

LAPORAN PENELITIAN
PENGARUH PRETREATMENT *SACCHAROMYCES CEREVICEAE*
DAN SUHU ENKAPSULASI DALAM ENKAPSULASI EKSTRAK
TEMULAWAK DENGAN *SACCHAROMYCES CEREVICEAE*



Disusun Oleh:

Katherine, Ph.D.

Dr.Ir. Asaf Kleopas Sugih

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat

Universitas Katolik Parahyangan

2015

DAFTAR ISI

Daftar Isi	1.
Abstrak	2.
BAB I. PENDAHULUAN	3.
1.1. Latar Belakang	3.
1.2. Tema Sentral Masalah	5.
1.3. Tujuan Khusus	5.
1.4. Target luaran Penelitian	5.
BAB II. STUDI PUSTAKA	6.
2.1. Temulawak dan komposisinya	6.
2.2. Ekstraksi rimpang temulawak	8.
2.3. Enkapsulasi dengan yeast	9.
BAB III. METODE PENELITIAN	10.
3.1. Bahan Baku dan Bahan untuk Analisis	10.
3.2. Peralatan Utama dan Analisis	10.
3.3. Prosedur penelitian	11.
3.4. Metode Analisis	13.
BAB IV. JADWAL DAN LOKASI PENELITIAN	15.
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	16.
5.1. Kadar kurkumin ekstrak temulawak	16.
5.2. Pengaruh pre-treatment yeast terhadap enkapsulasi kurkumin murni	17.
5.3. Pengaruh konsentrasi yeast dan suhu dalam enkapsulasi kurkumin murni	17.
5.4. Pengaruh suhu enkapsulasi dalam enkapsulasi ekstrak temulawak	20.
5.5. Analisis profil pelepasan kurkumin	21.
5.6. Analisis dengan <i>microscope fluorescence</i>	21.
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24.
DAFTAR PUSTAKA	25.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kemungkinan meningkatkan nilai tambah tumbuhan herba lokal Indonesia, yaitu temulawak. Ekstrak temulawak mudah rusak bila terkena paparan sinar matahari, pH dan udara. Untuk memperpanjang waktu penyimpanan ekstrak temulawak, ekstrak dienkapsulasi dalam medium enkapsulasi. Medium enkapsulasi yang dipilih adalah ragi *Saccharomyces cereviceae* dengan mempertimbangkan proses enkapsulasi dengan ragi relatif sederhana dengan menggunakan bahan yang mudah diperoleh dan murah.

Pada penelitian ini akan dipelajari pengaruh pretreatment ragi dalam proses enkapsulasi dan pengaruh suhu enkapsulasi terhadap enkapsulasi ekstrak temulawak. Selain itu parameter enkapsulasi, yaitu konsentrasi yeast dan suhu enkapsulasi akan dipelajari menggunakan kurkumin murni. Efisiensi proses enkapsulasi dan yield proses enkapsulasi diperkirakan dengan mengukur kadar kurkumin yang ada di dalam mikrokapsul ragi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak temulawak dan kurkumin murni dapat dienkapsulasi dengan yeast. Adapun % EE dan % EY kurkumin murni ditentukan oleh konsentrasi yeast dan suhu enkapsulasi. Semakin tinggi konsentrasi yeast, semakin tinggi % EE dan % EY. % EE dan % EY ekstrak temulawak bergantung pada suhu enkapsulasi dengan suhu optimum adalah pada 45 °C. Analisis profil pelepasan kurkumin menunjukkan bahwa kurkumin dilepaskan secara bertahap di dalam waktu beberapa jam. Selain itu kelarutan kurkumin dari kurkumin murni dan ekstrak temulawak meningkat setelah dienkapsulasi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Jamu merupakan racikan berbagai tanaman lokal yang digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia. Racikan jamu merupakan warisan kearifan lokal yang manfaatnya telah dirasakan oleh bangsa Indonesia. Hal ini ditunjukkan dari data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2010 yang menyebutkan bahwa lebih dari separuh penduduk Indonesia pernah mengonsumsi jamu. Dari jumlah penduduk yang mengonsumsi jamu tersebut, 96% merasakan manfaatnya. (Balitbangkes,2010).

Meskipun jamu merupakan salah satu bentuk kearifan lokal, penggunaan jamu oleh masyarakat masih kecil bila dibandingkan dengan penggunaan obat modern. Salah satu penyebabnya adalah bentuk pengolahan bahan alam yang masih sederhana. Pada umumnya bahan alam dikeringkan dalam bentuk simplisia untuk memperpanjang umur penyimpanan. Kemudian simplisia tersebut dimasak dengan air panas dan air seduhannya diminum. Bentuk pengolahan seperti ini tidak memiliki aspek pengendalian kualitas. Di samping itu, potensi pemanfaatan bahan alam menjadi tidak optimal mengingat banyaknya komponen yang terdapat dalam suatu bahan alam. Proses pengolahan sederhana tidak memungkinkan optimalnya isolasi senyawa yang bermanfaat dan pemisahan senyawa yang tidak bermanfaat.

Penelitian ini berfokus pada peningkatan nilai bahan alam yang dijadikan bahan baku jamu, yaitu temulawak. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), adalah tanaman yang asli berasal dari Indonesia. Sebagai tanaman yang banyak memiliki khasiat, temulawak merupakan komponen penyusun hampir tiap jenis jamu. Laporan penggunaan jamu untuk pengobatan pada pasien di klinik Sainifikasi Jamu menunjukkan bahwa rimpang temulawak merupakan bahan yang paling banyak tersedia dan pada saat yang bersamaan paling cepat habis. (Ahmad, 2012)

Secara tradisional, temulawak biasa digunakan untuk mengobati berbagai gejala penyakit seperti kembung, gangguan pencernaan, demam dan ambeien. Efektifnya temulawak dalam mengobati gejala – gejala ini disebabkan oleh kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalam temulawak. Analisis menunjukkan bahwa rimpang temulawak mengandung pati (48-59%), serat (2,5-4,8%), minyak atsiri seperti *phelandren*, *camphor*, *tumerol*, *sineol*, *borneol*, and *xanthorrhizol* (1,5-1,6%), dan kurkuminoid (1,6-2,2%) (Mangunwardoyo,W., *et al*, 2012).

Proses pengolahan temulawak biasanya meliputi proses pengeringan rimpang segar, diikuti oleh pengecilan ukuran rimpang menjadi serbuk. Serbuk temulawak kemudian dapat dikonsumsi dalam bentuk teh herbal atau di dalam dosis padatan seperti pada jamu. Ada beberapa kelemahan dari mengkonsumsi temulawak yang diperoleh dari proses ini. Pertama, komponen aktif pada rimpang temulawak mudah rusak akibat berbagai faktor. Sebagai contoh, senyawa antioksidan kurkuminoid yang dapat menghambat kanker, menurunkan kadar kolesterol, menekan diabetes, mempercepat penyembuhan luka, dan melindungi dari inflamasi pada luka (Aggarwal,B.B., *et al*, 2004) dapat terhidrolisis secara cepat pada kondisi basa (Tomren,M.A., *et al*, 2007). Di samping itu, kurkumin juga sensitif terhadap cahaya. Akibatnya, keaktifan kurkumin akan berkurang seiring dengan berjalannya waktu. Di samping itu, minyak atsiri pada temulawak, setelah diekstraksi, relatif mudah menguap dan teroksidasi. Kedua, ekstrak temulawak memiliki bau menyengat yang tidak disukai banyak orang yang menyebabkan sedikitnya pemanfaatan ekstrak tanaman berkhasiat ini.

