

SKRIPSI

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES
EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER PADA
RIMPANG *Curcuma zedoaria* Rosc. DENGAN
METODE MASERASI**

**DETERMINATION OF THE OPTIMUM PARAMETERS
IN THE PROSES OF SECONDARY METABOLITES
EXTRACTION OF *Curcuma zedoaria* Rosc.
RHIZOME CONDUCTED BY MACERATION**

Disusun dan diajukan oleh

ELMA PEBRYNA PUTRI

N011 17 1523



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

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI
METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG *Curcuma zedoaria* Rosc.
DENGAN METODE MASERASI**

**DETERMINATION OF THE OPTIMUM PARAMETERS IN THE
PROSES OF SECONDARY METABOLITES EXTRACTION OF
Curcuma zedoaria Rosc. RHIZOME CONDUCTED BY MACERATION**

SKRIPSI

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

ELMA PEBRYNA PUTRI

N011 17 1523

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

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI
METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG *Curcuma zedoaria* Rosc.
DENGAN METODE MASERASI**

ELMA PEBRYNA PUTRI

N011 17 1523

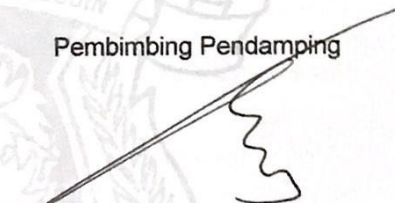
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Pendamping



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

Pada tanggal 13 Juli 2021

LEMBAR PENGESAHAN

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES EKSTRAKSI
METABOLIT SEKUNDER PADA RIMPANG *Curcuma zedoaria* Rosc.
DENGAN METODE MASERASI**

**DETERMINATION OF THE OPTIMUM PARAMETERS IN THE PROSES
OF SECONDARY METABOLITES EXTRACTION OF
Curcuma zedoaria Rosc. RHIZOME CONDUCTED BY MACERATION**

Disusun dan diajukan oleh:

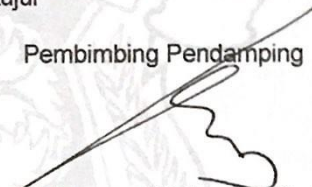
**ELMA PEBRYNA PUTRI
N011 17 1523**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas
Hasanuddin
pada tanggal **23** Juni 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



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

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Elma Pebryna Putri
Nim : N011 17 1523
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul Penentuan Parameter Optimum Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder Pada Rimpang *Curcuma Zedoaria* Rosc. Dengan Metode Maserasi adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 13 Juli 2021

Yang menyatakan,



Elma Pebryna Putri

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah. Dengan mengucapkan Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi Program S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Selama proses penyusunan skripsi ini, penulis mengalami kendala maupun hambatan akan tetapi berkat dorongan, saran dan motivasi serta semangat yang tak pernah henti-hentinya diberikan dari beberapa pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah dengan rendah hati meluangkan waktu, tenaga, bimbingan arahan serta motivasi dalam penulisan skripsi ini.
2. Ibu Sumarheni, S.Si., M.sc.,Apt. dan Ibu Ermina, S.Si., M.Si. . selaku penguji yang telah berbaik hati memberikan saran dan masukan dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Dekan dan para Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin serta seluruh staf dan pegawai atas motivasi, ilmu serta fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga dapat menyelesaikan penelitian ini.

4. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan masukan, arahan positif serta motivasi kepada penulis selama menempuh studi di Fakultas Farmasi
5. Sahabat – sahabat penulis, Shafa Haura Suharto, Asma Aris, Andi Nur Aulia El Firman, Andi Dalauleng, Aisyah Andiani, Adelia Dwi Dayanti, Aprilia Holy Ta'bi, Andi Nurul Agustiani, Nurul Alfira, Rusmainnah, Chindy Claudia A, Nuramalia Ramadhani, Andi Nailil A, Islamiaty Burhanuddin, Cahya Ninghrum, Putri Alifyani, Andi Ade Lestari, Nurhalisa Amalia A, Khusnul Inayah, dan Nurhafidah.
6. Teman seperjuangan penelitian Optimasi Proses Ekstraksi, Adelia dwi Dayanti, Rika Hardiana, Dan Aqidatul Cahya.
7. CLOSTRIDIUM, selaku teman seperjuangan Angkatan 2017 selama penulis menempuh studi di Farmasi. Terimakasih atas dukungannya dan pengalaman yang telah diberikan.
8. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat dituliskan satu persatu, saya mengucapkan terima kasih banyak.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Ahmad Zainuddin dan Ibunda Hj Hasnah. Terima kasih atas segala dukungan yang penuh cinta dan kasih sayang serta doa yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Begitupun dengan saudari penulis, adik saya satu-satunya, Abelia Ahmad terima kasih yang tak henti-hentinya memberikan semangat dari awal penyusunan skripsi sampai penyusunan skripsi ini

