



UNIVERSITAS PANCASILA
FAKULTAS FARMASI

SKRIPSI

**UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL
RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*)
DARI LIMA DAERAH BERBEDA SERTA PENETAPAN
KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL**

Oleh:

Fakhrizal Dwi Aprian

NPM 2019210277

Dibuat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Farmasi pada
Universitas Pancasila

JAKARTA

2023

PERNYATAAN SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul **“UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) DARI LIMA DAERAH BERBEDA SERTA PENETAPAN KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL”** adalah karya saya sendiri dan belum diajukan untuk dipublikasi dalam bentuk apapun kepada pihak manapun,. Informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah dicantumkan dalam daftar rujukan di bagian akhir skripsi ini.

Jakarta, 27 Oktober 2023

Fakhrizal Dwi Aprian

NPM: 2019210277

UNIVERSITAS PANCASILA
FAKULTAS FARMASI
JAKARTA

PERSETUJUAN SKRIPSI

NAMA : Fakhrizal Dwi Aprian
NPM : 2019210277
PEMINATAN : BIOMEDIK DAN FARMASI KLINIS
JUDUL : UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) DARI LIMA DAERAH
BERBEDA SERTA PENETAPAN KADAR SENYAWA
KURKUMIN DAN XANTORIZOL

Disetujui oleh

Pembimbing I



(Dr. apt. Sarah Zaidan, S.Si., M.Farm.)

Tanggal : 19 April 2024

Pembimbing II



(Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed.)

Tanggal : 22 April 2024

UNIVERSITAS PANCASILA
FAKULTAS FARMASI
JAKARTA

PENGESAHAN SKRIPSI

Judul

UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL
RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*)
DARI LIMA DAERAH BERBEDA SERTA PENETAPAN
KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL

OLEH
FAKHRIZAL DWI APRIAN
NPM : 2019210277

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
Pada tanggal 21 November 2023

Universitas Pancasila

Fakultas Farmasi



(Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed.)

Pembimbing :

1. Dr. apt. Sarah Zaidan, S.Si., M.Farm.
2. Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed.

1.
2.
1.
2.
3.

Penguji :

1. Prof. Dr. apt. Ros Sumarny, M.S.
2. Prof. Dr. apt. Ni Made Dwi Sandhiutami, M.Kes.
3. apt. Desi Nadya Aulena, M.Farm

KATA PENGANTAR

Puji serta syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena Rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian dan penyusunan buku skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi dengan judul **“UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) DARI LIMA DAERAH BERBEDA SERTA PENETAPAN KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL”** disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta.

Penulis menyadari bahwa sulit untuk menyelesaikan skripsi ini tanpa bantuan dari beberapa pihak. Maka dari itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dengan tulus kepada dosen pembimbing, yaitu Dr. apt. Sarah Zaidan, S.Si, M.Farm dan Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed, yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, serta pikiran dalam memberi arahan, bimbingan, nasehat dan motivasi sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Penyusunan skripsi ini juga tidak akan berhasil tanpa ada bantuan dan kerja sama dari pihak lain. Rasa hormat dan Ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Prof. Dr. apt. Syamsudin, M,Biomed.
2. Dosen pembimbing akademik apt. Reise Manninda, M.Farm. yang memberikan bimbingan dan saran selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
3. Segenap Dosen dan staff karyawan Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
4. Kedua orang tua dan kakak yang selalu memberikan semangat, mendoakan, mendukung secara moral maupun materi
5. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2019 di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila dan semua pihak yang terlibat dalam proses penelitian hingga penyusunan buku skripsi ini tercetak

Dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, karena itu kritik dan saran yang

membangun diharapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penelitian dan ilmu pengetahuan di masa depan

Jakarta, 27 Oktober 2023

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI	i
PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Botani	6
1. Klasifikasi Tanaman	6
2. Nama Daerah	6
3. Morfologi Temulawak	7
B. Kandungan Rimpang Temulawak	8
1. Kurkumin	9
2. Xantorizol	9
C. Ekstraksi	10
1. Pengertian Ekstraksi	10
2. Metode Ekstraksi Maserasi	11
D. Penapisan Fitokimia	12

E. Toksisitas.....	13
1. Toksisitas Akut.....	13
2. Toksisitas Subkronik.....	14
3. Toksisitas Kronik	14
F. Brine Shrimp Lethality Test (Bslt).....	15
1. Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach.....	16
2. Tempat Hidup <i>Artemia Salina</i> Leach.....	17
3. Pertumbuhan Dan Daur Hidup <i>Artemia Salina</i> Leach.....	17
4. Pengujian Toksisitas Larva <i>Artemia Salina</i> Leach	19
5. Mekanisme Kerja Senyawa	19
G. Pemeriksaan Parameter Mutu Ekstrak	20
1. Parameter Spesifik	20
2. Parameter Non Spesifik	20
H. Kromatografi.....	21
1. Kromatografi Lapis Tipis.....	22
2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	22
I. Landasan Teori.....	23
J. Hipotesis	25
BAB III RANCANGAN PENELITIAN	26
A. Prinsip Penelitian	26
B. Tempat Penelitian.....	26
C. Bahan Penelitian	26
D. Determinasi Tanaman	27
E. Tahapan Penelitian	27
BAB IV BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN.....	29
A. Bahan Penelitian	29
B. Alat Penelitian.....	29
C. Metode Penelitian	29
1. Determinasi Tanaman	29

2. Pengumpulan an Penyiapan Bahan Penelitian.....	29
3. Pembuatan Simplisia.....	30
4. Pembuatan Ekstrak Rimpang Temulawak	30
5. Uji Organoleptik	31
6. Penetapan Kadar Air	31
7. Penapisan Fitokimia.....	31
8. Uji Toksisitas Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	34
9. Identifikasi Ekstrak Rimpang Temulawak Dengan Metode KLT.....	35
10. Standarisasi Ekstrak Temulawak Yang Memiliki Toksisitas Tertinggi .	36
11. Penetapan Kadar Kurkumin dan Xantorizol.....	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
A. Determinasi Tanaman	41
B. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak.....	41
C. Penapisan Fitokimia.....	45
D. Hasil Uji Toksisitas Dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .	47
E. Identifikasi Senyawa Aktif Secara KLT.....	50
F. Penetapan Parameter Non Spesifik Ekstrak Temulawak Asal Tembalang ..	52
G. Kurva Kalibrasi Kurkumin dan Xantorizol.....	54
H. Uji Kadar Senyawa Kurkumin dan Xantorizol Ekstrak Memiliki Toksisitas Tertinggi.....	56
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	58
A. Simpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel V. 1 Karakteristik Ekstrak Rimpang Temulawak	42
Tabel V. 2 Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Rimpang Temulawak	45
Tabel V. 3 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Rimpang Temulawak	46
Tabel V. 4 Hasil Pengujian Toksisitas Dengan Metode BSLT	47
Tabel V. 5 Kategori toksisitas menurut Meyer	48
Tabel V. 6 Hasil Pengamatan Kromatogram	51
Tabel V. 7 Hasil Kadar Abu Total Dan Abu Tidak Larut Asam	52
Tabel V. 8 Hasil Cemar Logam	53
Tabel V. 9 Kadar Kurkumin Dan Xantorizol.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Rimpang temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)	6
Gambar II.2 Tanaman temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)	7
Gambar II.3 Struktur kurkumin	9
Gambar II.4 Struktur xantorizol	10
Gambar II.5 Morfologi <i>Artemia salina</i> L	15

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	64
Lampiran 2. Skema Pembuatan Simplisia dan Ekstrak	65
Lampiran 3. Skeman Uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temulawak	66
Lampiran 4. Hasil Determinasi Tanaman.....	67
Lampiran 5. Hasil Perhitungan Rendemen dan DER-Native	69
Lampiran 6. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia.....	74
Lampiran 7. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak.....	79
Lampiran 8. Perhitungan Uji Toksisitas BSLT	84
Lampiran 9. Perhitungan Penetapan Kadar Abu	89
Lampiran 10. Uji Kandungan Cemarkan Logam.....	90
Lampiran 11. Penetapan Sisa Pelarut.....	91
Lampiran 12. Kurva Baku Kalibrasi Kurkumin.....	93
Lampiran 13. Kurva Baku Kalibrasi Xantorizol	94
Lampiran 14. Uji Kadar Kurkumin.....	95
Lampiran 15. Uji Kadar Xantorizol	96
Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian.....	97

ABSTRAK

- (A) FAKHRIZAL DWI APRIAN (2019210277)
- (B) UJI TOKSISITAS BSLT EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) DARI LIMA DAERAH BERBEDA SERTA PENETAPAN KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL
- (C) XIII + 97 halaman; 9 tabel: 5 gambar; 16 lampiran
- (D) Kata kunci: Toksisitas, BSLT, Temulawak, Kurkumin, XantORIZOL,
- (E) Uji toksisitas BSLT adalah uji pendahuluan untuk mencari bahan yang berpotensi sebagai antikanker. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai kandidat antikanker adalah temulawak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat toksisitas terhadap *Artemia salina* dan mencari kandidat antikanker dari temulawak yang berasal dari daerah berbeda berdasarkan toksisitasnya, menetapkan kandungan kurkumin dan xantORIZOL dari ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi. Penelitian ini dibuat ekstrak temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, dan Sumba menggunakan metode maserasi. Hasil ekstrak dari lima daerah dilakukan uji penapisan fitokimia, uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap larva *Artemia salina*. Pada ekstrak temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi dilakukan uji parameter non-spesifik serta penetapan kadar kurkumin dan xantORIZOL. Ekstrak temulawak yang berasal dari lima daerah tersebut mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, kuinon, triterpenoid. Hasil LC₅₀ ekstrak yang berasal dari lima daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, dan Sumba tersebut secara berurutan sebagai berikut 48,34 mg/L, 41,85 mg/L 64,58 mg/L, 105,32 mg/L, 82,17 mg/L. Ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi diperoleh hasil penetapan parameter non-spesifik memenuhi persyaratan yang ditetapkan serta pada ekstrak tersebut diperoleh kadar kurkumin dan xantORIZOL sebesar 74,79 ppm dan 118,17 ppm. Berdasarkan hasil disimpulkan bahwa ekstrak temulawak memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* dan terdapat perbedaan hasil toksisitas ekstrak yang berasal dari lima daerah, ekstrak dengan toksisitas tertinggi yaitu ekstrak yang berasal dari daerah Tembalang teridentifikasi mengandung senyawa kurkumin dan xantORIZOL.
- (F) Daftar Rujukan: 60 buah (1989-2023)
- (G) Dr. apt. Sarah Zaidan, S.Si, M.Farm.; Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed.
- (H) 2023

ABSTRACT

- (A) FAKHRIZAL DWI APRIAN (2019210277)
- (B) BSLT TOXICITY TESTING OF ETHANOL EXTRACT JAVANESE TUMERIC (*Curcuma xanthorrhiza*) FROM FIVE DIFFERENT AREAS AND DETERMINING CONTENTS OF CURCUMIN AND XANTORIZOL COMPOUNDS
- (C) *xiii + 97 pages; 9 tabels; 5 images; 16 attachments*
- (D) Keywords: Toxicity, BSLT, Javanese tumeric, Curcumin, XantORIZOL,
- (E) The BSLT toxicity test is a preliminary test to look for substances that have the potential to act as anticancer. One natural ingredient that has the potential to be an anticancer candidate is ginger. The aim of this research is to determine the level of toxicity against *Artemia salina* and to look for anticancer candidates from ginger originating from different regions based on their toxicity, determining the curcumin and xanthorrhizol content of the extracts which have the highest toxicity. In this research, ginger extract was made from Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi and Sumba using the maceration method. The extract results from five areas were subjected to phytochemical screening tests, toxicity tests using the BSLT method against *Artemia salina* larvae. On the ginger extract which has the highest toxicity, non-specific parameter tests were carried out and the levels of curcumin and xanthorrhizol were determined. Temulawak extract originating from these five regions contains secondary metabolites of flavonoids, saponins, quinones, triterpenoids. The LC50 results of extracts originating from the five regions of Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi and Sumba are sequentially as follows 48.34 mg/L, 41.85 mg/L, 64.58 mg/L, 105.32 mg/L, 82.17 mg/L. The extract that had the highest toxicity was obtained from the results of determining non-specific parameters that met the specified requirements and in this extract the levels of curcumin and xanthorrhizol were obtained at 74.79 ppm and 118.17 ppm. Based on the results, it was concluded that ginger extract had a toxic effect on *Artemia salina* larvae and there were differences in the toxicity results of extracts originating from five regions, the extract with the highest toxicity, namely the extract originating from the Tembalang area, was identified as containing curcumin and xanthorrhizol compounds.
- (F) Bibliography: 60 references (1989-2023)
- (G) Dr. apt. Sarah Zaidan, S.Si, M.Farm.; Prof. Dr. apt. Syamsudin, M.Biomed.
- (H) 2023

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Pemanfaatan senyawa aktif dari bahan alam merupakan salah satu peluang potensial sebagai alternatif pencarian antikanker baru. Keanekaragaman hayati tanaman obat yang dimiliki Indonesia yang terbentang dari sabang sampai merauke merupakan sumber daya yang cukup besar untuk dimanfaatkan dan dikembangkan. Berdasarkan hal itu pengembangan sumber alternatif antikanker yang berasal dari bahan alam gencar dilakukan belakangan ini. Salah satu upayanya adalah dengan mengeksplorasi tanaman yang biasa dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat lokal (1).

Suatu bahan dapat diketahui potensi antikankernya dengan pendekatan menggunakan metode BSLT. Metode BSLT merupakan skrining awal terhadap bahan yang berpotensi memiliki korelasi sebagai antikanker berdasarkan nilai toksisitasnya. Metode BSLT sering dipilih sebagai metode pencarian kandidat antikanker dikarenakan pengujian yang relatif cepat, murah, tingkat kepercayaannya tinggi (2). Suatu ekstrak bila dinyatakan toksik berdasarkan pengujian BSLT maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut dengan pengujian sitotoksik terhadap kultur sel kanker untuk memvalidasi efek sebagai antikanker yang bersifat selektif tidak mematikan sel normal dan tidak menyebabkan resisten (3).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan obat yang umum digunakan oleh masyarakat adalah tanaman dari genus *curcuma* (4). Tumbuhan dari genus *curcuma* merupakan tumbuhan temu-temuan yang menghasilkan rimpang yang berbau khas. *Curcuma* masuk ke dalam genus utama dari famili *zingiberaceae* dan diketahui kaya akan senyawa metabolit sekunder (5). Pada penelitian yang sudah dilakukan diketahui bahwa tanaman genus *curcuma* memiliki potensi sebagai antikanker melalui uji pendahuluan BSLT dilihat dari efek toksiknya terhadap *Artemia salina* (4). Beberapa tanaman dari genus

curcuma yang telah diketahui efek toksiknya terhadap *Artemia salina* yaitu temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), temu putih (*Curcuma zedoaria*), temu mangga (*Curcuma mangga*). Berdasarkan hal itu peneliti tertarik meneliti tanaman dari genus curcuma lainnya yaitu temulawak (6)(7)(8).

Temulawak telah luas pemanfaatannya oleh masyarakat lokal seperti dimanfaatkan sebagai bumbu dapur, minuman peningkat kesehatan, dan sebagai obat tradisional (9). Secara empiris temulawak banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati gangguan saluran pencernaan, radang empedu, rematik, kolesterol tinggi, dan peningkatan nafsu makan (10). Berbagai manfaatnya dalam pengobatan tidak terlepas dari kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam temulawak seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan minyak atsiri (11). Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas yang menghambat pertumbuhan dan membunuh sel kanker. Seperti pada kandungan senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid yang diisolasi dari berbagai tanaman diketahui memberikan efek menghambat proliferasi sel kanker (12). Senyawa saponin diketahui dapat memberikan efek menghambat pembentukan BCL-2 yang diekspresikan terlalu tinggi (13). Berdasarkan hasil tersebut temulawak memiliki potensi menjadi kandidat bahan antikanker. Potensi tersebut dapat diuji pendahuluan sebagai memberi informasi potensi temulawak sebagai obat herbal antikanker.

Temulawak sebagai tanaman yang berasal dari genus curcuma menghasilkan metabolit sekunder yang umum terkandung di dalam tanaman dari genus curcuma lainnya yaitu senyawa kurkumin. Senyawa kurkumin merupakan senyawa dari golongan fenolik yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan memiliki kaitan dengan mekanisme menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit kanker (14). Selain mengandung senyawa kurkumin, temulawak juga kaya akan kandungan minyak atsiri. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan temulawak mengandung 18 macam fraksi minyak atsiri dan salah satunya adalah senyawa xantorizol yang memiliki presentase kedua terbesar dari fraksi minyak esensial (15). Xantorizol

merupakan senyawa spesifik yang hanya terkandung dalam temulawak. Senyawa xantorizol tergolong ke dalam senyawa terpenoid dari golongan seskuiterpen. Telah diketahui bahwa senyawa dari golongan terpen dapat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan tumor (16). Senyawa kurkumin dan xantorizol merupakan senyawa bioaktif utama yang terkandung dalam temulawak oleh karena itu perlu ditentukan keberadaan kedua senyawa tersebut terkandung di dalam ekstrak temulawak yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini baik secara kualitatif maupun kuantitatif (17).

Seiring perkembangan zaman telah banyak dilakukan penelitian menggunakan bahan alam untuk penemuan bahan antikanker baru. Namun, masih sedikit penelitian bahan alam dalam mencari kandidat yang memiliki potensi antikanker berdasarkan toksisitas berdasarkan lokasi penanaman di daerah yang berbeda. Kandungan metabolit sekunder yang diproduksi suatu tanaman dapat dipengaruhi faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal merupakan faktor genetik dari tanaman tersebut, sedangkan faktor eksternal meliputi kondisi lingkungan penanaman seperti suhu, cuaca, intensitas cahaya, dan ketinggian tanah lokasi penanaman (18). Kandungan bioaktif yang dihasilkan oleh tanaman dapat dipengaruhi faktor genetik dan lingkungan tumbuh tanaman temulawak. Kandungan bioaktif temulawak ini akan menentukan bioaktivitas atau khasiat temulawak. Hal ini telah diuji dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak temulawak yang berasal dari lokasi penanaman yang berbeda (19).

Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini akan dilakukan skrining pada ekstrak temulawak yang berasal dari lima daerah penanaman berbeda yang ada di Indonesia kelima daerah tersebut yaitu Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, dan Sumba Barat Daya. Metode yang akan digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan metode BSLT untuk melihat profil toksisitas ekstrak temulawak terhadap larva *Artemia salina* Leach. Selanjutnya ekstrak rimpang temulawak dari daerah yang memiliki profil toksisitas tertinggi akan di uji kadar senyawa kurkumin serta xantorizol. Keduanya merupakan komponen yang

memiliki kandungan yang cukup dalam temulawak serta dipercaya senyawa yang memiliki aktivitas biologi kuat terhadap sel kanker.

B. RUMUSAN MASALAH

Sebagai salah satu upaya mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam di Indonesia dalam mencari kandidat bahan alam yang berpotensi menjadi antikanker, maka perlu diuji potensi temulawak berdasarkan profil toksisitasnya yang berasal dari lokasi penanaman berbeda dengan skrining awal menggunakan metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT), sebagai cara awal identifikasi toksisitas temulawak berdasarkan nilai LC₅₀. Berdasarkan latar belakang tersebut dirumuskan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, Sumba memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach?
2. Bagaimanakah perbedaan toksisitas ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari lima daerah berbeda yaitu Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi dan Sumba terhadap larva *Artemia salina* Leach?
3. Apakah ekstrak rimpang temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi mengandung senyawa kurkumin dan xantorizol?