Untuk mengatasi permasalahan ini, ekstrak temulawak perlu dienkapsulasi. Enkapsulasi adalah proses untuk melindungi partikel kecil, cairan atau gas dengan menggunakan lapisan pelindung atau di dalam matriks pelindung. Ada berbagai keuntungan yang dapat diperoleh dari proses enkapsulasi. Yang pertama, senyawa zat aktif dapat terlindung dari berbagai fenomena seperti proses oksidasi, paparan sinar UV, dan juga variasi pH. Kedua bau menyengat yang dimiliki minyak atsiri temulawak dapat dikurangi karena proses penguapan minyak atsiri terhalang lapisan pelindung. Ketiga, proses enkapsulasi memungkinkan ekstrak temulawak untuk disimpan dalam bentuk padat yang dapat memperpanjang umur penyimpanannya.

Penelitian ini akan mengangkat potensi pengolahan ekstrak temulawak menjadi bentuk mikrokapsul yang lebih stabil. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan *yeast Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* ini banyak digunakan dalam industri pembuatan roti dan industri minuman beralkohol. Keuntungan dari *yeast* sebagai bahan untuk enkapsulasi adalah prosesnya yang sederhana dan relatif murah. Dalam proses enkapsulasi dengan menggunakan *yeast*, ekstrak temulawak ditambahkan ke dalam *yeast* yang tersuspensi dengan medium enkapsulasi seperti air atau etanol. Untuk mengamati pengaruh berbagai variabel proses enkapsulasi pada produk enkapsulasi, dilakukan analisis efisiensi dan *yield* enkapsulasi dan profil pelepasan kurkumin dari mikrokapsul temulawak.

1.2. Tema sentral masalah

Ekstrak dari temulawak yang merupakan tumbuhan asli Indonesia memiliki zat aktif yang perlu dilindungi dengan proses enkapsulasi sehingga lebih stabil dan tahan lama.

1.3. Tujuan khusus

Penelitian ini secara khusus bertujuan untuk:

1. Mempelajari kemungkinan mengenkapsulasi ekstrak temulawak dalam ragi
2. Mempelajari pengaruh variasi proses pre-treatment ragi dan suhu enkapsulasi terhadap karakteristik mikrokapsul yang dihasilkan.
3. Mempelajari pengaruh konsentrasi *yeast* dan suhu enkapsulasi terhadap karakteristik mikrokapsul kurkumin yang dihasilkan.

1.4. Target Luaran Penelitian

Studi ini merupakan studi awal untuk mempelajari faktor yang mempengaruhi enkapsulasi ekstrak temulawak menggunakan *yeast*. Sebagian studi telah dilaporkan di dalam seminar internasional. Sebagian studi lain dilaporkan di dalam seminar nasional. Tahap berikut dari penelitian adalah mempelajari pengaruh komponen di dalam temulawak dalam proses enkapsulasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Temulawak dan komposisinya

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB) merupakan tanaman menahun yang berasal dari Indonesia. Adapun bagian yang paling banyak digunakan adalah rimpangnya. Rimpang temulawak dengan kadar air 10% memiliki komposisi seperti yang tercantum pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi temulawak (Sumiati, 1997)

Komposisi	Kadar (%)
Pati	58.24
Lemak (<i>fixed oil</i>)	12.10
Minyak atsiri	4.90
Abu	4.90
Mineral	4.29
Serat kasar	4.20
Protein	2.90
Kurkumin	1.55

Kandungan minyak atsiri dalam rimpang temulawak berupa cairan berwarna kuning atau kuning jingga, dan berbau aromatik tajam. Minyak atsiri temulawak terdiri dari beberapa komponen, yaitu seskuiterpen, *α-curcumene*, *β-curcumene*, *1-cycloisoprenemyrcene*, zingiberene, *xanthorrhizol*, turunan lisabolen, epolisid-bisakuron, bisakuron A, bisakuron B, bisakuron C, ketonseskuiterpen, turmeron, *α-turmeron*, *α-atlanton*, germakron, monoterpen, sineol, d-borneol, d-*α*-phellandrene, dan d-camphene.

Minyak atsiri dalam temulawak dapat dimanfaatkan sebagai hepatoprotektor, dengan mempercepat regenerasi sel-sel hati yang mengalami kerusakan akibat pengaruh racun kimia, meningkatkan sekresi empedu, menurunkan kadar kolestrol dan trigliserida darah, antibakteri, dan

antioksidan. (Kurnianto, Y., 2013) Minyak atsiri pada temulawak juga berkhasiat sebagai *cholagogum*, yaitu bahan yang dapat merangsang pengeluaran cairan empedu yang berfungsi sebagai penambah nafsu makan dan anti *spasmodicum*, yaitu menenangkan dan mengembalikan kekejangan otot. (Liang,O., 1985)

Kurkuminoid merupakan komponen yang mengandung senyawa kurkumin berwarna kuning atau jingga, berbentuk serbuk dengan rasa sedikit pahit, larut dalam aseton, alkohol, asam asetat, asam asetat glasial, dan alkali hidroksida, mempunyai aroma yang khas, dan tidak bersifat toksik. Secara umum, kurkuminoid terdiri atas senyawa berwarna kuning kurkumin, desmetoksikurkumin (suatu zat berwarna kuning, turunan dari heptanoid), dan bisdemetoksikurkumin. (Stankovic,I., 2004) Kurkuminoid yang terdapat pada temulawak memiliki sifat khas, yaitu hanya terdiri dari kurkumin dan desmetoksikurkumin.

Kurkumin memiliki sifat yang peka terhadap lingkungan terutama karena pengaruh pH dan suhu, cahaya, serta radikal-radikal. (Sinambela, J., 1985) Sifat peka akan mempengaruhi stabilitas dari kurkumin. Kurkumin dapat berubah warna pada setiap harga pH yang berbeda. Dalam media larutan aqueous, kurkumin tidak stabil pada pH lebih dari 11,7. Kurkumin akan mengalami rekasi hidrolisis degradatif yang bergantung pH lingkungan, pada suasana asam (pH 2,5-7), kurkumin berwarna kuning atau jingga, sedangkan dalam suasana basa (pH lebih dari 7) kurkumin berwarna merah.

Sifat lain yang penting dari kurkumin adalah aktivitasnya terhadap cahaya. Bila kurkumin terkena cahaya, akan terjadi dekomposisi struktur berupa siklisasi kurkumin sehinggakurkumin terdegradasi menjadi asam ferulat. Dengan adanya cahaya, kurkumin dapat terdegradasi menjadi vanillin, asam vanilat, aldehid ferulat, asam ferulat dan 4-vinilguaiakol.

