



**PENGARUH FERMENTASI EM4 TERHADAP KADAR
KURKUMIN DALAM EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa*)**

SKRIPSI

Oleh

**Putu Irwan Yasa
NIM 111810301041**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PENGARUH FERMENTASI EM4 TERHADAP KADAR
KURKUMIN DALAM EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa*)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

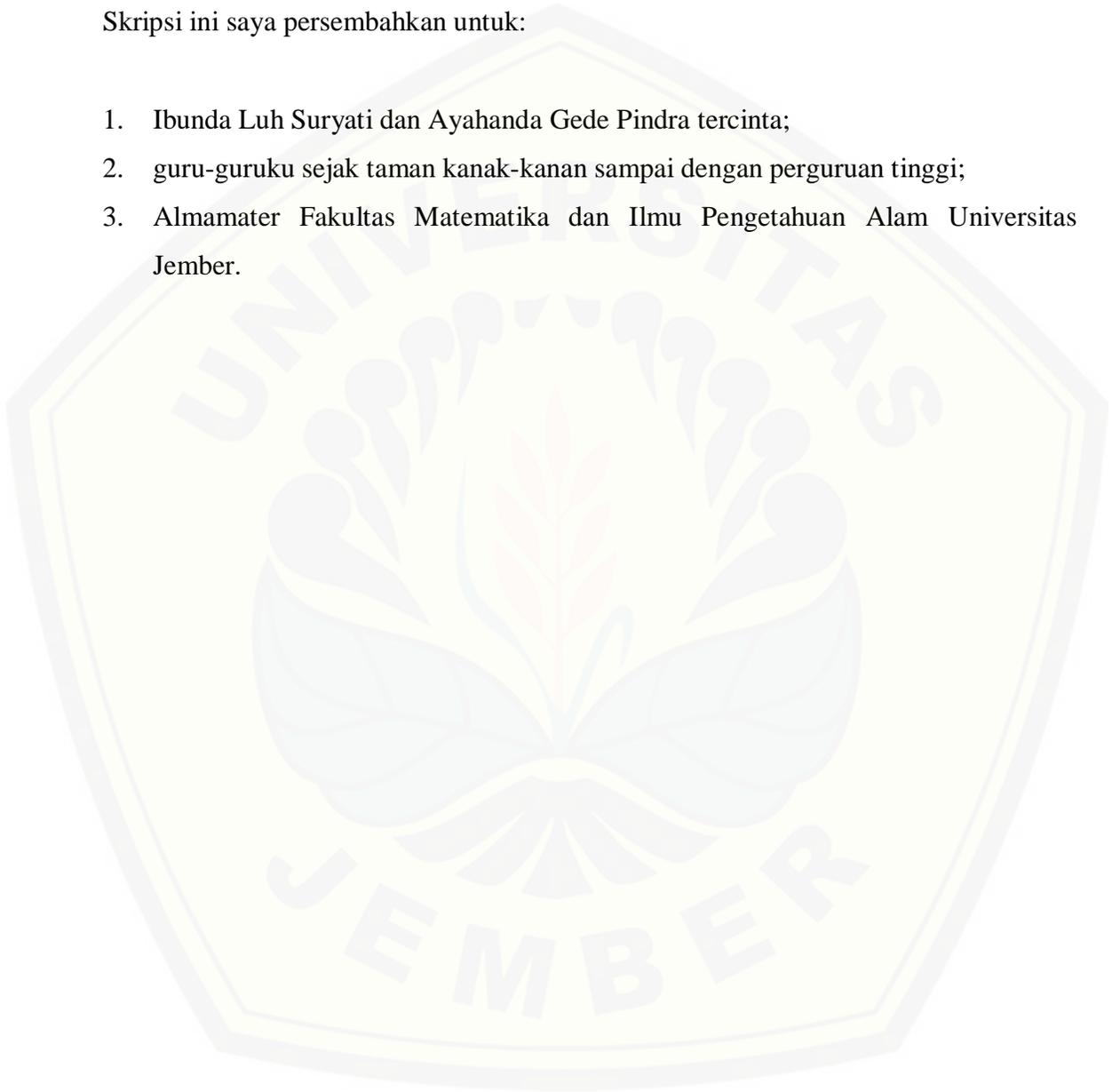
**Putu Irwan Yasa
NIM 111810301041**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Luh Suryati dan Ayahanda Gede Pindra tercinta;
2. guru-guruku sejak taman kanak-kanan sampai dengan perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



MOTO

Yakinlah hanya pada yang terbaik, berfikir sebaik-baiknya, belajar sebaik-baiknya,
miliki tujuan terbaik, berusaha sebaik-baiknya, dan pada
akhirnya segalanya akan memberikan
hasil terbaik (Henry Ford).*)

Imajinasi lebih penting dari pengetahuan. Karena pengetahuan terbatas
pada semua yang kita ketahui dan mengerti, sementara imajinasi
melingkupi dunia serta semua hal yang akan diketahui
dan dimengerti (Albert Einstein).**)

*) Asyirint G. 2010. *Langkah Cerdas Menjadi Guru Sejati Berprestasi*. Yogyakarta: Bahtera Buku.

***) Ir. Hartono S. 2012. *Mencetak Superman Masa Depan*. Jakarta: Trans Media Pustaka

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putu Irwan Yasa

NIM : 111810301041

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “ Pengaruh Fermentasi EM4 terhadap Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*)“ adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Mei 2016

Yang menyatakan,

Putu Irwan Yasa

NIM 111810303041

SKRIPSI

**PENGARUH FERMENTASI EM4 TERHADAP KADAR
KURKUMIN DALAM EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa*)**

Oleh

Putu Irwan Yasa

NIM 111810301041

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Pengaruh Fermentasi EM4 terhadap Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*)" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

NIP. 197105011998021002

NIP. 198010012003122001

Penguji I,

Penguji II,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.

Asnawati, S.Si., M.Si.

NIP. 195910091986021001

NIP. 196808141999032004

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Jember,

Drs. Sujito, Ph.D.

NIP. 19610204198711101

RINGKASAN

Pengaruh Fermentasi EM4 terhadap Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*); Putu Irwan Yasa, 111810301041; 2016: 36 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Jamu ternak merupakan suplemen yang untuk meningkatkan nafsu makan ternak. Bahan dasar jamu ternak adalah kunyit, lengkuas, jahe, dan lainnya. Jamu ternak merupakan produk hasil fermentasi menggunakan EM4 (kumpulan mikroorganisme efektif 4). Rimpang kunyit di dalam jamu ternak mengandung senyawa kurkumin. Senyawa kurkumin di dalam jamu ternak yang meningkat dapat menambah nafsu makan ternak. Kadar senyawa kurkumin di dalam ekstrak kunyit hasil fermentasi dianalisis pada penelitian ini.

Rimpang kunyit yang digunakan merupakan kunyit dengan nama spesies *Curcuma longa*. Rimpang ini diperoleh dari Kelompok Perempuan Tani di desa Mulyorejo Jember. Tanaman kunyit divalidasi di Herbarium Jemberiense Jurusan Biologi Universitas Jember.

Rimpang kunyit difermentasi selama 7 hari dan rimpang kunyit tanpa fermentasi didiamkan selama 7 hari. Sampel disaring dan diambil filtratnya untuk diekstraksi menggunakan kloroform. Fraksi kloroform diuapkan dengan evaporator untuk memperoleh ekstrak kunyit. Ekstrak selanjutnya dilarutkan dengan aseton, ditotolkan sebanyak 50 μ L pada kromatografi lapis tipis dan dielusi dengan 20 mL eluen kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1). Penentuan kadar dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis-Densitometri pada panjang gelombang 254 nm.

Standar kurkumin digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Kurva dibuat dengan memplotkan konsentrasi sebagai sumbu x dan luas area sebagai sumbu y. Hasil dari plot tersebut adalah persamaan regresi. Kadar kurkumin dapat ditentukan dengan memasukkan nilai luas area yang diperoleh dari densitogram ke dalam

persamaan regresi. volum larutan standar yang digunakan adalah 8,10,12,14,16, dan 18 μ L.

Kadar kurkumin hasil fermentasi dengan EM4 lebih besar dibandingkan tanpa proses fermentasi dengan EM4. Kadar kurkumin hasil fermentasi dengan EM4 adalah $163 \pm 7,00$ % dan kadar kurkumin tanpa proses fermentasi dengan EM4 adalah $124 \pm 32,2$ %.



PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Fermentasi EM4 terhadap Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji I dan Asnawati, S.Si, M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Drs. Mukh Mintadi selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
6. Bapak/ Ibu dosen-dosen FMIPA terutama dosen-dosen Jurusan Kimia dan Ketua Laboratorium Organik Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan;
7. Kelompok Tani Wanita desa Mulyorejo yang telah menyediakan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) untuk sampel penelitian;
8. teman-teman angkatan 2011 (*solvent*), terima kasih atas semangat, bantuan, saran, perhatian, dan kenangan yang telah diberikan;

9. Lilik Duwi Wahyudi, Rosita Wahyuningrum, Jainur Rochman, Lutfi Septi Aksanantika, Anita Karolina, Romadhani Ibnu Fadil, Achmad Nurwanto, dan Muhammad Naim, atas doa, semangat, dan dukungannya;
10. teman-teman seperjuangan di Laboratorium Organik, terima kasih atas saran, kerjasama dan bantuannya;
11. teman-teman KKN dan Relawam Kampoeng Batja yang tak bisa disebut satu per satu, terima kasih atas semangat, perhatian dan kenangan yang tak kan terlupakan;
12. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 24 Mei 2016

Penulis

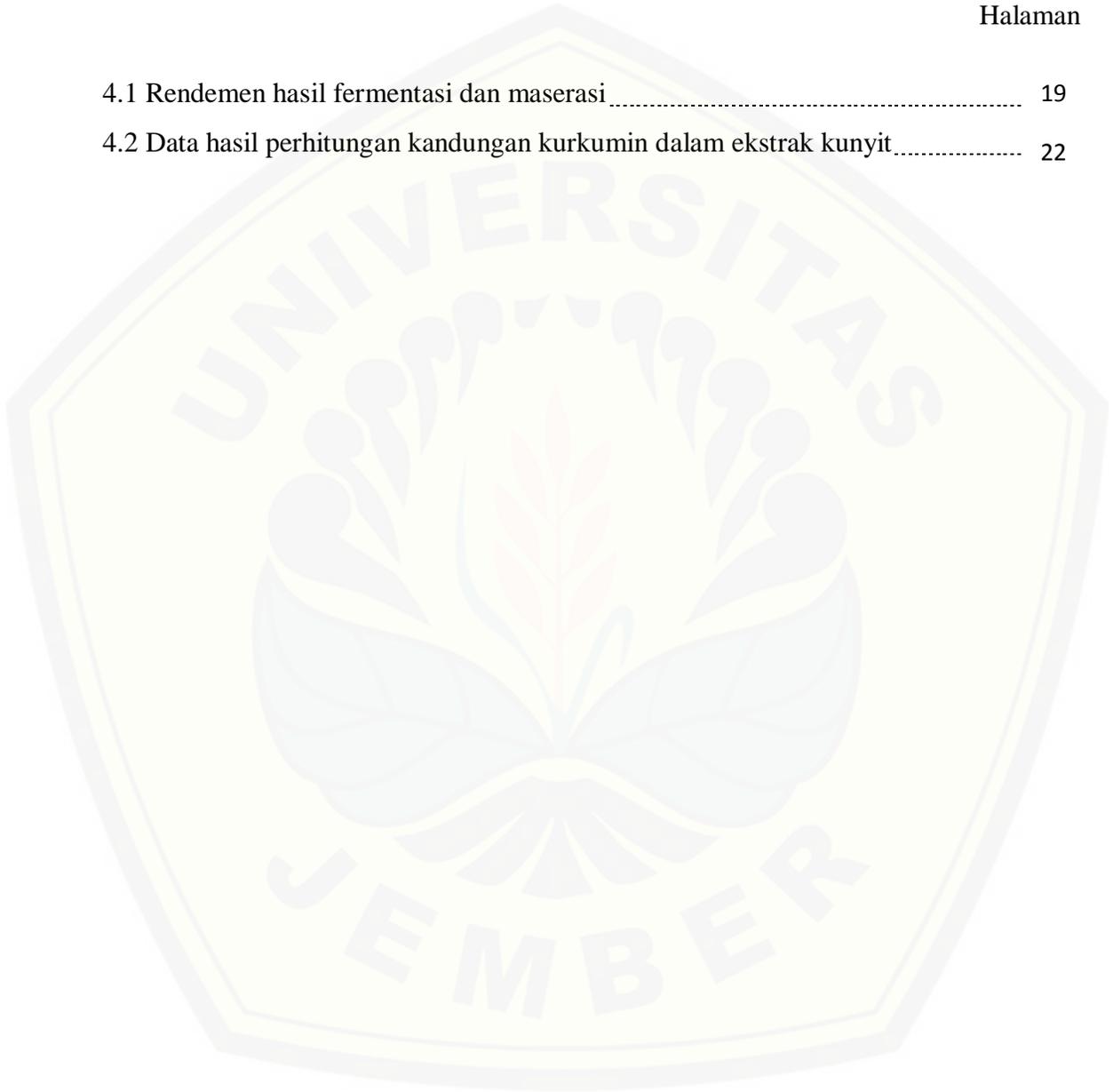
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kunyit	4
2.2 Effective Microorganisme (EM4)	6
2.2.1 <i>Lactobacillus</i> sp. (bakteri asam laktat)	6
2.2.2 Bakteri Fotosintetik (<i>Rhodospseudomonas</i> sp.)	7
2.2.3 <i>Saccharomyces cereviceae</i> (Yeast)	7
2.3 Molase	8
2.4 Ekstraksi	8

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	9
2.6 Densitometri	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.2.1 Alat	13
3.2.2 Bahan	13
3.3 Rancangan Penelitian	14
3.3.1 Diagram Alir Penelitian	14
3.3.2 Prosedur Penelitian	15
a. Preparasi Sampel	15
b. Penentuan Kadar Air	15
c. Fermentasi	15
d. Pembuatan Larutan Standar Kurkumin	16
e. Pengujian dengan KLT-Densitometer	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Kadar Air Kunyit	17
4.2 Fermentasi dan Maserasi Kunyit	18
4.3 Kromatogram Ekstrak Kunyit Hasil Fermentasi dan Tanpa Fermentasi	20
4.4 Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit	21
BAB 5. PENUTUP	23
5.1 Kesimpulan	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rendemen hasil fermentasi dan maserasi.....	19
4.2 Data hasil perhitungan kandungan kurkumin dalam ekstrak kunyit.....	22



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia kurkumin dan turunan kurkuminoid	5
2.2 KLT	10
4.1 Sampel Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	17
4.2 Foto hasil pemisahan ekstrak kunyit)	18
4.3 Kromatogram spot pemisahan KLT	20
4.4 Densitogram larutan standar 1200 ng	21

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Pembuatan larutan standar kurkumin 240 ppm.....	29
B. Foto filtrat ekstrak kunyit	29
C. Perhitungan kadar air	29
D. Perhitungan rendemen	30
E. Pembuatan fraksi DE dan TE	31
F. Kromatogram hasil analisis menggunakan KLT	32
G. Linieritas	32
H. Data penentuan kadar kurkumin dalam ekstrak kunyit	34

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peternak merupakan salah satu pekerjaan yang banyak dipilih masyarakat Indonesia. Peternak merupakan usaha yang terbilang gampang-gampang susah (Susilorini *et al.*, 2008). Peternak harus berusaha lebih untuk menghasilkan kualitas ternak yang baik. Salah satu usahanya adalah dengan pemberian jamu kepada ternak (Zainuddin, 2002).

Jamu ternak merupakan suplemen nabati yang bermanfaat bagi ternak. Bahan jamu untuk ternak dibuat dari satu jenis atau beberapa jenis tanaman obat antara lain kunyit, lengkuas, jahe, temulawak, kencur dan lainnya. Jamu dapat dibuat dengan berbagai cara, salah satunya adalah melalui proses fermentasi EM4 (Zainuddin, 2002). EM4 (kumpulan mikroorganisme efektif) terdiri atas bakteri asam laktat, *Actinomyces*, bakteri fotosintetik, dan ragi (Higa dan Wididana, 1991). Menurut Aryogi *et al.* (2001), kumpulan mikrobia pada EM4 memiliki kemampuan *lipolytic*, *lignolytic*, *cellulolytic*, dan *proteolytic* yang berguna untuk menguraikan senyawa organik kompleks.

Kunyit sebagai bahan dasar pembuatan jamu ternak memiliki banyak manfaat. Menurut Kusumawardhani (1998), pemberian kunyit dapat meningkatkan bobot badan, serta menurunkan lemak. Senyawa yang berperan dalam hal ini adalah senyawa kurkumin. Menurut Purwanti (2008), senyawa kurkumin mampu memperlancar pengeluaran empedu sehingga meningkatkan aktivitas saluran pencernaan.

Senyawa kurkumin banyak ditemukan pada akar atau umbi (rimpang) tanaman *Curcuma* sp. (Syukur, 2001). Senyawa yang sangat bermanfaat pada tanaman kunyit salah satunya adalah senyawa kurkumin [1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion]. Di alam, senyawa kurkumin terdapat dalam bentuk tautomernya berupa keto dan enol. Namun karena kestabilan keto lebih baik

dibanding enol, maka membuat jumlah keto di alam lebih banyak dibandingkan bentuk enolnya. Ohshiro *et al.*(1990) menyebutkan bahwa selain kurkuminoid, hasil ekstraksi rimpang kunyit dengan MeOH menghasilkan senyawa kimia minor seperti (4S,5S)-germakron-4,5-epoksida, bisabola-3,10-diena-2-on, α -turmeron, bisakumol, bisakuron, kurkumenol, isoprokurkumenol, zedoaronediol, prokurkumenol, epiprokurkumenol, germakron-13-al, 4-hidroksi-bisabola-2,10-diena-9-on, 4,5-dihidroksibisabola-2,10-diena, 4-metoksi-5-hidroksibisabola-2,10-diena-9-on, 2,5-dihidroksibisa-bola-3,10-diena, dan prokurkumadiol.

