

**DETEKSI ADULTERAN PADA BAHAN BAKU SEDIAAN TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB) INSTAN SECARA TLC FINGERPRINT ANALYSIS**

**ADULTERANT DETECTION ON RAW MATERIAL OF INSTANT TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB) PREPARATION USING TLC FINGERPRINT ANALYSIS**

Fauzan Zein Muttaqin<sup>1</sup>, Nurul Aida<sup>1</sup>, Aiyi Asnawi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No. 754 Cibiru, Bandung

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha No. 10, Bandung

Email: fauzanzein@stfb.ac.id (Fauzan Zein Muttaqin)

**ABSTRAK**

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan salah satu jenis tanaman unggulan yang banyak dimanfaatkan masyarakat. Pencampuran adulteran pada bahan baku sediaan temulawak dapat membahayakan kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adulteran pada bahan baku sediaan temulawak instan. Metode yang digunakan adalah *Thin Layer Chromatography (TLC) fingerprint analysis*. Sidik jari KLT temulawak dibuat menggunakan rimpang temulawak yang berasal dari Cianjur, Semarang, dan Nusa Tenggara Timur. Sementara sidik jari kunyit (*Curcuma longa*) sebagai adulteran utama dibuat menggunakan rimpang kunyit dari Cianjur. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Analisis kromatogram secara kemometrik menggunakan metode *Principal Component Analysis (PCA)*. Nilai *loadings Principal Component 1 (PC1)* menunjukkan kurva yang linier, dan data hasil *scores PC1* tersebut dapat membedakan dengan baik sidik jari temulawak dari kunyit dengan nilai *scores* temulawak dan kunyit berada pada kuadran yang berbeda. Hasil menunjukkan bahwa nilai *scores* ketiga sampel temulawak instan berada di antara kuadran temulawak dan kunyit (*Curcuma Longa* L). Dapat disimpulkan bahwa semua sampel positif mengandung adulteran pada temulawak instan.

**Kata kunci:** kemometrik, kunyit (*Curcuma longa* L), KLT *fingerprint analysis*, video densitometri, *principal component analysis (PCA)*, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb).

**ABSTRACT**

*Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb) is one of the leading plant species that are widely used. Adulterant mixing on raw material of temulawak preparation can be harmful. This study aims to detect adulterant on raw material of instant temulawak preparations using Thin Layer Chromatography (TLC) fingerprint analysis. TLC fingerprints of temulawak and kunyit (Curcuma longa) were made using temulawak rhizome from Cianjur, Semarang, and East Nusa Tenggara. While TLC fingerprints of*

*kunyit (Curcuma longa) as the main adulterant were made using kunyit rhizome from Cianjur. Maceration were carried out using ethanol 96% w/w. Analysis of chromatogram were carried out chemometrically using Principal Component Analysis (PCA) method. The loadings value of Principal Component Components 1 (PC1) showed the linear curve and the PC scores data can distinguish the temulawak fingerprint from that of kunyit in different quadrants. The results showed that the score value of three instant temulawak preparation samples were located between temulawak and kunyit quadrants. It can be concluded that all samples contained kunyit as adulterant.*

**Key words:** *Curcuma xanthorrhiza Roxb, Curcuma longa, chemometric, TLC fingerprint analysis, video densitometri, principal component analysis (PCA).*

## Pendahuluan

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan salah satu jenis tanaman unggulan yang memiliki banyak manfaat sebagai tanaman obat. Temulawak dipercaya dapat meningkatkan kerja ginjal serta memiliki aktivitas anti-inflamasi. Manfaat lain dari rimpang tanaman ini yaitu sebagai obat jerawat, meningkatkan nafsu makan, antikolestrol, anti-inflamasi, anemia, antioksidan, pencegah kanker, dan anti mikroba (Depkes, 2000).

Banyaknya manfaat temulawak bagi kesehatan menyebabkan penggunaan temulawak di masyarakat semakin banyak mulai dari dalam bentuk perebusan rimpang kering maupun segar dan juga sudah dalam bentuk ekstraknya. Semakin meningkatnya penggunaan obat tradisional maka perlu adanya jaminan kualitas. Pentingnya kontrol kualitas produk obat herba yang terdiri dari campuran beberapa komponen, zat aktif dalam obat tradisional umumnya belum diketahui (Mulyani, 2014).

