

Pengawasan Mutu Produk Obat Herbal Berbasis *Curcuma sp.* Dengan Parameter Kadar Kurkumin Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Dedi Hanwar^{1*}, Aina Fahrina Anwar¹, Andi Suhendi²

¹Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

² Prodi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: dedi.hanwar@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:

Kurkumin;

Kromatografi Cair

Kinerja Tinggi; KCKT;

Curcuma.

Pengawasan terhadap produk obat herbal berbasis *Curcuma sp.* dilakukan dengan tujuan untuk menjamin mutu yang berhubungan dengan keamanan, toksisitas, dan hukum. Kurkumin merupakan komponen senyawa kurkuminoid yang memiliki persentase paling besar dibandingkan bisdemetoksikurkumin maupun demetoksikurkumin dengan beragam khasiat. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan kontrol mutu produk obat herbal berbasis kurkumin dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sistem kromatografi menggunakan kolom C18 5 μ m 4,6x150 mm, detektor PDA dengan panjang gelombang 425 nm, fase terbalik dan sistem elusi isokratik menggunakan fase gerak asetone nitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40) dengan laju alir 0,8 mL/menit. Dari dua produk yang diteliti diperoleh kadar setiap kapsulnya adalah 4,92 mg (% recovery 80, 100, dan 120%: 127,30 \pm 3,21%, 132,40 \pm 1,77%, 120,36 \pm 12,36%; RSD keterulangan 1,55%; dan RSD presisi antara 1,27%) untuk produk I. Sedangkan untuk produk II adalah 1,90 mg (104,58 \pm 4,68%, 108,08 \pm 0,20%, 98,89 \pm 1,28%; 0,66%; dan 1,16%). Uji keseragaman kandungan untuk produk I memenuhi kriteria 4,996 mg (99,91% dalam rentang 85,0%-115,0%) sedangkan produk II tidak dilakukan uji yang sama.

1. PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman yang telah lama dikenal masyarakat karena memiliki banyak manfaat. Temulawak berkhasiat dalam penyembuhan berbagai penyakit, seperti pengobatan gangguan fungsi liver, anti inflamasi, hipokolestolemik, fungistatik, bakteriostatik, penambah nafsu makan, sakit maag, batuk, asma, sariawan, panas, malaria, sembelit, diare,

memperbanyak ASI, gangguan saat nifas dan menstruasi, eksim, sifilis, kembung dan mulas, asam urat, sakit pinggang, pegal linu, hipertensi, kencing batu, pembersih darah, kutu air, muntah-muntah, muntaber, mengatasi gangguan cacing pita [1, 2].

Kandungan kimia berkhasiat pada temulawak disebabkan oleh adanya kelompok kurkuminoid dan minyak atsirinya [3]. Kurkuminoid merupakan

campuran dari bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, dan kurkumin. Potensi yang menjanjikan dari kurkumin memunculkan produk-produk berbasis kurkumin. Pengawasan terhadap produk obat herbal berbasis *Curcuma* sp. yang beredar di pasaran perlu dilakukan untuk memonitoring kadar zat aktif yang terkandung dalam suatu produk, karena keefektifan suatu produk tergantung pada jumlah kurkumin yang terkandung didalamnya sehingga keseragaman mutu kurkumin dapat terpenuhi.

Banyak metode KCKT yang telah dikembangkan dalam penelitian kurkumin, diantaranya metode KCKT yang dipadukan dengan mass spectrometry (LC/MS) dan capillary electrophoresis (CE) untuk determinasi kurkuminoid dalam makanan atau produk farmasi [4] serta metode KCKT dengan detektor UV/VIS Spektrophotometer atau photodiode-array detector (PDA) pada λ sekitar 260 atau 450 nm yang digunakan karena teknik ini memerlukan instrumentasi sederhana dan cukup untuk menentukan kadar kurkuminoid pada sejumlah produk [5, 6]. Metode KCKT dipilih dalam penelitian ini karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya sensitif, presisi, dan akurat untuk mendeteksi dan kuantifikasi kurkumin [6]. Pemisahan menggunakan KCKT telah banyak dilakukan dengan fase terbalik menggunakan campuran air, asetonitril, etanol, dan metanol [7]. Metode tersebut dapat dikembangkan untuk diimplementasikan pada produk-produk yang beredar di Indonesia.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai kadar kurkumin dari ekstrak temulawak produk-produk yang beredar di pasaran sesuai dengan klaimnya.

