

# Validasi Metode HPLC untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Dedi Hanwar<sup>1\*</sup>, Vivi Resty Handayani<sup>1</sup>, Andi Suhendi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Faramsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

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

## Abstrak

**Keywords:**  
Temulawak;  
Curcuma  
xanthorrhiza;  
kurkumin; HPLC;  
Validasi

Kurkumin yang terdapat pada rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki banyak khasiat dan digunakan pada banyak sediaan obat herbal. Analisis kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak harus dilakukan dengan metode yang valid untuk menjamin kualitas ekstrak. Penelitian ini telah mengembangkan metode HPLC yang tervalidasi untuk analisis kurkumin dalam ekstrak temulawak. Analisis kurkumin dilakukan dengan HPLC Alliance 2998, kolom SunFire<sup>TM</sup> C18 5  $\mu$ m, 4,6 x 150 mm, fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,5% (60:40) dan flow rate 0,8 ml/menit, deteksi pada  $\lambda$  425,5 nm dengan detektor PDA. Parameter validasi yang ditentukan yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi dan selektifitas. Hasil penelitian didapatkan nilai perolehan kembali  $100,19 \pm 1,54\%$  dengan RSD 1,54%, keterulangan dan presisi antara didapatkan RSD berturut-turut  $0,64 \pm 0,39\%$  dan  $0,49 \pm 0,06\%$ . Nilai parameter linieritas menunjukkan korelasi yang baik antara respon metode terhadap perubahan konsentrasi analit dengan nilai R yaitu 0,994. Sensitifitas metode ini cukup baik dilihat dari nilai batas deteksi dan batas kuantitasi berturut-turut yaitu 12 ng/mL dan 41 ng/mL. Metode ini juga memiliki selektifitas yang baik dilihat dari nilai resolusi yaitu 1,7. Berdasarkan nilai-nilai parameter validasi tersebut maka metode HPLC untuk analisis kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak adalah valid.

## 1. PENDAHULUAN

Ekstrak rimpang temulawak dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis diantaranya antioksidan [1], antiinflammasi [2], antivirus dan antijamur [3]. Selain bermanfaat untuk pemeliharaan kesehatan, kurkumin juga telah digunakan sebagai pewarna dan pengawet makanan serta pewarna kuning untuk tekstil [4].

Sebagai obat yang mempunyai banyak khasiat, temulawak banyak ditemukan

dalam resep-resep obat tradisional, Obat Herbal Terstandar (OHT) dan Fitofarmaka. Begitu banyak resep yang menggunakan temulawak dan manfaatnya cukup luas dalam dunia farmasi menyebabkan temulawak menjadi tanaman obat yang cukup potensial dan prospektif untuk dikembangkan. Produk-produk OHT dan Fitofarmaka berbasis kurkumin yang telah beredar di pasaran antara lain Rheumaneer, Kiranti, Kunyit Asam, Curcuma Plus.

Produk-produk tersebut khasiatnya sangat tergantung pada kadar kurkumin. Oleh karena itu, diperlukan metode yang sesuai untuk menganalisis kurkumin.

Sejumlah penelitian melaporkan telah banyak metode yang dilakukan untuk menganalisis kurkuminoid, diantaranya Flow Injection Analysis (FIA), spektrofotometri UV-Vis, spektroskopi infra merah [5], spektrofotometri [6], kromatografi kolom [7] dan KLT-densitometri [8, 9].

Metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography) merupakan metode yang mampu memberikan pemisahan kapasitas analit yang baik menjadi komponen-komponennya serta dapat digunakan untuk melakukan analisis simultan. Metode ini dapat dilakukan untuk penentuan kualitatif dan kuantitatif sampel dalam jumlah besar [10]. Metode HPLC juga dapat digunakan untuk menganalisis kurkuminoid dari beberapa genus *Curcuma* yang ada di Indonesia, seperti *C. mangga* Val, *C. aeruginosa* Roxb [11].

Uji validitas metode HPLC telah dilakukan terhadap beberapa sampel diantaranya sediaan farmasi tablet, produk makanan dan ekstrak tanaman seperti *Curcuma longa*. Hasil uji validitas menunjukkan metode ini sederhana, sensitif, cepat [12] serta memiliki presisi dan akurasi yang baik [13]. Namun uji validitas metode ini belum dilakukan terhadap ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan dan melakukan validasi terhadap metode HPLC untuk penetapan kadar kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak, agar dapat menjamin kualitas kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak baik sebagai bahan baku maupun untuk dijadikan produk akhir.

## 2. METODE

**Alat** yang digunakan yaitu seperangkat alat ekstraksi, seperangkat HPLC *Waters* 2998 dengan detektor *Photodiode-Array* (PDA), kolom *SunFire*<sup>TM</sup> C18 5  $\mu$ m 4,6 x 150 mm, neraca

analitik (*And Comp GR*. 202), sonikator (*Branson* 2510), peralatan gelas (*Pyrex*), pipet mikro (*Socorex*), kertas saring, vakum penyaring (*Pall*), *micropore* 0,45  $\mu$ m PVDF Acrodisc LC (*Pall*).

Bahan yang digunakan yaitu standar kurkumin (*purity* 80%), ekstrak metanol rimpang temulawak, metanol teknis (*Brataco*), metanol *p.a* (*pro analysis*), metanol *for HPLC*, asetonitril, asam fosfat, akuabidestilata (*Ika*), jika tidak dinyatakan lain berasal dari *Merck*.

### a. Pengumpulan Rimpang

Rimpang temulawak yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang temulawak yang berasal dari Pasar Gede Surakarta.

