

## AKTIVITAS MUKOLITIK EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) SECARA IN VITRO

### IN VITRO MUCOLYTIC ACTIVITY OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF BLACK TURMERIC (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) RHIZOMES

<sup>1</sup>Ernesta Trisnawati Rui, <sup>2</sup>Ririn Suharsanti, <sup>3</sup>Kyky Herlyanti\*

<sup>1,2,3</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

#### Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 04-03-2026

Accepted: 02-04-2025

Publish Online: 27-06-2026

#### Kata Kunci:

Curcuma aeruginosa, mukolitik, fraksi n-hexan, terpenoid

#### Keywords:

Curcuma aeruginosa, mucolytic activity, n-hexane fraction, terpenoids

#### Abstrak

**Latar belakang:** Rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) secara tradisional digunakan untuk gangguan pernapasan, namun aktivitas mukolitiknya masih terbatas dilaporkan secara ilmiah. **Tujuan** penelitian ini adalah mengevaluasi aktivitas mukolitik *in vitro* ekstrak etanol dan fraksinya (n-heksan, etil asetat, dan air) serta mengkaji profil fitokimianya. **Metode** penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test control group design*. Ekstrak etanol diperoleh melalui remaserasi menggunakan etanol 96% dan difraksinasi dengan partisi cair-cair. Uji mukolitik dilakukan menggunakan mukus sapi dengan viskometer Ostwald setelah inkubasi pada 37 °C selama 30 menit. Parameter yang diamati adalah penurunan viskositas ( $\Delta\eta$ ) dan persen reduksi viskositas. N-asetilsistein 0,1% digunakan sebagai kontrol positif dan Tween 80 0,5% sebagai kontrol negatif. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji Bonferroni. **Hasil** penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dan ekstrak etanol menurunkan viskositas mukus secara signifikan dan mendekati kontrol positif ( $p < 0,001$ ), sedangkan fraksi etil asetat dan air lebih rendah. Profil fitokimia menunjukkan dominasi metabolit nonpolar seperti terpenoid dan minyak atsiri pada fraksi n-heksan. **Kesimpulan** penelitian ini menegaskan bahwa aktivitas mukolitik dipengaruhi oleh metabolit nonpolar, sehingga fraksi n-heksan berpotensi sebagai kandidat mukolitik alami dan memerlukan validasi *in vivo*

#### Abstract

**Background:** Black turmeric (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) rhizome is traditionally used for respiratory disorders, however its mucolytic activity remains poorly characterized. **Objective:** This study evaluated the *in vitro* mucolytic activity of the ethanol extract and its fractions (n-hexane, ethyl acetate, and aqueous) and examined their phytochemical profiles. **Method:** This study employed a laboratory experimental design with a *post-test control group*. The extract was obtained by remaceration with 96% ethanol and fractionated by liquid-liquid partitioning. Mucolytic activity was assessed using bovine mucus and an Ostwald viscometer after incubation at 37 °C for 30 min. Viscosity reduction ( $\Delta\eta$ ) and percentage reduction were measured. N-acetylcysteine (0.1%) and Tween 80 (0.5%) were used as controls. Data were analyzed using ANOVA and Bonferroni test. **Results:** The n-hexane fraction and ethanol extract significantly reduced viscosity, approaching the positive control ( $p < 0.001$ ), while other fractions were less active. Nonpolar metabolites, particularly terpenoids and essential oils, predominated in the n-hexane fraction. **Conclusions:** These findings indicate that mucolytic activity is driven by nonpolar metabolites, highlighting the n-hexane fraction as a promising natural mucolytic candidate.

---

## PENDAHULUAN

Gangguan saluran pernapasan masih menjadi masalah kesehatan dengan prevalensi tinggi dan dampak klinis yang luas, terutama pada kelompok usia lanjut namun tetap relevan lintas usia. Data Survei Kesehatan Indonesia menunjukkan peningkatan kejadian infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) dan pneumonia pada lansia, yang secara patofisiologis berkaitan dengan akumulasi mukus kental di saluran napas sehingga menghambat ventilasi dan pembersihan mukosilier (Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan, 2023). Kondisi ini berkontribusi terhadap perburukan penyakit kronik seperti penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) dan asma serta penurunan kualitas hidup pasien. Secara global, WHO memproyeksikan PPOK sebagai penyebab kematian ketiga di dunia, dengan beban penyakit terbesar berada di negara berkembang (WHO, 2025).

