

## **PENENTUAN KADAR *Kurkumin* DARI BEBERAPA TANAMAN *Curcuma* SETELAH IRADIASI GAMMA**

*Determination of Curcumin from Curcuma Plants after Gamma Irradiation*

**Susanto\* dan Ermin Katrin Winarno**

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional  
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan 12440, Indonesia  
\*E-mail korespondensi: santopatir@gmail.com

### **ABSTRAK**

Penggunaan obat herbal akhir-akhir ini terus meningkat, dikarenakan adanya *trend* baru dimasyarakat untuk menggunakan obat herbal sebagai pengganti obat sintetik. Salah satu obat herbal yang penggunaannya sangat besar adalah tanaman yang mengandung jenis senyawa kurkumin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar kurkumin pada ekstrak aktif terhadap sel kanker Leukemia L1210 dari beberapa tanaman *Curcuma* setelah dilakukan iradiasi gamma menggunakan  $^{60}\text{Co}$ . Fraksi dari ekstrak aktif terhadap sel kanker Leukemia L1210 beberapa tanaman pada dosis iradiasi 0; 5; 7,5; 10 dan 15 kGy dilarutkan dengan metanol grade KCKT, lalu diuji menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan fase diam kolom C-18, fase gerak asetonitril:asam asetat 1% (70:30), kecepatan alir 1mL/menit, menggunakan detektor UV-vis pada  $\lambda_{425}$  nm. Parameter validasi yang dilakukan adalah linearitas, limit deteksi dan simpangan baku relative. Linearitas dari alat KCKT yang digunakan memiliki nilai  $a = 22470$ ,  $b = -3394$ , dan  $r^2 = 0,998$ , limit deteksi pada alat KCKT adalah 0,13 ppm dengan simpangan baku relative adalah 0,02%. Diperoleh kadar kurkumin tertinggi pada tiap dosis adalah 0 kGy 14,85%, 5 kGy 13,54%, 7,5 kGy 10,31%, 10 kGy 9,12% dan 15 kGy 8,74%.

**Kata kunci:** kurkumin, iradiasi, KCKT, obat herbal

### **ABSTRACT**

The use of herbal medicines, such as curcumin compounds, lately continues to increase, due to the new trend in the community to use herbal medicine as a substitute for synthetic drugs. This study aims to determine the level of curcumin in active extracts against Leukemia L1210 cancer cells from some *Curcuma* plants after gamma irradiation using  $^{60}\text{Co}$ . The fraction of the active extract against L1210 Leukemia cancer cells of several plants at irradiation dose 0 ; 5; 7.5; 10 and 15 kGy were dissolved with HPLC grade methanol, then tested using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using C-18 columns, acetonitrile:acetate 1% acetic acid (70:30), flow rate 1mL/ min, using detector UV-vis at 425 nm wavelength. Validation parameters are linearity, limit of detection and relative standard deviation. The linearity of the HPLC has a value of  $a = 22470$ ,  $b = -3394$ , and  $r^2 = 0.998$ , the detection limit of the HPLC is 0.13 ppm with the relative standard deviation of 0.02%. The highest levels of curcumin each dose were 0 kGy 14.85%, 5 kGy 13.54%, 7.5 kGy 10.31%, 10 kGy 9.12% and 15 kGy 8.74%.

**Keywords:** curcumin, irradiation, HPLC, herbal medicine

### **PENDAHULUAN**

Penggunaan obat herbal akhir-akhir ini terus meningkat, dikarenakan adanya *trend* baru di masyarakat untuk menggunakan obat herbal sebagai pengganti obat sintetik [1]. Salah satu obat herbal yang penggunaannya sangat besar adalah tanaman yang mengandung jenis senyawa kurkumin. Penggunaan kurkumin ini telah diakui

oleh food and drug administration (FDA) dengan status aman digunakan [2].