Penelitian mengenai Ekstraksi kurkumin pada kunyit telah banyak dilakukan, diantaranya Oshiro *et al.* (1990) yang telah mengekstraksi kunyit untuk melihat kandungannya. Penelitian ilmiah mengenai analisis kandungan kurkumin pada ekstrak kunyit hasil fermentasi menggunakan EM4 dan ekstrak kunyit tanpa fermentasi EM4 belum pernah dilakukan. Hal tersebut yang menjadi dasar dilakukannya penelitian mengenai “Pengaruh Fermentasi EM4 terhadap Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*).“

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang akan diteliti dalam penelitian ini adalah bagaimana perbedaan kadar kurkumin pada ekstrak kunyit hasil fermentasi EM4 dengan ekstrak kunyit tanpa fermentasi EM4?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah

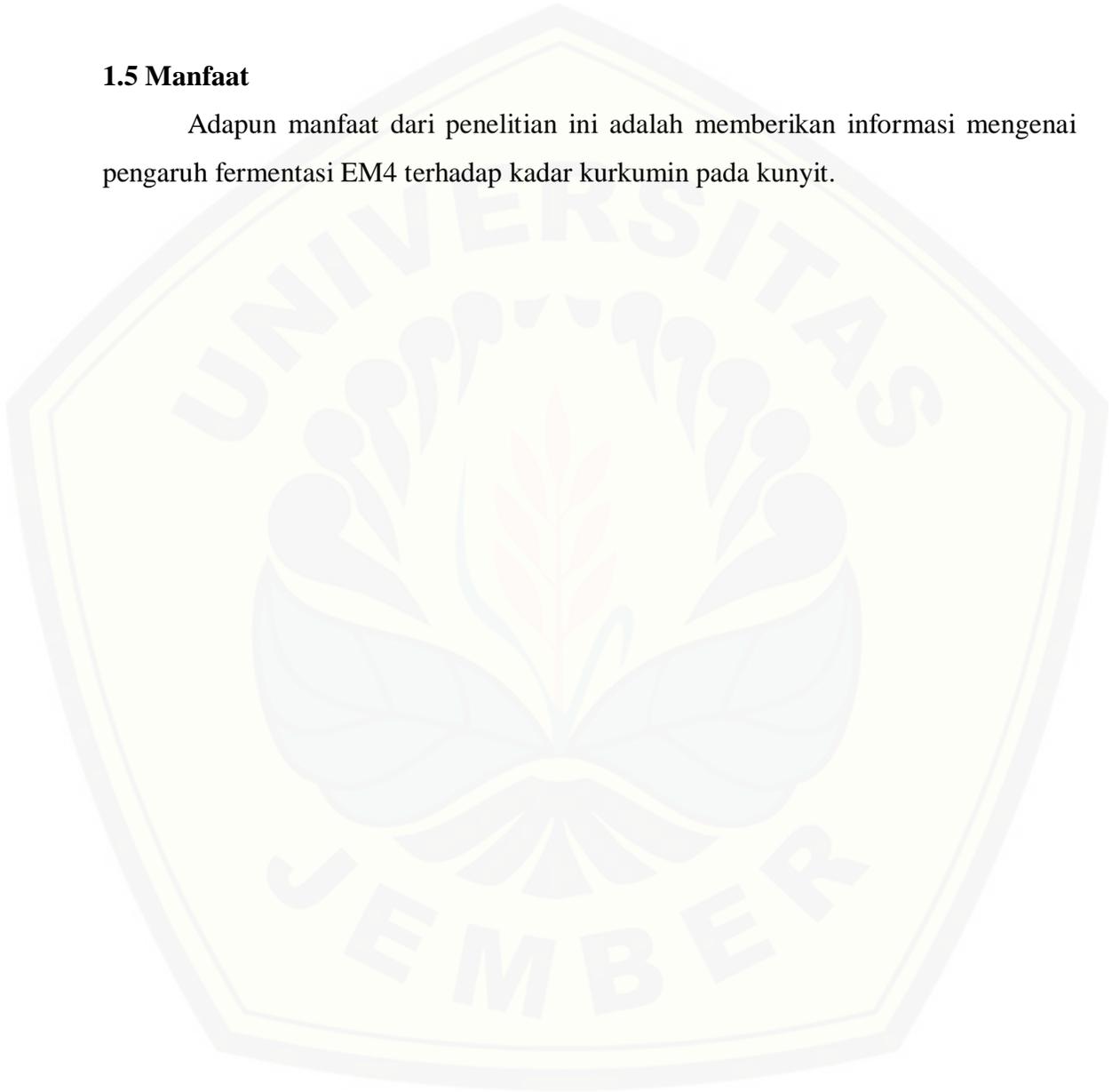
1. Bagian tanaman yang digunakan adalah bagian rimpang kunyit yang diambil dari Kelompok Tani Wanita desa Mulyorejo
2. EM4 yang digunakan merupakan EM4 untuk peternakan buatan PT. Songgolangit Persada.
3. Tidak dilakukan identifikasi kandungan mikroba di dalam EM4.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh penjelasan mengenai perbedaan kadar kurkumin pada ekstrak kunyit hasil fermentasi EM4 dengan ekstrak kunyit tanpa fermentasi EM4.

1.5 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh fermentasi EM4 terhadap kadar kurkumin pada kunyit.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kunyit

Kunyit (*Curcuma domestica* L) atau dikenal sebagai *Curcuma longa* L merupakan tanaman rempah yang berasal dari wilayah Asia Selatan dan Tenggara. Di Indonesia, kunyit telah dikenal kegunaannya dalam penambah rasa, aroma, dan warna makanan. Kunyit digunakan sebagai bumbu masakan selama berabad-abad. Kunyit tumbuh pada daerah yang memiliki curah hujan dibawah 1000 mm/ tahun (Taryono, 2001).

Klasifikasi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) menurut Tjitrosoepomo (1990) adalah sebagai berikut:

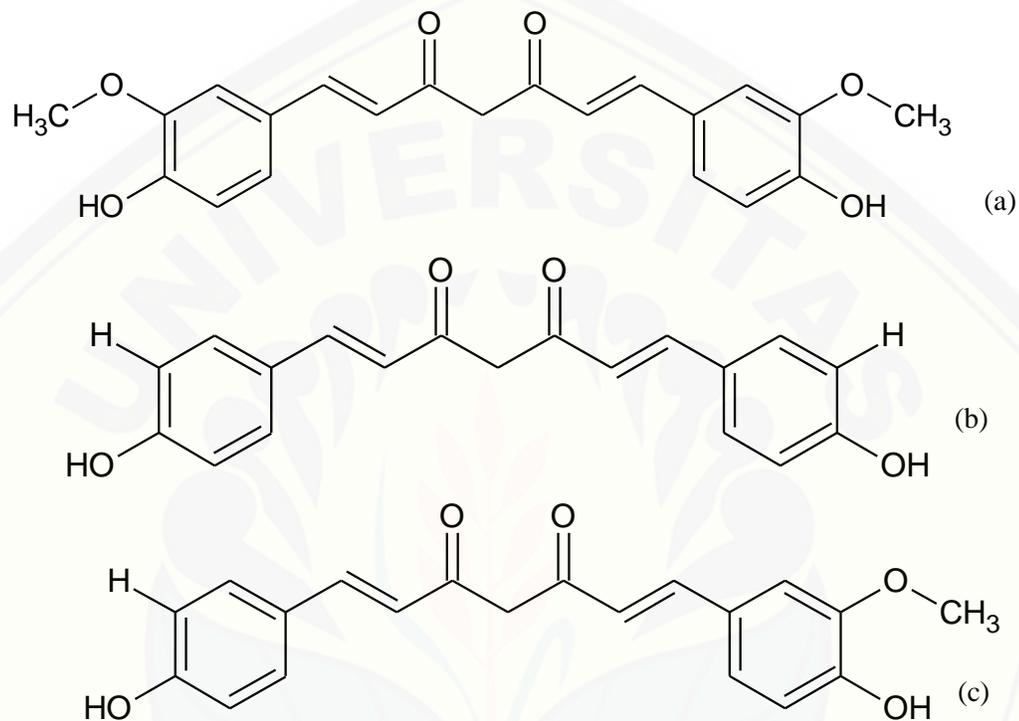
Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub-divisio	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma longa</i> L.

Komposisi kimia di dalam tanaman kunyit adalah minyak atsiri 4,2-14%, minyak lemak 4,4-12,7% dan senyawa kurkuminoid 60-70%. Kunyit mempunyai bahan aktif yang terdiri dari kumpulan fenol. Kumpulan tersebut dikenali sebagai *curcuminoid* yang dapat melindungi secara tidak langsung (Srinivasan, 1953).

Kurkuminoid memiliki wujud kuning gelap, larut dalam alkohol dan asam asetat, dan dalam wujud cairnya berwarna kuning. Kurkuminoid dalam kondisi pH asam akan berwarna merah kecoklatan, sedangkan pada pH basa akan berwarna kuning (Sudarsono *et al.*, 1996).

Kurkuminoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang terkandung pada rimpang tanaman famili Zingiberaceae. Kurkuminoid memiliki manfaat untuk

mencegah munculnya infeksi dari berbagai penyakit. Kandungan utama pada kurkuminoid adalah kurkumin yang berwarna kuning (Kristina *et al.*, 2007). Beberapa senyawa kurkuminoid dapat dilihat pada gambar 2.1



(a) Struktur kurkumin; (b) bisdemetoksi kurkumin; (c) Demetoksi kurkumin.

Gambar 2.1 Struktur kimia kurkumin dan turunan kurkuminoid (Sumber: Rachman *et al.*, 2008)

Kurkumin merupakan senyawa kurkuminoid yang berbentuk kristal padat pada suhu kamar. Kurkumin memiliki massa molekul 368,39 gram/mol. Warna dari kurkumin adalah orange-kuning. Kurkumin memiliki titik leleh 183°C dan larut dalam aseton (Sciencelab, 2015). Kurkumin merupakan senyawa lipofilik polifenol yang sedikit larut dalam air (Aggarwal *et al.*, 2003). Kurkumin sangat stabil pada pH asam (Wang, 1997).