Adulteran adalah pemalsuan produk atau pencampuran dengan penambahan bahan-bahan atau senyawa yang berbahaya. Kurangnya

kontrol kualitas standar dari obat herba mengakibatkan banyaknya kecurangan dalam hal ini, sehingga penggunaan obat herbal menjadi terpinggirkan. Oleh karena itu diperlukan suatu cara untuk mengontrol kualitas sehingga akan diketahui bahan baku herba dengan mutu yang baik (Delaroza dan Scarminio, 2008).

TLC *fingerprint* merupakan salah satu metode yang dapat dimanfaatkan untuk evaluasi dan kontrol kualitas multikomponen dari bahan baku obat herba. Analisis ini dapat memberikan informasi kimia berupa kromatogram yang diperoleh dari Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Gas (GC), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan elektroforesis kapiler (Delaroza Scarminio, 2008; Li dkk., 2015).

Pada penelitian ini digunakan KLT karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu mudah dalam preparasi sampel, prosedur kerja sederhana, relatif murah karena sampel dan standar dapat dipisahkan dalam waktu yang sama serta volume pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan kromatogramnya dapat diamati secara visual (Istiqomah, 2010; Muttaqin dkk., 2016).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui metode analisis TLC *fingerprint* dapat digunakan untuk mendeteksi adulteran pada bahan baku sediaan temulawak instan dan untuk mengetahui ada atau tidaknya campuran kunyit di dalam kemasan sediaan temulawak yang beredar di perdagangan.

### Metode Penelitian

#### *Alat dan Bahan*

Alat-alat yang digunakan adalah: neraca analitik, alat-alat gelas, kamera *mirrorless*, *chamber* KLT. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah: plat KLT silika gel 60 GF<sub>254</sub>, akuades, etanol 96%, kloroform, diklorometana, amonia, HCl, amil alkohol, FeCl<sub>3</sub> gelatin, merkuri II klorida, KI, asam asetat anhidrat, asam sulfat, etanol 96%, serbuk Mg dan amonium hidroksida.

#### *Jalannya Penelitian*

Tahapan penelitian ini meliputi pengadaan dan pengolahan bahan baku, determinasi tanaman, pembuatan ekstrak, penapisan fitokimia, validasi metode, analisis TLC *fingerprint* temulawak instan menggunakan KLT video densitometri, interpretasi hasil

dengan kemometrik menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA).

Pengadaan bahan terdiri dari pengadaan bahan baku temulawak (*curcuma xanthorrhiza* Roxb) dari daerah Cianjur, Semarang, Nusa Tenggara Timur, dan produk temulawak instan yang ada di pasaran. Tempat tumbuh yang berbeda memungkinkan senyawa aktif dan profil kromatogram senyawa dalam tumbuhan yang sama akan berbeda. Untuk pengadaan produk temulawak di pasaran diambil sampel dari tiga produk temulawak dengan produsen yang berbeda.

Pembuatan simplisia diawali dengan membersihkan rimpang temulawak dari akar dan tanah yang menempel pada rimpang, kemudian dipotong dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C. Sortasi kering dilakukan terhadap simplisia kering. Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak, meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, terpenoid, dan steroid.

Sebelum melakukan analisis dengan KLT video densitometri dilakukan validasi metode analisis. Parameter validasi yang digunakan adalah stabilitas dan *repeatability*. Analisis ini dilakukan menggunakan KLT dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak kloroform-diklorometana (1:1, v/v) yang dianalisis menggunakan *software* ImageJ. Kromatogram yang didapat akan dianalisis secara kemometrik menggunakan metode PCA (*Principal Component Analysis*).

## Hasil dan Pembahasan

### *Hasil Pembuatan Ekstrak*

Simplisia segar kunyit dari Cianjur dan temulawak dari tiga daerah yaitu Cianjur, Semarang, dan Nusa Tenggara Timur dirajang dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C. Pemilihan metode pengeringan menggunakan oven karena senyawa curcuminoid dalam simplisia tahan terhadap suhu di bawah 60 °C serta pemilihan metode pengeringan ini dapat mempersingkat waktu pengeringan karena suhu relatif konstan. Dari simplisia kering ini kemudian diekstraksi, metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi

dipilih karena metode ini lebih sederhana, mudah, dan tidak perlu menggunakan pemanasan sehingga senyawa dalam simplisia yang tidak tahan panas tidak rusak karena kenaikan suhu. Pemilihan pelarut etanol karena pelarut etanol memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar sampai senyawa nonpolar.