Kurkumin merupakan metabolit sekunder terdapat pada tanaman yang termasuk kelompok keluarga *Zingiberaceae*. Kurkumin memiliki khasiat sebagai anti inflamatori, anti imunodefisiensi, anti virus (virus flu burung), anti bakteri, anti jamur, antioksidan, anti karsinogenik,

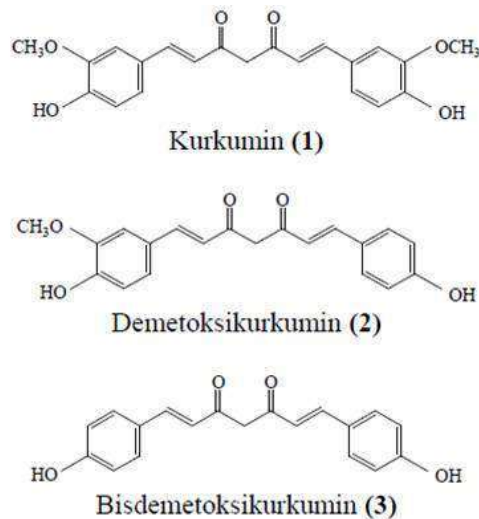
anti infeksi dan anti kanker [3]. Kurkumin memiliki warna kuning yang tidak mudah larut dalam air tetapi dalam pelarut organik. Kurkumin bersifat non toksik pada sel normal dan sangat berkhasiat dalam pengobatan terapi kanker[4]. Kurkumin bisa bersifat sebagai antioksidan yang baik karena mengandung senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan dan *inhibitor* melanogenesis [5]. Kurkumin secara umum tidak berdiri sendiri melainkan secara komersil terdiri dari campuran kurkuminoid yang terdiri dari 77% kurkumin, 17% demetoksikurkumin, dan 6% bisdemetoksikurkumin, ketiga struktur kimia senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 1.

Kurkumin yang terkandung pada tanaman jenis *Curcuma* (temu manga, temu putih, temu hitam dan temulawak) bisa menghambat perkembangbiakan sel kanker leukemia L1210. Sel leukemia L1210 merupakan sel limposit yang diinduksikan pada limfoma tikus jenis DBA/2. Ekstrak etil asetat dari tanaman *Curcuma* mampu menghambat sel kanker leukemia L1210 dengan nilai  $IC_{50}$  secara berturut-turut adalah 7,87  $\mu\text{g/mL}$ , 4,71  $\mu\text{g/mL}$ , 3,47  $\mu\text{g/mL}$ , dan 16,62  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing tanaman *Curcuma* meningkat seiring dengan kenaikan dosis radiasi (5; 7,5; 10 dan 15 kGy) sebagai metode dalam pengawetan simplisia [6]–[9].

Teknik radiasi sebagai metode dalam pengawetan pasca panen produk pertanian sudah banyak dilakukan. Teknik pengawetan dengan cara radiasi menawarkan pengawetan secara efektif dalam mencegah kerusakan selama proses penyimpanan [10]. Dosis radiasi 5 kGy bisa membunuh serangga, jamur dan mikroorganisme lain sehingga akan memperpanjang masa simpan sampel [11].

Penggunaan teknik radiasi dalam pengawetan simplisia tanaman *Curcuma* dari beberapa dosis radiasi (5; 7,5; 10 dan 15 kGy) sebagai obat anti kanker leukemia L1210 sudah dilakukan. Dosis optimum radiasi untuk pengawetan tanaman *Curcuma* sebagai obat anti kanker leukemia L1210 sudah didapatkan, namun penentuan kadar kurkumin pada ekstrak yang aktif dalam menghambat sel kanker leukemia L1210 masih belum didapatkan berapa konsentrasinya. Karena belum pernah dilakukan penelitian mengenai kadar kurkumin pada ekstrak aktif tanaman *Curcuma* setelah diradiasi dengan  $^{60}\text{Co}$ , untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai hal ini. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar kurkumin pada ekstrak aktif

etil asetat beberapa tanaman *Curcuma* dari tiap dosis radiasi setelah diradiasi gamma  $^{60}\text{Co}$  menggunakan KCKT.



