

Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Penulis Makmum Syafi'i¹, Eti Rohaeti¹, Wulan Tri Wahyuni^{1,2*}, Mohamad Rafi^{1,2}, Dewi Anggraini Septaningsih²

Afiliasi ¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

²Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

Kata Kunci

- *Curcuma mangga*
- kromatografi lapis tipis
- sidik jari

Diterima 5 September 2018

Direvisi 2 November 2018

Disetujui 26 November 2018

***Corresponding author**

Wulan Tri Wahyuni

Jalan Tanjung Kampus IPB,
Dramaga, Babakan, Dramaga,
Bogor, Jawa Barat 16680
wulantriws@gmail.com

ABSTRAK

Profil sidik jari kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dimanfaatkan untuk kendali mutu bahan baku maupun produk tumbuhan obat. Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode analisis sidik jari rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*) untuk kendali mutunya. Rimpang kering temu mangga diekstraksi menggunakan metanol dan dianalisis sidik jari KLT. Kloroform:etil asetat (8.5:1.5) merupakan fase gerak optimum yang memisahkan 11 pita dari rimpang temu mangga dengan keterpisahan yang baik dan memiliki pita khas biru tua (R_f 0.36). Demetoksikurkumin terdeteksi pada rimpang temu mangga dengan warna jingga kecoklatan pada UV 366 nm (R_f 0.48) setelah diderivatisasi dengan pereaksi asam sulfat 10%. Pengujian spesifitas terhadap rimpang lain dalam satu genus, rimpang temu mangga menunjukkan pola yang berbeda. Validasi metode analisis sidik jari KLT memenuhi kriteria keberterimaan, sehingga metode ini dapat digunakan untuk kendali mutu rimpang temu mangga.

PENDAHULUAN

Temu mangga (*C. mangga*) merupakan salah satu spesies dari genus *Curcuma* yang banyak digunakan di Indonesia sebagai obat tradisioal (jamu). Rimpang merupakan bagian temu mangga yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional karena rimpang temu mangga memiliki khasiat sebagai obat maag, diare, penghilang nyeri saat haid, keputihan, serta mengobati jerawat dan bisul (Tedjo *et al.* 2005). Rimpang segar temu mangga memiliki ciri khas berwarna kuning muda dan memiliki bau khas seperti bau buah mangga, sehingga mudah dibedakan dengan rimpang lain yang berkerabat dekat dengannya. Namun demikian, serbuk kering rimpang temu mangga akan sulit dibedakan dari serbuk kering rimpang tumbuhan yang berkerabat dengannya seperti bangle, kunyit, dan temulawak. Harga jual serbuk rimpang temu mangga juga lebih mahal dibandingkan rimpang-rimpang tersebut, sehingga dapat memicu terjadinya substitusi bahan baku obat herbal yang berbasis temu mangga. Oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi dan kendali mutu agar khasiat, keamanan, dan



mutu obat herbal tetap terjaga.

Identifikasi terhadap bahan baku memerlukan suatu metode analisis. Salah satu metode analisis yang sering digunakan dalam kendali mutu bahan baku ialah pendekatan sidik jari. Pendekatan sidikjari akan memvisualisasi secara keseluruhan metabolit dalam sampel (Lin *et al.* 2006). Teknik kromatografi merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk menunjukkan pola sidik jari keseluruhan dengan merepresentasikan keragaman komponen yang terdapat pada tanaman obat tanpa memperhatikan jenisnya (Liang *et al.* 2004), khususnya kromatografi lapis tipis (KLT). Analisis sidik jari KLT dapat dilakukan secara kualitatif, yaitu menganalisis profil hasil pemisahan berdasarkan jumlah, posisi, warna, intensitas serta R_f (*retardation factor*) pita yang dihasilkan. Kromatografi lapis tipis memiliki kelebihan berupa mudah dalam preparasi sampel, sederhana, biaya operasional relatif murah karena semua komponen sampel dan standar diujikan dalam waktu yang sama, volume pelarut yang digunakan sedikit, selektif dan sensitif, serta kromatogramnya dapat diamati secara visual (Kimura *et al.* 2008).

