

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakterisasi Ekstrak Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

Rimpang temulawak yang digunakan diperoleh dari Gadut, Kabupaten Agam, Sumatera Barat. Identifikasi temulawak dilakukan di herbarium Universitas Andalas (ANDA), Departemen Biologi, FMIPA Universitas Andalas. Hasil dari identifikasi ini dapat dilihat pada **Lampiran 1.a**. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan metode maserasi ini tidak memerlukan proses pemanasan sehingga dapat menghindari terjadinya degradasi pada senyawa kurkumin yang terkandung dalam temulawak. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut pengekstraksi karena kurkumin adalah senyawa yang semipolar-nonpolar, sehingga etanol konsentrasi tinggi lebih baik dibandingkan etanol 70% (yang juga menarik senyawa flavonoid dan polisakarida) (36). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sugiandi dkk. (2021) yang menunjukkan bahwa kadar kurkumin tertinggi diperoleh pada konsentrasi etanol 96% dibanding etanol 70% (7).

Pemotongan rimpang temulawak sebesar 0,2-0,8 cm dilakukan untuk mempercepat pengeringan dan menjaga kualitas kandungan fitokimia dalam rimpang (74). Pada proses pengeringan, rimpang dikeringkan di dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari dan tidak lembab. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya degradasi dari senyawa yang terkandung dan agar tidak terjadi pertumbuhan jamur pada rimpang temulawak.

Penghalusan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan kontak antara sampel dengan pelarut, sehingga proses penarikan senyawa aktif menjadi lebih maksimal (75). Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu yang terkontrol agar tidak terjadi degradasi kurkumin yang ada pada ekstrak (25). Proses penguapan ini dilakukan hingga seluruh pelarut menguap sepenuhnya, sehingga diperoleh ekstrak kental temulawak untuk proses selanjutnya.

Tabel 4.1. Standardisasi ekstrak temulawak

Mutu	Hasil	Standar Mutu Ekstrak (18).
Organoleptis	Ekstrak kental, warna kecoklatan, bau khas, rasa agak pahit	Ekstrak kental, warna kuning kecoklatan, bau khas, rasa pahit
Rendemen (%)	15,105	Tidak kurang dari 18,0%
Kadar Air (%)	1,50±0,00	Tidak lebih dari 10%
Kadar Abu Total (%)	0,56±0,09	Tidak lebih dari 7,8%
Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	0,39±0,15	Tidak lebih dari 1,6%

Tabel 4.1, menunjukkan hasil standardisasi ekstrak temulawak melalui pengujian organoleptik, rendemen, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam. Tujuan standardisasi adalah untuk menjamin konsistensi mutu suatu ekstrak dan memenuhi persyaratan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) jika akan dikembangkan menjadi obat herbal terstandar atau fitofarmaka. Untuk data yang lebih lengkap mengenai standardisasi ekstrak dapat dilihat pada **Lampiran 2.a** dan untuk perhitungannya dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh berbentuk kental, berwarna kecoklatan, memiliki bau khas temulawak, dan rasanya agak pahit. Hasil ini telah sesuai dengan pedoman Farmakope Herbal Indonesia untuk standar mutu ekstrak temulawak, yaitu ekstrak kental, berwarna kuning kecoklatan, berbau khas, dan memiliki rasa pahit. Warna dan bau khas tersebut dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif seperti kurkuminoid dan minyak atsiri yang terdapat dalam rimpang temulawak (19).

Nilai rendemen yang diperoleh sebesar 15,105% belum memenuhi persyaratan standar, yaitu tidak kurang dari 18,0%. Rendemen menunjukkan jumlah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi terhadap bobot simplisia. Perbedaan nilai rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain kualitas bahan baku simplisia, ukuran partikel, metode ekstraksi, jenis pelarut, perbandingan

pelarut dengan simplisia, suhu, serta lama ekstraksi. Simplisia temulawak yang digunakan kemungkinan memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih rendah akibat faktor umur panen, kondisi lingkungan tumbuh, jenis tanah, iklim, maupun proses pascapanen dan penyimpanan. Pada penelitian Aryantini dkk (2024), dengan perlakuan ekstraksi yang sama diperoleh beberapa rendemen untuk variasi ekstrak temulawak berdasarkan tempat tumbuhnya yaitu 13,33-19,44%. Hal ini membuktikan bahwa tempat tumbuh suatu tanaman sangat mempengaruhi jumlah rendemen yang akan diperoleh (21). Selain itu, kemungkinan kehilangan ekstrak selama proses filtrasi, pemindahan, dan penguapan pelarut juga dapat menyebabkan penurunan bobot ekstrak akhir yang diperoleh (76).

Hasil kadar air yang diperoleh sebesar 1,50% telah memenuhi persyaratan karena berada di bawah batas maksimum yaitu 10%. Kadar air yang rendah menunjukkan bahwa proses pengeringan ekstrak berlangsung sangat efektif sehingga hampir seluruh kandungan air dan pelarut telah teruapkan. Kondisi ini menyebabkan bobot akhir ekstrak menjadi lebih kecil, yang secara langsung menurunkan nilai rendemen. Selain itu juga dapat dinyatakan bahwa ekstrak memiliki stabilitas yang baik dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme selama penyimpanan (7).

Kadar abu total yang diperoleh sebesar 0,56% juga memenuhi persyaratan menurut FHI yaitu tidak lebih dari 7,8% (18). Kadar abu total ini digunakan sebagai indikator kandungan mineral internal (fisiologis) dan eksternal (non-fisiologis) yang tersisa setelah pemijaran. Sedangkan, untuk kadar abu tidak larut asam diperoleh sebesar 0,39% yang juga memenuhi persyaratan FHI yaitu tidak lebih 1,6%. Hasil ini menunjukkan bahwa zat anorganik yang terkandung dalam ekstrak temulawak tidak banyak dan masih memenuhi rentang persyaratan. Hal yang dapat mempengaruhi hasil kadar abu total dan abu tidak larut asam ini salah satunya yaitu pada proses pengeringan (77). Untuk proses ini digunakan metode pengeringan terlindung dari sinar matahari langsung yang diletakkan di dalam ruangan, sehingga meminimalkan pengotor yang bersifat anorganik dapat melekat pada sampel.