2.2. Ekstraksi rimpang temulawak

Studi tentang ekstrak temulawak di Indonesia lebih banyak difokuskan pada pengeringan (Cahyono,B., *et al*, 2011) dan ekstraksinya. (Fauzana,D.L., 2010; Mujahid, R.; Ramdja,A.F., *et al*,

2009; Sumarno). Pengeringan rimpang bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, serta menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan kandungan zat aktif. Pengeringan dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti yang pengeringan dengan matahari atau dengan oven.

2.3. Enkapsulasi dengan yeast

Proses enkapsulasi menggunakan sel *yeast* adalah teknik yang relatif baru. Sel *yeast* berbentuk bulat atau elips dengan diameter 2-5 μm . Bagian utama sel yang bertanggung jawab dalam memungkinkan sel *yeast* menjadi bahan pengenkapsulasi adalah dinding selnya yang kaku dan membran sel. β -1,6-glukan and kitin pada dinding sel meningkatkan kekuatan mekanis pada mikrokapsul. Mannoprotein pada dinding sel menyediakan porositas dan lingkungan yang hidrofilik. Molekul kecil yang polar dan apolar dengan massa molekul di bawah 760 Da dapat berdifusi secara bebas melalui dinding sel. (Scherrer, R., *et al*, 1974). Membran plasma terdiri dari fosfolipid yang tersusun menjadi lemak dua lapis (*lipid bilayers*) yang berfungsi untuk mengatur masuk dan keluarnya komponen dari sel.

Proses enkapsulasi relatif sederhana dengan mencampurkan sel *yeast* (hidup atau telah diplasmolisis, basah atau kering) dengan bahan yang akan dienkapsulasi di dalam medium enkapsulasi yang bisa berupa air atau pelarut organik, diikuti dengan proses pengadukan selama beberapa jam pada suhu tertentu (biasanya 20-60°C) (Paramera, E.I., *et al*, 2014). Teknik ini telah digunakan untuk mengenkapsulasi berbagai senyawa seperti minyak atsiri jeruk dan peppermint (Bishop, J.R.P., *et al*, 1998), limonene (Normand, V., *et al*, 2005), minyak ikan (Iassonova, D., *et al*, 2008), terpenes (Ciamponi, F., *et al*, 2012), kurkumin murni (Paramera, E.I., *et al*, 2011) dan enzim (Chow, C.K. and S.P. Palecek, 2004).

Sampai saat ini, tidak ada penelitian yang melaporkan penggunaan *yeast* sebagai bahan untuk mengenkapsulasi temulawak. Adapun penelitian yang ada menggunakan β -cyclodextrin dan chitosan -

TPP. (Sumantri,S., 2009) (Sidqi, T., 2011) β -cyclodextrin dilaporkan dapat melindungi aktivitas antioksidan ekstrak temulawak. akan tetapi β -cyclodextrin adalah material pengenkapsulasian yang sangat mahal. Di samping itu, efisiensi enkapsulasi dan *yield* enkapsulasi kurkumin, senyawa aktif temulawak menggunakan β -cyclodextrin sangat rendah. (Paramera,E.I., 2011b). Oleh karena itu, enkapsulasi menggunakan β -cyclodextrin adalah proses yang mahal dan tidak efisien.

Enkapsulasi dengan kitosan - TPP dilakukan dengan bantuan ultrasonikasi menghasilkan efisiensi sebesar 5,47%. Namun , proses ini menghadapi tantangan ketika hendak dilakukan *scale up* proses sonikasi.

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1. Bahan Baku dan Bahan untuk Analisis

Bahan baku dan bahan penunjang dalam penelitian ini adalah:

1. Rimpang temulawak segar

Rimpang temulawak segar ini didapatkan dari PD Al-Ikhlas yang beralamat di Pasar Induk Caringin Bandung, Blok H.10 Bandung 40223, Jawa Barat, Indonesia.

2. *Yeast (Saccharomyces cerevisiae)*

Saccharomyces cerevisiae ini didapatkan dari fermipan yang mengandung yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) dan pengemulsi (*Sorbitan monostearate*).

3. Etanol, *pure grade* diperoleh dari Merck.

Bahan untuk analisis dalam penelitian ini adalah:

1. Bahan untuk analisis kadar kurkumin: kurkumin murni diperoleh dari Sigma Aldrich dan etanol murni diperoleh dari Merck

3.2. Peralatan Utama dan Analisis

Peralatan utama meliputi ekstraktor *batch*, oven, ayakan (mesh 100 dan 200), blender, timbangan, gelas ukur, labu ukur, labu Erlenmeyer, oven vakum, *incubator shaker* (Memmert WB 14, Sv1422).

Peralatan untuk analisis meliputi:

1. Analisis kadar air: *Moisture analyzer*

2. Analisis kadar kurkumin: *UV-Vis spectroscopy* (Spectrosonic 20 Genesys 4001/4)

3. Analisis enkapsulasi : mikroskop fluorescence tipe Nikon Eclipse E800 pada perbesaran 400x.

3.3. Prosedur penelitian

Secara garis besar, penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu :

1. Persiapan ekstrak temulawak
2. Studi pengaruh pre-treatment *yeast* terhadap enkapsulasi kurkumin murni
3. Studi pengaruh konsentrasi yeast dan suhu dalam enkapsulasi kurkumin murni
4. Studi pengaruh suhu enkapsulasi dalam enkapsulasi ekstrak temulawak

1. Persiapan ekstrak temulawak

Persiapan ekstrak dalam penelitian ini akan dilakukan:

a. Pembuatan serbuk temulawak

Pembuatan serbuk temulawak meliputi pencucian, pemotongan, pengeringan dengan oven, pembレンダーan dan pengayakan. Luaran yang diharapkan pada tahap ini adalah serbuk temulawak dengan kadar air 7-10% yang siap digunakan untuk ekstraksi.

b. Pembuatan ekstrak temulawak

Ekstraksi rimpang temulawak dilakukan dengan mencampurkan serbuk temulawak dan pelarut etanol dalam ekstraktor *batch*, kemudian suhu ekstraksi dan kecepatan pengadukan diatur. Ekstraksi dilakukan selama 6 jam. Kemudian, hasil ekstraksi diuapkan dengan evaporator vakum untuk memisahkan pelarut berupa etanol dari ekstrak temulawak. Pada tahap ini akan dianalisis kadar kurkumin dan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak temulawak. Luaran yang diharapkan pada tahap ini adalah ekstrak temulawak yang siap untuk digunakan dalam studi enkapsulasi.