selesai, dan terima kasih banyak juga penulis ucapkan untuk Saudara Akmal yang selalu memotivasi, menyemangati, dan selalu mendengarkan curahan hati penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari beberapa pihak sehingga penulis dapat memperbaiki pada penelitian selanjutnya. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Terima kasih.

Makassar, 13 Juli 2021



Elma Pebryna Putri

ABSTRAK

ELMA PEBRYNA PUTRI. Penentuan Parameter Optimum Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder Pada Rimpang *Curcuma Zedoaria* Rosc. Dengan Metode Maserasi (dibimbing oleh Yuyu Mulsiani Evary dan Muhammad Raihan).

Curcuma zedoaria merupakan salah satu tanaman yang telah banyak digunakan sebagai obat tradisional. salah satu efek farmakologi dari tanaman ini adalah sebagai antiinflamasi, antikanker dan antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui parameter optimum dari rasio jumlah simplisia dan rasio pelarut serta waktu ekstraksi *C.zedoaria* dengan menggunakan *central composite design*. Parameter rasio simplisia dan pelarut yang di uji adalah (1:10, 1:20, dan 1:30) , sementara pada waktu ekstraksi dimulai dari (24, 48, dan 72) jam. Analisis parameter optimum didasarkan pada persentase rendamen dan konsentrasi kadar eugenol. Rendamen dihitung berdasarkan bobot simplisia yang diekstraksi sementara konsentrasi metabolit sekunder dihitung sebagai eugenol secara KLT densitometri. Hasil dari penelitian ini diperoleh persen rendamen yang paling optimum untuk parameter rasio jumlah simplisia dan pelarut berada diantara 1:30 dan 1:34, dengan waktu ekstraksi 30-70 jam. Konsentrasi eugenol dari ekstrak yang diuji untuk parameter rasio perbandingan simplisia dan pelarut optimum berada diantara 1:30 dan 1:34 dengan waktu ekstraksi 70-80 jam yang dianalisis dengan TLC scanner.

Kata kunci : *Curcuma zedoaria*, optimasi, senyawa metabolit sekunder, maserasi, *surface respon methodology*.

ABSTRACT

ELMA PEBRYNA PUTRI. Determination Of The Optimum Parameters In The Proses Of Secondary Metabolites Extraction Of *Curcuma Zedoaria* Rosc. Rhizome Conducted By Maceration (supervised by Yuyu Mulsiani Evary and Muhammad Raihan).

Curcuma zedoaria is a plant that has been widely used as traditional medicines. One of the pharmacological activities of this plant is anti-inflammatory, anti-cancer and antioksidant. This research was conducted to determine the optimum parameters of the ratio of the amount of sample to solvent ratio and extraction time of *C.zedoaria* using the *central composite design*. The parameters of the sample to solvent ratios tested were (1:10, 1:20, and 1:30), while the extraction time started from (24, 48, and 72 hours). The optimum parameter analysis was based on the percentage of yield. and the concentration of eugenol content. Yield was calculated based on the weight of the extracted simplicia while the concentration of secondary metabolites was calculated as eugenol by TLC densitometry. The result showed that parameters to obtain the optimum yield percentage of the extract was between 1:30-1:34 for the ratio of sample and solvent with extraction time 30-70 hours. The eugenol concentration of the extract tested for the optimum ratio of sample to solvent ratio parameters was between 1: 30 and 1: 34 with the extraction time of 70-80 hours analyzed by TLC scanner.