Berdasarkan hasil identifikasi yang diperoleh dengan metode KLT menggunakan fase gerak n-heksana:etil asetat (4;6), ekstrak rimpang *Curcuma xanthorrhiza* memperlihatkan adanya bercak kuning dengan nilai R_f sekitar 0,54.

Nilai tersebut masih pada rentang yang baik untuk pemisahan senyawa dengan menggunakan KLT, sehingga menunjukkan bahwa senyawa yang terdeteksi memiliki mobilitas yang bagus dan tidak terlalu tertahan ataupun terlalu cepat terelusi dengan fase gerak (13). Nilai R_f yang didapatkan pada sampel sama dengan nilai R_f standar kurkumin dengan komposisi dan rasio fase gerak yang sama, dan juga bercak yang dihasilkan berwarna kuning cerah yang dapat diamati pada sinar UV 366 nm. Hal ini mengindikasikan juga bahwa senyawa yang terdeteksi dalam ekstrak itu ialah kurkumin (78).

4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kurkumin

Penentuan panjang gelombang maksimum merupakan salah satu bagian yang penting dalam analisis kimia. Hal ini dikarenakan metode densitometri didasarkan pada pengukuran densitas dalam rentang panjang gelombang maksimum dari senyawa yang dianalisis. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan larutan standar berkonsentrasi 20 µg/mL dalam pelarut metanol, yang kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil puncak yang diperoleh dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.

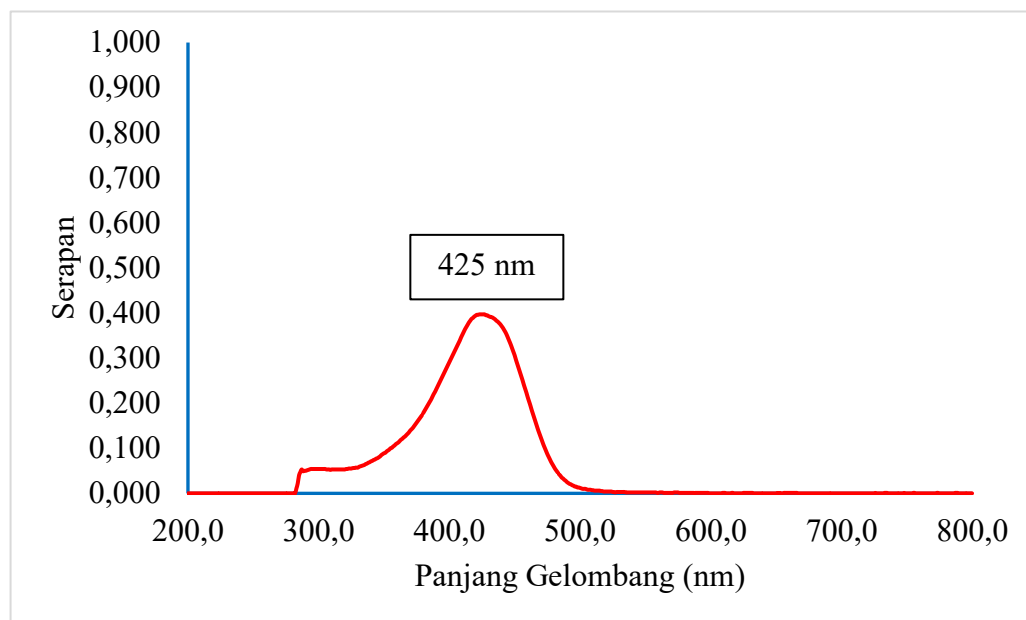
Penggunaan metanol p.a sebagai pelarut dalam analisis spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada karakteristik optik yang sangat baik. Metanol memiliki batas nilai serapan yang rendah pada daerah ultraviolet, yaitu pada panjang gelombang sekitar 205 nm. Karakteristik tersebut memastikan bahwa pelarut tidak akan ikut menyerap cahaya ataupun menghasilkan serapan latar belakang yang mengganggu spektrum serapan kurkumin pada daerah *visible*. Selain itu, tingkat kemurnian metanol yang tinggi menjamin pelarut bebas dari pengotor organik maupun sisa air. Hal ini sangat penting untuk menjaga kestabilan spektrum absorpsi kurkumin serta mencegah terjadinya pergeseran panjang gelombang maksimum saat proses pemindaian (79).

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Berdasarkan hasil yang diperoleh, panjang gelombang maksimum untuk kurkumin yaitu 425 nm sementara data analisis dari *Certificate of Analysis* (CoA) dari FitoPure (**Lampiran 1.b**) yaitu sebesar 422,50 nm. Perbedaan ini dapat terjadi dikarenakan beberapa faktor, seperti pengaruh kondisi lingkungan saat pengukuran,

pH pelarut, kemurnian pelarut dan perbedaan spesifikasi instrumen spektrofotometer UV-Vis yang digunakan.

Tabel 4.2. Panjang gelombang maksimum standar kurkumin

Panjang Gelombang (nm)	Serapan
425	0,397



Gambar 4.1. Panjang gelombang maksimum kurkumin standar 20 µg/mL dalam pelarut metanol