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Untuk mengetahui profil toksisitas ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, Sumba terhadap larva *Artemia salina* Leach.
2. Untuk mengetahui potensi ekstrak rimpang temulawak dari lima daerah penanaman temulawak yang berbeda yaitu Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, Sumba dilihat dari nilai toksisitasnya terhadap terhadap larva *Artemia salina* Leach.
3. Untuk mengetahui kandungan senyawa kurkumin dan xantorizol dari ekstrak rimpang temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi

D. MANFAAT PENELITIAN

Pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah terkait potensi rimpang temulawak sebagai antikanker berdasarkan hasil uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT serta menentukan ekstrak rimpang temulawak terbaik dilihat dari profil toksisitasnya berdasarkan perbedaan daerah lokasi penanaman.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. TINJAUAN BOTANI



Gambar II. 1 Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

1. Klasifikasi Tanaman

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) adalah tumbuhan terkenal yang berasal dari Indonesia. temulawak adalah tumbuhan yang banyak ditemukan di hutan tropis dan salah satu tumbuhan sering digunakan dalam pengobatan. Temulawak sebagai obat atau bahan obat tradisional dapat menjadi harapan untuk pengembangan obat tradisional Indonesia sebagai sediaan fitoterapi yang kegunaannya dan keamanannya dapat dipertanggungjawabkan.

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : Curcuma
Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* (15)

2. Nama Daerah

Jawa : Koneng gede (Sunda), temulawak (Jawa), temolabak (Madura).
Sumatera : Temu lawak (melayu)



Gambar II. 2 Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza R.*) (27)

3. Morfologi Temulawak

Morfologi temulawak dapat diamati dari bagian akar, batang, daun dan bunganya.

a. Morfologi akar

Jenis akar pada tanaman temulawak adalah berbentuk serabut yang bercabang kuat, serta berwarna hijau gelap. Jenis akar temulawak ini dapat tumbuh hingga mencapai sekitar 25 cm. akar dari bagian rimpang induk memiliki 3-4 buah rimpang anakan. Rimpangnya berwarna cokelat kemerahan atau kuning tua, sedangkan warna dagingnya oranye tua atau kuning. Panjangnya dapat mencapai sekitar 15 cm dan berdiameter 6 cm. baunya harum tajam dan rasanya pahit agak pedas.

b. Morfologi batang

Karakteristik batang tanaman temulawak adalah berbatang semu yang terbentuk dari pelepah daunnya yang saling menutupi satu sama lain, berwarna hijau atau cokelat gelap. Batang semu ini dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 1 meter. Satu rumpun tanaman temulawak biasanya terdiri dari satu tanaman induk dan beberapa tanaman anakan.

c. Morfologi daun

Setiap batang tanaman mempunyai sekitar 2-9 helai daun dengan bentuk bundar memanjang sampai bangun lanset mirip daun pisang. Daun

tanaman temulawak berwarna hijau atau cokelat terang sampai gelap. Panjang daun dapat mencapai 31-84 cm dengan lebar hingga 10-18 cm, serta panjang tangkai daun termasuk helaian antara 43-80 cm.

d. Morfologi bunga

Temulawak mempunyai bunga yang berbentuk unik yaitu bergerombol. Bunganya berukuran pendek dan lebar, berwarna putih kemerah-merahan atau kuning tua dengan pangkal bunga berwarna ungu. Bunga bertangkai panjang sekitar 1,5–3 cm dan berkelompok 3-4 buah. Bunganya majemuk berbentuk bulir, bulat panjang, mempunyai ukuran panjang 9-23 cm dan lebar 4-6 cm. Bunga muncul secara bergiliran dari kantong-kantong daun pelindung yang besar dan beraneka ragam dalam warna dan ukurannya. Bunga mekar pada pagi hari dan berangsur-angsur layu di sore hari. Kelopak bunga berwarna putih berbulu dan panjangnya 8-13 mm. Mahkota bunga berbentuk tabung dengan panjang keseluruhan sekitar 4,5 cm dan berwarna merah. Helaian bunga berbentuk bulat memanjang berwarna putih dengan ujung yang berwarna merah, panjangnya 1,25-2 cm dengan lebar 1 cm. Bunganya langsung tumbuh atau muncul dari rimpang. Bunga ini jarang atau bahkan tidak menghasilkan biji (20).

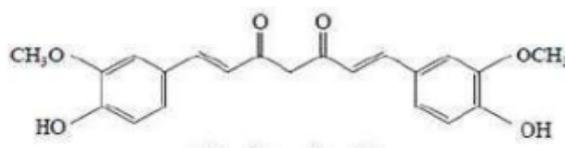
B. KANDUNGAN RIMPANG TEMULAWAK

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan salah satu rempah-rempah yang termasuk ke dalam keluarga *zingiberaceae* yang tumbuh di daerah tropis dan memiliki banyak khasiat dan manfaat. Rimpang temulawak sering dijumpai untuk dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional. Rimpang temulawak merupakan bagian yang berkhasiat dan mengandung berbagai komponen kimia yang dapat dimanfaatkan, diantaranya kurkuminoid, minyak atsiri, pati, protein, lemak, selulosa. Manfaat yang diperoleh dari temulawak dapat diperoleh dari kurkuminoid (kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin) dan xantorizol yang merupakan senyawa aktif dalam rimpang temulawak. Komposisi

kimia dari rimpang temulawak adalah pati sebesar 29-30%, kurkuminoid 1-2%, dan minyak atsirinya antara 6- 10%. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa di dalam temulawak mengandung senyawa-senyawa kurkuminoid, senyawa-senyawa tersebut diketahui mempunyai potensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, anti kanker, antimutagen, obat sakit perut, diabetes, aterosklerosis, hipokolesterolemik dan untuk penyembuhan penyakit hepatitis (21).

1. Kurkumin

Kurkumin merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman yang termasuk ke dalam kelompok *Curcuma*. Kurkumin adalah senyawa aktif golongan polifenol dengan rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$. Kurkumin memiliki khasiat sebagai anti-inflamatori, anti imunodefisiensi, antivirus, anti bakteri, anti jamur, anti-oksidan, anti karsinogenik dan anti kanker. Kurkumin memiliki warna yang tidak mudah larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik (22). Kurkumin bisa bersifat sebagai antioksidan yang baik karena masuk ke dalam senyawa fenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan dan inhibitor melanogenesis. Kurkumin secara umum tidak berdiri sendiri melainkan secara komersial terdiri dari campuran kurkuminoid yang terdiri dari 77% kurkumin, 17% demetoksikurkumin, dan 6% bisdemetoksikurkumin (22).

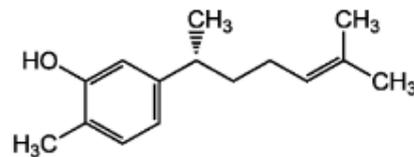


Gambar II. 3 Struktur (23)

2. Xantorizol

Xantorizol merupakan senyawa penciri utama rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) xantorizol merupakan senyawa golongan seskuiterpen teroksidasi yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{22}O$ dengan bobot molekul sebesar 218.3 g/mol. Senyawa dengan nama IUPAC 5-(1,5-dimetilheks-4-enil)-2metilfenol ini mempunyai ciri tidak berwarna, stabil

terhadap panas, sangat pahit serta larut baik dalam etanol (24). Xantorizol mempunyai kemampuan sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan, antiinflamasi, dan anti kanker (25)



Gambar II. 4 Struktur xantorizol (24)

C. EKSTRAKSI

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan yang terdiri dari pemisahan suatu zat dari matriks. Ekstraksi terbagi menjadi dua jenis cara berdasarkan bahan yang akan diekstrak termasuk ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase cair-padat. Dalam tahap isolasi ekstraksi menjadi langkah awal dalam proses pemisahan suatu zat yang terkandung dalam bahan alam. Ekstraksi memindahkan senyawa yang terkandung dalam bagian tanaman kecairan lain yang merupakan pelarut cair yang digunakan. Hal ini masuk dalam konsep teori partisi dimana konsep distribusi zat terlarut antara dua fase yang dipengaruhi kondisi kesetimbangan (26).

Ekstraksi tumbuhan merupakan suatu proses yang bertujuan untuk mengekstraksi komponen kimia atau metabolit sekunder yang dihasilkan dan terkandung di dalam bagian tumbuhan. Pengambilan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan dilakukan dengan metode pemisahan padat-cair dimana benda padat (sampel) diekstraksi dengan menggunakan pelarut cair sehingga didapatkan suatu ekstrak yang larut dan dapat memisahkan dari komponen yang tidak larut. Ekstraksi komponen aktif dari tanaman bagian penting pertama dalam penelitian produk bahan alam. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan cara dingin dan cara panas. Cara dingin biasanya menggunakan teknik ekstraksi maserasi dan perkolasi (27).

Metode ekstraksi bergantung pada sifat fisik senyawa seperti kelarutan, polaritas atau ukuran. Banyak faktor yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi fitokimia dari bahan tanaman. Faktor utama yang dapat mempengaruhi ekstraksi efisiensi fitokimia dari bahan tanaman seperti, jenis material tanaman, teknik ekstraksi, waktu ekstraksi, tekanan, suhu, rasio solut dengan solvent dan jenis pelarut yang digunakan (26).

2. Metode Ekstraksi Maserasi

Tahap pembuatan ekstrak, pemilihan teknik ekstraksi harus didasari oleh bagian tanaman yang akan diekstraksi dan bahan aktif yang akan digunakan. Idealnya, teknik ekstraksi harus mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan dan hasil yang diperoleh konsisten. Metode ekstraksi yang umumnya digunakan menurut Departemen Kesehatan Indonesia adalah dengan menggunakan maserasi.

Maserasi adalah teknik umum yang digunakan untuk ekstraksi. Maserasi salah satu metode sederhana yang banyak dilakukan untuk mengekstraksi senyawa dari tanaman. Salah satu tujuan dari prosedur ekstraksi tersebut adalah untuk mendapatkan bagian yang diinginkan secara terapeutik. Terdapat dua tipe maserasi yaitu sederhana dan kinetik. Maserasi sederhana dapat dilakukan dengan merendam bagian simplisia secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup. Maserasi kinetik dapat dilakukan dengan menempatkan bahan tanaman yang telah dihaluskan berupa serbuk ke dalam bejana tertutup dan menambahkan pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi, sistem dibiarkan dengan sesekali diaduk, cairan kemudian disaring hingga diperoleh ekstrak cair. Selanjutnya ekstrak cair disaring dan ampasnya diperas agar diperoleh bagian cair yang telah terlarut metabolit sekunder dari simplisia yang digunakan. Modifikasi cara lain maserasi dengan memisahkan larutan pekat dengan menambahkan pelarut baru ke *marc* (residu padat dari proses ekstraksi) untuk meningkatkan hasil ekstrak (26)

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara dingin dimana proses ekstraksi dengan perendaman sederhana sampel serbuk pada suhu kamar dengan tujuan menghindari senyawa yang bersifat termolabil tidak rusak. Keuntungan dari teknik ini adalah maserasi metode ekstraksi yang mudah dilakukan tanpa keahlian khusus dan murah dalam proses ekstraksi bahan alam, namun memiliki kelemahan yakni memakan waktu dan kurang efisien dari kebutuhan pelarut yang digunakan (28).

D. PENAPISAN FITOKIMIA

Penapisan fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian bahan alam yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru atau prototipe obat beraktivitas tertentu. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi (29).

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda antara spesies satu dengan lainnya. Selain itu perbedaan letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan suatu wilayah salah satu yang menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman. Metabolit sekunder bagi tanaman memiliki kemampuan bioaktivitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, gangguan hama, penyakit tanaman, dan dapat juga digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit pada manusia (30)(28). Penapisan fitokimia yang akan dilakukan menggunakan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) meliputi:

1. Identifikasi golongan alkaloid.
2. Identifikasi golongan flavonoid.
3. Identifikasi golongan saponin.
4. Identifikasi golongan kuinon.
5. Identifikasi golongan tanin.

6. Identifikasi golongan kumarin.
7. Identifikasi golongan steroid dan triterpenoid.
8. Identifikasi golongan minyak atsiri.

E. TOKSISITAS

Toksisitas adalah pernyataan kemampuan suatu zat yang dapat menyebabkan timbulnya gejala keracunan. Penilaian toksisitas merupakan penentuan potensi zat apapun yang bertindak sebagai racun, dimana potensi tersebut akan direalisasikan dan dikarakterisasi. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat, efek tersebut sangat tergantung pada sifat zat yang diuji. Sifat toksik suatu senyawa ditentukan oleh dosis, sifat zat tersebut, kondisi bioorganisme, paparan terhadap organisme, dan bentuk efek yang ditimbulkan. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara absolut dalam meyakinkan efek suatu bahan pada manusia, tetapi dapat memberikan petunjuk apabila terdapat toksisitas serta membantu identifikasi potensi toksik suatu bahan. (31). Meskipun tujuan toksisitas adalah penilaian potensi resiko kesehatan manusia, pengujian dilakukan pada hewan coba. Hal tersebut dikarenakan alasan etis sehingga tidak memungkinkan melakukan pengujian langsung pada manusia. Kemudian dari hasil pengujian nantinya akan dilakukan ekstrapolasi data hewan ke manusia, dan ekstrapolasi efek dosis tinggi ke dosis rendah. Toksisitas ditetapkan di laboratorium, umumnya menggunakan hewan coba dengan cara ingesti, pemaparan pada kulit, inhalasi, gavage, atau meletakkan bahan dalam air, atau udara pada lingkungan hewan coba (32).

Uji toksisitas dibagi dua kelompok, yaitu toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum dilakukan untuk mengevaluasi keseluruhan efek suatu senyawa pada hewan coba yang meliputi uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, dan uji toksisitas kronik (31).

1. Toksisitas akut

Pengujian untuk mendeteksi efek muncul dalam waktu singkat setelah pemberian dosis Tunggal ataupun dosis berulang dari sediaan uji yang

diberikan selama kurun waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut diberikan konsentrasi uji dari yang terendah kemudian ke konsentrasi tertinggi. Selanjutnya dilakukan pengamatan untuk penentuan LC₅₀ (konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian 50% dari kelompok hewan uji (32).

2. Toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronik merupakan uji ketoksikan yang dilakukan dengan pemberian dosis berulang selama periode yang Panjang. Uji toksisitas ini bertujuan untuk menetapkan regimen dosis untuk studi kronis berkepanjangan dan penentuan tingkat efek yang tidak dapat diamati. Uji toksisitas subkronis juga berguna dalam memberikan informasi tentang organ target dan potensi bahan kimia uji untuk terakumulasi dalam organisme (31)

Prinsip uji toksisitas subkronis adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap atau minimal 5 hari dalam satu minggu pada beberapa hewan uji dengan satu dosis per kelompok. Hewan yang mati selama waktu pemberian sediaan uji dan belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera di otopsi dan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup di otopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu, dilakukan pemeriksaan parameter hematologi, biokimia klinis, dan pembuatan preparat untuk melihat histopatologi pada organ hewan makanan (31).

Jenis uji toksisitas subkronis terdiri dari 2 macam, yaitu uji toksisitas subkronis singkat 28 hari dan uji toksisitas subkronis 90 hari, dan bila diperlukan dapat ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible* (31).

3. Toksisitas kronik

Pengujian ini memberikan informasi terhadap toksisitas yang ditimbulkan akibat paparan jangka panjang terhadap racun. Titik akhir subletal yang dikaitkan dengan toksisitas kronis termasuk disfungsi reproduksi, endokrin, kekebalan tubuh, dan perkembangan. Pada uji toksisitas kronis juga dapat

menyebabkan kematian langsung yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut.

F. BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang berpotensi memiliki sifat sitotoksik. Metode ini menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini termasuk dalam uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji. Prosedur metode BSLT ini dengan menentukan nilai LC_{50} dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina*. Pengujian ini adalah pengujian letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktivitas tumor, tetapi merupakan indikator toksisitas yang baik untuk menunjukkan korelasi yang kuat dengan pengujian antitumor yang lainnya seperti uji sitotoksitas dan uji leukimia tikus. Karena kesederhanaan prosedur pengerjaan, biaya yang rendah serta korelasinya terhadap pengujian toksisitas antikanker dan pengujian antitumor menjadikan BSLT sering digunakan sebagai uji hayati pendahuluan untuk aktivitas antikanker dan antitumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (33).



Gambar II. 5 Morfologi *Artemia salina* L (33)

1. Larva Udang *Artemia salina* Leach

Artemia salina atau yang biasa disebut *brine shrimp* merupakan hewan perairan khususnya air laut yang masuk ke dalam jenis udang-udangan primitif. *Artemia salina* sejak lama dikenal oleh seorang ahli botani yaitu Linnaeus pada tahun 1778 yang diberi nama *cancer salinus*, kemudian oleh Leach diubah menjadi *Artemia salina* pada tahun 1819. Hewan ini hidup planktonik di perairan yang memiliki kandungan kadar garam tinggi (antara 15-300 permil). Suhu berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, dan PH antara 7,3-8,4. Sebagai plankton, *Artemia salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap ancaman serangan dari predatornya, hal ini dikarenakan tidak dimilikinya alat maupun sistem yang dapat mempertahankan diri sehingga bila terdapat suatu ancaman dari predator atau musuhnya *Artemia salina* tidak dapat melepaskan diri dari ancaman tersebut. Satu hal yang dapat menjadi pertahanan diri secara tidak langsung yang dimiliki *Artemia salina* adalah kemampuannya yang mampu hidup dan bertahan dalam lingkungan yang berkadar garam tinggi, kemampuannya yang berbeda dari hewan perairan air laut yang lain menjadi suatu hal yang menguntungkan untuk *Artemia salina* dalam mempertahankan diri karena pada kondisi garam tinggi predator dari *Artemia salina* pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi karena tidak mampu bertahan dalam kondisi kandungan garam yang ekstrim sehingga *Artemia salina* dapat terus tumbuh serta berkembang hingga terjadinya daur hidup. Sebagai plankton *Artemia salina* merupakan salah satu komponen penting dalam suatu dasar rantai makanan pada ekosistem perairan air asin, selain itu *Artemia salina* juga dapat dimanfaatkan dalam pengujian laboratorium pada proses mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tanaman atau bagian dari tanaman (33).

Pada umumnya panjang tubuh *Artemia salina* berkisar 8-10 mm. tubuhnya yang tumbuh memanjang dan bersegmen dapat tumbuh paling sedikit 20 segmen serta dilengkapi dengan 10 pasang phyllopodia pipih, phyllopodia ialah bagian dari morfologi *Artemia salina* yang memiliki bentuk menyerupai daun yang bergerak dengan ritme yang teratur. *Artemia salina*

dewasa memiliki ekspresi fenotip dari segi warna yang dapat diamati berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan. *Artemia salina* memiliki morfologi yang dilengkapi dengan mulut dan sepasang mata pada antenanya. Telur *Artemia salina* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (34).

2. Tempat Hidup *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach memiliki ketahanan yang luar biasa khususnya pada kadar salinitas dimana dapat bertahan hidup pada variasi salinitas air yang luas dari air laut berkisar (2,9-3,5%), dan masih mampu bertoleransi pada kondisi kadar garam hingga (50%). *Artemia salina* Leach. juga mendiami kolom-kolom evaporasi buatan manusia yang biasa digunakan untuk mendapatkan garam dari lautan. Insang membantunya agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorpsi dan ekskresi ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari glandula maxillaris. Hidup pada variasi temperatur air yang tinggi pula, dari 6-37°C dengan temperatur optimal untuk reproduksi pada 25°C (suhu kamar). Keuntungan hidup pada lokasi berkadar garam tinggi adalah sedikitnya predator namun kekurangannya sumber makanannya sedikit (34).

3. Pertumbuhan dan Daur Hidup *Artemia salina* Leach

Dibedakan menjadi dua golongan berdasarkan cara berkembangbiaknya. antara lain perkembangbiakan secara seksual dan partenogenetik. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada jenis *Artemia salina* ovovivipar, anakan yang keluar dari induknya sudah berupa anak yang dinamakan nauplii, sehingga sudah langsung dapat hidup sebagai larva *Artemia salina*, sedangkan pada cara ovipar, yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan siste. Proses untuk menjadi nauplii masih harus melalui proses penetasan terlebih dahulu. Kondisi

ovovivipar biasanya terjadi bila keadaan lingkungan cukup baik, dengan kadar garam kurang dari 150 per mil dan kandungan oksigennya cukup. Oviparitas terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur ini memang dipersiapkan untuk menghadapi keadaan lingkungan yang buruk, bahkan kering. Bila keadaan lingkungan baik kembali, telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam.