Terapi mukolitik berperan penting dalam penatalaksanaan kondisi tersebut dengan menurunkan viskositas mukus dan memperbaiki klirens mukosilier. Namun, penggunaan mukolitik konvensional masih menghadapi keterbatasan, baik dari aspek efektivitas maupun keamanan. N-asetilsistein (NAC), sebagai salah satu mukolitik sintetis yang banyak digunakan, dilaporkan memiliki efektivitas yang tidak selalu konsisten serta berpotensi menimbulkan efek samping serius pada kondisi tertentu, termasuk reaksi anafilaktoid dan toksisitas akibat kesalahan dosis (Mahmoudi *et al.*, 2015; Naraki *et al.*, 2021). Keterbatasan tersebut menunjukkan perlunya eksplorasi agen mukolitik alternatif yang rasional dan berbasis bukti ilmiah, mengingat kebutuhan terapi yang efektif dan aman belum sepenuhnya terpenuhi oleh mukolitik konvensional.

Dalam konteks tersebut, pemanfaatan tanaman obat menjadi salah satu pendekatan yang potensial untuk dikembangkan sebagai sumber agen mukolitik alternatif. *Curcuma aeruginosa* Roxb. (temu hitam) merupakan tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk gangguan saluran napas. Studi sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol rimpang *Curcuma aeruginosa* mampu menurunkan viskositas mukus secara signifikan secara *in vitro* dan menunjukkan aktivitas yang sebanding dengan NAC (Waznah *et al.*, 2024). Namun demikian, bukti ilmiah tersebut masih terbatas pada penggunaan ekstrak kasar sehingga belum dapat menjelaskan secara spesifik fraksi atau senyawa yang berperan dalam aktivitas mukolitik. Selain itu, berbagai aktivitas farmakologis yang lain, seperti antiinflamasi dan antimikroba, juga telah dilaporkan dan dikaitkan dengan keberadaan senyawa seskuiterpenoid, flavonoid, dan komponen volatil (Abdul Aziz *et al.*, 2021; Poudel *et al.*, 2022; Zohmachhuana *et al.*, 2022).

Berdasarkan kondisi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas mukolitik fraksi rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) secara *in vitro* melalui fraksinasi ekstrak etanol berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut, meliputi fraksi nonpolar, semipolar, dan polar. Setiap fraksi diuji aktivitas mukolitiknya berdasarkan kemampuan menurunkan viskositas mukus secara *in vitro* sebagai dasar penilaian aktivitas yang objektif dan terukur.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian adalah studi eksperimental laboratorik dengan rancangan *post-test control group design* untuk mengevaluasi aktivitas mukolitik *in vitro* ekstrak etanol dan fraksi rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. Variabel bebas adalah jenis perlakuan (ekstrak etanol,

fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, kontrol positif, dan kontrol negatif), sedangkan variabel terikat adalah penurunan viskositas mukus.

Bahan dan sampel adalah Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dalam bentuk simplisia kering yang telah memenuhi standar mutu. Determinasi bahan dilakukan oleh institusi penyedia berdasarkan karakteristik morfologi dan data budidaya, serta dibuktikan dengan sertifikat identitas bahan. Peralatan yang digunakan meliputi rotary evaporator (Biobase, Shandong, China), analytical balance (Golden Japan, readability  $\pm 0.0001$  g), viskometer Ostwald 3 mL (Pyrex, USA), water bath (Biobase, Shandong, China), corong pisah (Pyrex, USA), serta lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi etanol 96%, aquadest, Tween 80 pro analysis (Merck, Darmstadt, Jerman), N-acetylcysteine (NAC) sebagai kontrol positif, pelarut n-heksana dan etil asetat (Merck, Darmstadt, Jerman), dapar fosfat pH 7, silika gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Darmstadt, Jerman) untuk kromatografi lapis tipis (KLT), serta mukus sapi segar yang diperoleh dari rumah pemotongan hewan di Maumere.

#### **Pembuatan Ekstrak Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb**

Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. diekstraksi dengan metode remaserasi menggunakan etanol 96% pada perbandingan 1:5 (b/b). Sebanyak 400 g serbuk rimpang dimaserasi dalam 2,0 L etanol 96% selama 24 jam, dan proses remaserasi dilakukan sebanyak lima siklus dengan pengadukan sesekali (Khaerunnisa & Fajri, 2021). Seluruh filtrat digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C, kemudian dilanjutkan dengan pemanasan menggunakan water bath pada suhu 45 °C hingga diperoleh ekstrak kental dengan berat konstan. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya diuji bebas pelarut etanol melalui uji warna dan uji bau. Uji warna dilakukan dengan penambahan asam sulfat pekat dan kalium dikromat, sedangkan uji bau dilakukan setelah penambahan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat, di mana tidak terdeteksinya perubahan warna jingga dan bau ester khas menunjukkan hasil negatif etanol (Schoorl, 1988; Yuniarti *et al.*, 2024). Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya lalu dilakukan skrining fitokimia dan KLT.