2. Studi pengaruh pre-treatment *yeast* terhadap enkapsulasi kurkumin murni

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari kandungan surfaktan berupa *sorbitan monostearate* dalam fermipan terhadap perolehan yield dan rendemen enkapsulasi. Pada

studi ini, proses enkapsulasi diawali dengan mencampurkan 150 mg Fermipan dengan 50 mg kurkumin ke dalam 12,5 mL air. Campuran tersebut kemudian diaduk kecepatan pengadukan 180 rpm pada 55°C selama 48 jam. Setelah itu, campuran disentrifugasi untuk memisahkan mikro kapsul. *Yeast* yang digunakan divariasikan antara *yeast* yang telah dicuci dengan etanol atau air untuk menghilangkan sorbitan monostearat dengan *yeast* yang tidak dicuci. Setelah 48 jam, suspensi disentrifugasi untuk memisahkan mikro kapsul. Mikro kapsul *yeast* kemudian dikeringkan dengan oven vakum sampai massanya konstan.

Keberhasilan proses enkapsulasi kemudian diukur dengan menghitung efisiensi enkapsulasi (didefinisikan sebagai fraksi massa kurkumin yang terenkapsulasi terhadap fraksi massa kurkumin yang digunakan), *yield* enkapsulasi (didefinisikan sebagai fraksi massa kurkumin terhadap massa total mikro kapsul).

3. Studi pengaruh konsentrasi yeast dan suhu dalam enkapsulasi kurkumin murni

Percobaan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi yeast di dalam proses enkapsulasi dan suhu enkapsulasi terhadap yield dan efisiensi enkapsulasi. Kurkumin murni digunakan dalam studi ini sebagai bahan pembanding. *Yeast* yang digunakan adalah yeast biakan murni *Saccharomyces cereviceae* dalam medium *Potato Dextrose Agar*. *Yeast* dibiakkan dengan metode gores secara zigzag pada permukaan agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

50 mg serbuk kurkumin ditambahkan ke dalam 150 mg yeast yang disuspensikan di dalam air dengan konsentrasi sebesar 3, 6, dan 12 g yeast / L air.. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam *incubator shaker* dengan kecepatan pengadukan 180 rpm dan diaduk pada suhu 35°C, 45°C, 55°C selama 18 jam. Pada akhir proses inkubasi, suspensi dicuci dengan disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Dilakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan air. Hal ini bertujuan untuk mencuci kurkumin yang tidak terenkapsulasi. Pencucian dilakukan dengan menggunakan

pelarut lalu disentrifugasi kembali. Residu hasil sentrifugasi kemudian dikeringkan menggunakan oven vakum dengan suhu 40°C sampai kadar airnya mencapai 7-10%.

4. Studi pengaruh suhu enkapsulasi dalam enkapsulasi ekstrak temulawak

Pada studi ini, proses enkapsulasi diawali dengan mencampurkan 150 mg yeast biakan murni dengan ekstrak temulawak yang mengandung 50 mg kurkumin ke dalam 12,5 mL air. Campuran tersebut kemudian diaduk kecepatan pengadukan 180 rpm pada variasi temperatur 35°C, 45°C, dan 55°C selama 48 jam. Setelah itu, campuran disentrifugasi untuk memisahkan mikrokapsul.

Pada tahap ini, keberhasilan enkapsulasi juga diukur dengan menghitung efisiensi enkapsulasi dan *yield* enkapsulasi. Selain itu, keberhasilan proses enkapsulasi juga dianalisis menggunakan fluorescence microscope. Analisis profil pelepasan kurkumin dilakukan untuk mengetahui karakteristik mikrokapsul ekstrak temulawak.

3.4. Metode Analisis

Analisis kurkumin hasil enkapsulasi dilakukan dengan cara mencampurkan 20 mg *yeast*-kurkumin dengan 2 ml akuades dan 8 ml etanol di dalam labu Erlenmeyer lalu dilakukan pengadukan semalaman pada suhu ruang. Sampel tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit dan supernatannya diambil lalu persen transmitannya diukur pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Tujuan dari analisis kurkumin hasil enkapsulasi ini adalah untuk menghitung efisiensi enkapsulasi (EE) dan *yield* enkapsulasi (EY).

Efisiensi enkapsulasi merupakan massa kurkumin yang terenkapsulasi (m_E) per massa kurkumin yang digunakan untuk proses enkapsulasi (m_T). Sedangkan *yield* enkapsulasi merupakan massa kurkumin yang terenkapsulasi (m_E) per massa mikrokapsul yang terbentuk (m_M). Persamaan untuk mencari EE dan EY adalah:

$$EE = \frac{m_E}{m_T} \quad EY = \frac{m_E}{m_m}$$

Analisis terhadap profil pelepasan kurkumin di dalam etanol 1%, dilakukan pada beberapa run terbaik. Profil pelepasan kurkumin dilakukan dengan mencampurkan 12 mg kurkumin atau mikrokapsul yang mengandung 12 mg kurkumin dengan 50 ml etanol 1% lalu dilakukan pengadukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Dilakukan pula sampling pada menit-menit tertentu untuk diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimum 430 nm.

Analisis hasil enkapsulasi menggunakan mikroskop *fluorescence* tipe Nikon Eclipse E800 pada perbesaran 400x. Sampel yang diamati terdiri dari *yeast* biakan murni, kurkumin murni, dan mikrokapsul kurkumin dan mikrokapsul ekstrak temulawak. Analisis *fluorescence* dilakukan dengan mengamati sampel di bawah mikroskop sebelum dan sesudah terpapar oleh sinar ultraviolet.

BAB IV

JADWAL DAN LOKASI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katholik Parahyangan, Bandung. Waktu Pelaksanaan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Jadwal pelaksanaan penelitian

Kegiatan	Waktu Pelaksanaan (bulan)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Persiapan ekstrak temulawak		■	■	■	■	■	■					
Percobaan pendahuluan			■	■	■							
Percobaan Utama												
Enkapsulasi ekstrak temulawak						■	■	■	■			
Analisis hasil enkapsulasi			■	■	■	■	■	■	■	■		
Pengolahan data dan penulisan laporan.										■	■	

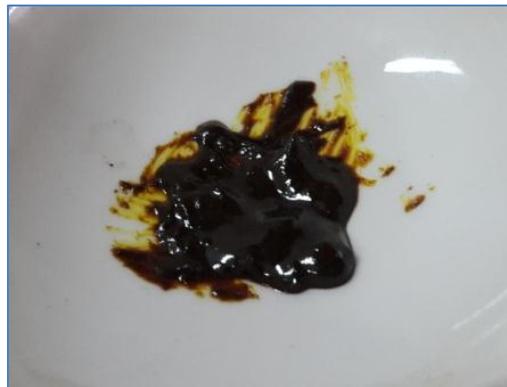
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Kadar Kurkumin Ekstrak Temulawak

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi kurkumin dari serbuk temulawak dengan pelarut etanol sehingga didapatkan ekstrak temulawak berupa kurkumin. Ekstraksi dilakukan selama 6 jam dengan kecepatan pengadukan 125 rpm. Ekstraksi yang berlangsung melebihi batas waktu tersebut menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan sudah jenuh, sehingga diperoleh kadar kurkumin yang konstan. Selain itu kecepatan pengadukan diatur pada kecepatan 125 rpm untuk membuat isi dalam ekstraktor *batch* teraduk secara homogen tetapi di sisi lain mencegah terjadinya vortex. Ekstrak temulawak yang diperoleh mengandung campuran kurkumin, oleoresin, dan pelarut etanol.