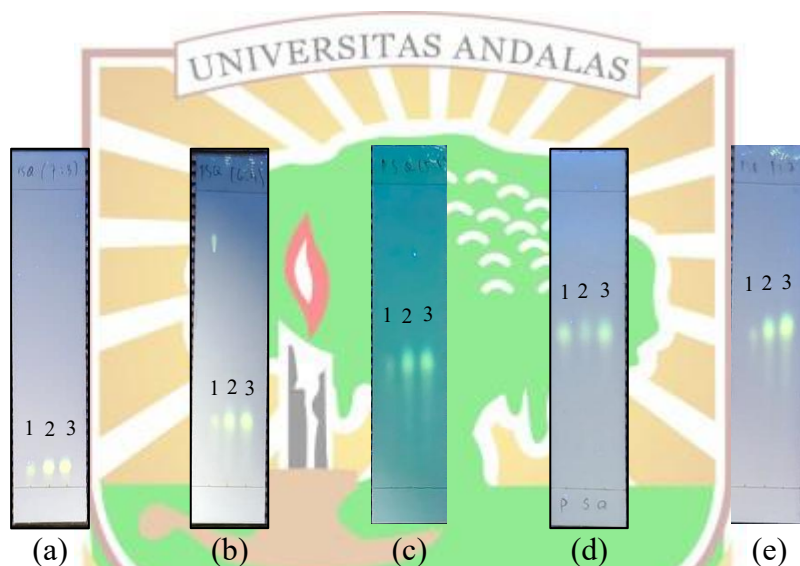


Panjang gelombang maksimum digunakan dalam analisis kuantitatif dengan tujuan untuk sensitivitas yang maksimum, meningkatkan akurasi metode, selektivitas lebih baik, optimasi *signal to noise ratio* dan memperoleh kurva kalibrasi yang linier (79).

4.3 Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak bertujuan untuk mendapatkan sistem fase gerak yang mampu memisahkan komponen dalam sampel secara optimal. Tahapan optimasi dilakukan melalui evaluasi kualitatif dan kuantitatif dengan metode KLT-densitometri. Pada uji kualitatif, pemisahan senyawa diamati secara visual

berdasarkan nilai R_f , dengan kisaran nilai yang dinilai ideal berada antara 0,2 sampai 0,8. Sementara itu, evaluasi kuantitatif dilakukan menggunakan densitometer untuk memperoleh parameter kromatografi, antara lain nilai R_f , resolusi (R_s), faktor asimetri (T_f), jumlah plat teoritis (N), serta jarak setara plat teoritis (JSPT) (80). Optimasi fase gerak dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi perbandingan komponen fase gerak n-heksan:etil asetat, yaitu (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), dan (3:7). Dari hasil ini, diperoleh bahwa fase gerak n-heksan:etil asetat (4:6) menghasilkan nilai uji kesesuaian sistem yang paling optimal dibandingkan perbandingan lainnya.



Gambar 4.2. Profil KLT kurkumin pada berbagai perbandingan fase gerak dengan 3 kali penotolan, yaitu (1) standar kurkumin, (2) ekstrak temulawak, (3) standar dan ekstrak

Keterangan: (a). n-heksan : etil asetat (7:3),
 (b). n-heksan : etil asetat (6:4),
 (c). n-heksan : etil asetat (5:5),
 (d). n-heksan : etil asetat (4:6),
 (e). n-heksan : etil asetat (3:7).

Berdasarkan pengamatan visual plat KLT pada **Gambar 4.2**, terlihat bahwa variasi komposisi fase gerak memberikan perbedaan terhadap pola pemisahan bercak. Nilai R_f kurkumin meningkat ketika komposisi fase gerak berubah dari nonpolar menjadi lebih polar, yaitu saat rasio heksana : etil asetat bergeser dari 7:3 ke 3:7. Penyebab utamanya terkait keseimbangan interaksi antara fase diam, fase

gerak, dan sifat senyawa. Semakin tinggi kandungan etil asetat maka fase gerak semakin polar, interaksi kurkumin dengan silika semakin lemah sehingga mendorong migrasi bercak semakin jauh yang menghasilkan nilai R_f lebih besar.

Pada perbandingan n-heksan:etil asetat (4:6), bercak tampak paling jelas dengan bentuk yang relatif tajam dan tidak mengalami penyebaran berlebih, sehingga menunjukkan pemisahan yang lebih baik dibandingkan variasi fase gerak lainnya. Oleh karena itu, berdasarkan pengamatan kualitatif pada plat KLT, perbandingan fase gerak n-heksan:etil asetat (4:6) dipilih sebagai kondisi yang memberikan hasil pemisahan yang optimal.

Tabel 4.3. Uji kesesuaian sistem fase gerak

Perbandingan	Parameter				
	R_f	R_s	T_f	N	JSPT
	0,2-0,8	>1	1	>2000	<<<<<<
Heksan:etil asetat (7:3)	0,06	2,00	1,00	1024,00	0,0078125
Heksan:etil asetat (6:4)	0,23	9,67	1,20	4476,83	0,00178698
Heksan:etil asetat (5:5)	0,41	5,34	1,25	21251,16	0,00037645
Heksan:etil asetat (4:6)	0,54	9,82	1,20	24677,55	0,000324181
Heksan:etil asetat (3:7)	0,51	1,52	1,25	32881,78	0,000243296

Berdasarkan hasil optimasi yang diperoleh pada **Tabel 4.3** dan **Gambar 4.2**, pemilihan fase gerak dilakukan dengan mempertimbangkan beberapa parameter kesesuaian sistem, yaitu nilai R_f , resolusi (R_s), faktor asimetri (T_f) dan jumlah plat teoritis (N), jumlah setara plat teoritis (JSPT) yang digunakan untuk mengevaluasi kualitas pemisahan pada metode KLT-densitometri. Untuk hasil densitogram yang diperoleh dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Nilai R_f menunjukkan tingkat migrasi senyawa pada fase diam. Untuk hasil R_f yang ideal diperoleh pada perbandingan fase gerak (4:6) yaitu 0,54. Sedangkan nilai R_f untuk fase gerak standar FHI (5:5) diperoleh sebesar 0,41. Kedua nilai

tersebut telah memenuhi persyaratan rentang R_f yang ideal, yaitu 0,2 hingga 0,8 (80). Perbedaan nilai R_f yang diperoleh antar perbandingan ini dapat dipengaruhi oleh tingkat kepolaran fase gerak. Peningkatan etil asetat pada perbandingan (4:6) meningkatkan kekuatan elusi sistem, sehingga mampu memberikan gaya dorong lebih besar terhadap analit untuk bermigrasi. Sebaliknya, peningkatan n-heksan pada perbandingan (7:3) memberikan kekuatan elusi yang rendah, sehingga senyawa tetap tertahan di garis awal dan menghasilkan R_f yang kecil. Meskipun perbandingan (5:5) sudah memberikan nilai R_f yang baik, perbandingan (4:6) menunjukkan pemisahan yang lebih ideal pada bagian tengah plat. Hal ini yang memberikan ruang pemisahan yang lebih stabil terhadap gangguan selama proses elusi (81).

