

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES
EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG
Curcuma zedoaria YANG DILAKUKAN SECARA
SOKHLETASI.**

**DETERMINATION OPTIMUM PARAMETERS OF THE
SECONDARY METABOLITE EXTRACTION PROCESS OF
Curcuma zedoaria BY SOXHLETATION.**

Disusun dan diajukan oleh

**AQIDATUL CAHYA
N111 16 007**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES
EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG
Curcuma zedoaria YANG DILAKUKAN SECARA
SOKHLETASI.**

**DETERMINATION OPTIMUM PARAMETERS OF THE
SECONDARY METABOLITE EXTRACTION PROCESS OF
Curcuma zedoaria BY SOXHLETATION.**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat
untuk mencapai gelar sarjana

**AQIDATUL CAHYA
N111 16 007**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

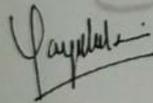
**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI
METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG *Curcuma zedoaria* YANG
DILAKUKAN SECARA SOKHLETASI.**

**AQIDATUL CAHYA
N111 16 007**

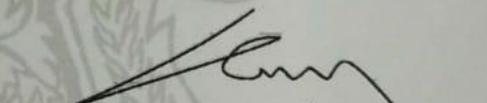
Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing pendamping



Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci, Apt.
NIP. 19850417 201504 2 001



Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc .Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada Tanggal, 19 Agustus 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI
METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG *Curcuma zedoaria* YANG
DILAKUKAN SECARA SOKHLETASI.

DETERMINATION OPTIMUM PARAMETERS OF SECONDARY
METABOLITE EXTRACTION PROCESS OF *Curcuma zedoaria* BY
SOXHLETATION.

Disusun dan diajukan oleh

AQIDATUL CAHYA
N111 16 007

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas
Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing pendamping

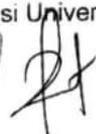


Yayu Mulsiani Evary, S. Si., M. Pharm. Sci., Apt.
NIP. 19850417 201504 2 001



Muhammad Raihan, S. Si., M. Sc. Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Firzan Nainu, S. Si., M. Biomed. Sc., Ph. D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Aqidatul Cahya
NIM : N111 16 007
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG Curcuma zedoaria YANG DILAKUKAN SECARA SOKHLETASI adalah karya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 19 Agustus 2021

Yang Menyatakan



Aqidatul Cahya

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil 'alamiin segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah *shubhanahu wata'ala* yang senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya, berupa kesehatan, kekuatan ilmu yang sempurna dan waktu yang begitu berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Penentuan Parameter Optimum Poses Ekstraksi Metabolit Sekunder pada Rimpang *Curcuma zedoaria* Yang Dilakukan Secara Sokhletasi".

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana (S1) pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena segala keterbatasan yang ada. Demi kesempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan dukungan dan sumbangsih pikiran baik berupa saran maupun kritikan yang bersifat membangun.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis yaitu Ayahanda Muh.Darwis, S.H., dan Ibu Nuhayati yang selalu memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa tulus yang selalu mengiringi langkah penulis. Saudara penulis, Ghirah Arrahman dan Dhiya' Salsabil yang selalu memerikan motivasi dan hiburan kepada penulis.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Peneliti secara khusus mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu sehingga dalam penyusunan skripsi ini segala kendala-kendala yang ada dapat diselesaikan. Peneliti banyak menerima

bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak yang bersifat moral maupun material. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., Msc. Stud., Apt. selaku pembimbing pendamping sekaligus Dosen Penasehat Akademik yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta bantuan yang sudah tidak bisa penulis ungkapkan dengan kata-kata.
2. Ibu Risfah Yulianty, S. Si., M.Farm., Apt. dan Ibu NurIndahyanti, S.Si., M.Si. selaku penguji yang dengan baik hati memberikan masukan dan saran dalam penyempurnaan penyusunan dan penulisan skripsi ini.
3. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dan mengajarkan banyak ilmu, membagi pengalaman yang bermanfaat kepada penulis selama masa perkuliahan dan ijin dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing penulis selama masa studi.
5. Sahabat-sahabat penulis, Suryaningsih Supriadi Saputri, Dini Ayu Zhafira, Iswanto, Rahmat Setiawan, dan Andi Aditya Natsir yang telah membantu dalam penyusunan skripsi dan selalu memberikan support yang lebih kepada penulis.

6. Teman teman dekat penulis, Sri Wahyuni, Sri Novianti, Isvi Nur Aulia, Mustika, dan Darwis untuk setiap dukungan, ilmu dan doa yang diberikan kepada penulis.
7. Teman penelitian optimasi, Rika Hardiana, Adelia Dwi Dayanti, dan Elma Pebryna Putri yang telah berjuang bersama di laboratorium dan membantu selama proses penyusunan skripsi.
8. Teman Angkatan 2016 (NEOSTIGMINE) dan Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH) yang telah memberi pengalaman, dukungan, dan saran kepada penulis.