Sebagian kecil dari kandungan kunyit adalah berupa minyak dan natural resin. Senyawa yang dominan adalah senyawa sesquiterpen keton dan alkohol: α -

turmeron, β -*turmeron*, *curlon*, *zingiberen*, *ar-turmerol A*, *turmerol B* dsb (Ohsiro dan Kuroyanagi, 1990, Imai dan Morikiyo, 1990, Majeed *et al.*,2000).

2.2 *Effective Microorganism* (EM4)

Effective Microorganism (EM4) merupakan cairan berwarna coklat yang beraroma manis, asam (segar), dan di dalamnya berisi campuran beberapa mikroorganisme hidup. Campuran mikroorganisme ini menguntungkan dalam proses penyerapan/ penyediaan unsur hara dalam tanah (Rahayu dan Nurhayati, 2005). Mikroorganisme yang ada pada EM4 yang diproduksi PT. Songgolangit Persada mengandung bakteri fotosintetik (*Rhodospseudomonas* sp.), bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp.), dan yeast (*Saccharomyces* sp.) (Pakoles, 2015).

2.2.1 *Lactobacillus* sp. (bakteri asam laktat)

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum ± 40 °C. Bakteri ini bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif. Bakteri ini menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Syahrurahman, 1994).

Enzim yang dihasilkan oleh bakteri ini salah satunya adalah bakteri proteolitik disekitar dinding sel, membran sitoplasma, atau di dalam sel (Thomas *et al.*, 1987). Bakteri proteolitik ini dapat menghasilkan enzim protease yang mampu memutus ikatan peptida pada protein (Rao *et al.*, 1998). Bakteri ini diketahui memiliki aktivitas lipolitik akibat adanya enzim lipase (Ginalska *et al.*,2007).

Fermentasi pada bakteri asam laktat di bagi menjadi dua jenis yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Pembagian jenis fermentasi ini didasarkan pada hasil reaksinya. Secara garis besar reaksi yang terjadi adalah pembentukan asam laktat dari piruvat. Fermentasi heterofermentatif tidak membutuhkan enzim aldolase

dan heksosa isomerase dalam prosesnya. Enzim fosfoketolase merupakan enzim yang dibutuhkan pada heterofermentatif. Sedangkan pada homofermentatif membutuhkan enzim aldolase, heksosa isomerase, dan sedikit enzim fosfoketolase CO₂ (Irawati, 2006).

2.2.2 Bakteri Fotosintetik (*Rhodospseudomonas* sp.)

Bakteri ini adalah mikroorganisme mandiri dan swasembada. Bakteri ini membentuk senyawa-senyawa yang bermanfaat bagi akar tumbuhan. Salah satu bahan yang dihasilkan adalah bahan organik dan gas-gas berbahaya. hal ini dihasilkan dengan bantuan dari sinar matahari dan panas bumi sebagai sumber energi. Zat-zat bermanfaat yang dapat dihasilkan antara lain, asam amino asam nukleik, zat bioaktif dan gula yang semuanya berfungsi mempercepat pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Widyastuti *et al.*, 2009).

2.2.3 *Saccharomyces cereviceae* (Yeast)

Jamur ragi merupakan mikroorganisme uniseluler yang tubuhnya (miselium) berupa sel-sel individual. jamur dapat tumbuh sendiri, berkelompok dua atau tiga, atau membentuk rantai dengan diameter 4-25 µm. Ragi dapat melakukan fermentasi yang menghasilkan senyawa-senyawa bermanfaat. Asam amino dan gula yang dihasilkan dari bakteri fotosintetik bermanfaat bagi ragi yang meningkatkan perkembangan dari jumlah sel ragi (Chatim, 1994). Teerapatr (2004) menyatakan bahwa gula pereduksi maksimum yang dihasilkan oleh adanya enzim α -amilase, glukoamilase, selulase, dan pektinase selama 24 jam adalah 8,92%.

Ragi bereproduksi secara aseksual dalam bentuk tunas ataupun secara seksual dengan pembentukan *ascospora*. Selama proses reproduksi aseksual, tunas baru akan tumbuh dan pada kondisi dewasa ia akan melepaskan diri dari induknya. Reproduksi seksual ragi umumnya berlangsung pada kondisi kekurangan nutrien pertumbuhan dengan cara pembentukan *ascospora* (European Bioinformatika Institute, 1996).

2.3 Molase

Molase merupakan hasil samping dari proses pengolahan gula tebu. Molase merupakan salah satu sumber karbon yang bermanfaat untuk mempercepat penurunan konsentrasi N-anorganik di dalam air. Molase berupa cairan berwarna coklat seperti kecap, dan memiliki bau yang khas (Astuti, 1981).

Molase memiliki kandungan sukrosa sekitar 30 persen dan kandungan gula reduksi berupa glukosa dan fruktosa sekitar 25 persen. Sukrosa dalam molase merupakan komponen yang tidak dapat lagi dikristalkan oleh proses di pabrik gula. Hal ini disebabkan oleh nilai dari SRR (*Sucrose Reducing Ratio*) yang rendah yaitu berkisar antara 0,98-2,06 (Kurniawan, 2010).

Molase dimanfaatkan untuk bahan baku proses fermentasi dan biosurfaktan. Selain itu, molase dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan berbagai produk seperti penyedap rasa, alkohol, pakan ternak dan lain-lain (Almazan *et al.*, 1998).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode penarikan satu atau lebih senyawa metabolit sekunder dari jaringan bahan alam hayati dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi juga merupakan pemisahan suatu zat yang terbagi ke dalam dua pelarut yang tidak bercampur (Sudjadi, 2007). Prinsip dasar dari ekstraksi adalah distribusi komponen dalam dua fase yang saling tidak bercampur tersebut. Ekstraksi berlangsung dengan memanfaatkan adanya interaksi antara pelarut dengan bahan alam dan konstituen metabolit sekunder berpindah dari jaringan ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

Estraksi pelarut merupakan tahapan yang penting dalam urutan menuju ke suatu produk yang murni di laboratorium organik, anorganik, atau biokimia (Day dan Underwood, 1999). Diantara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi dengan pelarut air merupakan metode pemisahan yang paling baik dan populer. Alasan utamanya adalah pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro maupun

mikro. Ekstraksi pelarut tidak membutuhkan alat yang khusus atau canggih kecuali corong pisah (Khopkar, 2002). Batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda pada kedua fase pelarut. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar, 2002).

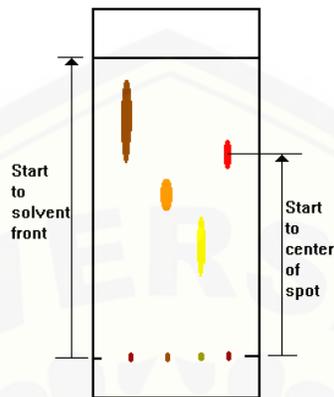
Maserasi berasal dari bahas latin *Macerace* yang berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan. Selesai tahap perendaman atau maserasi dilakukan dengan pengocokan berulang-ulang. Perlakuan ini dilakukan agar tercapai kesetimbangan konsentrasi dalam bahan ekstraksi yang lebih cepat. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan penurunan perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadi ekstraksi absolut (Voight, 1994).

Pemilihan pelarut didasarkan pada beberapa hal, yaitu berdasarkan sifat pelarut dan jumlah pelarut. Sifat pelarut yang dipilih adalah pelarut yang selektif, kemudahan mengambil pelarut, densitas, dan tegangan antar permukaan. Jumlah pelarut yang semakin banyak menyebabkan distribusi partikel dalam pelarut semakin besar akibatnya permukaan kontak semakin besar (Gamse, 2002).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode kromatografi yang digunakan untuk memisahkan komponen di dalam suatu sampel (Johnson dan Stevenson, 1987). Teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dikembangkan dengan membentangkan penyerap pada lempeng gelas sehingga kromatografi akan berupa lapisan tipis. Prinsip kromatografi berupa serapan/ adsorpsi, tetapi dapat juga merupakan partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dari udara. Sistem ini sangat populer karena banyak memberikan keuntungan. Keuntungan yang diperoleh yaitu peralatan yang diperlukan sederhana, murah, waktu analisis yang singkat serta

daya pisah cukup baik. Selain itu, sampel yang dibutuhkan sangat sedikit (Sudjadi, 2007).



Gambar 2.2 KLT (Anonim, 2008)

Materi pelapis yang digunakan pada plat kromatografi umumnya adalah berupa silika gel, bubuk selulosa, tanah diatome, kieselguhr. Fase diam hidrofilik dapat digunakan pengikat seperti semen paris, kanji, dispersi koloid plastik, silika terhidrasi (Khopkar, 1990).

Harga R_f (*Retardation Factor*) pada persamaan 1 didefinisikan sebagai rasio jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak eluen terhadap titik awal. Secara matematis dapat ditulis:

$$R_f = \frac{l}{h} \dots\dots\dots (1)$$

dengan l = jarak noda dari titik awal ke titik akhir setelah proses pengembangan dan h = jarak eluen dari titik awal ke batas akhir eluen. Faktor-faktor yang mempengaruhi harga R_f antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, tebal dan kerapatan lapisan penyerap, pelarut (fasa gerak), derajat kejenuhan, teknik pemisahan, jumlah cuplikan, dan suhu (Hardjono, 2007).