Keywords : *Curcuma zedoaria*, optimization, secondary metabolite compounds, maceration, surface response methodology.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Tanaman Rimpang Temu Putih <i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.	5
II.1.1 Taksonomi Tanaman	5
II.1.2 Morfologi Tanaman	5
II.1.3 Nama Daerah	6
II.1.4 Kandungan Kimia	6
II.1.5 Kegunaan Temu Putih	7
II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam	7
II.2.1 Definisi Ekstrak	7

	Halaman
II.2.2 Definisi Ekstraksi	7
II.2.3 Metode Maserasi	8
II.3 Kromatografi Lapis Tipis	9
II.3.1 Definisi Kromatografi Lapis Tipis	9
II.3.2 Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis	9
II.3.3 Fase Gerak Kromatografi Lapis Tipis	10
II.3.4 Penotolan Sampel	11
II.3.5 Pengembangan Kromatografi Lapis Tipis	12
II.3.6 Deteksi Bercak	13
II.3.7 Pemisahan Pada KLT	14
II.3.8 Densitometri	15
II.4 Metabolit Sekunder	15
II.5 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	16
BAB III METODE KERJA	17
III.1 Alat dan Bahan	17
III.2 Metode Kerja	17
III.2.1 Penyiapan Simplisia	17
III.2.2 Kontrol Kualitas Temu Putih	17
III.2.3 Optimasi Proses Ekstraksi	18
III.2.3.1 Penentuan Parameter Uji	18
III.2.3.2 Ekstraksi	19

	Halaman
III.2.3.3 Penentuan Bobot Ekstrak	19
III.2.3.4 KLT Densitometri	19
III.2.3.5 Analisis	20
III.2.3.6 Pembahasan	20
III.2.3.7 Kesimpulan	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
IV.1 Kontrol Kualitas Temu Putih	21
IV.2 Optimasi Berdasarkan Persen Rendamen dari Ekstrak <i>C.zedoaria</i>	22
IV.3 <i>Surface Response Analysis</i> Persen Rendamen dari Ekstrak <i>C.zedoaria</i>	23
IV.4 Optimasi Berdasarkan Konsentrasi Senyawa Eugenol dari Ekstrak <i>C.zedoaria</i>	25
IV.5 <i>Surface Response Analysis</i> luas area dan konsentrasi Senyawa eugenol dari Ekstrak <i>C.zedoaria</i>	28
BAB V PENUTUP	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Beberapa penjerap yang digunakan pada KLT	9
2. Parameter-parameter aplikasi atau penotolan yang direkomendasikan	12
3. Parameter uji untuk optimasi ekstraksi menggunakan maserasi	18
4. Bobot ekstrak dan rendamen hasil ekstraksi menggunakan maserasi	22
5. Luas area dan konsentrasi eugenol dari masing-masing ekstrak	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman rimpang temu putih	5
2. Cara pengembangan menaik	13
3. Cara pengembangan menurun	13
4. Profil KLT	21
5. <i>Pareto chart</i> rendamen hasil ekstraksi terhadap parameter uji	23
6. <i>Countour plot</i> rendamen hasil ekstraksi terhadap parameter uji	24
7. <i>Surface plot</i> rendamen hasil ekstraksi terhadap parameter uji	24
8. Profil KLT	26
9. Kurva regresi pembanding eugenol pada konsentrasi 10, 20, 40 dan 50 ppm	27
10. <i>Pareto chart</i> konsentrasi eugenol hasil ekstraksi terhadap parameter uji	28
11. <i>Countour plot</i> konsentrasi eugenol hasil ekstraksi terhadap parameter uji	29
12. <i>Surface plot</i> konsentrasi eugenol hasil ekstraksi terhadap parameter uji	30
13. Pencucian sampel temu putih	35
14. Pengeringan sampel temu putih	35

	Halaman
15. Penimbangan simplisia temu putih	35
16. Penggilingan simplisia temu putih	35
17. Ekstraksi simplisia dengan maserasi	35
18. Penyaringan hasil ekstraksi	35
19. Penguapan ekstrak cair menggunakan <i>rotary evaporator</i>	35
20. Penimbangan bobot ekstrak kental	35
21. Proses elusi lempeng KLT	36
22. Analisis lempeng KLT dengan alat <i>TLC scanner</i>	36
23. Penampakan lempeng KLT pada UV 254 nm	36
24. Penampakan lempeng KLT pada UV 366 nm	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	34
2. Gambar Penelitian	35
3. Perhitungan	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) merupakan suku Zingiberaceae (Anonim, 2017). Temu putih telah lama digunakan untuk pengobatan tradisional dan memiliki metabolit sekunder berupa terpenoid khususnya seskuiterpenoid, fenolik tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid (Azam, 2014; Intan Saridewi et al., 2018). Salah satu metabolit sekunder utama pada tanaman ini yaitu senyawa kurkuminoid yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol yang dapat digunakan sebagai antikanker, antipiretik dan sebagai pengobatan kolestrol (Intan Saridewi et al., 2018). Senyawa temu putih yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai anti kanker adalah α -curcumene yang mampu menghambat viabilitas sel sel SiHa >73% selama 48 jam inkubasi. α -curcumene dapat menghambat kanker melalui fragmentasi DNA nukleosomal, aktivasi sitokrom mitokondria C dan meningkatkan aktivitas caspase-3 secara *in vitro* sehingga meningkatkan apoptosis sel kanker, yang dapat menyebabkan kematian sel (Shin and Lee, 2013). Temu putih memiliki efek antipiretik dengan jalan menurunkan kadar prostaglandin karena dapat menghambat enzim siklooksigenase (Azam, 2014).