Analisis sidik jari dengan KLT telah dilakukan untuk identifikasi kunyit, bangle, dan temulawak (Rafi *et al.* 2011); pegagan (*Centella asiatica*) (James dan Dubery 2011); *Potentilla* (Swieboda *et al.* 2014); dan *phyllanthus amarus* (Ketmongkhonsit *et al.* 2015). Di dalam tulisan ini telah dikembangkan suatu metode analisis sidik jari rimpang temu mangga menggunakan kromatografi lapis tipis. Metode yang telah dikembangkan digunakan untuk mengidentifikasi temu mangga dari tiga jenis rimpang tumbuhan yang berkerabat dekat dengannya.

METODE

Alat dan Bahan

Alat

Peralatan yang digunakan, yaitu KLT aplikator semiotomatis Camag Linomat 5 (CAMAG, Muttenez, Swiss), bejana kromatografi twin trough (CAMAG, Muttenez, Swiss), CAMAG Reprostar 3 (CAMAG, Muttenez, Swiss), aplikasi winCATS (CAMAG, Muttenez, Swiss), dan ultrasonikator Branson 1510 (Branson, Danbury, USA).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan terdiri atas pelat KLT silica gel 60 F254 20×20 cm (Merck, Darmstadt, Jerman); n-heksana pa (Merck, Darmstadt, Jerman), dietil eter pa (Merck, Darmstadt, Jerman), diklorometana pa (Merck, Darmstadt, Jerman), kloroform pa (Merck, Darmstadt, Jerman), etil asetat pa (Merck, Darmstadt, Jerman), etanol pa (Merck, Darmstadt, Jerman), aseton pa (Merck, Darmstadt, Jerman), metanol pa (Merck, Darmstadt, Jerman), asetonitril pa (Merck, Darmstadt, Jerman), asam sulfat (Merck, Darmstadt, Jerman).

Rimpang temu mangga yang digunakan terdapat 5 sampel yang diambil dari beberapa lokasi. Selain itu digunakan produk jamu, serbuk rimpang temu mangga, rimpang bangle, temulawak dan kunyit (Tabel 1).

Ekstraksi Simplisia

Serbuk sampel ditimbang sebanyak 1 g dan ditambahkan dengan 10 mL metanol dan diekstraksi selama 30 menit menggunakan ultrasonikator dengan frekuensi 42 kHz pada suhu ruang. Ekstrak disaring ke dalam botol yang bersih kemudian ditutup rapat.

Tabel 1 Asal dan Kode Sampel

Asal Sampel	Kode Sampel
Rimpang temu mangga asal Desa Cihanjavar, Kecamatan Nagrak, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat	M1
Rimpang temu mangga asal Pasar Anyar Bogor, Jawa Barat	M2
Rimpang temu mangga asal Pasar Merdeka Bogor, Jawa Barat	M3
Rimpang temu mangga asal Pasar Bogor Bogor, Jawa Barat	M4
Rimpang temu mangga asal Pasar Senen, Jakarta Pusat	M5
Produk jamu serbuk rimpang temu mangga asal Pasar Senen, Jakarta Pusat	J
Rimpang bangle asal kebun Biofarmaka IPB, Bogor, Jawa Barat	B
Rimpang temulawak asal kebun Biofarmaka IPB, Bogor, Jawa Barat	L
Rimpang kunyit asal kebun Biofarmaka IPB, Bogor, Jawa Barat	K



Preparasi Pelat dan Kondisi Aplikasi Sampel

Pelat KLT silika gel 60 F254 dipotong dan dikembangkan dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan metanol. Pelat dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105 °C sampai kering. Pelat yang telah kering digunakan untuk aplikasi sampel.