Zat-zat yang berwarna dapat terlihat langsung noda hasil KLT, tetapi noda yang tidak terlihat akibat tidak berwarna noda dapat digunakan reagen

penyemprot untuk melihat bercak suatu zat. Reagen dapat disemprotkan pada bagian tepi saja. Bagian yang lainnya dapat diperoleh kembali tanpa pengotoran dari reagen dalam pengerokan setelah pemisahan selesai (Khopkar, 1990). Analisis kuantitatif dapat digunakan plot fotodensitometer, spektrofotometer UV, sinar tampak, IR atau fluoresens atau dengan reaksi dengan kolorimeter dengan reagen kromogenik (Khopkar, 1990).

Pemisahan komponen didasarkan pada tingkat adsorpsi komponen. Tingkatan ini berdasarkan pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar tergantung pada komponen kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaiten and Smith, 1995).

2.6 Densitometri

Densitometri adalah sebuah metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang berupa noda pada KLT. Plat KLT yang dikenai gelombang elektromagnetik menimbulkan adsorpsi oleh analit. Radiasi selanjutnya ditransmisikan atau diemisikan berupa fluoresensi atau fosforesensi (Fried dan Sherma, 1994).

Densitometri bertujuan kepada analisis kuantitatif yang berkadar sangat kecil. Analisis yang baik memerlukan tahapan pemisahan sebelum dilewatkan pada KLT (Mulja dan Suharman, 1995). Senyawa yang berada dalam kondisi campuran dapat diketahui dalam waktu singkat, relatif sederhana, murah, mudah dilaksanakan dan dapat digunakan pada kadar kecil (Kantasubrata, 1991).

Metode densitometri menggunakan *TLC scanner* atau biasa disebut dengan densitometer sebagai instrumennya. Obyek akan menerima, meneruskan, atau memantulkan cahaya. *TLC scanner* berfungsi untuk mengukur tingkat kepekaan atau intensitas warna yang terdapat pada permukaan bidang. Alat ini dilengkapi dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang yang dapat diatur dari 200-700 nm. Sinar yang dipantulkan mengalami penghambatan pendukung lempeng dengan keseragaman fase diam. Sinar yang datang diarahkan pada satu noda. Sinar ini sangat

sensitif sehingga perlu diketahui panjang gelombang maksimumnya (Mulja dan Suharman, 1995).

Susunan alat densitometer tidak berbeda jauh dari spektrofotometer, tetapi pada TLC *scanner* digunakan alat khusus yaitu *reflection photomultiplier*. Alat ini digunakan sebagai pengganti *photomultiplier* pada spektrofotometer yang dapat memperbesar beda potensial sehingga dapat menggerakkan integrator (Mulja dan Suharman, 1995).

Faktor-faktor yang mempengaruhi spektrum serapan adalah jenis pelarut, pH larutan, kadar larutan, tebal celah. Pemilihan pelarut sangatlah penting dalam spektrofotometri UV. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang tidak mengadsorpsi cahaya pada daerah panjang gelombang yang digunakan. Selain dari pelarut, faktor pH juga mempengaruhi (Harmita, 2006).

BAB 3. METODOLOGI PERCOBAAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember pada bulan April 2015 sampai dengan selesai.

3.2 Alat dan bahan

3.2.1 Alat

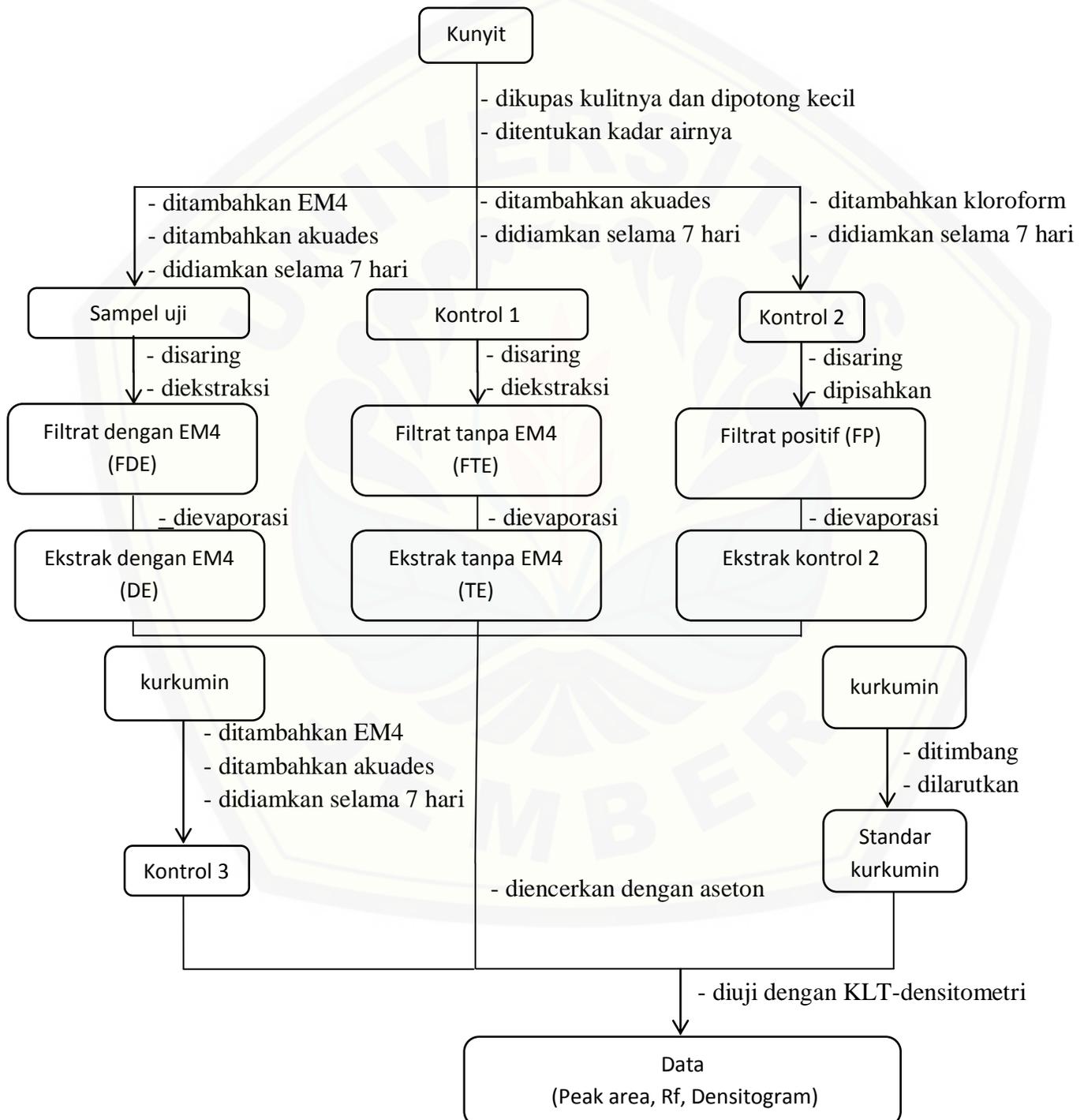
Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, erlenmeyer 250 mL, gelas beaker 250 mL, blander, saringan teh, timbangan analitik, botol semprot, corong gelas, corong vakum, pipet *mohr*, pipet volum 10 mL dan 50 mL, gelas beaker, kaca arloji, pipet tetes, ball pipet, pengaduk, corong pisah, *chamber*, *rotary evaporator*, *hair dryer*, labu ukur 5 mL, botol vial, pipa kapiler, densitometer CAMAG, pipet mikro, desikator, oven.

3.2.2 Bahan

Rimpang kunyit, akuades, EM4, kloroform p.a, asam asetat glasial, aseton, plat KLT silika gel F254, kertas saring, kurkumin (*merck*), etanol.

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Diagram Alir Penelitian



3.3.2 Prosedur Penelitian

a. Preparasi Sampel

Rimpang kunyit yang telah divalidasi oleh Herbarium Jemberiense Jurusan Biologi Universitas Jember dicuci dan dikupas kulitnya. Bagian rimpang yang berwarna coklat tua dipisahkan. Rimpang kunyit dipotong kecil-kecil.

b. Penentuan Kadar Air

Sampel sebanyak 1 gram diletakkan pada kaca arloji yang telah diketahui bobotnya. Kemudian dikeringkan didalam oven bersuhu 105°C sampai bobot konstan. Setelah itu didinginkan di dalam desikator dan ditimbang (AOAC, 1995).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir})}{\text{berat awal}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

c. Fermentasi

Sampel hasil preparasi ditimbang sebanyak 500 gram. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmayer, ditambahkan 10 mL EM4, dan 100 mL aquades. Sampel diaduk hingga merata dan ditutup dengan plastik *warp*. Sampel selanjutnya difermentasi selama 7 hari.