Ekstrak temulawak yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan menggunakan evaporator vakum untuk memisahkan ekstrak dari pelarut etanol dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu, sehingga pelarut dapat menguap 5-10°C di bawah titik didih pelarut karena adanya penurunan tekanan. Evaporasi dilakukan pada suhu 40°C selama 2 jam untuk menguapkan pelarut etanol yang terdapat pada hasil ekstraksi. Setelah proses evaporasi akan diperoleh ekstrak temulawak dengan wujud kental berwarna kuning kecoklatan. (Gambar 1)



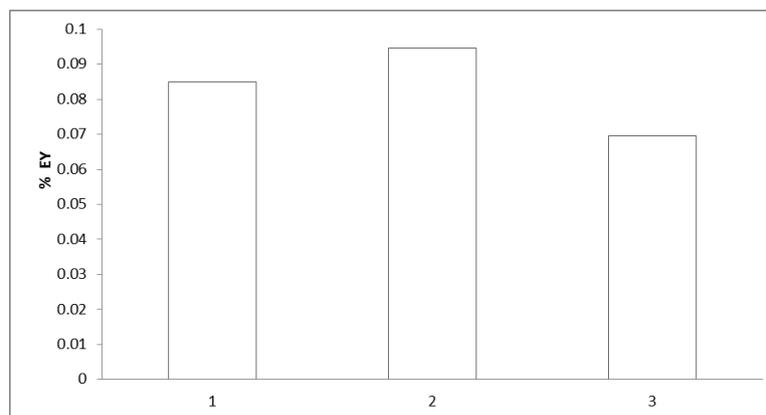
Gambar 1. Ekstrak temulawak yang telah dipisahkan dari etanol

Dari hasil analisis diperoleh kadar kurkumin dalam ekstrak temulawak sebesar 6,0349 %w/w. Konsentrasi kurkumin yang dihasilkan pada penelitian ini cukup tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Hasil penelitian Aan (2004) menghasilkan kadar kurkumin yang terekstrak 1,52%. Hal yang sama diuraikan oleh Ria (1989) dan Suwiah (1991) berturut-turut menghasilkan kadar kurkumin 3,06% dan 1,94%. Akan tetapi, hasil penelitian yang diperoleh masih lebih rendah dibandingkan dengan kadar kurkuminoid hasil penelitian Afif (2006)

yang melakukan ekstraksi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etanol, yaitu sebesar 17,71%.

5.2. Pengaruh pre-treatment yeast terhadap enkapsulasi kurkumin murni

Untuk mengetahui apakah yield komersial dapat digunakan untuk proses enkapsulasi, Fermipan digunakan sebagai sampel yeast. Fermipan yang digunakan mengandung sorbitan monostearat, senyawa yang berfungsi sebagai pengemulsi di dalam industri makanan. Kehadiran sorbitan monostearat diperkirakan dapat menghambat difusi kurkumin ke dalam yeast. Pre-treatment berupa pencucian dengan air atau etanol bertujuan untuk menghilangkan sorbitan monostearat. Dari Gambar 2 terlihat bahwa yield enkapsulasi kurkumin di dalam yeast komersial relatif rendah, yaitu sekitar 0,085%. Pencucian dengan etanol menaikkan yield enkapsulasi menjadi 0,095% sedangkan pencucian dengan air menurunkan yield enkapsulasi menjadi 0,07%. Pencucian yeast baik dengan etanol maupun air tidak menaikkan jumlah kurkumin yang dapat dienkapsulasi secara signifikan.

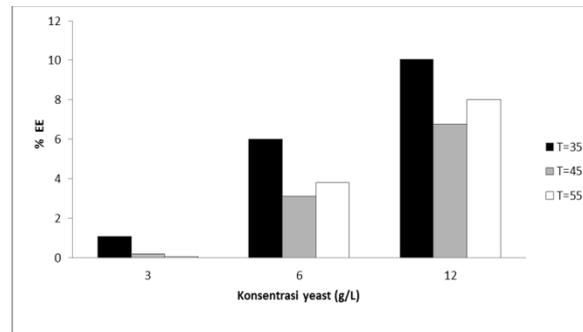


Gambar 2. Yield enkapsulasi kurkumin dengan variasi yeast komersial tanpa perlakuan (1), yeast yang telah dicuci menggunakan etanol (2), dan yeast yang telah dicuci menggunakan air (3).

5.3. Pengaruh konsentrasi yeast dan suhu dalam kurkumin murni

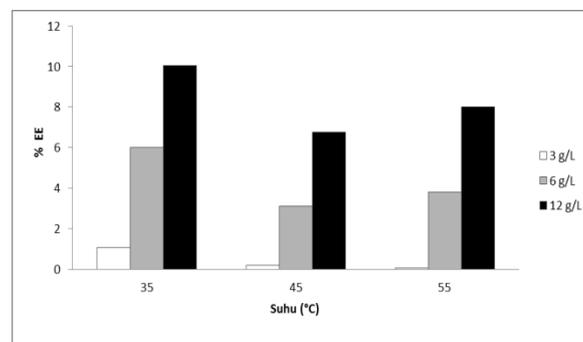
Yeast komersial tidak memberikan hasil yang memuaskan. Hal ini diperkirakan karena selain mengandung sorbitan monostearat, yeast ini juga mengandung bahan lain yang tidak diketahui. Oleh karena itu di dalam percobaan selanjutnya digunakan yeast *Saccharomyces cereviceae* biakan murni. Dari hasil enkapsulasi kurkumin dengan yeast diketahui bahwa efisiensi enkapsulasi akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi yeast (Gambar 3). Seiring meningkatnya konsentrasi yeast, air yang diperlukan sebagai medium enkapsulasi berkurang. Akibatnya konsentrasi kurkumin di dalam medium ikut meningkat. Efisiensi enkapsulasi yang meningkat seiring dengan berkurangnya air disebabkan karena adanya perbedaan gradien konsentrasi kurkumin di dalam medium enkapsulasi. Kurkumin masuk ke dalam sel yeast melalui peristiwa difusi. Dengan meningkatnya konsentrasi kurkumin dalam medium enkapsulasi maka semakin banyak jumlah kurkumin yang berdifusi masuk ke dalam sel yeast dan dapat terenkapsulasi. Untuk konsentrasi yeast yang semakin kecil diperoleh

efisiensi enkapsulasi yang semakin kecil karena rasio sel yeast dan kurkumin yang dimasukkan tetap sama, sedangkan kapasitas volume medium untuk enkapsulasi kurkumin yang tersedia lebih besar.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi yeast terhadap persen efisiensi enkapsulasi (%EE) kurkumin standar

Dalam penelitian ini juga diamati pengaruh variasi temperatur terhadap efisiensi enkapsulasi. Berdasarkan analisis varians, temperatur enkapsulasi berpengaruh terhadap efisiensi enkapsulasi. Hal ini juga dapat diamati pada Gambar 4 dimana terdapat kecenderungan hasil efisiensi enkapsulasi untuk tiga kondisi temperatur yang berbeda. Gambar 2 menunjukkan bahwa terjadi fluktuasi terhadap hasil efisiensi enkapsulasi. Efisiensi enkapsulasi paling besar terjadi pada suhu 35⁰C, kemudian terjadi penurunan nilai efisiensi ketika kurkumin dienkapsulasi pada suhu 45⁰C dan efisiensi enkapsulasi mengalami kenaikan lagi pada suhu 55⁰C.

