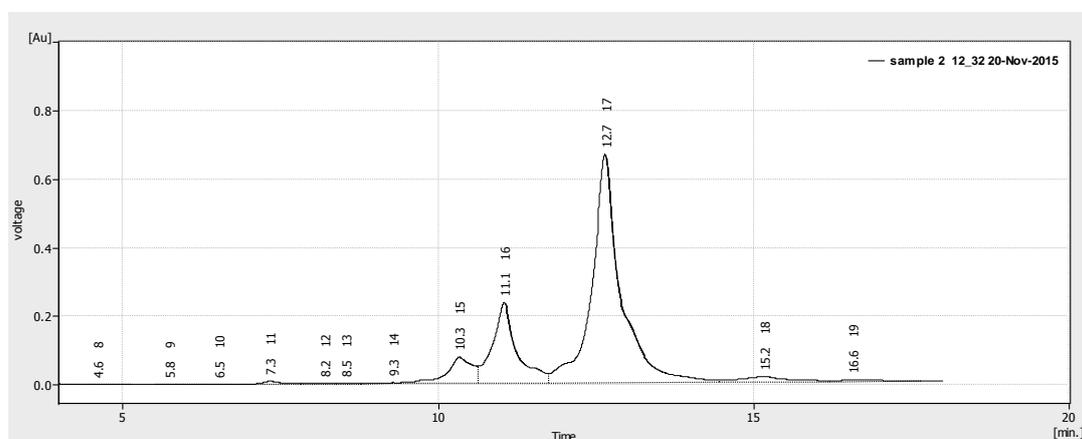


**Gambar 3.** Struktur isolat senyawa PB.M.D.F2-4 yang dikonfirmasi dengan data UV, MS,  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR serta dibandingkan dengan literatur sebagai senyawa target eurycomanon.

#### Validasi metode Eurycomanon dengan HPLC

Pada proses validasi metode eurycomanon, langkah pertama adalah mencari fasa gerak yang paling baik, yang selanjutnya digunakan fasa gerak yang baik tersebut untuk melakukan validasi metode analisa. Pada percobaan ini dilakukan variasi gerak isokratik asetonitril:air dan metanol:air serta asetonitril:air dengan berbagai variasi perbandingan pelarut. Kolom yang digunakan sama yaitu ODS-3, 150×46 mm, 5  $\mu\text{m}$ , dengan detektor UV pada panjang gelombang 254 nm.

Hasil variasi fasa gerak asetonitril memberikan pemisahan yang baik dengan metode fasa gerak tercantum pada Tabel 2. Kromatogram sampel dapat dilihat pada Gambar 4, eurycomanon terdeteksi pada menit ke 12,7.



**Gambar 4.** Kromatogram sampel ekstrak pasak bumi dengan metode hasil validasi pada panjang gelombang 254 nm (detektor UV).

**Tabel 2.** Metode fasa gerak yang digunakan dalam analisa eurycomanon pada sampel ekstrak pasak bumi dengan kolom RP-C18, 150×46 mm, 5  $\mu\text{m}$ , dengan detektor UV pada panjang gelombang 254 nm.

Waktu (menit)	Asetonitril, A (%)	Air, B (%)
0	5	95
3	10	90
14	14	84
15	100	0
17	100	0
18	5	95
23	5	95

Hasil validasi metode analisa eurycomanon dengan detektor UV pada panjang gelombang 254 nm adalah sebagai berikut :

#### Linearitas dan rentang

Pengujian linearitas dan rentang dilakukan pada eurycomanon hasil isolat, dengan variasi konsentrasi. Syarat kelinearan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) :  $r \geq 0.990$ . Dari hasil pengujian validasi terhadap standar eurycomanon didapatkan persamaan regresi sebagai berikut  $y = 26,31x + 33,35$ ,  $r^2 = 0,998$  ( $r = 0,999$ ). Hasil pengujian validasi menunjukkan bahwa metode pengujian telah memenuhi persyaratan linearitas dengan rentang kadar standar 15,875 – 500 ppm.

#### Keberulangan

Pengujian repeatibilitas dilakukan pada sampel ekstrak yang diekstraksi dengan pelarut 90% metanol dan dilakukan ekstraksi secara sonikasi selama 1 jam pada suhu 30°C.