Setelah melalui tahap ekstraksi, selanjutnya maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan didapat persentase rendemen ekstrak. Persentase rendemen menunjukkan kemaksimalan dari pelarut dalam menyari simplisia. Rendemen simplisia kunyit dari Cianjur dan temulawak dari daerah Cianjur, Semarang, dan Nusa Tenggara Timur berturut-turut sebesar 26,27; 25,95; 27,82; dan 26,86%.

### *Hasil Penapisan Fitokimia*

Setelah didapat ekstrak kental kemudian dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk menentukan kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak, serta dapat menggambarkan kandungan ekstrak secara kualitatif. Penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak rimpang temulawak dari tiga daerah dan kunyit memberikan

hasil positif untuk flavonoid, quinon, dan terpeonoid/steroid (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil penapisan fitokimia

Ekstrak	Golongan Senyawa					
	Alkaloid	Flavonoid	Quinon	Saponin	Tanin	Terpenoid dan Steroid
Kunyit	-	+	+	-	-	+
Temulawak Cianjur	-	+	+	-	-	+
Temulawak Semarang	-	+	+	-	-	+
Temulawak NTT	-	+	+	-	-	+

#### *Hasil Pemantauan Ekstrak dengan KLT*

Pada pemantauan ekstrak dengan KLT, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub>. Fase diam ini dipilih karena silika gel tersebut dapat berfluoresensi di bawah lampu UV 254. Fase gerak yang digunakan yaitu komposisi kloroform-diklorometan (1:1, v/v). Komposisi fase gerak tersebut dipilih karena menghasilkan jumlah pita terbanyak.

Bahan pembanding yang digunakan adalah ekstrak kunyit. Kunyit memiliki organoleptik yang hampir mirip dengan temulawak, sehingga produsen-produsen nakal sering menambahkan kunyit untuk mengurangi biaya produksi. Dari hasil pemantauan tersebut terlihat bahwa penampakan yang memiliki hasil yang paling maksimal dan konsistensinya

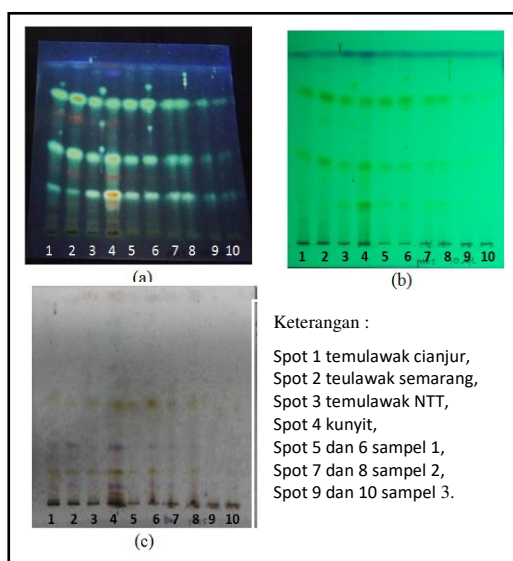
dapat terukur adalah penampakan di bawah lampu UV 254 nm yang akan digunakan untuk analisis selanjutnya.

Pada penampakan di bawah lampu UV 254 nm visualisasi dan perekaman bercaknya sudah dilakukan *color management* menggunakan kamera mirrorless SONY ALPHA tipe A5100 (Gambar 1). *Color management* dilakukan dengan mengatur beberapa parameter pada kamera yaitu diantaranya: *shutter speed*, nilai sensitivitas sensor/ISO, lensa *zoom*, *aperture* (Nilai F).

#### *Analisis Sidik Jari KLT*

Kromatogram dari plat KLT dianalisis dengan *software* ImageJ. ImageJ adalah suatu program yang digunakan untuk analisis gambar dari bercak atau densitas yang terbukti paling sederhana, mudah, dan

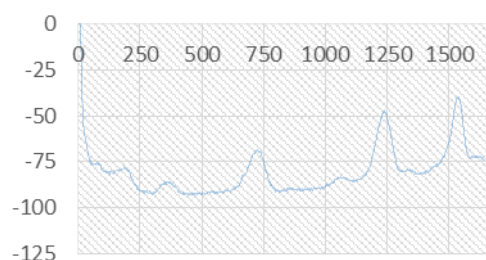
serbaguna meskipun jenis *software* lainnya dapat juga dimanfaatkan untuk menggunakan TLC *fingerprint*. Format gambar yang dipakai untuk analisis pada penelitian ini dalam bentuk JPEG yang dimasukan ke dalam *software* ImageJ. Dari gambar tersebut didapat kromatogram dari masing-masing ekstrak, lalu dari kromatogram tersebut didapatlah data nilai x dan y, dimana x adalah jarak vibrasi dan y adalah densitas atau kerapatan bercak.



