



PENGARUH FERMENTASI OLEH *EFFECTIVE MICROORGANISM-4* (EM-4) TERHADAP KADAR KURKUMIN EKSTRAK RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

SKRIPSI

Oleh

**Anita Karolina
NIM 101810301050**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



PENGARUH FERMENTASI OLEH *EFFECTIVE MICROORGANISM-4* (EM-4) TERHADAP KADAR KURKUMIN EKSTRAK RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

SKRIPSI

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

Oleh

Anita Karolina
NIM 101810301050

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

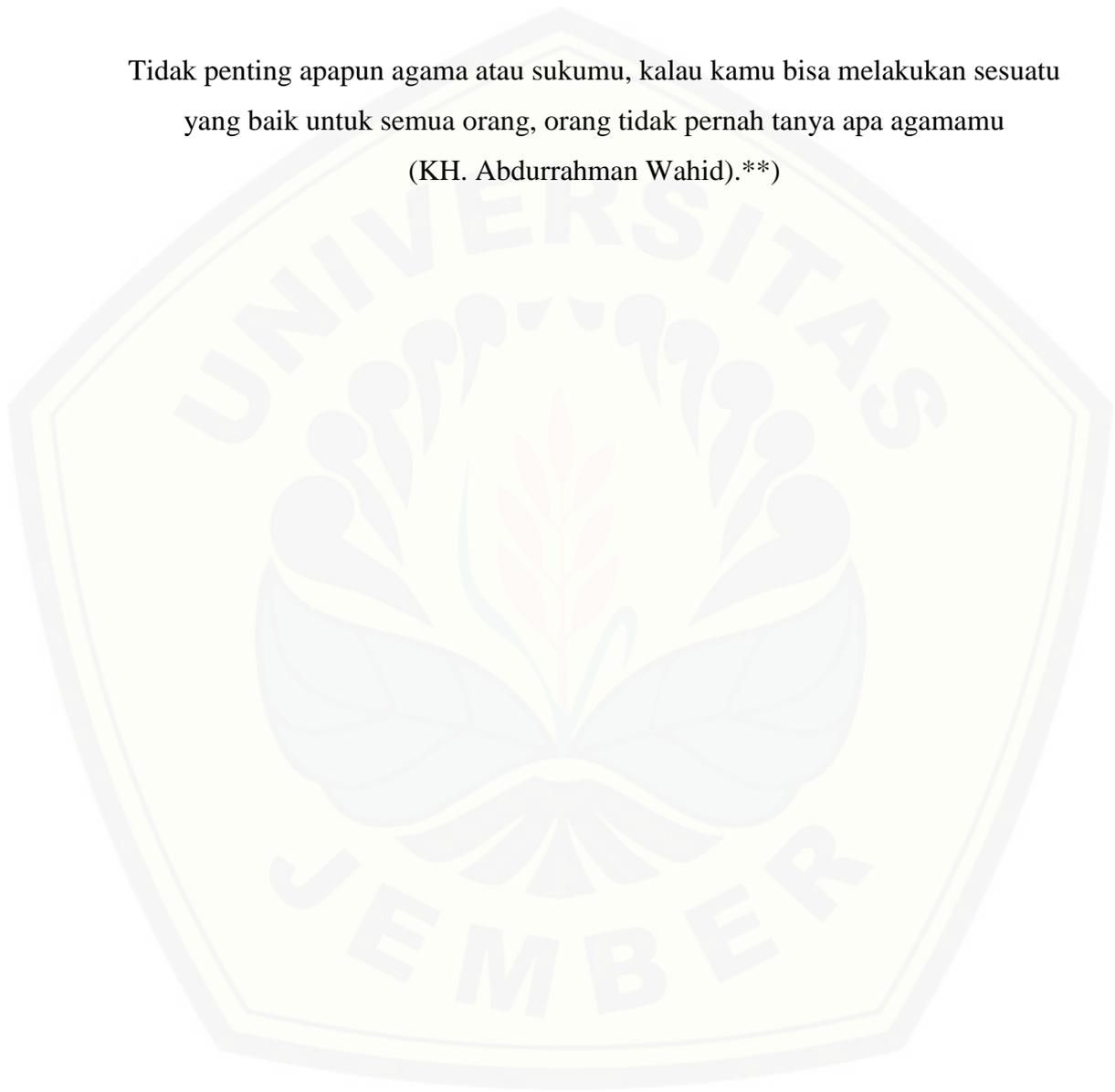
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Rohanah dan Ayahanda Mahmud tercinta, terima kasih atas aliran doa, kasih sayang dan motivasi;
2. Guru-guru sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi, TK Kebonwaris II Pandaan, SDN Kebonwaris Pandaan, SDN Bantarkaler Ciamis, SD Maarif Pandaan, SMPN 1 Pandaan, SMAN 1 Pandaan dan Bapak Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang diberikan;
3. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

Jika kamu tidak dapat menahan lelahnya belajar, maka kamu harus sanggup menahan perihnya kebodohan (Imam Syafi'i).*)

Tidak penting apapun agama atau sukumu, kalau kamu bisa melakukan sesuatu yang baik untuk semua orang, orang tidak pernah tanya apa agamamu (KH. Abdurrahman Wahid).**)



*) Untaian nasehat Imam Asy Syafi'i Rahimahullah

***) Wahid, A. 2011. *Tuhan Tak Perlu Dibela*. Lkis : Yogyakarta.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Anita Karolina

NIM : 101810301050

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Fermentasi oleh *Effective Microorganism-4* (EM-4) terhadap Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)” 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2017

Yang menyatakan,

Anita Karolina

NIM 101810301050

SKRIPSI

PENGARUH FERMENTASI OLEH *EFFECTIVE MICROORGANISM-4* (EM-4) TERHADAP KADAR KURKUMIN EKSTRAK RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Oleh

Anita Karolina

NIM 101810301050

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 oleh *Effective Microorganisms-4* (EM-4) terhadap Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji,

Ketua,

Anggota I,

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.
NIP. 197105011998021002

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.
NIP. 198010012003122001

Anggota II,

Anggota III,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si
NIP. 196008221985032002

Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si
NIP. 198008302006042002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP. 19610204198711101

RINGKASAN

Pengaruh Fermentasi oleh *Effective Microorganisms-4* (EM-4) terhadap Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.); Anita Karolina, 101810301050; 2017; 38 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Jamu atau obat tradisional sudah dikenal dan digunakan di seluruh dunia sejak waktu yang lama. Pemanfaatan jamu bukan hanya untuk manusia, tetapi juga untuk hewan. Terhadap hewan, pemberian jamu dapat meningkatkan produktivitas. Rimpang temu-temuan merupakan bahan utama pembuatan jamu hewan. Salah satunya adalah rimpang dari tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).

Rimpang temulawak mengandung terpenoid, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, kumarin. Rimpang temulawak terkandung kadar pati, abu dan kurkumin. Warna kuning temulawak berasal dari senyawa turunan fenol yang termasuk kelompok kurkuminoid. Ada dua senyawa kurkuminoid yang ditemukan pada temulawak, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Larutan standar kurkumin digunakan untuk pembuatan kurva standar dengan volume 8, 10, 12, 14, 16 dan 18 μl .

Rimpang temulawak yang telah dihaluskan dan ditambahkan EM-4 dengan variasi penambahan volume sebanyak 10, 20, dan 30 mL, serta tanpa penambahan EM-4 difermentasi selama tujuh hari. Hasil fermentasi disaring, filtrat yang dihasilkan diekstraksi menggunakan kloroform, kemudian dievaporasi. Hasil evaporasi dilarutkan sampai tanda batas 5 ml dengan aseton. Sampel dianalisis menggunakan KLT dengan campuran eluen kloroform:etanol:asam asetat glasial (97:2:1). Analisa penentuan kadar dilakukan dengan metode KLT-Densitometri pada panjang gelombang 420 nm.

Kadar kurkumin semakin bertambah seiring dengan semakin banyaknya penambahan volume EM4. Kadar kurkumin dengan penambahan 10, 20 dan 30 ml EM4 berturut-turut yaitu $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg; $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg; dan $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg. Kadar kurkumin dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4 lebih sedikit dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4, yaitu $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg dan $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg dibanding dengan $0,79 \times 10^{-3}$ mg/kg. Sedangkan sampel dengan penambahan 30 ml EM4 mengandung kadar kurkumin lebih besar, yaitu $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg.

Sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4 terbentuk spot selain pada larutan standar yang kadarnya cukup besar sehingga kurkumin yang dihitung menjadi lebih rendah dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4. Sebaliknya, pada penambahan 30 ml EM4, intensitas spot kurkumin yang

terbentuk lebih tebal dibandingkan dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4, dengan senyawa lain lebih sedikit daripada sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4, sehingga kadar kurkumin yang dihitung paling besar.



PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Fermentasi oleh *Effective Microorganisms-4* (EM-4) terhadap Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)”. 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. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Yeni Maulidah Muflihah, S.Si, M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang tak pernah lelah mengarahkan dan membimbing penulis selama menjadi mahasiswa kimia;
6. teknisi-teknisi laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta teknisi laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember;

7. pengelola Hutan Lindung PTPN XII Gajah Mada Jember, Bapak Tugiman, yang telah menyediakan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) untuk sampel penelitian;
8. teman-teman angkatan 2010 (*rumpis*), terima kasih atas semangat, saran, kritik, perhatian, dan kenangan yang telah diberikan;
9. sahabat-sahabat tercinta, Luluk, Anggi, Minin, Ulin, Lena, Rani, Maya, Cinde, Dany, Melly, Putu terima kasih atas doa, dorongan, semangat, dan dukungannya;
10. teman-teman HIMAKI 2012-2013, BEM 2013-2014 dan DPP Ikahimki 2012-2014, terimakasih atas pengalaman non akademik yang berharga;
11. sahabat pergerakan “Rumah Biru Kuning”, Zainal Abidin, Kurnia, Dimas, Ulum, Viki, Susilo, Sari, Rizky dan sahabat-sahabat pergerakan yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas indahny perjuangan dalam balutan kebersamaan;
12. adik-adik tersayang, Naik Nur Aidah, Nikmatul Husna Al Hidayah dan Shakila Amelia Azzahra;
13. 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 bagi pembaca.

Jember, 2017

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	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Temulawak	4
2.1.1 Taksonomi tanaman temulawak.....	4
2.1.2 Morfologi tanaman temulawak	4
2.1.3 Kandungan kimia rimpang temulawak	6
2.1.4 Kurkumin.....	6
2.1.5 Kegunaan temulawak.....	7
2.2 Ekstraksi	9
2.3 Effective Microorganisms-4 (EM-4)	9

2.3.1 <i>Lactobacillus casei</i>	9
2.3.2 <i>Saccharomyces cereviceae</i> (Yeast/ragi).....	10
2.3.3 <i>Rhodopseudomonas palustris</i> (Bakteri fotosintetik).....	10
2.4 Fermentasi	11
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (<i>Thin Layer Chromatography</i>)	12
2.6 Densitometri	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat	16
3.2.2 Bahan	16
3.3 Diagram Alir Penelitian	17
3.4 Prosedur Kerja	18
3.4.1 Uji keabsahan rimpang.....	18
3.4.2 Preparasi sampel.....	18
3.4.3 Uji kadar air rimpang.....	18
3.4.4 Fermentasi sampel.....	18
3.4.5 <i>Scanning</i> penentuan panjang gelombang maksimum	19
3.4.6 Pembuatan kurva standar kurkumin.....	19
3.4.7 Analisis kadar kurkumin.....	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Rimpang Temulawak	21
4.2 Kadar Air Rimpang Temulawak	21
4.3 Fermentasi Sampel	22
4.4 Panjang Gelombang Maksimum Kurkumin	25
4.5 Kurva Standar Kurkumin	26
4.6 Kadar Kurkumin Hasil Ekstraksi Rimpang Temulawak	28
BAB 5. PENUTUP	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33

DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	39



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rendemen hasil fermentasi.....	24
4.2 Kadar kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak.....	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman temulawak.....	5
2.2 Rimpang temulawak	5
2.3 Senyawa kurkumin dan turunannya	7
2.4 Proses elusi pada KLT	14
4.1 Temulawak hasil panen dan telah dibersihkan	21
4.2 Hasil ekstraksi sampel rimpang temulawak	23
4.3 Hasil <i>scanning</i> panjang gelombang maksimum temulawak.....	25
4.4 Noda standar kurkumin	27
4.5 Kurva standar larutan kurkumin.....	28
4.6 Noda sampel hasil pemisahan dengan KLT	29

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Validasi Tanaman Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....	39
B. Perhitungan dan Data Kadar Air Rimpang Temulawak	40
C. Perhitungan rendemen	41
D. Pembuatan Larutan Standar Kurkumin	42
E. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	43
F. Hasil Analisis Kromatografi menggunakan <i>TLC Scanner</i>	44
G. Data Penentuan Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Rimpang Temulawak	46
H. Data Perhitungan Kadar Kurkumin	53

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jamu atau obat tradisional sudah dikenal dan digunakan di seluruh dunia sejak waktu yang lama (Bakri, 2002). Penggunaan obat yang berasal dari bahan-bahan yang tersedia di alam, oleh masyarakat Indonesia sudah dimulai sejak zaman dahulu, terutama dalam upaya pencegahan penyakit, peningkatan daya tahan tubuh, menjaga kebugaran tubuh, bahkan digunakan untuk kecantikan wanita (BPOM RI, 2011).