2. METODE

Alat

HPLC Waters e2695 Separations Module dilengkapi detektor Waters 2998 Photodiode Array Detector, dengan kolom Sunfire™ C18 5 μ m, 4,6x150 mm, labu takar (Pyrex), pipet tetes, mikro pipet

Socorex, neraca analitik, sonikator, corong, flakon, *yellow tips*, *blue tips*, dan *micropore*.

Bahan

Sampel produk berbasis kurkumin merek Curmino® dengan 5 mg kurkumin dan Diapet® dengan 120 mg *Curcuma domestica*, HPLC methanol grade, metanol p.a, metanol teknis, HPLC acetonitrile grade, asam fosfat 0,5%, aquabidestilata, standar kurkumin Sigma Aldrich, kertas saring, dan aluminium foil.

Metode Penelitian

Keseragaman Bobot

Sampel masing-masing 20 kapsul produk obat herbal berbasis kurkumin Produk I dan Produk II ditimbang, dicatat dan dievaluasi keseragaman bobotnya menggunakan uji statistik dengan syarat RSD kurang dari 5%.

Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40). Asam fosfat 0,5% dibuat dengan pengenceran dari asam fosfat 85%.

Pembuatan Larutan Stok Kurkumin 0,5%

Ditimbang kurang lebih 50 mg baku kurkumin kemudian dilarutkan dengan metanol hingga volume tepat 10 mL dan disonikasi dalam *ultrasonic bath* selama 10 menit.

Kondisi Kromatografi

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi fase terbalik dengan sistem elusi isokratik menggunakan fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40) dengan *flow rate* 0,8 mL/menit pada kolom Sunfire™ C18 5 μ m 4,6x150 mm, dideteksi pada panjang gelombang 425 nm menggunakan detektor PDA dan volume injeksi 10 μ L.

Uji Pendahuluan Fase Gerak dan Panjang Gelombang Maksimum

Uji pendahuluan fase gerak dan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menginjektikan standar kurkumin sebanyak 10 μ L dalam vial HPLC yang dirunning dengan komposisi fase gerak A asetonitril : asam fosfat 0,5% (65 : 35) dan fase gerak B asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40) dan ditentukan panjang

gelombang maksimum dari fase gerak terpilih.

Pembuatan Kurva Baku

Diambil 16, 32, 64, 128, dan 256 μ L (kadar 0,0008%, 0,0016%, 0,0032%, 0,0064%, dan 0,0128%) dari larutan stok kurkumin 0,5%, kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Kemudian ditambahkan metanol sampai tanda tera. Masing-masing diinjeksikan sebanyak 10 μ L. Luas area yang diperoleh dicatat. Dihitung regresi linier untuk memperoleh kurva baku dengan konsentrasi sebagai sumbu X dan luas area sebagai sumbu Y.

Preparasi Sampel

Masing-masing sampel Produk I dan Produk II ditimbang seksama dan dipindahkan ke dalam labu takar 5 mL. Ditambahkan metanol dan disonikasi pada *ultrasonik bath* selama 10 menit. Ditambahkan metanol hingga volume tepat 5 mL. Disaring dan dimasukkan pada vial HPLC.

Perhitungan Kadar

Hasil pembacaan kemudian dimasukkan pada kurva baku yang diperoleh sebagai nilai Y. Setelah itu nilai X yang diperoleh dikalikan faktor pengenceran, dibagi bobot penimbangan awal dan diperoleh kadar kurkumin dalam % bobot per volume. Nilai tersebut dikonversikan menjadi kadar kurkumin dengan mengalikan bobot rata-rata dari keseragaman bobot yang diperoleh sebelumnya.

Parameter Akurasi dan Presisi

a. Akurasi

Ditimbang sampel sesuai prosedur dan direplikasi sebanyak 3x, dengan membagi penimbangan menjadi 4 kelompok kadar yang meliputi:

- 1) Kelompok tanpa penambahan zat aktif
- 2) Kelompok dengan penambahan zat aktif 80%
- 3) Kelompok dengan penambahan zat aktif 100%
- 4) Kelompok dengan penambahan zat aktif 120%

Setelah ditimbang kemudian dilakukan injeksi sampel sesuai prosedur.