Gambar 1. Struktur Kimia kurkuminoid [12]

## METODE

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi hasil kolom dari beberapa ekstrak aktif tanaman *Curcuma* yang digunakan pada penelitian sebelumnya dengan dosis iradiasi gamma 0 (Kontrol); 5 ; 7,5 ; 10 dan 15 kGy, larutan penampak bercak serum sulfat 1% dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , metanol KCKT, *aquabidest* saring, asam asetat absolut dan standar kurkumin.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi cair kinerja tinggi (shimadzu LC 6-A) lampu UV ( $\lambda_{254}$  nm), pemanas listrik (*hot plate*), *ultrasonikator*, timbangan analitik, dan alat gelas.

### Persiapan Larutan Stok Standar Kurkumin

Larutan stok standar kurkumin dibuat dengan menimbang 1mg standar kurkumin. Standar lalu dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 mL sampai volumenya 10 mL. Konsentrasi larutan stok standar yang diperoleh yaitu 100 ppm.

### Persiapan Larutan Standar Kurkumin

Larutan stok standar kurkumin 100 ppm diambil untuk di encerkan dengan metanol sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar kurkumin 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; dan 40 ppm yang diencerkan dalam labu ukur sampai volume

10 mL. Larutan ini kemudian disaring dengan menggunakan filter 0.45  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan ke alat KCKT sebanyak masing-masing 2 kali injeksi.

### Persiapan Larutan Sampel

Tiap-tiap fraksi dari masing-masing tanaman dan dosis iradiasi di timbang dengan konsentrasi sampel 4000  $\mu\text{g/mL}$  yang dilarutkan menggunakan metanol grade KCKT dari ProLabo lalu di saring menggunakan filter 0,45  $\mu\text{m}$ .

### Penentuan Kurva Baku

Standar kurkumin dibuat dengan variasi konsentrasi 0,156; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; dan 40 ppm. Tiap variasi konsentrasi diinjeksikan sebanyak 3 kali dan diambil nilai rata-rata. Kurva baku dibuat berdasarkan hubungan antara konsentrasi sampel dengan luas area tiap konsentrasi.

### Penentuan Limit Deteksi (LOD)

Standar kurkumin konsentrasi 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312; 0,156; 0,13; 0,12 dan 0,11 ppm. Tiap variasi konsentrasi diinjeksikan sebanyak 3 kali sampai didapatkan konsentrasi terendah yang bisa di analisis oleh KCKT. Nilai rata-rata Luas area yang diperoleh dibuat kurva baku untuk mencari nilai  $r$ .

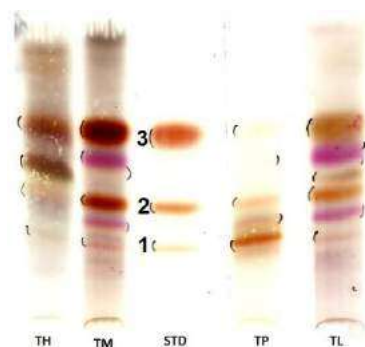
### Penentuan Simpangan Baku Relatif (SBR)

Konsentrasi standar kurkumin 0,625 ppm diinjeksikan pada alat KCKT sebanyak 9 kali ulangan. Tentukan nilai rata-rata, Simpangan baku dan simpangan baku relatif.

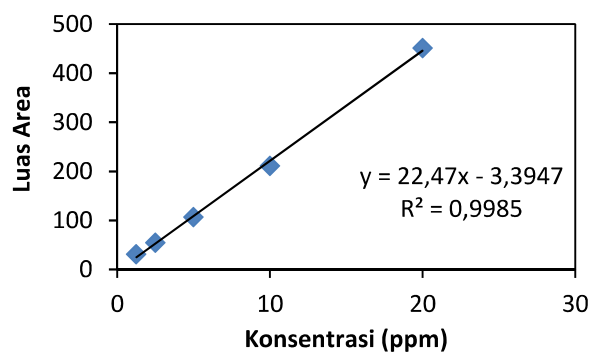
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis standar kurkumin menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) diperoleh 3 bercak. Bercak 1 merupakan bisdemetoksi kurkumin, bercak 2 merupakan demetoksi kurkumin, dan bercak 3 merupakan senyawa kurkumin [13]. Analisis menggunakan KLT dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa kurkumin pada tiap tanaman *Curcuma*. Kadar kurkumin tiap tanaman berbeda-beda sesuai dengan jenisnya. Gambar 2 menunjukkan masing-masing hasil KLT dari tiap sampel tanaman. Kandungan kurkumin yang tinggi pada standar dibuktikan dengan bercak paling tebal dibandingkan kedua senyawa kurkumin lainnya karena dalam campuran kurkuminoid hampir 70% adalah kurkumin.