Pemanfaatan jamu bukan hanya untuk manusia, tetapi juga untuk hewan ternak. Peternak memanfaatkan jamu dengan tujuan untuk meningkatkan produktivitas hewan ternak. Jamu untuk hewan ternak telah dimanfaatkan oleh peternak pada peternakan tradisional di daerah dan penggunaannya semakin meningkat, meskipun sosialisasi dan promosi obat atau jamu untuk hewan ternak kurang gencar dibandingkan jamu untuk manusia (Sarwono, 2005).

Rimpang temu-temuan merupakan bahan utama pembuatan jamu hewan. Salah satunya adalah rimpang dari tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Pembuatan jamu herbal untuk ternak tergolong mudah dan sederhana. Bahan mula-mula dibersihkan kemudian dicuci, selanjutnya dirajang dan dihaluskan, kemudian ditambahkan dengan larutan *Effective Microorganism-4* (EM-4) sebagai fermentor, kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan didiamkan selama beberapa hari. Setelah beberapa hari, kemudian campuran disaring dan fitratnya merupakan jamu herbal yang siap digunakan (Harwono, 2013).

Rimpang temulawak mengandung terpenoid, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, kumarin (Halim *et al.*, 2012). Menurut Hayani (2006), dalam rimpang temulawak terkandung kadar pati, abu dan kurkumin. Warna kuning temulawak berasal dari senyawa turunan fenol yang termasuk kelompok kurkuminoid. Ada dua senyawa kurkuminoid yang ditemukan pada temulawak, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin (Said, 2007). Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Mary *et al.*, 2012).

Senyawa kurkumin berkhasiat sebagai kolagoga, yaitu meningkatkan sekresi cairan empedu yang berperan dalam pencegahan lemak dan memperlancar pengeluaran empedu ke usus sehingga dapat menurunkan kadar lemak darah yang tinggi (Wijayakusuma, 2008). Senada dengan kurkumin, kandungan minyak atsiri dalam temulawak memiliki sifat koleretik, yaitu mempercepat sekresi empedu yang menyebabkan semakin cepat proses pengosongan lambung serta pencernaan dan absorpsi lemak di usus (Ozaki & Liang, 1988), sehingga menimbulkan efek meningkatkan nafsu makan.

Pada proses pembuatan jamu hewan, bahan-bahan jamu difermentasi dengan EM4 selama tujuh hari. EM4 merupakan campuran mikroorganisme *Lumbricus* (bakteri asam laktat), bakteri fotosintetik, *Actinomycetes*, *Streptomyces* sp., dan ragi, yang bermanfaat dalam proses pengomposan (Djuarnani, *et al.*, 2005). Material yang kompleks akan diurai menjadi bahan organik yang lebih sederhana, sehingga fermentasi temulawak kemungkinan dapat mempengaruhi kadar kurkumin dalam ekstrak temulawak.

Analisa kurkumin dapat dilakukan dengan beberapa metode, seperti metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Sembiring, 2006 dan Cahyono, 2011), Spektrofotometer UV-Vis (Anggoro, 2015) serta metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri (Pothitirat, 2005; Cahyono, 2011; Himesh, 2011). Metode KLT memiliki beberapa keuntungan dibanding dengan metode lain yaitu lebih mudah, lebih cepat dan dapat mendeteksi seluruh komponen yang terkandung dalam sampel. Sehingga, penelitian pengaruh penambahan EM4 terhadap kurkumin ekstrak temulawak ini menggunakan metode KLT – Densitometri.

1.1 Rumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh fermentasi EM4 dan volume EM4 terhadap kadar kurkumin dari ekstrak temulawak yang analisa kualitatif dan kuantitatifnya menggunakan teknik KLT-Densitometri. Oleh karena itu, rumusan masalah yang akan diteliti adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh penambahan EM4 terhadap kadar total kurkumin hasil ekstraksi rimpang temulawak?
2. Berapa kadar total kurkumin hasil ekstraksi rimpang temulawak dengan adanya variasi volume dalam penambahan EM4?

1.2 Tujuan

Tujuan yang ingin dicapai berdasarkan rumusan masalah di atas adalah:

1. Mengetahui pengaruh penambahan EM4 terhadap kadar total kurkumin hasil ekstraksi rimpang temulawak.
2. Mengetahui kadar total kurkumin hasil ekstraksi rimpang temulawak dengan adanya variasi volume dalam penambahan EM4.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan informasi tentang pengaruh penambahan EM4 dan hubungan variasi volume EM4 terhadap kadar total kurkumin dari ekstrak temulawak.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Bagian tanaman temulawak yang digunakan yaitu rimpang temulawak.
- b. Menggunakan EM4 untuk peternakan produksi PT. SONGGOLANGIT PERSADA dengan komposisi bakteri *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhodopseudomonas palustris*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Temulawak

2.1.1 Taksonomi tanaman temulawak

Kedudukan tanaman temulawak dalam tatanama (sistematika) tumbuhan termasuk ke dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i>
Spesies	: <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.

Spesies lain dari kerabat dekat temulawak adalah tanaman temu ireng (*C.aeruginosa* Roxb.), temu putih (*C. zeodaria* Rosc.), dan temu kunyit (*C. domestica* Val.). Temulawak mempunyai beberapa nama daerah, diantaranya adalah koneng gede (Sunda), temo lobak (Madura), dan temulawak (Indonesia) (Rukmana, 1995).

2.1.2 Morfologi tanaman temulawak

Temulawak termasuk dalam tanaman tahunan yang tumbuh merumpun. Tanaman ini berbatang semu dan dapat mencapai ketinggian 2-2,5 meter. Tiap rumpun tanaman terdiri atas beberapa tanaman anakan, dan tiap tanaman anakan memiliki 2-9 helai daun. Daun tanaman temulawak bentuknya panjang dan agak lebar. Lamina daun dan seluruh ibu tulang daun bergaris hitam. Panjang daun sekitar 50-55 cm, lebarnya \pm 18 cm, dan tiap helai daun melekat pada tangkai daun yang posisinya saling menutupi secara teratur (Rukmana, 1995). Tanaman temulawak dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman temulawak

Habitus tanaman dapat mencapai lebar 30-90 cm, jumlah anakan per rumpun antara 3-9 anak. Tanaman temulawak dapat berbunga terus menerus sepanjang tahun secara bergantian yang keluar dari rimpangnya (tipe erantha). Warna bunga umumnya kuning dengan kelopak bunga kuning tua, serta pangkal bunga (inflorescentia) mencapai 1,5 cm. Dalam satu ketiak terdapat 4-6 bunga. Rimpang induk temulawak bentuknya bulat seperti telur, sedangkan rimpang cabang terdapat pada bagian samping yang bentuknya memanjang. Tiap tanaman memiliki rimpang cabang antara 3-4 buah (Rukmana, 1995).



Gambar 2.2 Rimpang temulawak

Warna kulit rimpang sewaktu masih muda maupun tua adalah kuning-kotor. Warna daging rimpang adalah kuning, dengan cita rasa pahit, berbau tajam, serta keharumannya sedang. Rimpang terbentuk dalam tanah pada kedalaman \pm 16 cm. Tiap rumpun tanaman temulawak umumnya memiliki enam buah rimpang tua dan lima buah rimpang muda. Sistem akar tanaman temulawak termasuk akar serabut.

Akar-akarnya melekat dan keluar dari rimpang induk. Panjang akar sekitar 25 cm dan letaknya tidak beraturan (Rukmana, 1995).

2.1.3 Kandungan kimia rimpang temulawak

Rimpang temulawak mengandung zat kuning kurkuminoid, minyak atsiri, pati, protein, lemak, selulosa dan mineral. Komponen yang paling banyak digunakan yaitu kurkuminoid, pati dan minyak atsiri. Ketiga komponen tersebut banyak digunakan dalam rumah tangga sampai industri. Komponen yang paling besar terkandung dalam rimpang temulawak yaitu pati yang memiliki warna putih kekuningan karena juga terkandung kurkuminoid di dalamnya. Kurkuminoid pada temulawak terdiri dari kurkumin dan demetoksikurkumin (Said, 2007).

Rimpang temulawak mengandung minyak atsiri sebanyak 5,80% dan kurkuminoid 4,0% dihitung sebagai kurkumin (Kepmenkes, 2009). Metabolit sekunder yang terkandung dalam temulawak yaitu terpenoid, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid dan kumarin (Halim *et al.*, 2012; Rahardjo & Ajijah, 2007). Terkandung juga senyawa tannin, sterol, protein dan karbohidrat (Anjusha, 2014).

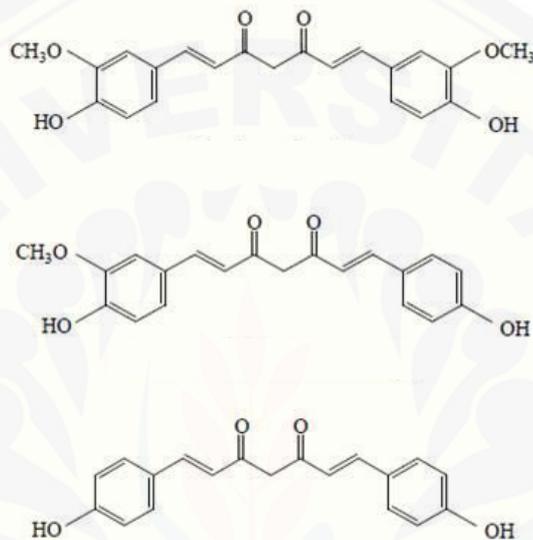
2.1.4 Kurkumin

Kurkumin (diferuloilmetan) tergolong senyawa polifenol dengan massa molar 368,38 g/mol dan rumus molekulnya $C_{21}H_{20}O_6$. Kurkumin tidak larut dalam air dan eter, namun dapat larut dalam alkohol. Di alam, kurkumin selalu terdapat bersama dengan senyawa turunan lainnya yaitu demetoksikurkumin (feruloil-p-hidroksi-sinamoiletan) dan bisdemetoksikurkumin (bis-(p-hidroksinamoil)-metan), yang dikenal dengan nama kurkuminoid (Tonnesen dan Karlsen, 1985). Berikut merupakan struktur senyawa kurkumin dan demetoksikurkumin yang disajikan pada gambar 2.3.

Kurkumin (1,7-bis-4(4'-hidroksi-3'-metoksi fenil)hepta-1,6-diene-3,5-dion) dikenal sebagai bahan alam yang memiliki aktivitas biologis dengan spektrum luas, seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antimutagen. Kurkumin merupakan senyawa yang tidak stabil pada pH diatas 6,5 dan pengaruh cahaya

karena adanya gugus metilen aktif pada strukturnya (Tonnesen dan Karslen, 1985).

Kurkumin lebih stabil pada pH asam dan akan berkurang kestabilannya seiring dengan naiknya pH. Kurkumin stabil pada pH 1,2 dengan kondisi tanpa adanya cahaya. Kurkumin tidak stabil pada bentuk larutan, juga akan sangat mudah terdegradasi jika terkena cahaya (Kumavat, *et al.*, 2013).



Gambar 2.3 Senyawa Kurkumin dan turunannya

2.1.5 Kegunaan temulawak

Temulawak dapat dimanfaatkan sebagai obat, sumber karbohidrat, dan bahan penyedap masakan dan minuman, serta pewarna alami untuk makanan dan kosmetika. Oleh karena itu, di dalam daftar tumbuhan obat di Indonesia, temulawak termasuk tanaman yang prospektif untuk dikembangkan. Semua bagian tanaman temulawak dapat dimanfaatkan. Akan tetapi, bagian yang paling berharga dan dapat dimanfaatkan untuk beberapa macam keperluan adalah rimpangnya (Said, 2007).

Khasiat temulawak sebagai obat telah lama dikenal, baik di dalam negeri maupun di luar negeri, terutama di Jerman dan Belanda. Dalam farmakologi Indonesia, temulawak termasuk salah satu simplisia yang harus tersedia di apotek.

Khasiat temulawak telah banyak diketahui berdasarkan pengalaman (empiris) dan hasil penelitian. Penelitian-penelitian tentang manfaat temulawak telah banyak dilakukan, baik di Indonesia maupun di luar negeri (Said, 2007).

Berdasarkan penelitian dan pengalaman, temulawak telah terbukti berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Misalnya, dapat digunakan untuk pengobatan gangguan fungsi hati (lever), baik pada hepatitis maupun pada perlemakan hati. Sebagai obat gangguan hati, temulawak bekerja sebagai kolagoga, yakni meningkatkan produksi dan sekresi empedu; menurunkan kadar kolesterol hati dan mengaktifkan enzim pemecah lemak di hati. Dalam bentuk rebusan dan ekstrak, temulawak digunakan untuk pengobatan kolelitiasis, kolesistis, dan kerusakan pada hati (Said, 2007).

Rimpang temulawak dapat mencegah penurunan memori (Prasetya & Yuliani, 2014). Temulawak berfungsi untuk meningkatkan nafsu makan dan menjaga stamina tubuh (Dewi, dkk., 2012), antiinflamasi dan analgesik (Ozaki, 1990), menurunkan kadar kolesterol darah (Mide, 2007), antimikroba alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Sylvester, 2015; Anjunsha, 2014; Deasywaty, 2011), antioksidan yang baik (Rosidi, dkk.,) serta sebagai antitumor (Itokawa, dkk., 1985).