#### **Fraksinasi dengan Partisi Cair–Cair**

Ekstrak etanol rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. yang telah dipekatkan ditimbang sebanyak 4 g dan dilarutkan dalam 40 mL akuades hingga homogen. Larutan dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL dan dipartisi dengan 40 mL n-heksana. Campuran dikocok perlahan dan dibiarkan hingga terbentuk dua fase yang stabil. Fase n-heksana (fase atas) dipisahkan dari fase air (fase bawah), dan proses partisi diulangi hingga fase n-heksana berwarna bening, menandakan ekstraksi senyawa nonpolar berlangsung optimal (Gaffar *et al.*, 2018). Seluruh fase n-heksana kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk memperoleh fraksi n-heksana. Fase air hasil partisi selanjutnya dipartisi kembali dengan etil asetat menggunakan perbandingan 1:1 (v/v) di dalam corong pisah. Proses pengocokan dan pemisahan fase dilakukan secara berulang hingga diperoleh ekstraksi optimal (Gaffar *et al.*, 2018). Seluruh fase etil asetat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk menghasilkan fraksi etil asetat (fraksi semipolar). Sisa fase air selanjutnya diuapkan untuk memperoleh fraksi air (fraksi polar).

Rendemen masing-masing fraksi, yaitu fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air, dihitung berdasarkan perbandingan antara berat fraksi kering yang diperoleh terhadap berat ekstrak awal yang digunakan. Rendemen dinyatakan dalam persen (%), dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100 \%$$

### Skrining Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Skrining fitokimia ekstrak meliputi uji alkaloid menggunakan reagen Mayer setelah pelarutan sampel dalam HCl 2 N, dengan indikasi positif berupa endapan kemerahan; uji flavonoid dilakukan melalui reaksi magnesium-HCl yang ditandai perubahan warna oranye menjadi merah keunguan; uji saponin menggunakan metode pembentukan busa stabil  $\geq 1$  cm setelah pengocokan dengan air dan penambahan HCl; uji fenolik dan tanin dilakukan dengan penambahan FeCl<sub>3</sub> masing-masing 10% dan 1% yang menghasilkan warna biru atau kehijauan; uji terpenoid dan steroid menggunakan reaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat yang ditandai warna coklat kemerahan untuk terpenoid dan cincin biru-hijau untuk steroid; serta uji minyak atsiri dilakukan dengan penguapan sampel hingga residu yang menunjukkan bau khas (Mahatrinny *et al.*, 2014; Maheshwaran *et al.*, 2024; Marjoni, 2016).

Analisis KLT dilakukan menggunakan silika gel 60 F<sub>254</sub> sebagai fase diam. Masing-masing fraksi ditotolkan pada plat KLT dan dikembangkan menggunakan sistem eluen yang sesuai. Visualisasi noda dilakukan di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, kemudian diamati berdasarkan jumlah noda, nilai R<sub>f</sub>, serta intensitas fluoresensi untuk mendukung hasil skrining fitokimia.

### Pembuatan Larutan Uji Mukolitik

Kontrol negatif dibuat dengan mencampurkan Tween 80 0,5% (v/v) ke dalam larutan mukus-dapar fosfat hingga volume 5 mL. Kontrol positif dibuat dari N-asetilsistein 0,1% yang dilarutkan bersama Tween 80 0,5% hingga volume 5 mL (Khotijah *et al.*, 2020). Larutan uji ekstrak, fraksi, dan subfraksi dibuat dengan melarutkan 0,05 g sampel dalam Tween 80 0,5%, kemudian ditambahkan media mukus-dapar fosfat hingga volume 5 mL. Semua perlakuan dibuat dalam tiga ulangan.

### Uji Aktivitas Mukolitik *In Vitro*

Uji aktivitas mukolitik *in vitro* dilakukan menggunakan mukus sapi dengan metode viskometer Ostwald terhadap ekstrak rimpang *Curcuma aeruginosa*, fraksi air, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, serta kontrol positif dan kontrol negatif. Seluruh larutan uji terlebih dahulu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Viskositas awal (V<sub>0</sub>) diukur menggunakan larutan mukus-dapar fosfat, sedangkan viskositas akhir (V<sub>i</sub>) diukur setelah penambahan masing-masing sampel uji, dengan replikasi sebanyak tiga kali. Nilai viskositas dihitung berdasarkan waktu alir dan kerapatan larutan yang ditentukan menggunakan piknometer (Khotijah *et al.*, 2020; Umboro & Apriliany, 2023; Vitri *et al.*, 2023). Berikut rumus untuk menentukan nilai viskositasnya :

$$\eta \text{ sampel} = \frac{\rho \text{ sample} \times \text{waktu alir sampel}}{\rho \text{ aquadest} \times \text{waktu alir aquadest}} \times \eta \text{ aquadest (0,86 cp)}$$