Rasa hormat dan terima kasih bagi semua pihak atas segala dukungan dan doanya semoga Allah *shubhanahu wata'ala* membalas segala kebaikan yang telah mereka berikan kepada penulis. Kiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat dan masukan bagi pembaca. Aamiin.

Makassar,

Aqidatul Cahya

ABSTRAK

AQIDATUL CAHYA Penentuan Parameter Optimum Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder pada Rimpang *Curcuma zedoaria* Yang Dilakukan Secara Sokhletasi. (Dibimbing oleh Yuyu Mulsiani Evary dan Muhammad Raihan).

Tanaman temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) merupakan salah satu family Zingiberaceae yang biasa digunakan sebagai salah satu bahan baku obat tradisional. Beberapa faktor dapat mempengaruhi proses ekstraksi seperti perbedaan metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi yang akan berpengaruh terhadap jumlah rendemen serta kualitas ekstrak yang didapatkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dan sampel, serta jumlah siklus ekstraksi pada proses ekstraksi rimpang *C. zedoaria* menggunakan metode ekstraksi sokhletasi. Parameter yang diuji pada penelitian ini yaitu rasio simplisia : pelarut (1:10, 1:20, 1:30, dan 1:34) dan jumlah siklus ekstraksi (3, 5, 10, 15, dan 17 siklus). Penentuan kadar eugenol pada ekstrak dilakukan menggunakan metode KLT densitometri dan *Response Surface Methodology* untuk mengetahui nilai optimum yang dihasilkan dari kedua parameter uji. Hasil penelitian yaitu diperoleh rendemen ekstrak optimal sebesar 10,76% pada parameter rasio simplisia dan pelarut 1:13 serta jumlah siklus ekstraksi sebanyak 17 siklus. Sedangkan kadar eugenol menunjukkan hasil yang optimum pada parameter rasio simplisia dan pelarut 1:16 serta siklus ekstraksi sebanyak 17 siklus dengan konsentrasi eugenol optimal yaitu 1,94 mg/mL.

Kata Kunci: Optimasi, *Respon Surface Methodology*, Sokhletasi, *C.zedoaria* Rosc., Eugenol.

ABSTRACT

AQIDATUL CAHYA Determination Optimum Parameters of Secondary Metabolite Extraction Process of *Cucuma zedoaria* Rhizome by Soxhletation. (Supervised by Yayu Mulsiani Evary and Muhammad Raihan).

White turmeric (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) is one of the Zingiberaceae family which is widely used as raw material for traditional medicine. Several factors can affect the extraction process such as differences in method, solvent, temperature, and extraction time which will affect the amount of yield and quality of the extract obtained. The purpose of this study was to determine the optimum parameters of the ratio of solvent and sample, as well as the number of extraction cycles in the extraction process of *C. zedoaria* rhizome using the soxhlet extraction method. The parameters tested in this study were the ratio of simplicia: solvent (1:10, 1:20, 1:30, and 1:34) and the number of extraction cycles (3, 5, 10, 15, and 17 cycles). Determination of eugenol levels in the extract was carried out using the TLC densitometric method and the Response Surface Methodology to determine the optimum value generated from the two test parameters. The results showed that the optimal extract yield was 10.76% at the simplicia and solvent ratio parameter of 1:13 and the number of extraction cycles was 17 cycles. Meanwhile, the levels of eugenol showed optimum results at the ratio of simplicia and solvent 1:16 and the extraction cycle was 17 cycles with the optimal eugenol concentration was 1.94 mg/mL.

Keywords: Optimization, Response Surface Methodology, Soxhletation, *C.zedoaria* Rosc., Eugenol.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	4
I.3. Tujuan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1. Kunyit Putih (<i>Curcuma zedoaria</i>)	6
II.2. Simplisia	9
II.3. Metode Ekstraksi Bahan Alam	10
II.4. Metabolit Sekunder Tanaman	13
II.5. Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi	18
II.6. Respon Surface Methodology	21
BAB III METODE KERJA	22
III.1. Waktu dan Lokasi Penelitian	22
III.2. Alat dan Bahan	22
III.3. Metode Penelitian	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
IV.1 Kontrol Kualitas Temu Putih	26
IV.2 Ekstraksi	27
IV.3 Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri	28
IV.4 Hasil Optimasi Rendemen Ekstrak	31
IV.5 Hasil Optimasi Eugenol	35
BAB V PENUTUP	39

V.1. Kesimpulan	39
V.2. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Parameter Uji Untuk Optimasi Ekstraksi Sokhletasi	24
2. Hasil bobot ekstrak dan %rendemen	27
3. Data konsentrasi dan luas area baku pembanding eugenol	29
4. Data luas area dan konsentrasi eugenol pada ekstrak	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Temu Putih (<i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.)	6
2. Struktur senyawa alkaloid	14
3. Struktur senyawa flavonoid	15
4. Struktur senyawa kurkuminoid	16
5. Struktur senyawa eugenol	17
6. Profil KLT ekstrak temu putih	26
7. Profil KLT perbandingan baku Eugenol dan ekstrak	28
8. Kurva regresi pembanding eugenol	29
9. <i>Pareto chart</i> parameter uji terhadap rendemen	31
10. Grafik <i>contour plot</i> rendemen ekstrak	32
11. Grafik <i>surface plot</i> rendemen ekstrak	32
12. <i>Optimization plot</i> respon rendemen ekstrak	34
13. <i>Pareto chart</i> konsentrasi eugenol	35
14. Grafik <i>contour plot</i> konsentrasi eugenol	36
15. Grafik <i>surface plot</i> konsentrasi eugenol	36
16. <i>Optimization plot</i> respon kadar eugenol	37
17. Proses pencucian sampel	55
18. Proses perajangan sampel	55
19. Proses pengeringan sampel	55
20. Simplisia kering temu putih	55