Penotolan sampel menggunakan KLT aplikator semiotomatis, yaitu Camag Linomat 5. Kondisi aplikasi sampel, yaitu gas pembawa menggunakan gas nitrogen, sampel diaplikasikan konstan dengan laju 70 nL/detik, aplikasi volume sampel sebesar 15 µL, lebar pita 8 mm, dan jarak antar spot pita sebesar 4 mm.

Pemilihan Fase Gerak

Ekstrak M diaplikasikan pada pelat. Pelat yang telah dilakukan penotolan ekstrak dikembangkan dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan pelarut tunggal sebanyak 10 mL selama 30 menit. Pelarut yang digunakan, yaitu n-heksana, dietil eter, asetonitril, aseton, diklorometana, kloroform, etil asetat, etanol, metanol, dan kombinasi beberapa pelarut. Pelat dikembangkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Setelah pengembangan selesai, pelat dikeluarkan dan dikeringkan pada suhu ruang, kemudian diamati kromatogramnya.

Pembuatan Pereaksi Pewarna, Deteksi, dan Derivatisasi Komponen (Reich dan Schibili 2006)

Derivatisasi komponen dilakukan dengan cara pelat dicelupkan menggunakan pereaksi asam sulfat 10% dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100 °C selama 10 menit. Pelat yang telah kering diamati pada sinar tampak dan UV 366 nm.

Validasi metode

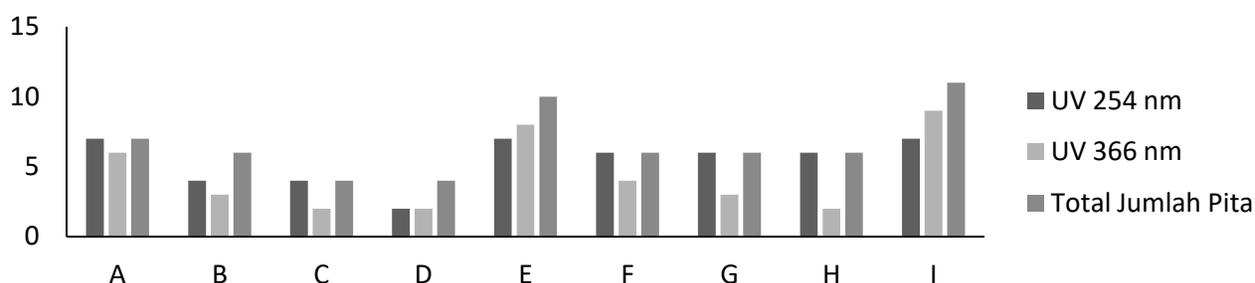
Kondisi dengan fase gerak terpilih selanjutnya dilakukan validasi metode. Parameter validasi metode yang dilakukan meliputi: Pertama presisi dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan 3 hari yang berbeda (presisi antara). Kedua ketegaran (robustness) dilakukan dengan pengembangan pelat pada perbedaan tipe bejana (twin trough dan flat bottom) dan jarak pengembangan (7 cm dan 8 cm). Ketiga spesifitas dilakukan dengan perbandingan analisis sidik jari rimpang temu mangga dari beberapa lokasi (M1-5) dibandingkan dengan produk jamu serbuk rimpang temu mangga (J), rimpang bangle (B), temulawak (L) dan kunyit (K).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fase Gerak Terbaik

Pemilihan fase gerak terbaik dilakukan dengan mengembangkan pelat kromatografi lapis tipis yang telah diaplikasikan ekstrak temu mangga dengan 9 pelarut tunggal yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Pola sidik jari kromatografi lapis tipis yang dihasilkan dari pengembangan 9 pelarut tunggal dipilih tiga pelarut yang menghasilkan pita terbanyak dengan keterpisahan yang baik. Pelarut yang dipilih adalah kloroform, diklorometana, dan etil asetat. Ketiga pelarut tunggal tersebut dikombinasikan menjadi 2 fase gerak campuran, yaitu kloroform:diklorometana, dan kloroform:etil asetat. Kombinasi ini dilakukan dengan beberapa perbandingan. jumlah pita yang dihasilkan pada deteksi UV 254 nm, UV 366 nm, dan total jumlah pita keseluruhan pada berbagai komposisi fase gerak ditampilkan pada Gambar 1.