Sampel hasil fermentasi disaring dengan menggunakan vakum. Filtrat hasil penyaringan dimasukkan ke dalam corong pisah. Kloroform sebanyak 50 mL kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah untuk proses ekstraksi. Corong pisah dikocok, kemudian didiamkan hingga terpisah. Fraksi dengan EM4 (bagian bawah) disimpan di dalam erlenmeyer. Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak 4 kali dengan menggunakan volum kloroform yang sama dan dalam wadah penampung yang sama. FDE selanjutnya dievaporasi hingga diperoleh ekstrak dengan EM4 (DE). Proses untuk memperoleh DE dilakukan sebanyak 3 kali.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{massa kunyit kering}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

Hal yang sama dilakukan sebanyak 3 kali pada sampel hasil preparasi, namun tanpa penambahan EM4 untuk memperoleh ekstrak tanpa EM4 (TE). Kontrol 2

diperoleh dengan mengganti pelarut air dengan kloroform dan tanpa penambahan EM4. Kontrol 3 diperoleh dengan mengganti sampel hasil preparasi dengan standar kurkumin dan tidak dilakukan proses ekstraksi dan evaporasi.

d. Pembuatan Larutan Standar Kurkumin

Kurkumin standar ditimbang sebanyak 1,2 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 5 mL menggunakan aseton. Aseton ditambahkan hingga tanda batas dan dikocok.

e. Pengujian dengan KLT- Densitometer

Ekstrak dengan EM4 (DE) dilarutkan dengan menggunakan aseton dan dimasukkan dalam labu ukur 5 mL. Aseton ditambahkan hingga tanda batas dan dikocok. DE selanjutnya disimpan dalam wadah vial. DE diambil dengan volum tertentu (lampiran F) diencerkan dengan labu ukur 5 mL untuk memperoleh fraksi DE. Penotolan pada KLT dilakukan dengan mengambil 50 μ L DE menggunakan mikropipet, di tampung dalam botol vial, dan ditotolkan pada KLT menggunakan pipa kapiler. Hal yang sama dilakukan pada ekstrak tanpa EM4 (TE), kontrol 2, kontrol 3, sedangkan untuk standar kurkumin menggunakan volum penotolan 6-20 μ L (dengan interval 2 μ L).

Jarak penotolan pada KLT adalah 1 cm dari batas bawah plat, 1 cm dari samping kanan, dari samping kiri, dan jarak antar titik masing-masing 1 cm. Di dalam *chamber* yang telah jenuh, plat KLT dielusi menggunakan 20 mL campuran eluen kloroform:etanol:asam asetat (94:5:1). Elusi dihentikan bila eluen telah sampai pada tanda batas. Plat diangkat dan diangin-anginkan hingga eluen telah menguap. Noda hasil elusi dihitung nilai Rf-nya. Hasil KLT dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang 254 nm.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah kadar kurkumin dalam ekstrak kunyit hasil fermentasi dengan EM4 yang dianalisis menggunakan KLT-Densitometri, lebih besar dibandingkan dengan tanpa EM4, yaitu $0,32 \pm 0,01\%$ berbanding $0,11 \pm 0,03\%$.

5.2 Saran

Saran yang dapat saya berikan adalah untuk memperoleh kandungan kurkumin yang lebih banyak pada jamu ternak dapat dilakukan dengan melakukan penambahan volum air atau volum EM4.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B. B., Kumar, A., dan Bharti, A. C. 2003. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Res.*, **23**: 363-398.
- Almazan, O. L. G. dan L. Galves. 1998. *The Sugar Cane, It's by-Product and Co-products*. [serial online]. <http://pmo.gov.mu/portal/sites/ncb/moa/farc/amas98/keynote.pdf>. [17 Februari 2015].
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of the Analytical Chemistry*. Maryland: AOAC International.
- Aryogi, Yusran, Umiyasih, Rasyid, Affandi, dan Arianto. 2001. *Pengaruh Teknologi Defaunasi pada Ransum Terhadap Produktivitas Ternak Sapi Perah Rakyat*. Bogor: Puslitbang Peternakan Bogor.
- Astuti, M. 1981. *Rancangan Percobaan dan Analisa Statistika*. Yogyakarta: Fakultas Peternakan UGM.
- Azizah. B. & Salamah, N. 2013. Standarisasi Parameter Non Spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Rimpang Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, **3**(1): 21-30.
- Braithwaiten, A. & Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. 5th Ed. London: Kluwer Academic Publisher.
- Chatim & Soeharto. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran: Sterilisasi dan Disinfeksi*. Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Chem Pages Laboratory Resources. 2008. *Thin Layer Chromatography*. [serial online] <http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/ChemTech/modules/tlc/tlcinterp.htm>. [14 April 2015].
- Day, R. A. & Underwood, A. L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi ke V. Terjemahan oleh Pujaatata, A. H. Jakarta: Erlangga.
- European Bioinformatics Institute. 1996. *Eukaryotes Genomes-Saccharomyces cerevisiae*. [serial online]. http://emblabi.com/Saccromyces_cerevisiae.html. [17 Februari 2015].

- Fried, B. & Sherma, J. 1994. *Thin Layer Chromatography Techniques and Applications*. 3rd Ed. New York: Markel Dekker Inc.
- Gamse, T. 2002. *Liquid-liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction. Institute of Thermal Process and Enviromental Engineering*. Austria: Graz University of Tecnology.
- Ginalska, G., Cho, H. Y., & Banzerz, A. 2007. Effect of Culture Conditions on Growth and Lipase J. Fac. Agric. Produc., **52**(1): 29-34.
- Harmita. 2006. *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Hardjono, S. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.
- Higa, T. & Wididana, G. N. 1991. *Concept and Theories of Effective Microorganism Proceeding of the Future of Mankind*. Japan: Ryukyus University.
- Imai, Morikiyo, Furihata, Hayakawa, & Seto. 1990. Turmeronol A and turmeronol B, new Inhibitors of Soybean Lipoxxygenase. Agric. Biol. Chem., **54**(9): 2367-2372.
- Irawati, D. 2006. *Pemanfaatan Serbuk Kayu Untuk Produksi Etanol*. Bogor: IPB.
- Johnson, E. L. & Stevenson, R. 1987. Basic Liquid Chromatography. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Katasubrata, J. 1991. *Warta Kimia Analitik*. Bandung: Puslit Kimia LIPI.
- Kusumawardhani. 1998. *Pengaruh Pemberian Kunyit (Curcuma domestica) dalam Ransum Terhadap Rasio Efisiensi Protein, Kadar Lemak, dan Prosentase Lemak Abdominal Ayam Pedaging*. Semarang: Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro.
- Khopkar. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Cetakan I. Jakarta: UI Press.
- Khopkar. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Cetakan IV. Jakarta: UI Press.

- Kristina, Rita, Siti, Molide. 2007. *Peluang Peningkatan Kadar Kurkumin pada Tanaman Kunyit dan Temulawak*. Surabaya: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Kurniawan, A. P. 2010. *Pembuatan Etanol dari Sampah Pasar Melalui Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi Bakteri Zymomonasmobilis*. Surabaya: Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS.
- Majeed, Badmaev, Shivakumar, & Rajendran. 2000. *Research Report from Sabinsa Corporation in Curcuminoids: Antioxidant phytonutrients*. [serial online]. www.curcuminoids.com/antioxidant.htm. [17 Februari 2015].
- Manoi. 2004. Standar Prosedur Operasional Penanganan Pasca Panen Kunyit. [serial online]. http://balitro.litbang.pertanian.go.id/ind/images/_publikasi/_sop/sopgabung/Microsoft%20Word%20-%203-Kunyit.pdf. [2 April 2016].
- Mulja, M. & Suharman. 1995. *Analisis Instrumen*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Nanang. 2013. Pengaruh Pemanasan Filtrat Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Pertumbuhan Koloni Bakteri Coliform secara In Vitro. *Jurnal Lentera Bio.*, **2** (3): 217-221.
- Ohsiro, M., Kuroyanagi M, & Ueno, A. 1990. Structures of Sesquiterpenes from *Curcuma longa*. *J. Phytochem.*, **29**(7): 2201-2206.
- Pakoles. 2015. *EM4 untuk Peternakan*. [serial online]. <http://pakoles.com/?page=division&div=3>. [5 Februari 2015].
- Purwanti. 2008. *Kajian Efektivitas Pemberian Kunyit, Bawang Putih, dan Mineral Zink Terhadap Pervorma, Kadar Lemak, Kolesterol, dan Status Kesehatan Broiler*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, M. S. & Nurhayati. 2005. Penggunaan EM-4 dalam Pengomposan Limbah Teh Padat. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*, Volum **3** No. 2.
- Rao, M. B, Tanksale, A. M, Ghatge, M. S, & Deshpande, V. V. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proleases. *J. Microbiol. Mol. Bio. Rev.*, **62**: 597-635.
- Sciencelab. 2015. *Curcumin*. [serial online]. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9923607>. [18 April 2015].

- Srinivasan, K. R. 1953. A Chromatographic Study of the Curcuminoids in *Curcuma longa* L. *J. Pharm. Pharmacol.*, **5**: 448-457.
- Sudarsono, G. D. & Wahyuono, S. 1996. *Tumbuhan Obat II: Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
- Sudjadi. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Syahrurachman, A. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Syukur dan Hermani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Taryono. 2001. *Budidaya dan Pengolahan Tanaman Kunyit (Curcuma domestica Val.)*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Teerapatr, S., Kaewvimol, L., & Saengow, L. 2004. Approach of Cassava Waste Pretreatments for Fuel Ethanol Production in Thailand. *J. Sci. Res.Chula. Univ.*, Vol. **31**, No. 1.
- Thomas, T. D. & Pritchard, G. G. 1987. Proteolytic Enzymes from Dairy Starter Cultures. *Fed. Eur. Microbiol. Soc. Microbiol. Rev.*, **46**: 245.
- Tjitrosoepomo, G. 1990. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Pres.
- Wang, Pan, Cheng, Lin, Ho, Hseieh, & Lin. 1997. Stability of Curcumin in Buffer Solutions and Characterization of Its Degradation Products. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15**:1867-1876.
- Widyastuti, H., Isroi, & Siswanto. 2009. *Keefektifan Beberapa Decomposer untuk Pengomposan Limbah Sludge Pabrik Kertas sebagai Bahan Baku Pupuk Organik*. Bandung: Balai Penerbit Pulp dan Kertas.
- Zainuddin, D & Wakradihardjo, E. 2002. *Racikan Ramuan Tanaman Obat dalam Bentuk Larutan Jamu dapat Mempertahankan dan Meningkatkan Kesehatan serta Produktivitas Ternak Ayam Buras*. Bogor: POKJANAS Tumbuhan Obat Indonesia dengan Puslit Perkebunan.