Uji linearitas standar kurkumin pada alat KCKT menggunakan konsentrasi 1,25 ppm sampai 20 ppm didapatkan nilai  $a = 22,470$ ,  $b = -3,394$ , dan  $r^2 = 0,998$ . Nilai slope ( $b$ ), intersep ( $a$ ), dan koefisien korelasi ( $r^2$ ) menggambarkan informasi linearitas. Linearitas ditentukan dengan membuat sebuah kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi kurkumin dengan luas area.



**Gambar 2.** Kromatografi lapis tipis dari kurkumin tiap fraksi aktif. TH (temu hitam), TM (temu mangga), STD (standar kurkumin), TP (temu putih), dan TL (temulawak)



**Gambar 3.** Grafik linearitas standar kurkumin

Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang diperoleh yaitu sebesar 0,998. Nilai  $r$  yang diperoleh mendekati satu sehingga dapat dikatakan bahwa kurva memiliki kelinieran yang tinggi. Hal ini menunjukkan hubungan korelasi linear yang signifikan antara dua variabel yang akan di uji yaitu kadar kurkumin dan luas area. Nilai  $r$  yang mendekati 1 menyatakan bahwa alat KCKT yang digunakan untuk pengukuran kadar kurkumin masih bagus dan valid (linier) untuk pengukuran senyawa kurkumin.

Penetapan batas deteksi minimum (Limit of Detection/LOD) untuk alat KCKT adalah 0,13 ppm. Nilai tersebut merupakan nilai terkecil yang masih terdeteksi oleh alat KCKT. Nilai yang

diperoleh menunjukkan korelasi yang bagus (nilai  $r = 0,9947$ ) pada rentang konsentrasi kurkumin 5-0,13 ppm. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui kadar kurkumin terendah yang masih terdeteksi oleh alat KCKT. Semakin kecil nilai konsentrasi yang masih terukur dengan alat maka akan semakin sensitif metode yang digunakan untuk mengukur suatu analit. Pengukuran dilakukan dengan beberapa konsentrasi sampai alat tidak mendeteksi.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran limit deteksi dari alat KCKT

No	Kadar kurkumin (ppm)	Luas area
1	5	106675
2	2,5	53945
3	1,25	30926
4	0,625	22054
5	0,3125	10035
6	0,15	5477
7	0,13	3594
8	0,12	-
9	0,11	-

Nilai simpangan baku relatif (SBR) yang diperoleh adalah 0,02% . Nilai SBR yang dihasilkan tidak lebih dari 2% dan dapat diterima. Nilai SBR <2% bertujuan untuk mengetahui nilai eror dari operator dalam melakukan pengukuran. Pengukuran yang dilakukan oleh operator termasuk teliti karena nilai SBR masih <2% [14].

Hasil pengukuran tiap fraksi dari masing-masing tanaman diperoleh bentuk kromatogram dan waktu retensi yang sama. Analisis menggunakan alat KCKT dilakukan pada  $\lambda_{425}$  nm