Telur artemia biasanya disebut dengan istilah siste, yaitu telur yang telah berkembang lebih lanjut menjadi embrio dan kemudian diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Oleh karena itu, sistem ini sangat tahan menghadapi keadaan lingkungan yang buruk telur *Artemia salina* direndam dalam air laut bersuhu 25°C, maka akan menetas dalam waktu 24-48 jam. Setelah menetas dari cangkang keluarlah larva yang juga dikenal dengan istilah nauplius. Perkembangan selanjutnya larva akan mengalami 15 kali perubahan bentuk atau metamorphosis (34). Setiap kali larva mengalami perubahan bentuk merupakan satu tingkatan. Larva tingkat I dinamakan instar I, tingkat II dinamakan instar II, tingkat III dinamakan instar III, demikian seterusnya sampai instar XV. Setelah itu berubahlah menjadi artemia dewasa. Larva yang baru saja menetas masih dalam tingkatan instar I berwarna kemerah-merahan karena masih banyak mengandung makanan cadangan, oleh karena itu mereka masih belum perlu makanan. Anggota badannya sendiri terdiri dari sepasang sungut kecil (Antennule atau Antena I) dan sepasang sungut besar (Antena atau Antena II). Dibagian mulut besarnya terdapat sepasang mandibulata (rahang) yang kecil, sedangkan di bagian ventral (perut) terdapat labrum. Sekitar 24 jam setelah menetas, larva berubah menjadi instar II. Pada tingkatan instar II, larva sudah mulai mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Oleh karena itu, larva tersebut mulai mencari makanan dengan menggerakkan antena-IInya yang juga berguna sebagai alat gerak. Bersamaan dengan itu juga cadangan makanannya sudah mulai habis. Kemudian pada tingkat selanjutnya mulai terbentuklah sepasang mata majemuk, selain itu berangsur-angsur juga tumbuh tunas-tunas kakinya.

Setelah menjadi instar XV, kakinya pun sudah lengkap sebanyak 11 pasang, maka berakhirilah masa larvanya dan berubahlah larva tersebut menjadi artemia dewasa. *Artemia salina* yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali, dihasilkan 50-300 telur atau nauplius. Nauplii akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (35).

4. Pengujian Toksisitas Larva *Artemia salina* Leach

Pengujian BSLT membutuhkan larva *Artemia salina* Leach yang diperoleh dengan cara penetasan telur *Artemia salina* Leach. Penetasan telur dapat dilakukan dalam wadah plastik yang berbentuk kotak dengan menggunakan media air laut yang terbagi menjadi bagian terang dan bagian gelap. Kedua bagian tersebut dipisahkan oleh sekat yang berlubang. Pada bagian gelap dimasukkan telur *Artemia salina* Leach. Selama proses penetasan, larva akan berpindah ke daerah yang terang melalui sekat yang berlubang tersebut. Pada bagian terang diberi penerangan cahaya lampu yang sesuai untuk penetasan, yaitu sebesar 40-60 watt dengan suhu berkisar 25-30°C. Setelah melalui proses penetasan selama 24 jam, telur menjadi larva atau dengan nama lain nauplii. Nauplii yang digunakan untuk BSLT adalah nauplii yang berumur 48 jam dan aktif bergerak. Pada fase naupli ini terjadi fase paling aktif membelah secara mitosis sehingga identik dengan sel kanker. Nauplii yang berumur di bawah 48 jam mempunyai epitel saluran pencernaan.

5. Mekanisme Kerja Senyawa

Mekanisme kerja senyawa senyawa yang terdapat pada ekstrak adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini juga dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan. Senyawa toksik yang ada pada ekstrak dapat masuk melalui bagian mulut *Artemia salina* dan diabsorpsi masuk ke dalam saluran pencernaan terjadi

proses absorpsi melalui membran sel. Setelah proses absorpsi dilanjutkan dengan proses distribusi senyawa toksik ke dalam tubuh *Artemia salina* dan terjadi proses kerusakan reaksi metabolisme (36).

G. PEMERIKSAAN PARAMETER MUTU EKSTRAK

1. Parameter Spesifik

a. Organoleptik

Penggunaan pancaindera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, rasa sebagai berikut:

Bentuk : padat, serbuk kering, kental, dan cair.

Warna : kuning, cokelat, hijau, dan lain-lain.

Bau : aromatik, tidak berbau, dan lain-lain.

Rasa : pahit, manis, dan kelat.

b. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Melarutkan ekstrak jumlah zat terlarut yang identik dengan jumlah senyawa secara gravimetri. Hal tertentu dapat diukur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya heksan, diklorometana, dan metanol. Tujuan pemeriksaan ini adalah untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa yang terbawa oleh suatu pelarut (37).

2. Parameter Non spesifik

a. Kadar air

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan dilakukan dengan cara yang tepat diantaranya metode Karl Fischer. Tujuannya untuk memberikan batasan minimal atau rentang kadar kandungan air dalam bahan.

b. Susut pengeringan

Pengukuran sisa zat pengeringan pada suhu 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan yang dinyatakan sebagai nilai persen. Khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa organik menguap) identik dengan kadar air yaitu kandungan air karena berada di atmosfer/lingkungan udara terbuka. Tujuan memberikan batasan

maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

c. Kadar abu

Bahan dipanaskan pada suhu dimana senyawa organik dalam turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.

d. Sisa pelarut

Menentukan kandungan sisa pelarut tertentu (yang memang ditambahkan) yang secara umum dengan kromatografi gas. Tujuannya untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada, sedangkan untuk ekstrak cair menunjukkan jumlah pelarut yang sesuai dengan yang ditetapkan.

e. Cemar logam berat

Menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom. Tujuannya untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dan lain-lain) melebihi nilai yang ditetapkan karena dapat berbahaya (toksik) (37).

H. KROMATOGRAFI

Kromatografi adalah metode pemisahan fisik suatu campuran zat-zat kimia (analit) yang berdasarkan pada perbedaan migrasi atau distribusi masing masing komponen campuran yang akan terpisah pada fase diam (*stationary phase*) dibawah pengaruh fase gerak (*mobile phase*), fase gerak dapat berupa gas atau zat cair dan fase diam dapat berupa zat cair dan zat padat. Fase pertama disebut fase diam karena tidak bergerak di dalam suatu kolom dan fase yang kedua disebut fase gerak karena fase gerak didorong melalui fase diam. Pemisahan terjadi akibat adanya perbedaan daya adsorpsi, kelarutan, partisi, ukuran molekul, ukuran ion dan tekanan uap pada komponen yang dibawa oleh fase gerak melalui fase diam (38).

Kromatografi mempunyai beberapa pengelompokan seperti pengelompokan berdasarkan perbedaan fase diamnya pertama terdapat fase diam yang diletakkan dalam lapisan tipis seperti kromatografi lapis tipis (KLT), kedua kromatografi yang menggunakan fase diam yang diletakkan dalam kolom seperti kromatografi gas dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (38).

1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar dengan metode pemisahan fisikokimia yang melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam berupa serbuk halus yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat kaca, logam atau lapisan yang cocok sebagai permukaan penjerap atau penyangga untuk lapisan zat cair. Syarat fase diam yang baik adalah seragam, tidak larut dalam fase gerak, dan zat terlarut. Fase gerak merupakan media pengangkut atau pengembang, berupa pelarut tunggal atau pelarut campur. Pelarut yang digunakan adalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multikomponen berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Pelarut yang umumnya digunakan atau sering dikombinasikan dalam KLT adalah *n*-heksan, eter, kloroform, etil asetat, aseton, etanol, metanol, dan air (38).

2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah hasil pengembangan dari kelompok kromatografi cair, yakni kromatografi cair kolom. Teknologi kolom didasarkan atas penggunaan kolom berpori kecil (diameter antara 2 μm sampai 5 μm) dan isi kolom berupa partikel kecil (3 μm sampai 5 μm) yang memungkinkan tercapainya keseimbangan secara cepat antara fase gerak dan fase diam.

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan cara identifikasi analisis kualitatif dan kuantitatif berdasarkan teknik pemisahan yang diterima secara luas digunakan untuk analisis bahan obat, baik dalam bulk atau sediaan farmasetik, serta dalam cairan biologis. Pemisahan senyawa dalam

KCKT diatur oleh distribusi senyawa dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak (38).

Kromatografi cair kinerja tinggi masuk dalam kelompok kromatografi kolom, sebagaimana kromatografi kolom lainnya sampel yang melalui kolom akan mengalami pemisahan senyawa-senyawa di dalamnya. Jika kekuatan interaksi masing-masing senyawa berbeda-beda maka senyawa-senyawa tersebut akan terpisah menjadi puncak-puncak tersendiri. Progress dari pemisahan kromatografi ini akan dimonitor oleh suatu detektor yang sesuai yang terletak pada ujung kolom. Hasil yang diperoleh akan berbentuk suatu kromatogram yang terdiri atas puncak untuk masing-masing senyawa yang terpisah.

Prinsip kerja KCKT atau lebih dikenal HPLC (*high performance liquid chromatography*) adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap komponen senyawa yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah peak di dalam kromatogram menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam senyawa (39).

I. LANDASAN TEORI

Salah satu kelompok tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan obat anti kanker adalah famili dari tanaman *zingiberaceae*, tanaman dari famili ini menghasilkan rimpang yang umum digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. Salah satu tanaman dari famili *zingiberaceae* yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan obat antikanker adalah spesies dari tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Rimpang temulawak merupakan anggota dari genus *curcuma* yang tersebar luas di daerah Indonesia (40,41).

Berdasarkan penelitian terdahulu yang telah dilakukan pada pengujian ekstrak rimpang cabang temulawak memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ 35,92 ppm (42). faktor yang menghasilkan efek toksik dari ekstrak rimpang temulawak ialah kandungan metabolit sekundernya seperti senyawa kurkumin dari golongan polifenol dan xantorizol golongan senyawa triterpenoid. Selain itu diketahui ekstrak rimpang temulawak mengandung metabolit sekunder dari golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan minyak atsiri (11,43).

Metode BSLT digunakan untuk uji toksisitas dimana larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Metode ini memiliki keunggulan dapat digunakan untuk tahap awal penyaringan toksisitas senyawa aktif ekstrak tanaman. Selain itu, hasil pengujian dapat dipercaya, dan metode ini digambarkan sederhana, cepat, dan murah. Ekstrak rimpang temulawak dalam penelitian ini diuji selama 24 jam pada larva *Artemia salina* dalam uji toksisitas jangka pendek. Parameter yang diamati adalah jumlah larva yang mati dan bertahan hidup di setiap konsentrasi. Larva *Artemia salina* digunakan karena termasuk hewan invertebrata yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap toksisitas (4).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan perbedaan lokasi penanaman mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder terkandung dimana hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan eksternal seperti faktor iklim, intensitas cahaya, kelembapan, curah hujan, dan ketinggian lokasi penanaman (18). Pada penelitian lain perbedaan daerah daerah asal tanaman diperoleh menghasilkan perbedaan daya aktivitas antioksidan dan toksisitas (44). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas ekstrak rimpang temulawak menggunakan rimpang temulawak yang diperoleh dari lokasi penanaman berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh perbedaan profil toksisitas yang diberikan terhadap larva *Artemia salina* dari masing-masing sampel.

Hasil pengujian toksisitas kelima sampel terhadap larva *Artemia salina* diperoleh profil toksisitas berupa nilai LC₅₀, dari hasil pengujian tersebut dipilih sampel yang memiliki toksisitas tertinggi. Selanjutnya dilakukan penetapan

kadar senyawa kurkumin dan xantorizol. Penetapan kadar kedua senyawa ini karena senyawa kurkumin dan xantorizol diketahui memiliki aktivitas sitotoksik (45). Hal ini menjadi indikasi bahwa kurkumin dan xantorizol dapat menjadi senyawa yang dapat dipercaya sebagai kandidat antikanker dalam pengembangan selanjutnya. Selain itu, kurkumin merupakan senyawa yang terkandung cukup besar di dalam rimpang temulawak, sedangkan xantorizol merupakan senyawa penciri yang hanya terdapat dalam rimpang temulawak sehingga dapat menjadi penentu kualitas bahan rimpang serta ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi (22,24).

J. HIPOTESIS

1. Ekstrak rimpang temulawak memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan dibuktikan melalui pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT.
2. Terdapat perbedaan toksisitas dari masing-masing ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah penanaman berbeda yaitu Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, Sumba.
3. Ekstrak rimpang temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi mengandung senyawa kurkumin dan xantorizol.

BAB III

RANCANGAN PENELITIAN

A. PRINSIP PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang terlebih dahulu dilakukan pengumpulan bahan rimpang temulawak dari lima daerah berbeda di Indonesia. Rimpang temulawak yang diperoleh dikeringkan menjadi simplisia, selanjutnya rimpang temulawak dibuat menjadi serbuk. Serbuk yang diperoleh diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi kinetik menggunakan pelarut etanol 50% dan dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat. Kelima ekstrak kental rimpang temulawak dilakukan penapisan fitokimia lalu dilakukan uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak rimpang temulawak dengan toksisitas tertinggi kemudian dilakukan pengujian parameter mutu non-spesifik yang terdiri dari penetapan kadar abu total, abu tidak larut asam, penetapan cemaran logam, dan kandungan sisa pelarut. Ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi diidentifikasi senyawa kurkumin dan xantorizol dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis serta dilanjutkan dengan uji kadar senyawa kurkumin dan xantorizol menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi dengan cara mensubstitusi luas area ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya.

B. TEMPAT PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jakarta Selatan.

C. BAHAN PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temulawak yang diperoleh dari lima daerah berbeda Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi dan Sumba Barat Daya. Kelima daerah ini dipilih untuk mewakili daerah yang ada di Indonesia terbentang dari Sabang hingga Merauke

D. DETERMINASI TANAMAN ASAL

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan sebelum penelitian dimulai. Determinasi tanaman dilakukan di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

E. TAHAPAN PENELITIAN

1. Determinasi tanaman.
2. Pengumpulan bahan penelitian.
3. Proses pembuatan simplisia.
4. Pembuatan ekstrak etanol rimpang temulawak.
5. Pemekatan ekstrak cair etanol simplisia rimpang temulawak.
6. Pemeriksaan organoleptik.
7. Pemeriksaan kadar air ekstrak.
8. Penapisan fitokimia.
Serbuk dan ekstrak etanol rimpang temulawak dengan metode Farnsworth:
 - a. Identifikasi golongan alkaloid.
 - b. Identifikasi golongan flavonoid.
 - c. Identifikasi golongan saponin.
 - d. Identifikasi golongan kuinon.
 - e. Identifikasi golongan tanin.
 - f. Identifikasi golongan kumarin.
 - g. Identifikasi steroid-triterpenoid.
 - h. Identifikasi minyak atsiri.
9. Uji toksisitas secara BSLT.
10. Identifikasi kualitatif dengan KLT.
11. Pemeriksaan parameter mutu ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi
 - a. Penetapan kadar abu total.
 - b. Penetapan kadar abu tidak larut asam.

- c. Penetapan cemaran logam berat (Pb, Cd, As) secara spektrofotometri serapan atom (AAS).
 - d. Penetapan sisa pelarut.
12. Penetapan kadar senyawa kurkumin dan xantorizol dengan KCKT.

BAB IV

BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN

A. BAHAN PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan adalah rimpang temulawak yang diperoleh dari Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi dan Sumba. Bahan lainnya adalah etanol 50%, aquadest, n-heksan, ammonia 30%, ammonia 10% amil alkohol, eter, asam asetat anhidrat, petroleum eter, alkohol 96%, asam klorida 1%, asam klorida (p), serbuk magnesium, natrium hidroksida 1 N, asam sulfat (p), dimetil sulfoksida (DMSO), larva *Artemia salina* Leach, garam non iodium, metanol, diklorometana, kloroform, plat silika gel 60 F₂₅₄.

B. ALAT PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penggiling simplisia (miyako), spindel, *homogenizer* (IKA laboratories, Inggris), *rotary vacuum evaporator* (Heidolph, Jerman), timbangan analitik (Sartorius, Jerman), alat-alat gelas (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), lampu TL 18 watt (Phillips), mikropipet (Fraser), karl fischer (KF 870 Titrino Plus), ultrasonikator (GT Sonic-P130), oven, tanur (Thermolyne FB 48000), *chamber* KLT (Camag, Jerman), pipa kapiler, kertas saring.

C. METODE PENELITIAN

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Departemen Biologi Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam dan Matematika, Universitas Indonesia.

2. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan Penelitian

Bahan utama yang disiapkan dalam penelitian ini adalah rimpang temulawak siap panen yang telah berumur rata-rata 9-12 bulan dengan ciri-ciri daun yang mulai menguning. diperoleh dari lima daerah berbeda yaitu Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi dan Sumba.

3. Pembuatan Simplisia

Rimpang temulawak yang telah dipanen dilakukan sortasi basah dan dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih untuk menghilangkan zat pengotor yang menempel seperti tanah. Rimpang temulawak yang sudah bersih dilakukan proses perajangan untuk mempermudah proses pengeringan, setelah dirajang dilanjutkan dengan proses pengeringan selama 24 jam menggunakan oven diatur pada suhu 50°C, tanda irisan rimpang temulawak telah benar-benar kering adalah bisa dipatahkan dan tidak bisa digigit (46–48). Rajangan rimpang temulawak yang telah kering dilanjutkan sortasi kering untuk memastikan simplisia telah terpisah dari bagian yang tidak diinginkan atau ada cecair. Setelah itu dilanjutkan dengan pembuatan serbuk simplisia menggunakan mesin penggiling agar diperoleh serbuk simplisia dan dilanjutkan dengan diayak dengan ayakan nomor 4 dan 18 (49) (50).

4. Pembuatan Ekstrak Rimpang Temulawak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi kinetik menggunakan etanol 50% sebagai pelarut dengan perbandingan (1:10). Serbuk simplisia rimpang temulawak ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam labu maserator kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 50% sebanyak 5000 mL. maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Maserasi pertama dilakukan dengan perendaman selama 8 jam disertai pengadukan kemudian didiamkan selama 16 jam dengan ditutup, untuk maserasi pertama pelarut yang ditambahkan sebanyak 2000 mL. Setelah direndam selama 24 jam dilakukan penyaringan untuk memisahkan residu dengan filtratnya. Residu yang tersisa dari hasil penyaringan dilakukan remaserasi dengan cara yang sama. Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat (51) (52).

5. Uji Organoleptik

Diamati berdasarkan tampilan karakteristik warna yang dihasilkan oleh ekstrak secara visual dan aroma yang diperiksa dengan menggunakan indera penciuman.

6. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 30-50 mg ekstrak kemudian ditetapkan kadar airnya menggunakan *Karl Fischer*. Hasil titrasi oleh alat KF 870 Titrino Plus berupa data yang langsung tercetak di kertas.

7. Penapisan Fitokimia

Identifikasi kandungan metabolit sekunder terhadap serbuk simplisia dan ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi, dan Sumba Barat Daya. Dilakukan menurut metode *phytochemical screening Farnsworth* yaitu:

a. Identifikasi golongan alkaloid

Sejumlah 2 g simplisia/ekstrak kental dilembabkan dengan ammonia 30% (pekat), digerus dalam mortar, kemudian ditambahkan 10 mL kloroform dan digerus kembali dengan kuat, campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh sebagai larutan A dan digunakan untuk percobaan selanjutnya. Sebanyak 5 mL larutan A. diekstraksi dengan 5 mL larutan HCL 1:10 dengan pengocokan dalam tabung reaksi, larutan bagian atasnya diambil sebagai larutan B.

