

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN DAN KURKUMINOID PADA TABLET OBAT DIARE
YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAN RIMPANG KUNYIT
SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI DENSITOMETRI**

AYUNINGTYAS NIRMALA PUTRI

0606040596



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

PROGRAM EKSTENSI

DEPOK

2009

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN DAN KURKUMINOID PADA TABLET OBAT DIARE
YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI DAN RIMPANG KUNYIT
SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI DENSITOMETRI**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

AYUNINGTYAS NIRMALA PUTRI

0606040596



DEPOK

2009

SKRIPSI : PENETAPAN KADAR KUERSETIN DAN KURKUMINOID PADA
TABLET OBAT DIARE YANG MENGANDUNG EKSTRAK DAUN
JAMBU BIJI DAN RIMPANG KUNYIT SECARA KROMATOGRAFI
LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI DENSITOMETRI

NAMA : AYUNINGTYAS NIRMALA PUTRI

NPM : 0606040596

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009



Drs. Hayun, MSi

PEMBIMBING I




Dr. Abdul Mun'im, MS

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana :

Penguji I : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, MS, PhD.....

Penguji II : Dra. Sabarijah WittoEng, SKM.....

Penguji III : Dr. Berna Elya, MS.....

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah memberikan kekuatan lahir batin kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis menghaturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. Hayun, MSi dan bapak Dr. Abdul Mun'im, MS selaku pembimbing yang telah memberikan waktu, bimbingan, saran dan bantuan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang memberikan kesempatan dan fasilitas selama melakukan penelitian.
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS selaku Ketua Program Studi Ekstensi Farmasi FMIPA UI.
4. Ibu Dr. Berna Elya, Apt. MS selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama masa pendidikan di Ekstensi Farmasi.
5. Seluruh staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bekal ilmu dan membimbing penulis selama pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
6. Kepada keluarga tercinta, Papa, Mira, Amri, terutama Mama dan Raju yang selalu ada memberikan dukungan kepada penulis.

7. Buat Nanda, lin, Lili, Shely, Pita dan Asri serta teman-teman Ekstensi 2006 yang tidak mungkin dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, kritik dan saran yang membangun untuk peningkatan di masa depan sangat penulis harapkan. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dalam dunia farmasi khususnya dan masyarakat pada umumnya.



ABSTRAK

Saat ini, pengembangan sediaan fitofarmaka perlu dilakukan suatu uji *quality control* (QC) untuk menjamin mutu dan keamanan dari sediaan tersebut. Oleh karena itu, standardisasi dan metode analisis yang valid baik pada bahan baku maupun produk jadi merupakan faktor penting dalam pengembangan sediaan fitofarmaka. Sediaan fitofarmaka yang digunakan untuk mengobati diare banyak mengandung ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn) dan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val). *Biomarker* dari ekstrak daun jambu biji yaitu kuersetin, sedangkan *biomarker* dari ekstrak rimpang kunyit yaitu kurkuminoid. Kadar dari kurkuminoid dan kuersetin dapat dipengaruhi oleh umur tanaman, jenis tanah dan tempat tumbuh. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan kondisi optimum analisis kurkuminoid dan kuersetin serta mengetahui kadarnya dalam tablet obat diare yang mengandung ekstrak daun jambu biji dan rimpang kunyit dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT) densitometri. Hasil penelitian menunjukkan fase gerak terbaik adalah toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) pada panjang gelombang 426 nm untuk kurkuminoid dan 303 nm untuk kuersetin. Kurva kalibrasi kurkuminoid antara 612-1632 ppm, dan kuersetin antara 81,12-405,6 ppm. Batas deteksi dan kuantitasi kurkuminoid berturut-turut sebesar 100,65 ppm dan 335,49 ppm, sedangkan batas deteksi dan kuantitasi kuersetin berturut-turut sebesar 17,92 ppm dan 59,72 ppm. Kadar rata-rata kurkuminoid sebelum dikoreksi

sebesar 2541,59 $\mu\text{g/g}$ dan kadar rata kuersetin sebelum dikoreksi sebesar 306,55 $\mu\text{g/g}$. Perolehan kembali kurkuminoid adalah 71,02 % dan kuersetin adalah 94,57 %. Kadar rata-rata kurkuminoid setelah dikoreksi sebesar 3578,70 $\mu\text{g/g}$ dan kadar rata kuersetin setelah dikoreksi sebesar 324,16 $\mu\text{g/g}$.

Kata kunci : diare, KLTKT densitometri, kuersetin, kurkuminoid, sediaan fitofarmaka

xiii+86 hal : gamb, tab, lamp

Bibliografi : 31 (1976-2009)



ABSTRACT

Recently, developing of phytopharmaca needs quality control (QC) test to ensure the quality and safety. Thus, standardization and validation analysis methods of raw materials and product are an important factor in developing of phytopharmaca. The phytopharmaca for diarrhoea treatment contains extract of guava leaves and turmeric rhizome. Biomarker from extract of guava leaf is quercetin, while biomarker from turmeric rhizome is curcuminoid. Curcuminoid and quercetin contents are influenced by the age of plants themselves, cultivate type and place of growth. The purpose of this research was to get the analysis method for curcuminoid and quercetin contents in diarrhoea tablet contains extract of guava leaves and turmeric rhizome with using High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) method densitometry. The result shows toluene-acetone-methanol-formic acid (46:8:5:1) is the best mobile phase at 426 nm for curcuminoid and 303 nm for quercetin. The calibration curve of curcuminoid between 612-1632 ppm, and quercetin between 81,12-405,6 ppm. Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) of curcuminoid is 100,65 ppm and 335,49 ppm respectively, while Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) of quercetin is 17,92 ppm and 59,72 ppm respectively. The average content of curcuminoid before corrected is about 2541,59 µg/g and quercetin is 306,55 µg/g. The recovery of curcuminoid is 71,02 % and quercetin 94,57 %.

The average content of curcuminoid after corrected is about 3578,70 $\mu\text{g/g}$ and quercetin is 324,16 $\mu\text{g/g}$.

Keywords : curcuminoid, diarrhoea, HPTLC densitometry, phytopharmaca, quercetin

xiii+86 page: fig, tab, appendix

Bibliografi : 31 (1976-2009)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN PENELITIAN	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. DIARE.....	5
B. SEDIAAN FITOFARMAKA.....	6
C. KUERSETIN.....	7
D. KURKUMINOID.....	8
E. KROMATOGRAFI.....	10
1. Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT).....	11
2. Sistem KLTKT	12
a. Fase Diam	13
b. Fase gerak.....	13

3. Faktor Retensi	14
F. DENSITOMETRI	15
G. VALIDASI METODE.....	16
BAB III BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA	
A. BAHAN	21
B. ALAT	21
C. CARA KERJA.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. HASIL	31
B. PEMBAHASAN	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN	45
B. SARAN	46
DAFTAR ACUAN	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alat KLT Densitometri dan komputer yang dilengkapi dengan program Wincats	52
2. Faktor Retensi	52
3. Kurva serapan larutan kurkuminoid 5,8 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm	53
4. Kurva serapan larutan kuersetin 5,6 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm	53
5. Kurva serapan larutan kurkuminoid 5,8 ppm dan kuersetin 5,6 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm.....	54
6. Kromatogram pemisahan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-etil asetat-asam format (5:4:1).....	55
7. Kromatogram pemisahan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen kloroform-aseton-asam format-asam asetat glasial (50:11:6:6).....	55
8. Kromatogram pemisahan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	56
9. Kromatogram pemisahan kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	56

10. Kromatogram pemisahan kukuminoid 580 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	57
11. Kurva serapan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm pada TLC dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) pada panjang gelombang 200-700 nm.....	58
12. Kurva serapan baku pembanding kuersetin 560 ppm pada TLC dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) pada panjang gelombang 200-700 nm.....	58
13. Kurva kalibrasi kurkuminoid pada panjang gelombang optimum 426,0 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	59
14. Kurva kalibrasi kuersetin pada panjang gelombang optimum 303,0 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	59
15. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 3x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	60
16. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 4x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	60
17. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 5x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	61

18. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 3x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	61
19. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 4x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)	62
20. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 5x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	62
21. Kromatogram sampel kurkuminoid pada λ 426 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	63
22. Kurva serapan Sampel dibandingkan baku pembanding kurkuminoid pada λ 426 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1).....	63
23. Kromatogram sampel kuersetin pada λ 303 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)	64
24. Kurva serapan sampel dibandingkan baku pembanding kuersetin pada λ 303 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)	64

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data uji keseksamaan (presisi) kurkuminoid	66
2. Data uji keseksamaan (presisi) kuersetin	67
3. Data kurva kalibrasi kurkuminoid	68
4. Data kurva kalibrasi kuersetin	68
5. Data limit deteksi dan kuantitasi kurkuminoid	69
6. Data limit deteksi dan kuantitasi kuersetin	70
7. Data luas puncak kurkuminoid dan kuersetin pada sampel dari beberapa metode ekstraksi.....	71
8. Data penetapan kadar kurkuminoid dari sampel yang belum dikoreksi	72
9. Data penetapan kadar kuersetin dari sampel yang belum dikoreksi	73
10. Data uji perolehan kembali kurkuminoid.....	74
11. Data uji perolehan kembali kuersetin.....	75
12. Data penetapan kadar kurkuminoid yang telah dikoreksi.....	76
13. Data penetapan kadar kuersetin yang telah dikoreksi.....	77

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara perhitungan luas puncak pada kurva kalibrasi.....	79
2. Cara perhitungan konsentrasi pada uji keterulangan.....	80
3. Cara perhitungan limit deteksi dan kuantitasi.....	81
4. Cara optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel.....	82
5. Perolehan kembali kurkuminoid dan kuersetin dari sampel.....	83
6. Cara perhitungan penetapan kadar yang telah dikoreksi.....	84
7. Sertifikat analisis kuersetin.....	85
8. Sertifikat analisis kurkuminoid.....	86

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Diare masih merupakan salah satu penyebab utama terjadinya angka kesakitan dan kematian pada anak di negara berkembang. Dalam berbagai hasil survei kesehatan rumah tangga, diare menempati kisaran urutan ke-2 dan ke-3 berbagai penyebab kematian bayi di Indonesia. Menurut hasil survei dari Departemen Kesehatan, diperoleh angka kesakitan diare tahun 2000 sebesar 301 per 1000 penduduk, angka ini meningkat bila pada tahun 1996 sebesar 280 per 1000 penduduk (1). Faktor penyebab terjadinya diare antara lain infeksi kuman penyebab diare, keadaan gizi, higiene dan sanitasi, sosial budaya, musim, sosial ekonomi dan lain-lain. Masyarakat yang jauh dari pelayanan kesehatan sangat tergantung pada alam sekeliling bagi kesehatan termasuk menanggulangi diare (2).

Banyak tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati diare. Penggunaan obat tradisional menurut survei kesehatan rumah tangga mengalami peningkatan dari 23,2% (1980) menjadi 29,9% (1986), sedangkan persentase penggunaan tumbuhan obat oleh masyarakat untuk mengobati diare pada anak di bawah 5 tahun sebesar 4% (2). Hal ini tampak dengan semakin meningkatnya kepercayaan konsumen untuk mengkonsumsi jamu dan obat-obat

fitofarmaka yang menuju ke pengobatan tradisional. Sehingga memicu berkembangnya produsen obat untuk menciptakan obat yang bahan bakunya berasal dari alam sehingga diharapkan khasiatnya cepat dengan efek samping yang lebih rendah dan harga yang terjangkau (3).

Dalam upaya mengembangkan obat tradisional, ketersediaan bahan baku, ketersediaan obat dalam jenis dan jumlah yang cukup, keterjaminan khasiat, mutu dan keabsahan obat yang beredar, serta perlindungan masyarakat dari penyalahgunaan obat yang dapat merugikan dan membahayakan masyarakat merupakan faktor yang menentukan keberhasilan pengembangan. Dalam kondisi ini, upaya yang paling tepat adalah mendorong pengembangan obat tradisional ke arah fitofarmaka, dengan harapan dapat mengurangi ketergantungan terhadap obat modern yang bahan bakunya masih diimpor (3). Sediaan fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik serta bahan baku dan produk jadinya telah di standardisasi (4). Salah satu contoh sediaan fitofarmaka yang mengandung daun jambu biji dan rimpang kunyit yaitu Nodiar[®].

Daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn) dan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val) sudah lama dikenal masyarakat untuk mengobati diare. Jambu biji banyak mengandung tanin, fenol, triterpen, flavonoid, minyak atsiri, saponin, karotenoid, lektin, vitamin, dan asam lemak. Yang menjadi *biomarker* pada daun jambu biji yaitu kuersetin.

Kuersetin ini menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri dan antidiare serta dapat merelaksasi otot usus halus dan menghambat kontraksi buang air besar. Kuersetin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri karena kuersetin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (5). Sedangkan *biomarker* pada rimpang kunyit yaitu kurkuminoid, dimana komponen utamanya terdiri dari kurkumin, desmetoksikurkumin, dan bidesmetoksikurkumin atau yang seringkali dikenal sebagai kurkumin I, II, dan III. Kurkumin merupakan komponen utama dari kurkuminoid memberikan aktivitas biologis yang paling besar pada *Curcuma domestica*. Salah satunya memiliki khasiat sebagai anti bakteri spektrum luas dan mempunyai efek spasmolitik yaitu menekan peristaltik usus (6). Adanya informasi ilmu dengan aktivitas farmakologi kuersetin dan kurkuminoid diatas, maka mendorong industri farmasi untuk membuat sediaan fitofarmaka dengan senyawa aktif tersebut.

Untuk menguji mutu sediaan farmasi diperlukan suatu metode analisis yang valid. Disamping itu, metode analisis diharapkan biaya operasionalnya tidak terlalu tinggi, mengingat disamping mutu salah satu faktor berhasilnya pemasaran suatu produk berkaitan dengan harga produk. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode analisis yang pelaksanaannya mudah dan murah biayanya. Salah satu metode analisis yang dapat dikembangkan adalah Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Densitometri.

Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Densitometri secara prinsip sama seperti kromatografi lapis tipis. Yang membedakan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi dengan kromatografi lapis tipis yaitu partikel-partikel penyerapan yang lebih kecil dan lebih homogen sehingga kecepatan pemisahan zat aktif lebih baik, bercak lebih kompak sehingga pendeteksian lebih mudah dan biaya operasional lebih rendah (7).

B. TUJUAN PENELITIAN

1. Memperoleh kondisi optimum untuk analisis kuersetin dan kurkuminoid dalam tablet obat diare yang mengandung ekstrak daun jambu biji dan rimpang kunyit secara kromatografi lapis tipis kinerja tinggi densitometri.
2. Melakukan validasi metode analisis kuersetin dan kurkuminoid dalam tablet obat diare yang mengandung ekstrak daun jambu biji dan rimpang kunyit secara kromatografi lapis tipis kinerja tinggi densitometri.
3. Menetapkan kadar kuersetin dan kurkuminoid dalam sampel tablet obat diare yang mengandung ekstrak daun jambu biji dan rimpang kunyit

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. DIARE

Diare adalah keadaan buang-buang air dengan banyak cairan (mencret) dan merupakan gejala dari penyakit-penyakit tertentu atau gangguan lain. Penelitian dalam tahun-tahun terakhir menunjukkan bahwa penyebab utamanya adalah bertumpuknya cairan di usus akibat terganggunya resorpsi air dan atau terjadinya hipersekresi (8).

Diare secara garis besar dibagi atas radang dan non radang. Diare radang dibagi lagi atas infeksi dan non infeksi. Penyebab infeksi bisa karena virus, bakteri, parasit dan jamur, sedangkan non infeksi karena alergi, radiasi dan makanan. Diare non radang karena hormonal, anatomis, obat-obatan dan lain-lain (1).

Diare akut pada anak secara garis besar dapat disebabkan oleh gastroenteritis, keracunan makanan karena antibiotika dan infeksi sistemik. Diare ini sering kali disertai muntah-muntah sehingga tubuh kehilangan banyak air dengan garam-garamnya, terutama natrium dan kalium. Hal ini mengakibatkan tubuh kekeringan (*dehidrasi*), kekurangan kalium (*hipokalemia*) dan adakalanya *acidosis* (darah menjadi asam) yang tidak jarang berakhir dengan shock dan kematian (1). Diare kronik adalah buang air besar cair lebih dari 3 kali sehari dan berlangsung lebih dari 2

minggu (15 hari). Masalah diare kronik lebih kompleks dibanding diare akut (9).

B. SEDIAAN FITOFARMAKA

Obat bahan alam dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu jamu yang merupakan ramuan tradisional yang belum teruji secara klinis, obat herbal yaitu obat bahan alam yang sudah melewati tahap uji praklinis, sedangkan fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik serta bahan baku dan produk jadinya telah di standardisasi (4).