Rumus untuk menghitung nilai kerapatan yaitu :

$$\text{Kerapatan } (\rho) = \frac{\text{Berat piknometer sampel (g)} - \text{Berat piknometer kosong (g)}}{\text{Volume (mL)}}$$

Aktivitas mukolitik dinilai berdasarkan penurunan viskositas mukus yang dinyatakan sebagai nilai delta viskositas ( $\Delta\eta$ ) dan persen reduksi viskositas relatif terhadap viskositas awal ( $V_0$ ). Persen reduksi viskositas dihitung menggunakan rumus  $(V_0 - V_1)/V_0 \times 100\%$ . Semakin besar nilai  $\Delta\eta$  dan persen reduksi viskositas, semakin tinggi aktivitas mukolitik sampel uji.

Data hasil pengukuran viskositas disajikan dalam bentuk nilai rata-rata  $\pm$  simpangan baku. Analisis statistik dilakukan menggunakan uji ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji lanjut Bonferroni pada taraf signifikansi  $\alpha = 0,05$ . Seluruh analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 16.0.

## HASIL PENELITIAN

Rendemen ekstrak dan fraksi rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. disajikan pada Tabel 1. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui distribusi senyawa berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi dan fraksinasi.

**Tabel 1. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb.**

Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 96%	41,0	13,67
Fraksi n-heksan	4,8	11,71
Fraksi etil asetat	6,4	15,61
Fraksi air	22,6	55,12

Sumber : Data Primer, 2025

Perbedaan kandungan metabolit sekunder antara ekstrak etanol dan masing-masing fraksi rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. menunjukkan bahwa proses fraksinasi berbasis perbedaan polaritas pelarut menghasilkan distribusi senyawa yang lebih selektif. Ekstrak etanol 96% memperlihatkan spektrum senyawa yang paling lengkap, mencakup fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid (Tabel 2).

Berdasarkan hasil pengukuran (Tabel 3), viskositas awal mukus sapi diperoleh sebesar  $2.599 \pm 0.178$  cP dengan nilai RSD 4.06%, yang menunjukkan presisi metode yang baik. Mengacu pada pedoman ICH Q2 (R2), presisi metode analitik untuk sistem semisolid kompleks umumnya dapat diterima pada batas RSD < 15% .

**Tabel 2. Profil Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Berdasarkan Skrining Fitokimia dan KLT**

Senyawa	Ekstrak Etanol	n-Heksan	Etil Asetat	Air
Fenolik	++	-	++	-
Flavonoid	++	+	++	-
Tanin	-	-	-	++
Alkaloid	++	±	++	+
Saponin	++	-	±	++
Steroid	-	++	++	-
Terpenoid	±	++	++	-
Minyak atsiri	+	++	+	-

Sumber : Data Primer, 2025

Keterangan:

(++) terdeteksi kuat; (+) terdeteksi; (±) terdeteksi lemah; (-) tidak terdeteksi

**Tabel 3. Viskositas Awal ( $V_0$ ) Mukus Sapi Sebelum Perlakuan**

Parameter	Nilai
Jumlah pengukuran	18
Viskositas awal (cP)	2.599±0.178
RSD (%)	4.06

Sumber : Data Primer, 2025

Tabel 4 menyajikan perubahan viskositas mukus sapi setelah perlakuan ekstrak dan fraksi rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. dibandingkan kontrol positif dan negatif. Parameter yang diamati meliputi viskositas awal ( $V_0$ ), viskositas setelah perlakuan ( $V_1$ ), selisih viskositas ( $\Delta$ ), serta persentase aktivitas mukolitik relatif.

**Tabel 4. Pengaruh Ekstrak dan Fraksi terhadap Perubahan Viskositas Mukus Sapi**

Kelompok Perlakuan	$V_0$ (cP)	$V_1$ (cP)	$\Delta V$ (cP)	% Penurunan Viskositas
Kontrol Positif (NAC 0,1%)	2.624 ± 0.193	2.208 ± 0.149	0.416 ± 0.046	15.833 ± 0.709
Kontrol Negatif	2.671 ± 0.081	2.642 ± 0.088	0.029 ± 0.023	1.100 ± 0.854
Fraksi n-Heksan 1%	2.459 ± 0.141	2.065 ± 0.096	0.352 ± 0.022	14.567 ± 0.551
Ekstrak Etanol 1%	2.919 ± 0.070	2.520 ± 0.072	0.399 ± 0.003	13.677 ± 0.413
Fraksi Air 1%	2.417 ± 0.114	2.317 ± 0.024	0.185 ± 0.032	7.400 ± 1.253
Fraksi Etil Asetat 1%	2.501 ± 0.029	2.316 ± 0.137	0.143 ± 0.032	5.867 ± 1.305