21. Proses ekstraksi sampel	55
22. Proses pengentalan sampel	55
23. Baku eugenol dengan konsentrasi 0.5, 1, 2.5, dan 5 mg/mL	56
24. Ekstrak dengan rasio simplisia dan pelarut 1:10	56
25. Ekstrak dengan rasio simplisia dan pelarut 1:20	56
26. Ekstrak dengan rasio simplisia dan pelarut 1:30 dan 1:34	56
27. Proses komatografilapis tipis	56
28. Penampakan noda dibawah UV ₂₅₄	56
29. Penampakan noda dibawah UV ₃₆₆	56
30. Analisis menggunakan alat TLC scanner	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	44
2. Perhitungan	45
3. Data analisis KLT densitometri	54
4. Dokumentasi penelitian	55

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Tanaman temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) merupakan salah satu family Zingiberaceae yang biasa digunakan sebagai salah satu bahan baku obat tradisional di Indonesia. Berbagai manfaat dapat ditemukan dari seluruh bagian tanaman *C. zedoaria* mulai dari daun, bunga, dan rimpang. Namun rimpang merupakan bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan obat. Rimpang *C. zedoaria* memiliki aktivitas antioksidan, antiradang, antikanker dan antimikroba (Lobo *et al.*, 2009).

Skrining fitokimia ekstrak etanol *C. zedoaria* menunjukkan adanya beberapa komponen senyawa bioaktif seperti tanin, flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, karbohidrat dan steroid sebagai penyusun utama ekstrak *C. zedoaria* (Azam *et al.*, 2014). Selain itu, terdapat sekitar 60 komponen senyawa yang diidentifikasi dalam minyak atsiri *C. zedoaria* dan 26 komponen senyawa dalam etanol oleoresin *C. zedoaria* dengan kandungan *curzerenone*, *germacrone*, *camphor*, dan *curcumenol* sebagai komponen terbesar (Singh *et al.*, 2013).

Hasil penelitian Hong *et al.* (2002), menunjukkan bahwa *C. zedoaria* memiliki efek antiinflamasi, dimana ekstrak metanol rimpang *C. zedoaria* mampu menghambat proses pembentukan prostaglandin pada jalur COX-2 dengan besar penghambatan lebih dari 80% pada konsentrasi 10 µg/mL.

Penelitian lainnya juga menjelaskan efek analgesik dari *C. zedoaria*. Hasil penelitian Navarro *et al.*, (2002), menunjukkan bahwa senyawa curcumenol ekstrak *C. zedoaria* memiliki aktivitas analgesik yang lebih besar (69.5%) jika dibandingkan dengan kedua obat standar aspirin (54.4%) dan dipyrone (52.9%). Senyawa curcumenol yang terkandung dalam ekstrak diklorometan *C. zedoaria* mampu menghambat respon menggeliat pada tikus yang diinduksi asam asetat dengan nilai dosis penghambatan (ID₅₀) sebesar 3.6 mg/KgBB.

Bedasarkan penelitian Singh *et al.* (2013), uji *in vitro* minyak atsiri rimpang *C. zedoaria* menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup efektif setara dengan antioksidan standar (BHA, BHT, dan PG) pada konsentrasi 5-20 µg/mL.

Beberapa penelitian juga menjelaskan adanya aktivitas antikanker dari rimpang *C. zedoaria*. Hasil penelitian Murwanti dkk. (2014), menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang *C. zedoaria* mampu menghambat proses karsinogenis pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren secara signifikan pada dosis 750 mg/kgBB dengan besar penghambatan 77,78%. Penelitian lainnya menunjukkan hasil uji 3 senyawa kurkuminoid dari ekstrak etanol rimpang *C. zedoaria* yang dipartisi dengan etil asetat memiliki efek sitotoksik terhadap sel-sel OVCAR-3, yaitu sel line kanker ovarium manusia dengan nilai CD₅₀ ketiga senyawa yaitu 4,4 µg/mL, 3,8 µg/mL, dan 3,1 µg/mL (Syu *et al.*, 1998). Minyak atsiri rimpang *C. zedoaria* juga mampu menghambat aktivitas karsinogenis dari

sel karsinoma paru melalui mekanisme menginduksi apoptosis pada sel H1229 dengan nilai IC_{50} sebesar 80-170 $\mu\text{g/mL}$ (Chen *et al.*, 2013).