Hasil yang didapat dihitung % recovery dengan syarat keberterimaan antara 90-110%.

$$\% \text{recovery} = \frac{(\text{sampel penambahan zat aktif}) - (\text{tanpa penambahan zat aktif})}{(\text{jumlah penambahan zat aktif})} \times 100\%$$

b. Presisi antara (*interday precision*)

Ditimbang sampel dengan seksama sesuai prosedur preparasi sampel yang ada sebanyak tujuh kali kemudian diinjeksikan kedalam HPLC. Dihitung kadar dengan memasukkan nilai luas area ke persamaan kurva baku lalu dihitung nilai RSDnya, nilai keberterimaan RSD kurang dari 2%. Parameter presisi antara dilakukan pada tiga hari yang berbeda [8].

c. Keterulangan (*intraday precision*)

Ditimbang sampel dengan seksama sesuai prosedur preparasi sampel yang ada sebanyak tujuh kali kemudian diinjeksikan kedalam HPLC. Dihitung kadar dengan memasukkan nilai luas area ke persamaan kurva baku lalu dihitung nilai RSDnya, nilai keberterimaan RSD kurang dari 2%. Parameter keterulangan dilakukan pada hari yang sama [8].

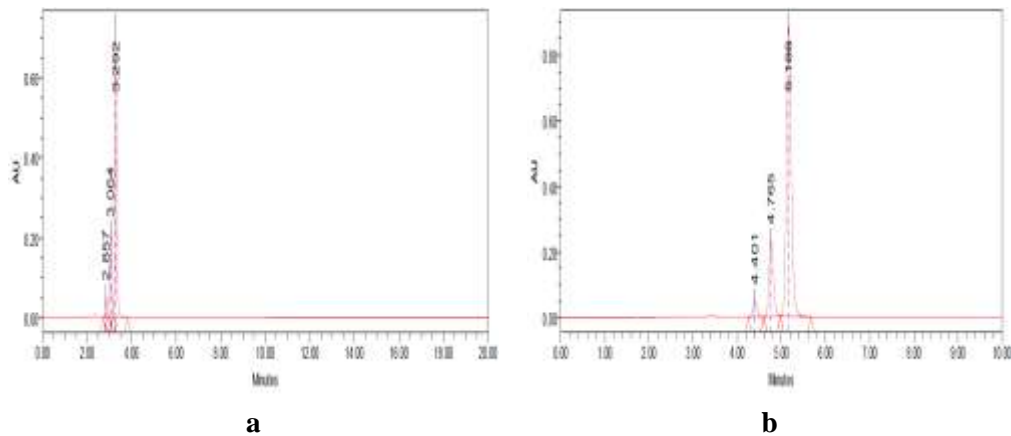
Penetapan Keseragaman Kadar

Sebanyak sepuluh kapsul sampel Produk I ditimbang satu-persatu. Masing-masing kapsul dipreparasi sesuai prosedur preparasi sampel yang ada kemudian diinjeksikan kedalam HPLC. Dihitung % keseragaman kandungan. Kapsul dikatakan seragam kandungannya jika memiliki nilai pada rentang 85,0% hingga 115,0%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Uji Pendahuluan Fase Gerak

Uji pendahuluan fase gerak penting dilakukan sebelum melakukan analisis dengan tujuan agar senyawa-senyawa yang diinginkan yang terkandung dalam sampel dapat terpisahkan dengan baik menjadi analitnya. Adanya perbedaan kekuatan interaksi antara analit dengan fase diam dan fase gerak menyebabkan komponen dalam analit ini dapat terpisah.

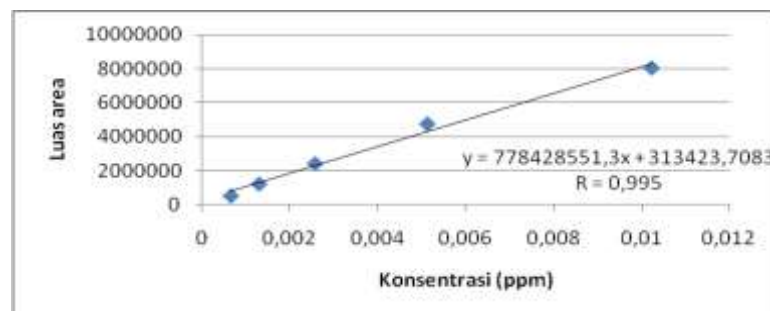


Gambar 1. Profil kromatogram standar kurkumin, pada kolom SunFire™ C18 5 μm 4,6 x 150 mm deteksi panjang gelombang 380-800 nm, fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (65 : 35) (a), fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40) (b).