Resolusi (R_s) digunakan untuk melihat kemampuan sistem dalam memisahkan antar komponen di dalam sampel. Pada perbandingan (4:6), nilai R_s tidak dapat dihitung secara matematis karena menghasilkan satu puncak kromatogram. Secara teoritis, perhitungan nilai R_s membutuhkan dua puncak senyawa yang saling berdekatan dalam satu jalur elusi untuk dihitung jarak pemisahannya. Solusi untuk mengatasi tidak diperolehnya nilai R_s ini ialah menggunakan metode penambahan *internal standar*. Hal ini dilakukan untuk memunculkan puncak kedua pada kromatogram, sehingga efisiensi daya pemisahan sistem fase gerak tetap dapat dihitung secara matematis (81,82).

Faktor asimetri (T_f) menunjukkan bentuk puncak kromatogram, di mana nilai yang mendekati 1 menunjukkan puncak yang simetris. Pada penelitian ini, nilai T_f pada perbandingan (4:6) yaitu 1,2 yang mana lebih mendekati 1 dibandingkan dengan perbandingan dari standar FHI (5:5) yaitu 1,25. Hal ini menunjukkan bahwa perbandingan (4:6) menghasilkan bentuk puncak yang lebih baik dibanding (5:5). Nilai T_f yang tidak mencapai angka 1 (simetris) disebabkan oleh adanya sedikit *tailing* pada puncak yang dihasilkan. Hal ini dipengaruhi oleh gugus hidroksil yang dimiliki oleh kurkumin cenderung membentuk ikatan hidrogen dengan gugus silanol pada plat silika. Sehingga, sebagian molekul tertahan lebih lama dan menyebabkan puncak berekor (81).

Jumlah plat teoritis (N) merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan efisiensi sistem kromatografi dalam memisahkan komponen. Nilai N

yang semakin besar menunjukkan bahwa proses pemisahan berlangsung lebih baik karena terjadi distribusi kesetimbangan yang lebih optimal antara fase diam dan fase gerak (56). Pada penelitian ini, perbandingan (6:4) dan (3:7) menghasilkan nilai paling tinggi diantara yang lainnya. Namun, alasan tidak digunakannya kedua perbandingan ini karena memiliki kekurangan pada parameter uji kesesuaian sistem lainnya. Perbandingan (6:4) memiliki nilai R_f yang rendah bahkan mendekati batas minimum dari nilai ideal R_f , sehingga kurang ideal digunakan untuk KLT. Sedangkan perbandingan (3:7), nilai T_f yang dihasilkan lebih besar daripada perbandingan (4:6), di mana nilai T_f yang ideal ialah 1 atau mendekati 1.

Selain itu, jumlah setara plat teoritis (JSPT) digunakan untuk menggambarkan efisiensi sistem terhadap panjang lintasan pemisahan. Nilai JSPT yang lebih kecil menunjukkan efisiensi pemisahan yang lebih baik. Pada penelitian ini, perbandingan (4:6) memberikan nilai JSPT yang tergolong kecil, sehingga menunjukkan bahwa sistem memiliki kinerja pemisahan yang lebih optimal (57).

Metode KLT yang telah dioptimasi ini menunjukkan hasil data yang baik jika dibandingkan dengan metode KLT pada penelitian sebelumnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, penggunaan fase gerak n-heksana:etil asetat (4:6) menghasilkan nilai R_f sangat ideal dan berada di tengah plat (0,54) yang disebabkan oleh tingkat kepolaran yang sesuai antara kombinasi fase gerak yang digunakan dengan sifat senyawa kurkumin (81). Angka ini jauh lebih optimal dibandingkan metode KLT Saputri dkk (2022) dengan fase gerak diklorometana:kloroform (4:6) menghasilkan nilai R_f yang rendah yaitu 0,26, maupun metode Wahyuni dkk (2018) dengan fase gerak diklorometana:metanol (97:3) menghasilkan R_f yang tinggi yaitu 0,81 (19,22).

Selain itu, terdapat juga perbedaan pada profil kromatogram yang diperoleh. Pada penelitian Saputri dkk (2022) dan Wahyuni dkk (2018), penggunaan kombinasi fase gerak yang berbeda mampu memisahkan tiga puncak komponen kurkuminoid sekaligus, yaitu kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin. Sementara itu, fase gerak hasil optimasi n-heksana:etil asetat (4:6) pada penelitian ini hanya mampu memunculkan satu puncak tunggal kurkumin. Hal ini menyimpulkan bahwa komposisi fase gerak yang dioptimasi memiliki keterbatasan daya pisah sehingga belum mampu memisahkan komponen

kurkuminoid minor lainnya yang memiliki kemiripan struktur dan sifat kepolaran yang berdekatan.

4.4 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan langkah yang penting untuk menjamin bahwa metode KLT-densitometri yang digunakan memiliki kemampuan yang memadai untuk penetapan kadar kurkumin. Validasi yang akan dilakukan meliputi, linearitas, *LOD*, *LOQ*, presisi, dan akurasi. Hasil yang diperoleh nantinya akan digunakan untuk menilai kemampuan metode agar dapat menghasilkan data yang akurat, presisi dan sesuai.

Uji linearitas dilakukan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi kurkumin dengan respon yang dihasilkan alat berupa luas area (AUC). Semakin besar konsentrasi maka semakin besar nilai AUC yang menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan respon yang dihasilkan. Berdasarkan data yang tertera pada **Tabel 4.4**, nilai koefisien korelasi yang diperoleh telah memenuhi persyaratan linearitas, yaitu $\geq 0,999$, yang membuktikan bahwa metode yang digunakan memiliki hubungan linear yang erat antara konsentrasi dengan respon luas area (66).