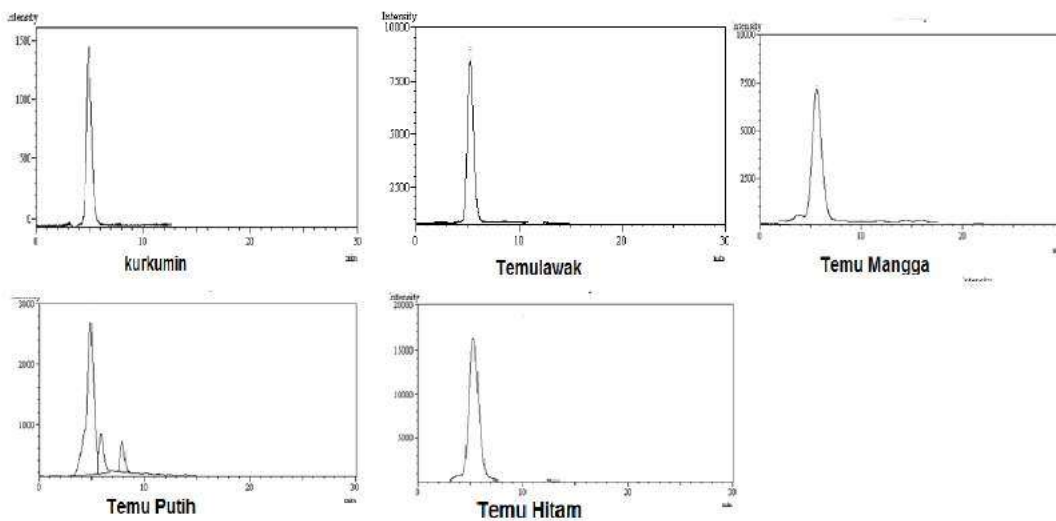
dengan kecepatan alir 1 mL/menit, fasa gerak menggunakan asetonitril:asam asetat 1% (70:30) dan kolom yang digunakan adalah C-18.

**Tabel 2.** Hasil pengukuran simpangan baku relatif alat KCKT

Ulangan	Konsentrasi kurkumin (ppm)	Luas area
1	0,625	21,608
2	0,625	21,193
3	0,625	21,987
4	0,625	21,893
5	0,625	21,887
6	0,625	22,505
7	0,625	22,870
8	0,625	21,358
9	0,625	22,171
Rata-rata		21,998
SB		554,7
SBR (100%)		0,02

Ket: SB = simpangan baku, SBR = simpangan baku relatif.

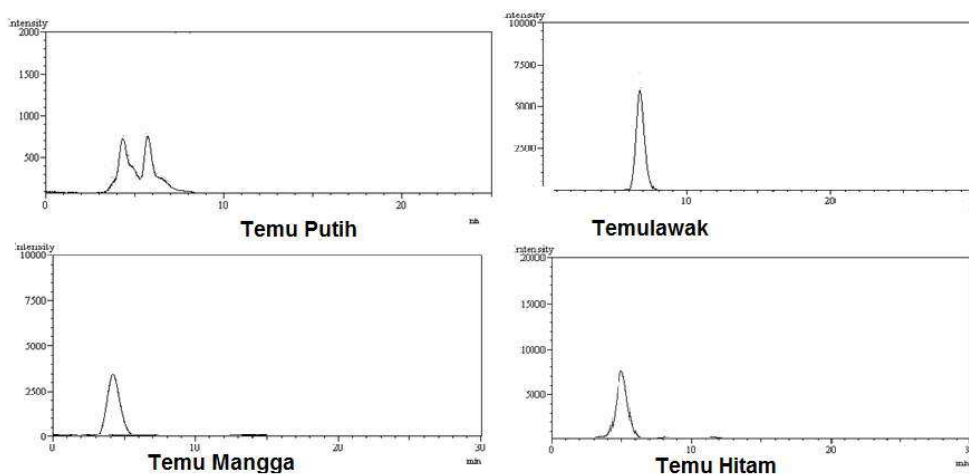
Hasil pengukuran kadar kurkumin dengan menggunakan alat KCKT didapatkan kadar kurkumin dapat di lihat pada tabel 3. Injeksi sampel dilakukan untuk semua fraksi dari tiap tanaman, hal ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kurkumin pada tiap fraksi. Temulawak (Tabel 3) memiliki kadar kurkumin yang lebih besar di bandingkan jenis yang lainnya, sedangkan temu putih memiliki kandungan kurkumin yang paling kecil. Hasil analisis dengan KCKT pada temu putih menunjukkan ada 3 puncak yang diperoleh, selain kurkumin ada puncak lain yaitu demetoksi kurkumin dan bisdemetoksi kurkumin.