Tanaman temu putih mengandung senyawa eugenol dengan kadar sebesar 0.18% (Dita, 2014). Senyawa eugenol memiliki beberapa macam

aktivitas farmakologi diantaranya yaitu sebagai antiinflamasi, antimikroba, antiviral, antifungal, antiseptik, antipasmodik, stimulant, anestetik lokal sehingga senyawa ini banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi (Fauziyah, 2015). Adapun untuk senyawa fenolik menunjukkan bahwa kandungan total fenolik sebesar 4,50%, yang memiliki efek farmakologi yaitu antioksidan (Margeretha et al., 2012; Senet et al., 2017).

Salah satu metode yang digunakan pada proses ekstraksi adalah metode meserasi. Kelebihan dari metode ini adalah metode yang cukup sederhana dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrhani, 2016).

Faktor yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi meserasi adalah waktu untuk maserasi yang diberikan agar kontak antara pelarut dengan bahan yang akan diekstraksi memperbanyak jumlah bahan aktif yang terlarut (Chairunnisa et al., 2019). Waktu maserasi yang terlalu singkat dapat mengakibatkan tidak semua senyawa terekstraksi secara optimal, adapun faktor lain yaitu suhu dengan menggunakan suhu ruang memiliki kelemahan yaitu proses ekstraksi kurang sempurna yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna (Amelinda et al., 2018) adapun pengaruh pelarut menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah pelarut yang ditambahkan maka yield yang dihasilkan akan semakin banyak (Yulianingtyas and Kusmartono, 2016). Kerugian dari metode ini adalah memiliki waktu yang cukup lama (Susanty and Bachmid, 2016; Zhang et al., 2018). Namun hasil yang diperoleh dari metode ini tidak berbeda signifikan

dengan metode ekstraksi lainnya. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi yaitu maserasi untuk parameter rasio pelarut dan waktu dalam ekstraksi.

Pada metode maserasi beberapa faktor yang mempengaruhi adalah volume pelarut dan waktu ekstraksi untuk mendapatkan hasil yang optimal semakin banyak volume pelarut yang ditambahkan dan semakin lama waktu maserasi yang dilakukan maka senyawa yang terekstrak yang didapatkan semakin banyak, salah satu contoh penelitian optimasi yaitu optimasi proses pengambilan flavonoid dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimblil* L.) dicapai saat digunakan volume pelarut 250 mL yang dimaserasi selama 48 jam sehingga diperoleh flavonoid terekstrak sebanyak 72,31 mg (Yulianingtyas and Kusmartono, 2016).

Pada penelitian ini digunakan *Surface Response Analysis*. *Surface Response Analysis* merupakan metode yang bertujuan untuk mengumpulkan data statik, mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses yang dipengaruhi oleh beberapa faktor. Keunggulan metode ini adalah tidak memerlukan waktu yang lama (Nurmiah et al., 2013).

Berdasarkan data-data yang dilaporkan diatas, maka perlu dilakukan optimasi proses ekstraksi metabolit sekunder dari tanaman *C.Zedoaria* dengan penentuan parameter optimum proses ekstraksi metabolit sekunder pada rimpang *C.zedoaria* yang dilakukan secara maserasi dengan menggunakan *Surface Response Analysis*.

I.2 Rumusan masalah

Apakah parameter optimum pada proses ekstraksi metabolit sekunder pada rimpang *C.zedoaria* metode maserasi dalam meningkatkan rendamen dan kadar senyawa eugenol dalam ekstrak *C.zedoaria* ?