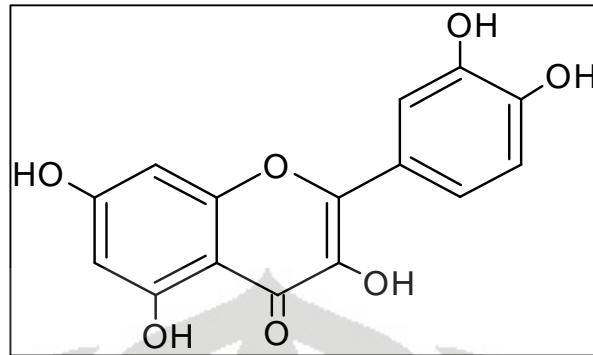
Dibandingkan obat-obat modern, obat tradisional memiliki beberapa kelebihan, antara lain : efek sampingnya relatif rendah, dalam suatu ramuan dengan komponen berbeda memiliki efek saling mendukung, pada satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologi serta lebih sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik dan degeneratif. Tetapi obat yang berasal dari bahan alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional antara lain : efek farmakologisnya lemah, bahan baku belum terstandard dan bersifat higroskopis serta volumines, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai mikroorganisme. Upaya-upaya pengembangan obat tradisional dapat ditempuh dengan berbagai cara dengan pendekatan-pendekatan tertentu, sehingga ditemukan bentuk

obat tradisional yang telah teruji khasiat dan keamanannya, bisa dipertanggungjawabkan secara ilmiah serta memenuhi indikasi medis, yaitu kelompok obat fitoterapi atau fitofarmaka. Untuk mendapatkan produk fitofarmaka harus melalui beberapa tahap (uji farmakologi, toksisitas dan uji klinik) hingga bisa menjawab dan mengatasi kelemahan tersebut (10).

Beberapa sediaan fitofarmaka yang dapat digunakan untuk obat diare mengandung ekstrak daun jambu biji, rimpang kunyit, daun sirih, daun teh, biji buah pinang. Ekstrak yang paling banyak digunakan untuk obat diare pada sediaan fitofarmaka yaitu ekstrak daun jambu biji dan rimpang kunyit (11). Oleh karena itu, untuk meningkatkan mutu dan keamanan dari sediaan fitofarmaka dilakukan standardisasi dan metode analisis yang valid terhadap bahan baku maupun produk jadi.

C. KUERSETIN

Beberapa senyawa kimia terdapat pada daun jambu biji. Senyawa yang bertanggung jawab terhadap khasiat sebagai obat diare (*biomarker*) adalah flavonoid, terutama kuersetin. Kuersetin menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri dan antidiare karena dapat merelaksasi otot usus halus dan menghambat kontraksi buang air besar. Kuersetin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri karena kuersetin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (5).



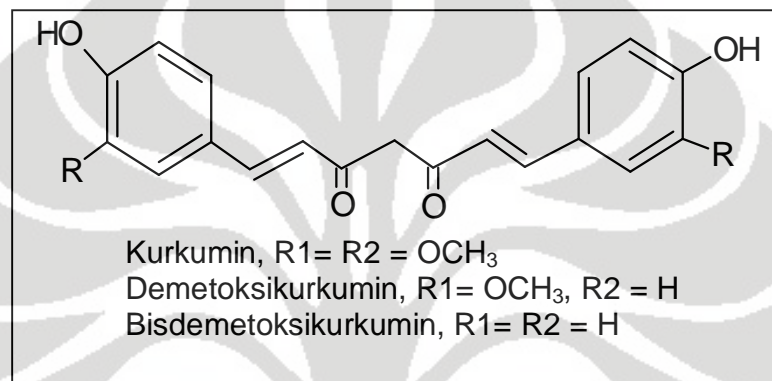
Gambar 1. Struktur kuersetin

Kuersetin termasuk pigmen flavonoid golongan flavonol. Kuersetin (2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksiflavon) mempunyai rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ dengan berat molekul 302,24. Nama lain dari kuersetin ini adalah meletin, sophoretin (12). Kuersetin dapat larut dalam air, etanol, metanol, etil asetat, kloroform, diklorometan, dietileter dan asam asetat glasial. Flavonoid sedikit polar seperti isoflavon, flavanon, flavon dimetilasi dan flavonol dapat diekstrak dengan kloroform, diklorometan, dietileter dan etil asetat sedangkan flavonoid glikosid dan flavonoid aglikon yang lebih polar dapat diekstraksi dengan alkohol atau campuran alkohol-air. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia (13). Kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan, anti kanker, anti *ulcer*, anti alergi, mencegah katarak, anti virus, anti inflamasi dan anti bakteri (14).

D. KURKUMINOID

Kurkuminoid diperoleh melalui ekstraksi pelarut misalnya, *Curcuma domestica* Valetton. Kurkumin merupakan senyawa kurkuminoid yang

memberikan warna kuning pada *Curcuma domestica* dan saat ini dikenal sebagai senyawa yang bertanggung jawab terhadap sebagian besar efek terapi *Curcuma domestica*. Selain kurkumin, komponen kurkuminoid lain adalah desmetoksikurkumin dan bidesmetoksikurkumin, yang keduanya juga merupakan derivat disinamoilmetan (15)



Gambar 2. Struktur Umum Kurkuminoid

Kurkuminoid merupakan suatu pigmen bersifat hidrofobik yang larut minyak, praktis tidak larut dalam air pada pH asam dan netral, larut dalam alkali, aseton, benzen, etil asetat, etanol, metanol, kloroform, asam asetat, heksan, dimetilsulfoksida dan asam asetat glasial. Kurkuminoid memberikan serapan maksimum sekitar panjang gelombang 420 nm (15). Perlakuan panas terhadap kurkuminoid (90 °C) tidak mengubah spektrum spektrofotometer kurkuminoid secara signifikan, dengan kata lain kurkuminoid stabil terhadap pemanasan (16). Komponen warna kurkuminoid tidak stabil terhadap cahaya, terutama dalam bentuk larutannya. Pemaparan terhadap cahaya dapat menyebabkan degradasi dengan produk seperti asam vanilat, vanilin, dan asam ferulat (17). Dalam

suasana basa, kurkuminoid akan memberikan warna merah tua. Sedangkan dalam suasana asam, kurkuminoid memberikan warna kuning terang(13).

Kurkuminoid dapat digunakan sebagai bahan tambahan yaitu sebagai pewarna pada makanan (18) dan produk kosmetika (19). Kurkumin yang merupakan komponen utama dari kurkuminoid memberikan aktivitas biologis yang paling besar pada *Curcuma domestica*. Salah satunya memiliki khasiat sebagai anti bakteri spektrum luas dan efek spasmolitik yaitu menekan peristaltik usus, sehingga telah dimanfaatkan dalam ramuan jamu, herba terstandar dan fitofarmaka anti diare. Selain itu, kurkumin juga memberikan aktivitas menurunkan kadar serum lipid, darah dan kolesterol pada liver; antioksidan yang kuat; anti karsinogen; anti inflamasi yang sangat kuat dan imunomodulator karena dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Sehingga efek terapeutik dari kurkumin sangat signifikan terhadap berbagai penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, sebagai antioksidan yang mengikat radikal bebas, penurun kadar lipid darah, meluruhkan plak pada otak penderita penyakit Alzheimer, kemampuan memerangi sel kanker dan infeksi virus maupun bakteri (6).

E. KROMATOGRAFI

Kromatografi adalah metode pemisahan berdasarkan perbedaan migrasi zat pada fase diam dan fase gerak. Perbedaan laju migrasi

disebabkan karena perbedaan adsorpsi, partisi, pertukaran ion, efek ukuran partikel dan lain-lain. Salah satu bagian dari kromatografi cair adalah kromatografi lapis tipis yang bila dibanding dengan sistem kromatografi lain mempunyai kelebihan-kelebihan, diantaranya: metode yang sederhana dan alat yang digunakan relatif lebih murah; dapat digunakan untuk analisa kualitatif, kuantitatif, dan pemisahan preparatif; dapat melakukan kromatografi beberapa sampel sekaligus; jumlah sampel dan pelarut yang digunakan jumlahnya kecil; waktu yang diperlukan untuk analisis relatif lebih cepat (20).

1. Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT)

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan terutama dilakukan dengan menggunakan salah satu dari empat teknik kromatografi atau gabungan teknik tersebut. Keempat teknik kromatografi tersebut adalah kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas cair (KGC), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pemilihan teknik kromatografi sebagian besar tergantung pada sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang akan dipisahkan (13).

Dengan perkembangan jaman yang semakin maju maka muncul jenis KLT yang terbaru yaitu Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT). Perbedaan dasar antara KLT dengan KLTKT yaitu ukuran partikel dan ukuran kepadatan dari penjerap yang digunakan.

Kemampuan ini dapat menghasilkan penjerap yang sangat *reproducible* dan mempunyai resolusi tinggi. Sehingga hanya membutuhkan waktu yang lebih pendek dengan sedikit fase gerak untuk melakukan analisis pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan (21). KLTKT ini mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan KLT antara lain (22) :

- a. Proses analisis dari standar yang lebih baik, bila dilihat dari keakuratan dan keseksamaan.
- b. Beberapa analit dapat dikerjakan secara bersama-sama
- c. Waktu melakukan analisis yang lebih pendek dan biaya dibutuhkan untuk analisis yang lebih kecil.
- d. Biaya pemeliharaan yang rendah
- e. Mudah melakukan pemisahan sampel walaupun dari sampel yang berbeda sifatnya
- f. Sebelum melakukan, pelarut harus difiltrasi dan degassing
- g. Kebutuhan fase gerak tiap sampel sedikit
- h. Tidak berpengaruh dari analisis sebelumnya, setiap melakukan analisis fase diam dan fase gerak harus dalam keadaan baru dan tidak terkontaminasi

2. Sistem KLTKT

Sistem KLTKT sama dengan KLT yaitu dengan mengatur dan mengubah sifat permukaan penjerap atau dengan mengubah-ubah

kepolaran dari fase gerak. Mengubah fase gerak lebih mudah dan paling sering dilakukan (23).

a. Fase Diam

Hanya penjerap yang sekarang digunakan untuk KLTKT yaitu lempeng KLT yang dilapisi dengan gel dengan ukuran partikel dari gel yang lebih kecil ($5-7\mu\text{m}$) dan homogen, dengan tingkat ketebalan yang kecil ($100\mu\text{m}$) dan jumlah yang dibutuhkan lebih sedikit. Karena efisiensi yang tinggi dari KLTKT yaitu menghasilkan pemisahan dengan jarak rambat 3-6 cm. Lempeng ini memiliki tingkat pemisahan yang lebih baik, waktu pemisahan lebih singkat dan membutuhkan jumlah sampel yang lebih sedikit (21).

Selain gel, ada beberapa penjerap lainnya seperti alumunium oksida dapat digunakan untuk pemisahan alkaloid dan steroid, selulosa dapat digunakan untuk pemisahan asam amino, glukosa dan alkaloid, RP2 dan RP8 dapat digunakan untuk pemisahan zat yang non polar, asam lemak, karotenoid, kolesterol, serta *Hybrid plates-RPWF254s* dapat digunakan untuk pemisahan fenotiazin (22).

b. Fase Gerak (23)

Pemilihan pelarut pada KLTKT sama prosedurnya dengan KLT. Dimana polaritas dari pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam KLT merupakan salah satu yang mempengaruhi

lewatnya suatu komponen. Fase gerak yang polar akan bersaing dengan molekul yang bersifat polar dalam permukaan penjerap dan akan melarutkan bagian yang bersifat polar pula. Semakin polar fase gerak yang digunakan, semakin cepat pula membawa molekul-molekul yang bersifat polar melewati fase diam. Jika fase gerak yang digunakan terlalu polar, lajunya akan semakin cepat dan menghasilkan sedikit atau bahkan tidak terjadi pemisahan dalam suatu campuran. Fase gerak dapat diubah-ubah dengan cara mengkombinasi pelarut agar diperoleh kepolaran yang tepat untuk pemisahan tertentu.

3. Faktor Retensi

Untuk tujuan identifikasi, bercak-bercak yang diperoleh sering dikarakterisasikan berdasarkan nilai R_f -nya. Faktor retensi atau R_f adalah jarak yang ditempuh oleh zat dalam suatu campuran dibandingkan dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak. Komponen-komponen campuran yang akan dipisahkan yang paling mudah larut dalam fase gerak akan mempunyai nilai R_f dekat atau sama dengan satu, sedangkan komponen-komponen yang kelarutannya dalam fase gerak lebih rendah akan mempunyai nilai R_f hampir nol (24,25).

Nilai R_f yang identik untuk suatu senyawa yang diketahui dan tidak diketahui dengan menggunakan beberapa sistem pelarut yang

berbeda memberikan bukti yang kuat bahwa nilai untuk kedua senyawa tersebut adalah identik, terutama jika senyawa tersebut dijalankan secara bersamaan (24,25).

Nilai R_f dapat menjadi suatu harga yang konstan dalam suatu percobaan kromatografi, namun pada percobaan KLT sulit diperoleh harga R_f yang sama pada setiap waktu. Terdapat banyak faktor mempengaruhi diantaranya tidak seragamnya lapisan tipis yang digunakan, sifat adsorben, fase gerak yang digunakan, aktivitas adsorben, kesetimbangan udara dalam bejana kromatografi, jumlah zat yang ditotolkan dan temperatur percobaan berada dalam kondisi yang konstan pula (24).

F. DENSITOMETRI

Deteksi kromatogram merupakan tahap akhir yang penting dalam kromatografi. Teknik *in situ* merupakan cara deteksi yang umum digunakan mengidentifikasi dan mengkuantitasi kromatogram. Deteksi *in situ* dapat dilakukan dengan pengukuran densitometri. Densitometri merupakan metode yang sering digunakan pada KLT. Densitometri yang digunakan untuk KLTKT sama dengan densitometri KLT baik dari prinsip dan pengukurannya (26).

Pengukuran densitometri dapat dilakukan berdasarkan sifat absorpsifitas atau fluoresensi dari zat yang akan dianalisis (analit). Jika zat dalam bercak dapat mengabsorpsi UV atau dapat berfluoresensi,

analisis dapat langsung dilakukan pada panjang gelombang yang sesuai. Zat yang tidak dapat mengabsorpsi sinar UV dapat dideteksi berdasarkan fluoresensi dari fluoresens pada lempeng. Bila analit semakin dekat dengan panjang gelombang maksimum dari fluoresens (254 nm), maka sensitifitas pengukuran semakin tinggi. Sedangkan bila analit dapat berfluoresensi, mula-mula analit akan tereksitasi oleh sinar UV gelombang panjang, kemudian sinar emisi yang dipancarkan ketika zat kembali ke keadaan *steady state* dideteksi. Batas panjang gelombang yang lazim digunakan antara 200-700 nm (27).

KLT densitometer merupakan suatu *scanner* kromatogram lapis tipis dengan suatu perangkat dan dilengkapi oleh sumber cahaya dan seperti halnya spektrofotometer. Berdasarkan optiknya, dikenal beberapa konfigurasi, yaitu: spektrodensitometer sinar tunggal dengan panjang gelombang tunggal (*single beam*), sinar tunggal dengan panjang gelombang ganda (*dual beam*), dan sinar ganda dengan panjang gelombang ganda (*double beam*) (28).

G. VALIDASI METODE ANALISIS (29)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Beberapa parameter analisis yang harus

dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya.

1. Kecermatan (*accuracy*)

Kecermatan atau akurasi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya.

Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan ditentukan dengan dua cara yaitu

- a. Metode simulasi (*spike-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*)

Pada metode simulasi, sejumlah analit bahan murni (senyawa pembanding kimia) ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (*placebo*) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan).

Dalam kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai ratio antara hasil yang sebenarnya. Persen

perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel plasebo, kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi.

b. Metode adisi

Metode adisi dapat dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa, lalu dianalisis dengan metode tersebut. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan.

Perhitungan perolehan kembali dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{(C_F - C_A)}{C_A^*} \times 100\%$$

C_F = konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran

C_A = konsentrasi sampel sebenarnya

C_A^* = konsentrasi analit yang ditambahkan

2. Keseksamaan (*precision*)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil

individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran homogen.

Keseleksamaan dapat dihitung dengan cara sebagai berikut

a. Hasil analisis adalah $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$

maka simpangan bakunya adalah

$$SD = \frac{(\sum (x - \bar{x})^2)}{n - 1}$$

b. Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah :

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

3. Selektivitas (*spesifisitas*)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas sering kali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

4. Linearitas dan Rentang

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

BAB III

BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

A. Bahan

1. Sampel (tablet merek dagang A yang mengandung kurkuminoid dan kuersetin)
2. Bahan Kimia
Baku pembanding kurkuminoid (Merck), Baku pembanding kuersetin (Sigma Aldrich), Metanol p.a (Merck), Etanol p.a (Merck), Etil asetat p.a (Merck), Toluena p.a (Merck), Aseton p.a (Merck), Asam format p.a (Merck), Kloroform p.a (Merck), Asam asetat glasial p.a (Merck)

B. Alat

Lempeng KLTKT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), Densitometer (*TLC Scanner 3* Camag), Alat penotol (Nanomate II), Mikropipiler, Komputer dilengkapi dengan program Wincats, Bejana KLT (CAMAG), *Vortex mixer* (2000-VM), Ultrasonik (Elmasonic S 60), Sentrifugasi (Kubota 5100), *Waterbath* (Imperial IV), *Oven* (Heraeus), *Neraca* analitik (O-Haus), *Spektrofotometri* UV-VIS (UV-1601, Shimadzu), Alat-alat kimia

C. Cara Kerja

1. Pembuatan Larutan Baku

a. Larutan Baku Pembanding Kurkuminoid

Larutan baku pembanding kurkuminoid dengan konsentrasi 2000 ppm dibuat dengan menimbang seksama 50 mg baku pembanding kurkuminoid lalu dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25,0 ml.

b. Larutan Baku Pembanding Kuersetin

Larutan baku pembanding kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan menimbang seksama 10 mg baku pembanding kuersetin lalu dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10,0 ml.