**Gambar 1.** Kromatogram lapis tipis pada kondisi optimum (a) di bawah lampu UV 366 nm (b) di bawah lampu UV 254 nm (c) di bawah cahaya tampak.

Kromatogram yang didapat dari Imagej ini masih dalam keadaan terbalik sehingga tidak memperlihatkan puncak-

puncak yang bagus. Pada kromatogram tersebut puncak-puncak yang terlihat adalah kecerahan warna yang didapat pada gambar, dimana semakin cerah warna yang dipantulkan oleh KLT maka puncak akan semakin tinggi begitupun sebaliknya. Dalam KLT video densitometri yang perlu didapatkan adalah densitas atau kerapatan dari bercak terhadap jarak vibrasi. Untuk mendapatkannya kromatogram yang didapat perlu di-*invert* terlebih dahulu sehingga puncak-puncak yang diperoleh adalah densitas dari tiap bercak, dimana semakin tinggi densitas dari bercak tersebut, maka semakin tinggi pula puncak yang diperoleh.



**Gambar 2.** Kromatogram temulawak Cianjur.

#### Hasil Validasi Sidik Jari KLT

Validasi analisis *fingerprint* meliputi *repeatability* dan *stability* dengan menentukan *Relative Standard Deviation* (RSD) dari *Relative Peak Area*

(RPA) dari peak yang terdeteksi dengan KLT video densitometri. Pada *repeatability* dilakukan pengulangan pengukuran sampel sebanyak 3 kali dimana larutan dibuat triplo dengan konsentrasi yang sama. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah

metode yang dilakukan memberikan hasil yang sama dengan adanya keterulangan pengerjaan. Hasil *repeatability* berupa persen RSD dari nilai RPA ketiga daerah berada pada rentang 1,63 sampai 9,78%.

**Tabel 2.** RSD (%) dari RPA hasil *repeatability*

Peak	%RSD		
	Temulawak Cianjur	Temulawak Semarang	Temulawak NTT
1	2,25	7,63	4,63
2	3,06	2,46	3,13
3	8,89	3,53	2,78
4	2,32	2,14	2,76
5	4,31	8,03	5,93
6	8,71	9,78	1,63
7	3,79	8,49	3,13
8	1,82	5,52	6,71

**Tabel 3.** RSD (%) dari RPA hasil stabilitas temulawak dari ketiga daerah

Peak	%RSD		
	Temulawak Cianjur	Temulawak Semarang	Temulawak NTT
1	4,23	6,68	4,59
2	2,54	1,91	5,90
3	10,64	8,67	4,69
4	2,45	2,02	2,17
5	9,07	6,88	4,91
6	9,52	2,01	9,59
7	5,78	6,54	6,72
8	1,98	7,38	8,32

Pada uji stabilitas dilakukan pengulangan pengujian sampel yang sama selama 3 hari berturut-turut. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan sampel pada

waktu tertentu yang masih memberikan hasil yang sama. Hasil uji stabilitas persen RSD dari nilai RPA dari ketiga daerah berada pada rentang 1,91 sampai 10,64%. Hasil uji stabilitas