I.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan parameter optimum pada proses ekstraksi metabolit sekunder rimpang *C.zedoaria* metode meserasi dalam meningkatkan rendamen dan kadar senyawa eugenol dalam ekstrak *C.zedoaria*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman rimpang temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.)

II.1.1 Taksonomi Tanaman

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Spermatophyta	: Angiospermae
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Roscoe (Lianah, 2019).



Gambar 1. Tanaman Rimpang Temu Putih (Liana, 2019).

II.1.2 Morfologi tanaman

Di Indonesia, tanaman temu putih banyak tumbuh di Jawa Barat, Jawa Tengah, Sumatera, Irian hingga Ambon. Tanaman temu putih dapat tumbuh

liar di tempat-tempat terbuka dan ditanah yang lembab pada ketinggian mencapai 2 meter. Tanaman ini mirip dengan tanaman temulawak namun memiliki bentuk rimpang yang berbeda, batangnya berasal dari rimpangnya yang berbentuk pelepah-pelepah daun, daunnya tunggal dan tangkainya panjang. Helai daun membentuk bulat memanjang atau lanset, pertulangan menyirip, warna hijau, ujung serta pangkal runcing, dan sisi tulang daun terdapat pita berwarna merah gelap, panjangnya mencapai 25-70 cm dan lebar 8-15 cm. Bunganya keluar langsung dari rimpang, dengan panjang tandan 20-25 cm (Dalimartha, 2008).

II.1.3 Nama daerah

"Temu putih" berserat, Koneng bodas (Jawa). (Dalimartha, 2008).

II.1.4 Kandungan kimia

Kandungan senyawa minyak atsiri mencapai 1-2,5% dengan komposisi utama yaitu sesquiterpene. Minyak menguap tersebut antara lain *curzerenone* (*zedoarin*) yang merupakan komponen terbesar, *curcumin*, *pyrocurcuzerenone*, *curcuzerene*, *curcumemone*, *curcumol* (*curcumenol*), *isocurcumenol*, *procurcumenol*, *furanodienone*, *dehydrocurdione*, *isofuranodienone*, *curdione* dan *zederone*. Selain itu mengandung sulfur, gum, resin, tepung flavonoid dan sedikit lemak. *Curdion* dan *curcumol* berkhasiat untuk antikanker (Dalimartha, 2008).

II.1.5 Kegunaan temu putih

Beberapa senyawa *C.zedoaria* memiliki aktivitas anti kanker antara lain berupa α -curcumene, kemampuan α -curcumene untuk menghambat

kanker melalui fragmentasi DNA nukleosomal, Aktivasi sitokrom mitokondria C dan uji aktivitas caspase-3 in vitro ditunjukkan bahwa aktivasi caspases menyertai efek apoptosis α -curcumene, yang dapat menyebabkan kematian sel. Hasil ini menunjukkan bahwa efek apoptosis α -curcumene pada sel SiHa dapat terjadi aktivasi caspase-3 melalui pelepasan sitokrom C (Shin and Lee, 2013). Temu putih juga memiliki efek antipiretik dengan cara menurunkan kadar prostaglandin yang dapat menghambat enzim siklooksigenase (Azam, 2014).

II.2 Metode ekstraksi bahan alam

II.2.1 Defenisi ekstrak

Ekstrak merupakan suatu sediaan pekat diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut dan massa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 1979).

II.2.2 Defenisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk memisahkan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ketika telah mencapai kesetimbangan antara konsentrasi dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman maka proses ekstraksi dihentikan, setelah itu pelarut dari sampel dipisahkan dengan proses penyaringan dengan menggunakan alat yang telah ditentukan (Mukrhriani, 2016).

II.2.3 Metode maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara

memasukkan simplisia dan pelarut kedalam wadah yang sesuai dalam keadaan inert dan tertutup rapat pada suhu kamar (Mukhrhani, 2016). Proses ekstraksi ini dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman, lalu kemudian pelarut dipisahkan dari sampel dengan proses penyaringan. Keuntungan utama pada proses ekstraksi ini adalah menggunakan alat yang sederhana, dan penggunaan metode ini pada proses ekstraksi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Faktor-faktor yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi maserasi adalah salah satunya waktu, semakin banyak waktu yang digunakan selama proses ekstraksi maserasi antara pelarut dengan bahan yang akan diekstraksi akan memperbanyak jumlah bahan aktif yang terlarut (Chairunnisa et al., 2019). Waktu maserasi yang terlalu singkat dapat mengakibatkan tidak semua senyawa terekstraksi secara optimal, adapun faktor lain yaitu suhu, dengan menggunakan suhu ruang memiliki kelemahan yaitu proses ekstraksi kurang sempurna yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna (Amelinda et al., 2018). Kerugian dari metode ini adalah memiliki waktu yang cukup lama (Susanty and Bachmid, 2016; Zhang et al., 2018).