Temulawak juga memiliki efek farmakologis dari zat aktif yang terkandung di dalamnya. Beberapa diantaranya yaitu germakon yang memiliki efek farmakologi sebagai Anti-inflamasi (anti peradangan) dan penghambat oedema (pembengkakan); p-toluil metil karbinol dan seskuiterpen d-kamper untuk meningkatkan produksi dan sekresi empedu; serta tumeron sebagai antimikroba (antibiotik) (Afifah, 2004).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu yang didasarkan pada perbedaan kelarutannya. Hal utama yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi adalah pemilihan pelarut yang akan digunakan. Prinsip yang mendasari pemilihan pelarut

adalah kaidah “*like dissolve like*”, yang artinya kepolaran senyawa yang diekstraksi harus sama dengan kepolaran pelarutnya (Harvey, 2000).

Salah satu teknik ekstraksi yang banyak digunakan dalam ekstraksi bahan alam dari beberapa teknik ekstraksi seperti sokhletasi, refluks, dan perkolasi yaitu maserasi. Maserasi menggunakan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi. Teknik maserasi adalah teknik pengekstraksian yang paling klasik. Sampel yang telah dihaluskan kemudian direndam dalam pelarut organik selama beberapa waktu. Kemudian disaring dan hasilnya berupa filtrat. Proses maserasi dapat dilakukan dengan atau tanpa pemanasan, dengan pengocokan dan juga ultrasonik (Ibrahim & Sitorus, 2013).

2.3 *Effective microorganism-4 (EM-4)*

Larutan *effective microorganism-4* yang dikenal dengan EM-4 ditemukan pertama kali oleh Prof. Dr. Teruo Higa dari Universitas Ryukyus, Jepang. Larutan EM-4 berisi mikroorganisme fermentasi. Jumlah mikroorganisme di dalam EM-4 sangat banyak, sekitar 80 genus. Ada lima golongan yang pokok dari sekian banyak mikroorganisme yaitu bakteri fotosintetik, *Lactobacillus* sp., *Streptomyces* sp., ragi (*yeast*), *Actinomycetes* (Indriyani, 2005).

Bakteri fotosintetik, *Lactobacillus* sp., *Streptomyces* sp., ragi (*yeast*), dan *Actinomycetes* dapat membantu mempercepat proses pengomposan. Larutan EM-4 ini biasanya digunakan dalam dunia pertanian. Selain untuk pertanian, EM-4 juga digunakan untuk peternakan.

2.3.1 *Lactobacillus casei*

Bacillus biasanya tumbuh dengan baik pada media sintetik yang berisi gula, asam organik, alkohol, dan juga sebagai satu-satunya sumber karbon. *Lactobacillus casei* tumbuh pada suhu 15°C (Madigan, *et al.*, 1997).

Lactobacillus casei adalah bakteri gram positif yang merupakan anggota dari perluasan klasifikasi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat terdiri dari kelompok mikroba yang tergolong dalam fungsi metabolis pada umumnya. Bakteri asam laktat merupakan gram positif, pembentukan tanpa spora, dan katalase negatif serta tidak memiliki sitokrom (Gaynor, 2012).

Bakteri asam laktat memproduksi asam laktat sebagai hasil penguraian gula dan karbohidrat lain yang bekerja sama dengan bakteri fotosintesis dan ragi. Asam laktat ini merupakan bahan sterilisasi yang kuat yang dapat menekan mikroorganisme berbahaya dan juga dapat menguraikan bahan organik dengan cepat (Indriyani, 2005).

2.3.2 *Saccharomyces cerevisiae* (Yeast/ragi)

Ragi adalah kelompok jamur uniseluler yang berukuran lima hingga dua puluh mikron yang umum digunakan untuk fermentasi roti dan minuman beralkohol. Lebih dari seribu spesies ragi telah teridentifikasi hingga saat ini, dan yang paling umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh secara aerob pada substrat glukosa, maltose, laktosa dan selobiosa. Fruktosa dan galaktosa merupakan substrat terbaik untuk pertumbuhan ragi ini.

Ragi memproduksi substansi yang berguna bagi tanaman dengan cara fermentasi. Substansi bioaktif yang dihasilkan oleh ragi berguna untuk pertumbuhan sel dan pembelahan akar. Ragi ini juga berperan dalam perkembangbiakan atau pembelahan mikroorganisme menguntungkan lain seperti *Actinomyces* dan bakteri asam laktat (Indriyani, 2005).

2.3.3 *Rhodospseudomonas palustris* (Bakteri fotosintetik)

Bakteri fotosintetik merupakan bakteri bebas yang dapat mensintesis senyawa nitrogen, gula dan substansi bioaktif lainnya. Hasil metabolit yang diproduksi dapat diserap secara langsung oleh tanaman dan tersedia sebagai substrat untuk perkembangbiakan mikroorganisme yang menguntungkan (Indriyani, 2005).

Fermentasi adalah reaksi dengan menggunakan biokatalis untuk mengubah bahan baku menjadi produk. Biokatalis yang digunakan adalah bakteri, yeast atau jamur (fungi). Prosesnya dilakukan dalam sebuah bejana yang disebut dengan bioreaktor atau fermentor. Umpan yang masuk ke fermentor disebut substrat. Substrat utama adalah sumber karbon yang digunakan oleh mikroorganisme untuk memberikan energi untuk pertumbuhan dan produksi produk akhir. Sel yang

hidup membutuhkan oksigen untuk memelihara pertumbuhan, sehingga kebutuhan oksigen untuk fermentasi dengan mikroorganisme aerobik disuplai dengan gelembung udara ke dalam fermentor. Fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme anaerobik dilakukan dengan tidak adanya udara. Mikroorganisme ini mendapatkan oksigen dari bahan substrat yang memiliki ikatan kimia dengan oksigen. (Riadi, 2007).

Bahan dasar untuk kebutuhan fermentasi dapat berasal dari hasil pertanian, perkebunan, maupun limbah industri. Bahan dasar yang umum digunakan di negara berkembang adalah molase, jerami, dedak, kotoran binatang, air limbah, sampah sebagai komponen pupuk, sisa pabrik kertas, pabrik susu, dan sebagainya. Fermentasi dapat berjalan pada kondisi aerob maupun anaerob, dan bentuk mediumnya bisa dalam bentuk cair maupun padat (Hidayat *et al.*, 2006).

Fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme anaerobik dilakukan dengan tanpa adanya udara. Mikroorganisme ini mendapatkan oksigen dari bahan substrat yang memiliki ikatan kimia dengan oksigen. Persamaan yang umum untuk proses fermentasi dapat dituliskan sebagai berikut:



Sumber karbon yang umum adalah glukosa, molase dan bahkan etanol. Produk samping yang umum termasuk biomas, karbondioksida dan hidrokarbon seperti etanol (Riadi, 2007).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (*Thin Layer Chromatography*)

Kromatografi pada prinsipnya yaitu suatu teknik pemisahan menggunakan dua fasa, yaitu fasa gerak (*mobile*) dan fasa diam (*stationary*). Pemisahan terjadi berdasarkan distribusi komponen zat yang dianalisa (analit) antara dua fasa tersebut dimana pemisahan komponen terjadi secara diferensial yang dibawa fasa gerak melewati fasa diam. Fasa gerak dapat berupa cairan (kromatografi cair) atau berupa gas (kromatografi gas). Sedangkan fasa diam adalah berupa padatan (adsorpsi) atau cairan (partisi) (Ibrahim dan Sitorus, 2013).

Metode pemisahan secara kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen di antara dua fasa (fasa gerak dan fasa diam) yang memiliki kepolaran berbeda. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi dari komponen-komponen pada campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

Salah satu kromatografi cair yang sering digunakan yaitu kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar yang fasa diamnya berupa lapisan pada permukaan bidang datar yang terdiri dari lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik (Gandjar & Rohman, 2012). Teknik ini dikembangkan tahun 1938 oleh Ismailoff dan Schraiber. Adsorben dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai penunjang fasa diam. Fasa bergerak akan merayap sepanjang fasa diam dan kemudian terbentuk kromatogram. Teknik ini dikenal juga sebagai kromatografi kolom terbuka. Metode ini tergolong sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif. Selain itu, kecepatan pemisahan tinggi dan mudah untuk memperoleh kembali senyawa-senyawa yang terpisahkan (Khopkar, 1990).

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi adsorpsi dan adsorben bertindak sebagai fasa stasioner (fasa diam). Empat macam adsorben yang umum digunakan ialah silika gel (asam silikat), alumina (*aluminium oxyde*), kieselguhr (*diatomeous earth*), dan selulosa. Adsorben yang paling banyak digunakan adalah silika gel dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama pasar bermacam-macam (Adnan, 1997).

Sistem yang paling sederhana pada penggunaan fase gerak (eluen) adalah campuran dua pelarut organik, karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat dengan mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Gandjar & Rohman, 2012).

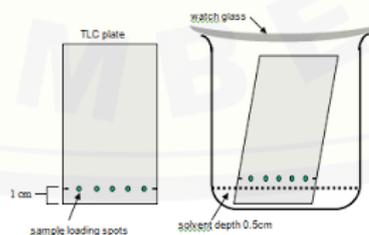
Pengembangan adalah suatu proses pemisahan analit dari sampel berdasarkan pengaruh pergerakan eluen yang merambat pada fase diam karena adanya gaya kapilaritas (Stahl, 1985). Proses pengembangan akan lebih baik bila ruangan pengembangan tersebut telah jenuh dengan uap dari sistem pelarut. Hal ini dapat tercapai dengan meletakkan kertas filter pada dinding ruangan dengan

dasar kertas tersebut tercelup pada pelarutnya. Pengembangan yang dilakukan dalam ruangan tertutup tersebut diakhiri setelah ujung zat pelarut pada plat telah mencapai kira-kira $\frac{3}{4}$ tinggi adsorben. Plat kemudian diambil dan dikeringkan (Adnan, 1997).

Penggunaan umum kromatografi lapis tipis adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, dan menentukan efektivitas pemurnian. Kromatografi lapis tipis digunakan secara luas untuk analisis solut-solut organik, baik untuk analisis kualitatif dengan cara membandingkan nilai R_f solut dengan nilai R_f senyawa baku atau untuk analisis kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2012). Nilai R_f antara 0,2-0,7 dapat menghasilkan pemisahan yang baik (Gitter *et al.*, 1991). Definisi faktor retardasi adalah sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi komponen}}{\text{jarak migrasi fase gerak}}$$

Kromatogram yang berwarna dapat dibaca dengan cepat dan dianalisis. Jika noda yang terpisah pada kertas atau plat tidak tampak, maka diperlukan bantuan untuk membuat noda yang tak tampak ini dapat dibaca. Beberapa bantuan biasanya didapat dari sinar ultraviolet, uap iodin, maupun larutan ninhidrin jika yang dipisahkan memberikan warna pada indikator-indikator tersebut (Wonorahardjo, 2013).



Gambar 2.4 Proses elusi pada KLT

Kromatogram pada kromatografi lapis tipis merupakan noda-noda yang terpisah dan tampak setelah dilakukan visualisasi secara fisika atau kimia. Noda

kromatogram tiap-tiap komponen yang terpisah secara visualisasi tampak sebagai noda yang bulat jika telah terjadi pemisahan yang baik. Konsentrasi terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya kromatogram yang tidak bulat (berekor). Penyebab pengekoran yang lain adalah ketidakjenuhan *chamber*, ketidaktepatan pemilihan fase gerak terhadap fase diam, dan macam sampel yang dianalisis (Mulja & Suharman, 1995).

Dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan kromatografi gas (KG), kromatografi lapis tipis mempunyai beberapa keuntungan, yaitu:

1. Kromatografi lapis tipis memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam hal memilih fase gerak.
2. Berbagai macam teknik untuk optimasi pemisahan seperti pengembangan dua dimensi dan pengembangan bertingkat dapat dilakukan pada KLT.
3. Proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan dapat dihentikan kapan saja.
4. Semua komponen dalam sampel dapat terdeteksi

(Rohman, 2009).

2.6 Densitometri

Densitometri adalah metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan noda pada KLT. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada KLT yang ditentukan adalah absorpsi, transmisi, refleksi pendar fluor atau pemadaman pendar fluor dari radiasi semula. Densitometri lebih dititikberatkan untuk analisis kuantitatif analit-analit dengan kadar yang sangat kecil yang sebelumnya perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu (Mulja & Suharman, 1995).