Uji pendahuluan fase gerak dilakukan dengan memilih dua sistem fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (65 : 35) dan asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40). Kondisi kromatografi diatur dengan flow rate 0,8 mL/menit dan deteksi panjang gelombang 380-800 nm. Berdasarkan hasil optimasi, dapat dilihat fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (65 : 35) (Gambar 1 a) memberikan resolusi 1,7 sedangkan fase gerak asetonitril : asam fosfat 0,5% (60 : 40) (Gambar 1 b) memberikan resolusi 2,1. Nilai resolusi yang dihasilkan harus lebih dari 1,5 [8], yang berarti bahwa kedua puncak terpisah dengan sempurna.

Sistem fase gerak B lebih dipilih daripada fase gerak A (Gambar 1)

karena memberikan resolusi yang lebih tinggi sehingga pemisahannya pun lebih baik. Senyawa kurkumin merupakan suatu senyawa yang bersifat polar, jika digunakan sistem fase terbalik maka kurkumin akan berinteraksi lemah dengan fase diam, sebaliknya kurkumin akan berinteraksi kuat dengan fase gerak sehingga akan terbawa keluar melewati kolom. Akan tetapi dengan adanya rintangan sterik berupa dua gugus metoksi pada struktur kurkumin menyebabkan senyawa kurkumin keluar pada waktu retensi yang lama setelah keluarnya bisdemetoksikurkumin dan demetoksikurkumin.



Gambar 2. Kurva baku kurkumin diperoleh dari plot konsentrasi dan luas area

Tabel 1. Hasil analisis parameter akurasi

Penambahan standar (%)	Kadar rata-rata (mg/kapsul)		% recovery rata-rata		Kesimpulan
	Produk I	Produk II	Produk I	Produk II	
80	10,33	13,41	127,30±3,21	104,58±4,68	Sampel Produk II memenuhi syarat
100	11,86	16,80	132,40±1,77	108,08±0,20	
120	12,46	18,27	120,36±12,36	98,89±1,28	

3.2. Panjang Gelombang Maksimum dan Kurva Baku Kurkumin

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana suatu zat mempunyai nilai respon paling besar. Pada panjang gelombang maksimum, zat mampu memberikan respon yang maksimum, terutama pada konsentrasi analit yang akan dianalisis lebih rendah. Penentuan panjang gelombang maksimum sangat penting dalam melakukan uji kualitatif suatu senyawa karena berkaitan dengan sifat spesifik pada masing-masing senyawa seperti gugus kromofornya dan transisi elektroniknya [9]. Dan dari hasil penelitian diperoleh panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan respon maksimum pada 425,5 nm. Jadhav et al., (2007) menyatakan penggunaan metode HPLC dengan detektor UV/Vis atau PDA pada panjang gelombang 260-450 nm untuk mendeteksi kurkuminoid pada beberapa produk dan Bos et al., (2007) menggunakan HPLC dengan detektor PDA pada 425 nm untuk analisis kurkuminoid pada beberapa genus *Curcuma* [5, 9].

Pembuatan seri kurva baku diambil 5 titik seri konsentrasi mulai konsentrasi 0,0064% sampai 0,01024% diperoleh nilai koefisien korelasi 0,995 (Gambar 2).

3.3. Akurasi dan Presisi

Akurasi ditentukan dengan menambahkan 80, 100, dan 120 mg standar kurkumin pada masing-masing sampel. Dari hasil penelitian, nilai % recovery rata-rata yang didapat untuk sampel Produk I secara berturut-turut 127,30±3,21%, 132,40±1,77%, dan 120,36±12,36% sedangkan untuk sampel Produk II 104,58±4,68%, 108,08±0,20%, dan 98,89±1,28% (Tabel 1). Protokol validasi kuantitatif metode kemurnian, rata-rata recovery antara 90-110% [8]. Menurut hasil pengujian akurasi yang diperoleh, sampel Produk I tidak memenuhi persyaratan akurasi sedangkan sampel Produk II memenuhi kisaran tersebut. Penelitian serupa dengan Kumudhavalli et al., (2011) dengan nilai % recovery antara 98,1%-100,2% pada sediaan tablet kurkumin [10].