Selain itu, *C. zedoaria* juga berpotensi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada penelitian Wilson *et al.*, (2005), ekstrak rimpang *C. zedoaria* yang diuji pada enam strain bakteri berbeda (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*) dan dua strain fungi (*Candida albicans* dan *Aspergillus ochraceus*) memiliki aktivitas penghambatan yang signifikan kecuali pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. dengan zona hambat 8 mm - 15 mm. Nilai MIC untuk strain dan ekstrak yang berbeda berkisar antara 0,01 hingga 0,15 mg/mL. Penghambatan pertumbuhan mikroba pada konsentrasi terendah yaitu 0,01 mg/mL menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat dari ekstrak ini.

Proses ekstraksi metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian tanaman obat. Ekstraksi menggunakan Soxhlet merupakan salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Cara ini memiliki beberapa kelebihan dibanding yang lain antara lain sampel kontak dengan pelarut yang murni secara berulang, kemampuan mengekstraksi sampel lebih banyak tanpa tergantung jumlah pelarut yang banyak. (Kolar *et al.*, 2002).

Beberapa faktor dapat mempengaruhi proses ekstraksi seperti perbedaan metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi yang akan berpengaruh terhadap jumlah rendemen serta kualitas ekstrak yang

didapatkan. Menggunakan metode, pelarut serta waktu yang sesuai akan menghasilkan rendemen serta kualitas ekstrak yang maksimal (Xiao, *et al.* 2010). Berdasarkan penelitian Febrina, dkk. (2015), ekstraksi secara maserasi dan sokhletasi pada tanaman *Ficus variegata* dengan variasi perbandingan bahan dan pelarut 1:10, 1:20 dan 1:30 menghasilkan %rendemen yang optimal sebesar 34,00% pada metode sokhletasi dengan perbandingan pelarut 1:30 dan lama ekstraksi sebanyak 5 siklus. Penelitian lainnya menunjukkan ekstraksi tanaman *Zingiber officinale* secara sokhletasi memberikan hasil terbaik dengan %rendemen sebesar 7,77% pada perbandingan bahan dan pelarut 1:20 dan lama ekstraksi sebanyak 8 siklus (Prasetyo, dkk. 2015).

Sampai saat ini banyak manfaat dan potensi yang ditunjukkan oleh *C. zedoaria*. Namun proses penyiapan ekstraknya belum dioptimalkan. Meninjau dari pertimbangan tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan optimasi proses ekstraksi rimpang *C. zedoaria* secara sokhletasi untuk mengetahui kombinasi parameter yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi rimpang *C. zedoaria* secara optimal.

I.2. Rumusan Masalah

Bagaimanakah kombinasi dari parameter rasio pelarut dan sampel serta jumlah siklus ekstraksi yang dapat menghasilkan ekstrak paling optimum pada proses ekstraksi rimpang *C. zedoaria* khususnya menggunakan metode ekstraksi sokhletasi?

I.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dan sampel, serta jumlah siklus ekstraksi pada proses ekstraksi rimpang *C. zedoaria* menggunakan metode ekstraksi sokhletasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*)

II.1.1. Taksonomi Tanaman

Kerajaan : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Anak Divisi : Spermatophytina

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Zingiberales

Suku : Zingiberaceae

Marga : *Curcuma* L.

Jenis : *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe



(a)



(b)

Gambar 1. Temu putih (*Curcuma zedoaria*)
(a) Tanaman temu putih; (b) Rimpang temu putih
(Sumber: Koleksi pribadi)

II.1.2. Morfologi Tanaman

Curcuma zedoaria atau yang sering disebut dengan temu putih merupakan spesies asli (native species) India, telah dibudidayakan di

seluruh Asia Tenggara termasuk Indonesia. Pemberian nama temu putih untuk *C. zedoaria* diduga berhubungan dengan adanya umbi yang berwarna putih, walaupun demikian rhizomanya berwarna kuning. *C. zedoaria* merupakan herba perennial, memiliki tinggi satu meter, rimpang utama berbentuk bulat telur, dan bagian dalam umbinya kuning pucat. Helaian daun *C. zedoaria* memiliki panjangnya 80 cm, biasanya dengan bercak-bercak ungu di sepanjang pelepah pada keduanya permukaan daun. Pada saat muda (kecil), warna rimpang dari *C. zedoaria* memiliki warna yang mirip dengan *C. aeruginosa* dan *C. manga* (Silalahi, 2018).

II.1.3. Kandungan Senyawa

Skrining fitokimia dari ekstrak rimpang *C. zedoaria* menunjukkan adanya beberapa komponen senyawa bioaktif seperti tanin, flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, karbohidrat dan steroid sebagai penyusun utama ekstrak *C. zedoaria* (Azam *et al.*, 2014). Selain itu *C. zedoaria* mengandung senyawa kimia seperti kurkuminoid, minyak atsiri, astringensia, flavonoid, sulfur, gum, resin, tepung, sedikit lemak. Penelitian yang dilakukan oleh Syu *et al* (1998) menunjukkan bahwa *Curcuma zedoaria* memiliki banyak kandungan senyawa, seperti kurkuminoid, *bisdemethoxycurcumin*, *demethoxycurcumin*, dan *ethyl pmethoxycinnamate* yang diantaranya berfungsi sebagai zat antikanker.