II.3 Kromatografi lapis tipis

II.3.1 Definisi kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu sampel yang terdistribusi dalam dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat

berupa padat, cairan yang diletakkan diatas padatan atau gel. Fase diam dapat dibuat dalam bentuk kolom, dan fase gerak dapat berupa gas atau cairan. (Dwiwarso, 2017).

II.3.2 Fase diam kromatografi lapis tipis

Fase diam yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja kromatografi lapis tipis dalam hal efisiensinya dan resolusinya (Rohman, 2007).

Tabel 1. Beberapa penjerap yang digunakan pada KLT

Penjerap	Mekanisme Sorpsi	Penggunaan
Silika gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, vitamin, alkaloid
Silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon	Partisi termodifikas	Senyawa senyawa nonpolar
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, karbohidrat
Alumina	Adsorpsi	Hidrokarbon, ion logam, pewarna makanan, alkaloid
Kieselguhr (tanah Diatomae)	Partisi	Gula, asam – asam lemak
Selulosa penukar ion	Pertukaran Ion	Asam nukleat, nukleotida, halida, dan ion - ion logam
Gel sephadex	Eksklusi	Polimer, protein, kompleks logam
B-siklodekstrin	Interaksi adsorpsi stereospesifik	Campuran enansiomer

Sumber : Rohman. Kimia Analisis Farmasi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 2007. Hal. 355

Lempeng KLT disiapkan dengan melapiskan penjerap ke permukaan lapisan kaca, gelas, atau alumunium dengan ketebalan 250 μm . Lempeng KLT telah tersedia di pasaran dengan berbagai ukuran dan telah di tambah dengan reagen *fluorosen* untuk memfasilitasi deteksi bercak solut. Di samping itu, lempeng KLT yang tersedia di pasaran sudah di tambah dengan agen pengikat seperti kalsium sulfat (Rohman, 2007).

II.3.4 Fase gerak kromatografi lapis tipis

Fase gerak kromatografi lapis tipis biasanya sistem yang paling sederhana yaitu mencampurkan dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak (Rohman, 2007).

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif
- b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga nilai R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
- c. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter kedalam pelarut nonpolar seperti metil benzen akan meningkatkan harga R_f secara signifikan.
- d. Solut-solut ionik dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran

pelarut sebagai fase geraknya. Seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau amonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut yang bersifat basa dan asam (Rohman, 2007).

II.3.5 Penotolan sampel

Penotolan pada kromatografi lapis tipis yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin. Sebagaimana dalam prosedur kromatografi yang lain. Jika sampel yang digunakan terlalu banyak maka akan menurunkan resolusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penotolan sampel secara otomatis lebih dipilih dari pada penotolan secara manual terutama jika sampel yang akan ditotolkan lebih dari 15 μm . Penotolan sampel yang tidak tepat akan menyebabkan bercak yang menyebar dan puncak ganda.berdasarkan pada tujuan analisis (Rohman, 2007).

Tabel 2. Parameter – parameter aplikasi atau penotolan yang direkomendasikan

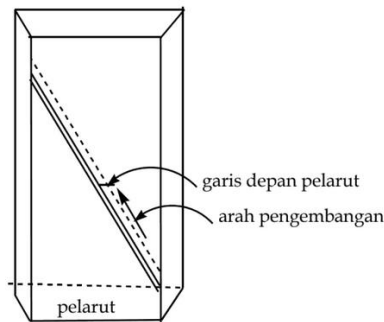
Tujuan Analisis	Diameter Bercak (mm)	Konsentrasi sampel	Banyaknya Sampel (μg)
Densitometri (kuantitatif)	2 mm untuk volume sampel 0,5 μL	0,02 – 0,2	0,1 – 1 (Untuk HPTLC) 1-10 (konvensional)
Identifikasi	3 mm untuk volume sampel 1 μL	0,1 – 1	1 – 20
Uji kemurnian	4 mm untuk volume sampel 2 μL	5	100

Sumber : Rohman. Kimia Analisis Farmasi . Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 2007. Hal. 360