Sumber : Data Primer, 2025

Keterangan:

 $V_0$  = viskositas awal mukus sebelum perlakuan $V_1$  = viskositas mukus setelah inkubasi dengan sampel uji $\Delta V = V_0 - V_1$ % penurunan viskositas =  $(\Delta V / V_0) \times 100\%$

Berdasarkan Gambar 1, kontrol positif N-asetilsistein (0,1%) menunjukkan persentase penurunan viskositas tertinggi, mengonfirmasi sensitivitas dan validitas sistem uji mukolitik yang digunakan. Di antara sampel uji, fraksi n-heksan menunjukkan aktivitas tertinggi, diikuti oleh ekstrak etanol, dengan nilai yang mendekati kontrol positif. Fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan aktivitas yang lebih rendah, sedangkan kontrol negatif hanya menghasilkan perubahan minimal.



**Gambar 1. Grafik Persentase Aktivitas Mukolitik Relatif**

## PEMBAHASAN

Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan untuk memisahkan metabolit sekunder berdasarkan perbedaan kepolaran guna mengidentifikasi fraksi yang paling berkontribusi terhadap aktivitas mukolitik. Rendemen ekstrak etanol 96% sebesar 13,67% menunjukkan bahwa etanol efektif mengekstraksi komponen bioaktif rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb., sejalan dengan kemampuannya melarutkan senyawa polar hingga semipolar ((Li *et al.*, 2022).

Distribusi rendemen fraksi menunjukkan variasi yang jelas, dengan fraksi air tertinggi (55,12%), diikuti etil asetat (15,61%) dan n-heksan (11,71%). Pola ini mengindikasikan dominasi metabolit polar dan semipolar dalam ekstrak etanol, karena pelarut berpolaritas tinggi cenderung mempertahankan lebih banyak komponen terlarut (Chatepa *et al.*, 2024). Temuan ini konsisten dengan laporan pada *C. aeruginosa* serta spesies lain seperti *C. longa* dan *C. xanthorrhiza*, yang menunjukkan dominasi senyawa bioaktif pada fraksi polar dan semipolar (Arya *et al.*, 2022; Haroen *et al.*, 2025; Suharsanti *et al.*, 2023, 2024).

Meskipun fraksi n-heksan memiliki rendemen terendah, fraksi ini tetap relevan karena berpotensi mengandung senyawa nonpolar seperti terpenoid dan minyak atsiri (Pichetpongton *et al.*, 2025). Selektivitas n-heksan terhadap senyawa lipofilik dan volatil telah dilaporkan sebelumnya (Rapinel *et al.*, 2017). Terpenoid diketahui memiliki afinitas terhadap domain lipid dan struktur hidrofobik biologis (Hoshino, 2024), serta secara teoritis mampu memodifikasi sifat fisik mukus melalui interaksi hidrofobik yang memengaruhi kohesivitas mukoprotein (Leal *et al.*, 2017). Sebaliknya, fraksi etil asetat dan air mengandung flavonoid, fenolik, dan saponin.

Senyawa fenolik dan flavonoid dapat memodulasi struktur protein dan glikoprotein melalui interaksi non-kovalen (Dinu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2025; Shahidi & Dissanayaka, 2023), sedangkan saponin memiliki sifat biosurfaktan yang meningkatkan hidrasi dan dispersi mukopolisakarida (Petrović *et al.*, 2022; Rai *et al.*, 2021). Dengan demikian, fraksinasi berbasis polaritas terbukti mampu memisahkan kelompok metabolit secara selektif dan memberikan indikasi awal terhadap potensi aktivitas biologis masing-masing fraksi.

Berdasarkan hasil pengukuran (Tabel 3), viskositas awal mukus sapi diperoleh sebesar  $2.599 \pm 0.178$  cP dengan nilai RSD 4.06%, yang menunjukkan presisi metode yang baik. Mengacu pada pedoman ICH Q2 (R2), presisi metode analitik untuk sistem semisolid kompleks umumnya dapat diterima pada batas RSD < 15% . Mukus sapi merupakan matriks biologis semisolid yang heterogen dan bersifat non-Newtonian, nilai RSD yang diperoleh masih berada dalam rentang yang dapat diterima (Chiarentin *et al.*, 2023). Dengan demikian, metode pengukuran viskositas dalam penelitian ini dinilai memiliki repeatability yang memadai dan layak digunakan untuk evaluasi aktivitas mukolitik. Hal ini juga mengindikasikan bahwa mukus yang digunakan memiliki tingkat homogenitas yang memadai untuk pengujian *in vitro*.