Terdapat beberapa komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri *C. zedoaria*. Pada penelitian Singh *et al.*, (2013) komponen utama yang diidentifikasi dalam minyak atsiri rimpang *C. zedoaria* yaitu

curzerenone (31.6%), *germacrone* (10.8%), dan *camphor* (10.3%). Selain itu, pada penelitian Retnowati *et al.*, (2014) diperoleh data hasil analisis komponen senyawa minyak atsiri rimpang *C. zedoaria* yang berasal dari Indonesia menggunakan kromatografi gas spektrometri massa yaitu *camphor* (49.51 %), *isobornyl alcohol* (12.66 %), *borneole* (4.23 %), *furanodiene* (3.61 %), *furanodienone* (3.49 %), 1,8 *cineole* (3.42 %), *camphene* (2.28 %), β -*pinene* (1.75 %), *germacrene-D* (1.19 %), dan 2-*nonanone* (0.76 %).

II.1.4. Manfaat

C. zedoaria dapat membantu proses penyembuhan kanker karena mengandung senyawa seperti, ethyl p-methoxycinnamate, kurkuminoid, bisdemethoxycurcumin, flavonoid, dan demethoxycurcumin yang didapatkan dari ekstrak ethanol rimpang *C. zedoaria*. Kandungan senyawa yang dihasilkan pada ekstrak ethanol rimpang *C. zedoaria* dapat menghambat pertumbuhan sel OVCAR-3 (human ovarian cancer), murine sarcoma, metaplasia sel fibroblas NIH 3T3, sel kanker kolon HCT-15 dan HT-2930, keganasan sel embrional ginjal (HEK293), sel hepatoselular karsinoma dan sel Hep-2 (Syu *et al.*, 1998). Selain itu *C. zedoaria* juga mengandung Ribosome Inacting Protein (RIP) yang berfungsi menonaktifkan perkembangan sel kanker dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Ekstrak sederhana dari *C. zedoaria* yang diberikan secara oral dan intraperitoneal dapat menurunkan jumlah sel tumor, menurunkan progresifitas pertumbuhan tumor, dan dapat digunakan sebagai

immunomodulator pada tikus yang diinduksi oleh sel melanoma B16F10 murine (Putri, 2014).

Hasil penelitian Navarro *et al.*, (2002), menunjukkan bahwa senyawa curcumenol ekstrak *C. zedoaria* memiliki aktivitas analgesik yang cukup besar (69.5%). Ekstrak metanol rimpang *C. zedoaria* juga memiliki efek antiinflamasi dengan mekanisme menghambat proses pembentukan prostaglandin pada jalur COX-2 (Hong *et al.*, 2002),. Selain itu kandungan senyawa triterpenoid pada ekstrak *C. zedoaria* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli* (Rita. 2010). Penelitian Matsuda *et al.*, (1998) juga menjelaskan potensi senyawa seskuiterpen pada ekstrak *C. zedoaria* berpotensi dalam menurunkan kolesterol.

II.2. Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes, 1979). Simplisia terbagi atas tiga, yaitu:

1. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, maupun eksudat tanaman.
2. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, maupun zat yang dihasilkan hewan dan belum berupa zat kimia murni.

3. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, dan tidak berupa zat kimia murni (Depkes, 1979).

II.3. Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.3.1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi secara umum merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Pemilihan pelarut diperlukan dalam proses ekstraksi, karena pelarut yang digunakan harus dapat memisahkan atau mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan zat-zat lainnya yang tidak diinginkan (Prayudo, 2018). Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu (Xiao *et al.*, 2010) :

1. Jenis pelarut, mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah zat terlarut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi.
2. Suhu, kenaikan suhu akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut.
3. Rasio pelarut dan bahan baku yang besar akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat.

4. Ukuran partikel yang semakin kecil akan meningkatkan laju ekstraksi. Dalam arti lain, rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.

5. Pengadukan yang berfungsi untuk mempercepat terjadinya reaksi antara pelarut dengan zat terlarut.

6. Waktu ekstraksi yang semakin lama akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, karena kontak antara zat terlarut dengan pelarut lebih lama.

II.3.2. Metode Ekstraksi

II.3.2.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut organik yang dilakukan pada suhu kamar sehingga dapat mengurangi terjadinya kerusakan senyawa pada sampel. Pada metode ini, terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel, sehingga perlu dilakukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2014). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Metode ekstraksi maserasi sangat cocok untuk sampel yang mengandung senyawa tidak tahan pemanasan (Darwis, 2000).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan cara ekstraksi dengan melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik

bersama-sama pelarut. Efektivitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Darwis, 2000). Kerugian dari metode ini yaitu memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak (Hanani, 2014).

