

Penetapan Kandungan Kurkumin Secara KLT Densitometri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh

Determination of Curcumin Content by TLC Densitometry of Extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Based on Differences in Growing Places

Dyah Aryantini¹, Pri Hardini²

^{1,2} Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

e-mail : dyah.aryantini@iik.ac.id

Article Info

Article history :

Submitted: 14 October 2024

Accepted: 29 November 2024

Published: 30 November 2024

Abstrak

Temulawak merupakan salah satu dari lima anggota famili Zingiberaceae yang oleh WHO telah ditetapkan sebagai prioritas. Salah satu senyawa fitofarmaka yang terkandung dalam rimpang temulawak dan telah banyak dieksplorasi aktivitas biologisnya yaitu senyawa kurkumin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan sampel temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. yang diperoleh dari pasar Raya Kutorejo (Ku), Mojosari (Mo), dan Materia Medika Indonesia (MMI) Malang Ekstraksi rimpang temulawak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% (1:10 b/v). Analisis KLT secara kualitatif dan kuantitatif dianalisis menggunakan KLT Densitometri menggunakan fase gerak kloroform:metanol (95:5 v/v). Secara KLT kualitatif menunjukkan bahwa ketiga ekstrak temulawak dari tempat yang berbeda mengandung kurkumin. Adapun hasil secara kuantitatif kandungan kurkumin dari pasar Kutorejo, Mojosari dan MMI berturut-turut adalah 187,37; 143,3; dan 110,59 µg/mL. Kadar kurkumin dari pasar Kutorejo dan Mojosari tidak berbeda signifikan, artinya rimpang temulawak yang berasal dari kedua pasar tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional yang terstandar kurkumin. Dapat disimpulkan bahwa kandungan kurkumin tertinggi adalah dari pasar Kutoarjo dibandingkan dari Mojosari dan MMI. Rimpang dari kedua pasar dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.

Kata Kunci: KLT-densitometri, kurkumin, terstandar, marker.

Ucapan terima kasih

-

Abstract

One of the Zingiberaceae family's rhizomes that is on the WHO's priority list of medicinal plants is temulawak. Curcumin is one of the phytopharmaceutical substances found in the rhizome of temulawak, whose biological action has been thoroughly studied. The purpose of this study is to ascertain the curcumin concentration of temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) that was purchased from Materia Medika Indonesia (MMI) Batu-Malang and the Kutorejo (Ku) and Mojosari (Mo) markets. The maceration technique was used to extract the rhizomes of temulawak using 96% ethanol (1:10 w/v). Densitometry TLC was used to examine both qualitative and quantitative TLC data using a chloroform:methanol (95:5

v/v) mobile phase. Qualitative TLC revealed that curcumin was present in the three temulawak extracts from various locations. The temulawak rhizomes from both markets can be utilized as raw materials for traditional medicines that are standardized for curcumin because the curcumin concentrations from the Kutorejo and Mojosari marketplaces did not differ considerably. In comparison to Mojosari and MMI, it can be inferred that the Kutoarjo market has the highest curcumin content. Both markets' rhizomes can be utilized as the basis for conventional medications.

Keywords: Curcumin, marker, standardized, TLC-Densitometry

©2022 Program Studi Farmasi S-1, Universitas Bhamada Slawi

***Corresponding Author:**

Name : Dyah Aryantini
Affiliation of author : Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiayata
Address : Jl. KH. Wachid Hasyim 65, Kediri, Indonesia
E-mail : dyah.aryantini@iik.ac.id