LAMPIRAN

A. Validasi Tanaman Kunyit



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
 Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 377/UN.25.1.9/TU / 2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Putu Irwan Yasa
 NIM : 111810301041
 Jur./Fak./PT : Kimia/FMIPA / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Curcuma longa L. {Syn. *Amomum curcuma* Jacq., *Curcuma domestica* Valetton, *Stissera curcuma* Raeusch. ; Family – Zingiberaceae ; Vernacular name – Kunyit (Ind.); Konye (Mad); Kunir (Jw.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 Februari 2016

Mengetahui,
 Pembantu Dekan I,



Drs. Achmad Sjaifulloh, M.Sc, Ph.D
 NIP 196012161993021001

Ketua Laboratorium

Dra. Dwi Setyati, M.Si
 NIP. 19640417199103200

B. Pembuatan Larutan Standar Kurkumin 240 ppm

Padatan kurkumin ditimbang sebanyak 1,2 gram. Padatan dilarutkan dalam beaker gelas dengan menggunakan aseton. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dengan menggunakan corong kaca. Aseton *p.a* ditambahkan hingga larutan mencapai tanda batas labu ukur.

$$\text{konsentrasi} = \frac{\text{massa zat yang dilarutkan}}{\text{volum labu ukur}}$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{1,2 \text{ gram}}{5 \text{ mL}} = \frac{1,2 \times 10^{-3} \text{ mg}}{5 \times 10^3 \text{ L}} = 240 \text{ ppm}$$

C. Foto Filtrat Ekstrak Kunyit



(1)



(2)



(3)

Catatan:

(1) Filtrat hasil fermentasi dengan EM4, (2) Filtrat tanpa fermentasi dengan Em4 (kontrol1), (3) Filtrat hasil maserasi dengan kloroform (kontrol2)

D. Perhitungan Kadar Air

$$\text{kadar air}(\%) = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir})}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air rata - rata} (\%) = \frac{\sum \text{kadar air}}{\text{jumlah data}}$$

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Kadar air (%)
1	1.0187	0.0577	94.33
2	1.0042	0.0673	93.30
3	1.0033	0.0853	91.50
Kadar air rata-rata			93.04

Catatan:

Rumus perhitungan pengulangan ke dua dan ketiga sama dengan pengulangan 1

a. Pengulangan 1

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(1,0187 - 0,0877)}{1,0187} \times 100\% = 94,33 \%$$

b. Kadar air rata-rata

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(94,33 + 93,30 + 91,50)}{3} = 93,40 \%$$

E. Perhitungan Rendemen

$$\text{Massa kunyit kering} = \frac{\text{massa kunyit basah}}{100\%} \times (100 - \text{Kadar air rata - rata})$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{massa kunyit kering}} \times 100\%$$

Nama ekstrak	Berat ekstrak (g)	Berat kunyit (g)	Rendemen (%)
DE (1)	0.10	50.08	2.87
DE (2)	0.07	50.02	2.01
DE (3)	0.07	50.02	2.01
TE (1)	0.03	50.08	0.86
TE (2)	0.03	50.02	0.86
TE (3)	0.03	50.00	0.86
Kontrol (2)	0.31	50.00	5.30

Catatan:

DE1= Ekstrak kunyit hasil fermentasi dengan EM4 pengulangan 1

TE1= Ekstrak kunyit tanpa EM4 pengulangan 1

Kontrol 2= Ekstrak kunyit hasil maserasi dengan kloroform

Rumus perhitungan Rendemen DE(2), DE (3), TE, dan kontrol 2 sama dengan DE(1)

Persen rendemen DE(1)

$$\text{Massa kunyit kering} = \frac{50.00}{100\%} \times (100 - 89.40) = 3.48 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0.10}{3.48} \times 100\% = 2.87 \%$$

F. Pembuatan Fraksi DE dan TE

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

a. Pembuatan Fraksi DE(1)

$$\frac{0,10 \times 10^3}{5 \times 10^3} \text{ ppm} \cdot V_1 = 240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20000 \text{ ppm}} = 60 \times 10^{-3} \text{ mL} = 60 \mu\text{L}$$

b. Pembuatan Fraksi DE(2) dan DE(3)

$$\frac{0,07 \times 10^3}{5 \times 10^3} \text{ ppm} \cdot V_1 = 240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

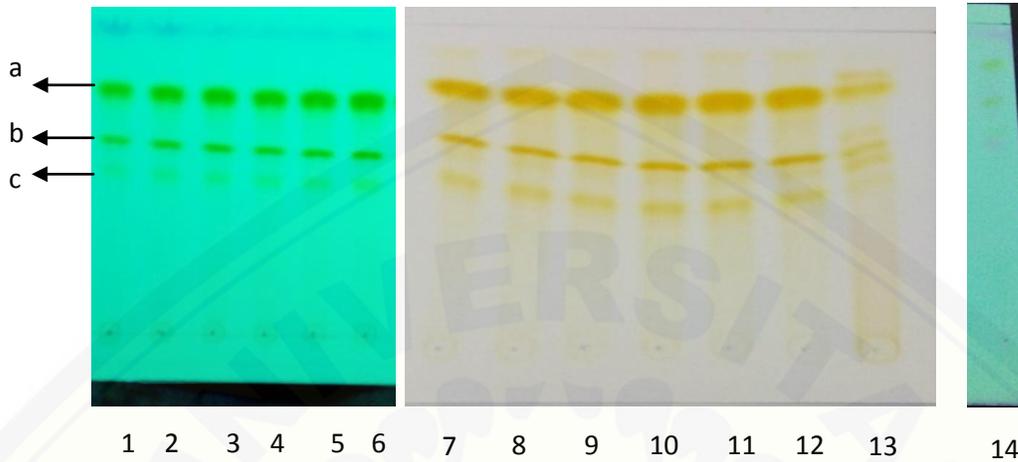
$$V_1 = \frac{240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{14000 \text{ ppm}} = 86 \times 10^{-3} \text{ mL} = 86 \mu\text{L}$$

c. Pembuatan Fraksi TE(1), TE(2), dan TE(3)

$$\frac{0,03 \times 10^3}{5 \times 10^3} \text{ ppm} \cdot V_1 = 240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{240 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{6000 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

G. Kromatogram Hasil Analisis Menggunakan KLT

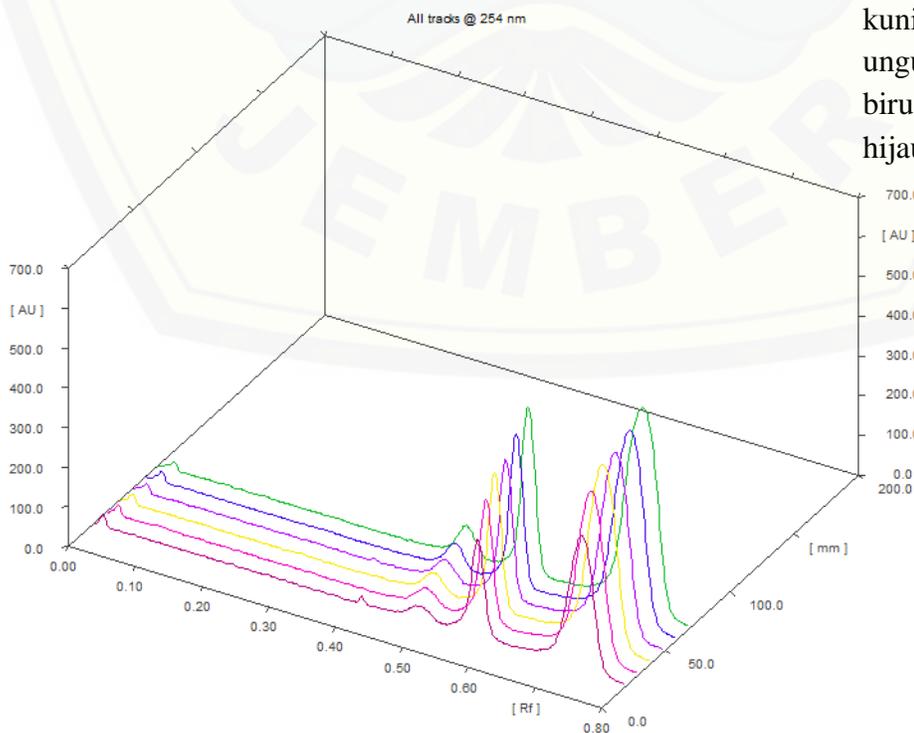


Catatan:

Kromatogram spot pemisahan KLT (No. 1-6 Standar kurkumin, 7-9 Sampel tanpa fermentasi EM4 (TE), 10-12 Sampel hasil fermentasi EM4 (DE), 13 Sampel hasil ekstraksi dengan kloroform kontrol 2, 14 Kurkumin hasil fermentasi a= spot kurkumin, b= demetoksi kurkumin, c= bisdemetoksi kurkumin)