Presisi dinyatakan dengan standar

Tabel 2. Hasil analisis parameter presisi antara dan keterulangan

Parameter	Kadar rata-rata (mg/kapsul)		RSD (%)		Kesimpulan
	Produk I	Produk II	Produk I	Produk II	
Presisi antara	6,40	1,29	1,27	1,16	Kedua sampel memenuhi syarat
Keterulangan	6,65	1,24	1,55	0,66	Kedua sampel memenuhi syarat

penyimpangan. Dalam penelitian ini, parameter yang digunakan adalah presisi antara (interday precision) dan keterulangan (intraday precision). Syarat keberterimaan dalam parameter presisi adalah nilai RSD (simpangan baku relatif).

Presisi antara yakni presisi pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda, baik orang, alat, tempat ataupun waktunya [8]. Presisi antara dilakukan untuk mengetahui kesalahan acak dalam proses penimbangan sampel. Pengujian parameter ini dilakukan selama tiga hari dengan 7 ulangan setiap harinya. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar kurkumin sampel Produk I diperoleh RSD rata-rata 1,27% dan untuk sampel Produk II 1,16% (Tabel 2). RSD yang dihasilkan kurang dari 2% jadi dapat disimpulkan bahwa hasil presisi antara ini teliti karena pada pengujian dengan kondisi percobaan yang berbeda tidak mempengaruhi hasil analisis. Sama halnya dengan penelitian yang dilakukan Kumudhavalli et al., (2011) menghasilkan RSD sebesar 0,821% pada sediaan tablet kurkumin [10].

Keterulangan adalah presisi pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya,

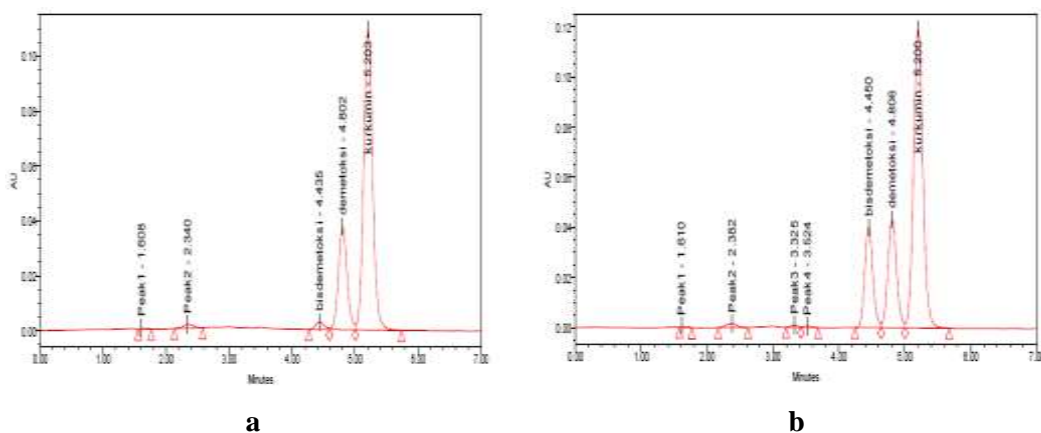
peralatannya, tempatnya, maupun waktunya [8]. Pengujian dilakukan dengan 7 ulangan sampel dengan keberterimaan RSD yang dihasilkan kurang dari 2%. Berdasarkan data penelitian diperoleh nilai RSD untuk sampel Produk I 1,55% dan sampel Produk II 0,66% (Tabel 2). Nilai ini memenuhi syarat keberterimaan menurut [8].

Hasil pembacaan pada KCKT, dapat dilihat bahwa hasil pemisahan peak kromatogram kedua sampel menunjukkan pola kromatogram yang sangat identik karena keduanya mengandung senyawa kurkumin (Gambar 3).

3.4. Keseragaman Kandungan Kurkumin

Sebelum dilakukan pengujian keseragaman kandungan, dilakukan uji keseragaman bobot terlebih dahulu. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa bobot dalam kapsul memiliki jumlah zat aktif yang sama dengan asumsi bahwa serbuk yang ada dalam kapsul terdistribusi homogen.