A. Pendahuluan

Populasi dunia masih bergantung pada sistem pengobatan tradisional yang sebagian besar menggunakan tumbuhan untuk mengobati penyakit, dengan lebih dari 80% populasi dunia menggunakan obat herbal untuk menunjang kesehatannya (Kepel & Bodhi, 2020). Salah satu tanaman obat yang umum digunakan sebagai obat herbal alami di Indonesia adalah rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Temulawak masuk dalam daftar tanaman obat prioritas WHO dan digunakan di 23 negara. Rimpang temulawak mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tanin. Temulawak mengandung kurkuminoid (61-67% kurkumin, 22-26% demethoxycurcumin, 1-3% bisdemethoxycurcumin, 10-11% turunan kurkuminoid lainnya) (Rahmat et al., 2021). Kurkumin merupakan senyawa penanda dan bahan yang berperan penting dalam aktivitas formulasi berbasis kurkuminoid seperti tablet ekstrak temulawak yang tersedia secara komersial. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengendalian kualitas kurkumin untuk menjamin keseragaman kandungan kurkumin dalam formulasi (Hanwar et al., 2020). Pada penelitian yang dilakukan Wahyuni et al., (2018) dengan menggunakan metode KLT densitometri, hasil kromatogram ekstrak kurkuminoid menunjukkan puncak utama adalah kurkumin dan dua puncak lainnya adalah dimethoxy dan bisdemethoxycurcumin. Fase gerak yang digunakan adalah diklorometana: metanol (97: 3 v/v) dan fase diam adalah silika gel 60 GF 254 yang diamati dengan panjang gelombang maksimum 420 nm dari sumber cahaya lampu halogen tungsten. Rimpang asal Magetan menurut penelitian Wahyuni et al., (2018) memiliki kandungan kurkumin sebesar 5,33%, memenuhi standar kandungan kurkumin ASEAN yakni 5%. Metode berbasis kromatografi seperti KLT densitometri merupakan metode yang akurat, mudah, murah, dan sensitif untuk mengukur kadar kurkumin Suharsanti et al., (2020).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin mengetahui kandungan kurkumin pada ekstrak jahe (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dari rimpang yang diperoleh dari

pasar Raya Mojosari dan Kutorejo dengan menggunakan KLT densitometri, karena penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya, maka penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut dan pengendalian mutu bahan dan ekstrak temulawak, yang selanjutnya akan digunakan sebagai bahan baku sediaan fitofarmaka yang terstandarisasi untuk memenuhi baku mutu yang telah ditentukan.

B. Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikro pipet, CAMAG TLC scanner 4, CAMAG Linomat 5, oven, *chamber*, tabung epperdorf, lampu UV, mikrotip. Adapun bahan penelitian ini adalah rimpang temulawak dari pasar Mojosari, Kutorejo dan MMI-Batu. Bahan lainnya diantaranya adalah Silika Gel GF₂₅₄ TLC *plate*, FeCl₃ 1%, pelarut dengan grade pro analisis seperti kloroform, metanol dan etanol. Perbandingan kurkumin murni dari Smartlab.

Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi Rimpang Temulawak

Ekstrak rimpang temulawak dibuat menggunakan metode maserasi dengan perbandingan perbandingan sampel : pelarut (1:10) (Harsono dan Setiarso, 2021). Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia temulawak kedalam pelarut etanol 96% dibejana, kemudian diaduk. Bejana ditutup menggunakan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Setelah 3 hari, ekstrak disaring menggunakan kertas saring. Ampas dimaserasi kembali (remaserasi) sebanyak 2 kali selama 3 hari menggunakan pelarut yang sama untuk menarik senyawa metabolit yang mungkin masih tertinggal. Kemudian filtrat satu, dua dan tiga dicampur dan dipekatkan menggunakan *water bath* pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Halim et al., 2012).

2. Penetapan Kandungan Kurkumin dengan KLT-Densitometri

a. Preparasi larutan standar kurkumin

Kurkumin murni ditimbang 1 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga 1 mL untuk membuat larutan stok 1000 ppm. Dibuat larutan induk 200 ppm dari larutan stok dengan cara dipipet 200 µL kemudian diencerkan hingga 1 mL.

b. Preparasi larutan sampel

Ekstrak rimpang temulawak ditimbang 10 mg. Ekstrak dilarutkan menggunakan etanol p.a sampai 1 mL sehingga diperoleh larutan stok 10 mg/mL (10.000 ppm). Larutan stok dipipet 0,1 mL menggunakan mikropipet kemudian diencerkan dengan etanol p.a hingga 1 mL diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

c. Optimasi Panjang gelombang maksimum

Larutan induk kurkumin 200 ppm ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 7 x 10 cm menggunakan Linomat 5 sebanyak 2, 4, 6, 8, dan 10 µL. Dielusi menggunakan fase gerak kloroform : metanol (95:5). Noda analit selanjutnya dilakukan *scanning* menggunakan CAMAG TLC *Scanner* 4 dan *software* program visionCATS untuk optimasi panjang gelombang. Penilaian panjang gelombang maksimal dilakukan pada area panjang gelombang antara 200-500 nm. Panjang gelombang optimum dipilih berdasarkan pada panjang

gelombang yang memiliki intensitas spektrum paling tinggi (Wahyuni et al., 2018).