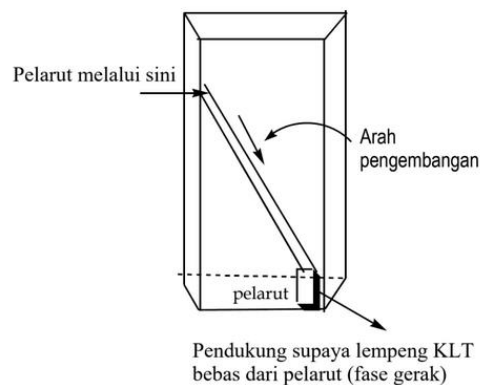
II.3.6 Pengembangan kromatografi lapis tipis

Bila sampel telah ditotolkan maka tahap selanjutnya adalah mengembangkan sampel tersebut dalam suatu bejana kromatografi yang sebelumnya telah dipenuhi dengan uap fase gerak tepi bagian bawah lempeng lapis tipis yang telah ditotol sampai dicelupkan kedalam fase gerak kurang lebih 0,5-1 cm tinggi fase gerak dalam bejana harus dibawah lempeng yang telah berisi totolan sampel. Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin volume fase gerak sedikit mungkin (akan tetapi harus mampu mengelusi lempeng sampai ketinggian lempeng yang telah ditentukan). Untuk melakukan penjenjuran fase gerak biasanya bejana dilapisi dengan kertas saring. maka dapat dikatakan fase gerak telah jenuh. Selama proses elusi, bejana kromatografi harus ditutup rapat. Misalkan dengan lembar aluminium dengan sebagainya. Ada beberapa teknik untuk melakukan pengembangan dalam kromatografi lapis tipis, yaitu pengembangan menaik (ascending) , selain dengan cara menaik dikenal pula dengan pengembangan menurun (descending) melingkar. Dan

mendatar. Meskipun demikian cara pengembangan menaik merupakan cara yang paling populer dibandingkan dengan cara yang lain.



Gambar 2. Cara Pengembangan Menaik. (Rohman, 2007)



Gambar 3. Cara Pengembangan Menurun. (Rohman, 2007)

II.3.7 Deteksi bercak

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Berikut beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mendeteksi bercak (Rohman, 2007) :

- a. Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang -

kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.

- b. Mengamati lempeng di bawah lampu ultraviolet yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Lempeng yang diperdagangkan dapat dibeli dalam bentuk lempeng yang sudah diberi dengan senyawa fluoresensi yang tidak larut yang dimasukkan ke dalam fase diam untuk memberikan dasar fluoresensi atau dapat pula dengan menyemprot lempeng dengan reagen fluoresensi setelah dilakukan pengembangan.
- c. Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat, lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut-solut organik yang akan tampak sebagai bercak hitam sampai kecokelat-cokelatan.
- d. Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam chamber tertutup.
- e. Melakukan *scanning* pada permukaan lempeng dengan densitometer, Suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng ketika disinari dengan lampu UV atau lampu sinar tampak. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*).

II.3.8 Pemisahan pada KLT

Pemisahan pada KLT umumnya dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut pada kromatografi ini

dikarakterisasi dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya.

II.3.9 Densitometri

Metode Densitometri memiliki kelebihan yaitu spesifikasi yang tinggi, hasil yang didapatkan dipercaya, dapat dilakukan dengan mudah serta cepat. KLT-densitometri merupakan metode analisis instrumental yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak pada kromatografi lapis tipis (Rohman, 2007). Dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), kuantitasi dengan KLT-densitometri mempunyai keuntungan yaitu KLT-densitometri memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih fase gerak, semua komponen dalam sampel dapat dideteksi (Rohman, 2007).

II.4 Metabolit sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh makhluk tumbuhan, mikrobia atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital. Dibidang farmasi secara khusus, metabolit sekunder digunakan dan dipelajari sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun (*lead compound*) untuk melakukan optimasi agar diperoleh senyawa yang lebih poten dengan toksisitas minimal. Senyawa ini disebut sebagai mikro molekul karena memiliki berat molekul 50-1500 kDa. (Saifuddin, 2014).

II.5 *Response Surface Methodology (RSM)*

Response surface methodology merupakan metode yang bertujuan untuk mengumpulkan data statik, mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses yang dipengaruhi oleh beberapa factor. Keunggulan metode ini adalah tidak memerlukan waktu yang lama (Nurmiah et al., 2013).