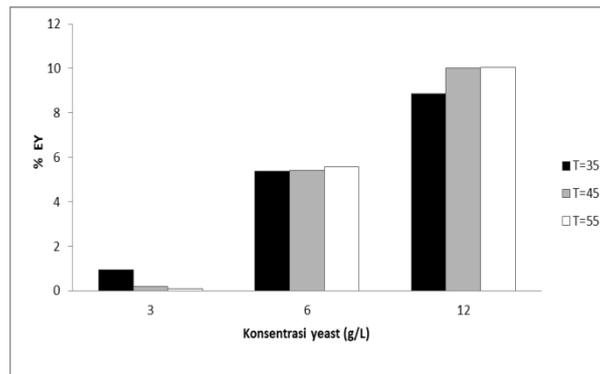


Gambar 4. Pengaruh temperatur terhadap persen efisiensi enkapsulasi (%EE) kurkumin standar

Dari hasil penelitian tentang pengaruh temperatur diketahui bahwa pada temperatur 35⁰C dihasilkan efisiensi paling besar. Hal ini disebabkan karena temperatur 35⁰C merupakan temperatur transisi membran plasma dari gel ke fasa yang lebih cair, sehingga jumlah kurkumin yang berdifusi masuk ke dalam membran plasma sel *yeast* dapat ditingkatkan. Hasil penelitian serupa dilaporkan oleh Paramera (2011) yang menunjukkan bahwa temperatur enkapsulasi pada rentang 35⁰C-45⁰C menjadi kondisi yang penting dikarenakan di atas temperatur 35⁰C komposisi *phospholipid* dari membran plasma menjadi lebih cair (kondisi kristal-cair), sehingga penetrasi molekul kurkumin dapat ditingkatkan dalam *sel yeast*. Untuk kondisi enkapsulasi yang terjadi di bawah temperatur 35⁰C akan

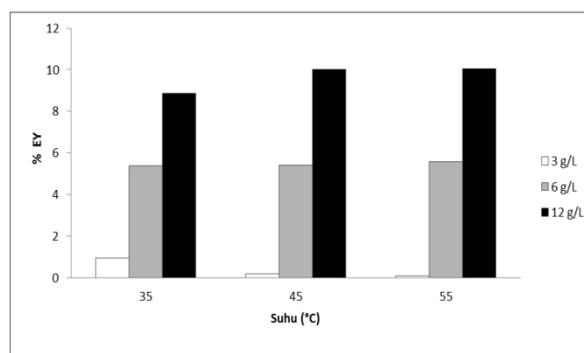
menunjukkan perolehan efisiensi yang kecil karena membran sel *yeast* berada pada fase gel dan dapat membatasi kurkumin untuk masuk ke dalam sel *yeast*.

Dalam penelitian ini juga dilakukan analisis untuk mengetahui perolehan *yield* hasil enkapsulasi. Dari hasil analisis diketahui bahwa *yield* enkapsulasi akan meningkat seiring dengan berkurangnya volume akuades yang digunakan sebagai medium enkapsulasi. Hal ini disebabkan karena konsentrasi kurkumin yang besar memberikan dorongan yang lebih besar untuk molekul kurkumin masuk dan berinteraksi dengan membran plasma dari *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 5. Pengaruh konsentrasi terhadap persen *yield* enkapsulasi (%EY) kurkumin

Dari hasil penelitian tentang pengaruh temperatur terhadap *yield* enkapsulasi diketahui terdapat perbedaan yang kecil untuk *yield* enkapsulasi pada tiga kondisi temperatur yang berbeda. Gambar 6 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kecil terhadap hasil *yield* enkapsulasi dari suhu 35°C sampai 55°C.



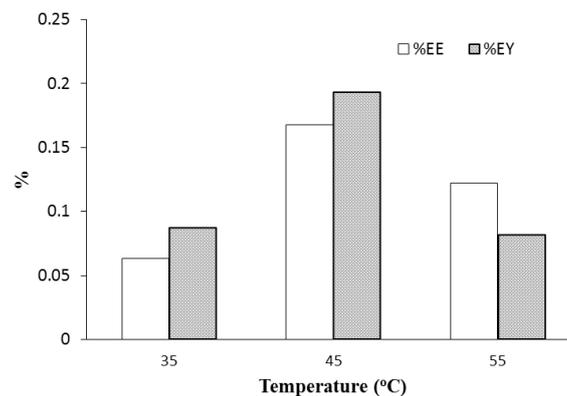
Gambar 6. Pengaruh temperatur terhadap persen *yield* enkapsulasi (%EY) kurkumin

Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil penelitian Paramera (2011) yang menunjukkan bahwa temperatur enkapsulasi pada rentang 35°C-45°C berada di atas rentang temperatur transisi *phospholipid* dari membran plasma, dimana terjadi transisi membran dari gel ke fase larutan kristal yang lebih cair, terjadi pengaktifan penetrasi, dan meningkatnya penetrasi senyawa dalam sel. Pengaruh temperatur juga diuraikan oleh Bishop et al., (1998) yang mempelajari pengaruh temperatur pada hasil %EY minyak kulit jeruk dan menemukan bahwa terjadi peningkatan

persen *yield* pada temperatur 40⁰C-50⁰C.^[5] Perbedaan temperatur transisi dari hasil penelitian Paramera (2011) dan Bishop et al., (1998) dapat disebabkan oleh sifat *phospholipid*, tetapi dalam kedua penelitian ini tetap dapat diidentifikasi peran dari membran plasma dalam mengendalikan masuknya molekul ke dalam sel *yeast*. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suhu yang lebih tinggi tidak memberikan keuntungan yang lebih dari sisi *yield* enkapsulasi. Selain itu, semakin tinggi suhu yang digunakan, semakin besar kemungkinan kurkumin terdekomposisi. Oleh karena itu sebaiknya suhu yang terlalu tinggi dihindari di dalam proses enkapsulasi.

5.4. Pengaruh suhu enkapsulasi dalam enkapsulasi ekstrak temulawak

Efek temperatur pada efisiensi dan *yield* enkapsulasi kurkumin dari temulawak ekstrak ditunjukkan pada Gambar 7. % EE dan % EY meningkat ketika suhu ditingkatkan dari 35°C menjadi 45°C. Peningkatan yang tajam terjadi karena perubahan fasa membran yeast menjadi lebih fluid sehingga dapat lebih mudah ditembus. Di sisi lain penurunan yang tajam diamati ketika suhu ditingkatkan menjadi 55°C. Penurunan yang tajam ini diperkirakan terjadi karena ekstrak temulawak terdiri dari berbagai komponen. Diperkirakan komponen lain seperti minyak atsiri meningkat difusivitasnya pada suhu yang tinggi karena viskositas yang menurun.