Larutan A diteteskan pada kertas saring dan kemudian ditetesi dengan pereaksi Dragendorff, jika terbentuk warna merah atau jingga pada kertas saring, menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Larutan B dibagi dalam dua tabung reaksi, masing-masing ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Meyer, bila terbentuk endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff atau endapan putih dengan pereaksi meyer menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Identifikasi golongan flavonoid

Sejumlah 2 g simplisia/ekstrak ditambahkan 50 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring dengan kertas saring diperoleh filtrat yang akan digunakan sebagai larutan uji. Ke dalam 5 mL larutan percobaan (dalam tabung reaksi) ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 1 mL HCL pekat, kemudian ditambahkan 5 mL amilalkohol dan dikocok kuat, akan terbentuk dua lapisan cairan. Terbentuk warna pada lapisan cairan amilalkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

c. Identifikasi golongan saponin

Sebanyak 5 mL larutan percobaan yang diperoleh dari identifikasi golongan flavonoid dimasukkan dalam tabung reaksi dan dikocok vertikal selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Terbentuk busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin bila ditambahkan 1 tetes HCL 1% (encer) busa tetap stabil.

d. Identifikasi golongan kuinon

Sebanyak 5 mL larutan percobaan identifikasi golongan flavonoid, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan beberapa tetes NaOH 1 N akan terbentuk warna merah intensif menunjukkan adanya senyawa kuinon.

e. Identifikasi golongan tanin

Sejumlah 2 g simplisia/ekstrak ditimbang ditambahkan 50 mL (dalam gelas piala kecil) air dan dididihkan selama 15 menit, setelah itu didinginkan dan disaring dengan kertas saring. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan sebanyak 5 mL, ditambahkan beberapa tetes larutan ferri (III) klorida 1% terbentuk warna biru hijau menunjukkan adanya senyawa tanin.

f. Identifikasi golongan kumarin

Sejumlah 2 g simplisia/ekstrak ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi (volume 20 mL) ditambahkan 10 mL pelarut kloroform dan dipasang corong (yang telah diberi kapas dan dibasahi dengan air) pada mulut tabung, dipanaskan selama 20 menit diatas penangas air. Hasil penyarian didinginkan dan disaring dengan kertas saring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan pada cawan penguap sampai diperoleh residu. Residu yang tersisa ditambahkan air panas sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ke dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL larutan ammonia (NH₄OH) 10%. Sampel diamati dibawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 365 nm, maka terjadi fluoresensi warna biru atau hijau, biru kehijauan menunjukkan adanya golongan kumarin.

g. Identifikasi golongan steroid dan triterpenoid

Sejumlah 2 g serbuk/ekstrak simplisia dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam di dalam gelas piala bertutup. Larutan maserasi disaring dan diambil filtratnya sebanyak 5 mL, filtrat tersebut diuapkan di dalam cawan penguap hingga diperoleh residu/sisa, ke dalam residu yang tersisa di dalam cawan penguap ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat (pekat) (pereaksi Liebermann burchard) terbentuk warna hijau atau merah menandakan adanya senyawa golongan steroid atau triterpenoid.

h. Identifikasi golongan minyak atsiri

Sejumlah 2 g simplisia/ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi volume (20 mL) ditambahkan 5 mL larutan petroleum eter dan dipasang corong (yang diberi lapisan kapas yang telah dibasahi dengan air) pada mulut tabung. Dipanaskan selama 10 menit di atas penangas air dan didinginkan, setelah dingin ditambahkan dengan pelarut alkohol sebanyak 2,5 mL. larutan tersebut kemudian disaring dengan kertas saring, filtrat yang diperoleh diuapkan pada cawan penguap hingga

diperoleh residu. Residu yang berbau aromatik menunjukkan adanya senyawa golongan minyak atsiri (53).

8. Uji Toksisitas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian toksisitas terhadap ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Tembalang, Wonogiri, Jambi dan Sumba Barat Daya dengan metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT) dilakukan sebagai berikut

a. Pembuatan air laut sintetik

Disiapkan air laut sintetik dibuat dengan cara melarutkan 38,00 gram garam tanpa iodium dalam 1 L air atau dapat menggunakan air laut asli dengan cara diambil air laut langsung, kemudian disaring dengan kertas *Whatman*.

b. Penetasan telur *Artemia salina*

Penetasan telur *Artemia salina* dengan disiapkan sejumlah lebih kurang 10 mg telur *Artemia salina* dimasukkan ke dalam bejana penetasan yang telah berisi air laut sintetik dan diberi penyinaran dengan lampu TL 18 watt. Setelah 24 jam telur yang menetas akan menjadi nauplii, lalu nauplii yang telah menetas didiamkan kembali selama 24 jam. Setelah 2 x 24 jam nauplii tersebut sudah bisa digunakan sebagai hewan uji pada pengujian toksisitas.

c. Persiapan larutan uji

Larutan induk dibuat dengan menimbang 50,00 mg ekstrak, kemudian dilarutkan di dalam 5 mL pelarut yang sesuai. Disiapkan vial untuk lima tingkatan konsentrasi yaitu 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm, setiap konsentrasi dilakukan triplo.

d. Uji toksisitas ekstrak

Larutan induk yang telah dibuat dari masing masing ekstrak rimpang temulawak dari lima daerah dipipet berturut-turut sebanyak 500, 50, 5, 0,5, dan 0,05 μ l, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah ditara sampai 5 mL. Ke dalam vial ditambahkan nauplii yang sudah berusia 2 x 24 jam sebanyak 10 ekor dengan ditambahkan air laut sintetik. Bila

sudah 10 ekor nauplii yang dimasukkan, ditambahkan air laut sintetik ke dalam vial hingga batas tanda yang telah dibuat dengan ditara. Pengujian larutan ekstrak terhadap naupli dilakukan selama 24 jam, setelah 24 jam dilakukan penghitungan jumlah nauplii yang mati dan dicatat. Selanjutnya dihitung nilai LC_{50} dengan persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan nilai probit dengan log konsentrasi.

9. Identifikasi Ekstrak Rimpang Temulawak dengan Metode KLT

Identifikasi dengan KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄. Plat KLT disiapkan dengan dibuat garis awal elusi berjarak 1,5 cm dari tepi bawah dan batas akhir elusi berjarak 0,5 cm dari tepi atas plat menggunakan pensil. Plat KLT kemudian dipanaskan dengan dalam suhu 105°C selama 45 menit. Plat KLT yang telah diaktivasi lalu didinginkan dan siap untuk digunakan. Eluen yang digunakan untuk mengembangkan sampel pada plat KLT adalah diklorometana : kloroform dengan perbandingan 2:8. Fase gerak disiapkan dengan menghitung perbandingan masing-masing eluen. Setelah didapat perbandingannya, masing-masing eluen dimasukkan ke dalam chamber lalu ditutup rapat untuk dilakukan penjenuhan. Sampel yang akan ditotolkan disiapkan dengan menimbang ± 50 mg ekstrak dan dilarutkan dengan 5 mL pelarut. Kemudian ditotolkan sebanyak 1 μ L menggunakan pipa kapiler pada garis bawah yang telah diberi tanda dan didiamkan hingga mengering. Plat yang sudah ditotolkan ekstrak selanjutnya dielusi menggunakan fase gerak yang sudah dijenuhkan di dalam chamber dan ditutup rapat, proses elusi dilakukan hingga pengembang naik hingga batas akhir yang telah ditentukan. Kemudian plat KLT diambil dan didiamkan hingga mengering. Setelah itu, diamati noda dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pengamatan noda kromatogram meliputi warna noda, dan dihitung nilai Rf (54).

10. Standarisasi Ekstrak Temulawak yang Memiliki Toksisitas Tertinggi

a. Penetapan kadar abu

Ekstrak ditimbang sebanyak 2 g kemudian dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijar dan ditara. Bahan uji dipijar perlahan hingga arang habis, dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur pada suhu 600°C sampai pengabuan sempurna, didinginkan di dalam desikator dan ditimbang. Tahap pemijaran dalam tanur diulang hingga didapatkan berat konstan. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji dan dinyatakan dalam %b/b.

b. Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu yang sebelumnya telah diperoleh pada penetapan kadar abu total, dididihkan dengan penambahan 25 mL asam klorida encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam, saring dengan menggunakan kertas saring bebas abu, lalu cuci dengan air panas dan dipijarkan kertas saring pada suhu 450°C hingga diperoleh bobot konstan.

c. Penetapan cemaran logam (Pb, Cd, dan As) (55)

Penetapan kadar Pb, Cd, dan As dengan metode *atomic absorption spectroscopy*. Penetapan kadar ketiga logam berat dengan cara destruksi basah. Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang dan ditambahkan 10 mL HNO₃ pekat, setelah itu dipanaskan dengan *hot plate* hingga volume setengahnya. Ekstrak yang kental dan dingin ditambahkan HClO₄ 5 mL kemudian dipanaskan hingga asap putih hilang dan dibiarkan dingin kemudian dibilas dengan aquades, kemudian disaring ke labu ukur 50 mL, selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas. Sampel diukur dengan instrumen AAS. Berdasarkan buku monografi ekstrak tumbuhan, nilai logam Pb tidak lebih dari 10 ppm, logam Cd tidak lebih dari 0,3 ppm, dan logam As tidak lebih dari 5 ppm.

d. Sisa pelarut

Ditetapkan secara kromatografi gas-cair, alat kromatografi gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 30 mm x 0,32 mm berisi fase diam dialirkan TR-Wax dengan ukuran partikel 100 mesh hingga 120 mesh. Digunakan nitrogen P sebagai pembawa gas. Sebelum digunakan kondisikan kolom semalaman pada suhu 235 C, alirkan zat pembawa dengan laju aliran lambat. Atur aliran gas pembawa 20 mL/menit dan suhu injektor serta detektor masing-masing 200° C dan 160° C

Larutan uji I : Encerkan 1 gram ekstrak dengan air hingga 50 mL.

Larutan baku I : Encerkan 1 mL larutan baku dengan hingga 50 mL

Larutan uji II : Pipet 1 mL larutan uji I ke dalam labu tentukur 10 mL, encerkan dengan air hingga tanda.

Larutan baku II : Pipet 1 mL larutan baku I ke dalam labu tentukur 10 mL, encerkan dengan air hingga tanda.

Masing-masing dilakukan triplo dan disuntikkan lebih kurang 5 µL larutan uji II dan larutan baku II ke dalam kromatografi (21).

11. Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol

Merujuk pada jurnal optimasi dan validasi metode KCKT penetapan kadar kurkumin dan xantorizol. Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol menggunakan KCKT fase terbalik. Digunakan fase diam kolom C18 dan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%. Laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µL, dan detektor *photodiode array* (56)

a. Pembuatan fase gerak

Fase gerak yang digunakan terdiri dari asetonitril : metanol : asam asetat 0,1% perbandingan 50:30:20. Masing-masing larutan disaring dengan kertas saring *whatman* pada corong *buchner* dengan bantuan

pompa vakum, selanjutnya diawaudarakan menggunakan alat ultrasonikasi selama 5 menit.

b. Pembuatan larutan baku kurkumin dan xantorizol

1) Baku kurkumin

Sebanyak kurang lebih 10 mg baku kurkumin ditimbang dan dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 20 mL hingga batas tanda dan dihomogenkan dengan ultrasonikasi selama 5 menit, sehingga didapatkan larutan stok 500 ppm.

2) Baku xantorizol

Sebanyak kurang lebih 10 mg baku xantorizol ditimbang dan dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 20 mL hingga batas tanda dan dihomogenkan dengan ultrasonikasi selama 5 menit, sehingga didapatkan larutan stok 500 ppm.

c. Pembuatan kurva baku kurkumin dan xantorizol

1) Seri baku kurkumin

Larutan kurkumin konsentrasi 2,5; 10; 20; 45; 90; 100 ppm dibuat dengan cara dipipet larutan induk baku kurkumin 500 ppm sebanyak 50, 200, 400, 900, 1800, 2000 μ l masukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, lalu ditambahkan metanol hingga batas tanda dan dihomogenkan. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT fase terbalik sebanyak 20 μ L pada kondisi suhu ruang dengan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%, laju alir 1 mL/menit, dan detektor diatur pada panjang gelombang 425 nm.. Kromatogram direkam dan dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan luas area puncak. Diperoleh persamaan garis regresi linear $y = a + bx$. ditentukan koefisien korelasi (R) dari kurva tersebut.

2) Seri baku xantorizol

Larutan stok kurkumin konsentrasi 2,5; 10; 20; 45; 90; 180 ppm dibuat dengan cara dipipet larutan induk baku kurkumin 500 ppm sebanyak 50, 200, 400, 900, 1800, 3600 μ l dimasukkan ke dalam

labu tentukur 10 mL, lalu ditambahkan metanol hingga batas tanda dan dihomogenkan. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT fase terbalik sebanyak 20 μ L pada kondisi suhu ruang dengan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%, laju alir 1 ml/menit, dan detektor diatur pada panjang gelombang 224 nm.. Kromatogram direkam dan dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan luas area puncak. Diperoleh persamaan garis regresi linear $y = a + bx$, ditentukan koefisien korelasi (R) dari kurva tersebut.

d. Penentuan kadar kurkumin dalam sampel ekstrak temulawak

Sebanyak 10 mg ekstrak rimpang temulawak ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol di dalam labu tentukur 10 mL hingga tanda batas dan disonikasi selama 20 menit, diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan sampel disaring terlebih dahulu dengan *syringe* Sebelum diinjeksikan ke instrumen KCKT. Sampel larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT fase terbalik sebanyak 20 μ L pada kondisi suhu ruang dengan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%, laju alir 1 ml/menit, dan detektor diatur pada panjang gelombang 425 nm.. Kromatogram direkam dan dicatat luas area puncaknya lalu dihitung kadarnya dengan diplotkan ke persamaan regresi linear $y = a + bx$ yang diperoleh dari kurva baku kurkumin hubungan antara konsentrasi dengan luas area puncak.

e. Penentuan kadar xantorizol dalam sampel ekstrak temulawak

Sebanyak 10 mg ekstrak rimpang temulawak ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol di dalam labu tentukur 10 mL hingga tanda batas dan disonikasi selama 20 menit, diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan sampel disaring terlebih dahulu dengan *syringe* Sebelum diinjeksikan ke instrumen KCKT. Larutan sampel diinjeksikan ke dalam sistem KCKT fase terbalik sebanyak 20 μ L pada kondisi suhu ruang dengan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%, laju alir 1 ml/menit, dan detektor diatur pada panjang gelombang

224 nm. Kromatogram direkam dan dicatat luas area puncaknya lalu dihitung kadarnya dengan diplotkan ke persamaan regresi linear $y = a + bx$ yang diperoleh dari kurva baku xantorizol hubungan antara konsentrasi dengan luas area puncak.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. DETERMINASI TANAMAN

Determinasi tanaman dilakukan di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok, Jawa Barat. Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran rimpang temulawak yang digunakan sebagai bahan penelitian. Berdasarkan hasil determinasi tanaman menunjukkan kelima tanaman yang digunakan dalam penelitian ini telah diidentifikasi sebagai tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) berasal dari famili *zingiberaceae*. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 4.

B. PEMBUATAN EKSTRAK ETANOL 50% RIMPANG TEMULAWAK

Pembuatan ekstrak rimpang temulawak dengan metode ekstraksi maserasi kinetik menggunakan pelarut etanol 50% perbandingan (1:10). Penelitian ini dipilih metode maserasi karena maserasi merupakan metode cara dingin pada suhu ruang yang diharapkan tidak merusak kandungan senyawa yang bersifat termolabil. Dipilih maserasi dengan pengadukan kinetik karena metode maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa adanya pemanasan yang menyebabkan senyawa metabolit sekunder akan sulit untuk terbawa dalam pelarut, dengan adanya gaya kinetik yang diberikan pada proses ekstraksi dapat mempercepat kontak antara serbuk simplisia dengan pelarut yang digunakan sehingga dapat meningkatkan hasil metabolit sekunder yang terlarut dalam pelarut etanol. Proses ekstraksi serbuk simplisia rimpang temulawak dilakukan dengan metode maserasi kinetik menggunakan etanol 50%. Pada penelitian ini digunakan etanol 50% karena etanol memiliki sifat non toksik, aman dan mampu menarik senyawa yang ada pada simplisia dimana sifat etanol yang dapat menarik senyawa polar hingga non polar karena tersusun dari gugus etil (CH₃) dan gugus hidroksi (OH) (57).

Proses ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam dimana maserasi pertama dilakukan dengan pengadukan selama 8 jam setelah itu didiamkan selama 16 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring (51). Residu serbuk

simplisia yang diperoleh dilakukan ekstraksi kembali dengan cara yang sama. Penelitian ini menggunakan teknik remaserasi bertujuan untuk menjaga keseimbangan kejenuhan zat terlarut yang tersari di dalam pelarut, sehingga dapat mengoptimalkan penarikan metabolit sekunder yang masih terkandung di dalam residu serbuk.

Filtrat yang diperoleh digabungkan, selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak rimpang temulawak dari masing-masing daerah kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptik, kadar air, dan dihitung rendemen yang hasilnya terdapat diperoleh dapat dilihat pada Tabel V.1 dan lampiran perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel V. 1 Karakteristik Ekstrak Rimpang Temulawak

Gambar	Organoleptik			Syarat Kadar Air ($\leq 10\%$)	Syarat Rendemen ($\geq 18\%$)
	Bentuk	Warna	Bau		
 Ekstrak Cirebon	Kental	Cokelat Kekuningan	Khas	8,81	17,8
 Ekstrak Tembalang	Kental	Cokelat kekuningan	Khas	7,49	14,52

Gambar	Organoleptik			Syarat Kadar Air ($\leq 10\%$)	Syarat Rendemen ($\geq 18\%$)
	Bentuk	Warna	Bau		
 Ekstrak Wonogiri	Kental	Cokelat kekuningan	Khas	8,65	16,16
 Ekstrak Jambi	Kental	Cokelat kekuningan	Khas	7,29	16,4
 Ekstrak Sumba	Kental	Cokelat kekuningan	Khas	6,66	13,34

Berdasarkan hasil ekstraksi rimpang temulawak dari lima daerah berbeda diperoleh ekstrak kental masing-masing diperoleh 89 gram ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, diperoleh 23 gram ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang, diperoleh 80 gram ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri, diperoleh 82 gram

ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi dan 66,7 gram ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba Barat Daya. Pemeriksaan organoleptik ekstrak dari lima daerah diamati meliputi bentuk, warna dan bau. Diperoleh hasil ekstrak dari kelima tempat tumbuh yang hampir mirip yaitu konsisten kental, berwarna coklat kekuningan dan berbau khas. Penentuan organoleptik ekstrak ini bertujuan untuk memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana yang dilakukan dengan Indera.

Penentuan kadar air bertujuan untuk melihat batas kandungan air yang masih terdapat dalam ekstrak. Penetapan kadar air dapat menjadi parameter dalam menjamin kestabilan ekstrak selama penyimpanan dalam jangka waktu yang panjang, parameter kandungan air yang tinggi dapat menjadi faktor menurunnya kualitas ekstrak karena air merupakan salah satu medium pertumbuhan dan aktivitas mikroba. menurut farmakope herbal batas maksimum kandungan air di dalam ekstrak sebesar 10% (51). Berdasarkan hasil uji kadar air ekstrak dari kelima daerah memenuhi batas maksimum kandungan air yang dipersyaratkan menurut Farmakope Herbal Indonesia yaitu $\leq 10\%$ dengan kadar air masing-masing 8,81% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Cirebon, 7,49% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Tembalang, 8,65% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Wonogiri, 7,29% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Jambi, dan 6,66% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Sumba Barat Daya.

Bobot kelima ekstrak yang diperoleh masing-masing berbeda hal ini berhubungan dengan hasil persen rendemen ekstrak yang didapat. Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak dengan jumlah simplisia yang diekstraksi, nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terlarut di dalam suatu ekstrak. Semakin tinggi rendemen maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik oleh pelarut dan terpisah dari matriksnya (simplisia) yang digunakan pada tahap ekstraksi. Perbedaan rendemen ekstrak dapat dipengaruhi saat proses ekstraksi seperti perbedaan pelarut yang digunakan, kecepatan pengadukan, lama waktu ekstraksi dan suhu saat proses ekstraksi berlangsung. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dalam

membandingkan perbedaan metode serta jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi memiliki hasil rendemen yang berbeda. pada penelitian ini proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode dan jenis pelarut yang sama. Sehingga hasil perbedaan persen rendemen dari kelima ekstrak diduga disebabkan karena faktor perbedaan asal daerah penanaman rimpang temulawak. Adanya perbedaan lokasi penanaman ini terkait dengan perbedaan unsur hara, faktor iklim, curah hujan dan intensitas Cahaya matahari setiap daerah berbeda sehingga menyebabkan perbedaan jumlah kandungan senyawanya (18). Berdasarkan hasil rendemen yang diperoleh masing-masing ekstrak sebesar 17,8% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Cirebon, 14,52% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Tembalang, 16,16% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Wonogiri, 16,4% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Jambi, 13,34% ekstrak rimpang temulawak berasal dari daerah Sumba Barat Daya.