Jumlah Pita

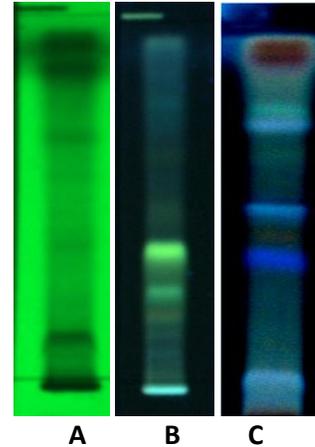


Gambar 1 Komposisi campuran fase gerak dan total jumlah pita kloroform:diklorometana dengan perbandingan (A) 9:1, (B) 7:3, (C) 5:5, (D) 2:8, dan kloroform:etil asetat dengan perbandingan (E) 9:1, (F) 7:3, (G) 5:5, (H) 1:9, (I) 8.5:1.5.



Komposisi pelarut yang berbeda memberikan jumlah pita yang berbeda. Hal ini disebabkan perbedaan tingkat kepolaran pelarut untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam rimpang temu mangga. Jumlah pita terbanyak pada ekstrak temu mangga diperoleh pada komposisi fase gerak campuran kloroform dan etil asetat (9:1) yaitu 10 pita. Intensitas warna yang rendah pada beberapa pita diduga senyawa memiliki konsentrasi yang rendah. Selanjutnya, komposisi kloroform:etil asetat (9:1) dihitung nilai resolusi masing-masing pitanya untuk menentukan keterpisahan pitanya.

Keterpisahan antar pita juga merupakan faktor penting dalam kromatografi lapis tipis. Keterpisahan antar pita dikatakan baik jika memiliki nilai resolusi yang baik (>1.5). Nilai resolusi eluen campuran kloroform:etil asetat (9:1) tidak memenuhi syarat keterpisahan yang baik (Tabel 2), sehingga dilakukan modifikasi kembali komposisi fase gerak campuran antara kloroform dengan etil asetat. Komposisi fase gerak campuran kloroform:etil asetat (8.5:1.5) dipilih. Komposisi fase gerak campuran kloroform:etil asetat (8.5:1.5) dipilih sebagai fase gerak terbaik yang memiliki 7 pita pada deteksi UV 254 nm, 9 pita pada deteksi UV 366 nm, dan 11 pita pada deteksi UV 366 nm setelah derivatisasi (Gambar 2). Fase gerak terbaik yang diperoleh digunakan untuk analisis selanjutnya yaitu validasi metode.



Gambar 2 Pola sidik jari KLT serbuk M1 komposisi fase gerak kloroform:etil asetat (8.5:1.5). Deteksi yang digunakan (A) UV 254 nm, (B) UV 366 nm, dan (C) UV 366 nm setelah derivatisasi.

Presisi

Uji presisi dilakukan pada tiga pelat yang berbeda pada hari yang sama. Jumlah, posisi, intensitas, dan warna pada pita merupakan parameter yang menentukan analisis presisi pada kromatografi lapis tipis. Pengamatan presisi antara dilakukan pada dua hari berikutnya. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan, tidak ada perbedaan yang signifikan dari jumlah, letak, warna, dan intensitas pita dari hasil

Tabel 2 Nilai resolusi pita fase gerak kloroform:etil asetat (9:1 dan 8.5:1.5) pada deteksi 366 nm