Metode densitometri digunakan untuk penetapan kadar suatu senyawa pada lempeng kromatografi, menggunakan instrumen *TLC-Scanner* atau biasa disebut densitometer, serta pengukuran dilakukan dengan cara mengukur serapan analit (cahaya yang diukur dapat berupa cahaya yang dipantulkan atau diteruskan),

pemadaman fluoresensi untuk lapisan yang mengandung bahan berfluoresensi analit atau hasil reaksi analit. *TLC-Scanner* berfungsi untuk mengukur tingkat kepekatan atau intensitas warna yang terdapat pada suatu permukaan (bidang datar) dan dilengkapi dengan spektrofotometer yang panjang gelombangnya dapat diatur dari 200-700 nm. Sinar yang dipantulkan mengalami hambatan pendukung lempeng dan keseragaman fase diam. Sinar yang dipantulkan dengan arah yang sudah pasti yaitu menuju bercak noda, sehingga dapat dipantau berapa jumlah sinar yang diserap oleh noda. Sinar ini sangat sensitif, maka untuk setiap senyawa perlu diketahui panjang gelombang maksimumnya (Mulja & Suharman, 1995).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret 2016 hingga September 2016. Persiapan sampel dan analisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, sedangkan proses pemindaian dengan menggunakan *TLC-Scanner* dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

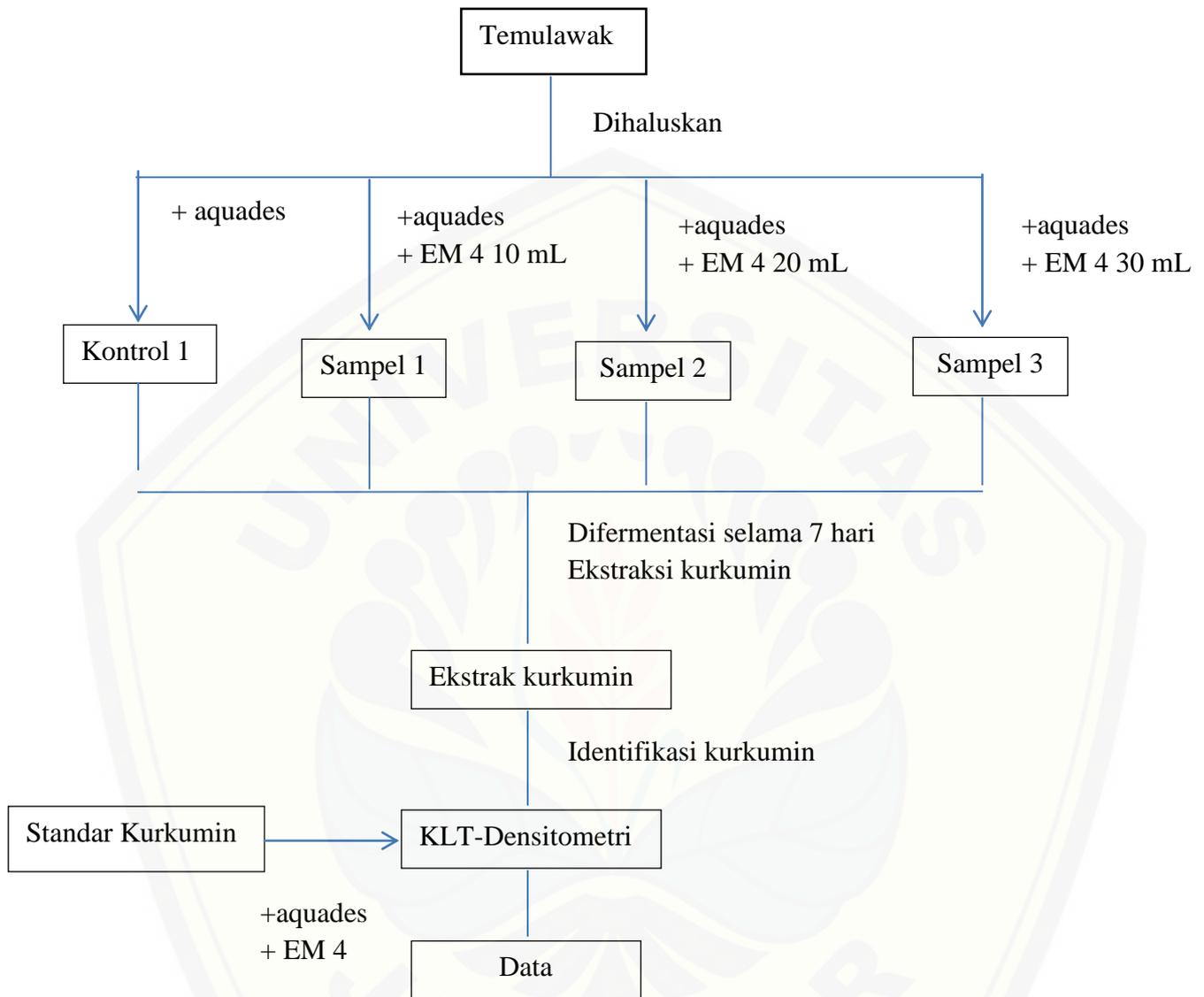
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: pisau, *blender*, pinset, *cutter*, penggaris 30 cm, neraca analitik, botol bertutup, ball pipet, pipet tetes, pipet mohr 5 ml, pipet mohr 1 ml, pipet mikro (5–50) μl , pipet mikro (1–10) μl , labu ukur 10 ml, labu ukur 5 ml, spatula, botol semprot, corong pisah 500 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas kimia 200 ml, bejana (*chamber*) ukuran (22 x 20 x 5) cm^3 , *hair dryer*, lampu UV Chromato-Vue[®] C-75 UV Viewing Cabinet 245 nm dan 366 nm, spektrofotometer *Visible* Hitachi U-1800, CAMAG *TLC Scanner* 3.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: rimpang temulawak, larutan EM4, akuades, kertas saring, plastik wrap, aluminium foil, kloroform p.a, etanol p.a, asam asetat glasial p.a, aseton p.a, plat KLT Silika Gel F₂₅₄.

3.3 Diagram Alir Penelitian



3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Uji keabsahan rimpang

Uji keabsahan rimpang temulawak dilakukan di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.4.2 Preparasi sampel

Tanaman rimpang temulawak dicuci untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada rimpang. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat yang terkandung dalam rimpang. Rimpang yang telah dibersihkan ditimbang ± 50 gram sebanyak 12 wadah dengan berat yang sama. Hasil penimbangan dihaluskan dengan menggunakan *blender*. Dari sampel yang sama, digunakan sebagian untuk uji kadar air.

3.4.3 Uji kadar air rimpang

Simplisia ditimbang seberat ± 5 gram (W_1), kemudian diletakkan dalam wadah. Wadah berisi simplisia dimasukkan ke dalam oven selama 60 menit pada suhu 105°C . Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 10 - 20 menit dan ditimbang (W_2). Perlakuan tersebut dilakukan berulang-ulang hingga memperoleh berat konstan. Kadar air simplisia dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

(Nielsen, 2010).

3.4.4 Fermentasi sampel

Hasil penghalusan masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Tiga erlenmeyer pertama ditambahkan aquades 100 ml dan diaduk hingga homogen, Tiga erlenmeyer kedua ditambahkan dengan 10 ml EM-4 dan aquades 100 ml kemudian diaduk hingga homogen. Tiga erlenmeyer ketiga ditambahkan dengan 20 ml EM4 dan aquades 100 ml, kemudian diaduk hingga homogen. Tiga erlenmeyer sisanya ditambahkan dengan 30 ml EM4 dan aquades 100 ml,

kemudian diaduk hingga homogen. Semua erlenmeyer ditutup dengan plastic wrap. Semua campuran kemudian didiamkan (difermentasi) selama tujuh hari. Setelah tujuh hari, sampel disaring dengan penyaring kasar, kemudian disaring lagi dengan kertas saring. Filtrat kemudian diekstraksi dengan 50 ml kloroform sebanyak tiga kali pengulangan dengan menggunakan corong pisah. Fraksi kloroform selanjutnya dipekatkan dengan evaporator. Padatan yang diperoleh lalu ditimbang untuk dihitung jumlah rendemennya.

Kurkumin standar ditimbang sebanyak 1 mg, dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditambahkan dengan aquades dan EM4, diaduk hingga homogen, didiamkan selama tujuh hari. Kurkumin standar ini digunakan sebagai kontrol positif.

3.4.5 *Scanning* penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan standar kurkumin 1 ppm dimasukkan ke dalam kuvet. Dilakukan *scanning* menggunakan spektrofotometer *visible* pada rentang panjang gelombang 350–450 nm dengan interval 2 nm.

3.4.6 Pembuatan kurva standar kurkumin

Larutan standar kurkumin 10 ppm ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 dan 20 μ l. Penotolan dilakukan pada jarak 1 cm dari bawah, kanan dan kiri plat, jarak antar totolan 1 cm. Eluen yang digunakan yaitu campuran dari pelarut kloroform:etanol:asam asetat glasial dengan perbandingan 97:2:1. Eluen dibiarkan hingga berjalan 9,5 cm dari batas bawah plat KLT. Plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan menggunakan *hair dryer*. Plat KLT dipindai menggunakan *TLC-Scanner*. Data yang diperoleh dibuat kurva standar kurkumin dengan sumbu x merupakan massa (ng) dan sumbu y merupakan luas area (AU).

3.4.7 Analisis kadar kurkumin

Padatan yang diperoleh dari prosedur 3.4.4 masing-masing dilarutkan dengan aseton menggunakan labu ukur 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam

botol vial. Masing-masing sampel ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipet mikro 1-10 μl . Penotolan dilakukan secara bertahap dengan proses pengeringan menggunakan *hair dryer*. Penotolan dilakukan pada jarak 1 cm dari batas bawah plat, 1 cm dari samping kanan dan kiri plat, dan jarak masing-masing totolan adalah 1 cm. Setelah prose penotolan, plat diekspansi hingga berjalan 9,5 cm dari batas bawah plat. Plat diangkat dan dikeringkan. Plat KLT dipindai menggunakan *TLC-Scanner* pada panjang gelombang yang diperoleh pada prosedur 3.4.5. Kontrol yang digunakan yaitu sampel tanpa penambahan EM4 (kontrol negatif) dan larutan standar kurkumin yang difermentasi (kontrol positif). Perubahan konsentrasi senyawa kurkumin dalam ekstrak temulawak ditentukan dengan cara membandingkan luas *peak area* spot yang R_f -nya sama pada sampel dibandingkan dengan kontrol.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Semakin banyak volume EM4 yang ditambahkan, semakin besar kadar kurkumin yang diperoleh. Kadar kurkumin yang diperoleh berturut-turut untuk penambahan EM4 10, 20 dan 30 EM4 sebesar $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg; $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg; dan $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg.
2. Sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4 terbentuk spot baru yang tidak terdapat pada larutan standar kurkumin (spot b dan d), dengan kadar yang cukup besar, sehingga kadar kurkumin yang dihitung menjadi lebih rendah dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4. Sebaliknya, pada penambahan 30 ml EM4, intensitas spot kurkumin yang terbentuk lebih tebal dibandingkan dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4. Spot b dan d yang terdapat pada lane 30 ml EM4 ini lebih tipis dibandingkan spot yang terdapat dalam sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4. Hal ini menyebabkan kadar kurkumin yang dihitung menjadi paling besar.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini yaitu:

1. Perlu dilakukan analisa lebih lanjut untuk mengetahui noda hasil eluasi yang tidak memiliki nilai Rf sama dengan larutan standar kurkumin.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penambahan EM4 di antara nol (tanpa penambahan EM4) hingga 30 ml dengan interval penambahan volume yang lebih kecil (0, 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 ml) untuk mengetahui kadar total kurkumin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. *Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta: ANDI.
- Afifah, E. 2004. *Khasiat & Manfaat Temulawak Rimpang Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Ambarsari, Nurcholis, Darusman, Mujib dan Heryanto. 2014. The Curcuminoids Extract of *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. Loaded Solid Lipids Nanoparticles. *International Journal of Science and Research*, 3 (10): 852 – 856.
- Anggoro, D., Rezki, R. S., dan Siswarni. 2015. Ekstraksi Multistahap Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 4 (2).
- Anjusha, S. & Gangaprasad, A. 2014. Phytochemical and Antibacterial Analysis of Two Important *Curcuma* species, *Curcuma aromatic* Salisb. And *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacy and Phytochemistry*. Vol. 3 (3): 50 – 53.
- Aronson, JK. 2009. *Meyler's Side Effect of Herbal Medicines*. Oxford University: United Kingdom.
- Azizah, B. dan Salamah, N. 2013. Standarisasi Parameter Non Spesifikasi dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 3, No. 1: 21 – 30.
- Bakri, B.D. 2002. *Uji Adaptasi Pemberian Jamu pada Ayam Buras Potong*. Jakarta: BTP.
- Badan POM RI. 2011. *Info Badan POM RI : Mari Minum Obat Bahan Alam dan Jamu dengan Baik dan Benar*. Vol. 12 (3): 1829 – 9334.
- Braithwaite, A dan Smith, F.J. 1996. *Chromatographic Methods*. 5th ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Cahyono, B., Huda, M. D. K., Limantara, L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*, Vol. 13 (3): 165 – 171.
- Cannell, R. J. P. 1998. *Natural Products Isolation*. New Jersey: Humana Press Inc.
- Darwis, S.N, Indo, M., dan Hasiyah, S. 1991. *Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae*. Bogor: Pusat Penelitian Pengembangan Industri.