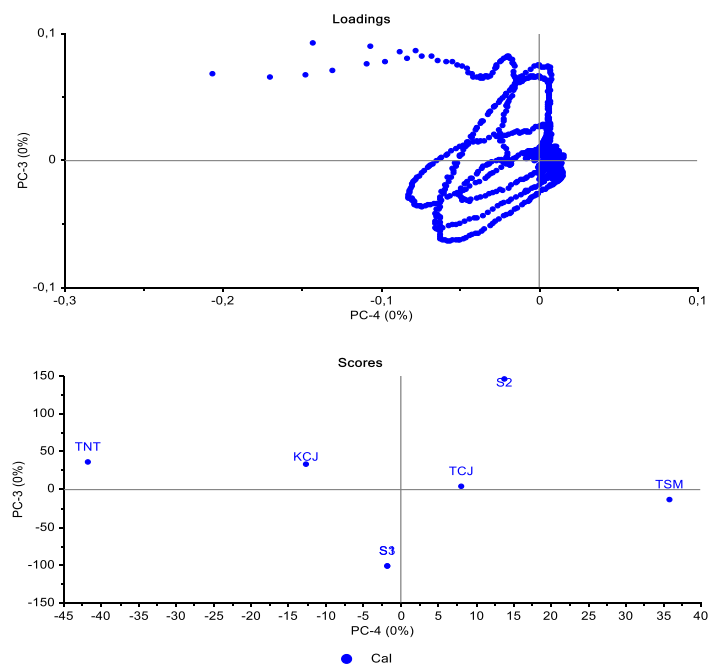


tersebut menunjukkan bahwa sampel stabil. Dari hasil uji *repeatability* dan stabilitas nilai persen RSD dari nilai RPA cenderung tinggi hal tersebut terjadi karena nilai peak area dari setiap senyawa berbeda yang disebabkan oleh perbedaan kandungan senyawa. Perbedaan kandungan senyawa dapat disebabkan dari perbedaan tempat tumbuh dan waktu panen simplisia.

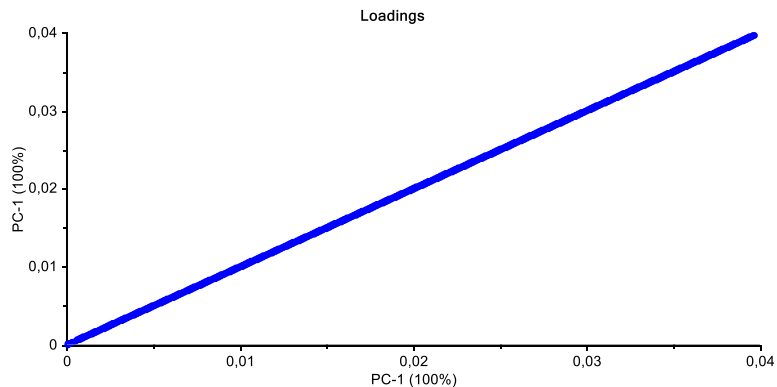
#### Analisis Data

Hasil kromatogram selanjutnya dianalisis lebih lanjut menggunakan

kemometrik. Kemometrik adalah penggunaan ilmu statistika dan matematika untuk pengolahan data kimia. Metode ini dilakukan dengan *software* Unscrambler 10.3. Kemometrik yang digunakan pada analisis ini adalah PCA (*Principal Component Analysis*). Variabel baru yang dihasilkan berupa skor atau komponen utama. Hasil dari analisis PCA berupa *scores* dan *loading*.



**Gambar 3.** Scores dan *loading* PCA ekstrak rimpang temulawak dari tiga daerah, kunyit, dan sampel 1, 2, dan 3 yang tidak terpakai.

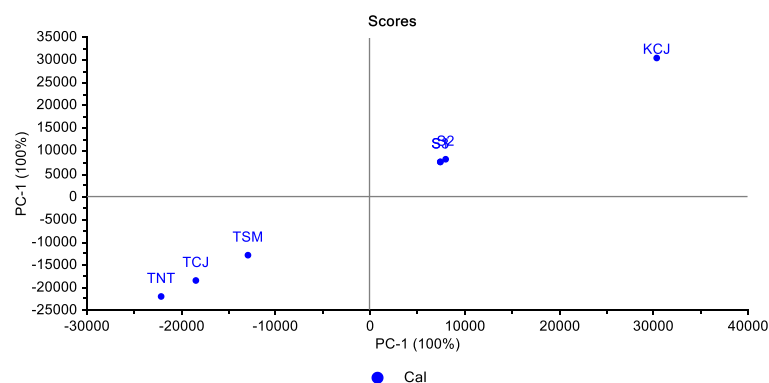


**Gambar 4.** *Loadings* PCA ekstrak rimpang temulawak dari tiga daerah dan kunyit.

Dengan menggunakan data yang telah diperoleh didapat 4 PC, dari 4 PC tersebut didapat beberapa data scores dan loading. Dari data-data scores dan loading dengan beberapa PC tersebut yang dipakai hanya PC 1 terhadap PC 1, karena pada PC tersebut didapat pengelompokan data yang

bagus dan hasil *loading* yang membentuk garis linier.