Komposisi Perbandingan Fase Gerak	Pita	Jarak pita	Lebar pita	R_f	Resolusi
Kloroform : etil asetat (8.5 : 1.5)	1	0.90	0.10	0.11	9.00
	2	1.30	0.10	0.16	2.67
	3	1.70	0.20	0.21	1.60
	4	2.25	0.30	0.28	1.60
	5	3.10	0.40	0.39	2.43
	6	4.00	0.30	0.50	3.60
	7	5.20	0.20	0.65	6.00
	8	7.50	0.20	0.94	15.30
	9	7.70	0.10	0.96	2.00
Kloroform : etil asetat (9 : 1)	1	0.70	0.10	0.09	7.00
	2	1.00	0.10	0.13	3.00
	3	1.25	0.10	0.16	1.67
	4	1.60	0.20	0.20	1.00
	5	2.50	0.50	0.31	2.57
	6	4.00	0.20	0.50	7.50
	7	7.30	0.20	0.91	16.50
	8	7.60	0.20	0.95	3.00

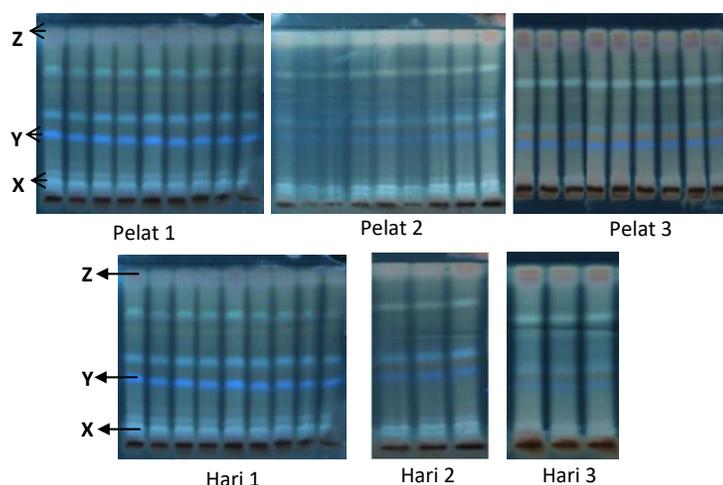
pengembangan yang telah dilakukan (Gambar 3). Pada pola sidik jari, tiga buah pita dipilih untuk diamati perubahan migrasi yang mewakili bagian paling bawah (X, R_f 0.10), tengah (Y, R_f 0.36), dan atas (Z, R_f 0.95). Pita X, Y, dan Z dihitung pada masing-masing pelat (uji presisi) dan hari (uji presisi antara). Selisih nilai R_f setiap pita yang didapat berkisar 0-0.02 untuk uji presisi dan berkisar 0.01-0.04 untuk uji presisi antara. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji presisi dan presisi antara dapat diterima, karena syarat selisih nilai R_f tidak lebih dari 0.02 untuk uji presisi dan tidak lebih dari 0.05 untuk uji presisi antara (Reich dan Schibli 2006).

Spesifitas

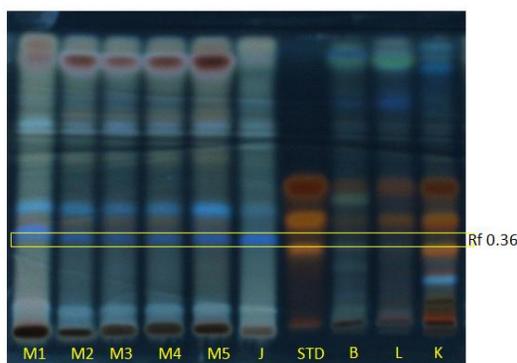
Spesifisitas metode pengujian rimpang temu mangga diukur dengan membandingkan sidik jari rimpang temu mangga dengan tanaman obat lain yang

memiliki kesamaan secara fisik dan juga berkerabat dekat dengannya. Sampel serbuk rimpang bangle (B), kunyit (K), dan temulawak (L) dipilih sebagai pembanding karena berkerabat dekat dengan serbuk rimpang temu mangga. Serbuk B, K, dan L tersebut cukup sulit dibedakan dengan serbuk rimpang temu mangga dan mungkin dapat dijadikan sebagai pemalsu dari serbuk rimpang temu mangga.