- Deasywati. 2011. "Aktivitas Antimikroba dan Identifikasi Komponen Aktif Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)". Tesis. Depok: Program Pascasarjana Universitas Indonesia.
- Dewi, M., Aries, M., Hardinsay, Dwiriani, C.M., dan Januwati, N. 2012. Pengetahuan Tentang Manfaat Kesehatan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Serta Uji Klinis Pengaruhnya pada Sistem Imun Humoral pada Dewasa Obes. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. Vol. 17 (3): 166 – 171.
- Djuarnani, N., Kristian., Setiawan, B.S., 2005. *Cara Cepat Membuat Kompos*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Endrasari, R., Qanytah., dan Prayudi, B. 2008. *Pengaruh Pengeringan terhadap Mutu *Simplisia* Temulawak di Kecamatan Tembalang Kota Semarang*. Semarang: Balai Pengkajian Teknologi Jawa Tengah.
- Fitrianti, S.C. 2011. Diferensiasi Temulawak, Kunyit, dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan *IMAGEJ*. Skripsi. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E., *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua. Alih bahasa oleh Kosasih Padmawinata. 1991. Bandung: Penerbit ITB.
- Halim, Tan, Ismail, dan Mahmud. 2012. Standarization and Phytochemical Studies of *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science*, 4 (3): 606 – 610.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. New York: McGraw – Hill Comp.
- Harwono, R. 2013. *Jamu Herbal untuk Ayam Kampung*. Tanpa tahun.
- Hayani, E. 2006. Analisis Kandungan Kimia Rimpang Temulawak. Bogor : Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi Dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Hidayat, N. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi Yogyakarta.
- Himesh, S., Sharan, P.S., Mishra, Govind, N. dan Singhai. 2011. Qualitative and Quantitative Profile of Curcumin from Ethanolic Extract of *Curcuma Longa*. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol. 2 (4): 180 – 184.

- Ibrahim, S. & Sitorus, M., 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Indriyani, Y. H., 2005. *Membuat Kompos Secara Kilat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Itokawa, H., Hirayama, F., Funakoshi, K., Takeya, K. 1985. Studies on the Antitumor Bisabolane Sesquiterpenoids Isolated from *Curcuma xanthorrhiza*. *Chem. Pharm. Bull.* Vol. 33, No. 8: 3488 – 3492.
- Khopkar, S.M., 1985. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Alih bahasa oleh A. Saptorahardjo. 1990. Jakarta: UI-Press.
- Kumavat, Chaudari, Borole, Mishra, Shenghani dan Duvvuri. 2013. Degradation Studies of Curcumin. *International Journal of Pharmacy Review and Research*, 3 (2): 50 – 55.
- Liang, Y., Xie, P., dan Chan, K. 2004. Quality Control of Herbal Medicines. *Journal of Chromatography B*, 812 (2004): 53 – 70.
- Mangunwardoyo, W., Deasywaty, dan Usia, T. 2012. Antimicrobial and Identification of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* roxb. *International Journal of Basic and Applied Science*, 12 (01): 69 – 78.
- Mide, M. Z. 2007. *The Uses of Curcuma xanthorrhiza to Reduce Abdominal Fat and Blood Cholesterol in Broiler*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Makassar: Universitas Hassanudin Makassar.
- Monod, J. 1949. The Growth of Bacterial Cultures. *Annual Reviews Microbial*, 3, 371-394.
- Mujahid, R., Awal, P.K.D dan Nita, S. *Maserasi sebagai Alternatif Ekstraksi pada Penetapan Kadar Kurkuminoid simplisia Temulawak*. Surakarta: Balai Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu.
- Mulja, M. & Suharman, 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Nielsen, S. 2010. *Food Analysis*. 4th ed. USA: Perdue University.
- Ozaki, Y. 1990. Antiinflammatory Effect of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb and Its Active Principles. *Chem. Pharm. Bull.* Vol. 38. No. 4: 1045 – 1048.
- Ozaki, Y. dan D. B. Liang. 1988. Cholagogic Action of the Essential Oil Obtained from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Shoyakugaku Zasshi*. 42 (4): 257 – 263.
- Persada, Songgolangit PT. EM4 Peternakan. <http://www.em4-indonesia.com> [Diakses pada 28 Oktober 2016].

- Pothitirat, W. & Gritsanapan, W. 2005. Quantitative Analysis of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin in the Crude Curcuminoid Extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC – Densitometry. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Science*. Vol. 32 (1-20): 23 – 30.
- Prasetya, D.Y dan Yuliani, S. 2014. Activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Extract to *Radial Arm Maze* and *Pasive Avoidance Test* on Dementia Model of Rat. *Pharmaciana*, Vol. 4, No. 2: 157 – 164.
- Rafi, Rohaeti, Miftahudin dan Darusman. 2011. Differentiation of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar* by TLC Fingerprint Analysis. *Indo. J. Chem*, 11 (01): 71 – 74.
- Rahardjo, M dan Ajijah, N. 2007. Pengaruh Pemupukan Organik terhadap Produksi dan Mutu Tiga Nomor Harapan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) di Cibinong Bogor. *Bul. Litro*. XVIII No. 1: 29 – 38.
- Riadi, L. 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Rosidi, dkk. 2011. Potensi Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Rukmana, R., 1995. *Temulawak Tanaman Rempah dan Obat*. Yogyakarta: Kanisius.
- Said, A., 2007. *Buku Pengayaan Seri PKK: Khasiat dan Manfaat Temulawak*. Yogyakarta: PT. Sinar Wadja Lestari.
- Sarwono. 2005. *Jamu untuk Ternak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sembiring, B. B., Ma'mun dan Ginting, E.I. 2006. Pengaruh Kehalusan bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Bul. Litro*. Vol. XVII (2): 53 – 58.
- Sidik, Mulyono, M.W., Muhtadi, A. 1993. *Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica.
- Srijanto, B., I. Rosidah, E. Rismana, G. Syabirin, Aan dan Mahreni. 2004. Pengaruh Waktu, Suhu dan Perbandingan bahan Baku-Pelarut pada Ekstraksi Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Pelarut Aseton. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses 2004*. 1411-4216.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sylvester, W.S., Son, R., Lew, K.F., Rukayadi, Y. 2015. Antibacterial Activity of Java Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Extract Against *Klebsiella*

- pneumoniae* Isolated from Several Vegetables. *International Food Research Journal* 22 (5): 1770 – 1776.
- Teerapatr, S., Kaewvimol, L., and Saengow, L. 2006. Approach of Cassava Waste Pretreatments for Fuel Ethanol Production in Thailand. *J. Sci. Res. Chula Univ.* 31 (1): 77 – 84.
- Timotius, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Tonnesen, H.H dan Karlsten, J. 1985. Studies on Curcumin and Curcuminoids. *Z Lebensm Unters Forsch*, 180: 402-404.
- Wang, Y.J *et al.* 1996. Stability of Curcumin in Buffer Solutions and Characterization of Its Degradation Products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 15 (12): 1867 – 1876.
- Wididana, G.N dan Higa, T. 1993. *Penuntun Bercocok Tanam Padi dengan Teknologi Effective Microorganism – 4 (EM-4)*. Jakarta: Seri Pertanian Akrab Lingkungan.
- Wijayakusuma, Hembing. 2008. *Ramuan Herbal Penurun Kolesterol*. Jakarta : Pustaka Bunda.
- Winedar, H., Listyawati, S., Sutarno. 2006. Daya Cerna protein Pakan, Kandungan Protein Daging, dan Pertambahan Berat Badan Ayam Broiler Setelah Pemberian Pakan yang Difermentasi dengan Effective Microorganisms-4 (EM-4). *Jurnal Bioteknologi*. Vol 3 (1): 14 – 19.
- Wonorahardjo, S. 2013. *Metode-metode Pemisahan Kimia*. Malang: INDEKS.

LAMPIRAN

A. Validasi Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)



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. 486/UN25.13/14/2016

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

Nama : Anita Karolina
NIM : 101810301050
Jur./Fak./PT : Kimia/FMIPA / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Curcuma xanthorrhiza Roxb. {Syn. - ; Family – Zingiberaceae ; Vernacular name – Temu lawak (Ind.); Temu labek (Mad); Temu lawak (Jw.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 23 Februari 2016

Mengetahui,
Pembantu Dekan I,

Ketua Laboratorium



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

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

B. Perhitungan dan Data Kadar Air Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

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

- $\text{kadar air(\%)} = \frac{5,041 - 1,204}{5,041} \times 100\% = 76,116 \%$
- $\text{kadar air(\%)} = \frac{5,032 - 1,180}{5,032} \times 100\% = 76,550 \%$
- $\text{kadar air(\%)} = \frac{5,031 - 1,193}{5,031} \times 100\% = 76,287 \%$

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Kadar air (%)
1	5,041	1,204	76,116
2	5,032	1,180	76,550
3	5,031	1,193	76,287
Kadar air rata-rata			76,317

C. Perhitungan Rendemen

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

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

Nama ekstrak	Berat		Rendemen (%)
	Berat ekstrak (g)	temulawak (g)	
Tanpa EM4-1	0.06	50.00	0.51
Tanpa EM4-2	0.07	50.00	0.59
Tanpa EM4-3	0.07	50.00	0.59
EM4 10-1	0.02	50.00	0.17
EM4 10-2	0.01	50.00	0.08
EM4 10-3	0.01	50.00	0.08
EM4 20-1	0.03	50.00	0.25
EM4 20-2	0.03	50.00	0.25
EM4 20-3	0.04	50.00	0.34
EM4 30-1	0.05	50.00	0.42
EM4 30-2	0.05	50.00	0.42
EM4 30-3	0.05	50.00	0.42

- $\text{Massa temulawak kering} = \frac{50.00}{100\%} \times (100 - 76.317) = 11.84 \text{ gram}$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0.06}{11.84} \times 100\% = 0.51 \%$$

Catatan: semua rendemen dihitung menggunakan cara yang sama

D. Pembuatan Larutan Standar Kurkumin

- Pembuatan larutan standar kurkumin 100 ppm
Serbuk standar kurkumin ditimbang sebanyak 0,001 gram, kemudian dilarutkan dengan aseton pa dalam labu ukur 10 mL.

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

$$\text{konsentrasi} = \frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1000 \mu\text{g}}{10 \text{ mL}} = 100 \text{ ppm}$$

- Pembuatan larutan standar kurkumin 10 ppm
Larutan standar 100 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml ke dalam labu ukur 5 ml, kemudian ditambahkan dengan aseton sampai tanda batas.
- Pembuatan larutan standar kurkumin 5 ppm
Larutan standar 100 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan dengan aseton sampai tanda batas.
- Pembuatan larutan standar kurkumin 1 ppm
Larutan standar 5 ppm dipipet sebanyak 2 ml ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan dengan aseton sampai tanda batas.

E. Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (*Scanning*)

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	0.203	426	0.249
402	0.211	428	0.246
404	0.222	430	0.238
406	0.227	432	0.234
408	0.235	434	0.229
410	0.241	436	0.218
412	0.245	438	0.216
414	0.256	440	0.215
416	0.260	442	0.208
418	0.262	444	0.200
420*	0.264	446	0.182
422	0.262	448	0.170
424	0.258	450	0.152



F. Hasil Analisis Kromatogram Menggunakan *TLC-Scanner*

F.1 Hasil pemindaian densitometer penentuan daerah linier pada panjang gelombang 420 nm konsentrasi 10 ppm

$$\text{massa total} = \text{volume totalan} \times \text{konsentrasi}$$

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

Standar	Rf	Massa (ng)	Luas Area (AU)
1	0.89	42.16	5540.4
2	0.88	55.71	6231.6
3	0.87	68.16	7591.7
4	0.87	82.31	9375.7
5	0.87	95.30	10855.4
6	0.87	109.04	11826.0

F.2 Data pemindaian dengan *TLC-Scanner* untuk penentuan daerah linier

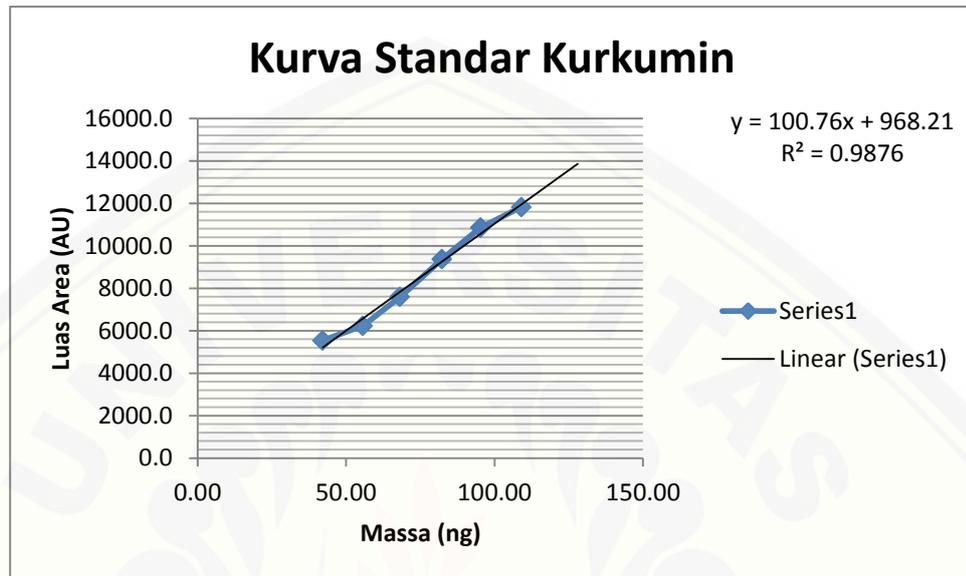
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
3	0.83 Rf	5.7 AU	0.89 Rf	189.9 AU	68.97 %	0.92 Rf	1.3 AU	5540.4 AU	70.27 %	unknown *
3	0.83 Rf	12.6 AU	0.88 Rf	202.5 AU	67.38 %	0.92 Rf	1.7 AU	6231.6 AU	69.64 %	unknown *
3	0.82 Rf	18.5 AU	0.87 Rf	231.7 AU	64.57 %	0.91 Rf	0.1 AU	7591.7 AU	68.16 %	unknown *
3	0.80 Rf	9.8 AU	0.87 Rf	264.3 AU	62.32 %	0.91 Rf	0.2 AU	9375.7 AU	68.59 %	unknown *
3	0.79 Rf	11.6 AU	0.87 Rf	297.7 AU	62.31 %	0.92 Rf	1.3 AU	10855.4 AU	68.07 %	unknown *
3	0.79 Rf	9.3 AU	0.87 Rf	329.3 AU	62.76 %	0.92 Rf	0.2 AU	11826.0 AU	68.15 %	unknown *