II.3.2.2 Cara Panas

1. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan penyarian berulang dan pemanasan. Penggunaan metode sokletasi adalah dengan cara memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pada metode ini, sampel dan ekstrak hasil ekstraksi berada pada labu yang berbeda. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan disebut satu siklus ekstraksi. Pelarut yang telah turun ke labu ekstrak kemudian kembali menjadi uap untuk membasahi sampel (Darwis, 2000). Metode ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung karena terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel sehingga dapat menghemat penggunaan pelarut. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. (Hanani, 2014).

2. Refluks

Refluks merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode ini umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama agar didapatkan hasil lebih baik atau sempurna (Hanani, 2014).

3. Infusa

Infusa merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu 96°C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini cocok untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2014).

4. Dekok

Dekok merupakan cara ekstraksi yang hampir mirip dengan infusa, yang membedakan hanya waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2014).

II.4. Metabolit Sekunder Tanaman

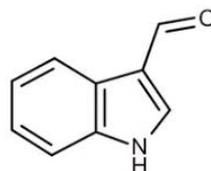
Metabolit sekunder (MS) pada tumbuhan umumnya bersifat sangat spesifik dalam hal fungsi. Biosintesis MS dapat terjadi pada semua organ tumbuhan, termasuk di akar, pucuk, daun bunga, buah, dan biji. Beberapa metabolit disimpan dalam kompartemen khusus, bisa pada organ atau tipe sel yang terspesialisasi. Dalam kompartemen tersebut konsentrasi MS yang bersifat toksik bisa sangat tinggi, sehingga menjadi pertahanan yang efisien terhadap herbivora.

Metabolit sekunder pada tumbuhan memiliki beberapa fungsi: 1) pertahanan terhadap virus, bakteri, dan fungi; tumbuhan kompetitor; dan yang terpenting adalah terhadap herbivora, 2) atraktan (bau, warna, rasa) untuk polinator dan hewan penyebar biji, 3) perlindungan dari sinar UV dan penyimpanan.

Metabolit sekunder dapat berperan sebagai pelindung yakni meningkatkan kebugaran reproduktif tumbuhan melalui penghambatan pertumbuhan fungi, bakteri, dan herbivora. Salah satu produk metabolit sekunder yang memiliki fungsi ini adalah fitoaleksin. Jeandet (2015) menyatakan bahwa fitoaleksin merupakan senyawa antimikroba berberat molekul rendah yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respon terhadap cekaman biotik dan abiotik (Anggraito, 2018).

II.4.1. Alkaloid

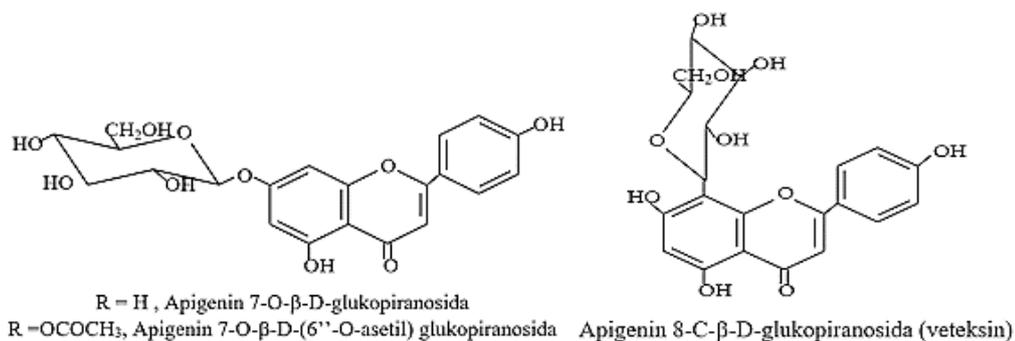
Alkaloid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang mengandung unsur nitrogen (N) biasanya pada cincin heterosiklis dan umumnya bersifat basa. Senyawa alkaloid dalam tumbuhan umumnya berbentuk garam, berikatan dengan asam-asam organik yang terdapat dalam tumbuhan, dan alkaloid bersifat larut dalam pelarut polar etanol ataupun air. Dalam bentuk basa, alkaloid lebih larut dalam pelarut nonpolar seperti eter, benzene, toluen, dan kloroform (Hanani, 2014). Berikut contoh senyawa alkaloid yang ditemukan di *C. zedoaria* dengan struktur inti indol (Indole-3-carboxaldehyde).



Gambar 2 Stuktur alkaloid senyawa alkaloid (Singh *et al*, 2013).

II.4.2. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatic yang dihubungkan dengan tiga atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Flavonoid umumnya ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar. Dalam bentuk aglikon, sifatnya kurang polar, cenderung lebih mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter. Bentuk glikosida memiliki warna yang lebih pucat dibandingkan bentuk aglikon. Dalam tumbuhan biasanya flavonoid terdapat dalam bentuk glikosida baik sebagai flavonoid O-glikosida atau flavonoid C-glikosida (Hanani, 2014).