2. Optimasi kondisi analisis secara KLT Densitometri

a. Pemilihan panjang gelombang optimum untuk deteksi menggunakan spektrofotometri uv-vis

Larutan baku pembanding kurkuminoid 2000 ppm kemudian diencerkan hingga diperoleh larutan baku pembanding kurkuminoid 5 ppm. Sedangkan larutan baku pembanding kuersetin 5 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan baku pembanding kuersetin 1000 ppm. Lalu dibuat kurva serapan dengan mengukur serapan larutan baku pembanding pada panjang

gelombang 200-700 nm. Dari kurva serapan akan didapat panjang gelombang optimum dari kurkuminoid dan kuersetin.

b. Pemilihan fase gerak serta optimasi pemisahan kurkuminoid dan kuersetin

Larutan baku pembanding kurkuminoid 500 ppm dan larutan baku pembanding kuersetin 500 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan baku pembanding kurkuminoid 2000 ppm dan larutan baku pembanding kuersetin 1000 ppm. Larutan campuran baku pembanding kurkuminoid 500 ppm dan kuersetin 500 ppm dibuat dengan cara memipet 1,0 ml larutan baku pembanding kurkuminoid 500 ppm dan 1,0 ml larutan baku pembanding kuersetin 500 ppm.

Larutan baku pembanding kurkuminoid 500 ppm, larutan baku pembanding kuersetin 500 ppm serta larutan campuran baku pembanding kurkuminoid 500 ppm dan kuersetin 500 ppm ditotolkan pada lempeng dengan volume penotolan sebanyak 2 μ l dan jarak penotolan 10 mm, masing-masing dilakukan sebanyak 2 kali penotolan, kemudian dielusi dengan jarak elusi 8 cm. Setelah dielusi, lempeng dianalisa menggunakan Densitometer pada panjang gelombang analisa yang telah didapat.

Sebelum digunakan, lempeng diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 15 menit. Fase gerak yang digunakan adalah

1. Kloroform : aseton : asam format : asam asetat glasial = 50:11:6:6
2. Toluena : etil asetat : asam format = 5:4:1
3. Toluena : aseton : metanol : asam format = 46:8:5:1

Lempeng yang telah dianalisa menggunakan Densitometer, diidentifikasi bercaknya yang memberikan pemisahan yang terbaik. Kemudian bercak dari zat tunggal dibandingkan dengan bercak dari campuran berdasarkan nilai Rf dan luas puncak yang diperoleh pada konsentrasi dan volume penotolan yang sama.

- c. Pemilihan panjang gelombang optimum menggunakan Densitometer

Setelah diperoleh kondisi analisa yang sesuai, ditentukan panjang gelombang pengukuran berdasarkan analisa dengan Densitometer dari panjang gelombang yang diperoleh pada spektrofotometer

2. Keseksamaan (presisi)

Larutan baku pembanding kurkuminoid dalam metanol dibuat dengan konsentrasi 800 ppm; 1200 ppm dan 1600 ppm. Larutan baku pembanding kuersetin dalam metanol dibuat dengan konsentrasi 80 ppm; 200 ppm dan 400 ppm. Masing-masing konsentrasi ditotolkan pada lempeng dengan volume 2 μL sebanyak enam kali dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar totolan 10 mm kemudian lempeng dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Lakukan pengukuran dengan Densitometer dan dihitung koefisien variasi dari masing-masing konsentrasi.

3. Pembuatan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas

a. Kurva kalibrasi kurkuminoid

Dari larutan baku pembanding kurkuminoid 2000 ppm dibuat berbagai seri pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 600 ppm; 800 ppm; 1000 ppm; 1200 ppm; 1400 ppm dan 1600 ppm ditotolkan pada lempeng silika gel sebanyak 2 μL dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar penotolan 10 mm dan dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Dilakukan analisis dengan Densitometer, luas puncak yang diperoleh dicatat dan dibuat kurva perbandingan luas puncak kurkuminoid total dengan konsentrasi larutan baku pembanding kurkuminoid.

b. Kurva kalibrasi kuersetin

Dari larutan baku pembanding kuersetin 500 ppm dibuat berbagai seri pengeceran hingga diperoleh konsentrasi 80 ppm; 100 ppm; 200 ppm; 300 ppm dan 400 ppm ditotolkan pada lempeng silika gel sebanyak 2 μ L dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar penotolan 10 mm dan dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Dilakukan analisis dengan Densitometer, luas puncak yang diperoleh dicatat dan dibuat kurva perbandingan luas puncak kuersetin dengan konsentrasi larutan baku pembanding kuersetin.

4. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan dengan perhitungan statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi kurkuminoid dan kuersetin.

5. Optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel serta penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel sebelum dikoreksi

Untuk optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel, sampel tersebut ditimbang dengan berat yang berbeda. Berat sampel yang pertama ditimbang sebanyak 1,5 gram kemudian

diekstraksi 3x (5ml; 5ml; 5ml), 4x (5ml; 4ml; 3ml; 3ml) dan 5x (5ml; 4ml; 3ml; 2ml; 1ml) sehingga jumlah pelarut metanol yang digunakan sebanyak 15 ml dan berat sampel yang kedua ditimbang 1 gram kemudian diekstraksi 3x (4ml; 3ml; 3ml), 4x (4ml; 3ml; 2ml; 1ml) dan 5x (4ml; 2ml; 2ml; 1ml; 1ml) sehingga jumlah pelarut dengan metanol yang digunakan sebanyak 10 ml. Dalam sekali ekstraksi larutan tersebut, dihomogenkan dengan menggunakan vorteks selama 5 menit dan ultrasonik selama 10 menit. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000-4000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh filtrat jernih berwarna kuning. Filtrat-filtrat tersebut dikumpulkan dalam cawan penguap dan kemudian diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian dilarutkan dengan metanol secara kuantitatif menggunakan pipet volume sebanyak 2 ml untuk berat sampel 1 gram dan 3 ml untuk berat sampel 1,5 gram. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam vial dan kemudian ditotolkan pada lempeng sebanyak 2 μ L masing-masing sebanyak 3 kali dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar totolan 10 mm kemudian lempeng dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Lakukan pengukuran dengan Densitometer kemudian bercak sampel dibandingkan juga dengan bercak campuran baku pembanding sehingga diperoleh yang

memberikan luas puncak yang paling optimal dengan nilai Rf yang sama dengan campuran baku pembanding.

Setelah diperoleh metode ekstraksi yang memberikan luas puncak yang paling optimal, maka dilakukan penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin sebelum dikoreksi dengan menggunakan metode ekstraksi yang terpilih untuk menentukan uji perolehan kembali. Karena metode uji perolehan kembali yang digunakan yaitu adisi sampel yang telah diketahui kadarnya. Penetapan kadar ini dilakukan tiga kali ekstraksi dengan metode ekstraksi yang terpilih pada berat sampel yang hampir sama. Kemudian hasil ekstraksi sampel yang diperoleh ditotolkan pada lempeng sebanyak 2 μ L masing-masing sebanyak 3 kali dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar totolan 10 mm kemudian lempeng dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Lakukan pengukuran dengan Densitometer, kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel dihitung dengan menggunakan persamaan kalibrasi masing-masing.

6. Uji perolehan kembali (akurasi)

Sampel yang telah diketahui kadar kurkuminoid dan kuersetin ditimbang sebanyak 0,75 gram, kemudian ke dalam sampel ditambahkan larutan baku pembanding kurkuminoid 970 ppm sebanyak 1,0 ml dan larutan baku pembanding kuersetin 122 ppm

sebanyak 1,0 ml. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi yang terpilih dari hasil optimasi ekstraksi sampel. Filtrat yang diperoleh dari hasil ekstraksi tersebut kemudian ditotolkan pada lempeng sebanyak 2 μ L masing-masing sebanyak 3 kali dengan titik penotolan 10 mm dari tepi bawah dan jarak antar totolan 10 mm kemudian lempeng dielusi sepanjang 8 cm pada kondisi analisa terpilih. Lalu lakukan analisa dengan Densitometer dan diperoleh luas puncak. Kemudian dihitung uji perolehan kembali dari sampel tersebut.

Prosedur yang sama dilakukan pada penambahan larutan baku pembanding kurkuminoid 780 ppm dan baku pembanding kuersetin 95 ppm serta larutan baku pembanding kurkuminoid 1190 ppm dan baku pembanding kuersetin 145 ppm.

7. Penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel setelah dikoreksi

Penetapan kadar ini perlu dihitung untuk mengetahui kadar kurkuminoid dan kuersetin yang sebenarnya dalam sampel.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Optimasi kondisi analisis secara KLT Densitometri

a. Penetapan panjang gelombang dengan spektrofotometer

Panjang gelombang maksimum kurkuminoid pada 420 nm dengan memberikan serapan 0,738 dan panjang gelombang maksimum dari kuersetin pada 371 nm dengan memberikan serapan 0,330. Panjang gelombang optimum yang dipilih untuk kedua zat tersebut pada 376 nm dengan memberikan serapan 0,325. Data panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 3, 4 dan 5.

b. Pemilihan fase gerak serta optimasi pemisahan kurkuminoid dan kuersetin

Pemisahan yang baik diperlihatkan pada eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) karena pada eluen tersebut memberikan pemisahan kuersetin dan kurkuminoid yang paling baik. Pemisahan kurkuminoid pada eluen tersebut juga paling optimal karena bercak kurkuminoid yang dihasilkan terdiri dari 3 bercak yaitu bercak kurkumin, desmetoksikurkumin dan

bisdesmetoksikurkumin. Sedangkan dua eluen lainnya yaitu kloroform-aseton-asam format-asam asetat glasial (50:11:6:6) dan toluen-etil asetat-asam format (5:4:1) yang tidak memberikan pemisahan pada kurkuminoid. Pemisahan kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Gambar 6, 7 dan 8.

Bercak masing-masing zat tunggal dengan konsentrasi yang sama dibandingkan dengan bercak pada campuran dengan melihat nilai Rf dan area yang dihasilkan. Bercak zat tunggal kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10.

c. Pemilihan panjang gelombang optimum menggunakan Densitometer

Panjang gelombang maksimum kurkuminoid pada 426 nm dan panjang gelombang maksimum kuersetin pada 303 nm. Panjang gelombang dengan Densitometer dapat dilihat pada Gambar 11 dan 12.

2. Uji keseksamaan (presisi)

Uji keterulangan dari kurkuminoid dan kuersetin mempunyai nilai koefisien variasi kurang dari 2%. Data uji keterulangan kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

3. Pembuatan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas

a. Kurva kalibrasi kurkuminoid

$$\text{Persamaan regresi : } y = 10554 + 18,016x$$

$$r = 0,9939$$

Data dan gambar kurva kalibrasi kurkuminoid dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 13.

b. Kurva kalibrasi Kuersetin

$$\text{Persamaan regresi : } y = 555,54 + 7,2912x$$

$$r = 0,9986$$

Data dan gambar kurva kalibrasi kuersetin dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 14.

4. Penentuan limit deteksi dan kuantitasi

Limit deteksi dan kuantitasi kurkuminoid berturut-turut sebesar 100,65 ppm dan 335,49 ppm, sedangkan limit deteksi dan kuantitasi kuersetin berturut-turut sebesar 17,92 ppm dan 59,72 ppm. Data limit deteksi dan kuantitasi dari kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

5. Optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel serta penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel sebelum dikoreksi

Hasil optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari berat sampel dan metode ekstraksi berbeda, yang memberikan luas puncak paling optimal dan nilai Rf sama dengan campuran baku pembanding yaitu pada berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 5x dengan metanol sebanyak 15 ml. Data luas puncak kurkuminoid dan kuersetin dari beberapa metode ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 7. Optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel dapat dilihat pada Gambar 15,16,17,18,19 dan 20.

Kemudian dilakukan penetapan kadar untuk menentukan uji perolehan kembali. Karena metode uji perolehan kembali yang digunakan yaitu metode adisi sampel yang telah diketahui kadarnya. Penetapan kadar dilakukan pada berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 5x dengan metanol sebanyak 15 ml. Hasil kadar rata-rata kurkuminoid sebelum dikoreksi sebesar 2541,59 $\mu\text{g/g}$ dan kadar rata kuersetin sebelum dikoreksi sebesar 306,55 $\mu\text{g/g}$. Data penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin dari sampel yang belum dikoreksi dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9. Serta kromatogram sampel kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Gambar 21 dan 23. Kurva serapan sampel dengan baku pembanding kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Gambar 22 dan 24.

6. Uji perolehan kembali (akurasi)

Untuk uji perolehan kembali, sampel yang telah diketahui kadar kurkuminoid dan kuersetin ditimbang sebanyak 0,75 gram, kemudian ke dalam sampel ditambahkan larutan baku pembanding kurkuminoid 970 ppm sebanyak 1,0 ml dan baku pembanding kuersetin 122 ppm sebanyak 1,0 ml. Kemudian diekstraksi dengan metode ekstraksi 5x dengan metanol sebanyak 15 ml. Prosedur yang sama dilakukan pada penambahan larutan baku pembanding kurkuminoid 780 ppm dan baku pembanding kuersetin 95 ppm serta larutan baku pembanding kurkuminoid 1190 ppm dan baku pembanding kuersetin 145 ppm.

Perolehan kembali kurkuminoid pada tiga konsentrasi berkisar antara 68,30-72,60 % dan perolehan kembali rata-rata sebesar 71,02 %. Sedangkan perolehan kembali kuersetin pada tiga konsentrasi berkisar antara 90,49-97,09 % dan perolehan kembali rata-rata sebesar 94,57 %. Data perolehan kembali kurkuminoid dan kuersetin dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

7. Penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel setelah dikoreksi

Kadar rata-rata kurkuminoid setelah dikoreksi sebesar 3578,70 µg/g dan kadar rata kuersetin setelah dikoreksi sebesar 324,16 µg/g. Data penetapan kadar kurkuminoid dan kuersetin yang telah dikoreksi dapat dilihat pada Tabel 12 dan 13.

B. PEMBAHASAN

Daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn) dan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val) sudah lama dikenal masyarakat. Tumbuhan tersebut memiliki senyawa aktif yang khasiatnya sinergis yaitu dapat mengobati diare. *Biomarker* pada daun jambu biji yaitu kuersetin. Kuersetin ini menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri dan antidiare serta dapat merelaksasi otot usus halus dan menghambat kontraksi buang air besar (5). Sedangkan *biomarker* pada rimpang kunyit yaitu kurkuminoid. Kurkumin merupakan komponen utama dari kurkuminoid memberikan aktivitas biologis yang paling besar pada *Curcuma domestica*. Salah satunya memiliki khasiat sebagai anti bakteri spektrum luas dan mempunyai efek spasmolitik yaitu menekan peristaltik usus (6). Adanya informasi ilmu dengan aktivitas farmakologi kuersetin dan kurkuminoid diatas, maka mendorong industri farmasi untuk membuat sediaan fitofarmaka dengan senyawa aktif tersebut. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang valid untuk menguji mutu sediaan farmasi. Salah satu metode analisis yang dapat dikembangkan adalah Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Densitometri.

Hal pertama yang dilakukan pada analisis kurkuminoid dan kuersetin adalah pembuatan larutan induk baku pembanding kurkuminoid dan kuersetin. Larutan baku pembanding kurkuminoid maupun larutan sampel yang mengandung kurkuminoid disimpan dalam wadah coklat

atau wadah yang tertutup alumunium foil karena kurkuminoid tidak stabil terhadap cahaya.

Larutan baku tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan panjang gelombang analisis optimum. Dari pengukuran menggunakan spektrofotometer uv-vis, diperoleh panjang gelombang maksimum untuk kurkuminoid pada 420 nm dan untuk kuersetin pada 371 nm. Sedangkan panjang gelombang maksimum dari hasil analisis bercak menggunakan Densitometer untuk bercak kurkuminoid pada 426 nm dan bercak kuersetin pada 303 nm. Panjang gelombang maksimum kurkuminoid yang diperoleh dari spektrofotometer uv-vis maupun Densitometer tidak terlalu jauh berbeda. Sedangkan panjang gelombang maksimum kuersetin yang diperoleh dari spektrofotometer uv-vis maupun Densitometer jauh berbeda. Hal ini dikarenakan sensitifitas alat dari spektrofotometer uv-vis dan Densitometer berbeda. Untuk analisis kuantitatif pada Densitometer menggunakan panjang gelombang maksimum dari masing-masing zat tersebut. Karena pada panjang gelombang optimum tidak memberikan respon yang maksimum baik dari kuersetin maupun kurkuminoid. Selain itu, pada konsentrasi terendah dari kurva kalibrasi kurkuminoid total, puncak bisdesmetoksikurkumin tidak terdeteksi.

Analisis menggunakan lempeng KLTKT silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam, sebelum dilakukan analisis lempeng terlebih dahulu diaktifkan dengan pemanasan pada oven dengan suhu 105° C selama 30 menit, pemanasan dilakukan agar pada saat digunakan, lempeng berada dalam

keadaan kering, karena kandungan air atau lempeng yang lembab akan menyebabkan perubahan pada hasil analisis.