d. KLT larutan standar dan larutan sampel

Untuk melihat spot yang tampak dari larutan standar kurkumin dan larutan sampel dilakukan KLT. Larutan standar kurkumin dengan konsentrasi 200 ppm ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 20 x 20 cm menggunakan Linomat 5 sebanyak 2, 4, 6, 8, dan 10 µL. Larutan sampel dibuat triplo dan ditotolkan pada lempeng KLT yang sama menggunakan Linomat 5 sebanyak sebanyak 10µL. Batas bawah pada *plate* 1,5 cm dari dasar *plate* dan 1 cm dari batas atas, totolan didiadakan beberapa saat sampai kering dan dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah jenuh berisi cairan fase gerak gerak kloroform : metanol (95:5). Elusi dilakukan sampai batas atas plat KLT. Plat KLT dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusi menguap. Setelah dielusi noda yang terbentuk pada plat KLT diamati dengan sinar UV 254 dan 366 nm.

e. Analisis dengan KLT densitometri

- f. Larutan standar kurkumin 5 seri konsentrasi dan larutan sampel yang telah ditotolkan dalam satu lempeng KLT yang sama dengan total 14 trek atau 14 jumlah totolan. Lempeng KLT kemudian dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil optimasi.

Analisis Data

Data diolah dengan menghitung kandungan kurkumin yang setara dengan kurkumin standar menggunakan persamaan regresi linear. Nilai luas area pada sumbu y dan konsentrasi pada sumbu x. Persamaan regresi linear kemudian dihitung konsentrasi sampel. Setiap pengujian sampel dilakukan dengan tiga replikasi.