1. Standar 1

- $\text{massa total} = 6 \mu\text{l} \times 10 \frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} = 60 \text{ ng}$
- $\frac{\text{massa kurkumin}}{60} = \frac{70.27}{100}$
 $\text{massa kurkumin} = 42.16 \text{ ng}$

Catatan: massa kurkumin masing-masing standar dihitung dengan cara yang sama dengan standar 1

F.3 Kurva kalibrasi larutan standar kurkumin

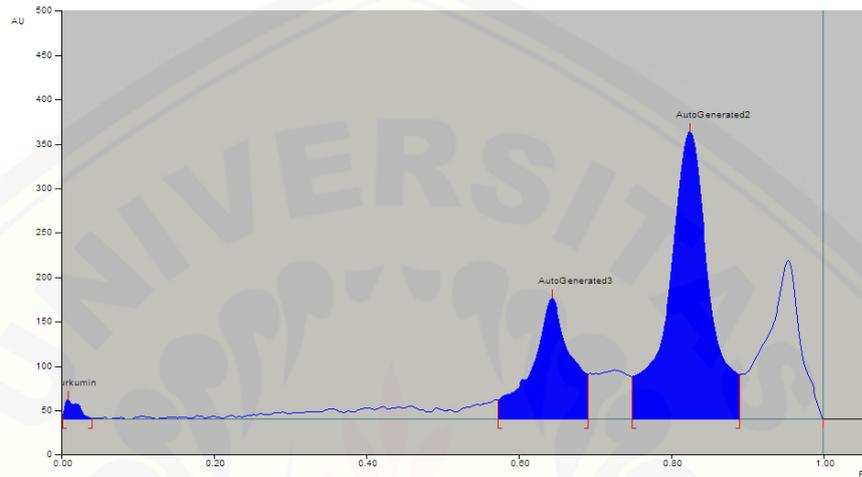


G. Data Penentuan Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Rimpang Temulawak

G.1 Densitogram dan data pemindaian dengan densitometer pada panjang gelombang 420 nm

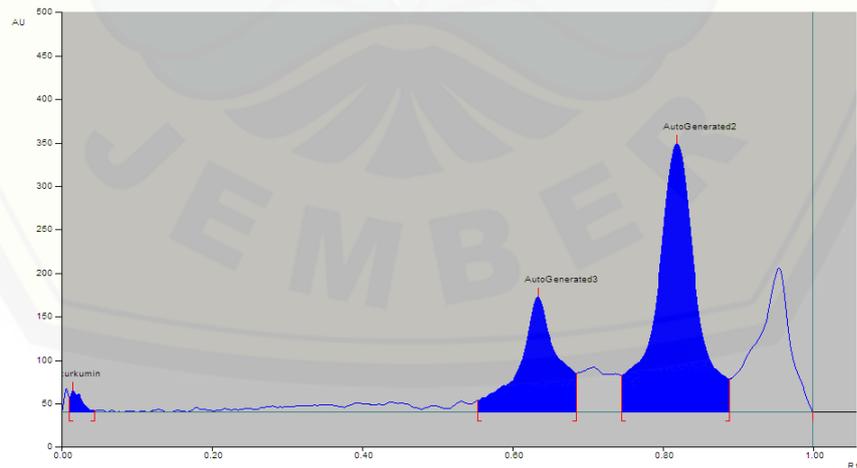
a. Sampel tanpa EM4

- Pengulangan 1



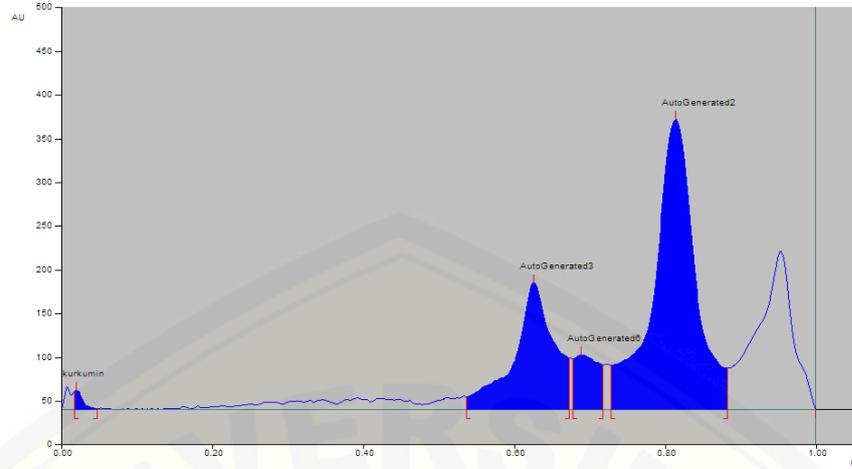
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	2.7 AU	0.01 Rf	22.1 AU	4.59 %	0.04 Rf	1.1 AU	394.1 AU	1.65 %	kurkumin
2	0.57 Rf	21.8 AU	0.64 Rf	136.0 AU	28.24 %	0.69 Rf	50.9 AU	6789.8 AU	28.38 %	AutoGenerated3
3	0.75 Rf	47.9 AU	0.82 Rf	323.5 AU	67.17 %	0.89 Rf	50.0 AU	16743.2 AU	69.98 %	AutoGenerated2

- Pengulangan 2



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	16.6 AU	0.01 Rf	24.8 AU	5.32 %	0.04 Rf	1.6 AU	380.1 AU	1.68 %	kurkumin
2	0.55 Rf	13.3 AU	0.63 Rf	132.8 AU	28.48 %	0.68 Rf	44.5 AU	6497.4 AU	28.73 %	AutoGenerated3
3	0.74 Rf	42.4 AU	0.82 Rf	308.6 AU	66.21 %	0.89 Rf	37.9 AU	15738.8 AU	69.59 %	AutoGenerated2

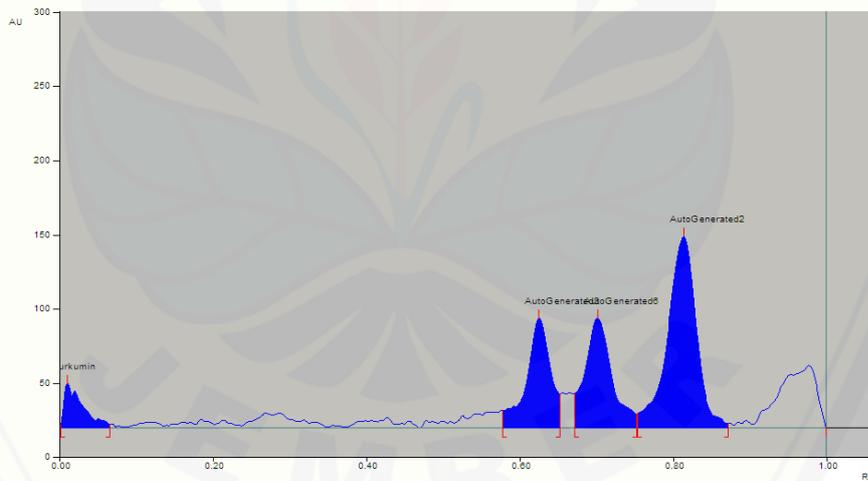
- Pengulangan 3



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.02 Rf	20.6 AU	0.02 Rf	21.5 AU	3.83 %	0.05 Rf	0.7 AU	255.3 AU	0.92 %	kurkumin
2	0.54 Rf	14.8 AU	0.63 Rf	144.8 AU	25.85 %	0.67 Rf	58.8 AU	7448.4 AU	26.91 %	AutoGenerated3
3	0.68 Rf	57.8 AU	0.69 Rf	62.4 AU	11.14 %	0.72 Rf	50.9 AU	2021.7 AU	7.30 %	AutoGenerated6
4	0.73 Rf	50.4 AU	0.81 Rf	331.5 AU	59.17 %	0.88 Rf	47.2 AU	17956.8 AU	64.87 %	AutoGenerated2

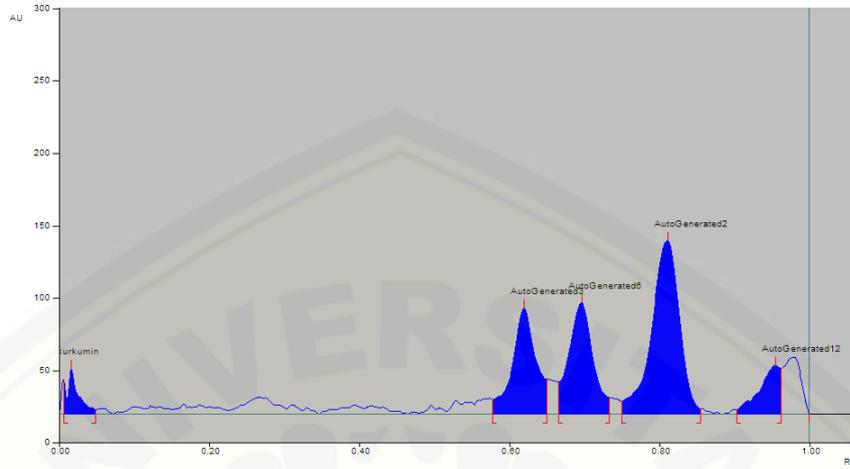
b. Sampel EM4 10 ml

- Pengulangan 1



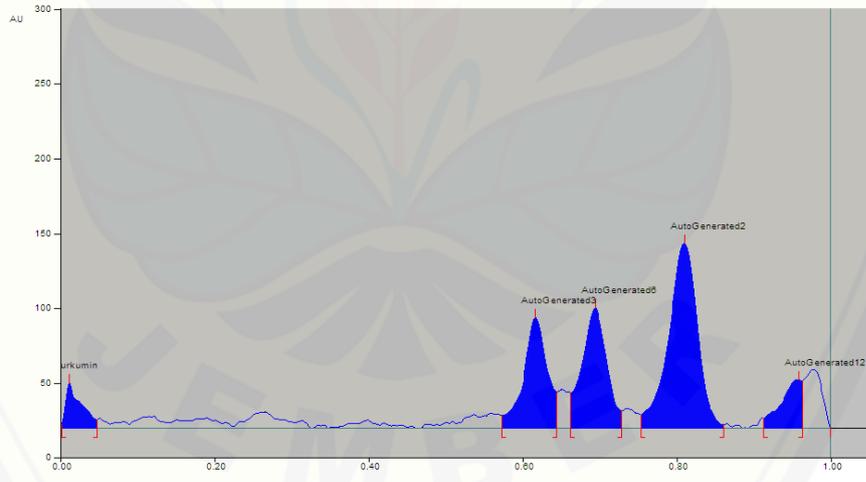
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	2.1 AU	0.01 Rf	29.9 AU	9.76 %	0.06 Rf	2.5 AU	723.8 AU	7.04 %	kurkumin
2	0.58 Rf	11.6 AU	0.62 Rf	74.1 AU	24.16 %	0.65 Rf	23.0 AU	2260.7 AU	21.98 %	AutoGenerated3
3	0.67 Rf	23.4 AU	0.70 Rf	73.8 AU	24.07 %	0.75 Rf	9.5 AU	2563.8 AU	24.93 %	AutoGenerated6
4	0.75 Rf	9.6 AU	0.81 Rf	128.8 AU	42.01 %	0.87 Rf	2.8 AU	4735.6 AU	46.05 %	AutoGenerated2

• Pengulangan 2



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	23.5 AU	0.02 Rf	31.3 AU	9.35 %	0.05 Rf	3.0 AU	464.0 AU	4.46 %	kurkumin
2	0.58 Rf	10.2 AU	0.62 Rf	73.0 AU	21.80 %	0.65 Rf	23.8 AU	2223.2 AU	21.37 %	AutoGenerated3
3	0.67 Rf	22.4 AU	0.70 Rf	77.1 AU	23.03 %	0.73 Rf	11.3 AU	2426.0 AU	23.32 %	AutoGenerated6
4	0.75 Rf	8.9 AU	0.81 Rf	119.7 AU	35.74 %	0.86 Rf	3.9 AU	4360.9 AU	41.92 %	AutoGenerated2
5	0.90 Rf	3.2 AU	0.96 Rf	33.7 AU	10.08 %	0.96 Rf	31.6 AU	929.1 AU	8.93 %	AutoGenerated12