Dalam produk I tertera pada kemasan mengandung ekstrak Curcuma xanthorrhiza yang setara dengan 5 mg kurkumin. Setelah dilakukan pengujian keseragaman



Gambar 3. Profil kromatogram sampel produk I (a) dan sampel produk II (b).

Tabel 3. Hasil analisis keseragaman kandungan Produk I

Penimbangan (mg)	Luas area	Kadar (% b/v)	Kadar terhitung (mg/kapsul)	% Keseragaman kandungan
454,72	1028265	0,0918	5,063	101,26
491,22	1070758	0,0973	4,967	99,34
491,31	1101639	0,1013	5,165	103,3
514,20	1170936	0,1102	5,374	107,48
526,84	1179203	0,1112	5,293	105,86
481,19	1050136	0,0946	4,930	98,60
491,95	1080625	0,0986	5,026	100,52
530,10	1128697	0,1047	4,953	99,06
512,65	1014937	0,0901	4,407	88,14
521,32	1086468	0,0993	4,777	95,54
Rata-rata		0,0999	4,996	99,91

bobot dan keseragaman kandungan, mengacu pada ketentuan Farmakope Indonesia edisi IV, hasil keseragaman kandungan ini dapat diterima, karena secara keseluruhan % keseragaman kandungan ini berada dalam rentang 85,0%-115,0%. Kadar terhitung rata-rata yang diperoleh adalah 4,996 mg atau setara dengan 99,91% (Tabel 3) yang berarti bahwa kadar zat aktif kurkumin dalam produk obat herbal ini hampir mendekati dengan yang tertera pada kemasan.

4. KESIMPULAN

Dari dua produk yang diteliti diperoleh kadar setiap kapsulnya adalah 4,92 mg (% recovery 80, 100, dan 120%: 127,30±3,21%, 132,40±1,77%, 120,36±12,36%; RSD keterulangan 1,55%; dan RSD presisi antara 1,27%) untuk produk I. Sedangkan untuk produk II adalah 1,90 mg (104,58±4,68%, 108,08±0,20%, 98,89±1,28%; 0,66%; dan 1,16%). Uji keseragaman kandungan untuk produk I memenuhi kriteria 4,996 mg (99,91% dalam rentang 85,0%-115,0%) sedangkan produk II tidak dilakukan uji yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini..

REFERENSI

- [1] Achmad, S. A., Hakim, E. H., Makmur, L., Syah, Y.M., Juliwaty, L. D., dan Mujahidin, D., *Tumbuh-tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 2, Bandung. Penerbit ITB, 2007.
- [2] Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications, *Curr Sci*. 2004; 87: 44-50.
- [3] Revathy S., Elumalai S., Merina B. and Benny A. Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography, *J Exp Sci*. 2011; 2: 21-25.
- [4] Rohman, A. Analysis of Curcuminoids in Food and Pharmaceutical Products, *International Food Research Journal*, 2012; 19:1, 19-27.
- [5] Jadhav, B, K., Mahadik, K. R., dan Paradkar, A. R. Development and Validation of Improved Reversed Phase-HPLC Method for Simultaneous Determination of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bismethoxycurcumin, *Chromatographia*, 2007; 65: 483-488.
- [6] Hanwar D., Handayani V. R., dan Suhendi A. Validasi Metode HPLC untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), *Proceeding of The Urecol 12*. 2020: 371-378

- [7] Jayaprakasha, G. K., Jaganmohan, Rao, L., Sakariah, K. K. Improved HPLC Method for Determination of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin, *J. Agric Food Chem*, 2002, 50: 3668-72.
- [8] Mulja M dan Hanwar D. Prinsip-prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik (Good Laboratory Practice), *Majalah Farmasi Airlangga*. 2003; 3 (2): 71-76
- [9] Bos, R., Windono, T., Woerdenbag, H.J., Boersma, Y., Koulman, A., Kayser, O. HPLC-Photodiode Array Detection Analysis of Curcuminoids in Curcuma Species Indigenous to Indonesia, *Phytochemical Analysis*. 2007; 18: 118–122
- [10] Kumudhavalli, M.V., Saravanan, C., Thamizh, M.M., Jayakar, B. Analytical Method Development and Validation of Curcumin in Tablet dosage Form by RPHPLC Method, *IRJP*. 2011; 2, (1): 233- 236.