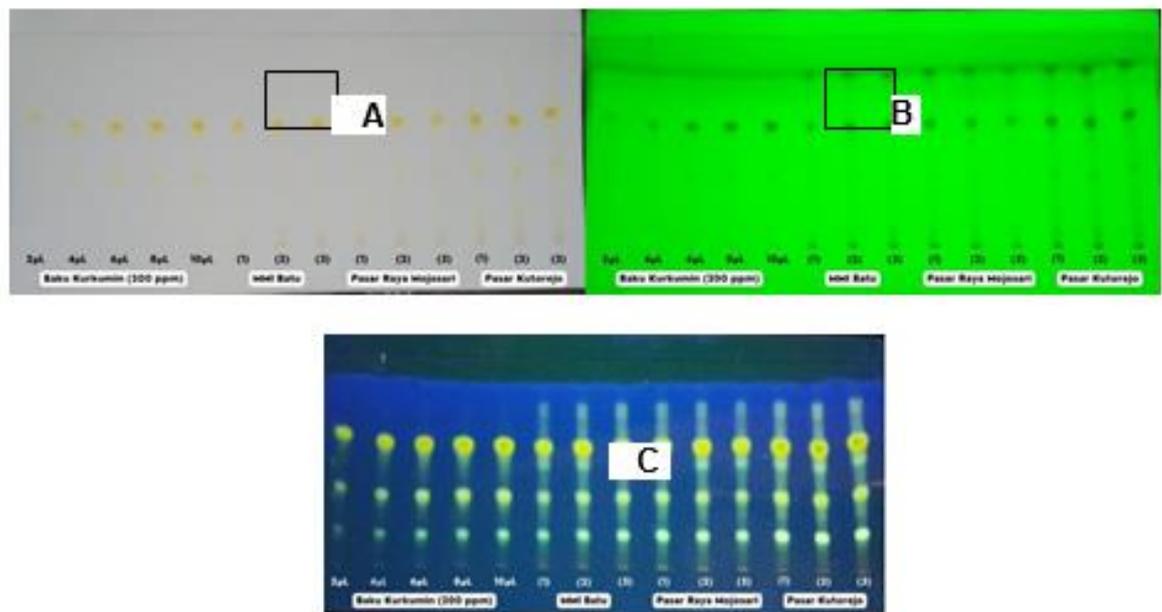
C. Hasil dan Pembahasan

Untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa aktif yang terekstrak dalam suatu bahan maka masing-masing ekstrak kental dihitung nilai rendemen. Hasil ekstraksi rimpang temulawak dari 3 tempat yang berbeda disajikan dalam tabel 1 yang menyatakan tentang rendemen masing-masing ekstrak. Semakin besar nilai suatu rendemen maka semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak dalam suatu bahan. Hasil rendemen MMI Batu 14,26%, Pasar Raya Mojosari 13,33% dan Pasar Kutorejo 19,44%. Pada penelitian Anggoro et al., (2015) dengan metode yang sama menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh hasil rendemen (8,85 — 12,1%). Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya bahan yang terekstraksi selama proses ekstraksi perendaman. Perbedaan hasil panen dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah jumlah bahan aktif yang terkandung dalam rimpang temulawak.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Rimpang Temulawak

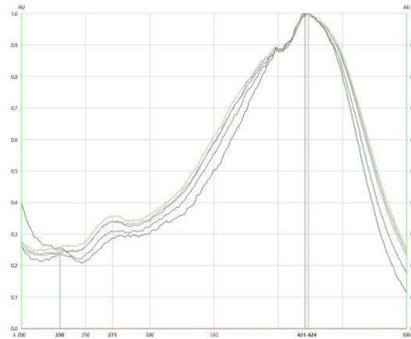
| Asal simplisia | Berat Ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|----------------|-------------------|--------------|
| MMI Batu | 2,14 | 14,26 |
| Pasar Mojosari | 2 | 13,33 |
| Pasar Kutorejo | 2,92 | 19,44 |

Bercak yang terbentuk pada plat KLT kemudian diamati menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Setelah diamati terdapat 3 spot bercak berwarna kuning saat diamatimenggunakan sinar UV 366 nm (Gambar 1). Sesuai dengan penelitian Siviero et al., (2015), kurkumin memiliki dua turunan yaitu demethoxycurcumin dan bis-demethoxycurcumin. Nilai Rf senyawa kurkuminoid (bis-demethoxycurcumin, demethoxycurcumin dan curcumin) mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni dkk (2018), dimana bis-demethoxycurcumin memiliki nilai Rf terkecil, disusul demethoxycurcumin dan kemudian curcumin. Hal ini disebabkan karena bis-demethoxycurcumin mengalami penghilangan dua gugus metoksi (-OCH₃) sehingga lebih polar dibandingkan demethoxycurcumin dan curcumin sehingga nilai Rfnya lebih kecil. Banyaknya gugus hidroksil pada kurkuminoid menjadikan senyawa tersebut lebih polar sehingga menyebabkan nilai Rf menjadi lebih rendah (Saputri dkk., 2022).



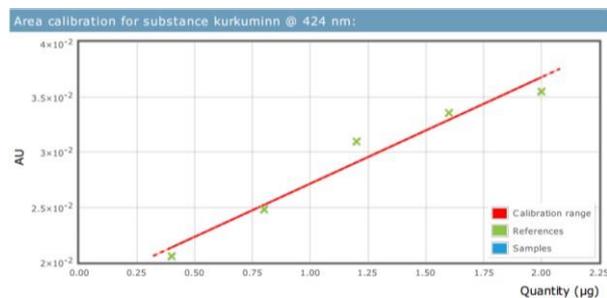
Gambar 1. Hasil elusi KLT (A=visual, B=di bawah lampu UV254 nm, C=di bawah lampu UV366 nm) sampel dari 3 asal simplisia terhadap standar kurkumin dengan fase gerak kloroform:metanol (95:5 v/v)

Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan digunakan untuk memindai titik pada pelat KLT eluen. Metode densitometri KLT dipilih karena merupakan metode yang valid untuk mengetahui kandungan kurkuminoid pada herba *Cucuma* sp menurut Hanwar et al., (2020). Hasil penentuan panjang gelombang standar maksimum kurkumin yang diperoleh pada 424 nm (Gambar 2).