Pada tahap optimasi selanjutnya dilakukan optimasi campuran baku pembanding kurkuminoid dan baku pembanding kuersetin dengan memilih fase gerak atau eluen yang memberikan pemisahan yang paling optimal dan luas puncak yang dihasilkan merupakan luas puncak yang sebenarnya dari konsentrasi yang dianalisis. Eluen yang diuji pada penelitian ini sebanyak tiga jenis komposisi eluen. Setelah pengujian menggunakan 3 macam fase gerak tersebut, fase gerak yang memberikan pemisahan yang optimal dan nilai Rf antara 0,2-0,8 yaitu toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1), Rf yang dihasilkan untuk kuersetin yaitu 0,29 sedangkan kurkuminoid memiliki tiga bercak dan Rf yang dihasilkan juga tiga yaitu 0,47; 0,54 dan 0,62. Luas puncak kuersetin yaitu 4330,8 dan luas puncak yang dihasilkan oleh kurkuminoid juga tiga yaitu 366,1; 1183,6 dan 3707,0. Komposisi eluen ini dipilih sebagai eluen yang digunakan pada analisis kurkuminoid dan kuersetin. Setelah diperoleh eluen untuk pemisahan, kemudian dilakukan identifikasi terhadap bercak tunggal dari masing-masing baku pembanding. Bercak dari zat tunggal dibandingkan dengan bercak pada campuran dari nilai Rf dan luas puncak yang dihasilkan. Dari hasil dapat dilihat bahwa kuersetin mempunyai nilai Rf 0,34 sedangkan kurkuminoid memiliki Rf 0,50; 0,56 dan 0,63. Perbedaan Rf ini dapat disebabkan oleh kondisi kejenuhan bejana. Bila bejana kurang jenuh, maka Rf yang dihasilkan oleh bercak

pada pinggir lempeng cenderung lebih tinggi dibandingkan bercak pada bagian tengah lempeng. Pada pengerjaan KLTKT banyak faktor yang perlu diperhatikan karena dapat mempengaruhi hasil elusi. Faktor tersebut antara lain kejenuhan bejana, temperatur dan kelembaban ruang pengerjaan serta kelembaban lempeng yang dapat mempengaruhi mekanisme pemisahan oleh silika gel. Hasil elusi yang kurang bagus dapat menyebabkan variasi data yang dihasilkan.

Setelah dilakukan optimasi kondisi analisis maka selanjutnya dilakukan analisis kuantitatif. Pertama-tama dibuat uji keseksamaan (presisi) yang dilakukan pada tiga tingkat konsentrasi (konsentrasi kecil, sedang dan besar). Uji ini dilakukan untuk mengetahui luas puncak yang dihasilkan memberikan nilai keterulangan yang baik. Hal ini dilihat dari nilai koefisien variasi kurang dari 2%. Hasil uji keseksamaan (presisi) dari kurkuminoid dan kuersetin memenuhi persyaratan nilai koefisien variasi kurang dari 2%.

Kemudian dibuat kurva kalibrasi kurkuminoid. Dengan rentang konsentrasi baku pembanding kurkuminoid antara 612-1632 ppm. Diperoleh persamaan garis linier untuk kurkuminoid total yaitu $y = 10554 + 18,016 x$ dengan korelasi 0,9939. Menurut penelitian terdahulu, koefisien korelasi pada analisis kuantitatif kurkuminoid menggunakan metode KLTKT densitometri bagus yaitu sekitar 0,998-0,999 (30). Hal ini terjadi karena, eluen yang digunakan berbeda yaitu kloroform-metanol (48:2) sehingga pemisahan bercak kurkuminoid optimal. Bercak

bisdesmetoksikurkumin, desmetoksikurkumin dan kurkumin dapat dihitung linearitasnya pada masing-masing bercak. Selain itu, juga faktor luar dapat mempengaruhi hasil analisis KLTKT.

Pada pembuatan kurva kalibrasi kuersetin ditotolkan baku pembanding kuersetin dengan rentang konsentrasi 81,12-405,6 ppm. Diperoleh persamaan garis linier $y = 555,54 + 7,2912 x$ dengan korelasi 0,9986. Sedangkan pada penelitian terdahulu, dapat diperoleh linearitas kuersetin yang bagus yaitu 0,9996 (31). Hal tersebut dapat terjadi karena kurangnya ketelitian kerja peneliti dan kondisi analisis yang berbeda.

Kurva kalibrasi dibuat untuk memperoleh kadar pada sampel yang akan dianalisis dari luas puncak yang dihasilkan pada bercak sampel. Pemilihan konsentrasi pada kurva kalibrasi berdasarkan pada kadar yang mungkin terdapat pada sampel dan kadar maksimum zat yang boleh ada pada sampel.

Setelah diperoleh kurva kalibrasi, dilakukan penentuan batas deteksi dan kuantitasi kurkuminoid dan kuersetin berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh. Batas deteksi kurkuminoid dan kuersetin berturut-turut adalah 100,65 ppm dan 17,92 ppm merupakan batas konsentrasi terkecil yang masih dapat dianalisis. Sedangkan batas kuantitasi dari kurkuminoid dan kuersetin berturut-turut adalah 335,49 ppm dan 59,72 ppm merupakan konsentrasi yang dapat dianalisis secara kuantitatif.

Kemudian dilakukan optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel. Pelarut yang digunakan adalah metanol yang merupakan pelarut organik. Metanol merupakan pelarut optimum untuk mengekstraksi sampel yang mengandung kurkuminoid dan kuersetin. Awalnya ingin mengekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dalam sampel hingga kurkuminoid dan kuersetin tertarik semua dari sampel. Hal ini dilihat dari perubahan warna dari larutan jernih yang berwarna kuning berubah menjadi larutan jernih tidak berwarna. Karena kurkuminoid memberikan warna kuning yang khas. Tetapi hingga dua hari berturut-turut, ekstraksi tersebut hingga volume metanol sebanyak 80 ml masih menghasilkan larutan jernih sedikit berwarna kuning dan untuk memastikan dilakukan uji kualitatif terhadap kurkuminoid dengan salah satu pereaksi warna untuk kurkuminoid yaitu KOH dan hasilnya masih positif terhadap kurkuminoid. Hal ini dapat terlihat setelah ditambahkan dengan KOH berubah menjadi sedikit merah jingga. Sedangkan untuk memastikan adanya kuersetin, uji kualitatif yang dilakukan dengan menambahkan HCl pekat dan butir Mg, diperoleh hasil negatif. Jika masih terdapat kuersetin, setelah ditambahkan HCl pekat dan butir Mg akan berubah menjadi warna merah. Sehingga dapat disimpulkan bahwa untuk mendapatkan hasil ekstraksi kurkuminoid dari sampel yang optimal diperlukan ekstraksi yang berulang-ulang dan volume metanol yang cukup banyak. Oleh karena itu, optimasi ekstraksi dilakukan dengan membandingkan dua cara ekstraksi yaitu menimbang sampel 1,5 gram kemudian diekstraksi 3x (5ml; 5ml;

5ml), 4x (5ml; 4ml; 3ml; 3ml) dan 5x (5ml; 4ml; 3ml; 2ml; 1ml) sehingga jumlah pelarut metanol yang digunakan sebanyak 15 ml dan berat sampel yang kedua ditimbang 1 gram kemudian diekstraksi 3x (4ml; 3ml; 3ml), 4x (4ml; 3ml; 2ml; 1ml) dan 5x (4ml; 2ml; 2ml; 1ml; 1ml) sehingga jumlah pelarut dengan metanol yang digunakan sebanyak 10 ml. Sekali ekstraksi larutan tersebut, dihomogenkan dengan menggunakan vorteks selama 5 menit dan ultrasonik selama 10 menit. Hal ini dilakukan untuk menarik kurkuminoid dan kuersetin secara optimal dari sampel. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000-4000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh filtrat jernih berwarna kuning. Filtrat-filtrat tersebut dikumpulkan dalam cawan penguap dan kemudian diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental gunanya untuk meningkatkan konsentrasi karena kadar dari kuersetin dari sampel tersebut terlalu kecil sehingga konsentrasinya perlu ditingkatkan. Dan ekstrak tersebut kemudian dilarutkan dengan metanol secara kuantitatif menggunakan pipet volume sebanyak 2 ml untuk berat sampel 1 gram dan 3 ml untuk berat sampel 1,5 gram. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam vial dan kemudian ditotolkan pada lempeng dengan volume penotolan sebanyak 2 μ l dan jarak penotolan 10 mm, masing-masing dilakukan sebanyak 2 kali penotolan, kemudian lempeng dielusi sepanjang 8 cm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) yang telah dijenuhkan terlebih dahulu. Setelah dielusi, lempeng diangkat dan dikeringkan pada udara terbuka dan dianalisis pada

Densitometer. Yang memberikan luas puncak yang paling optimal dengan nilai Rf yang sama dengan campuran baku pembanding yaitu pada metode ekstraksi 5x dengan volume metanol sebanyak 15 ml. Metode ini, menghasilkan luas puncak yang paling besar dan optimal bila dibandingkan dengan metode yang lain yaitu total luas puncak kurkuminoid sebesar 33259,9 dan luas puncak kuersetin sebesar 1642. Oleh karena itu, metode ini yang digunakan untuk penetapan kadar dan uji perolehan kembali.

Penetapan kadar sebelum dikoreksi dilakukan untuk menentukan uji perolehan kembali. Karena metode uji perolehan kembali yang digunakan yaitu metode adisi sampel yang telah diketahui kadarnya. Penetapan kadar dilakukan dengan berat sample 1,5 gram diekstraksi 5x dengan volume metanol sebanyak 15 ml. Konsentrasi yang didapat dari kurva kalibrasi untuk kurkuminoid sebesar 1276,40 ppm dan kuersetin sebesar 153,95 ppm. Konsentrasi ini yang dapat menentukan konsentrasi standar yang akan ditambahkan ke dalam sampel pada uji perolehan kembali. Dan hasil dari penetapan kadar sebelum dikoreksi, konsentrasi rata-rata dari kurkuminoid sebesar 2541,59 $\mu\text{g/g}$ dan konsentrasi rata-rata dari kuersetin sebesar 306,55 $\mu\text{g/g}$.

Uji perolehan kembali yang digunakan yaitu metode adisi sampel yang telah diketahui kadarnya karena tidak memungkinkan untuk membuat plasebo dari suatu sampel ekstrak tanaman. Perolehan kembali kurkuminoid dengan menggunakan metode ekstraksi sampel yang telah

dioptimasi berkisar antara 68,30-72,60 % dan perolehan kembali rata-rata sebesar 71,02 %. Hal tersebut dapat terjadi karena metode ekstraksi sampel yang digunakan terhadap kurkuminoid kurang baik karena kurkuminoid terperangkap didalam matriks ekstrak kurkuminoid sehingga tidak dapat menarik kurkuminoid secara optimal. Selain itu juga, dapat terjadi karena kurang ketelitian kerja peneliti. Sedangkan perolehan kembali kuersetin berkisar antara 90,49-97,09 % dan perolehan kembali rata-rata sebesar 94,57 %.

Dengan mempertimbangkan hasil perolehan kembali kurkuminoid dan kuersetin maka penetapan kadar dari sampel dilakukan perhitungan koreksi. Hasil penetapan kadar sampel setelah dikoreksi diperoleh konsentrasi kurkuminoid rata-rata sebesar 3578,70 $\mu\text{g/g}$ dan konsentrasi rata-rata kuersetin sebesar 324,16 $\mu\text{g/g}$. Maka kadar kurkuminoid dan kuersetin dalam sediaan fitofarmaka yang dianalisis, diharapkan masih bisa memberikan efek antidiare.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Kondisi optimum untuk analisis kurkuminoid dan kuersetin menggunakan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (KLTKT) densitometri menggunakan fase diam lempeng KLTKT silika gel F₂₅₄ dan fase gerak toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) dengan panjang gelombang 426 nm untuk kurkuminoid dan 303 nm untuk kuersetin.
2. Hasil validasi metode analisis kurkuminoid dan kuersetin dari sampel menunjukkan bahwa untuk kurkuminoid diperoleh linearitas yang baik antara konsentrasi 612-1632 ppm; dengan koefisien korelasi 0,9939; batas deteksi 100,65 ppm; batas kuantitasi 335,49 ppm; sedangkan untuk kuersetin diperoleh linearitas yang baik juga antara konsentrasi 81,12-405,6 ppm; dengan koefisien korelasi 0,9986; batas deteksi 17,92 ppm; batas kuantitasi 59,72 ppm. Rata-rata perolehan kembali kurkuminoid dari sampel yaitu 71,02% dan rata-rata perolehan kembali kuersetin dari sampel yaitu 94,57%.
3. Kadar rata-rata kurkuminoid sebesar 3578,70 µg/g dan kadar rata-rata kuersetin sebesar 324,16 µg/g.

B. SARAN

Untuk penelitian selanjutnya, dapat dilakukan pada metode ekstraksi dan kondisi analisis yang lain sehingga dapat menarik kurkuminoid dan kuersetin dari sampel secara maksimal serta pemisahan kurkuminoid dan kuersetin lebih optimal.



DAFTAR ACUAN

1. Putra, DS. *Upaya Mengurangi Kejadian Komplikasi Diare Akut Pada Anak*. <http://www.dr-rocky.com/layout-artikel-kesehatan> ,diunduh tanggal 28 Agustus 2008, pukul 14:30.
2. M. Wien Winarno dan Dian Sundar. *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Diare di Indonesia*. <http://www.kalbe.co.id/index.php> ,diunduh tanggal 28 Agustus 2008, pukul 13:00.
3. Yuliani, Sri. *Prospek Pengembangan Obat Tradisional Menjadi Obat Fitofarmaka*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Jurnal Litbang Pertanian. **20**(3): 103-104. 2001.
4. Anonim. *Jamu dan Keamanannya*. <http://www.pom.go.id/> ,diunduh tanggal 9 September 2008, pukul 15:00.
5. Yuliani, Sri. *Kadar Tanin dan Quersetin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (Psidium guajava)*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Jurnal Litbang Pertanian. 2003.
6. Bermawie, N, M Rahardjo, D Wahyuno dan Ma'mun. *Status Teknologi Budidaya dan Pasca Panen Tanaman Kunyit dan Temulawak Sebagai Penghasil kurkumin*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Jurnal Litbang Pertanian. 2003.
7. Skoog dan Leary. *Principles of Instrumental Analysis 4th Edition*. USA: Saunders College Publishing. 1992.
8. Hoan Tjay T dan R Kirana. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Jakarta: Penerbit PT Elex Media Komputindo, Kelompok Gramedia. 2002.

9. Suharyono. *Diare Kronik Pada Bayi Dan Anak*.
<http://www.portalkalbe/files/cdk/files/04> ,diunduh tanggal 30
Agustus 2008, pukul 14:00.
10. Katno, SP. *Tingkat Manfaat Dan Keamanan Tanaman Obat Dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu Fakultas Farmasi, UGM.
<http://www.solusiherbal.blogspot.com/2008/01/> ,diunduh tanggal 9
September 2008, pukul 14:30.
11. Anonim. *MIMS 102nd Edition*. CMP Medica United Business Media. 2005.
12. Aini, Neneng. *Kajian Senyawa Kuersetin Dalam Umbi Bawang Merah (Allium cepa L) Sebagai Acuan Zat Penanda*. Jakarta : Balai Penelitian Tanaman Obat Fakultas Farmasi, UP. 2006.
13. Harbone, JB. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Terbitan Kedua*. Terj. dari: *Phytochemical Methods*. Bandung: Penerbitan ITB. 1996.
14. Anonim. 1998. *Alternative Medicine Review, Quercetin Monograph*.
http://www.chiro.org/nutrition/ABSTRACTS/Quercetin_Monograph.shtml, diunduh tanggal 26 Desember 2008, pukul 14:00.
15. JECFA. 2003. *Curcumin dalam FNP 52 Add 11*.
<http://www.fao.org/ag/agn/jecfaadditives/specs/Monograph1/Additive-140.pdf> , diunduh tanggal 29 Oktober 2008, pukul 23:16.
16. Kurien BT, A Singh, H Matsumoto, and RH Scofield. *Improving the Solubility and Pharmacological Efficacy of Curcumin by Heat Treatment*. *Assay Drug Dev Tech* 2007; **5**(4): 567-576.
17. Stankovic I. 2004. *Curcumin Chemical and Technical Assessment (CTA)*.
Diunduh dari
ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/cta/CTA_61_Curcumin.pdf, 5 Agustus
2008, pukul 18:31:28.

18. Kim, Darrick S. *Method to Prepare Pure Curcumin*. World Intellectual Property Organization No.: WO 2007/143635 A1.
19. Krackov, Mark H dan HE Bellis. *Process for The Synthesis of Curcumin-Related Compounds*. United States Patent No.: 5.679.864 10/1997.
20. Fried, Bernard dan J Sherma. *Thin Layer Chromatography, Fourth Edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1999.
21. Touchstone, JC; Dobbins, MF. *Practice of Thin Layer Chromatography 2nd Edition*. Canada: John Wiley & Sons, Inc. 1983.
22. Anonim, *Basic Principles of HPTLC*. <http://www.pharmainfo.net> ,diunduh tanggal 9 September 2008, pukul 13:00.
23. Touchstone JC; Dexter Rogers. *Thin Layer Chromatography: Quantitative Environmental & Clinical Applications*. New York :John Wiley & Sons, Inc. 1976.
24. Gitter, RJ. *Pengantar Kromatografi edisi kedua*. (Kosasih Panduminata. Terj). Bandung: ITB, 1991: 107-111, 125.
25. Dean, JA. *Analytical Chemistry Handbook*. Newyork: McGrow-Hill Inc, 1995: 498-499.
26. Kovar dan Morlock. Detection, Identification, and Documentation. Dalam: Sherma J dan Fried B. *Handbook of Thin Layer Chromatography 2nd Edition*, Revised and Expanded, Vol **71**, Chapter 29. New York: Marcel Dekker, Inc. 1996.
27. Poole CF dan Khatib S. Quantitative Thin Layer Chromatography. Dalam: Katz E. *Quantitative Analysis Using Chromatography Techniques*, Chapter 6. Norwalk: John Willey & Sons, Ltd. 1987.