Gambar 7. Pengaruh temperatur terhadap persen *yield* enkapsulasi (%EY) dan efisiensi enkapsulasi (%EE) ekstrak temulawak

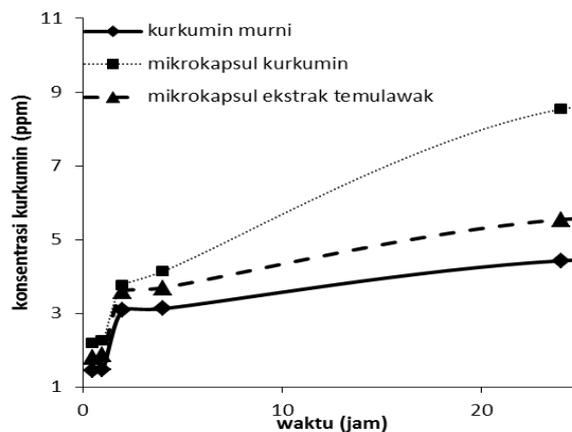
Ketika dibandingkan dengan %EE dan % EY mikrokapsul kurkumin murni, % EE dan % EY kurkumin di dalam mikrokapsul ekstrak temulawak jauh lebih rendah. Diperkirakan hal ini disebabkan oleh banyaknya komponen di dalam ekstrak temulawak seperti resin dan minyak atsiri yang dapat ikut berdifusi ke dalam yeast dan mengurangi ruang yang tersedia untuk kurkumin. (Bishop, J.R.P. , dkk, 1998). Difusi minyak atsiri ke dalam yeast telah ditunjukkan oleh beberapa peneliti. Hipotesis ini perlu dibuktikan lebih lanjut karena ini adalah pertama kalinya campuran berbagai senyawa kompleks dienkapsulasi di dalam sel yeast. Meskipun masuknya komponen lain ke dalam yeast menurunkan %EE dan %EY, hal ini belum tentu merupakan hal yang buruk. Studi lain

menunjukkan bahwa minyak atsiri temulawak ketika dicampur bersama kurkumin menunjukkan efek sinergi di dalam mencegah pertumbuhan sel kanker. (Cheah, Y., dkk, 2009).

5.5. Analisis profil pelepasan kurkumin

Analisis profil pelepasan kurkumin dilakukan pada sampel mikrokapsul kurkumin murni dan mikrokapsul temulawak yang dienkapsulasi pada suhu 45°C dengan konsentrasi yeast 12 g/L. Sampel ini dipilih karena merupakan sampel dengan efisiensi dan yield enkapsulasi yang terbaik. Profil pelepasan kurkumin ditunjukkan pada Gambar 8. Sebagai pembandingan, profil dissolusi kurkumin murni juga ditampilkan.

Semua sampel menunjukkan peningkatan kelarutan pada dua jam pertama. Mikrokapsul kurkumin dan ekstrak temulawak terus-menerus melepaskan kurkumin seiring dengan meningkatnya waktu. Selain itu dapat terlihat bahwa kelarutan kurkumin yang terenkapsulasi lebih tinggi dari kelarutan kurkumin murni. Kelarutan kurkumin pada ekstrak temulawak juga lebih tinggi dari pada kurkumin murni, namun lebih rendah bila dibandingkan dengan mikrokapsul kurkumin. Enkapsulasi kurkumin di dalam yeast membantu mengurangi ukuran kristal kurkumin. Sebagai akibatnya, luas permukaan spesifik kurkumin meningkat, yang berarti meningkatkan kemungkinan molekul kurkumin untuk berinteraksi dengan solvent.

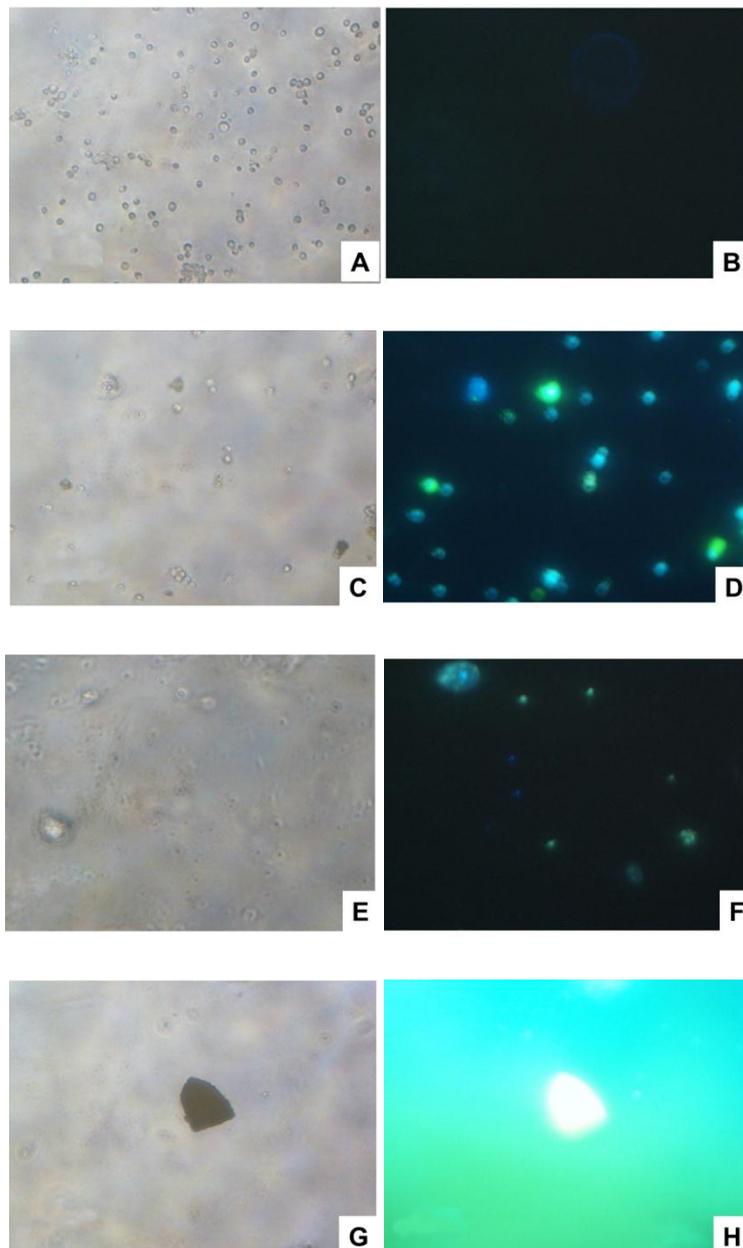


Gambar 8. Profil pelepasan kurkumin dari mikrokapsul

5.6. Analisis dengan *microscope fluorescence*

Gambar 9 menunjukkan mikrograf *bright - field* dan fluoresens dari sel yeast kosong, mikrokapsul kurkumin dan ekstrak temulawak. Sel kosong terlihat di mikrograf *bright - field* (A). Pada mikrograf fluoresens, sel tersebut tidak terlihat (Gambar 9B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yeast kosong tidak mempunyai sifat fluoresens. Mikrokapsul kurkumin murni dan ekstrak temulawak ditunjukkan di Gambar 9 C dan E. Bentuk mikrokapsul sama dengan bentuk sel kosong yang berarti bahwa sel yeast tidak berubah bentuk setelah proses enkapsulasi. Pada mikrograf fluoresens dari

kedua mikrokapsul tersebut (Gambar 9 D dan F) , terlihat bahwa bulatan biru kehijauan dengan intensitas berbeda yang menunjukkan bahwa mikrokapsul memiliki sifat fluoresens.