**Gambar 4.** Kromatogram standar kurkumin dan tanaman *curcuma* lain pada dosis 0 kGy.

**Tabel 3.** Persentase kadar kurkumin dari masing-masing ekstrak aktif pada variasi dosis iradiasi

Dosis (kGy)	Kadar kurkumin tiap sampel (%)			
	Temulawak	Temu mangga	Temu hitam	Temu putih
0	14,85	1,12	0,36	0,08
5	13,54	0,90	0,29	0,06
7,5	10,31	0,76	0,22	0,04
10	9,12	0,63	0,17	0,02
15	8,74	0,61	0,08	0,01



**Gambar 5.** Kromatogram KCKT beberapa tanaman pada dosis 10 kGy

Hasil pengukuran sampel pada dosis radiasi 10 kGy terjadi perubahan bentuk kromatogram dari masing-masing sampel. Dosis iradiasi mempengaruhi kadar kurkumin (Tabel 3). Semakin tinggi dosis iradiasi akan menurunkan kadar kurkumin pada tiap sampel. Menurunnya konsentrasi kurkumin pada tiap sampel dikarenakan iradiasi gamma mengakibatkan perubahan senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman tersebut. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4. Pada dosis iradiasi 10 kGy mengakibatkan bentuk kromatogram kurkumin dari tiap tanaman yang diradiasi menjadi kecil bahkan pada sampel temu putih bentuk kromatogram kurkumin sudah menjadi 2 puncak kromatogram.

Dosis radiasi semakin tinggi akan meningkatkan jumlah radikal bebas dari sampel yang diradiasi. Radikal bebas akan berikatan dengan pelarut yang digunakan pada saat maserasi simplisia sehingga akan menurunkan metabolit sekunder pada tanaman [15]. Menurunnya kandungan kurkumin (metabolit sekunder) pada tanaman *Curcuma* yang diradiasi dengan <sup>60</sup>Co akan menurunkan aktivitas anti kanker dari tanaman *Curcuma* tersebut. Dosis radiasi maksimum yang diperbolehkan untuk mengawetkan simplisia tanaman jenis *Curcuma*

dengan khasiatnya sebagai anti kanker leukemia L1210 adalah maksimal 7,5 kGy [6]–[9]

**KESIMPULAN**

Hasil pengukuran kadar kurkumin ekstrak aktif beberapa tanaman *Curcuma* setelah diradiasi gamma <sup>60</sup>Co diperoleh kadar kurkumin paling tinggi terdapat pada tanaman temulawak dengan dosis radiasi 0 (kontrol), 5; 7,5; 10; dan 15 kGy secara berturut-turut adalah 14,85; 13,54; 10,31; 9,12; dan 8,74% kemudian diikuti dengan temu manga dan temu hitam, sedangkan kandungan kurkumin paling rendah terdapat pada tanaman temu putih dengan dosis radiasi 0 (kontrol); 5; 7,5; 10; dan 15 kGy secara berturut-turut adalah 0,08; 0,06; 0,04; 0,02 dan 0,01%.

**DAFTAR PUSTAKA**

[1] B. Cahyono, M. D. K. Huda, and L. Limantara, “Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak ( *Curcuma xanthorrhiza* ROXB ) Terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid,” *Reaktor*, vol. 13, no. 3, pp. 165–171, 2011.

[2] S. Hewlings and D. Kalman, “Curcumin: A Review of Its’ Effects on Human Health,” *Foods*, vol. 6, no. 10, p. 92, 2017.