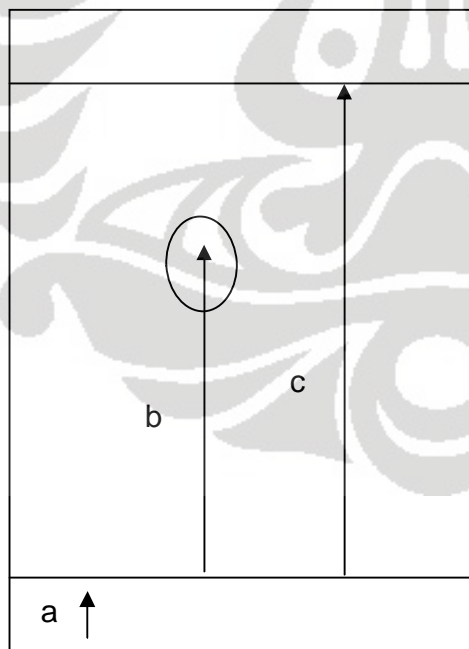
28. Anonim, *The Camag TLC Scanner 3* .<http://www.lenchrom.spb> ,diunduh tanggal 4 Oktober 2008, pukul 14:00.
29. Harmita. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok. 2004.
30. Paramasivam, M, Md Wasim Aktar, R Poi, H Banerjee dan A Bandyopadhyay. *Occurrence of curcuminoids in Curcuma longa: A quality standardization by HPTLC*. Journal of the Bangladesh Pharmacological Society. **3**: 55-58. 2008.
31. El Sohafy, S.M., A.M. Metwalli, F.M. Harraz dan A.A. Omar. *Quantification of flavonoids of Psidium guajava L. preparations by Planar Chromatography (HPTLC)*. Pharmacognosy Magazine. **4**(17): 61-66. 2009.



GAMBAR



Gambar 1. Alat KLT Densitometri dan komputer yang dilengkapi dengan program Wincats



Keterangan:

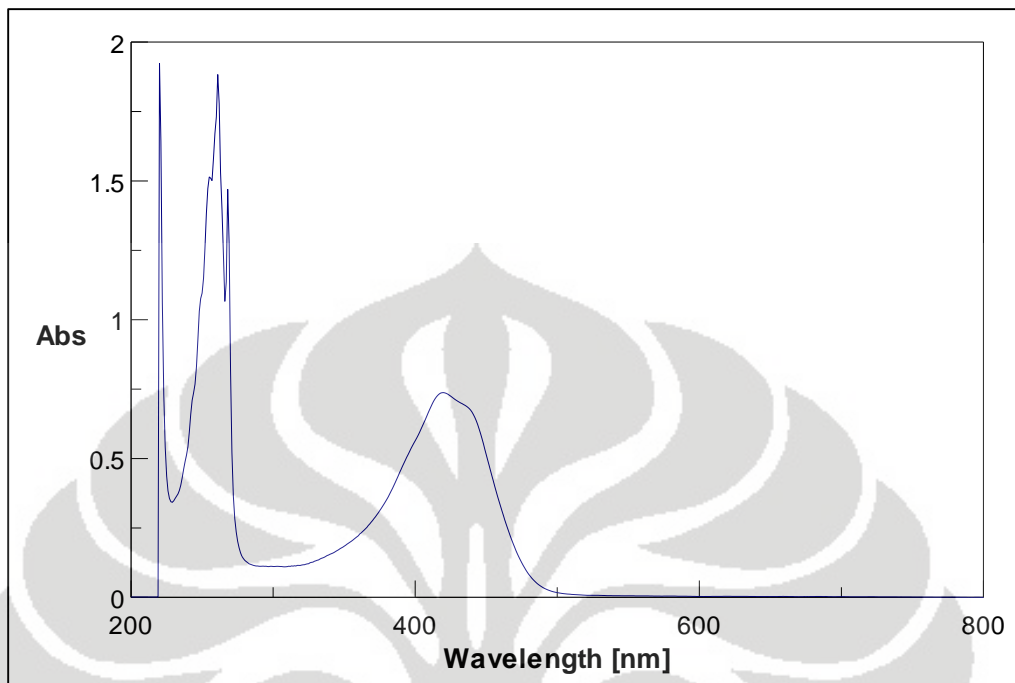
a = jarak titik penotolan dengan dasar

b = jarak bercak

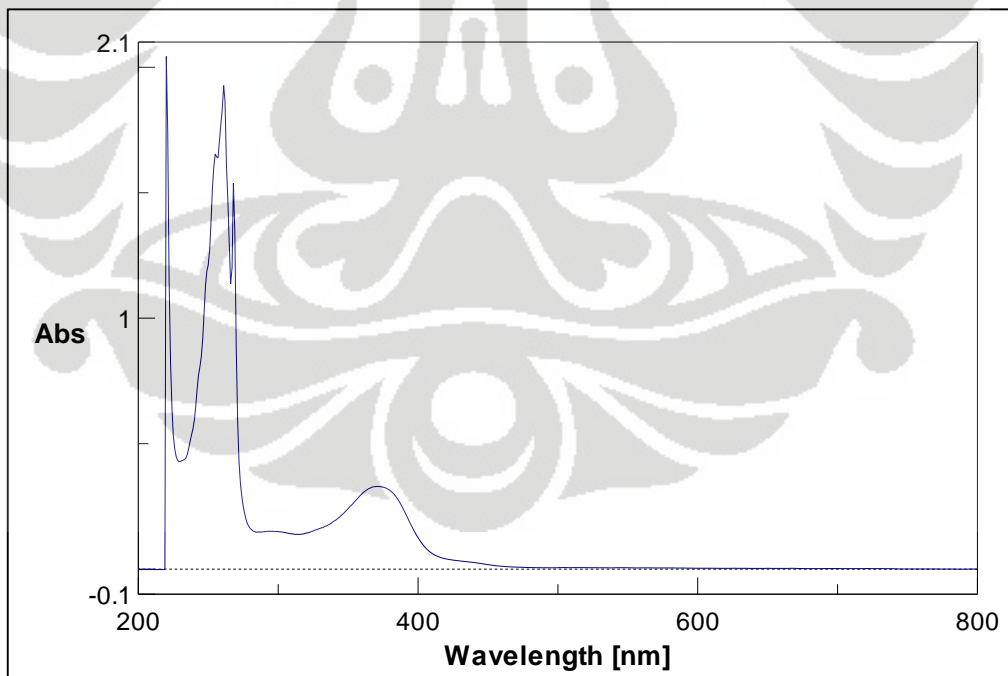
c = jarak elusi

$$R_f = \frac{b}{c}$$

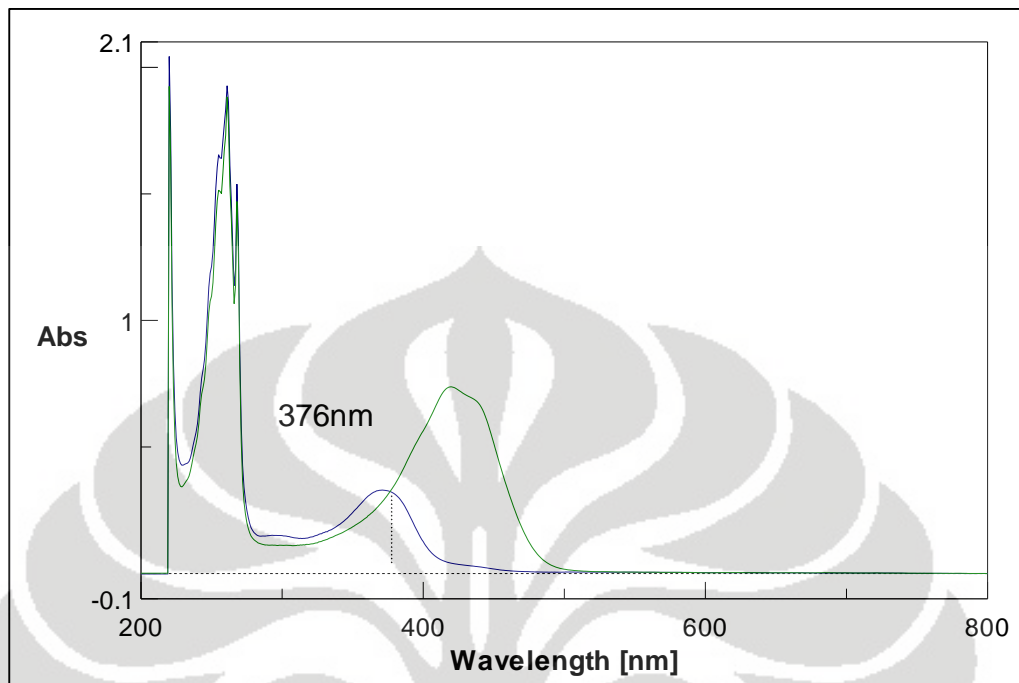
Gambar 2. Faktor retensi (R_f)



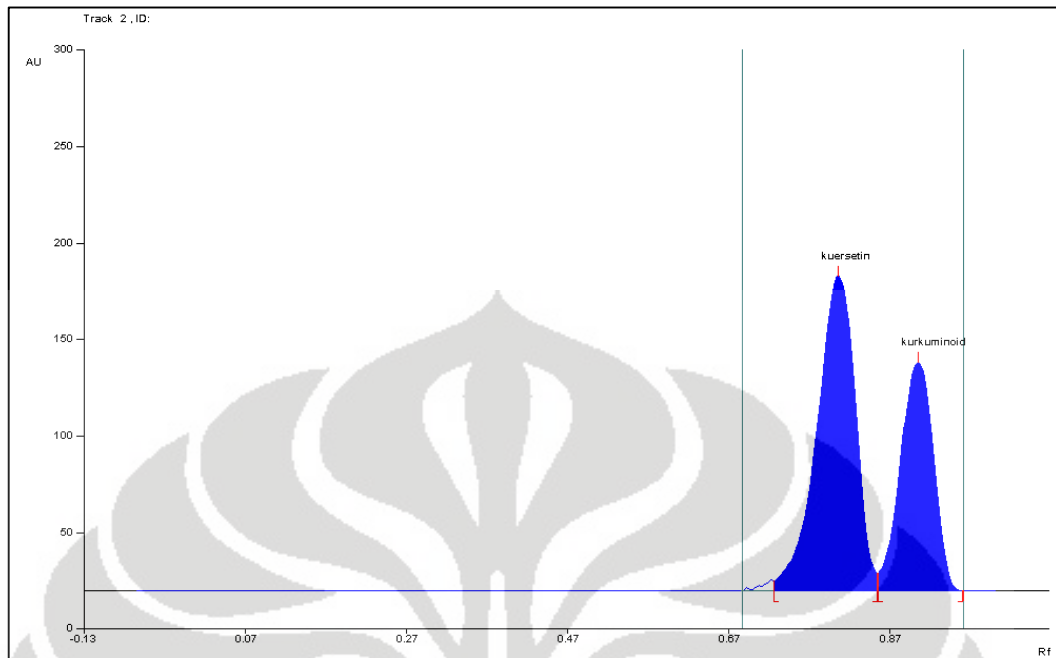
Gambar 3. Kurva serapan larutan baku perbandingan kurkuminoid 5,8 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm.



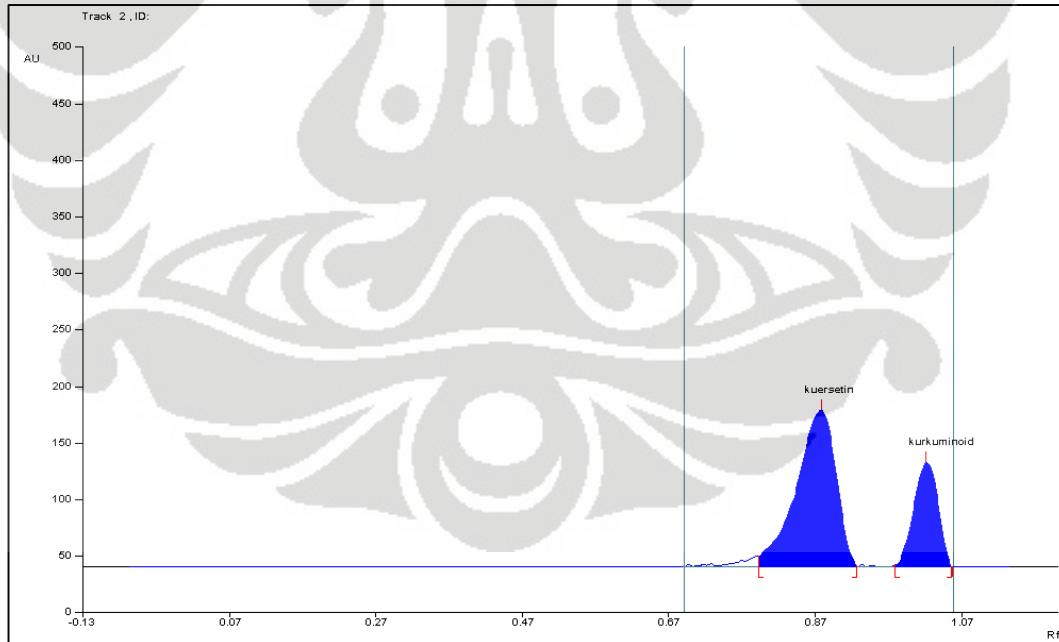
Gambar 4. Kurva serapan larutan baku perbandingan kuersetin 5,6 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm.



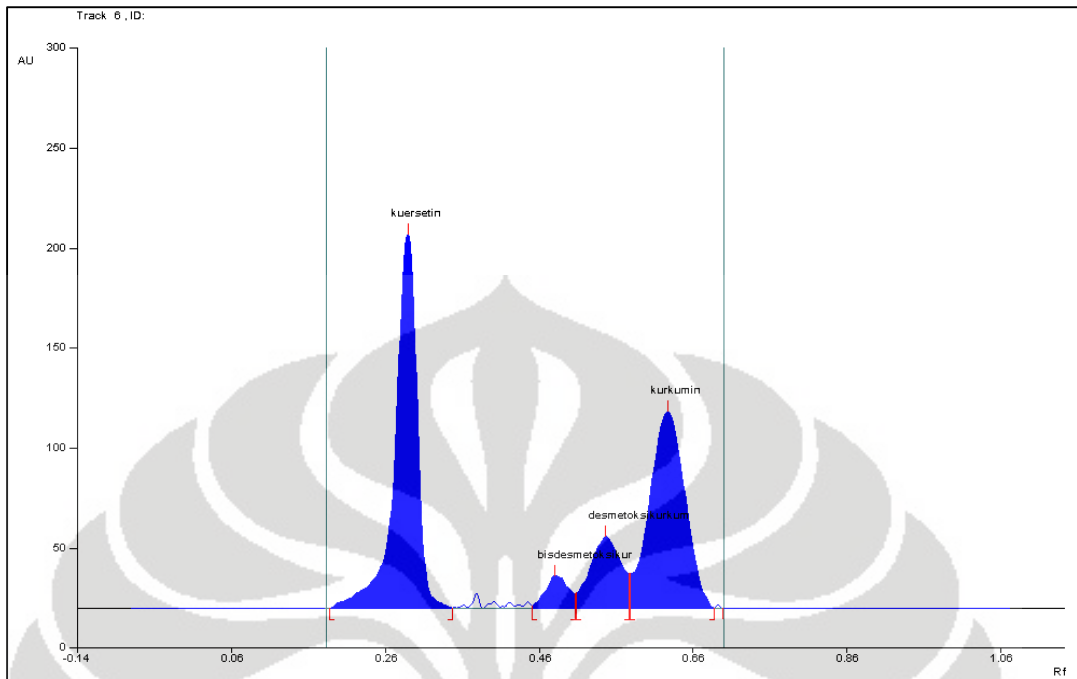
Gambar 5. Kurva serapan larutan baku perbandingan kurkuminoid 5,8 ppm dan kuersetin 5,6 ppm dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200-700 nm.