C. PENAPISAN FITOKIMIA

Penapisan fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap kelima sampel. Hasil penapisan fitokimia simplisia terdapat dalam Tabel V.2 dan hasil pengujian penapisan fitokimia simplisia dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel V. 2 Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Rimpang Temulawak

Parameter Uji	Sampel Simplisia				
	Cirebon	Tembalang	Wonogiri	Jambi	Sumba
Alkaloid	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+
Tanin	-	-	-	-	-
Kumarin	-	-	-	-	-
Steroid/ Triterpenoid	+	+	+	+	+
Minyak Atsiri	+	+	+	+	+

Penapisan fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap kelima sampel dengan tujuan untuk memberi gambaran golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung. Penelitian ini dilakukan penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa terkandung dalam simplisia yang dapat terekstraksi dalam pelarut yang digunakan.

Setelah dilakukan penapisan fitokimia terhadap simplisia rimpang temulawak yang berasal dari lima daerah berbeda dilanjutkan dengan penapisan fitokimia terhadap kelima ekstrak dengan menggunakan metode yang sama. Hasil penapisan fitokimia ekstrak rimpang temulawak dari lima daerah terdapat dalam Tabel V.3 dan lampiran hasil penapisan fitokimia terdapat dalam Lampiran 9.

Tabel V. 3 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Rimpang Temulawak

Parameter Uji	Sampel Ekstrak				
	Cirebon	Tembalang	Wonogiri	Jambi	Sumba
Alkaloid	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+
Tanin	-	-	-	-	-
Kumarin	-	-	-	-	-
Steroid/ Triterpenoid	+	+	+	+	+
Minyak Atsiri	+	+	+	+	+

Berdasarkan hasil penapisan serbuk simplisia dan ekstrak dari lima daerah tidak ada perbedaan kandungan metabolit sekunder. Serbuk simplisia dan ekstrak masing-masing menghasilkan positif mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin, kuinon, triterpenoid, dan minyak atsiri. Berdasarkan beberapa hasil pengujian penapisan fitokimia penelitian sebelumnya ekstrak rimpang temulawak positif mengandung flavonoid, alkaloid, triterpenoid, saponin, tannin (43,58). Hasil penapisan fitokimia yang diperoleh tidak adanya perbedaan kandungan yang diuji secara kualitatif antara simplisia dengan ekstrak

menunjukkan pelarut yang digunakan dapat membawa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia. Hasil penapisan fitokimia yang dibandingkan antara asal daerah lokasi penanaman rimpang temulawak tidak adanya perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terkandung, hal ini dapat mengindikasikan bahwa bahan dari masing masing daerah yang digunakan mempunyai potensi yang sama bila ditinjau dari hasil kualitatif pengujian kandungan metabolit sekunder. Masing-masing bahan diduga memiliki perbedaan secara kuantitatif kandungan metabolit sekundernya. Hal itu mengacu pada penelitian yang sudah ada dalam membandingkan variasi bioaktif dan bioaktivitas berdasarkan perbedaan lokasi penanaman tanaman temulawak didapatkan hasil perbedaan secara kuantitatif kandungan kurkumin dan xantorizol serta didapatkan perbedaan hasil aktivitas antioksidan dan toksisitasnya (18)

D. HASIL UJI TOKSISITAS DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

Uji toksisitas menggunakan metode BSLT terdapat dalam Tabel V.4 dan lampiran perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 10.

Tabel V. 4 Hasil Pengujian Toksisitas Dengan Metode BSLT

Uji Toksisitas BSLT	<i>Letal concentration</i> (LC ₅₀) mg/L	Kategori Toksisitas
Ekstrak etanol rimpang temulawak daerah Cirebon	48,34	Toksik
Ekstrak etanol rimpang temulawak daerah Tembalang	41,85	Toksik
Ekstrak etanol rimpang temulawak daerah Wonogiri	64,58	Toksik
Ekstrak etanol rimpang temulawak daerah Jambi	82,17	Toksik
Ekstrak etanol rimpang temulawak daerah Sumba	105,32	Toksik

Proses pengujian ekstrak dengan larva *Artemia salina* L dilakukan terhadap larva yang telah diadaptasikan sejak menetas selama 24 jam di dalam air laut sintesis, larva yang digunakan untuk pengujian toksisitas berumur 2x24 jam karena larva pada umur tersebut fase paling aktif telah terbentuk sempurna mulut dan saluran pencernaannya, serta memiliki peningkatan ketahanan tubuh. ekstrak yang akan digunakan untuk larutan uji diuapkan terlebih dahulu untuk memastikan sisa pelarut yang digunakan telah menguap sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva udang disebabkan kandungan metabolit sekunder yang terkandung. Setelah pelarut menguap ditambahkan DMSO 1% sebagai peningkat kelarutan, pemilihan DMSO 1% sebagai surfaktan karena cenderung tidak memberikan efek toksik sehingga tidak memberikan efek kematian terhadap larva *Artemia salina*.

Efek toksik diperoleh dari pengamatan dengan menghitung persen kematian larva *Artemia salina* pada setiap konsentrasi. Jumlah *Artemia salina* yang mati dalam setiap vial selama 24 jam dihitung. Persen kematian diperoleh dari perkalian rasio dengan 100%, yaitu larva yang mati dibagi jumlah larva awal dikali 100% untuk setiap replikasi. Hasil persen kematian yang diperoleh dilanjutkan dengan mengkonversi hasil persen kematiannya menjadi nilai probit setiap kelompok hewan uji melalui tabel, kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi diperoleh persamaan log probit $y = bx + a$. untuk mendapatkan nilai LC_{50} dapat dihitung dari persamaan tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian *Artemia salina*) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Hasil yang diperoleh dari nilai x tersebut diantilog untuk memperoleh nilai LC_{50} . Menurut meyer tingkat toksisitas suatu ekstrak adalah sebagai berikut pada tabel V.5

Tabel V. 5 Kategori toksisitas menurut Meyer

Kategori Toksikitas	Nilai LC_{50} (mg/L)
Sangat toksik	≤ 30 mg/L
Toksik	30-1000 mg/L
Tidak toksik.	≥ 1000 mg/L

Berdasarkan hasil perhitungan LC_{50} dengan metode BSLT diperoleh hasil ekstrak etanol 50% rimpang temulawak dari daerah Cirebon sebesar 48,34 mg/L menunjukkan sifat toksik, ekstrak rimpang temulawak dari daerah Tembalang sebesar 41,85 mg/L menunjukkan sifat toksik, ekstrak rimpang temulawak dari daerah Wonogiri sebesar 64,58 mg/L menunjukkan sifat toksik, ekstrak rimpang temulawak dari daerah Jambi sebesar 82,17 mg/L menunjukkan sifat toksik, dan ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba Barat Daya sebesar 105,32 mg/L menunjukkan sifat toksik. Berdasarkan penelitian terdahulu tentang toksisitas ekstrak rimpang temulawak terhadap larva *Artemia salina* memberikan efek toksik dengan nilai LC_{50} 35,92 ppm (42), selain itu hasil penelitian lainnya terkait uji toksisitas ekstrak temulawak menghasilkan sifat toksik terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai toksisitas LC_{50} 210,3 ppm (4). Perbedaan nilai toksisitas terhadap larva *Artemia salina* diduga dipengaruhi oleh perbedaan daerah penanaman tanaman temulawak. Perbedaan daerah penanaman diduga menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai toksisitas karena adanya perbedaan kondisi lingkungan dari masing masing daerah. seperti, suhu, cuaca, iklim, ketinggian tanah, dimana perbedaan tersebut mempengaruhi metabolit sekundernya karena diketahui bahwa metabolit sekunder merupakan senyawa yang diproduksi tanaman sebagai bentuk pertahanan diri dari lingkungan sekitar (59). Berdasarkan hasil beberapa penelitian bahwa perbedaan tempat tumbuh mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekundernya dan aktivitas biologisnya dengan penelitian sebelumnya yang melakukan perbandingan kandungan serta aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari lokasi penanaman berbeda (18).

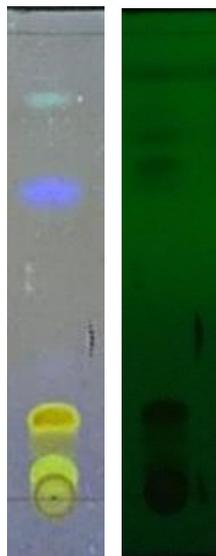
Berdasarkan hasil perhitungan toksisitas dengan probit dinyatakan bahwa semakin kecil nilai LC_{50} maka semakin besar toksisitasnya, karena senyawa yang bersifat bioaktif akan menyebabkan kematian larva udang yang lebih tinggi. LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sampai 50%. Kandungan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, triterpenoid dan minyak atsiri yang terdapat dalam sampel diduga menjadi senyawa yang menjadi penyebab

kematian larva udang *Artemia salina* L. Larva *Artemia salina* memiliki membran kulit yang sangat tipis sehingga difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Mekanisme lain sebagai (*stomach poisoning*) dimana metabolit sekunder tersebut masuk ke dalam tubuh larva melalui mulut sehingga mempengaruhi alat pencernaannya dan sistem metabolismenya akan terganggu. Adanya flavonoid dalam lingkungan sel dapat menyebabkan pecahnya membran sel. pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkendali ke dalam sel, yang menyebabkan pecahnya membran sel. Hal ini disebabkan gugus OH⁻ pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel sehingga terbendungnya transport aktif Na⁺ dan K⁺. Transpor aktif yang terhenti menyebabkan pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkendali ke dalam sel, yang menyebabkan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (60).

Berdasarkan hasil yang diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak etanol 50% rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang lebih rendah bila dibandingkan keempat ekstrak etanol 50% rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon, Wonogiri, Jambi, dan Sumba Barat Daya. Ekstrak etanol 50% rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang dapat menjadi kandidat ekstrak rimpang temulawak yang berpotensi sitotoksik dibandingkan dengan keempat ekstrak dari daerah lainnya.

E. IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF SECARA KLT

Analisis KLT dilakukan menggunakan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan adalah campuran diklorometana-kloroform dengan perbandingan 2:8. Hasil kromatogram yang diamati dibawah lampu UV gelombang 254 dan 366 nm dapat dilihat pada Gambar V.1 dan hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel V.5



Gambar V.1 Pengamatan Kromatogram Dibawah Sinar Lampu UV

Tabel V. 6 Hasil Pengamatan Kromatogram

Eluen	Jumlah noda	Warna noda	Retention factor (Rf)
Diklorometana : Kloroform (2:8)	3	Kuning orange	0,21
		Biru	0,72
		Hijau muda	0,88

Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan pada ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi yang bertujuan untuk identifikasi secara kualitatif kandungan senyawa kurkumin dan xantorizol yang akan dilakukan penetapan kadarnya. Profil kromatogram yang bertujuan identifikasi secara kualitatif senyawa kurkumin dan xantorizol pada ekstrak rimpang temulawak menggunakan eluen diklorometana : kloroform dengan perbandingan 2:8 diduga terkandung senyawa kurkumin dan xantorizol,. Diperoleh profil 3 noda dengan Rf (*Retention factor*) berturut-turut Rf₁ 0,21; Rf₂ 0,72 dan Rf₃ 0,88. Noda yang memiliki profil warna kuning orange dengan Rf₁ 0,21 diduga adalah kurkumin, sedangkan noda yang memiliki profil warna biru dengan Rf₂ 0,72 diduga adalah senyawa xantorizol. Hal tersebut merujuk pada buku Atlas kromatografi lapis tipis tumbuhan dalam identifikasi xantorizol menggunakan eluen diklorometana : kloroform diperoleh profil nilai Rf baku kurkumin 0,30 dan Rf baku xantorizol 0,70. Berdasarkan penelitian sebelumnya menggunakan eluen diklorometana : kloroform

didapatkan profil KLT dengan nilai Rf kurkumin dan xantorizol berturut-turut 0,26 dan 0,69 (54).

F. PENETAPAN PARAMETER NON SPESIFIK EKSTRAK TEMULAWAK ASAL TEMBALANG

Penelitian ini dilakukan pengujian parameter non spesifik yang terdiri dari penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, cemaran logam, dan sisa pelarut. Penetapan parameter non spesifik pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aspek fisik dan kimia yang dapat mempengaruhi kestabilan dan keamanan ekstrak.

1. Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam

Hasil penetapan kadar abu meliputi kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol rimpang temulawak dapat dilihat pada Tabel V.6 dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 11.

Tabel V. 7 Hasil Kadar Abu Total Dan Abu Tidak Larut Asam

Sampel	Penetapan	Hasil penetapan (%)	Persyaratan monografi ekstrak (%)
Ekstrak etanol rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang	Kadar abu total	5,41	< 7,8%
	Kadar abu tidak larut asam	0,32	< 1,6%

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar abu total bertujuan untuk menunjukkan kandungan abu fisiologis dan abu non-fisiologis yang terkandung dalam ekstrak rimpang temulawak setelah dilakukan proses pemijaran selama 1 jam pada suhu 450°C dengan metode gravimetri. Abu fisiologis merupakan abu yang berasal dari bagian tanaman atau jaringan seperti kalsium, logam golongan alkali dan alkali tanah, sedangkan abu non-fisiologis merupakan abu yang berasal dari luar tanaman seperti silika dan logam berat. Menurut monografi ekstrak kadar abu total < 7,8% dan

abu tidak larut asam < 1,6%. Berdasarkan hasil pengujian kadar abu total diperoleh kadar abu total 5,41% dan kadar abu tidak larut asam 0,32%. Kedua hasil yang diperoleh tersebut memenuhi persyaratan yang ditentukan dalam monografi ekstrak

2. Penetapan cemaran logam berat

Parameter cemaran logam berat adalah menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom. Tujuan dari parameter ini adalah untuk memberikan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd dan logam berat lainnya melebihi nilai yang ditetapkan karena dapat berpotensi memberikan efek yang berbahaya (toksik) bagi kesehatan bila nilainya melebihi batas yang ditetapkan. Potensi terdeteksinya logam pada ekstrak dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain tempat tumbuhnya tanaman temulawak, kondisi air, dan juga peralatan yang digunakan selama proses pembuatan ekstrak maupun penyimpanan ekstrak. Hasil penetapan cemaran logam berat pada ekstrak etanol rimpang temulawak dapat dilihat pada Tabel V.7 dan Lampiran 12.

Tabel V. 8 Hasil Cemaran Logam

Sampel	Logam	Hasil (ppm)	Persyaratan monografi ekstrak (ppm)
Ekstrak etanol 50% rimpang temulawak asal daerah tembalang	Pb	1,95	≤ 10 ppm
	Cd	0,08	≤ 0,3 ppm
	As	Tidak Terdeteksi	≤ 5 ppm

Pada penetapan cemaran logam berat ekstrak etanol rimpang temulawak didapatkan hasil cemaran logam Pb 1,95 ppm, logam Cd 0,08 ppm, dan logam As tidak terdeteksi, dimana hasil ini masuk dalam batas maksimal cemaran logam yang ditentukan.

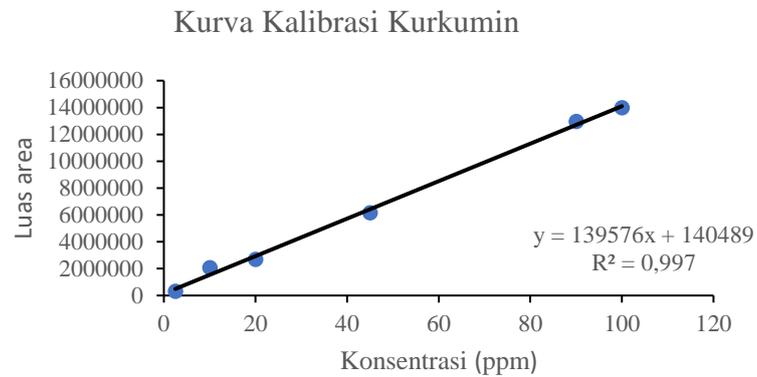
3. Penetapan sisa pelarut

Penetapan kadar sisa pelarut pada ekstrak etanol rimpang temulawak dilakukan menggunakan kromatografi gas dan diperoleh hasil tidak adanya

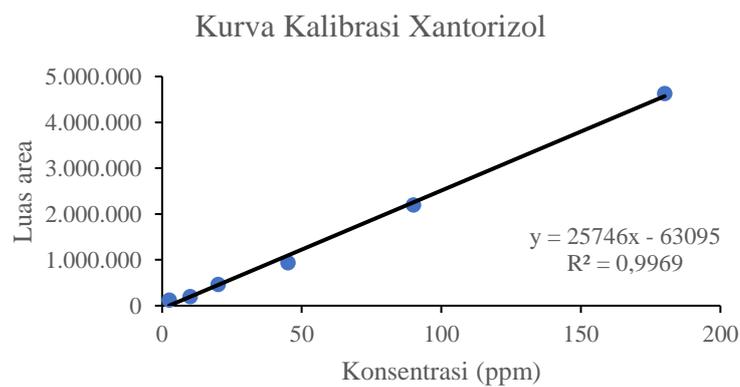
sisa pelarut etanol. Penetapan kadar sisa pelarut merupakan salah satu dari parameter mutu ekstrak secara non-spesifik yang bertujuan memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak meninggalkan sisa pelarut melebihi batas yang ditentukan. Sesuai dengan peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa sisa pelarut yang tersisa dalam ekstrak tidak lebih dari 1%. Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 50%, sehingga dari uji sisa pelarut pada penelitian ini untuk mengetahui sisa pelarut etanol yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Tujuan dari penetapan sisa pelarut pada penelitian ini adalah untuk memastikan sisa pelarut yang terdapat dalam ekstrak di bawah batas yang ditentukan, karena akan mempengaruhi keamanan dari ekstrak tersebut. Hasil sisa pelarut dapat dilihat pada Lampiran 13.

G. KURVA KALIBRASI KURKUMIN DAN XANTORIZOL

Pembuatan kurva baku ini digunakan untuk menetapkan kadar senyawa kurkumin dan xantorizol dalam ekstrak rimpang temulawak melalui persamaan garis regresi yang dihasilkan dari kurva baku kurkumin dan xantorizol. Penetapan kurva baku dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi larutan standar kurkumin dan xantorizol yang berbeda. penentuan kurva baku kurkumin dilakukan dengan konsentrasi larutan standar kurkumin 2,5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 45 ppm, 90 ppm, 100 ppm dan kurva baku xantorizol dilakukan dengan konsentrasi larutan standar xantorizol 2,5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 45 ppm, 90 ppm, 180 ppm. Kurva baku kurkumin dan xantorizol dapat dilihat pada Lampiran 14.



Gambar V.2 Kurva hubungan antara konsentrasi dengan luas puncak (area) baku kurkumin



Gambar V.3 Kurva hubungan antara konsentrasi dengan luas puncak (area) baku xantorizol

Berdasarkan hasil pengukuran larutan baku standar kurkumin diperoleh persamaan regresi $y = 139576x + 140489$ dari persamaan ini diperoleh hubungan linear antara konsentrasi dan *area under curve* dengan nilai korelasi r sebesar 0,997. serta persamaan regresi larutan baku xantorizol diperoleh $y = 25746x - 63095$ dan hubungan linear antara konsentrasi dan *area under curve* dengan nilai r sebesar 0,9967. Dengan diperoleh nilai koefisien korelasi r mendekati 1 maka menunjukkan bahwa persamaan regresi hubungan antara konsentrasi dengan *area under curve* menunjukkan hasil yang linear.