H. Linieritas

H.1 Gambar 3D Standar Kurkumin



Ungu tua	= 1200 ng
Merah muda	= 1526 ng
kuning	= 1877 ng
ungu	= 2210 ng
biru	= 2539 ng
hijau	= 2835 ng

H.2 Data Pemindai dengan *TLC Scanner* Penentuan Daerah Linier

Track	Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
5	0.65 Rf	15.2 AU	0.73 Rf	340.9 AU	50.15 %	0.79 Rf	1.4 AU	10309.5 AU	62.52 %		
4	0.66 Rf	21.5 AU	0.73 Rf	419.7 AU	51.53 %	0.78 Rf	1.7 AU	13300.4 AU	63.58 %		
4	0.65 Rf	23.8 AU	0.72 Rf	456.3 AU	51.23 %	0.78 Rf	3.6 AU	15120.9 AU	65.19 %		
4	0.63 Rf	15.1 AU	0.73 Rf	457.1 AU	51.00 %	0.78 Rf	2.6 AU	15407.6 AU	65.78 %		
4	0.64 Rf	20.8 AU	0.73 Rf	483.8 AU	50.11 %	0.78 Rf	3.8 AU	17008.2 AU	65.86 %		
4	0.64 Rf	22.1 AU	0.73 Rf	511.8 AU	49.07 %	0.79 Rf	1.4 AU	19143.0 AU	65.63 %		

H.3 Hasil Pemindai dengan *TLC Scanner* Penentuan Daerah Linier

$$\frac{\text{massa kurkumin}}{\text{massa total}} = \frac{\% \text{ area kurkumin}}{\% \text{ area total}}$$

Rf	Massa (ng)	Luas Area (AU)
0.73	1200	10309.5
0.73	1526	13300.4
0.72	1877	15120.9
0.73	2210	15407.6
0.73	2535	17008.2
0.73	2835	19143.0

Catatan:

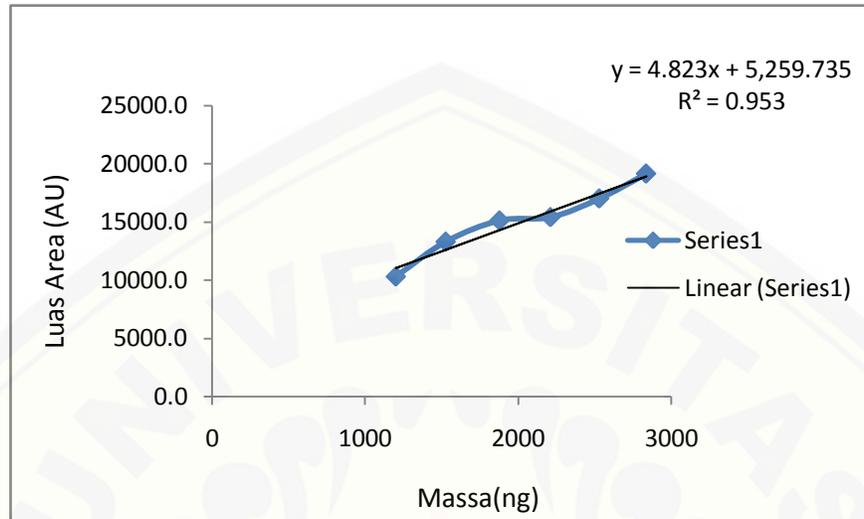
Rumus perhitungan massa kurkumin standar 2-6 sama seperti perhitungan standar kurkumin 1

Standar kurkumin 1

$$\frac{\text{massa kurkumin}}{1920} = \frac{62.52}{100}$$

$$\text{massa kurkumin} = \frac{120038}{100} = 1200 \text{ ng}$$

H.4 Kurva Kalibrasi Daerah Linier



I. Data Penentuan Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit

I.1 Data Sampel dan Kontrol Hasil Pemindai dengan *TLC Scanner*

a. Sampel dengan EM4 (DE)

▪ Pengulangan 1

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.71 Rf	1.9 AU	0.76 Rf	400.5 AU	100.00 %	0.83 Rf	2.5 AU	15194.9 AU	100.00 %	AutoGenerated2

▪ Pengulangan 2

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.71 Rf	0.7 AU	0.78 Rf	372.2 AU	100.00 %	0.84 Rf	0.3 AU	14445.2 AU	100.00 %	AutoGenerated2

▪ Pengulangan3

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.71 Rf	0.8 AU	0.77 Rf	393.2 AU	100.00 %	0.84 Rf	1.4 AU	14644.8 AU	100.00 %	AutoGenerated2

b. Sampel tanpa EM4 (TE)

▪ Pengulangan 1

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.76 Rf	1.3 AU	0.81 Rf	345.2 AU	100.00 %	0.86 Rf	1.2 AU	10483.5 AU	100.00 %	AutoGenerated2

▪ Pengulangan 2

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.73 Rf	1.7 AU	0.78 Rf	366.4 AU	100.00 %	0.84 Rf	1.2 AU	12644.2 AU	100.00 %	AutoGenerated2

▪ Pengulangan 3

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.71 Rf	0.7 AU	0.77 Rf	387.6 AU	100.00 %	0.83 Rf	7.0 AU	14194.7 AU	100.00 %	AutoGenerated2

c. Sampel dengan pelarut kloroform (kontrol 2)

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.78 Rf	0.1 AU	0.82 Rf	68.8 AU	100.00 %	0.84 Rf	5.0 AU	1246.8 AU	100.00 %	AutoGenerated2

d. Kurkumin dengan EM4 (kontrol 3)

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.77 Rf	0.7 AU	0.80 Rf	11.7 AU	100.00 %	0.81 Rf	9.8 AU	186.8 AU	100.00 %	unknown *

I.2 Data dan Perhitungan Kadar Kurkumin

$$\text{faktor pengenceran} = \frac{\text{volum akhir pengenceran}}{\text{volum awal}}$$

$$\text{konsentrasi pengukuran} = \frac{\text{massa kurkumin pengukuran}}{\text{volum penotolan}}$$

$$\text{konsentrasi kurkumin sebelum pengenceran} = \text{Konsentrasi pengukuran} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$\text{Massa kurkumin} = \text{Konsentrasi kurkumin} \times \text{volum total ekstraksi}$$

$$\text{Kadar kurkumin} = \frac{\text{massa kurkumin}}{\text{berat kunyit kering}} \times 100\%$$

No.	Fraksi	Area (AU)	massa (ng)	Volum penotolan (μL)	Konsentrasi kurkumin setelah pengenceran ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Faktor pengenceran	Konsentrasi Kurkumin Sebelum Pengenceran ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Massa kurkumin (μg)	Massa Kunyit kering (g)	kadar (%)
1	DE 1	15194.9	2060.11	50	41.20	83.33	3433.51	17167.57	3.49	0.49
2	DE 2	14445.2	1904.67	50	38.09	58.14	2214.73	11073.63	3.48	0.32
3	DE 3	14644.8	1946.05	50	38.92	58.14	2262.85	11314.25	3.48	0.32
4	TE 1	10483.5	1083.25	50	21.66	25.00	541.62	2708.12	3.48	0.08
5	TE 2	12644.2	1531.25	50	30.62	25.00	765.62	3828.12	3.48	0.11
6	TE 3	14197.7	1853.35	50	37.07	25.00	926.67	4633.37	3.48	0.13
7	Kontrol 2	1741.5	-	50	-	-	-	-	3.48	-
8	Kontrol 3	186.8	-	50	-	-	-	-	-	-

Catatan:

Persamaan garis kurva kalibrasi $\rightarrow y = 4.823x + 5258.743$

DE1= Ekstrak hasil fermentasi dengan EM4 pengulangan 1

TE1= Ekstrak sampel tanpa EM4 pengulangan 1

Kontrol 2= Ekstrak hasil maserasi dengan kloroform

Kontrol 3= Kurkumin dengan penambahan EM4

Volum total ekstraksi dan volum labu ukur sebesar 5 mL

Rumus perhitungan untuk DE (2), DE (3), dan TE sama dengan DE (1)

Kadar DE(1)

- Massa kurkumin hasil pengukuran

$$y = 4.823x + 5258.743$$

$$15194.9 = 4.823x + 5258.743$$

$$x = 2060.11 \text{ ng}$$

- Konsentrasi kurkumin hasil pengukuran

$$\frac{\text{Massa kurkumin pengukuran}}{\text{Volume penotolan}} = \frac{2060,11 \text{ ng}}{50 \mu\text{L}} = 41,20 \text{ ng}/\mu\text{L}$$

- Konsentrasi kurkumin sebelum pengenceran

$$\text{Konsentrasi pengukuran} \times \text{faktor pengenceran} = 41,20 \frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \times 83,33 = 3433,1 \text{ ng}/\mu\text{L}$$

- Massa kurkumin

$$\text{Konsentrasi kurkumin} \times \text{volum total ekstraksi} = 3433.51 \text{ ng}/\mu\text{L} \times 5000 \mu\text{L} = 17 \times 10^6 \text{ ng}$$

- Kadar kurkumin

$$\frac{\text{Massa kurkumin}}{\text{Massa kunyit kering}} = \frac{17 \times 10^6 \text{ g}}{3,49 \text{ g}} \times 100 \% = 0,49 \%$$