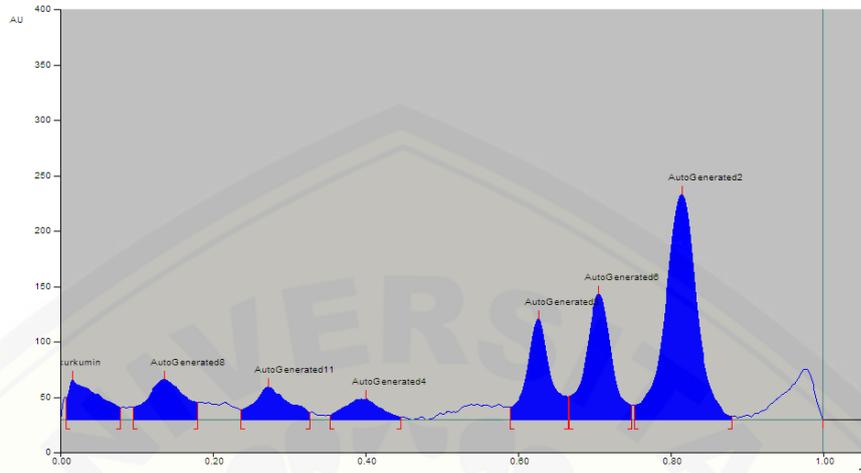
• Pengulangan 3



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	2.7 AU	0.01 Rf	30.2 AU	8.88 %	0.05 Rf	5.8 AU	609.5 AU	5.66 %	kurkumin
2	0.57 Rf	8.5 AU	0.62 Rf	73.9 AU	21.75 %	0.64 Rf	24.3 AU	2204.0 AU	20.48 %	AutoGenerated3
3	0.66 Rf	23.7 AU	0.69 Rf	80.4 AU	23.66 %	0.73 Rf	11.5 AU	2545.7 AU	23.65 %	AutoGenerated6
4	0.75 Rf	9.0 AU	0.81 Rf	123.2 AU	36.27 %	0.86 Rf	2.5 AU	4532.3 AU	42.11 %	AutoGenerated2
5	0.91 Rf	6.5 AU	0.96 Rf	32.1 AU	9.43 %	0.96 Rf	31.7 AU	872.1 AU	8.10 %	AutoGenerated12

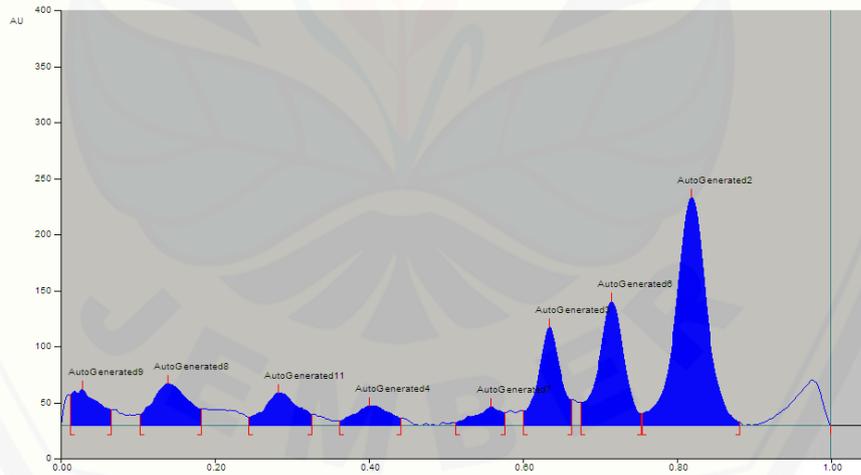
c. Sampel EM4 20 ml

- Pengulangan 1



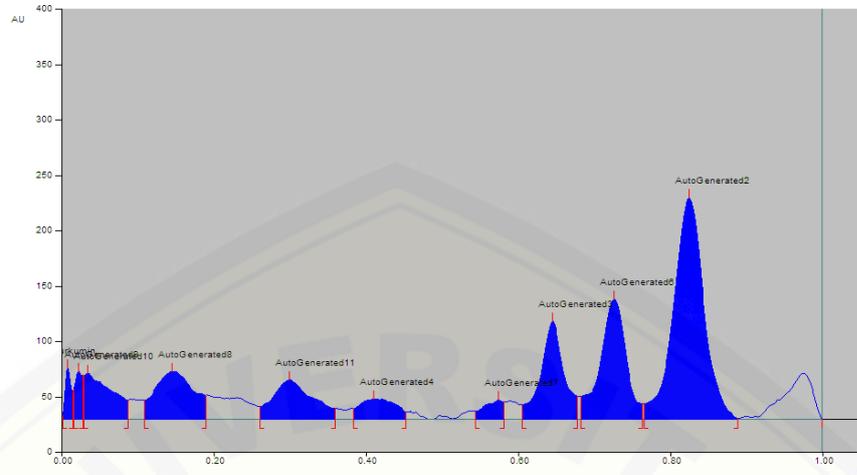
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	20.0 AU	0.02 Rf	36.3 AU	6.85 %	0.08 Rf	10.9 AU	1440.3 AU	7.17 %	kurkumin
2	0.10 Rf	11.4 AU	0.14 Rf	36.3 AU	6.87 %	0.18 Rf	15.4 AU	1732.9 AU	8.62 %	AutoGenerated8
3	0.24 Rf	9.2 AU	0.27 Rf	29.5 AU	5.58 %	0.33 Rf	6.7 AU	1346.8 AU	6.70 %	AutoGenerated11
4	0.35 Rf	4.2 AU	0.40 Rf	18.9 AU	3.57 %	0.45 Rf	2.3 AU	890.4 AU	4.43 %	AutoGenerated4
5	0.59 Rf	11.4 AU	0.63 Rf	91.3 AU	17.26 %	0.67 Rf	21.0 AU	2738.4 AU	13.62 %	AutoGenerated3
6	0.67 Rf	21.1 AU	0.71 Rf	113.6 AU	21.47 %	0.75 Rf	13.1 AU	3764.5 AU	18.73 %	AutoGenerated6
7	0.75 Rf	13.1 AU	0.82 Rf	203.1 AU	38.39 %	0.88 Rf	3.1 AU	8185.9 AU	40.73 %	AutoGenerated2

- Pengulangan 2



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	27.3 AU	0.03 Rf	32.1 AU	6.01 %	0.06 Rf	14.3 AU	1100.3 AU	5.64 %	AutoGenerated9
2	0.10 Rf	9.5 AU	0.14 Rf	37.5 AU	7.02 %	0.18 Rf	14.8 AU	1701.6 AU	8.72 %	AutoGenerated8
3	0.24 Rf	7.1 AU	0.28 Rf	29.3 AU	5.47 %	0.33 Rf	9.9 AU	1275.8 AU	6.54 %	AutoGenerated11
4	0.36 Rf	3.9 AU	0.40 Rf	17.6 AU	3.30 %	0.44 Rf	6.2 AU	798.4 AU	4.09 %	AutoGenerated4
5	0.51 Rf	2.5 AU	0.56 Rf	16.6 AU	3.11 %	0.58 Rf	11.5 AU	560.4 AU	2.87 %	AutoGenerated7
6	0.60 Rf	12.8 AU	0.63 Rf	88.0 AU	16.46 %	0.66 Rf	22.8 AU	2476.0 AU	12.69 %	AutoGenerated3
7	0.68 Rf	20.5 AU	0.72 Rf	110.4 AU	20.65 %	0.75 Rf	10.4 AU	3613.8 AU	18.51 %	AutoGenerated6
8	0.76 Rf	10.5 AU	0.82 Rf	203.1 AU	37.99 %	0.88 Rf	2.9 AU	7992.6 AU	40.95 %	AutoGenerated2

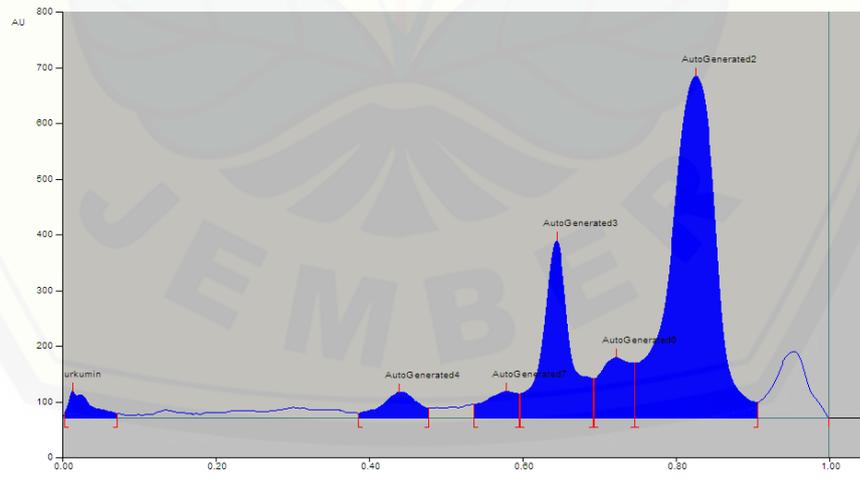
- Pengulangan 3



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	3.7 AU	0.01 Rf	46.0 AU	7.17 %	0.01 Rf	25.2 AU	351.7 AU	1.63 %	kurkumin
2	0.02 Rf	27.1 AU	0.02 Rf	43.1 AU	6.72 %	0.03 Rf	39.4 AU	460.0 AU	2.14 %	AutoGenerated9
3	0.03 Rf	39.4 AU	0.03 Rf	41.4 AU	6.45 %	0.09 Rf	17.2 AU	1464.0 AU	6.90 %	AutoGenerated10
4	0.11 Rf	17.5 AU	0.14 Rf	43.3 AU	6.75 %	0.19 Rf	21.8 AU	2168.4 AU	10.07 %	AutoGenerated8
5	0.26 Rf	11.4 AU	0.30 Rf	35.8 AU	5.57 %	0.36 Rf	9.5 AU	1824.4 AU	8.47 %	AutoGenerated11
6	0.38 Rf	9.5 AU	0.41 Rf	18.5 AU	2.88 %	0.45 Rf	6.3 AU	865.0 AU	4.02 %	AutoGenerated4
7	0.54 Rf	7.2 AU	0.57 Rf	17.0 AU	2.66 %	0.58 Rf	15.6 AU	431.8 AU	2.00 %	AutoGenerated7
8	0.61 Rf	12.9 AU	0.64 Rf	88.2 AU	13.75 %	0.68 Rf	21.0 AU	2605.8 AU	12.10 %	AutoGenerated3
9	0.68 Rf	20.9 AU	0.73 Rf	108.4 AU	16.90 %	0.76 Rf	14.1 AU	3586.5 AU	16.65 %	AutoGenerated6
10	0.77 Rf	13.7 AU	0.82 Rf	199.9 AU	31.16 %	0.89 Rf	1.2 AU	7781.1 AU	36.13 %	AutoGenerated2

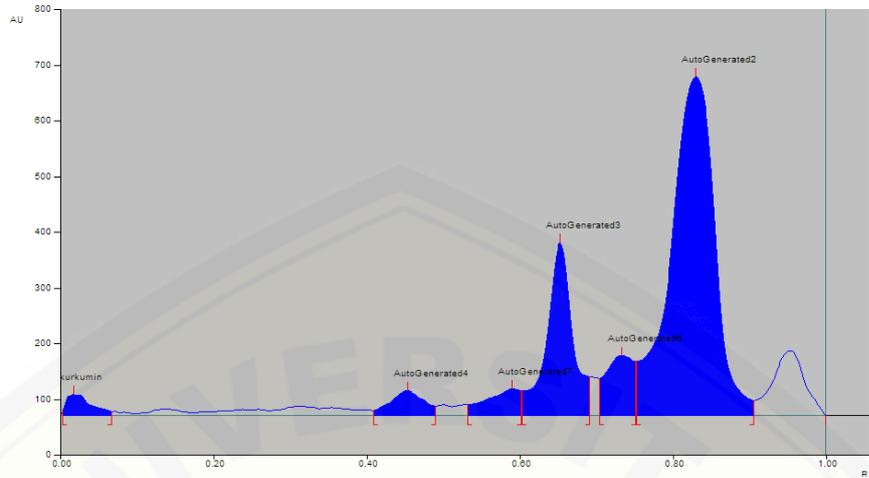
c. Sampel EM4 30 ml

- Pengulangan 1



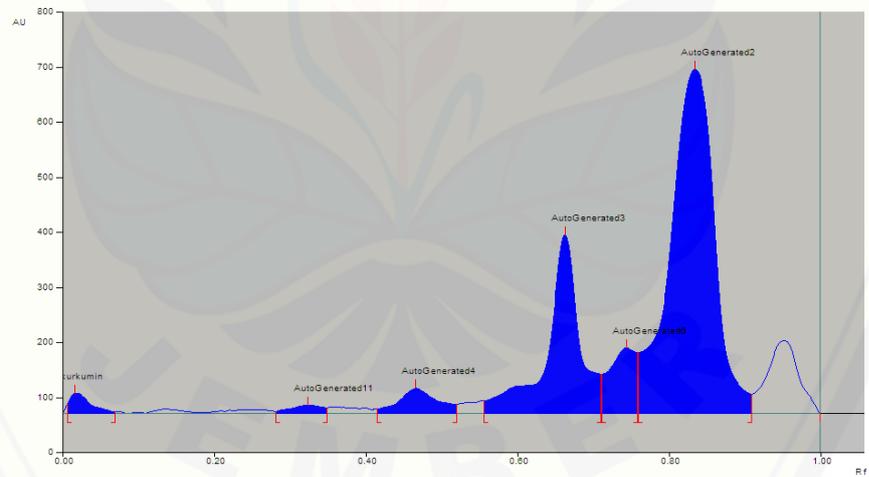
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	7.7 AU	0.01 Rf	48.6 AU	4.10 %	0.07 Rf	8.4 AU	1428.4 AU	2.53 %	kurkumin
2	0.39 Rf	8.6 AU	0.44 Rf	46.6 AU	3.93 %	0.48 Rf	17.4 AU	2158.3 AU	3.82 %	AutoGenerated4
3	0.54 Rf	24.5 AU	0.58 Rf	48.5 AU	4.10 %	0.60 Rf	43.6 AU	1956.3 AU	3.46 %	AutoGenerated7
4	0.60 Rf	43.7 AU	0.64 Rf	318.2 AU	26.87 %	0.69 Rf	71.1 AU	11133.6 AU	19.69 %	AutoGenerated3
5	0.69 Rf	71.1 AU	0.72 Rf	108.6 AU	9.17 %	0.75 Rf	98.5 AU	4404.4 AU	7.79 %	AutoGenerated6
6	0.75 Rf	98.7 AU	0.83 Rf	613.6 AU	51.82 %	0.91 Rf	28.4 AU	35470.0 AU	62.72 %	AutoGenerated2