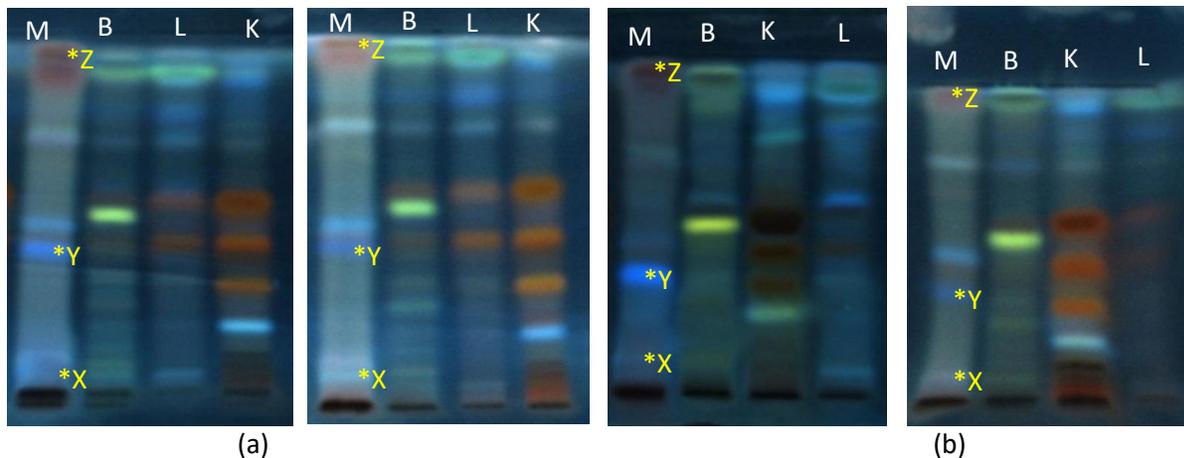
Hasil analisis KLT yang dilakukan terhadap serbuk temu mangga dari beberapa lokasi, B, L, dan K menunjukkan kromatogram yang cukup berbeda nyata (Gambar 4). Pola sidik jari dari keempat tanaman berbeda dari jumlah pita, dan warna pita yang dimiliki. Rimpang M, B, L, dan K masing-masing memiliki 11, 13, 12, dan 10 pita. Rimpang temu mangga (M) memiliki satu pita berwarna biru tua yang dapat dijadikan sebagai ciri khas dan pembeda dengan rimpang lain



Gambar 3 Pola sidik jari KLT temu mangga, bangle, kunyit, dan temulawak pada uji ketegaran jarak pengembangan dengan deteksi UV 366 nm setelah derivatisasi.



Gambar 4 Spesifitas pola sidik jari KLT serbuk rimpang temu mangga dari 5 tempat berbeda, yaitu M1, M2, M3, M4, M5; produk serbuk jamu rimpang temu mangga (J); standar kurkuminoid, (a) kurkumin, (b) demetoksikurkumin, (c) bisdemetoksikurkumin.



Gambar 5 Pola sidik jari KLT M1, B, L, dan K pada uji ketegaran tipe bejana (a) dan jarak pengembangan (b) dengan deteksi UV 366 nm setelah derivatisasi.

dengan nilai R_f sebesar 0.36.

Salah satu kandungan kimia yang dimiliki rimpang temu mangga, yaitu demetoksikurkumin. Pola sidik jari dari 5 sampel rimpang temu mangga yang diperoleh dari berbeda-beda tempat terlihat mengandung senyawa demetoksikurkumin (R_f 0.48) yang menghasilkan warna jingga kecoklatan dengan intensitas warna yang rendah (Gambar 4). Sementara itu, rimpang bangle dan temulawak mengandung senyawa kurkumin dan demetoksikurkumin; sedangkan rimpang kunyit mengandung kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin. Pola sidik jari yang dihasilkan antara M1, M2, M3, M4, M5, dan J tidak terlihat berbeda dari jumlah pita yang dihasilkan. Namun, intensitas warna beberapa pita terlihat berbeda. Hal ini diduga konsentrasi suatu senyawa yang dimiliki rimpang temu mangga berbeda dari tempat yang berbeda.