[3] W. Rahayu, D. Hartanti, and M. Setiowati,

- “Pengaruh Lama dan Tempat Penyimpanan Terhadap Kadar Kurkuminoid pada Sediaan Jamu Serbuk Merk ‘A’ yang mengandung Simplisia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*, Val.),” *Pharmacy*, vol. 07, no. 02, pp. 1–12, 2010.
- [4] T. U. Rahmatia, “Metode SPE Sebagai Alternatif Terbaru dalam Analisis dan Pemurnian Senyawa Obat,” *Farmaka*, vol. 14, no. 2, pp. 151–170, 2016.
- [5] Sugiharto, A. Arif, S. Ahmad, and M. Hamid, “Efektivitas kurkumin sebagai antioksidan dan inhibitor melanin pada kultur sel B16-F1,” *Berk. Penelit. Hayati*, vol. 17, pp. 173–176, 2012.
- [6] J. Jayanti, H. Winarno, and E. Harantung, “Pengaruh Iradiasi Gamma pada Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel Leukemia L1210 dan Profil Kromatogram dari Ekstrak Etil Asetat Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Van Zijp),” 2012.
- [7] D. Pratiwi, H. Winarno, and E. Harantung, “Pengaruh Iradiasi Gamma pada Sitotoksitas Terhadap Sel Leukemia L1210 dan Profil Kromatogram Fraksi Aktif Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.),” 2012.
- [8] E. Winarno, J. Albert, S. Tamat, and A. Et, “Sitotoksitas terhadap Sel Leukemia L1210 dan Profil Kromatogram dari Serbuk Temu Putih *Curcuma zedoaria* (Berg) Rose yang Diiradiasi,” *J. Ilmu Kefarmasian*, vol. 10, no. 1, pp. 57–64, 2012.
- [9] H. Winarno, Susanto, and E. Winarno, “Aktivitas Antiproliferasi terhadap Sel Kanker Lestari Dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Diiradiasi,” *Dalam Publ.*, 2018.
- [10] Deepshikha, B. Kumari, E. Premabati Devi, G. Sharma, S. Rawat, and J. Jaiswal, “Irradiation as an Alternative Method for Post-harvest Disease Management: An Overview,” *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol. Cit. IJAEB*, vol. 10, no. 5, pp. 625–633, 2017.
- [11] G. Kebede, A. Simachew, H. Disassa, T. Kabeta, and T. Zenebe, “Review on Radiation as a Means of Food Preservation and its Challenge,” *Acad. J. Nutr.*, vol. 4, no. 2, pp. 77–83, 2015.
- [12] A. Setyowati and C. L. Suryani, “The Increase of Curcuminoida Content and Antioxidative Activity of Temulawak and Turmeric Instant Beverages,” *Agritech*, vol. 33, no. 4, pp. 363–370, 2013.
- [13] F. M. Yusuf and Nurhasanah, “Evaluasi Kadar Kurkumin dalam Jamu Tradisional Kunir Asam yang Dijual di Pasar Kota Gede Bulan Februari 2015 Abstrak,” *Pharm. Sci. Res.*, vol. 2, no. 3, 2015.
- [14] Harmita, “Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya,” *Maj. Ilmu Kefarmasian*, vol. I, no. 3, pp. 117–135, 2004.
- [15] N. K. Kortei *et al.*, “Evaluating the Effect of Gamma Radiation on the Total Phenolic Content, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Dried *Pleurotus ostreatus* ((Jacq. ex. Fr) Kummer) Stored in Packaging Materials,” *Hindawi*, vol. 2014, pp. 1–8, 2014.

---

## PERTANYAAN SAAT PRESENTASI

### 1. Pertanyaan (Anonim):

- 1) Apakah dosis iradiasi maksimum tidak menyebabkan kerusakan pada sampel? Apa parameternya?
- 2) Apa fungsi pemberian dosis iradiasi pada ekstrak, apakah ada perbedaan signifikan dengan perlakuan tanpa iradiasi?

#### Jawaban:

- 1) dosis iradiasi yang diberikan terhadap sampel semakin tinggi akan semakin merusak metabolit sekunder yang ada pada sample tersebut, parameternya bisa dilakukan analisis dengan KLT, KCKT dan terakhir dengan uji metabolit sekunder secara in vitro.

- 2) Dosis iradiasi digunakan untuk pengawetan ekstrak atau simplisia. Hal ini berguna untuk mengurangi kerusakan simplisia atau ekstrak dari jamur dan bakteri. Pada dosis > 5 kGy tidak ada lagi jamur dan bakteri yang tumbuh pada simplisia dan ekstrak yang diradiasi.