Tabel 4.4. Koefisien korelasi kurkumin

Senyawa	r (koefisien korelasi)	Persamaan Regresi
Kurkumin	0,9991	$y = 39,873x - 466,09$

Penentuan *LOD* dan *LOQ* dilakukan untuk melihat sensitivitas metode dalam mendeteksi dan mengukur kurkumin pada konsentrasi rendah. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 4.5**, nilai *LOD* menunjukkan bahwa metode masih mampu mendeteksi keberadaan kurkumin pada konsentrasi tersebut, namun nilai ini saja belum cukup digunakan untuk penetapan kadar secara kuantitatif (66,83). Sementara itu, nilai *LOQ* yang diperoleh menunjukkan bahwa batas konsentrasi terendah masih dapat diukur dengan ketelitian dan ketepatan yang dapat diterima. Jika dibandingkan dengan kurva kalibrasi, nilai *LOQ* masih berada di bawah

konsentrasi terendah yang digunakan, sehingga dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan memiliki sensitivitas yang baik untuk analisis kurkumin (66).

Tabel 4.5. Nilai *LOD* dan *LOQ* kurkumin

Senyawa	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	<i>LOD</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>LOQ</i> ($\mu\text{g/mL}$)
Kurkumin	100-500	22,46	74,86

Pemilihan rentang konsentrasi 100-500 $\mu\text{g/mL}$ didasarkan pada perkiraan kadar target senyawa aktif di dalam sediaan, batas kuantitasi instrumen, serta kapasitas fase diam plat KLT. Penggunaan ekstrak temulawak sebesar 10 mg per sediaan ODF yang dipreparasi menjadi larutan uji 1000 $\mu\text{g/mL}$ diperkirakan akan menghasilkan kadar kurkumin yang berada di area tengah kurva kalibrasi. Hal ini didasarkan dari penelitian terdahulu yang menggunakan etanol 96% dalam proses maserasi, di mana kadar kurkumin yang diperoleh jauh lebih tinggi dan efisien (11-18%) dibandingkan dengan FHI yang menggunakan etanol 70% ($\geq 6,70\%$). Hal ini telah terbukti setelah dilakukan pengujian, yang mana kadar ekstrak diperoleh sebesar 24,51% (konsentrasi 245,12 $\mu\text{g/mL}$) dan ODF sebesar 23,79% (konsentrasi 237,93 $\mu\text{g/mL}$). Nilai untuk rentang batas bawah sengaja ditetapkan di atas nilai *LOQ* guna menjamin bahwa seluruh titik konsentrasi berada dalam area pembacaan instrumen yang valid dan memiliki keterulangan respons yang stabil. Sementara itu, batas atas sebesar 500 $\mu\text{g/mL}$ dipilih untuk menghindari terjadinya kejenuhan muatan (*overloading*) pada plat KLT (21).

Tabel 4.6. Nilai presisi *intraday* dan *interday*

Senyawa	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% RSD	
		<i>Intraday</i> (%)	<i>Interday</i> (%)
Kurkumin	500	1,21 $\pm$ 5,99	1,45 $\pm$ 7,20

Selanjutnya, uji presisi dilakukan untuk mengetahui keterulangan dari hasil pengukuran yang diperoleh dan dinyatakan dalam bentuk persen simpangan baku relatif (%RSD). Berdasarkan hasil yang tertera pada **Tabel 4.6**, nilai %RSD presisi *intraday* sebesar 1,21%, sedangkan presisi *interday* sebesar 1,45%. Hal ini telah memenuhi persyaratan karena nilai yang diperoleh masih berada di bawah 2%, sehingga menunjukkan bahwa metode menghasilkan keterulangan dan konsistensi hasil yang cukup baik (66).

Pengujian presisi dilakukan dengan cara enam kali pengulangan pada satu konsentrasi. Jumlah pengulangan ini digunakan untuk memberikan hasil yang lebih tepat terhadap variasi pada saat pengukuran, sehingga dapat menggambarkan presisi metode secara jelas. Selain itu, hal ini juga bertujuan untuk meningkatkan konsistensi hasil pengukuran data dan meminimalkan pengaruh kesalahan acak selama proses analisis (66).

Tabel 4.7. Nilai perolehan kembali kurkumin dalam ekstrak dan sediaan ODF rimpang Temulawak

Senyawa	Sediaan	%Adisi	%Recovery
Kurkumin	Ekstrak	80	100,51
		100	103,82
		120	110,08
Kurkumin	ODF	80	100,99
		100	103,22
		120	111,36

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui kedekatan hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya dan dinyatakan dalam bentuk persen perolehan kembali (%recovery). Umumnya, rentang nilai %recovery yang dapat diterima berkisar 85-110%. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 4.7**, masih terdapat beberapa nilai yang lebih dari 110%, yang menunjukkan adanya kecenderungan overestimasi kadar analit. Menurut pedoman AOAC Internasional (2012), nilai *recovery* yang lebih dari 100% masih dapat terjadi sebagai bagian dari variasi analitik yang

normal, namun apabila nilai melebihi dari 110% akan mengindikasikan perlunya evaluasi terhadap proses analisis, seperti pemisahan yang mungkin belum optimal (84).

Nilai *recovery* yang relatif tinggi ini kemungkinan dipengaruhi oleh karakteristik metode KLT yang melibatkan banyaknya tahapan manual. Faktor-faktor seperti proses penotolan, penjuanan fase gerak, serta pemindaian densitometri dapat memengaruhi variasi respon analitik. Selain itu, interaksi selama proses pemisahan juga dapat meningkatkan sinyal yang akan terukur oleh alat (85). Untuk melihat ringkasan dari keseluruhan parameter validasi, dapat dilihat pada **Tabel 4.10**.

Bila dibandingkan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dilakukan oleh Choliq dkk (2024), metode KLT-Densitometri menghasilkan data linearitas yang lebih tinggi dibuktikan dengan perolehan nilai koefisien korelasi (r). Pada metode KLT-Densitometri diperoleh $r=0,9991$, sedangkan metode KCKT hanya menghasilkan $r=0,9975$. Keseluruhan hasil pengujian parameter validasi ini membuktikan bahwa meskipun menggunakan metode yang lebih sederhana, KLT-Densitometri yang telah dioptimasi tetap memiliki performa data yang linear, sensitif, serta valid untuk penjaminan mutu kadar kurkumin (10).