H. UJI KADAR SENYAWA KURKUMIN DAN XANTORIZOL EKSTRAK MEMILIKI TOKSISITAS TERTINGGI

Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol menggunakan instrumen KCKT karena metode yang cepat dan akurat. Sistem yang digunakan merujuk pada jurnal optimasi dan validasi penetapan kadar kurkumin dan xantorizol menggunakan fase gerak asetonitril : metanol : asam asetat 0,1%, fase diam kolom C₁₈, laju alir 1 mL/menit, detektor *Photodiode array*. Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol menggunakan data persamaan regresi dari kurva baku dari masing masing senyawa, selanjutnya dapat dihitung kadar senyawa kurkumin dan xantorizol dari ekstrak rimpang temulawak asal daerah tembalang. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel V.8 dan hasil perhitungan penetapan kadar senyawa kurkumin dan xantorizol dapat dilihat pada Lampiran 16.

Tabel V. 9 Kadar Kurkumin Dan Xantorizol

No	Analit		Luas area	Kadar (ppm)	Rata rata kadar (ppm)
1	Kurkumin	Uji 1	9437881	68,62476	74,79
		Uji 2	9762222	70,94852	
		Uji 3	11695699	84,80103	
2	Xantorizol	Uji 1	2654351	105,5483	118,17
		Uji 2	2770347	110,0537	
		Uji 3	3513611	138,9228	

Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol ditetapkan dari ekstrak yang berasal dari daerah tembalang karena memiliki profil toksisitas tertinggi dari keempat asal daerah lainnya. Penetapan kadar kurkumin dan xantorizol ini bertujuan untuk melihat kandungan senyawa kurkumin dan xantorizol yang terkandung di dalam ekstrak rimpang temulawak yang memiliki potensi bahan antikanker berdasarkan hasil skrining awal potensi toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* menggunakan metode BSLT, penentuan kadar kedua senyawa ini dilakukan karena kurkumin memiliki kandungan terbesar dalam fraksi kurkuminoid dan xantorizol merupakan senyawa fitokimia khas yang hanya

terkandung dalam temulawak sehingga kadar senyawa ini pun dapat digunakan sebagai penentu kualitas rimpang temulawak.

Hasil persamaan regresi yang diperoleh dari hasil kurva kalibrasi digunakan untuk menghitung kadar senyawa kurkumin dan xantorizol pada ekstrak rimpang temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 425 nm untuk kurkumin dan 224 nm untuk deteksi xantorizol. Dari penetapan kadar diperoleh hasil kadar kurkumin 74,79 ppm dan xantorizol 118,17 ppm.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Ekstrak etanol rimpang temulawak yang berasal dari lima daerah memiliki sifat toksik terhadap larva *Artemia salina*
2. Ekstrak etanol rimpang temulawak yang berasal dari lima daerah memiliki perbedaan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* dengan hasil toksisitas tertinggi adalah ekstrak etanol rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang
3. Ekstrak rimpang temulawak yang memiliki toksisitas tertinggi berasal dari daerah Tembalang teridentifikasi mengandung senyawa kurkumin dan xantorizol

B. SARAN

1. Untuk penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pengujian sitotoksik ekstrak rimpang temulawak terhadap sel kanker untuk memastikan efek toksik hasil skrining BSLT.
2. Berdasarkan hasil penelitian ini tidak terdapat perbedaan signifikan nilai parameter LC_{50} oleh karena itu untuk penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pengujian berdasarkan parameter kadar senyawa kurkumin dan xantorizol yang terkandung di dalam ekstrak rimpang temulawak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nugroho AW. Review: Konservasi Keanekaragaman Hayati Melalui Tanaman Obat Dalam Hutan di Indonesia dengan Teknologi Farmasi: Potensi dan Tantangan. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2017; volume 1(7): 377–383.
2. Riki, Kurniatin PA, Ambarsari L, Nurcholis W, Darusman LK. Characterization and Toxicity of Temulawak Curcuminoid Nanoparticles *Current Biochemistry*. 2015; volume 3(1): 43-52
3. Surbakti P, De Queljoe E, Boddhi W. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2018; volume 7(3): 22-31
4. Rosyadi GZ, Fitriyaningsih SP, Lestari F. Studi Literatur Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Rimpang Genus *Curcuma* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Prosiding Farmasi*. 2021; volume 7(2): 468-474
5. Rukmana R, Zulkarnain. Etnobotani Tanaman Obat Famili *Zingiberaceae* Sebagai Bahan Herbal Untuk Kesehatan di Masa Pandemi Covid-19. *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*. 2022; volume 16(1): 74-80
6. Rita W, Gede Bawa IG, Wirastiningsih N. Skrining Awal Antitumor Melalui Pendekatan Uji Toksisitas Kandungan Senyawa Dalam Ekstrak N-Heksana Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 2012; volume 6(1): 55-61
7. Zulfiah, Megawati, Herman, Sulfiyana, Hasyim MF, Murniati et al. Uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*. 2020; volume 6(1): 44-49
8. Paramita A, Wibowo I, Insanu M. Skrining Uji Toksisitas Akut Lima Rimpang Suku *Zingiberaceae* Menggunakan Embrio Ikan Zebra. *Acta Pharm*. 2021; volume 46(2): 1-9
9. Dermawaty De. Potential Extract *Curcuma (Curcuma xanthorrhiza* Roxb) As Antibacterials. *Jurnal Majority*. 2015; volume 4(1): 5-11
10. Diastuti H, Syah YM, Juliawaty LD, Singgih M. Antibacterial Activity of Germacrone Sesquiterpene from *Curcuma xanthorrhiza* Rhizomes. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*. 2016; volume 12(2):103-111
11. Goa FR, Kopon AM, Boelan EG. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) dan

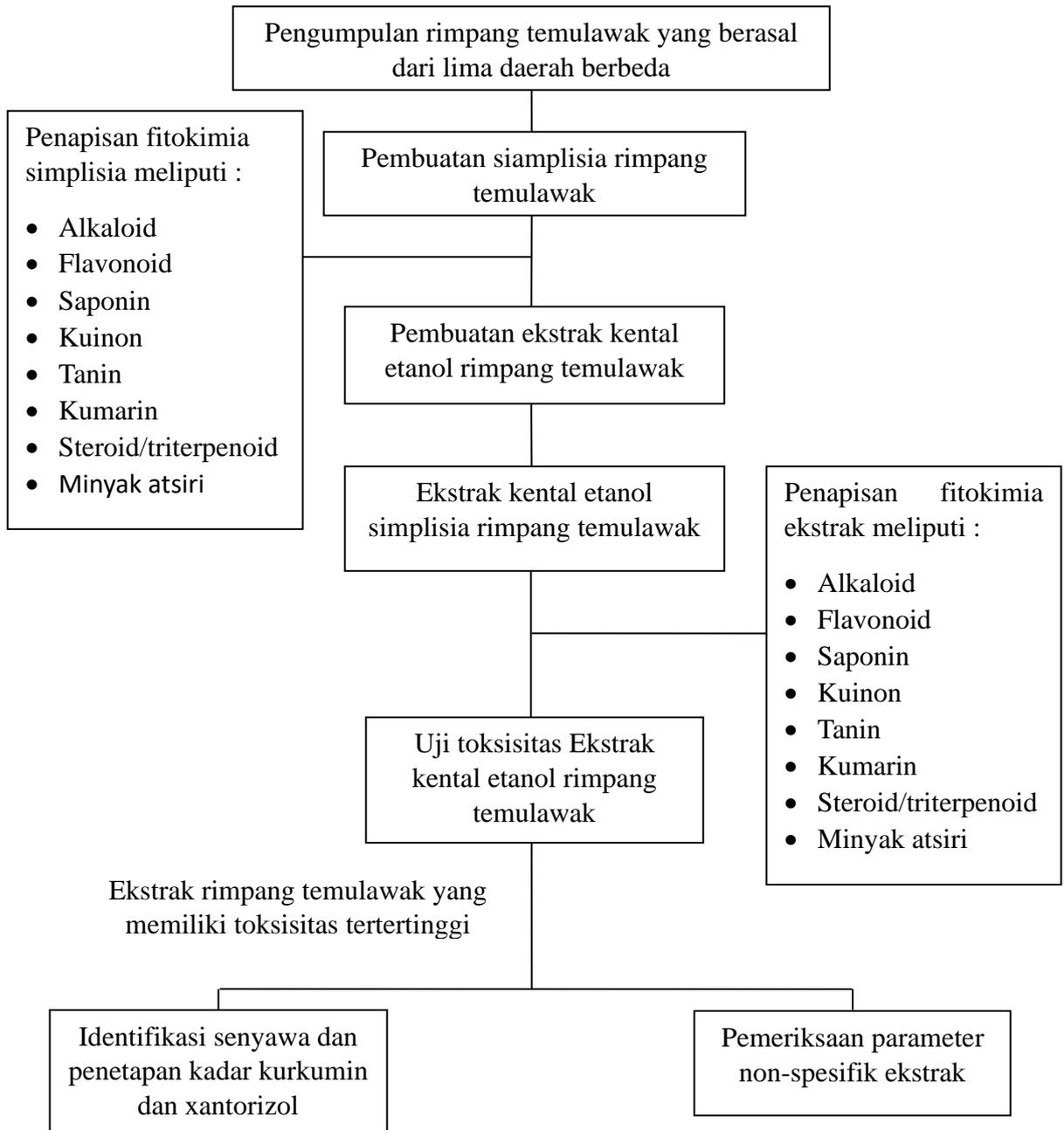
- Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Asal Nusa Tenggara Timur. Jurnal Beta Kimia. 2021; volume 1(1): 37-41
12. Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. J Akad Kim. 2014; volume 3(3):165–172.
 13. Marwati, Salampe M, Burhan A, Megawati, Khairuddin, Oktaviani N et al. Skrining Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhonomyrthus tomentosa* L.) Sebagai Obat Alternatif. Jurnal Ilmiah Manuntung. 2020; volume 6(2):240–245.
 14. Yasacaxena LNY, Defi MN, Kandari VP, Weru PTR, Papilaya FE, Oktafera M, et al. Review: Extraction of Temulawak Rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and Activity as Antibacterial. Jurnal Jamu Indonesia. 2023. 31; volume 8(1):10–17.
 15. Aldizal Mahendra Rizkio Syamsudin R, Perdana F, Suci Mutiaz F, Galuh V, Putri Ayu Rina A, Dwi Cahyani N, et al. Temulawak Plant (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) as A Traditional Medicine. Jurnal Ilmiah Farmako Bahari. 2019; volume 10(1): 51-65
 16. Putram NM, Setyaningsih I, Tarman K, Nursid M, Bioteknologi D. Anticancer Activity from Active Fraction of Sea Cucumber. JPHPI. 2017; volume 20(1):53-62
 17. Kustina E, Zulharmita, Misfadhila S. Traditiokusnal Uses, Phytochemistry and Pharmacology of (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb).: A Review. International Journal of Science and Healthcare Research. 2020; volume 5(3): 494-500
 18. Purwakusumah ED. Variation of Bioactive Compound and Bioactivities of Three Temulawak Promising Lines at Different Geographical Conditions. Jurnal Agron Indonesia. 2012; volume 40(2): 153-159
 19. Rahman CA, Santosa D, Purwanto P. Aktivitas Rimpang Temulawak Sebagai Antibakteri Berdasarkan Lokasi Tumbuhnya: Narrative Review. Jurnal Pharmascience. 2022; volume. 9(2): 327-343.
 20. Rafi M, Heryanto R, Septaningsih D. Atlas Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia Volume 1. Bogor. IPB Press; 2017.h 42-45
 21. Pulung ML. Standarisasi Bahan Rimpang Temulawak Asal Manokwari Papua Barat Sebagai Antimalaria Alami. Chem Prog. 2018; volume 11(1): 7-14
 22. Haryani F, Hakim A, Hanifa NI. Perbandingan Pelarut Etanol 96% dan Aseton pada Ekstraksi dan Isolasi Kurkuminoid dari Rimpang Kunyit. Jurnal Ilmu Kefarmasian. 2021; volume 2(2): 112-117.

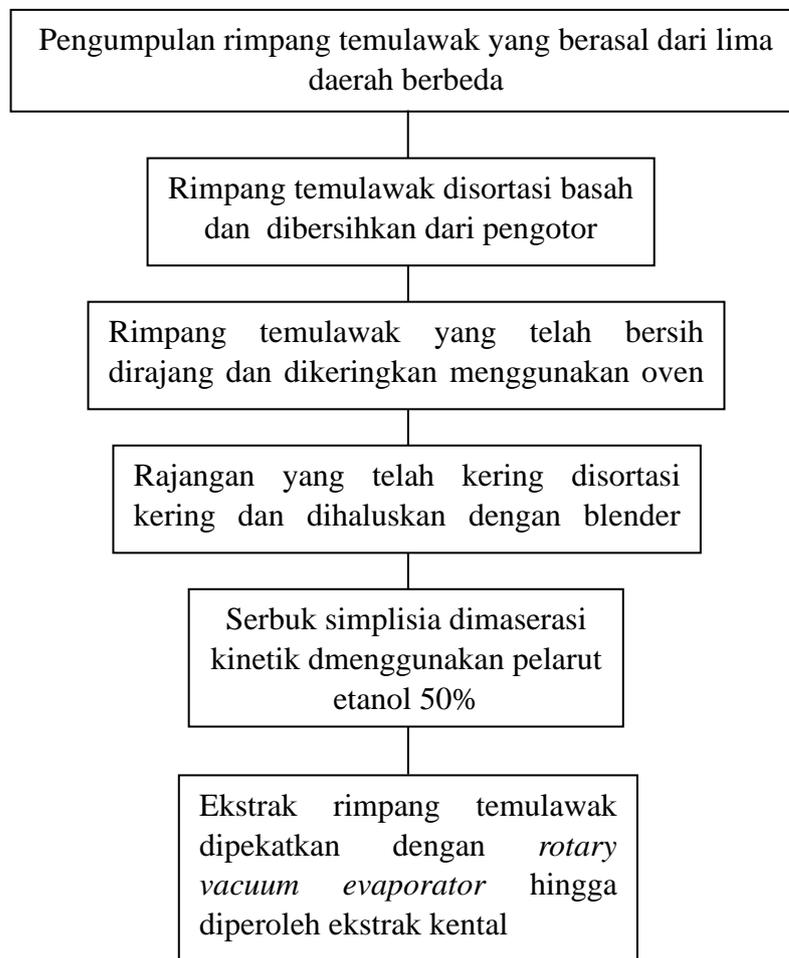
23. Susanto, Winarto E. Penentuan Kadar kurkumin Dari Beberapa Tanaman *Curcuma* Setelah Iridiasi Gamma. Prosiding Seminar Nasional Apisora, 2018: 95-101.
24. Wahyuni W, Hendiyanto, Rafi M. Metode Ekstraksi dan Pemisahan Optimum Untuk Isolasi Xantorizol dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Jurnal Jamu Indonesia. 2017; volume 2(1):43-50
25. Mukti LS, Hermady U. Pharmacological Activities of *Curcuma xanthorrhiza*. Jurnal Info Kesehatan. 2020; volume 10(1): 270-278
26. Willian N, Pardi H. Buku Ajar Pemisahan Kimia. Tanjungpinang: Umrah press; 2017.h 41-44
27. Aji A, Bahri S, Tantalia. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi HCI Untuk Pembuatan Pektin Dari Kulit Jeruk Bali. Jurnal Tekno Unimal. 2017;6(1); 33-44
28. Shabur Julianto T. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia; 2019.h 12. 20-26
29. Susanty E. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). Pharmacy. 2014; volume 11(1): 98-107
30. Marliani L, Sukmawati IK, Juanda D, Anjani E, Aposioraeni I. Penapisan Fitokimia, Kadar Kurkuminoid dan Aktivitas Antibakteri Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* (Christm) Roscoe.), Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Herb-Medicine Journal. 2021; volume 4(1): 57-64
31. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No 10 tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo. 2014;1-165
32. Stevani H. Modul Bahan Ajar Cetak Praktikum Farmakologi. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2016
33. Fardiaz MA, Az-Zahro KN, Dzulqaidah I, Savitri DA, Pratama IS, Hidayat LH. Acute Toxicity Test of The Jamu Turmeric Tamarind on *Artemia salina*. Jurnal Biologi Tropis. 2023; volume 23(3):263–269.
34. Mudjiman A. Makanan Ikan. Jakarta: Penebar Swadaya; 1995.
35. Mudjiman A. Udang Renik Air Asin *Artemia salina*. Jakarta: Penerbit Bhatara; 1989.
36. Frizqia Jelita S, Widi Setyowati G, Ferdinand M, Zuhrotun A, Megantara S. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Farmaka. 2020; volume 18(1):14-22
37. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Buku Panduan Teknologi Ekstrak. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2000. 3–40 p.

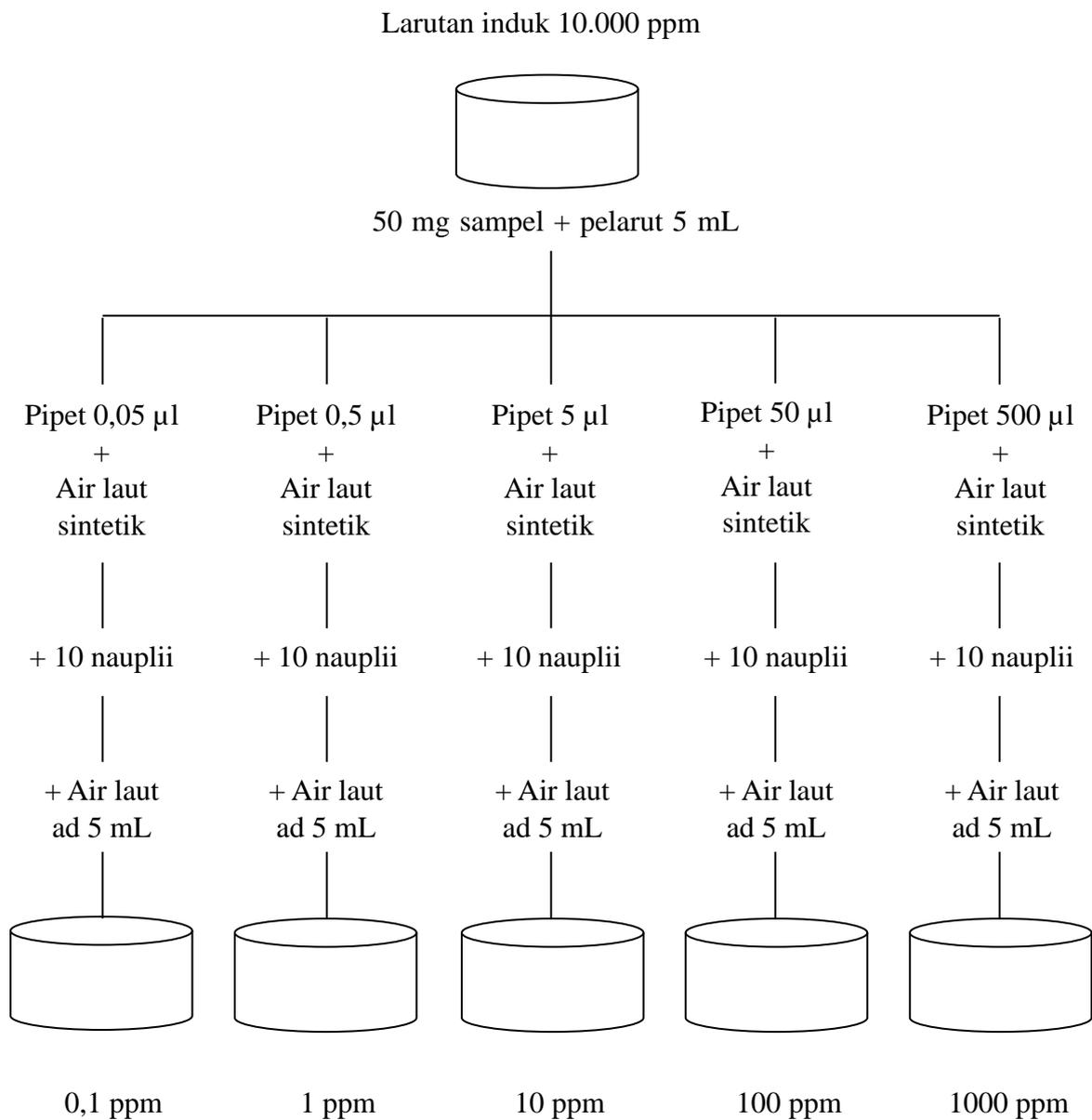
38. Rohman A. Analisis Farmasi dengan Kromatografi Cair. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2019.
39. Zainal TH, Wahyudin E, Rifai Y. Penetapan Kurva Standar Senyawa Tetra Hidroxy Ethyl Disulphate (THES) Dalam Plasma Marmut (*Cavia porcellus*) Menggunakan KCKT. Majalah Farmasi dan Farmakologi. 2018; Volume 22(3): 90-92,
40. Washikah. Tumbuhan *Zingiberaceae* Sebagai Obat-Obatan. Serambi Saintia. 2016;4(1):35-43
41. Dewi M, Aries M, Meti Dwiriani C, Januwati N. Knowledge on Health Benefit of Curcuma and the Clinical Trial of Its Effect on Humoral Immune System In obese Adult. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). 2012; volume 17(3): 166-177
42. Yuliani N, Maslahat M, Lestari P. Optimasi Waktu Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma aromatica* Salisb). Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa. 2014; volume 4(2): 143-151
43. Shaleha N, Daulay AS. Uji Stabilitas Warna Berdasarkan Intensitas Dan Kadar Kurkumin Ekstrak Kunyit dan Temulawak. Cross-border. 2023; volume 6(2):790–803.
44. Setyo UD, Betty EK, Anggara ME. The Effect of Growth Location on Flavonoid, Phenolic, Chlorophyll, Carotenoid and Antioxidant Activity Levels in Horse Whip (*Stachytarpheta jamaicensis*). Bioma. 2020;22(2):143–149.
45. Udin Z. Cytotoxic Activity of Xanthorrhizol From *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.'S Volatile Oil Toward Ymb-L Breast Cancer Cell. JKTI. 2013; volume 15(1):23-29
46. Kawiji I, Atmaka IW, Otaviana R. Study On Antioxidant Activity, Total Phenol And Concentration Curcuminoids Extract Curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) In Various Drying Technique And The Proportion of Dissolution. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 2011; volume 4(1):32-40
47. Yuliani N, Maslahat M, Lestari P. Optimasi Waktu Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma aromatica* Salisb). Jurnal Sains Natural. 2014; volume 4(2):143-151
48. Manalu LP, Tambunan AH, Nelwan LO. Standar The Determination For Condition of Drying Process On *Curcuma xanthorrhiza* Roxb To Produce Standard Simplisia. Jurnal Dinamika Penelitian Industri. 2012; volume 23(2):99-106
49. Alqamari M, Tarigan MD, Alridiwirshah. Budidaya Tanaman Obat & Rempah. Medan Umsu Press: 2017