Ketegaran

Parameter yang dilakukan pada uji ketegaran, yaitu ketegaran tipe bejana dan ketegaran jarak pengembangan. Ketegaran tipe bejana dilakukan untuk membandingkan hasil pengembangan pelat pada bejana *twin trough* dan *flat bottom*. Pola sidik jari yang dihasilkan menunjukkan pengembangan dengan bejana *twin trough* maupun *flat bottom* menghasilkan jumlah pita yang sama (Gambar 5a). Selisih nilai R_f dari 3 pita X, Y, dan Z tidak lebih dari 0.05 sehingga parameter ketegaran tipe bejana memenuhi kriteria

keberterimaannya. Uji ketegaran jarak pengembangan dilakukan dengan membandingkan pola sidik jari KLT temu mangga pada jarak pengembangan 8 cm dan 7 cm. Pita pada jarak pengembangan 8 cm dan 7 cm menghasilkan jumlah yang sama (Gambar 5b). Pita X, Y, dan Z memiliki selisih nilai R_f maksimum tidak lebih dari 0.05 sehingga parameter ketegaran jarak pengembangan memenuhi kriteria keberterimaannya.

SIMPULAN

Metode analisis sidik jari kromatografi lapis tipis rimpang temu mangga telah berhasil dikembangkan. Fase gerak terpilih adalah kloroform:etil asetat (8.5:1.5) yang mampu memisahkan 11 pita pada serbuk rimpang temu mangga dengan deteksi menggunakan UV 366 nm setelah diderivatisasi menggunakan pereaksi asam sulfat 10%. Oleh karena itu metode ini dapat digunakan untuk kendali mutu rimpang temu mangga.

DAFTAR PUSTAKA

- James JT, Dubery IA. 2011. Identification and Quantification of Triterpenoid Centelloids in *Centella asiatica* (L.) Urban by Densitometric TLC. *Journal of Planar Chromatography*. 24(1):82-87.
- Ketmongkhonsit P, Chaichantipyuth C, Palanuvej C, Thitikornpong W, Sukrong S. 2015. A validated TLC-image analysis method for detecting and quantifying bioactive phyllanthin in *Phyllanthus amarus* and commercial herbal drugs.



- Songklanakar Journal Science Technology. 320 37 (3): 319-326
- Kimura M, Fujimura M, Yoshida M, Takeshi T, Naoko TA. 2008. An easy method to identify 8-keto-15-hydroxytrichothecenes by thin layer chromatographic. *Mycotoxins*. 58 : 115-117.
- Liang YZ, Xie P, Chan K. 2004. Quality control of herbal medicines. *Journal of Chromatography B*. 812: 53-70.
- Lin CY, Viant, MR, and Tjeerdema RS. 2006. Metabolomics: methodologies and application in the environmental sciences. *Journal of Pesticides Science*. 31 (3): 245-251.
- Rafi M, Rohaeti E, Miftahuddin A, Darussman LK. 2011. Differentiation of *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar* by thin layer chromatography fingerprint analysis. *Indonesian Journal of Chemistry*. 11(1): 71-74
- Reich E, Shibli A. 2006. *High Performance Thin Layer Chromatography for The Analysis of Medicinal Plants*. New York (US): Thieme Medical Publishers,
- Swieboda R, Jozwiak A, Jozwiak G, Hajnus MW. 2014. Thin layer chromatography and chemometric studies of selected *Potentilla* species. *American Journal of Analytical Chemistry*. 5:1109-1120.
- Tedjo A, Sajuthi D, Darusman LK. 2005. Aktivitas kemoprevensi ekstrak temu mangga. *Jurnal Kesehatan*. 9(2): 57-62.