4.5 Formulasi dan Evaluasi Sediaan *Orally Disintegrating Film* (ODF) Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak

Formulasi *orally disintegrating film* (ODF) ini dibuat dengan metode *solvent casting*. Metode ini digunakan karena dapat menghasilkan film yang homogen, sebaran zat aktif yang lebih merata, dan juga cocok untuk bahan aktif seperti ekstrak temulawak yang mengandung kurkumin dan bersifat sensitif terhadap cahaya. Dengan menggunakan metode ini, proses pembuatan tidak akan melibatkan paparan suhu tinggi dan cahaya yang berlebihan sehingga membantu menjaga kestabilan zat aktif. Selain itu, selama proses pengeringan, cawan petri ditutup menggunakan *aluminium foil* yang sudah dilubangi untuk mengurangi paparan cahaya dan udara berlebihan yang dapat mempercepat degradasi senyawa aktif (86). Eksipien yang digunakan dalam formula ini ialah, HPMC K4M

(Lampiran 1.c), PEG 400 (Lampiran 1.d), Tween 80, amilum, natrium benzoat, dan steviosida (Lampiran 1.e).

Formulasi awal yang digunakan mengacu pada penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu HPMC sebagai polimer pembentuk film, PEG 400 sebagai plastisizer, stevia sebagai pemanis, dan natrium benzoat sebagai pengawet. HPMC dipilih karena ia mampu membentuk lapisan film yang fleksibel dan cukup kuat setelah air pada formula diuapkan. Pada saat pengerjaan, HPMC akan dikembangkan dengan teknik panas dingin agar lebih mudah terdispersi dan tidak menggumpal. Namun, HPMC membutuhkan waktu semalaman untuk terhidrasi sempurna dan mengurangi jumlah gelembung yang terbentuk, sehingga menghasilkan larutan yang homogen sebelum proses pencetakan.

Pada formula ini dilakukan beberapa modifikasi karena ditemukan masalah homogenitas pada ODF yang dihasilkan, disebabkan kandungan xanthorrhizol dalam ekstrak temulawak yang berupa minyak atsiri. Untuk mengatasi hal tersebut, ditambahkan Tween 80 yang berfungsi sebagai surfaktan untuk mendispersikan xanthorrhizol tersebut (87,88). Selain itu, amilum juga ditambahkan pada formula sebagai adsorben untuk membantu penyerapan xanthorrhizol sehingga terdispersi lebih homogen. Amilum juga dapat membantu meningkatkan kekentalan campuran sehingga distribusi ekstrak temulawak menjadi lebih baik (89).

Selain itu, konsentrasi HPMC yang digunakan ditingkatkan dari formula sebelumnya milik Febriyenti dkk (2025) dan Admiral (2024), dikarenakan jumlahnya belum cukup untuk mempertahankan sistem yang sudah mengandung komponen minyak dari ekstrak (61,67). Dengan peningkatan konsentrasi ini, pre-gel akan menjadi lebih kental dan kemampuan menahan komponen aktif dalam film juga menjadi lebih baik (90). Kemudian, konsentrasi PEG 400 dikurangi karena apabila terlalu banyak akan dapat menyebabkan film menjadi terlalu lembek dan waktu pengeringan membentuk ODF menjadi lebih lama (91).

Tabel 4.8. Hasil evaluasi pre-gel sediaan ODF ekstrak temulawak

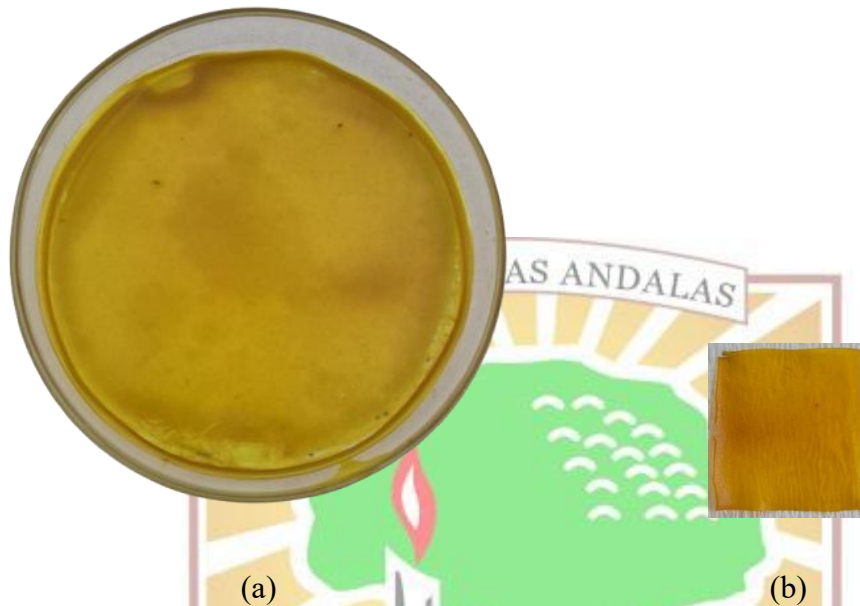
No	Uji Evaluasi	Hasil	Persyaratan
1.	pH Pre-gel	4,83±0,05	6,2 -7,6 (73).
2.	Organoleptis ODF	Homogen, berwarna kuning-jingga, rasa manis sedikit pedas, agak transparan, mudah dilepas dari cetakan.	Homogen, berwarna kuning-jingga, rasa manis sedikit pedas (69).
3.	Bobot (mg) (RSD(%))	44,8±1,67 RSD = 3,73	RSD kurang dari 5% (92).
4.	Ketebalan (µm) (RSD(%))	92,2±1,92 RSD= 2,09	RSD kurang dari 5% (71).
5.	Waktu hancur (menit)	2 menit 18 detik	< 3 menit (70).
6.	Daya tahan lipat	>300	>300 (73).