50. Budiati A, Rahmat D, Alwiyah Z. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Nanopartikel Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Formulasi Dalam Bentuk Krim. *Jurnal Jamu Indonesia*. 2021; volume 6(2): 75-83
51. Direktorat Kefarmasian dan Alat Kesehatan. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 615.1 Ind F; 2017.h 498-502,531
52. Amelinda E, Widarta I, Darmayanti L. The Effect of Maceration Time on Antioxidant Activity of Java Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Rhizome Extract. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2018; volume 7(4):165–174.
53. Chandra P, Laksmiawati DR, Rahmat D. Phytochemical Screening And Determination of Total Flavonoid Levels of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Fruit Extract. *Akfarindo*. 2022; volume7(2):80-87
54. Saputri FA, Mun'im A, Putri C, Aryani D. Validasi Metode Analisis Kurkuminoid dan Xantorizol Pada Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan KLT-Densitometri. *Media Pharmaceutical Indonesia*. 2022; volume 4(2): 147-156
55. Angelina M, Amelia P, Meilawati L, Hanafi DM. Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Biopropal Industri*. 2015; volume 6(2):53-61
56. Erpina E, Rafi M, Darusman LK, Vitasari A, Putra BR, Rohaeti E. Simultaneous Quantification of Curcuminoids And Xanthorrhizol In *Curcuma xanthorrhiza* By High-Performance Liquid Chromatography. *J Liq Chromatogr Relat Technol*. 2017; volume 40(12):635–639.
57. Aang L, Dewantara R, Dwi Ananto A, Andayani Y. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2021; volume 2(1): 13-19
58. Fallahian F, Tyastirin E, Hadi MI. Skrining Fitokimia Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*). *Journal of Biology Science and Biodiversity Journal* . 2023; volume3(1): 1-8
59. Anggraeni Putri P, Chatri M, Advinda L. Characteristics of Saponin Secondary Metabolite Compounds in Plants. *Serambi Biologi*. 2023; volume 8(2):251-258
60. Sumihe G, Runtuwene MRJ, Rorong JA. Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai Lc50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*. 2014; volume 14(2): 125-128

Lampiran 1. Skema kerja



Lampiran 2. Skema pembuatan simplisia dan ekstrak

Lampiran 3. Skema uji toksisitas ekstrak rimpang temulawak

Lampiran 4. Hasil determinasi tanaman



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI
Gedung E Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus UI Depok 16424
Telp. +62-21 727 8163, +62-21 7884 9800, Fax. +62-21 7884 9810
www.biologi.ui.ac.id

Depok, 24 Mei 2023

Nomor : 494/UN2.F3.11/PDP.02.00/2023
Lampiran : 1 halaman (Daftar Referensi dan Catatan Identifikator)
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada
Fakhrizal Dwi Aprian
Fakultas Farmasi
Universitas Pancasila
Srengseng Sawah, Jagakarsa
Jakarta 12640

Dengan hormat,
bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia, pada tanggal 23 Mei 2023, adalah sebagai berikut dengan acuan yang tertera pada lampiran.

No.	Dugaan dan Kode Spesimen	Hasil Identifikasi	
		Spesies	Famili
1.	Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> R) [JI23-P-066]	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb. *	Zingiberaceae

*lihat catatan identifikator

Departemen Biologi FMIPA UI dan Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia tidak bertanggung jawab terhadap tindakan penyalahgunaan hasil identifikasi. Demikian surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya oleh pihak yang bersangkutan.

Departemen Biologi FMIPA UI

 Asom Hwowolaksano, Ph.D
 Depok, 12740 011998021001



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI
Gedung E Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus UI Depok 16429
Telp. +62-21 727 0103, +62-21 7864 8008, Fax. +62-21 7864 9010
www.biologi.ui.ac.id

Depok, 20 Oktober 2023

Nomor : 1203/UN2.F3.11/PDP.02.00/2023
Lampiran : 1 halaman (Daftar Referensi dan Catatan Identifikator)
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada
Fakhrizal Dwi Aprian
Fakultas Farmasi
Universitas Pancasila
Srengseng Sawah, Jagakarya
Jakarta 12640

Dengan hormat,
bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia, pada tanggal 16 Oktober 2023, adalah sebagai berikut dengan acuan yang tertera pada lampiran.

No.	Dugaan dan Kode Spesimen	Hasil Identifikasi	
		Spesies	Famili
1.	Rimpang Temulawak (<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb) CIREBON [J123-P-169]	<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb. *	Zingiberaceae
2.	Rimpang Temulawak (<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb) TEMBALANG [J123-P-170]	<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb. *	Zingiberaceae



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI
Gedung E Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus UI Depok 16424
Telp. +62-21 727 0163, +62-21 7884 9009, Fax. +62-21 7884 9010
www.biologi.ui.ac.id

3.	Rimpang Temulawak (<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb) JAMBI [JI23-P-171]	<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb. *	Zingiberaceae
4.	Rimpang Temulawak (<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb) SUMBA [JI23-P-172]	<i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb. *	Zingiberaceae

*lihat catatan identifikator

Departemen Biologi FMIPA UI dan Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia tidak bertanggung jawab terhadap tindakan penyalahgunaan hasil identifikasi. Demikian surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya oleh pihak yang bersangkutan.

Ketua Departemen Biologi FMIPA UI

 Prof. Anom Bowolaksono, Ph.D
 NIP. 1950011998021001

Lampiran 5. Hasil pengeringan rimpang temulawak

Daerah asal rimpang temulawak	Bobot (g)
Cirebon	750
Tembalang	164,38
Wonogiri	849,18
Jambi	883,10
Sumba	849,18

Lampiran 6. Hasil perhitungan rendemen dan DER-Native

Ekstrak	Bobot Serbuk (W1) (g)	Bobot Ekstrak (W2) (g)	Rendemen (%)	DER-Native
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon	500	89,00	17,8	5,62
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang	164,38	23,86	14,52	6,89
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri	500	80,80	16,16	6,18
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi	500	82,00	16,40	6,10
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba	500	66,70	13,34	7,50

Rumus perhitungan rendemen ekstrak dan DER-Native

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{w_2}{w_1} \times 100\%$$

$$\text{DER-Native} = \frac{w_1}{w_2}$$

Keterangan:

W1 = Bobot serbuk simplisia (g)

W2 = Bobot ekstrak (g)

A Ekstrak rimpang temulawak dari daerah Cirebon

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{89,00}{500} \times 100\% = 17,80\%$$

$$\text{DER-Native} = \frac{500}{89,00} = 5,62$$

B Ekstrak rimpang temulawak dari daerah Tembalang

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{23,86}{164,38} \times 100\% = 14,52\%$$

$$\text{DER-Native} = \frac{164,38}{23,86} = 6,89$$

C Ekstrak rimpang temulawak dari daerah Wonogiri

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{80,80}{500} \times 100\% = 16,16\%$$

$$\text{DER-Native} = \frac{500}{80,80} = 6,18$$

D Ekstrak rimpang temulawak dari daerah Jambi

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{82,00}{500} \times 100\% = 16,40\%$$

$$\text{DER-Native} = \frac{500}{82,00} = 6,10$$

E Ekstrak rimpang temulawak dari daerah Sumba

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{66,70}{500} \times 100\% = 13,34\%$$

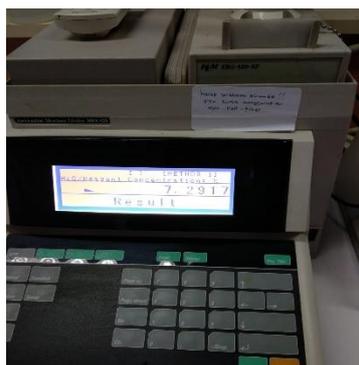
$$\text{DER-Native} = \frac{500}{66,70} = 7,50$$

Lampiran 7. Hasil uji kadar air

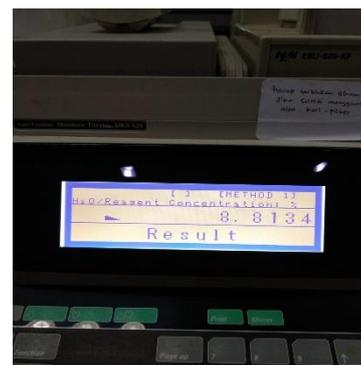
870 KF Titrino plus 00000 5.870.0025 2023-04-06 11:59:40	
RESULT REPORT	
Method	KFT Tpel
Determination time	2023-04-06 11:55:50
Duration of determination	178.7 s
Sample number	8
Sample size	0.0355 g
EPI	0.5130 mL
Regular stop	
Water	6.66 %

870 KF Titrino plus 00000 5.870.0025 2023-04-06 11:59:40	
RESULT REPORT	
Method	KFT Tpel
Determination time	2023-04-06 11:55:50
Duration of determination	178.7 s
Sample number	8
Sample size	0.0355 g
EPI	0.5130 mL
Regular stop	
Water	6.66 %

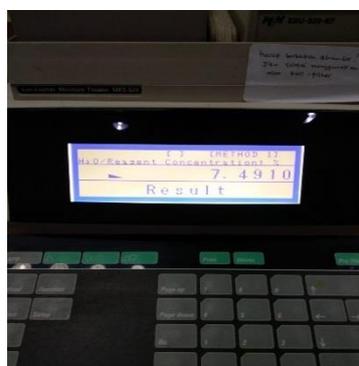
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba



Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri



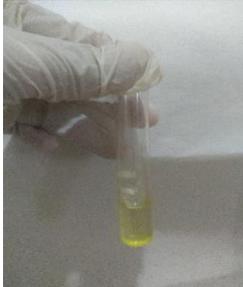
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi



Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon

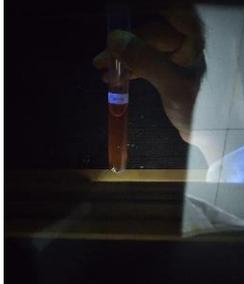
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang

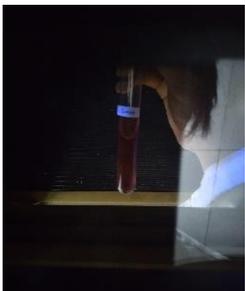
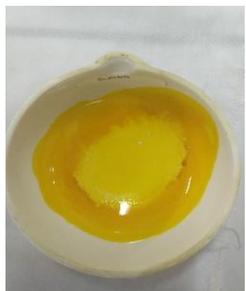
Lampiran 8. Hasil penapisan fitokimia simplisia

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Simplisia rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon			
	Alkaloid (Dragendorff)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuionon	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Simplisia rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuion	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

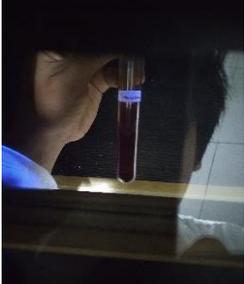
Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Simplisia rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuion	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

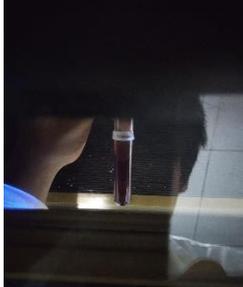
Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Simplisia rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuinson	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

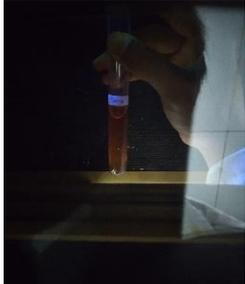
Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Simplisia rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuion	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

Lampiran 9. Hasil penapisan fitokimia ekstrak

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon			
	Alkaloid (Dragendorff)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuinson	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuionon	Tanin
			
Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri	

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuion	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

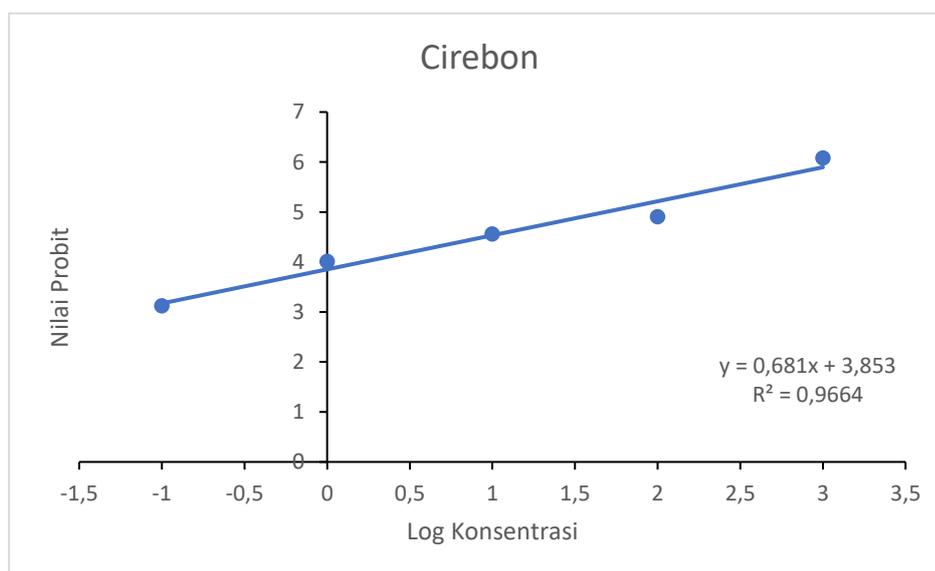
Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi			
	Alkaloid (Dragendorff)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuinson	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

Nama Daerah	Hasil Identifikasi		
Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba			
	Alkaloid (Dragendorf)	Alkaloid (Meyer)	Flavonoid
			
	Saponin	Kuionon	Tanin
			
	Kumarin	Steroid/Triterpenoid	Minyak Atsiri

Lampiran 10. Perhitungan uji toksisitas BSLT

A Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Cirebon

Konsentrasi Uji	Jumlah Larva Mati				%Kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
	1	2	3	Rata-Rata			
1000	8	10	8	8,67	86,67	3	6,08
100	6	4	4	4,67	46,67	2	4,9
10	3	4	3	3,33	33,33	1	4,56
1	1	3	1	1,67	16,67	0	4,01
0,1	0	0	1	0,33	3,33	-1	3,12



$$y = ax + b$$

$$y = 5$$

$$a = 0,681$$

$$b = 3,853$$

$$y = ax + b$$

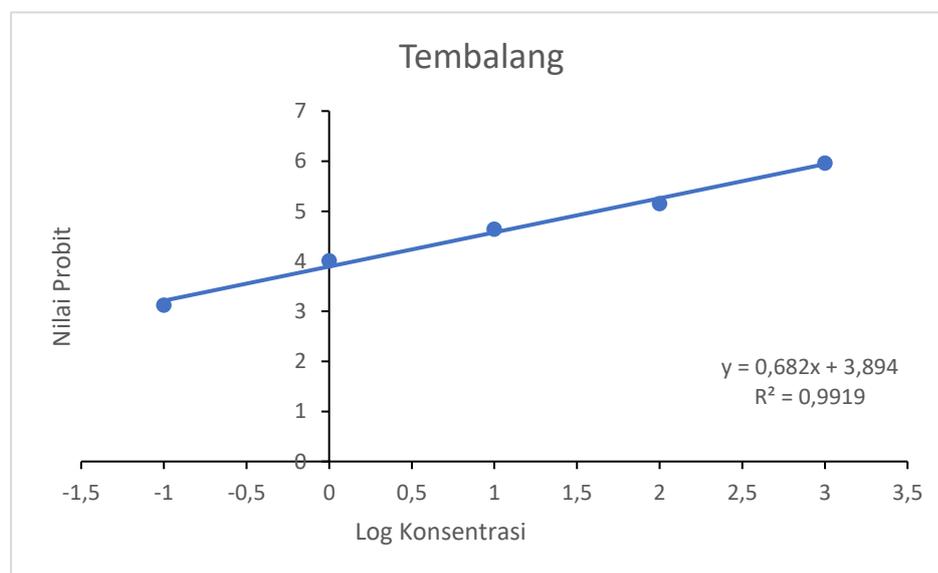
$$5 = 0,681x + 3,853$$

$$x = 1,6843$$

$$\text{antilog}(x) = 48,3393 \text{ mg/L}$$

B Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Tembalang

Konsentrasi Uji	Jumlah Larva Mati				%Kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
	1	2	3	rata-rata			
1000	10	7	8	8,33	83,33	3	5,96
100	4	7	5	5,33	53,33	2	5,15
10	4	4	3	3,67	36,67	1	4,64
1	1	3	2	2	20	0	4,01
0,1	0	1	0	0,33	3,33	-1	3,12