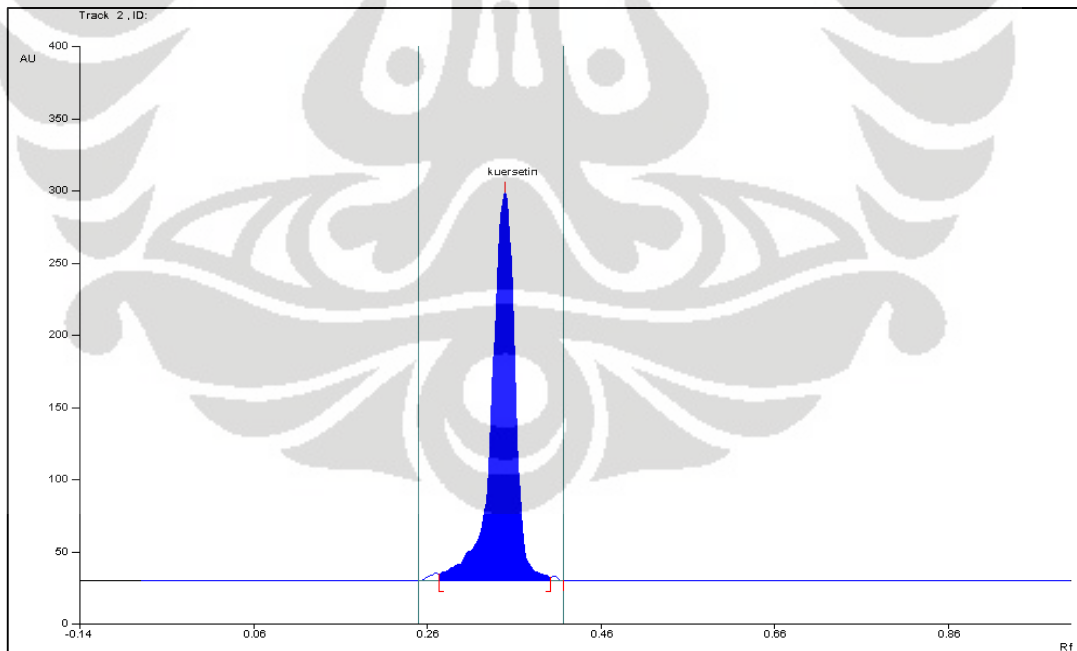
Gambar 6. Kromatogram pemisahan baku perbandingan kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-etil asetat-asam format (5:4:1)



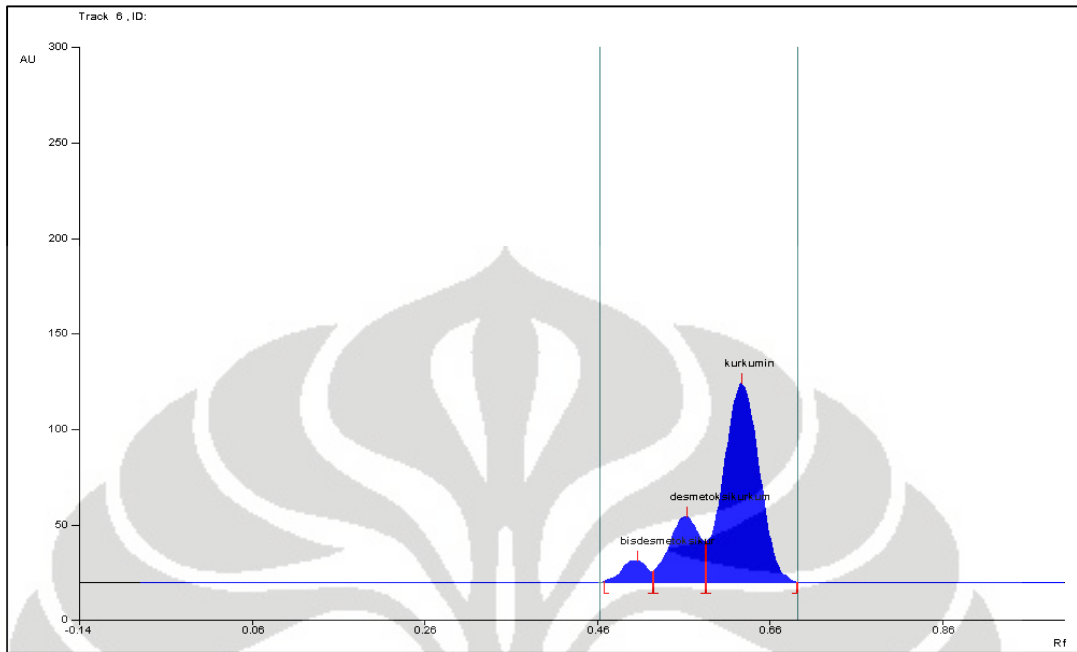
Gambar 7. Kromatogram pemisahan baku perbandingan kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen kloroform-aseton-asam format-asam asetat glasial (50:11:6:6)



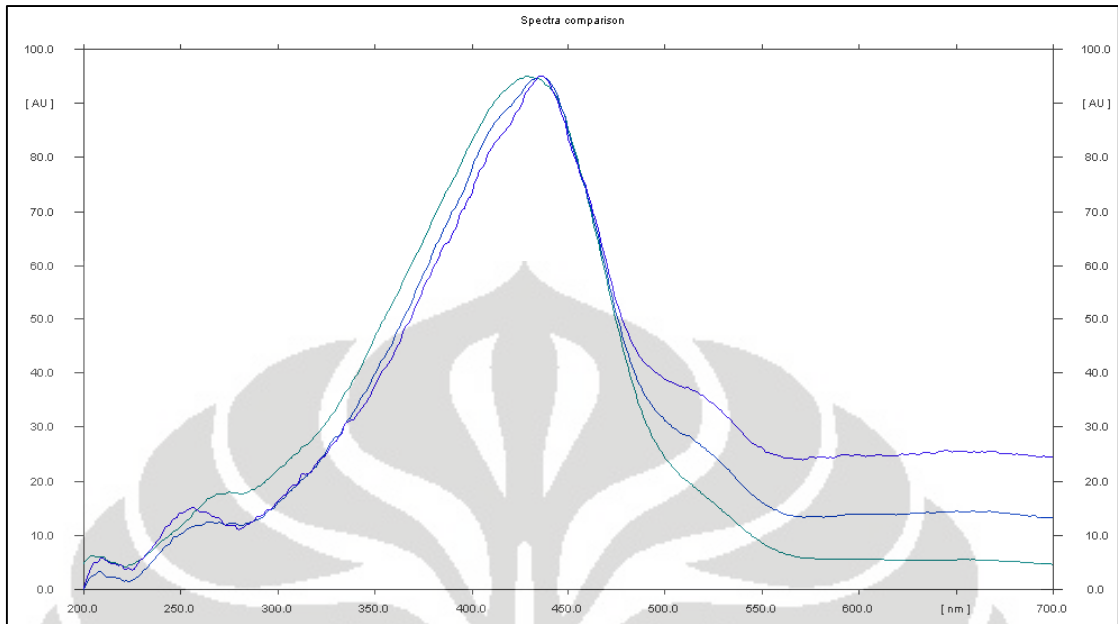
Gambar 8. Kromatogram pemisahan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm dan kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



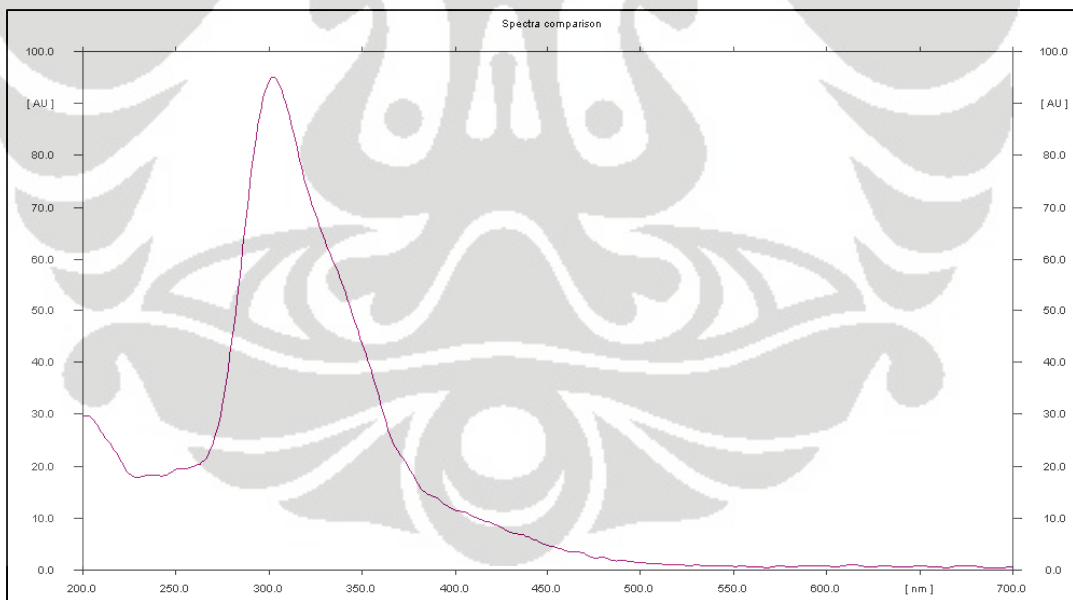
Gambar 9. Kromatogram pemisahan baku pembanding kuersetin 560 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



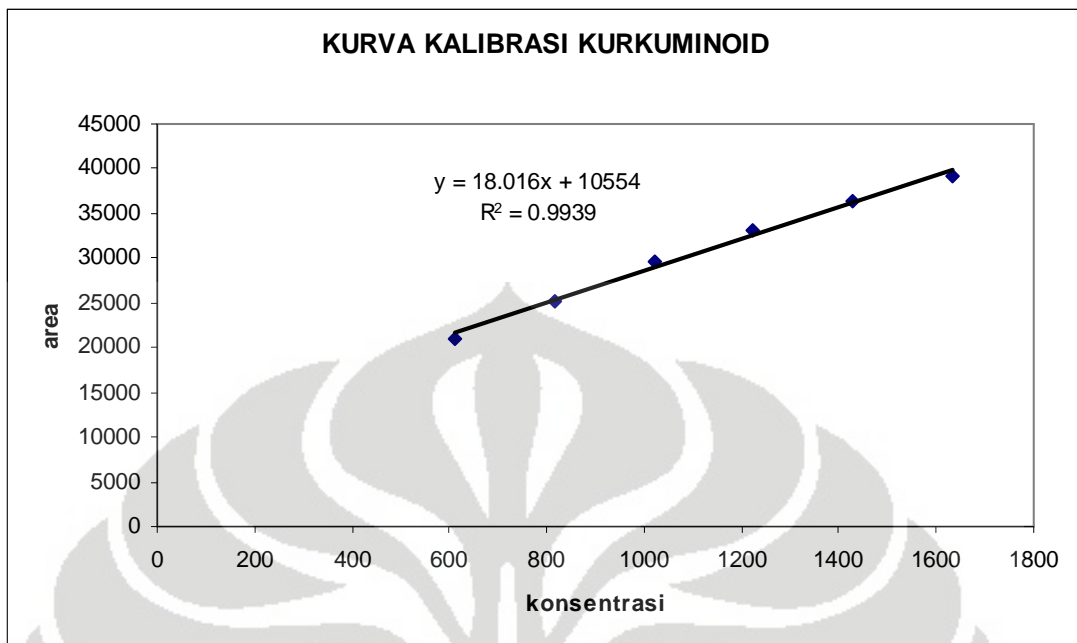
Gambar 10. Kromatogram pemisahan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



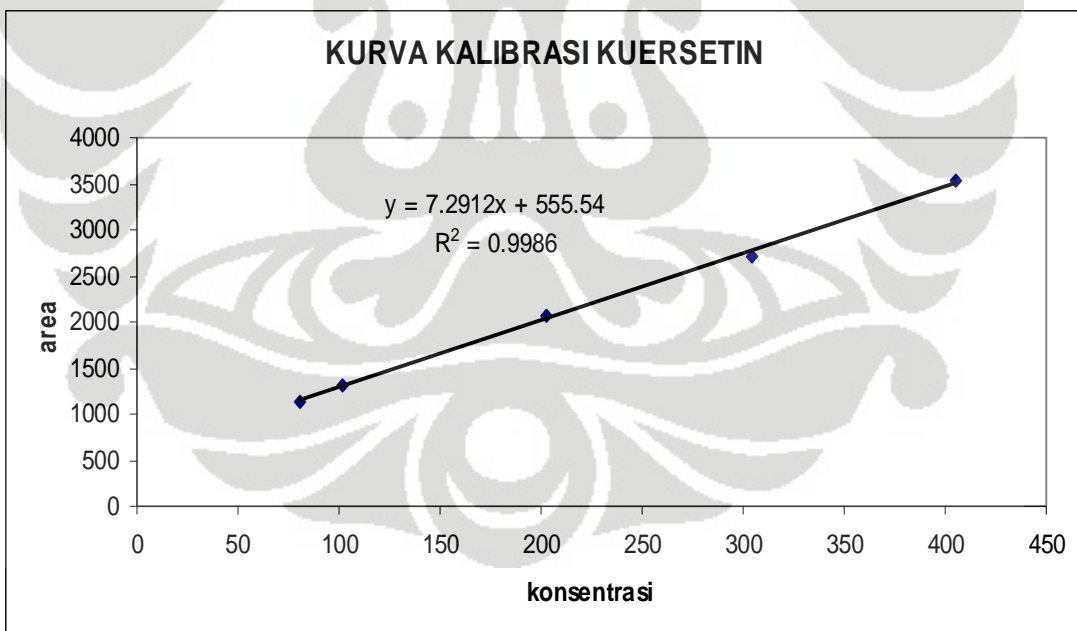
Gambar 11. Kurva serapan baku pembanding kurkuminoid 580 ppm pada Densitometer dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) pada panjang gelombang 200-700 nm



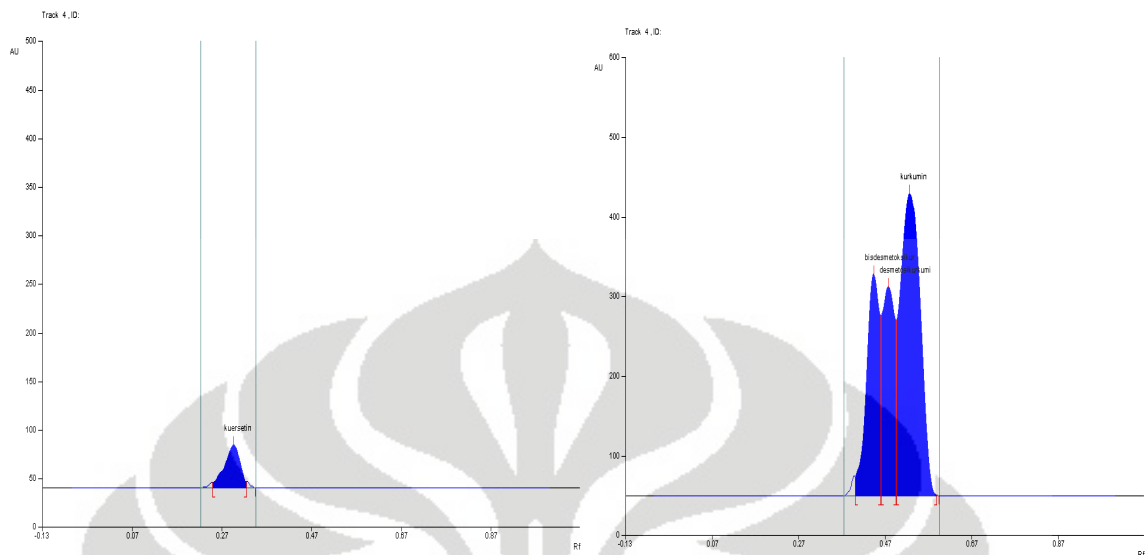
Gambar 12. Kurva serapan baku pembanding kuersetin 560 ppm pada Densitometer dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1) pada panjang gelombang 200-700 nm



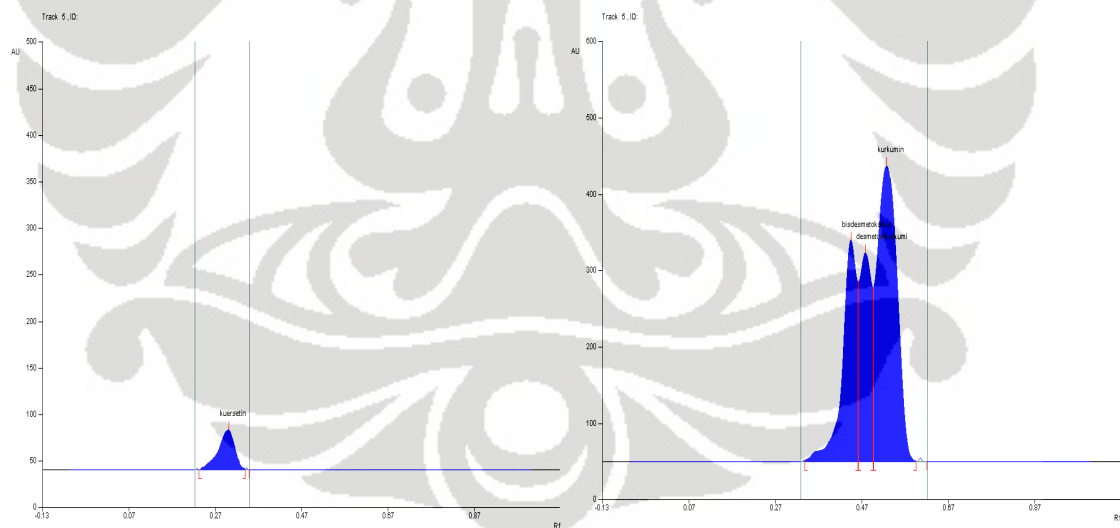
Gambar 13. Kurva kalibrasi kurkuminoid pada panjang gelombang 426,0 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



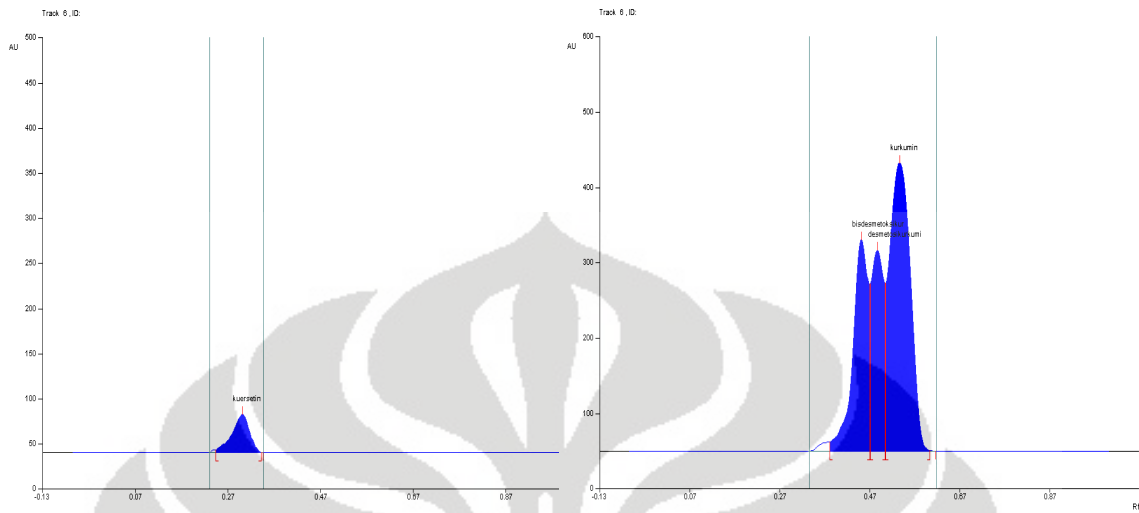
Gambar 14. Kurva kalibrasi kuersetin pada panjang gelombang 303,0 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