Evaluasi yang dilakukan terhadap sediaan ODF dapat dilihat pada **Tabel 4.8** yaitu uji pH pre-gel, uji organoleptis, uji bobot dan ketebalan film, uji waktu hancur, dan uji daya tahan lipat.

Hasil dari pengukuran pH yang dilakukan pada pre-gel ini menunjukkan nilai rata-rata sebesar 4,83 yang tergolong kondisi asam lemah. Namun, pada penelitian ini tidak dilakukan penyesuaian pH ke arah netral (6,2-7,6) dikarenakan untuk menjaga stabilitas senyawa kurkumin. Kurkuminoid dalam temulawak memiliki sifat yang sensitif terhadap pH sehingga pada kondisi basa, kurkumin akan mengalami degradasi dengan ditandai terjadinya perubahan warna dari kuning-jingga menjadi kecoklatan. pH yang telah diperoleh saat ini merupakan rentang di mana kurkumin masih berada dalam bentuk stabilnya (25).

Selain menjaga stabilitas zat aktif, pH asam lemah ini juga menguntungkan untuk aktivitas natrium benzoat yang berperan sebagai pengawet. Natrium benzoat dapat memberikan aktivitas sebagai antimikroba apabila berada pada rentang pH yang optimal yaitu dibawah 5 karena akan berada dalam bentuk asam benzoat yang tidak terdisosiasi. Walaupun hasil yang didapat masih dibawah rentang, namun hal

ini masih dianggap aman karena saliva akan dapat menetralkan keasaman tersebut, sehingga tidak akan menyebabkan iritasi pada mulut (48).



Gambar 4.3. Sediaan *orally disintegrating film* (ODF) ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

Keterangan: (a) Sediaan ODF dalam satu cetakan, dan
(b) Sediaan ODF dalam ukuran 2x2 cm²

Hasil pengamatan organoleptik ODF yang telah dilakukan menunjukkan film yang homogen, berwarna kuning-jingga, dan agak transparan. Warna yang tetap stabil ini menandakan bahwa kurkumin tidak mengalami degradasi selama proses formulasi. Sifat film yang juga sudah tidak berminyak pada permukaan menunjukkan bahwa penambahan Tween 80 dan amilum itu sudah berhasil untuk menahan minyak yang ada pada fase ekstrak. Hasil visual sediaan ODF dapat dilihat pada **Gambar 4.3.**

Untuk data evaluasi bobot dan ketebalan film yang diperoleh dapat dilihat pada **Tabel 4.8** telah mendapatkan hasil yang sesuai, dikarenakan standar deviasi yang kecil pada kedua parameter ini menandakan bahwa sediaan sudah memiliki tingkat keseragaman yang tinggi. Ketebalan yang konsisten pada setiap sudut

permukaan film ini sangat penting karena dapat memengaruhi keseragaman kadar zat aktif dalam setiap potongan sediaan. Apabila tebal yang diperoleh tidak merata, maka dosis pada tiap penggunaan akan bervariasi (71,92).

Hasil evaluasi waktu hancur sediaan dengan metode *petri dish* menunjukkan rata-rata sebesar 2 menit 18 detik (138 detik). Hal ini dapat dilihat pada **Tabel 4.8**. Hasil yang diperoleh ini masih tetap memenuhi syarat sediaan orodispersible menurut standar *European Pharmacopeia* (PH. Eur.) yaitu maksimal 3 menit (180 detik) (70). Peningkatan jumlah HPMC dapat menjadi alasan menurunnya kecepatan waktu hancur karena hal ini dapat mengakibatkan kelarutan dalam air menjadi lebih rendah. Walaupun demikian, sediaan tetap dapat hancur sepenuhnya tanpa meninggalkan residu kasar (90).

Hasil dari pengujian daya tahan lipat menunjukkan nilai >300 kali lipatan, yang menandakan bahwa sediaan memenuhi syarat fleksibilitas ODF yang baik. Kekuatan ini membuktikan bahwa peningkatan HPMC K4M berhasil membentuk film yang kokoh. Sementara itu, konsentrasi PEG 400 yang diturunkan tidak berpengaruh signifikan dan masih tetap efektif memberikan kelenturan pada film (73).

4.6 Penetapan Kadar Kurkumin dalam Ekstrak dan Sediaan Orally Disintegrating Film (ODF) Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak

Berdasarkan hasil penetapan kadar yang ditampilkan pada **Tabel 4.9**, diperoleh kadar kurkumin dalam ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* sebesar $24,51 \pm 0,12\%$. Kadar kurkumin tersebut menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan rentang kadar kurkumin pada penelitian sebelumnya yang menggunakan jenis pelarut yang sama, yaitu 11-18% (21). Tingginya kadar kurkumin yang diperoleh pada penelitian ini dipengaruhi oleh proses maserasi yang optimal dan penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu rendah yang terkontrol, sehingga mampu mencegah terjadinya fotodegradasi maupun degradasi termal pada senyawa kurkumin. Selain itu, faktor internal juga mempengaruhi seperti umur panen tanaman temulawak yang digunakan serta kondisi geografis tempat tumbuh rimpang yang baik.