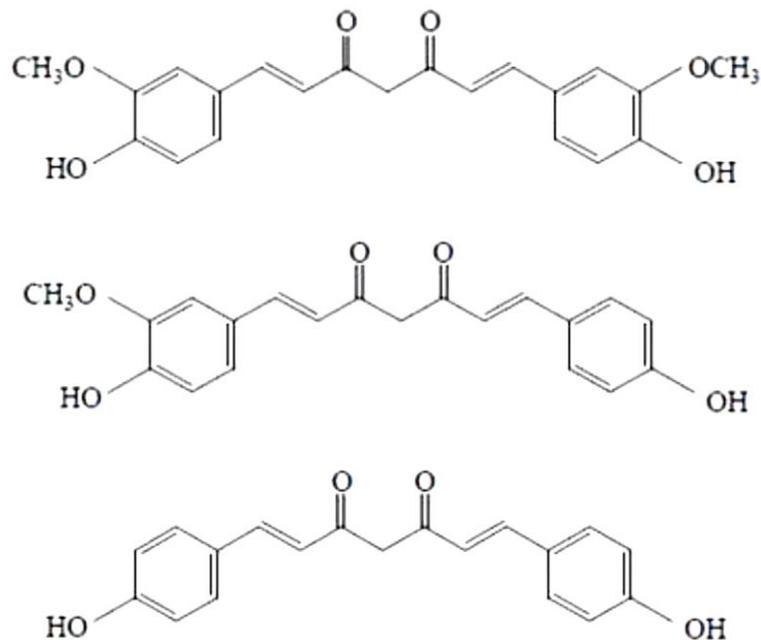
Gambar 3. Struktur kimia senyawa flavonoid (Hanani, 2014)
 (a) Flavonoid O-glikosida; (b) Flavonoid C-glikosida

II.4.3. Metabolit Sekunder Dalam *C. zedoaria*

1. Kurkumin

Kurkumin merupakan senyawa kurkuminoid yang merupakan pigmen warna kuning terdapat pada rimpang temulawak dan kunyit. Senyawa ini termasuk ke dalam golongan fenolik. Kelarutan kurkumin

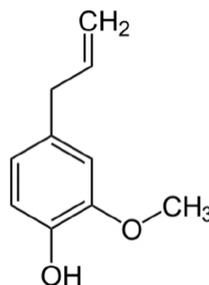
sangat rendah dalam air dan eter, namun larut dalam pelarut organik seperti etanol dan asam asetat glasial. Kurkumin stabil pada suasana asam dan tidak stabil pada kondisi basa serta adanya cahaya. Pada kondisi basa dengan pH diatas 7,45, 90% kurkumin terdegradasi membentuk produk samping berupa trans-6-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-2,4-diokso-5-heksenal, vanilin, asam ferulat dan feruloil metan. Sementara dengan adanya cahaya, kurkumin terdegradasi menjadi vanilin, asam vanilat, aldehyd ferulat, asam ferulat dan 4-vinilguaiakol (Brat et al, 2008). Berikut contoh senyawa kurkuminoid yang 13 terdapat pada *C. zedoaria* yaitu kurkumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin.



Gambar 4. Struktur kimia senyawa kurkuminoid (Wilken *et al*, 2011)
(a) Kurkumin; (b) *demethoxycurcumin*; (c) *bisdemethoxycurcumin*

2. Eugenol

Eugenol merupakan senyawa fenil propanoid yang memiliki warna kuning pucat, bau dan aroma yang khas, serta rasa yang pedas. Bila berkontak dengan kulit, eugenol terasa hangat seperti balsem atau minyak pijat. Eugenol terdapat pada minyak esensial tertentu salah satunya pada temu putih (*C. zedoaria* Rosc.). Eugenol banyak digunakan dalam minyak wangi, penyedap, dan obat antiseptik serta anastesi lokal. Eugenol sangat sedikit terlarut dalam air dan terlarut dalam pelarut organik. Eugenol sukar larut dalam air, tetapi sangat larut dalam pelarut organik, seperti alkohol, eter, dan kloroform (Nagar, 2000).



Gambar 5. Struktur kimia senyawa eugenol (Freires *et al.*, 2015)

Senyawa eugenol yang mempunyai rumus molekul C₁₀H₁₂O₂ mengandung beberapa gugus fungsional yaitu alil (-CH₂-CH=CH₂), fenol (-OH) dan metoksi (-OCH₃), sehingga dengan adanya gugus tersebut dapat memungkinkan eugenol sebagai bahan dasar sintesis berbagai senyawa lain seperti isoeugenol, eugenol asetat, isoeugenol asetat, benzil eugenol, benzil isoeugenol, metil eugenol, eugenol metil eter, eugenol etil eter, isoeugenol metil eter, vanilin dan sebagainya (Mustikarini, 2007).

II.5. Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi

II.5.1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen-komponen berdasarkan perbedaan adsorpsi dan partisi oleh fase diam di bawah pengaruh gerakan pelarut. Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang akan dipisahkan (Mulja dan Suharman, 1995). Pada KLT, fase diam yang dapat digunakan yaitu silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium, dan fase gerak yang digunakan umumnya merupakan pelarut organik atau campuran pelarut organik (Gritter et al, 1991).