Data *loadings* berfungsi untuk mengetahui nilai y yang berpengaruh terhadap pengelompokan ekstrak dari tiga daerah. Nilai y digambarkan sebagai titik biru yang tersebar sehingga membentuk garis yang linier.



**Gambar 5.** Gabungan PCA ekstrak dari tiga daerah (TCJ, TSM, TNT) dan ekstrak kunyit (KYT) dengan sampel (S1, S2, S3).

Gambar 3 menunjukkan ekstrak temulawak dari ketiga daerah memiliki

karakteristik yang sama, karena ketiganya berada pada kuadran yang

sama. Kromatogram ekstrak kunyit dan temulawak dari ketiga daerah menunjukkan tidak adanya kemiripan *peak* dan memiliki karakteristik yang berbeda, dibuktikan dengan hasil *scores* ekstrak dari ketiga daerah yang berada pada kuadran yang berbeda dengan kunyit. Sedangkan hasil *scores* sampel produk temulawak berada pada kuadran yang sama dengan kuadran ekstrak kunyit, namun letak *scores* ekstrak sampel ketiga produk tersebut letaknya sedikit berjauhan dengan kunyit sehingga diduga selain kunyit terdapat senyawa lain di dalam sampel produk-produk tersebut.

Dari hasil analisis PCA tersebut menunjukkan bahwa ekstrak temulawak dari Cianjur, Semarang dan Nusa Tenggara Timur memiliki karakteristik yang sama. Jika dibandingkan dengan ekstrak kunyit, ketiga ekstrak temulawak tersebut sangat berbeda karakteristiknya dengan kunyit. Pada sampel produk rimpang temulawak memiliki karakteristik yang sama dengan ekstrak kunyit sehingga diduga sampel produk-produk yang diuji tersebut memiliki adulteran yaitu kunyit dan senyawa lainnya.

## Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa deteksi adulteran pada bahan baku sediaan temulawak instan secara TLC *fingerprint* diperoleh data sebagai berikut:

1. Komposisi fase gerak yang digunakan yaitu kloroform-diklorometana (1:1, v/v) dengan deteksi bercak pada lampu UV 254, pengambilan gambar dengan kamera *mirrorless* yang dianalisis menggunakan aplikasi ImageJ, menghasilkan data kromatogram yang dapat dipakai untuk analisis TLC *fingerprint*. Dari data kromatogram tersebut didapat data nilai x (densitas atau kerapatan) dan y (jarak vibrasi) yang dapat dianalisis menggunakan PCA. Dari data PCA tersebut didapat bahwa metode analisis TLC *fingerprint* dapat digunakan untuk mendeteksi adulteran pada bahan baku sediaan temulawak instan.
2. Hasil analisis PCA menunjukkan bahwa ekstrak temulawak dari Cianjur, Semarang dan Nusa Tenggara Timur memiliki karakteristik yang sama, sedangkan jika dibandingkan dengan ekstrak

kunyit ketiga ekstrak temulawak tersebut, karakteristiknya sangat berbeda dengan kunyit. Pada sampel produk rimpang temulawak memiliki karakteristik yang sama dengan ekstrak kunyit, sehingga sampel produk 1, 2, dan 3 diduga terdapat adulteran yaitu kunyit dan senyawa lainnya.

Ekstrak dan produk temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Massa Spectrometry*). Skripsi. Fakultas Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Muttaqin, F.Z., Anne Y., Astri F., dan Aiyi A. 2016. Penetapan kadar senyawa metampiron dan diazepam dalam sediaan kombinasi obat menggunakan metode KLT video densitometry. *Pharmacy Jurnal Farmasi Indonesia*, 13(02):127-136.

#### Daftar Pustaka

Delarozza, F. dan Scarminio, I.S. 2008. Mixture design optimization of extraction and mobile phase media for fingerprint analysis of *Bauhinia variegata* L. *Journal Separation Science*, 31:1034-1041.

Depkes. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

Istiqomah, I.F.A. 2010. Pengoptimuman fase gerak KLT dengan rancangan campuran untuk analisis sidik jari temulawak. *Skripsi*. Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor.

Li, J., He, X., Li, M., Zhao, W., Liu, L., Kong, X. 2015. Chemical fingerprint and quantitative analysis for quality control of polyphenols extracted from *pomegranate* peel by HPLC. *Food Chem*, 176:7-11.

Mulyani, S. 2014. Analisis *Chromatography Fingerprint*