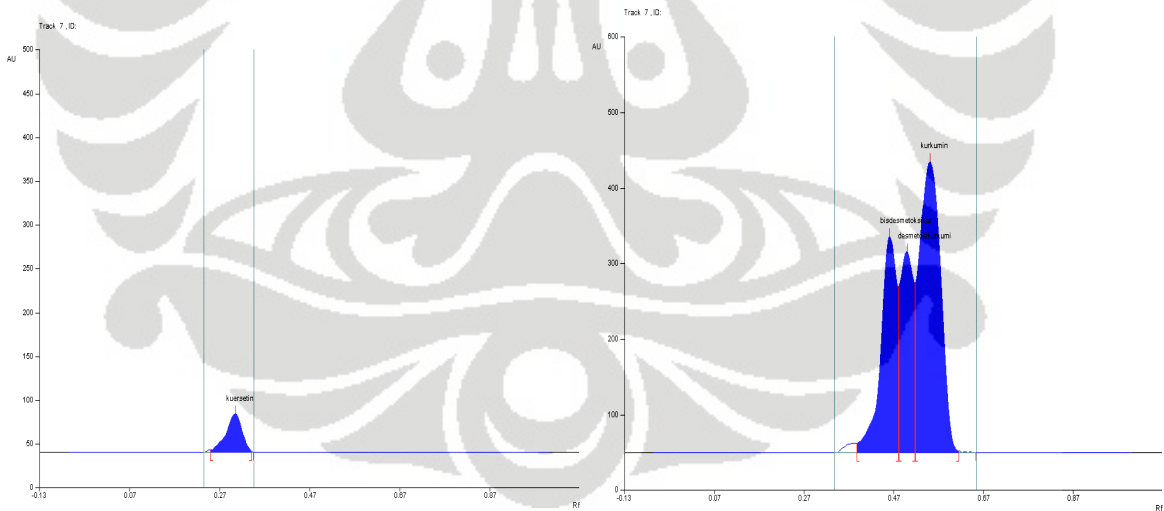
Gambar 15. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 3x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



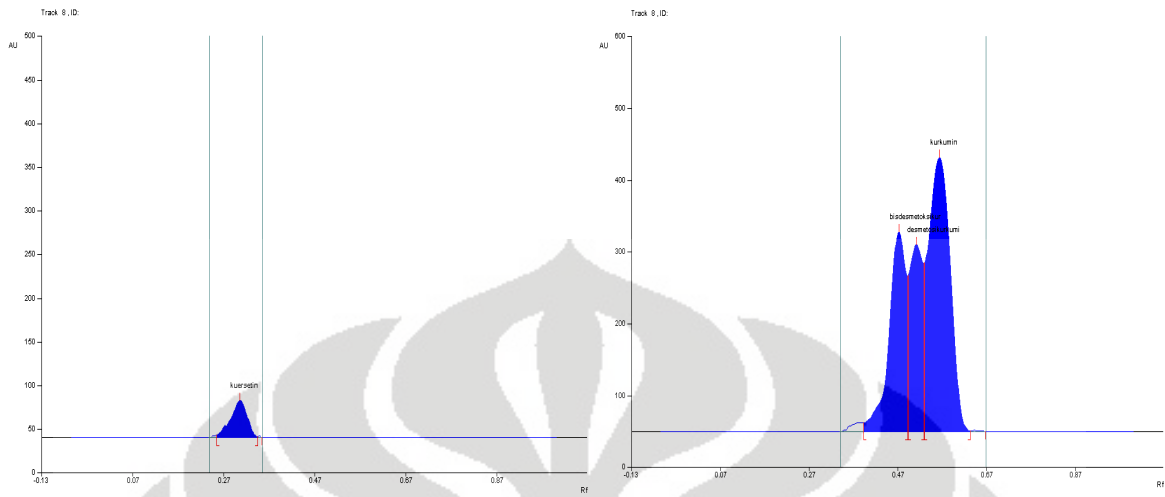
Gambar 16. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 4x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



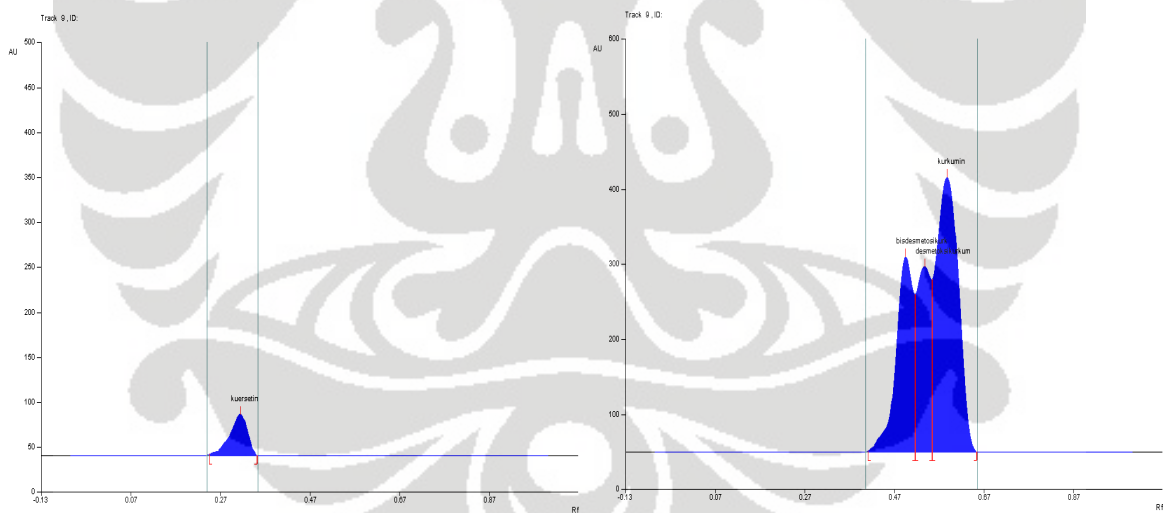
Gambar 17. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1 gram yang diekstraksi 5x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



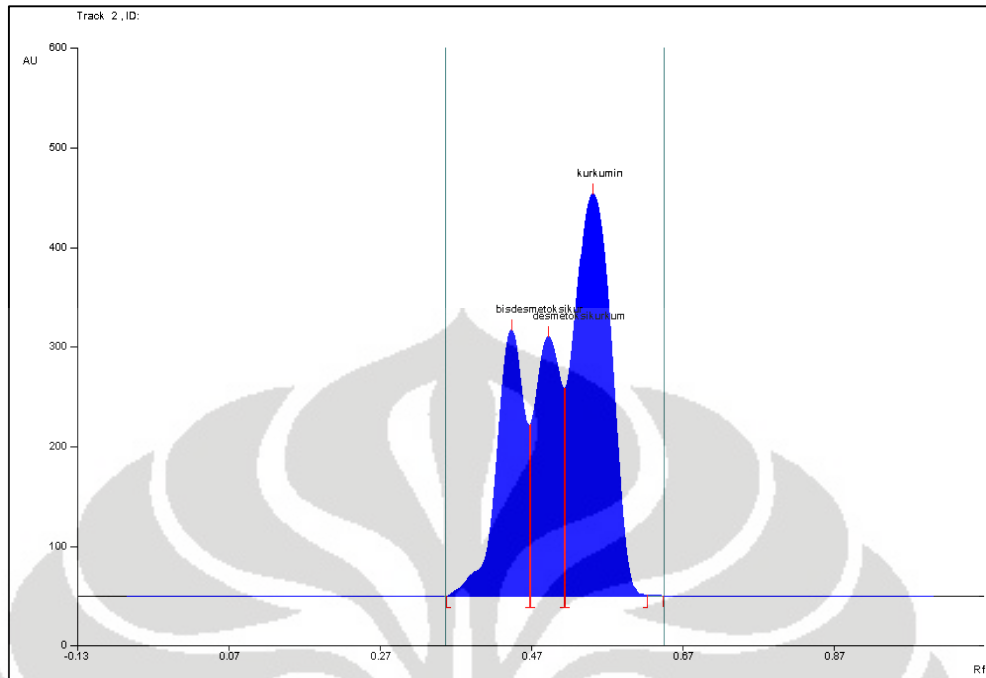
Gambar 18. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 3x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



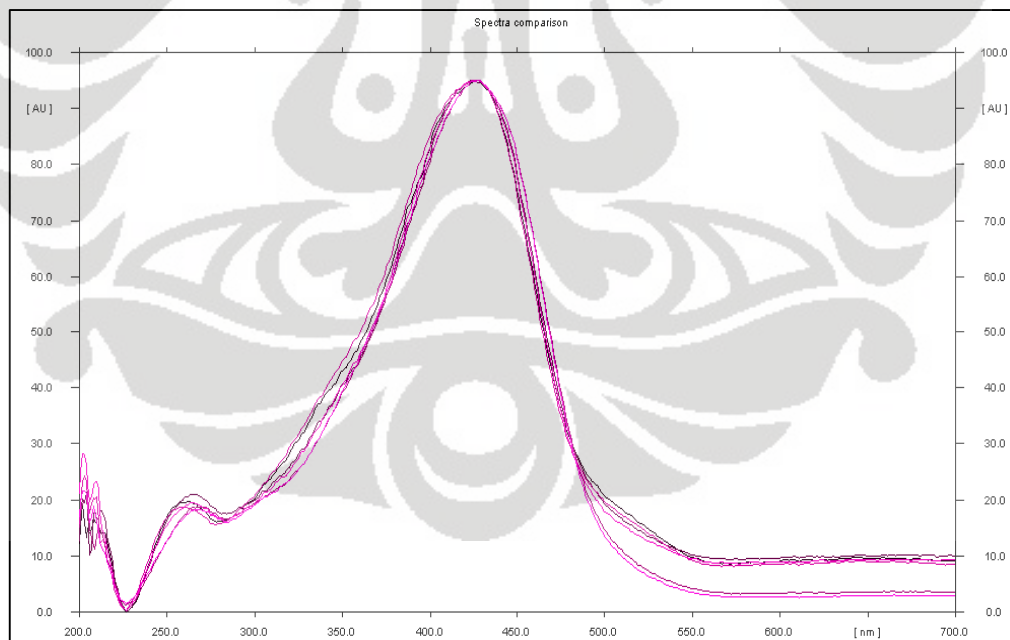
Gambar 19. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 4x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



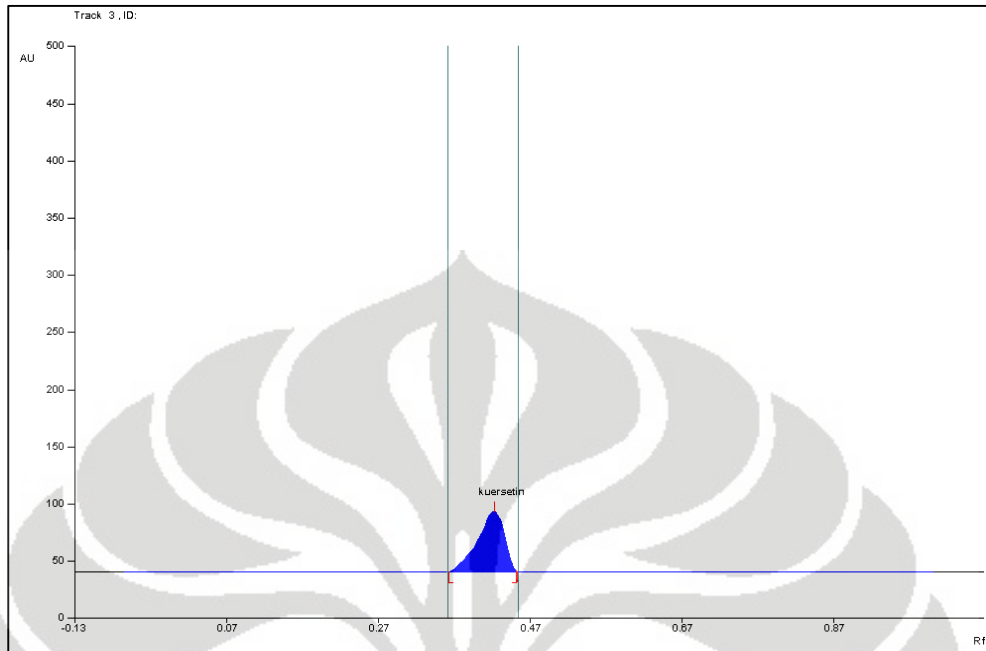
Gambar 20. Kromatogram ekstraksi berat sampel 1,5 gram yang diekstraksi 5x menggunakan metanol sebanyak 10 ml dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



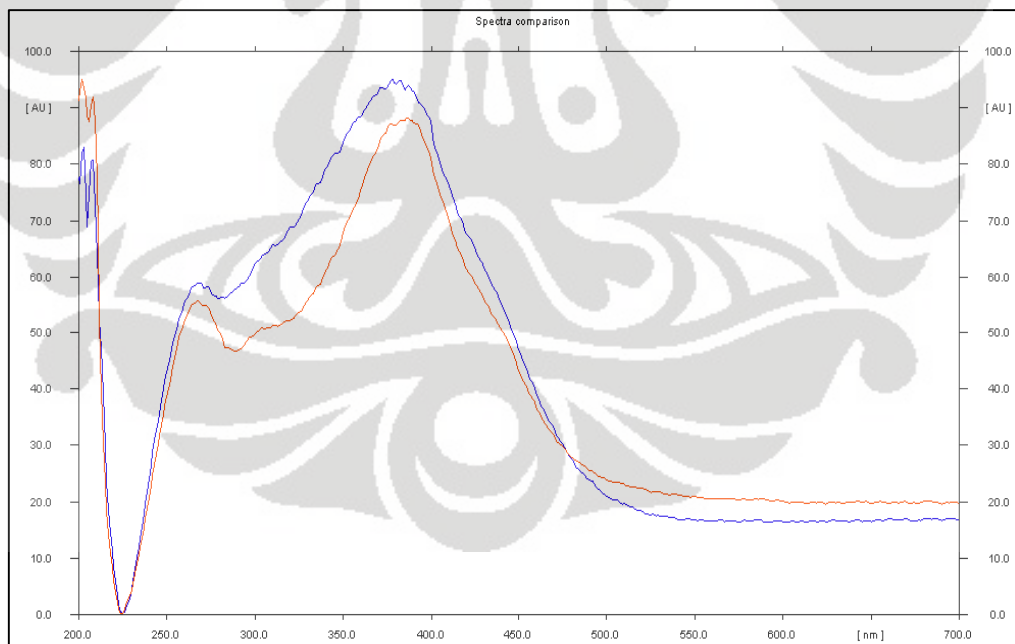
Gambar 21. Kromatogram sampel kurkuminoid pada λ 426 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



Gambar 22. Kurva serapan sampel (—) dibandingkan baku pembanding kurkuminoid (---) pada λ 426 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



Gambar 23. Kromatogram sampel kuersetin pada λ 303 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)



Gambar 24. Kurva serapan sampel (—) dibandingkan baku pembanding kuersetin (—) pada λ 303 nm dengan eluen toluen-aseton-metanol-asam format (46:8:5:1)

TABEL

Tabel 1

Data Uji Keseksamaan (presisi) Kurkuminoid

Konsentrasi Kurkuminoid (ppm)	Luas puncak (y)	Konsentrasi berdasarkan pers. Regresi (xi)	KV %
816	25167,5	811,14	1,12
	25441,0	826,32	
	25344,5	820,96	
	25602,1	835,26	
	25484,2	828,72	
	25212,3	813,63	
1224	33472,9	1272,14	1,57
	33148,4	1254,13	
	33745,4	1287,27	
	33975,8	1300,06	
	34027,9	1302,95	
	34062,5	1304,87	
1632	39273,3	1594,10	0,95
	38700,1	1562,28	
	38492,7	1550,77	
	38849,4	1570,57	
	38910,5	1573,96	
	38673,4	1560,80	

Tabel 2

Data Uji Keseksamaan (presisi) Kuersetin

Konsentrasi Kuersetin (ppm)	Luas puncak (y)	Konsentrasi berdasarkan pers. Regresi (xi)	KV %
	1138,9	80,01	
	1117,9	77,13	
81,12	1125,0	78,10	1,56
	1120,2	77,44	
	1133,0	79,20	
	1116,9	76,90	
	2111,8	213,44	
	2064,4	206,94	
202,8	2069,2	207,60	1,76
	2131,1	216,09	
	2113,7	213,70	
	2083,4	209,55	
	3486,8	402,03	
	3538,7	409,15	
405,6	3542,7	409,69	1,25
	3504,4	404,44	
	3550,4	410,75	
	3593,2	416,62	

Tabel 3

Data Kurva Kalibrasi Kurkuminoid

Konsentrasi Kurkuminoid (ppm)	Luas Puncak
612	21035,7
816	25167,5
1020	29537,8
1224	33148,4
1428	36447,2
1632	39273,3

Persamaan regresi : $y = 10554 + 18,016x$

$r = 0,9939$

Tabel 4

Data Kurva Kalibrasi Kuersetin

Konsentrasi Kuersetin (ppm)	Luas Puncak
81,12	1125
101,4	1316,9
202,8	2064,4
304,2	2717,5
405,6	3538,7

Persamaan regresi : $y = 555,54 + 7,2912x$

$r = 0,9986$

Tabel 5

Data Limit Deteksi dan Kuantitasi Kurkuminoid

x	y	yi	(y-yi)	(y-yi) ²	LOD	LOQ
612	21035,7	21579,79	-544,09	296036,10	100,65	335,49
816	25167,5	25255,06	-87,56	7666,05		
1020	29537,8	28930,32	607,48	369031,95		
1224	33148,4	32605,58	542,82	294649,21		
1428	36447,2	36280,85	166,35	27672,99		
1632	39273,3	39956,11	-682,81	466232,23		

Keterangan :

x = konsentrasi standar Kurkuminoid (ppm)

y = Luas puncak / area

yi = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi.