Gambar 9. Hasil mikrograf *brightfield* dan *fluorescence* dari yeast kosong (A dan B), mikrokapsul kurkumin murni (C dan D), mikrokapsul ekstrak temulawak (E dan F), kristal kurkumin (G dan H)

Kurkumin memiliki sifat fluoresens, hal ini ditunjukkan dari warna yang sangat terang dikelilingi cahaya kehijauan pada mikrograf fluoresens kristal kurkumin pada Gambar 9H. Cahaya biru kehijauan yang ditunjukkan oleh mikrokapsul mengindikasikan bahwa kurkumin berinteraksi dengan sel yeast. Namun diperlukan analisis lebih lanjut untuk mengkonfirmasi pada bagian mana kurkumin berinteraksi dengan yeast. Cahaya yang terlihat pada sampel mikrokapsul kurkumin lebih terang dibandingkan dengan cahaya yang terlihat pada mikrokapsul ekstrak temulawak. Hal ini

menunjukkan jumlah kurkumin yang lebih tinggi di dalam yeast dibandingkan dengan mikrokapsul ekstrak temulawak. Hal ini sesuai dengan hasil % EE dan % EY yang terukur dari kedua sampel.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Dari studi yang telah dilakukan dapat dicapai beberapa kesimpulan:

- a. Ekstrak temulawak dan kurkumin murni dapat dienkapsulasi dengan yeast
- b. % EE dan % EY kurkumin murni ditentukan oleh konsentrasi yeast dan suhu enkapsulasi.
- c. Semakin tinggi konsentrasi yeast, semakin tinggi % EE dan % EY
- d. % EE dan % EY ekstrak temulawak bergantung pada suhu enkapsulasi dengan suhu optimum adalah pada 45 °C.
- e. Kelarutan kurkumin dari kurkumin murni dan ekstrak temulawak meningkat setelah dienkapsulasi

2. Saran

- a. Perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk memisahkan komponen – komponen yang ada di dalam ekstrak temulawak
- b. Perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk mempelajari pengaruh setiap komponen dalam enkapsulasi ekstrak temulawak dengan menggunakan yeast

TINJAUAN PUSTAKA

1. -----2010. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2010*. Badan Litbang Kesehatan. Jakarta.
2. Aggarwal, B. B., A. Kumar, et al. 2004. *Curcumin Derived from Turmeric (Curcuma longa): A Spice for All Seasons*. *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*. D. Bagchi and H. G. Preuss, CRC Press: 349-378.
3. Ahmad, Fachrudin Ali. 2012. *Analisis Penggunaan Jamu untuk Pengobatan pada Pasien di Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus Tawangmangu Tahun 2012*. Universitas Indonesia: Depok.
4. Bishop, J. R. P., G. Nelson, et al. 1998. *Microencapsulation in yeast cells*. *Journal of Microencapsulation* **15**(6): 761-773.
5. Cahyono, B., M. d. K. Huda, et al. 2011. *Pengaruh proses pengeringan rimpang temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) terhadap kandungan dan komposisi kurkuminoid*. *Reaktor* **13**(3): 165-171.
6. Ciamponi, F., C. Duckham, et al. 2012. *Yeast cells as microcapsules. Analytical tools and process variables in the encapsulation of hydrophobes in S. cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **95**(6): 1445-1456.
7. Chow, C. K. and S. P. Paelecek 2004. *Enzyme encapsulation in permeabilized Saccharomyces cerevisiae cells*. *Biotechnology Progress* **20**(2): 449-456.
8. Fauzana, D. L. 2010. *Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi dan reperkolasi terhadap rendemen ekstrak temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. Institut Pertanian Bogor.
9. Kurnianto, Y. 2013. *Optimalisasi Kandungan Kurkumin dalam Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) dengan Menggunakan Metode Distilasi Vakum*. Universitas Diponegoro: Semarang.
10. Iassonova, D., E. Hammond, et al. 2008. *Oxidative Stability of Polyunsaturated Triacylglycerols Encapsulated in Oleaginous Yeast*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**(8): 711-716.
11. Liang, O., Y. Widjaja, and S. Puspa. 1985. *Beberapa Aspek Isolasi, Identifikasi dan Penggunaan Komponen-Komponen Curcuma Xanthorrhiza .Roxb. dan Curcuma domestica Val.* Prosiding Simposium Nasional Temulawak. Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran: Bandung.
12. Mangunwardoyo, W., Deasywaty, et al. 2012. *Antimicrobial and identification of active compound Curcuma xanthorrhiza Roxb.* *International Journal of Basic and Applied Sciences* **12**(1): 69-78.
13. Mujahid R, A. PKD, et al. "Maserasi sebagai alternatif ekstraksi pada penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)."
14. Ramdja, A. F., R. M. A. Aulia, et al. 2009. *Ekstraksi kurkumin dari temulawak dengan menggunakan etanol*. *Jurnal Teknik Kimia* **16**(3): 52-58.
15. Scherrer, R., L. Loudon, et al. 1974. *Porosity of the yeast cell wall and membrane*. *Journal of Bacteriology* **118**(2): 534-540.
16. Sinambella, J., 1985. *Fitoterapi, Fitostandar dari Temulawak*. Prosiding Symposium Nasional Temulawak. Universitas Padjajaran: Bandung. hal. 238.
17. Stankovic, I. 2004. *Curcumin Chemical and Technical Assessment (CTA)*. FAO hal. 1-8.
18. Margono, Sumarno, et al. *Supercritical fluid extraction of oleoresin from Curcuma xanthorrhiza: modelling and simulation*, ITS.
19. Normand, V., G. Dardelle, et al. 2005. *Flavor Encapsulation in Yeasts: Limonene Used as a Model System for Characterization of the Release Mechanism*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**(19): 7532-7543.
20. Paramera, E. I., S. J. Konteles, et al. 2011. *Microencapsulation of curcumin in cells of Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry* **125**(3): 892-902.
21. Sidqi, T. 2011. *Pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak temulawak dengan metode ultrasonikasi*. Institut Pertanian Bogor.
22. Sumantri, S. 2009. *The production of temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) extract through the use of spray drying using β -cyclodextrin as encapsulant*. Swiss German University.

23. Sumiaty.1997. *Minuman Berkhasiat dari Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza)*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB: Bogor.
24. Tomren, M. A., M. M. sson, et al. 2007. *Studies on curcumin and curcuminoids XXXI. Symmetric and asymmetric curcuminoids: Stability, activity and complexation with cyclodextrin*. International Journal of Pharmaceutics **338**: 27-34.