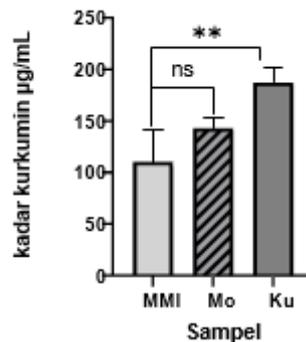
Gambar 2. Pengukuran kurva baku pada spektrum 200-500 nm

Data yang diperoleh dengan densitometri disajikan dalam bentuk nilai R_f dan luas atau AUC (*Area Under the Curve*). Tujuan penentuan linearitas adalah untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memperoleh hasil yang konsisten dengan konsentrasi analit dalam sampel. Dari hasil penentuan linearitas diperoleh persamaan $y = bx + a$, dimana persamaan yang dihasilkan adalah $y = 9,65 \times 10^{-9}x + 1,75 \times 10^{-2}$ (Gambar 3). Nilai koefisien korelasi (r) yang diperoleh sebesar 0,9704. Hal ini menunjukkan adanya korelasi linier antara kedua variabel yang diuji yaitu kandungan kurkumin dan luas pemindaian kromatografi.



Gambar 3. Persamaan regresi linier kurva baku kurkumin

Kadar kurkumin dari ketiga asal simplisia berturut-turut (Gambar 4) $110,59 \pm 30,59$ (MMI-Batu), $143,3 \pm 10,16$ (Mojosari) dan $187,37 \mu\text{g/ml} \pm 13,82$ (Kutorejo). Kadar kurkumin tertinggi berasal dari rimpang temulawak yang diperoleh dari Pasar Kutorejo kemudian Pasar Raya Mojosari dan yang paling rendah berasal dari MMI Batu. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar kurkumin dari Kutorejo terhadap sampel dari MMI-Batu, sedangkan kadar kurkumin dari MMI-Batu tidak berbeda signifikan dengan kurkumin dari Mojosari. Perbedaan kadar kurkumin pada ketiga sampel temulawak dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain perbedaan tempat tumbuh antara sampel, umur rimpang, tipe tanah, komposisi, pH larutan dan interaksi cahaya (Malahayati et al., 2018; Vera Nanda et al., 2021).



Gambar 4. Perbandingan kadar kurkumin dalam sampel berdasarkan perbedaan asalsimplisia (n=3, ** berbeda signifikan, ns=tidak berbeda signifikan $p \leq 0,05$)

D. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa terdapat kandungan kurkumin dalam ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dari rimpang yang diperoleh di pasar Raya Mojosari dan pasar Kutorejo secara KLT Densitometri. Dari hasil penetapan kandungan kurkumin dalam ekstrak temulawak dari berbagai tempat didapatkan kadar kurkumin sampel MMI Batu sebesar $110,59 \mu\text{g/ml} \pm \text{SD } 30,59$, Pasar Raya Mojosari sebesar $143,3 \mu\text{g/ml} \pm \text{SD } 10,16$, Pasar Kutorejo sebesar $187,37 \mu\text{g/ml} \pm \text{SD } 13,82$.

Pustaka

- Anggoro, D., Rezki, R. S., & Siswarni MZ. (2015). Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin Dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(2), 39–45. <https://doi.org/10.32734/jtk.v4i2.1469>
- Halim, M. R. A., Tan, M. S. M. Z., Ismail, S., & Mahmud, R. (2012). Standardization and phytochemical studies of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(SUPPL.3), 606–610.
- Hanwar, D., Widyastuti, V., & Suhendi, A. (2020). Validasi Metode Penetapan Kadar Kurkumin pada Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan KLT-Densitometri. *University Research Colloquium*, 243–248. repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/download/1207/1175
- Kepel, B. J., & Bodhi, W. (2020). *Standarisasi Parameter Spesifik dan Non-Spesifik Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia Purpurata K. Schum) sebagai Obat Antibakteri*. 8(1), 63–67.
- Malahayati, N., Widowati, T. W., & Febrianti, A. (2018). Total Phenolic, Antioxidant and Antibacterial Activities of Curcumin Extract of Kunci Pepet (*Kaempferia rotunda* L).