$S(y/x) = 604,4188$

Tabel 6

Data Limit Deteksi dan Kuantitasi Kuersetin

X	Y	Yi	(y-yi)	(y-yi) ²	LOD	LOQ
81,12	1125	1147,00	-22,00	484,09	17,92	59,72
101,4	1316,9	1294,87	22,03	485,42		
202,8	2064,4	2034,20	30,20	912,32		
304,2	2717,5	2773,52	-56,02	3138,58		
405,6	3538,7	3512,85	25,85	668,19		

Keterangan :

x = konsentrasi standar Kuersetin (ppm)

y = Luas puncak / area

yi = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi.

$S(y/x) = 43,5454$

Tabel 7

Data Luas Puncak Kurkuminoid dan Kuersetin pada Sampel dari beberapa
Metode Ekstraksi

Berat Sampel (gram)	Volume Metanol (ml)	Ekstraksi (kali)	Luas Puncak Kuersetin	Luas Puncak Kurkuminoid
1	10	3	1363,2	30274,6
		4	1388,9	30653,5
		5	1397,9	30146,4
1,5	15	3	1405,4	31593,9
		4	1412,7	32173,2
		5	1642	33259,9

Tabel 8

Data Penetapan Kadar Kurkuminoid dari Sampel yang belum dikoreksi

Sampel	Berat (gram)	Luas puncak	Konsentrasi berdasarkan pers. Regresi (ppm)	Kadar sebelum dikoreksi($\mu\text{g/g}$)
1	1,5095	33305,2	1262,83	2509,77
		33638,7	1281,34	2546,56
		33046,4	1248,47	2481,22
2	1,5027	33717,9	1285,74	2566,86
		33451,7	1270,97	2537,36
		33826,9	1291,79	2578,94
3	1,5077	33248,3	1259,68	2506,48
		33819,1	1291,36	2569,52
		33892,1	1295,41	2577,59

Tabel 9

Data Penetapan Kadar Kuersetin dari Sampel yang belum dikoreksi

Sampel	Berat (gram)	Luas puncak	Konsentrasi berdasarkan pers. Regresi (ppm)	Kadar sebelum dikoreksi($\mu\text{g/g}$)
1	1,5095	1679,2	154,11	306,28
		1680	154,22	306,50
		1671,1	153,00	304,08
2	1,5027	1667,3	152,48	304,41
		1687,7	155,28	310,00
		1692,7	155,96	311,37
3	1,5077	1684,5	154,84	308,10
		1669,4	152,77	303,98
		1670,5	152,92	304,28

Tabel 10

Data Uji Perolehan Kembali Kurkuminoid

Konsentrasi Kurkuminoid (ppm) (x)	Luas puncak (y)	Konsentrasi berdasarkan	
		persamaan regresi (xi)	UPK rata-rata(%)
780	32726,1	1230,69	72,71
	32626,6	1225,17	72,00
	32778,4	1233,59	73,08
970	35015,8	1357,78	71,57
	35103,9	1362,67	72,08
	35244,5	1370,48	72,88
1190	37069,8	1471,79	67,92
	37048,0	1470,58	67,82
	37336,2	1486,58	69,16

Tabel 11

Data Uji Perolehan Kembali Kuersetin

Konsentrasi Kuersetin (ppm) (x)	Konsentrasi berdasarkan			
	Luas puncak (y)	persamaan regresi (xi)	UPK (%)	UPK rata-rata(%)
95	1484,4	127,40	95,91	96,12
	1499,0	129,40	98,01	
	1474,3	126,01	94,45	
122	1679,9	154,21	96,66	97,09
	1677,3	153,85	96,37	
	1693,9	156,13	98,23	
145	1761,3	165,37	89,03	90,49
	1792,3	169,62	91,96	
	1776,5	167,46	90,46	

Tabel 12

Data Penetapan Kadar Kurkuminoid yang telah dikoreksi

Sampel	Berat (gram)	Luas puncak	Kadar setelah	Kadar	KV	Kadar 1,2,3
			dikoreksi ($\mu\text{g/g}$)	rata-rata ($\mu\text{g/g}$)	kadar (%)	rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/g}$)
1	1,5095	33305,2	3533,89	3537,76	1,30	3578,70
		33638,7	3585,69			
		33046,4	3493,69			
2	1,5027	33717,9	3614,28	3606,10	0,84	\pm 36,12
		33451,7	3572,74			
		33826,9	3631,29			
3	1,5077	33248,3	3529,26	3592,23	1,52	
		33819,1	3618,03			
		33892,1	3629,38			

Tabel 13

Data Penetapan Kadar Kuersetin yang telah dikoreksi

Sampel	Berat (gram)	Luas puncak	Kadar setelah	Kadar	KV kadar (%)	Kadar 1,2,3 rata-rata ± SD (µg/g)
			dikoreksi (µg/g)	rata-rata (µg/g)		
1	1,5095	1679,2	323,87	323,17	0,44	324,16 ± 1,87
		1680	324,10			
		1671,1	321,54			
2	1,5027	1667,3	321,89	326,31	1,19	± 1,87
		1687,7	327,80			
		1692,7	329,24			
3	1,5077	1684,5	325,79	322,99	0,75	
		1669,4	321,43			
		1670,5	321,75			



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Cara perhitungan luas puncak pada kurva kalibrasi

Persamaan regresi : $y = a + bx$

y = luas puncak

x = konsentrasi

a = intersep

b =slope

misal:

pada konsentrasi kurkuminoid 612 ppm (x) diperoleh luas puncak 21035,7

(y), maka :

persamaan regresi : $y = 10554 + 18,016 x$

$y = 10554 + 18,016 (612)$

$y = 21579,79 (y_i)$

LAMPIRAN 2

Cara perhitungan konsentrasi pada uji keterulangan

Persamaan regresi : $y = a + bx$

y = luas puncak

x = konsentrasi

misal:

pada konsentrasi kuersetin 81,12 ppm (x) diperoleh luas puncak 1125,0 (y),

maka:

persamaan regresi : $y = 555,54 + 7,2912 x$

$$1125,0 = 555,54 + 7,2912 x$$

$$x = 78,10 \text{ ppm (xi)}$$

$$SD = \frac{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X}_i)^2}}{n-1}$$

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}_i} \times 100\%$$

Dimana, SD = standar deviasi

X_i = konsentrasi rata-rata

n = jumlah konsentrasi

LAMPIRAN 3

Cara perhitungan limit deteksi dan kuantitasi

Contoh:

perhitungan limit deteksi (LOD) dan kuantitasi (LOQ) kurkuminoid

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{365322,1333}{6-2}} = 604,42$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S(y/x)}{b} = \frac{3 \times 604,42}{18,016} = 100,65 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times S(y/x)}{b} = \frac{10 \times 604,42}{18,016} = 335,49 \text{ ppm}$$

dimana:

y = luas puncak yang diperoleh

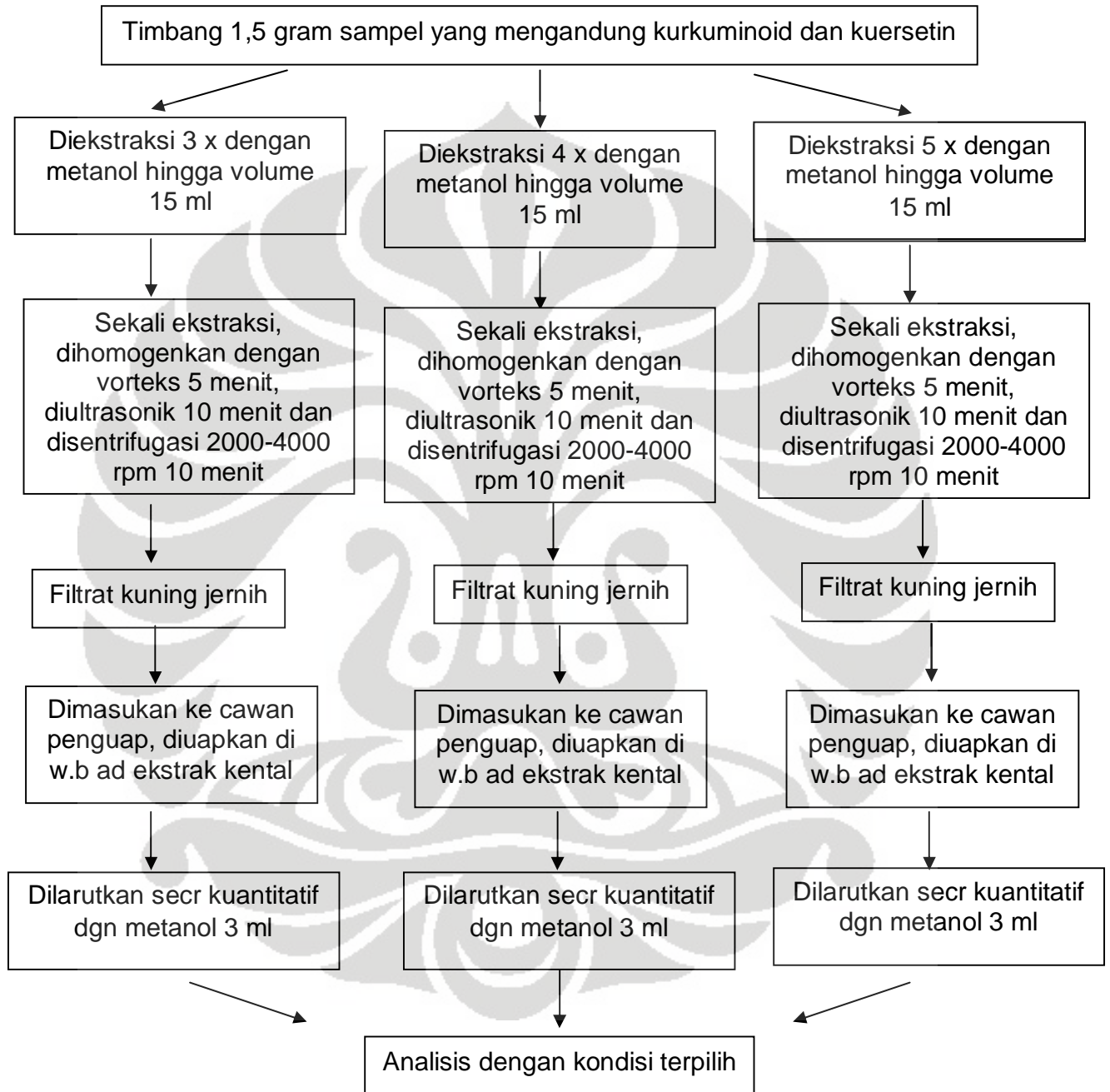
y_i = luas puncak dari persamaan regresi

b = nilai pada persamaan regresi

n = jumlah konsentrasi

LAMPIRAN 4

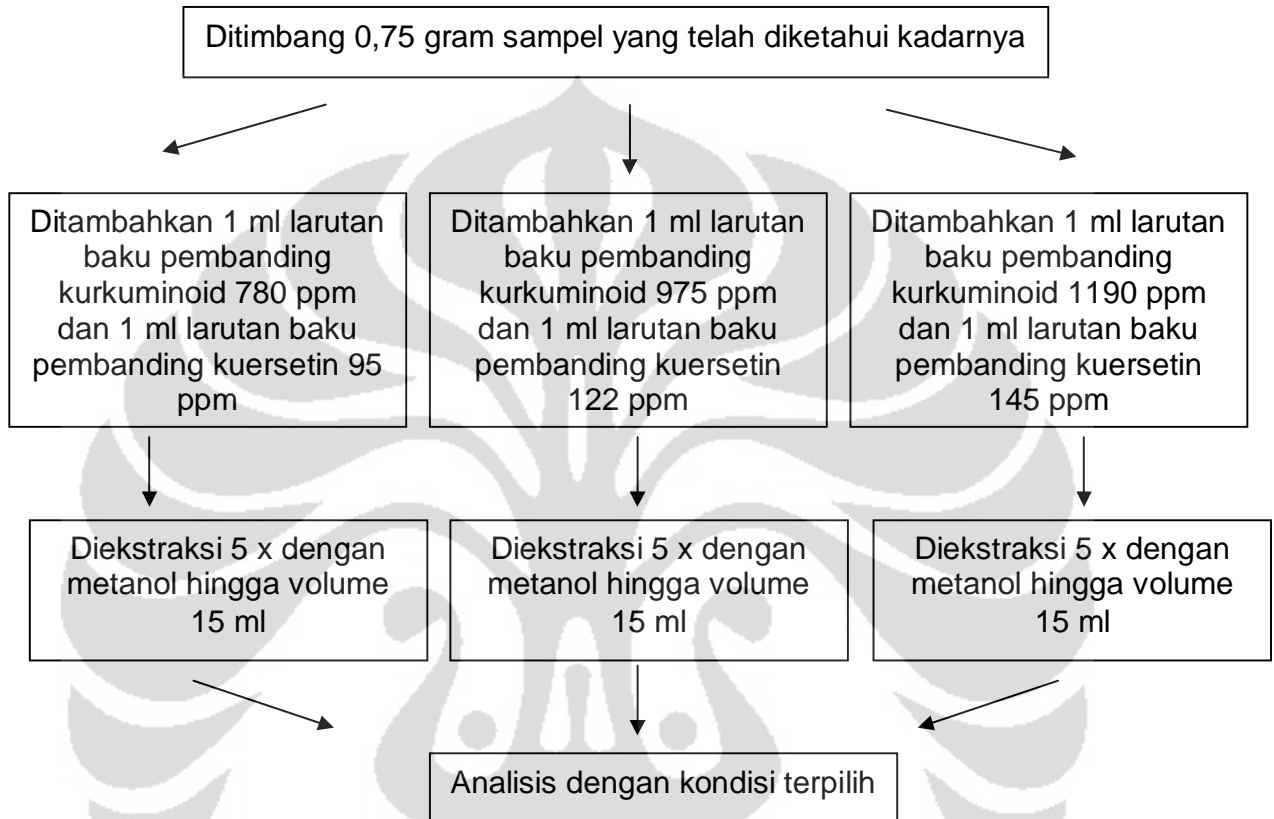
Optimasi ekstraksi kurkuminoid dan kuersetin dari sampel



Prosedur yang sama dapat dilakukan pada berat sampel 1 gram dengan volume metanol 10 ml.

LAMPIRAN 5

Perolehan kembali kurkuminoid dan kuersetin dari sampel



Cara perhitungan perolehan kembali

$$\text{UPK \%} = \frac{\text{Ca} - \text{Cb}}{\text{Cd}} \times 100 \%$$

Dimana, Ca = kadar yang diperoleh setelah ditambahkan

Cb = kadar sebelum ditambahkan

Cd = kadar yang ditambahkan

Lampiran 6

Cara perhitungan penetapan kadar yang telah dikoreksi

Contoh :

Perhitungan kadar kurkuminoid yang telah dikoreksi

misal :

Kadar kurkuminoid yang belum dikoreksi 2537,36 µg/g

Perolehan kembali kurkuminoid adalah 71,02 %

maka :

$$\begin{aligned} \text{Kadar kurkuminoid yang telah dikoreksi} &= \frac{2537,36 \mu\text{g/g} \times 100 \%}{71,02 \%} \\ &= 3572,74 \mu\text{g/g} \end{aligned}$$

LAMPIRAN 7

Sertifikat Analisis Kuersetin

Certificate Of Analysis Page 1 of 1

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH

Product Name	Quercetin dihydrate, ≥98% (HPLC), powder
Product Number	Q0125
Product Brand	SIGMA
CAS Number	6151-25-3
Molecular Formula	$C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$
Molecular Weight	338.27


TEST	SPECIFICATION	LOT 0580594 RESULTS
APPEARANCE	YELLOW TO YELLOW WITH A GREEN TO BROWN CAST POWDER	YELLOW POWDER
SOLUBILITY	DARK RED SOLUTION AT 200 MG PLUS 4 ML OF 1 M SODIUM HYDROXIDE	DARK RED SOLUTION AT 200 MG PLUS 4 ML OF 1.0 M SODIUM HYDROXIDE
ELEMENTAL ANALYSIS		53.86% CARBON
PURITY BY HPLC	NOT LESS THAN 98%	99.0%

Rodney Burbach
Rodney Burbach, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri USA

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/CertOfAnalysisPage.do?symbol=Q0125&LotNo=85H0694&b...> 2/10/2009

LAMPIRAN 8

Sertifikat Analisis Kurkuminoid

	
Specification	
http://certificates.merck.de	
Date of print: 19.03.2009	
8.20354.0010 Curcumin for synthesis	
Assay (acidimetric) Identity (IR)	Spec. Values ≥ 90 % passes test
Dr. Wolfgang Bolkart responsible laboratory manager quality control	
<i>This document has been produced electronically and is valid without a signature</i>	
Merck KGaA 64271 Darmstadt (Germany) Tel. (06151)72-0 <small>SAF / AABR / 1771248 / 82034000000000 / 1.001</small>	Page 1 of 1