Nilai viskositas awal yang diperoleh dalam penelitian ini juga sejalan dengan karakteristik viskositas mukoid bovine yang telah dilaporkan sebelumnya. Mukoid yang diisolasi dari kelenjar submaksilaris sapi menunjukkan viskositas sebesar 2,76 cP pada konsentrasi 0,5% dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7,0 (Draus & Leung, 1960). Nilai ini mendekati viskositas awal yang diperoleh dalam penelitian ini (2.599 cP), sehingga mendukung bahwa sistem mukus yang digunakan masih berada dalam kisaran viskositas biologis yang relevan. Kesetaraan kisaran viskositas ini menunjukkan bahwa sistem mukus yang digunakan berada dalam kondisi fisik yang sebanding dengan model mukus bovine yang telah dilaporkan sebelumnya. Hal ini mengindikasikan bahwa nilai viskositas awal ( $V_0$ ) yang diperoleh cukup representatif sebagai dasar evaluasi aktivitas mukolitik. Dengan demikian, perubahan viskositas yang diamati setelah perlakuan dapat lebih rasional diinterpretasikan sebagai efek intervensi, bukan semata-mata akibat variasi awal sistem mukus.

Secara fungsional, kontrol positif N-asetilsistein (0,1%) menunjukkan penurunan viskositas terbesar, menegaskan sensitivitas model terhadap agen mukolitik standar. Fraksi n-heksan dan ekstrak etanol menunjukkan efektivitas yang mendekati kontrol positif, sedangkan fraksi etil asetat dan air memberikan efek lebih rendah. Kontrol negatif hanya menghasilkan perubahan minimal, sehingga penurunan viskositas terutama disebabkan oleh komponen aktif sampel. Analisis ANOVA satu arah mengonfirmasi adanya perbedaan signifikan antar kelompok ( $p < 0,001$ ), dan uji Bonferroni menunjukkan bahwa fraksi n-heksan serta ekstrak etanol tidak berbeda signifikan dari kontrol positif, tetapi berbeda dari kontrol negatif.

Distribusi aktivitas ini sejalan dengan profil fitokimia. Dominasi terpenoid dan minyak atsiri pada fraksi n-heksan mendukung dugaan peran komponen nonpolar dalam aktivitas mukolitik. Monoterpen seperti 1,8-cineole dilaporkan menurunkan ekspresi gen mucin dan hipersekresi lendir (Juergens *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022). Selain itu, senyawa volatil dan lipofilik dapat mengganggu interaksi mucin–mucin melalui interaksi hidrofobik dan gangguan ikatan non-kovalen, yang berkontribusi terhadap penurunan viskositas jaringan mukin (Dinu *et al.*, 2020). Sebaliknya, flavonoid dan fenolik pada fraksi semipolar berpotensi memodulasi struktur glikoprotein melalui interaksi hidrogen (Dinu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2025), sementara

saponin meningkatkan hidrasi mukus melalui mekanisme surfaktan (Petrović *et al.*, 2022; Rai *et al.*, 2021). Menariknya, tidak terdapat korelasi langsung antara besarnya rendemen dan aktivitas mukolitik. Fraksi air memiliki rendemen tertinggi, tetapi aktivitasnya lebih rendah dibandingkan fraksi n-heksan.

Temuan penelitian ini menegaskan bahwa aktivitas mukolitik *Curcuma aeruginosa* tidak ditentukan oleh besarnya rendemen ekstrak, melainkan oleh spesifisitas metabolit nonpolar yang terakumulasi pada fraksi n-heksan. Hal ini mengindikasikan bahwa pendekatan berbasis fraksinasi lebih rasional dibandingkan penggunaan ekstrak kasar dalam mengevaluasi aktivitas biologis bahan alam. Secara khusus, penelitian ini memberikan bukti awal bahwa fraksi nonpolar merupakan kontributor utama aktivitas mukolitik pada *C. aeruginosa*, yang sebelumnya belum diidentifikasi secara spesifik dalam studi berbasis ekstrak. Implikasi ini tidak hanya memperkuat pemahaman mengenai hubungan antara kepolaran senyawa dan aktivitas mukolitik, tetapi juga mengarahkan strategi penelitian menuju isolasi senyawa aktif yang lebih terfokus, khususnya golongan terpenoid dan komponen volatil. Secara aplikatif, fraksi n-heksan berpotensi dikembangkan sebagai kandidat mukolitik alami dengan pendekatan yang lebih selektif dan terstandar. Namun demikian, validasi lanjutan melalui identifikasi senyawa aktif, elucidasi mekanisme kerja, serta uji *in vivo* dan klinis tetap diperlukan untuk memastikan relevansi terapeutiknya

## SIMPULAN

Fraksinasi berbasis polaritas pada rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. menghasilkan perbedaan aktivitas mukolitik yang signifikan. Meskipun fraksi air memiliki rendemen tertinggi, fraksi n-heksan menunjukkan penurunan viskositas mukus paling kuat dan mendekati kontrol positif. Hal ini menegaskan bahwa aktivitas biologis lebih ditentukan oleh keberadaan senyawa nonpolar spesifik, terutama terpenoid dan komponen volatil, dibandingkan besarnya rendemen. Dengan demikian, fraksi nonpolar *C. aeruginosa* berpotensi sebagai kandidat agen mukolitik berbasis bahan alam.