Tabel 4.9. Kadar kurkumin dalam ekstrak dan ODF *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

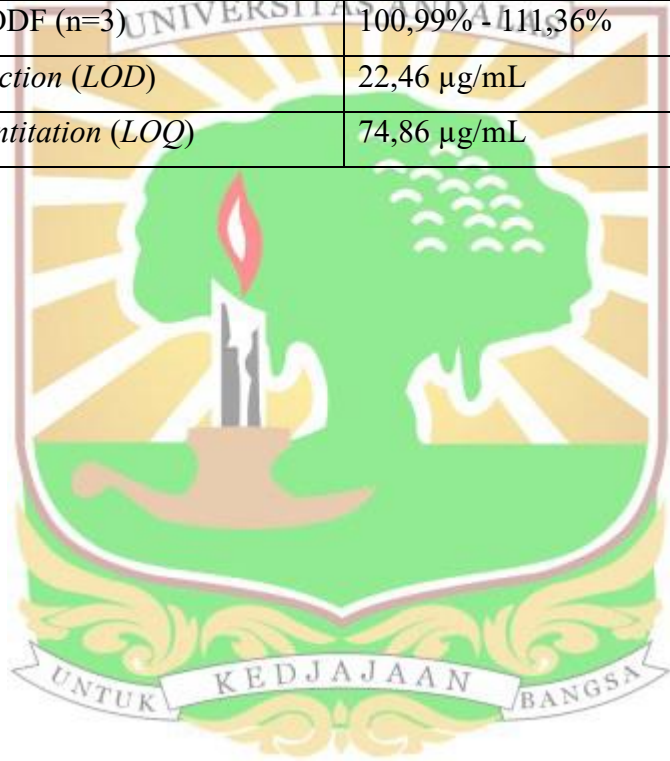
Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Kadar (%b/b)
Ekstrak <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb. 1000 $\mu\text{g/mL}$	245,12	24,51 $\pm$ 0,12
ODF <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb. 1000 $\mu\text{g/mL}$	237,93	23,79 $\pm$ 0,24

Berdasarkan data pada **Tabel 4.9**, kadar kurkumin dalam sediaan ODF sedikit lebih rendah dibandingkan kadar ekstrak. Perbedaan ini dapat terjadi kemungkinan oleh beberapa faktor, antara lain proses selama formulasi dan juga proses persiapan sampel sebelum analisis. Pada sediaan ODF, kurkumin telah terdispersi dalam matriks polimer, sehingga tidak semua kurkumin dapat tertarik sempurna dalam proses ekstraksi. Selain itu, eksipien yang digunakan dalam sediaan juga dapat mempengaruhi proses pelepasan dan pelarutan zat aktif (93). Selain itu, proses pembuatan ODF juga dapat menyebabkan penurunan kadar kurkumin akibat degradasi senyawa. Kurkumin diketahui sensitif terhadap cahaya, suhu, oksigen, dan kondisi pH tertentu. Selama proses pengeringan film maupun penyimpanan, sebagian kurkumin dapat mengalami degradasi oksidatif atau fotodegradasi sehingga kadar yang terukur menurun (24). Namun, selisih kadar antara ekstrak dengan sediaan ODF relatif kecil, sehingga menunjukkan bahwa proses formulasi dan ekstraksi dari sediaan yang dilakukan masih mampu mempertahankan kandungan kurkumin dengan cukup baik.

Nilai persentase hasil kurkumin dalam sediaan ODF adalah 97,04%. Ini menunjukkan bahwa sebagian besar kurkumin dari ekstrak masih bisa dipertahankan setelah melewati proses formulasi menjadi sediaan ODF. Dengan demikian, proses formulasi yang telah dilakukan mempunyai efisiensi yang baik untuk mempertahankan kandungan zat aktif dalam sediaan.

Tabel 4.10. Ringkasan parameter validasi

Parameter	Hasil
Rentang Linearitas	100-500 $\mu\text{g/mL}$
<i>Slope</i>	39,873
<i>Intercept</i>	- 466,09
Koefisien Korelasi (r)	0,9991
Presisi <i>Intraday</i> (n=3)	1,21
Presisi <i>Interday</i> (n=3)	1,45
% <i>Recovery</i> Ekstrak (n=3)	100,51% - 110,08%
% <i>Recovery</i> ODF (n=3)	100,99% - 111,36%
<i>Limit of Detection</i> (LOD)	22,46 $\mu\text{g/mL}$
<i>Limit of Quantitation</i> (LOQ)	74,86 $\mu\text{g/mL}$



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kondisi optimum fase gerak metode KLT-densitometri untuk analisis kurkumin diperoleh dengan menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (4:6), yang dapat menghasilkan nilai R_f $0,53 \pm 0,01$ dengan pemisahan bercak yang jelas. Kondisi ini telah sesuai untuk tujuan identifikasi dan penetapan kadar kurkumin dalam ekstrak dan sediaan ODF.
2. Metode KLT-densitometri yang digunakan memenuhi parameter validasi metode analisis meliputi linearitas (r mendekati 1), LOD $22,46 \mu\text{g/mL}$, LOQ $74,86 \mu\text{g/mL}$, presisi $\leq 2\%$, dan akurasi kurkumin dalam ekstrak $100,51\% - 110,08\%$ dan dalam sediaan ODF $100,99\% - 111,36\%$.
3. Formulasi sediaan ODF ekstrak etanol rimpang temulawak dengan polimer HPMC K4M dan amilum sebagai adsorben terbukti dapat menghasilkan karakteristik fisik yang memenuhi kriteria. Hasil evaluasi menunjukkan keseragaman bobot $44,8 \pm 1,67$ mg dan ketebalan $92,2 \pm 1,92 \mu\text{m}$, pH sediaan 4,83 untuk mendukung stabilitas kurkumin, dan daya tahan lipat yang sangat baik (>300 kali). Untuk uji waktu hancur sediaan diperoleh 2 menit 18 detik (memenuhi persyaratan *orodispersible* menurut *European Pharmacopoeia* yaitu kurang dari 180 detik).
4. Kadar kurkumin yang diperoleh dalam ekstrak dan sediaan ODF rimpang temulawak adalah $24,51 \pm 0,12\%$ dan $23,79 \pm 0,24\%$ dengan persentase hasil dalam ODF sebesar $97,04\%$, yang menunjukkan bahwa proses formulasi yang telah dilakukan mempunyai efisiensi yang baik untuk mempertahankan kandungan zat aktif dalam sediaan.

5.2 Saran

1. Melakukan pengembangan metode analisis lainnya yang memiliki selektivitas lebih tinggi agar dapat meningkatkan keakuratan hasil analisis.

2. Melakukan optimasi pada formula sediaan ODF, yaitu dengan menambahkan *superdisintegrant*, agar dapat mempercepat waktu hancur serta meningkatkan pelepasan dan perolehan kadar kurkumin dalam sediaan.