Dari hasil pengujian validasi metode, didapatkan kadar eurycomanon pada sampel sebagai berikut: kadar eurycomanon ekstrak hasil ekstraksi pelarut 90% metanol adalah kadar rata-rata =  $9,26 \pm 0,53$ , RSD/KV = 0,0852%. Persyaratan suatu metode memenuhi persyaratan validasi repeatabilitas adalah jika  $\text{KV} \leq 2\%$ .

### Perolehan Kembali (*recovery*)

Pengujian validasi metoda analisis kadar eurycomanon untuk perolehan kembali dilakukan dengan mencampur sampel hasil ekstraksi pelarut 90% metanol (pengujian repeatabilitas) dengan standar eurycomanon 12,5 ppm. Dari hasil pengujian validasi didapatkan hasil eurycomanon sebagai berikut:  $recovery (R) = 95,75 \pm 6,34\%$   $RSD/KV = 0,066$ , Nilai R masih diterima karena terletak pada 90% +/- 110%.

### Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi atau LOD (*limit of detection*) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi atau LOQ (*limit of quantification*) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Untuk metode kromatografi terutama HPLC, penentuan nilai LOD ditentukan oleh tinggi puncak sampel dibandingkan dengan minimal 2 atau 3 kali tinggi level baseline dari noise, sedangkan LOQ ditentukan oleh tinggi puncak sampel minimal 10 sampai 20 kali level baseline noise. Dari hasil validasi metode ini untuk pengukuran eurycomanon secara faktual menggunakan analisa kromatogram dengan berbagai konsentrasi didapatkan data: LOD eurycomanon = 3,25 ppm, sedangkan LOQ = 6,25 ppm.

### Kajian awal proses produksi ekstrak dari Pasak Bumi yang terbaik

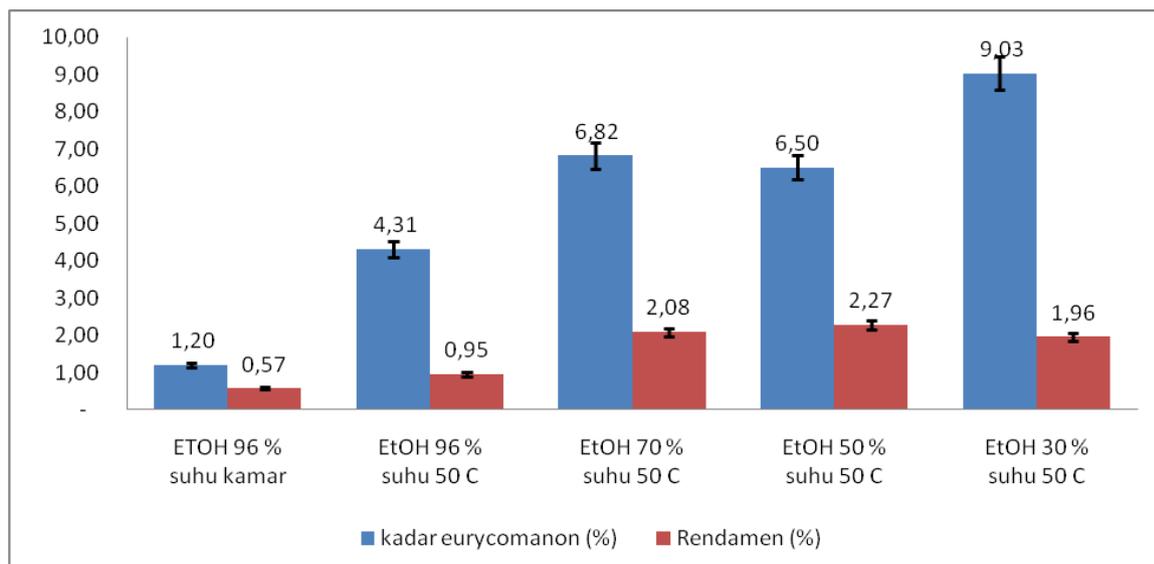
Proses produksi ekstrak pasak bumi dilakukan dengan membandingkan metode ekstraksi sesuai dengan kondisi dari Buku Pedoman Teknologi

Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 2 yaitu menggunakan pelarut etanol 96% dengan suhu 50°C selama 5 jam dibandingkan dengan proses ekstraksi variasi pelarut 30, 50, dan 70% etanol dengan suhu 50°C selama 5 jam. Hasil analisa kadar eurycomanon beserta rendemennya terhadap masing-masing perlakuan tersaji pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan adanya kecenderungan bahwa semakin rendah kadar etanol, maka baik rendemen dan yield akan meningkat. Hal ini dimungkinkan karena eurycomanon lebih bersifat polar, sehingga akan mudah larut dalam kadar etanol rendah. Kajian ini sangat penting untuk menjawab masalah, bahwa ekstraksi untuk memperoleh eurycomanon tertinggi tidak perlu berdasarkan buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan berbasis Ekstrak dari BPOM tahun 2013 Volume 2, yaitu menggunakan sistem maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10.

### KESIMPULAN

Fraksi target diperoleh dari fraksi 25% metanol hasil isolasi dan telah dikonfirmasi dengan elusidasi struktur NMR sebagai senyawa eurycomanon dari akar pasak bumi dengan kemurnian 96%. Metode analisa diperoleh dengan menggunakan HPLC dengan eluen bergradien (asetonitril : H<sub>2</sub>O) pada detektor UV 254 nm dengan kolom RP C-18, 150 × 46 mm, 5 µm. Kajian awal proses menunjukkan bahwa ekstraksi terbaik untuk akar pasak bumi dengan kadar etanol 30% pada suhu 50°C. Kajian ini dapat digunakan sebagai pembanding proses ekstraksi akar pasak bumi yang berbeda dengan Buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan berbasis Ekstrak dari BPOM tahun 2013 Volume 2, yaitu menggunakan sistem maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10.



**Gambar 5.** Pengaruh variasi kadar etanol proses ekstraksi pasak bumi terhadap kadar eurycomanon dan rendamen

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada pihak Direktorat Produksi dan Distribusi Kefarmasian, Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan yang telah memfasilitasi pendanaan dalam penelitian ini melalui Program Pengembangan dan Peningkatan Kapasitas Produksi Bahan Baku Obat dan Bahan Baku Obat Tradisional tahun 2015.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, R.A., Sarmidi, M.R., Kumaresan, S., Taher, Z.M. & Foo, D.C.Y. (2003). Phytochemical processing: The next emerging field in chemical engineering—aspects and opportunities. *Jurnal Kejuruteraan Kimia Malaysia*. 3: 45-60.
- Chan, K.L., Lee, S.P. & Yuen, K.H. (1995). Antipyretic activity of quassinoids from *Eurycoma longifolia* Jack. In: Ismail, G., Mohamed, M. & Din, L.B. (Eds.). *Chemical Prospecting in the Malaysian Forest*. Pelanduk Publications, Selangor, Malaysia, 197-204.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hajjouli, S., Chateauvieux, S., Teiten, M.H., Orlikova, B., Schumacher, M., Dicato, M., Choo, C.Y. & Diederich, M. (2014). Eurycomanone and eurycomanol from *Eurycoma longifolia* Jack as regulators of signaling pathways involved in proliferation, cell death and inflammation. *Molecules*. 19(9): 14649-14666.
- Khari, N., Aisha, A.F. & Ismail, Z. (2014). Reverse phase high performance liquid chromatography for the quantification of eurycomanone in *Eurycoma longifolia* Jack (Simaroubaceae) extracts and their commercial products. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 13(5): 801-807.
- Low, B.S., Das, P.K. & Chan, K.L. (2013). Standardized quassinoid-rich *Eurycoma longifolia* extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Journal of Ethnopharmacology*. 145(3): 706-714.
- Morita, H., Kishi, E., Takeya, K., Itokawa, H. & Tanaka, O. (1990). New quassinoids from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Chemistry Letters*. 19(5): 749-752.
- Darise, M., Kohda, H., Mizutani, K. & Tanaka, O., (1982). Eurycomanone and eurycomanol, quassinoids from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Phytochemistry*. 21(8): 2091-2093
- Tada, H., Yasuda, F., Otani, K., Doteuchi, M., Ishihara, Y. & Shiro, M. (1991). New antiulcer quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 26(3): 345-349.