$$y = ax + b$$

$$y = 5$$

$$a = 0,682$$

$$b = 3,894$$

$$y = ax + b$$

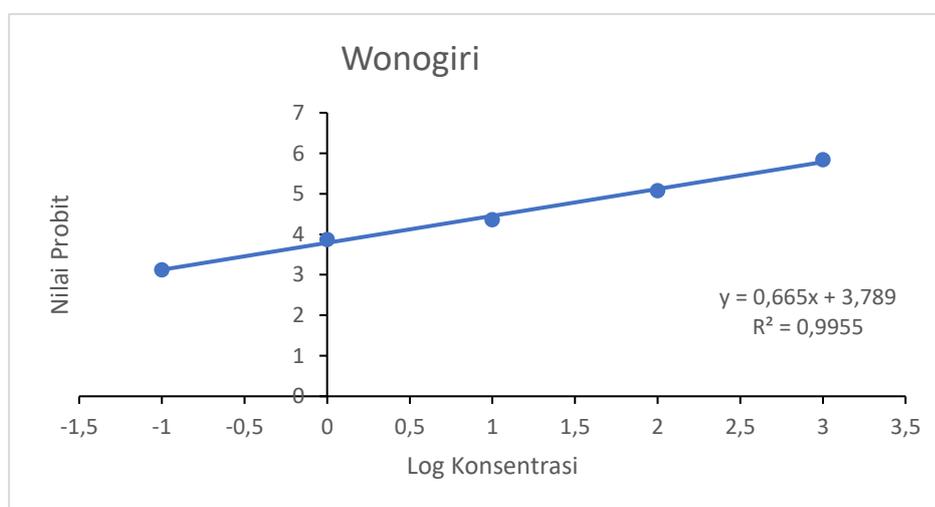
$$5 = 0,682x + 3,894$$

$$x = 1,6217$$

$$\text{antilog}(x) = 41,8540 \text{ mg/L}$$

C Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Wonogiri

Konsentrasi Uji	jumlah larva mati				% Kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
	1	2	3	rata-rata			
1000	9	8	7	8	80	3	5,84
100	5	4	7	5,33	53,33	2	5,08
10	2	4	2	2,67	26,67	1	4,36
1	1	1	2	1,33	13,33	0	3,87
0,1	1	0	0	0,33	3,33	-1	3,12



$$y = ax + b$$

$$y = 5$$

$$a = 0,665$$

$$b = 3,789$$

$$y = ax + b$$

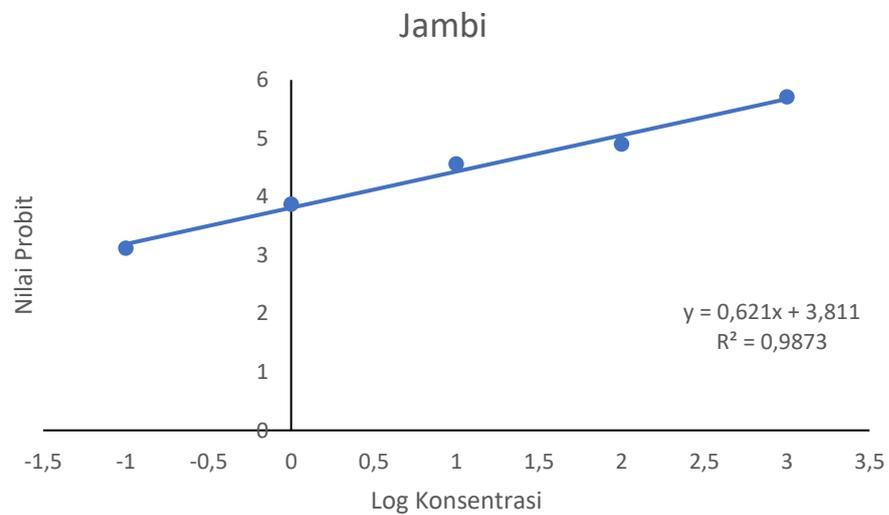
$$5 = 0,665x + 3,789$$

$$x = 1,8101$$

$$\text{antilog}(x) = 64,5803 \text{ mg/L}$$

D Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Jambi

Konsentrasi Uji	Jumlah Larva Mati				% Kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
	1	2	3	rata-rata			
1000	7	7	9	7,67	76,67	3	5,71
100	5	4	5	4,67	46,67	2	4,9
10	4	4	2	3,33	33,33	1	4,56
1	2	1	1	1,33	13,33	0	3,87
0,1	1	0	0	0,33	3,33	-1	3,12



$$y = ax + b$$

$$y = 5$$

$$a = 0,621$$

$$b = 3,811$$

$$y = ax + b$$

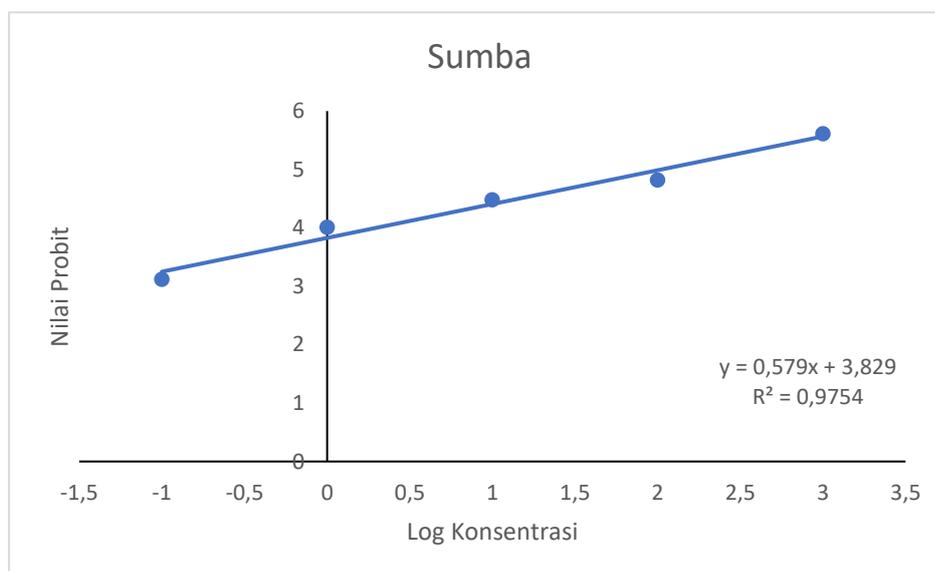
$$5 = 0,621x + 3,811$$

$$x = 1,9147$$

$$\text{antilog}(x) = 82,1675 \text{ mg/L}$$

E Ekstrak rimpang temulawak yang berasal dari daerah Sumba

Konsentrasi Uji	Jumlah Larva Mati				% Kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
	1	2	3	rata-rata			
1000	7	8	7	7,33	73,33	3	5,61
100	4	4	5	4,33	43,33	2	4,82
10	3	2	4	3	30	1	4,48
1	1	1	3	1,67	16,67	0	4,01
0,1	1	0	0	0,33	3,33	-1	3,12



$$y = ax + b$$

$$y = 5$$

$$a = 0,579$$

$$b = 3,829$$

$$y = ax + b$$

$$5 = 0,579x + 3,829$$

$$x = 2,0225$$

$$\text{antilog}(x) = 105.3174 \text{ mg/L}$$

Lampiran 11. Perhitungan penetapan kadar abu

A . Kadar abu total

$$\text{Kadar abu total} = \frac{(\text{krus+abu})-(\text{krus kosong})}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

No	Krus Kosong (g)	Bobot ekstrak (g)	Krus + abu (g)	Kadar abu (%)	Kadar abu rata-rata (%)
1	25,0262	2,0015	25,1350	5,44	5,41
2	25,8270	2,0124	25,9441	5,82	
3	24,3854	2,0063	24,4851	4,97	

$$\text{Krus 1} = \frac{(25,1350)-(25,0262)}{2,0015} \times 100\% = 5,44\%$$

$$\text{Krus 2} = \frac{(25,9441)-(25,8270)}{2,0124} \times 100\% = 5,82\%$$

$$\text{Krus 3} = \frac{(24,4851)-(24,3854)}{2,0063} \times 100\% = 4,97\%$$

$$\text{Rata-rata kadar abu total} = \frac{5,44\% + 5,82\% + 4,97\%}{3} = 5,41\%$$

B Kadar Abu tidak larut asam

$$\text{Kadar abu total} = \frac{(\text{krus+abu})-(\text{krus kosong})}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

No	Krus Kosong (g)	Bobot ekstrak (g)	Krus + abu (g)	Kadar abu (%)	Kadar abu rata-rata (%)
1	25,0262	2,0015	25,0364	0,51	0,32
2	25,8270	2,0124	25,8330	0,30	
3	24,3854	2,0063	24,2887	0,16	

$$\text{Krus 1} = \frac{(25,0364)-(25,0262)}{2,0015} \times 100\% = 0,51\%$$

$$\text{Krus 2} = \frac{(25,8330)-(25,8270)}{2,0124} \times 100\% = 0,30\%$$

$$\text{Krus 3} = \frac{(24,2887)-(24,3854)}{2,0063} \times 100\% = 0,16\%$$

$$\text{Rata-rata kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,51\% + 0,30\% + 0,16\%}{3} = 0,32\%$$

Lampiran 12. Uji kandungan cemaran logam



Laboratorium Tanah, Tanaman, Pupuk, Air

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN

Laboratorium Penguji BALAI PENELITIAN TANAMAN REMPAH DAN OBAT

Jln. Tentara Pelajar No.3, Kampus Penelitian Pertanian, Cimanggung, Bogor 16111
Telp. (0251) 8321879 Fax. (0251) 8327030 e-mail: balitro@telkom.net

SCIENCE INNOVATION NETWORK

SERTIFIKAT PENGUJIAN

CERTIFICATE OF ANALYSIS

No. Adm. : 243/T/LAB/X/23

DF 7.8.1.0.2C Rev.0
Hal 1 dari 1

Kepada Yth.
Sdr. Fakhrial Dwi Aprian
Universitas Pancasila

Kondisi/Identifikasi Contoh : kering
Tanggal Penerimaan : 4 Oktober 2023
Tanggal Pengujian : 6-9 Oktober 2023

No.	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/Kode)	Metode Pengujian
1.	Ekstrak Temulawak	- Pb (ppm)	1,95	AAS
		- Cd (ppm)	0,08	AAS

Bogor, 16 Oktober 2023
Manajer Teknis,

Andriana Kartikawati, S.P., M.Agr

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
- Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar kedua : untuk disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 1

F.042/VICMALAB
Revisi 3

LAPORAN PENGUJIAN
RESULT OF ANALYSIS
VICMALAB.LHP.2023.X.1394

No.	Jenis Analisis <i>Type of Analysis</i>	Satuan <i>Unit</i>	Hasil Analisis <i>Result</i>	Metode <i>Method</i>
Cemaran Logam Berat				
1	As	ppm	Tidak terdeteksi	AAS

Bogor, 24 Oktober 2023
Manajer Teknis,

Dini Kusdiningsih

Hasil Pengujian hanya berlaku untuk contoh yang di uji
The test result is only valid for the sample taken

Laporan Hasil Pengujian ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Manajer Puncak Laboratorium
This report shall not be reproduced without the written approval from Laboratory Top Manager

Lampiran 13. Penetapan sisa pelarut

Lampiran 1

F.042/VICMALAB
Revisi 3

LAPORAN PENGUJIAN
RESULT OF ANALYSIS
VICMALAB.LHP.2023.X.1395

No.	Jenis Analisis <i>Type of Analysis</i>	Satuan <i>Unit</i>	Hasil Analisis <i>Result</i>	Metode <i>Method</i>
1	Sisa Pelarut Ethanol	%	0	GC

Bogor, 24 Oktober 2023
Manajer Teknis,

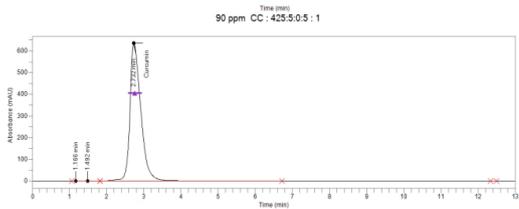
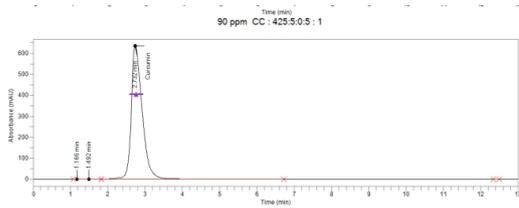
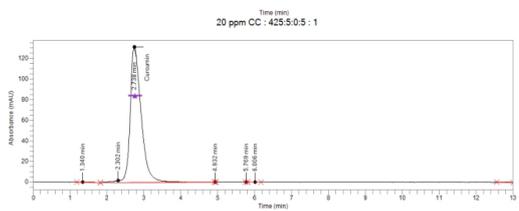
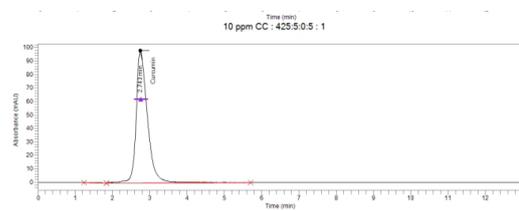
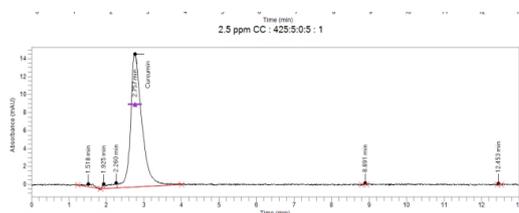
Dini Kusdiningsih

Hasil Pengujian hanya berlaku untuk contoh yang di uji
The test result is only valid for the sample taken

Laporan Hasil Pengujian ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Manajer Puncak Laboratorium
This report shall not be reproduced without the written approval from Laboratory Top Manager

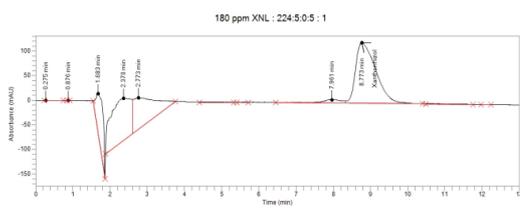
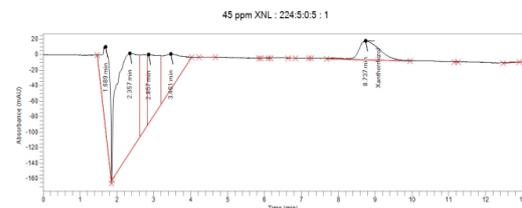
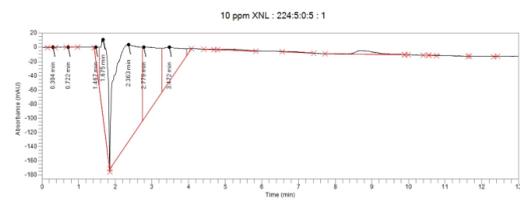
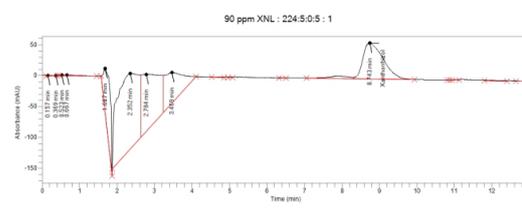
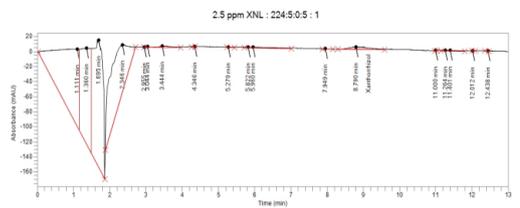
Lampiran 14. Kurva baku kalibrasi kurkumin

Summary		Details					
Curcumin		Linear	None	Force	Area	None	None
+	Standard Name	Amount	Units	Average Intensity	Intensity Units	In Use	Int Std In Use
<input type="checkbox"/>	Std 1	2.5	ppm	313,715.5082	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Std 3	20	ppm	2,694,512.482	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Std 2	10	ppm	2,068,222.678	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Std 4	45	ppm	6,161,467.012	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Std 5	90	ppm	12,957,505.991	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Std 6	100	ppm	13,984,122.74	$\mu\text{AU}^*\text{s}$	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



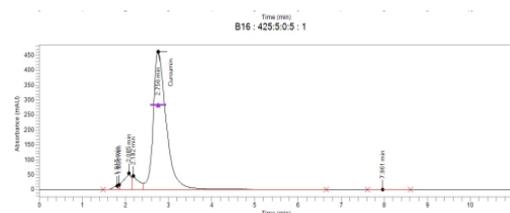
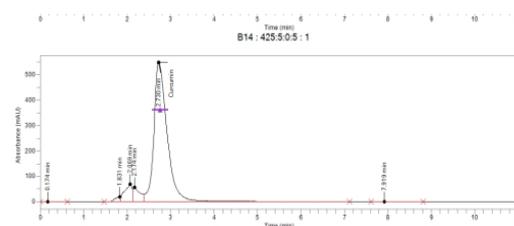
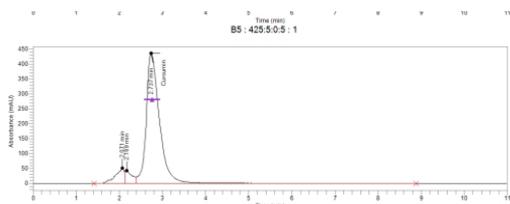
Lampiran 15. Kurva baku kalibrasi xantorizol

Summary		Details				
Device PDAPlusDet-4		Channel 224:5:0:5				
Outlier Limit 15						
Name	Calibration Reference					
Xanthorrhizol	Linear	None	Force			
	Area	None	None			
Standard Name	Amount	Units	Average Intensity	Intensity Units	In Use	Int Std In Use
Std 1	2.5	ppm	126,725.5041	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Std 2	10	ppm	204,711.1225	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Std 3	20	ppm	463,515.7105	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Std 4	45	ppm	937,040.3125	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Std 5	90	ppm	2,203,920.1881	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Std 6	180	ppm	4,632,213.3191	μAU*s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



Lampiran 16. Uji kadar kurkumin

Pengujian	Retention time (menit)	Luas area	Kadar
Kurkumin	Uji 1	2,737	68,62476
	Uji 2	2,756	70,94852
	Uji 3	2,730	84,80103



Keterangan:

y = luas area puncak

x = kadar

Replikasi 1 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{9.141.528 - 140489}{139576}$$

$$x = 68,62476$$

Replikasi 2 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{9.762.222 - 140489}{139576}$$

$$x = 70,94852$$

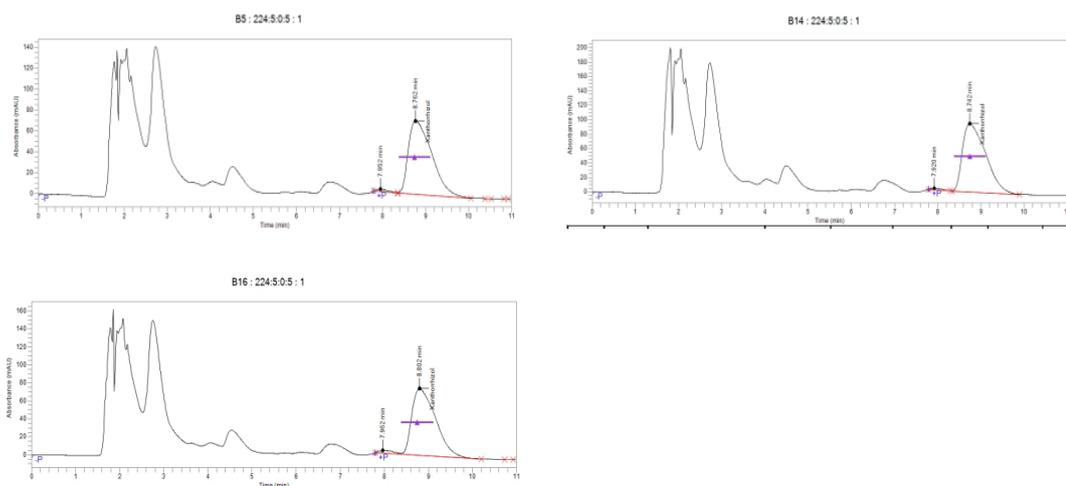
Replikasi 3 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{11.695.699 - 140489}{139576}$$

$$x = 84,80103$$

Lampiran 17. Uji kadar xantorizol

Pengujian	Retention time (menit)	Luas area	Kadar
Xantorizol	Uji 1	8,762	2.654.351
	Uji 2	8,802	2.770.347
	Uji 3	8,742	3.513.611



Keterangan:

y = luas area puncak

x = kadar

Replikasi 1 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{9.141.528 - 140489}{139576}$$

$$x = 105,5483$$

Replikasi 2 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{9.141.528 - 140489}{139576}$$

$$x = 110,0537$$

Replikasi 3 : $y = 139576x + 140489$

$$x = \frac{9.141.528 - 140489}{139576}$$

$$x = 138,9228$$

Lampiran 18. Dokumentasi penelitian