## SARAN

Penelitian lanjutan perlu difokuskan pada isolasi dan karakterisasi senyawa aktif fraksi n-heksan, analisis reologi lanjutan untuk mengevaluasi sifat viskoelastis mukus, serta uji *in vivo* dan toksisitas guna mendukung pengembangan menuju tahap praklinis.

## REFERENSI

- Abdul Aziz, J., Saidi, N.B., Ridzuan, R., Mohammed, A.K.S., Abdul Aziz, M., Abdul Kadir, M., Abdullah, N.A.P., Hussein, S. and Yusoff, H. (2021). Chemical profiling of *Curcuma aeruginosa* Roxb. essential oil and its antimicrobial activity against pathogenic microbes. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(5), pp.1059–1071.
- Arya, O., Adhikari, P., Pandey, A., Bhatt, I. and Mohanty, K. (2022). Health promoting bioactive phenolic compounds in different solvent extracts of *Curcuma caesia* Roxb. rhizome from North-East India. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16805>
- Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan (2023). *Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 dalam angka*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Available at: <https://www.litbang.kemkes.go.id/ski2023>

- Chatepa, L.E.C., Mwamatope, B., Chikowe, I. and Masamba, K.G. (2024). Effects of solvent extraction on the phytoconstituents and in vitro antioxidant activity properties of leaf extracts of selected medicinal plants from Malawi. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), p.317. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04317-8>
- Chiarentin, L., Cardoso, C., Miranda, M. and Vitorino, C. (2023). Rheology of complex topical formulations: an analytical quality by design approach to method optimization and validation. *Pharmaceutics*, 15(7), p.1810. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071810>
- Dinu, V., MacCalman, T., Yang, N., Adams, G., Yakubov, G., Harding, S. and Fisk, I. (2020). Probing the effect of aroma compounds on the hydrodynamic properties of mucin glycoproteins. *European Biophysics Journal*, 49, pp.799–808. <https://doi.org/10.1007/s00249-020-01475-4>
- Draus, F. and Leung, S. (1960). Characteristics and properties of a bovine submaxillary mucoid. *Archives of Oral Biology*, 3, pp.35–40. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(60\)90016-9](https://doi.org/10.1016/0003-9969(60)90016-9)
- Gaffar, S., Apriani, R. and Herlina, T. (2018). Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap sel kanker payudara T47D. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), p.302.
- Haroen, U., Syafwan, S., Kurniawan, K., Budiansyah, A., Widjaja, N. and Fakhri, S. (2025). Phenolic and flavonoid content and biological activity of *Curcuma xanthorrhiza* fractions with different solvent polarities. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 12, pp.192–204. <https://doi.org/10.5455/javar.2025.1886>
- Hoshino, Y. (2024). Terpenoids and membrane dynamics evolution. *Frontiers in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.3389/fevo.2024.1345733>
- Juergens, L., Worth, H. and Juergens, U. (2020). New perspectives for mucolytic, anti-inflammatory and adjunctive therapy with 1,8-cineole in COPD and asthma. *Advances in Therapy*, 37, pp.1737–1753. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01279-0>
- Khaerunnisa, R. and Fajri, F.N. (2021). Effectiveness of antibacterial activity of mint leaf (*Mentha piperita* L.) extract against *Streptococcus sanguinis*. *Journal of Health and Dental Sciences*, 1(1), pp.65–76.
- Khotijah, S., Laily, D.I., Widodo, B.N. and Sutoyo, S. (2020). Aktivitas mukolitik ekstrak n-heksana tumbuhan paku *Nephrolepis radicans*. *Unesa Journal of Chemistry*, 9(2), pp.121–127.
- Leal, J., Smyth, H. and Ghosh, D. (2017). Physicochemical properties of mucus and their impact on transmucosal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 532(1), pp.555–572. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.018>
- Li, J., Chen, W., Liu, H., Xiang, S., You, F., Jiang, Y., Lin, J., Zhang, D. and Zheng, C. (2022). Pharmacologic effects of essential oils and their components on respiratory diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 304, p.115962. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115962>
- Li, J., Kang, Y., Wang, Y., Liu, J., Bu, Y., Li, X., Xie, J. and Wang, Z. (2025). Ionic liquid-based polarity-adjustable deep eutectic solvent extraction followed by HPLC-DAD for determination of liposoluble anthraquinones. *Journal of Separation Science*, 48(3), e70116.
- Mahatriny, N.N., Payani, N.P.S., Oka, I.B.M. and Astuti, K.W. (2014). Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1).
- Maheshwaran, L., Nadarajah, L., Senadeera, S., Ranaweera, C.B., Chandana, A.K. and Pathirana, R.N. (2024). Phytochemical testing methodologies and principles for preliminary screening. *Asian Plant Research Journal*, 12(5), pp.11–38.
- Mahmoudi, G.A., Astaraki, P., Mohtashami, A.Z. and Ahadi, M. (2015). N-acetylcysteine overdose after acetaminophen poisoning. *International Medical Case Reports Journal*, 8, pp.65–69.