• Pengulangan 2



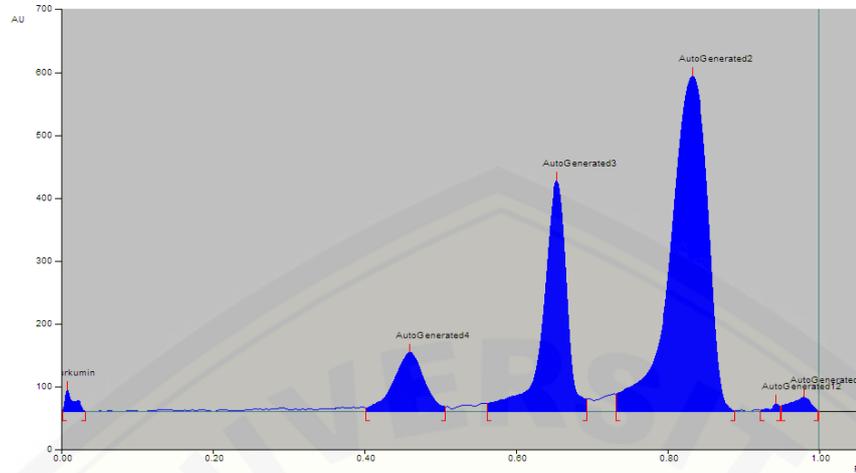
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	7.9 AU	0.02 Rf	37.5 AU	3.24 %	0.07 Rf	7.2 AU	1245.8 AU	2.31 %	kurkumin
2	0.41 Rf	8.7 AU	0.45 Rf	44.7 AU	3.87 %	0.49 Rf	17.1 AU	1934.6 AU	3.59 %	AutoGenerated4
3	0.53 Rf	20.1 AU	0.59 Rf	48.0 AU	4.15 %	0.60 Rf	44.5 AU	2083.9 AU	3.87 %	AutoGenerated7
4	0.60 Rf	44.5 AU	0.65 Rf	309.9 AU	26.62 %	0.69 Rf	70.1 AU	10301.2 AU	19.11 %	AutoGenerated3
5	0.70 Rf	66.6 AU	0.73 Rf	108.1 AU	9.35 %	0.75 Rf	96.7 AU	3855.6 AU	7.15 %	AutoGenerated6
6	0.75 Rf	96.9 AU	0.83 Rf	607.6 AU	52.57 %	0.91 Rf	26.8 AU	34478.6 AU	63.97 %	AutoGenerated2

• Pengulangan 3



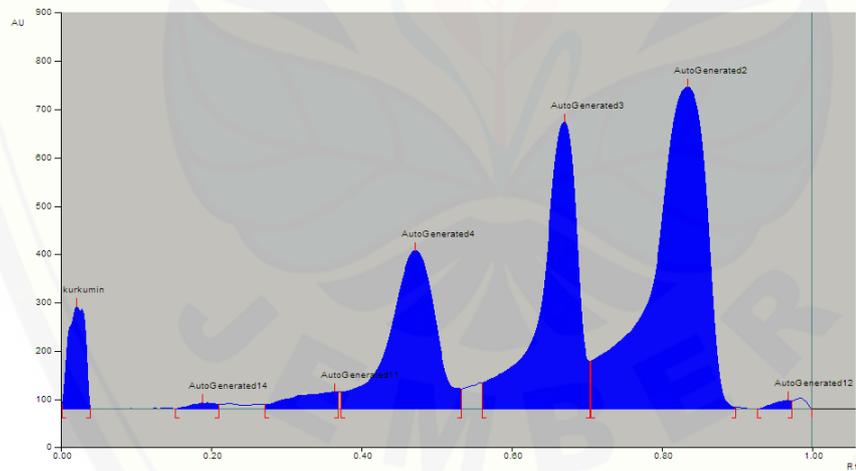
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	17.3 AU	0.02 Rf	36.8 AU	3.15 %	0.07 Rf	2.7 AU	1010.9 AU	1.76 %	kurkumin
2	0.28 Rf	3.9 AU	0.32 Rf	15.2 AU	1.30 %	0.35 Rf	10.5 AU	632.3 AU	1.10 %	AutoGenerated11
3	0.42 Rf	7.5 AU	0.47 Rf	45.7 AU	3.91 %	0.52 Rf	16.4 AU	2278.2 AU	3.96 %	AutoGenerated4
4	0.56 Rf	23.4 AU	0.66 Rf	324.5 AU	27.82 %	0.71 Rf	71.7 AU	13593.0 AU	23.64 %	AutoGenerated3
5	0.71 Rf	71.6 AU	0.74 Rf	119.6 AU	10.26 %	0.76 Rf	10.6 AU	4104.0 AU	7.14 %	AutoGenerated6
6	0.76 Rf	110.7 AU	0.83 Rf	624.8 AU	53.56 %	0.91 Rf	35.1 AU	35890.3 AU	62.41 %	AutoGenerated2

d. Standar kurkumin



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	0.9 AU	0.01 Rf	34.1 AU	3.21 %	0.03 Rf	0.2 AU	405.8 AU	0.97 %	kurkumin
2	0.40 Rf	5.9 AU	0.46 Rf	94.6 AU	8.89 %	0.51 Rf	7.6 AU	3769.5 AU	8.99 %	AutoGenerated4
3	0.56 Rf	13.0 AU	0.65 Rf	366.9 AU	34.47 %	0.69 Rf	19.6 AU	11162.8 AU	26.62 %	AutoGenerated3
4	0.73 Rf	28.1 AU	0.83 Rf	533.4 AU	50.11 %	0.89 Rf	0.9 AU	25849.1 AU	61.64 %	AutoGenerated2
5	0.92 Rf	2.1 AU	0.94 Rf	12.7 AU	1.20 %	0.95 Rf	8.7 AU	146.9 AU	0.35 %	AutoGenerated12
6	0.95 Rf	9.2 AU	0.98 Rf	22.6 AU	2.13 %	1.00 Rf	1.2 AU	604.2 AU	1.44 %	AutoGenerated13

e. Kontrol positif (kurkumin standar + EM4)



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	10.0 AU	0.02 Rf	211.6 AU	11.34 %	0.04 Rf	2.3 AU	4738.5 AU	4.62 %	kurkumin
2	0.15 Rf	0.3 AU	0.19 Rf	12.2 AU	0.65 %	0.21 Rf	9.4 AU	396.6 AU	0.39 %	AutoGenerated14
3	0.27 Rf	8.6 AU	0.36 Rf	36.0 AU	1.93 %	0.37 Rf	35.4 AU	2100.0 AU	2.05 %	AutoGenerated11
4	0.37 Rf	35.2 AU	0.47 Rf	328.1 AU	17.58 %	0.53 Rf	41.3 AU	19742.4 AU	19.26 %	AutoGenerated4
5	0.56 Rf	54.7 AU	0.67 Rf	594.0 AU	31.83 %	0.70 Rf	99.0 AU	27935.5 AU	27.25 %	AutoGenerated3
6	0.71 Rf	98.2 AU	0.83 Rf	666.3 AU	35.71 %	0.90 Rf	2.9 AU	47185.1 AU	46.03 %	AutoGenerated2
7	0.93 Rf	0.0 AU	0.97 Rf	17.9 AU	0.96 %	0.97 Rf	16.5 AU	412.7 AU	0.40 %	AutoGenerated12

H. Data Perhitungan Kadar Kurkumin

Nama Sampel	Luas Area (AU)	Massa kurkumin yang diperoleh (ng)	Kadar kurkumin (mg/kg)
Tanpa EM4-1	16742,3	$5,22 \times 10^4$	$0,79 \times 10^{-3} \pm$
Tanpa EM4-2	15738,8	$4,89 \times 10^4$	0,00016
Tanpa EM4-3	17956,8	$5,62 \times 10^4$	
EM4 10 ml – 1	4735,6	$0,62 \times 10^4$	$0,49 \times 10^{-3} \pm$
EM4 10 ml – 2	4360,9	$0,56 \times 10^4$	0,00011
EM4 10 ml – 3	4532,3	$0,59 \times 10^4$	
EM4 20 ml – 1	8026,6	$1,75 \times 10^4$	$0,53 \times 10^{-3} \pm$
EM4 20 ml – 2	7992,6	$1,74 \times 10^4$	0,00009
EM4 20 ml – 3	7713,6	$1,67 \times 10^4$	
EM4 30 ml – 1	35203,3	$16,99 \times 10^4$	$3,38 \times 10^{-3} \pm$
EM4 30 ml – 2	34220,7	$16,51 \times 10^4$	0,00007
EM4 30 ml – 3	35698,9	$17,25 \times 10^4$	
Kontrolpositif	47185,1	$8,6 \times 10^4$	$8,6 \times 10^{-5}$

Persamaan garis kurva kalibrasi: $y = 100,7x + 968,2$

1. Sampel tanpa EM4

a. Pengulangan 1

- Massa kurkumin hasil pengukuran

$$16742,3 = 100,7x + 968,2$$

$$15774,1 = 100,7x$$

$$X = 156,64\text{ng}$$

- Konsentrasi kurkumin hasil pengukuran

$$\frac{\text{massa kurkumin pengukuran}}{\text{volume penotolan}} = \frac{156,64 \text{ ng}}{15 \mu\text{l}} = 10,44 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

- Massa kurkumin

$$\text{konsentrasi kurkumin} \times v \text{ total ekstraksi} = 10,44 \frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \times 5000 \mu\text{l}$$

$$= 5,22 \times 10^4 \text{ ng}$$

- Kadar kurkumin

$$\frac{\text{massa kurkumin}}{\text{massa sampel}} = \frac{5,22 \times 10^4 \text{ ng}}{0,06 \text{ g}} = \frac{5,22 \times 10^{-2} \text{ mg}}{6 \times 10^{-5} \text{ kg}} = 0,87 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$$

b. Pengulangan 2

- Massa kurkumin hasil pengukuran

$$15738,8 = 100,7x + 968,2$$

$$14770,6 = 100,7x$$

$$X = 146,68 \text{ ng}$$

- Konsentrasi kurkumin hasil pengukuran

$$\frac{\text{massa kurkumin pengukuran}}{\text{volume penotolan}} = \frac{146,68 \text{ ng}}{15 \mu\text{l}} = 9,78 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

- Massa kurkumin

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi kurkumin} \times v \text{ total ekstraksi} &= 9,78 \frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \times 5000 \mu\text{l} \\ &= 4,89 \times 10^4 \text{ ng} \end{aligned}$$

- Kadar kurkumin

$$\frac{\text{massa kurkumin}}{\text{massa sampel}} = \frac{4,89 \times 10^4 \text{ ng}}{0,07 \text{ g}} = \frac{4,89 \times 10^{-2} \text{ mg}}{7 \times 10^{-5} \text{ kg}} = 0,07 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$$

c. Pengulangan 3

- Massa kurkumin hasil pengukuran

$$17956,8 = 100,7x + 968,2$$

$$16988,6 = 100,7x$$

$$X = 168,71 \text{ ng}$$

- Konsentrasi kurkumin hasil pengukuran

$$\frac{\text{massa kurkumin pengukuran}}{\text{volume penotolan}} = \frac{168,71 \text{ ng}}{15 \mu\text{l}} = 11,25 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

- Massa kurkumin

$$\text{konsentrasi kurkumin} \times v \text{ total ekstraksi}$$

$$= 11,25 \frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \times 5000 \mu\text{l}$$

$$= 5,62 \times 10^4 \text{ ng}$$

- Kadar kurkumin

$$\frac{\text{massa kurkumin}}{\text{massa sampel}} = \frac{5,62 \times 10^4 \text{ ng}}{0,07 \text{ g}} = \frac{5,62 \times 10^{-2} \text{ mg}}{7 \times 10^{-5} \text{ kg}} = 0,80 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$$

Catatan: semua kadar kurkumin pada masing-masing perlakuan dan pengulangan dihitung dengan cara yang sama.