KLT memiliki beberapa kelebihan yaitu kegunaannya yang mudah, proses pemisahan yang cepat disebabkan oleh sifat penjerap yang lebih padat, dapat digunakan secara luas pada sampel yang berbeda, kepekaannya yang tinggi sehingga dapat memisahkan bahan yang jumlahnya kurang dari μg , dan biaya yang relatif lebih murah (Harborne, 1973).

Identifikasi senyawa-senyawa hasil pemisahan KLT dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi kimia. Tetapi lazimnya untuk identifikasi digunakan nilai R_f (Retardation factor). Nilai R_f dinyatakan dalam persamaan (Gandjar dan Rohman, 2007):

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai maksimum R_f adalah 1, dimana senyawa bermigrasi dengan kecepatan yang sama dengan eluen, sedangkan nilai minimum R_f adalah 0, dapat terlihat jika senyawa tertahan pada posisi titik awal permukaan fase diam. Senyawa yang mempunyai nilai R_f lebih besar mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah (Gandjar dan Rohman, 2007).

II.5.2. KLT – Densitometri

Densitometri merupakan metode analisis instrumental yang mendasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak pada KLT. Meskipun pada awalnya instrumen ini berdiri sendiri, namun sekarang telah terintegrasikan dengan computer yang mengontrol instrumen ini sehingga membuat instrumen ini makin reproduktif dan akurat (standar deviasi ~1%) . Prinsip dasar dari densitometri ini adalah radiasi elektromagnetik (REM) dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan (biasanya, UV visible dari p bang 190 - 800 nm) yang bergerak sepanjang zona kromatografi yang sebelumnya telah ditentukan atau sementara radiasi dil lapisan KLT/HPTLC digerakkan oleh motor yang mengatur lempeng (Rohman, 2009).

Kelebihan dari KLT densitometri ini yaitu memiliki spesifisitas yang tinggi, pengerjaan relative mudah dan cepat, biaya relative murah, pelarut yang digunakan sedikit, semua komponen dalam sampel dapat dideteksi karena memungkinkan terjadinya pemisahan sampel secara serentak,

memiliki berbagai macam teknik untuk optimasi pemisahan, dan campuran pelarut dapat diubah dalam waktu singkat. Dibandingkan dengan metode lain seperti KCKT metode KLT lebih statis dibandingkan KCKT yang bersifat dinamis. Selain itu sistem KLT lebih mudah untuk mengubah atau menambah eluen agar sensitivitas dan selektivitasnya bertambah tanpa dibatasi waktu yang biasanya sangat berperan dalam sistem deteksi dinamis seperti KCKT (lestyo,2013).

Densitometer dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya monokromator (rentang panjang gelombang 190 s/d 800 nm) untuk memilih panjang gelombang yang cocok, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng pengganda foton, dan rekorder (Gandjar, 2007)

Ada tiga kemungkinan mode scanning mode yang dapat digunakan pada densitometri yaitu, radiasi tunggal (single beam) pada panjang gelombang tunggal, radiasi ganda (double beam) menggunakan dua panjang gelombang dual (dual wavelength), yaitu radiasi ganda yang dikombinasikan ke dalam radiasi tunggal. Radiasi elektromagnetik yang ditembakkan ke permukaan lempeng, ada yang diteruskan (transmitted radiation) melewati lapisan lempeng dan ada juga dipantulkan kembali dari permukaan. Reflektansi terjadi pada lapisan yang kabur (Gandjar, 2007).

Radiasi yang dipantulkan ini dikuantifikasi dan ditampilkan oleh unit photo multiplier atau sel fotoelektrik yang terdapat pada instrument. ketika

radiasi yang ditembakkan melewati zona kromatografi maka perbedaan dalam respon optik terjadi karena beberapa radiasi diserap dan karena itu lebih sedikit radiasi yang dipantulkan. Perbedaan ini adalah cara yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur substansi yang terdapat dalam zona kromatografi (Gandjar, 2007).

II.6. Respon Surface Methodology

Menurut Montgomery (2001), Response Surface Methodology (RSM) merupakan himpunan metode-metode matematika dan statistika yang digunakan untuk melihat hubungan antara satu atau lebih variabel perlakuan berbentuk kuantitatif dengan sebuah variable respon yang bertujuan untuk mengoptimalkan respon tersebut dalam suatu percobaan. Sebagai contoh persamaan $y_i = f_i(x_1, x_2, x_3) + \varepsilon_i$, $i = 1, 2$ menunjukkan hubungan antara level dari dosis pupuk nitrogen (x_1), dosis pupuk fosfor (x_2) dan dosis pupuk kalium (x_3) dengan jumlah malai (y_i) dari sebuah proses pemupukan, dimana ε_i merupakan error pengamatan pada respon y_i . Jika kita tuliskan nilai harapan respon sebagai $E(y) = f(x_1, x_2, x_3) = \eta$, kemudian $\eta = f_i(x_1, x_2, x_3)$ merepresentasikan sebuah permukaan yang disebut *response surface*.