- Marjoni, M.R. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: Trans Info Media.
- Naraki, K., Mousavi, S.H., Etemad, L., Rezazadeh-Shojaie, S.M., Sadeghi, T. and Moshiri, M. (2021). N-acetylcysteine overdose: a case report. *International Journal of Medical Toxicology and Forensic Medicine*, 11(1), p.32409.
- Petrović, B., Vukomanović, P., Popović, V., Todosijević, L.Š., Burić, M., Nikolić, M. and Djordjevic, S. (2022). Significance and efficacy of triterpene saponins with expectorant action in cough therapy. *Agriculture and Forestry*. <https://doi.org/10.17707/agricultforest.68.3.17>
- Pichetpongton, P., Komaikul, J., Ruangdachsuwan, S., Churod, T., Masrinoul, P. and Kitisripanya, T. (2025). In vitro evaluation and phytochemical analysis of *Curcuma aeruginosa* against human coronavirus OC43. *Scientific Reports*, 15. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-06986-8>
- Poudel, D.K., Ojha, P.K., Rokaya, A., Satyal, R., Satyal, P. and Setzer, W.N. (2022). Analysis of volatile constituents in *Curcuma* species from Nepal. *Plants*, 11(15), p.1932.
- Rai, S., Siwakoti, E., Kafle, A., Devkota, H. and Bhattarai, A. (2021). Plant-derived saponins: a review of their surfactant properties and applications. *Preprints*. <https://doi.org/10.20944/preprints202108.0152.v1>
- Rapinel, V., Rombaut, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A., Cravotto, G. and Chemat, F. (2017). Use of liquefied n-butane as alternative solvent to n-hexane. *LWT – Food Science and Technology*, 85, pp.524–533. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.003>
- Schoorl (1988). *Materi pelengkap kemurnian cara pemisahan obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Shahidi, F. and Dissanayaka, C.S. (2023). Phenolic–protein interactions: insight from in-silico analyses. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5, p.1. <https://doi.org/10.1186/s43014-022-00121-0>
- Suharsanti, R., Wahyuono, S., Astuti, P. and Yuniarti, N. (2023). Isolation and characterization of curcumenone from *Curcuma aeruginosa* as antioxidant. *Indonesian Journal of Pharmacy*. <https://doi.org/10.22146/ijp.7799>
- Suharsanti, R., Wahyuono, S., Yuniarti, N. and Astuti, P. (2024). Antioxidant activity and pancreatic lipase inhibition of *Curcuma aeruginosa* fractions. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v9i2.33900>
- Umboro, R.O. and Apriliany, F. (2023). Uji in vitro aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Kesehatan Qamarul Huda*, 11(1), pp.322–329.
- Vitri, D.A.P., Rismiyati, R., Ananda, J.E.P., Syach, M., Adira, N.O. and Aini, S.R. (2023). Uji efektivitas mukolitik ramuan buah adas (*Foeniculum vulgare*) secara in vitro. *Journal of Pharmacy and Science*, 6(2), pp.97–102.
- Waznah, U., Mufrodah, N., Wirasti, W. and Mugiyanto, E. (2024). Evaluation of mucolytic activity of *Curcuma aeruginosa* ethanol extract. *Farmasains*, 9(2), pp.59–68.
- Yuniarti, R., Satria, A.W., Wiandini, W., Zaezarini, N., Achmad, F. and Yusupandi, F. (2024). Pengaruh perlakuan awal terhadap karakteristik bioetanol dari limbah kulit singkong. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 13(1), pp.1–8.
- Zohmachhuana, A., Lalnunmawia, F., Mathipi, V., Lalrinzuali, K. and Kumar, N.S. (2022). *Curcuma aeruginosa* exhibits cytotoxicity via apoptosis pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 150, p.113039. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113039>