### b. Ekstraksi Kurkuminoid

Rimpang temulawak segar dicuci dengan air bersih, diiris dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama satu minggu. Kemudian dikeringkan kembali di dalam oven pada suhu 50<sup>o</sup> C selama 6 jam. Rimpang kecil dipotong dalam potongan lebih kecil, diserbukkan dengan penyerbuk elektronik, kemudian diekstraksi menggunakan metanol sebanyak 5 L selama 6 jam pada suhu kamar, kemudian ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

### c. Pembuatan larutan standar

Ditimbang standar kurkumin 10,0 mg secara seksama, kemudian dilarutkan dengan metanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (*part per milion*). Selanjutnya dari stok tersebut diambil 1,0 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, lalu ditambahkan metanol *p.a* sampai tanda sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (larutan 1).

### d. Optimasi HPLC

Larutan 1 disaring dengan *micropore* dan hasil tampungan dimasukkan ke dalam vial HPLC. Kemudian 10  $\mu$ L larutan diinjeksikan secara otomatis ke dalam sistem HPLC yang terdiri dari fase gerak 1 asetonitril:asam fosfat 0,5% (65:35), fase gerak 2 asetonitril:asam fosfat 0,5% (60:40) *flow rate* 0,8 mL/menit dan dideteksi pada panjang gelombang 380-800 nm.

**e. Penetapan kurva baku kurkumin**

Diambil 400, 800, 1600, 3200 dan 6400  $\mu\text{L}$  dari larutan 1, kemudian dimasukkan dalam labu takar 10,0 mL dan ditambahkan metanol *p.a* hingga batas sehingga diperoleh konsentrasi 4, 8, 16, 32 dan 64 ppm. Kemudian masing-masing konsentrasi diinjeksikan ke dalam sistem HPLC yang terpilih. Luas area yang diperoleh dibuat persamaan garis lurus dengan konsentrasi sebagai sumbu X dan luas area sebagai sumbu Y.

**f. Preparasi sampel**

Ekstrak ditimbang 10,0 mg secara seksama dengan botol timbang dan dilarutkan dengan metanol *p.a*, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan ditambahkan metanol *p.a* hingga batas, dihomogenkan dan disaring. Kemudian dimasukkan ke dalam vial HPLC. Larutan siap untuk dianalisis.

**g. Penetapan parameter validasi**

**g.1. Akurasi**

Ditimbang ekstrak sesuai prosedur preparasi sampel yang ada dan direplikasi sebanyak 3 kali, penimbangan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu : 1) kelompok dengan penambahan larutan standar 80%

2) kelompok dengan penambahan larutan standar 100%

3) kelompok dengan penambahan larutan standar 120%

4) kelompok tanpa penambahan larutan standar

Kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC, hasil kadar yang diperoleh dihitung nilai perolehan kembali dengan syarat keberterimaan antara 95-105%.

**g.2. Keterulangan**

Ekstrak ditimbang sesuai prosedur preparasi sampel yang ada sebanyak 7 kali penimbangan yang sama, kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC. Tujuh kadar sampel dihitung nilai RSD dan nilai keberterimaan RSD kurang dari 3,7%. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada hari yang sama.

**g.3. Presisi Antara**

Ekstrak ditimbang sesuai prosedur preparasi sampel yang ada sebanyak 7 kali penimbangan yang sama, kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC. Tujuh kadar

sampel dihitung nilai RSD. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada hari yang berbeda.

**g.4. Linieritas**

Dibuat 7 seri kadar larutan standar dengan kadar 28, 32, 36, 40, 44, 48 dan 52 ppm yang diperoleh dari pengambilan stok larutan standar 400 ppm sebanyak 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 dan 1300  $\mu\text{L}$  ditambahkan metanol hingga 10,0 mL dalam labu takar. Kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC. Data diolah menggunakan *Linier Regression (LR)* antara kadar dengan luas area. Kemudian dihitung nilai R dengan syarat keberterimaan R lebih dari 0,99. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

**g.5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi dihitung dengan metode statistik.

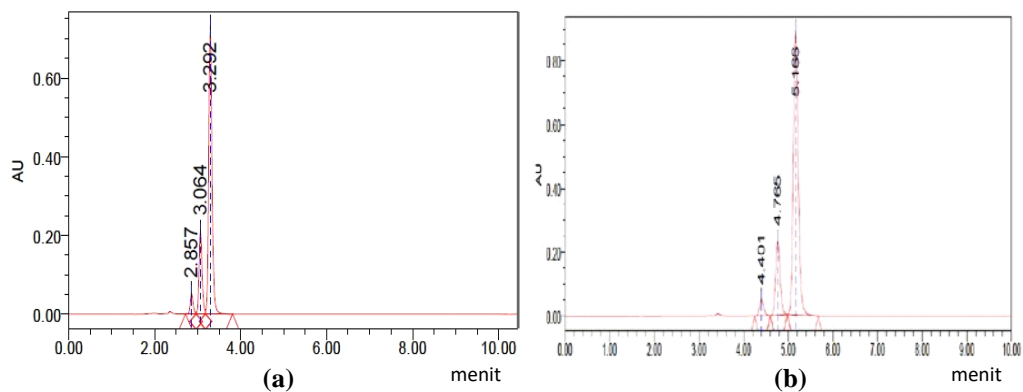
**g.6. Selektifitas**

Selektifitas ditentukan dari nilai resolusi kromatogram kurkumin dari sampel ekstrak temulawak.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Optimasi HPLC

Optimasi fase gerak dilakukan menggunakan beberapa kombinasi yang berbeda untuk mendapatkan resolusi yang tinggi dan puncak yang reproduksibel [14]. Langkah awal pemilihan fase gerak adalah dengan komposisi yang sederhana berisi dua fase larutan menggunakan sistem isokratik. Optimasi yang dilakukan yaitu pada kombinasi asetonitril:asam fosfat 0,5% dengan perbandingan 65:35 dan 60:40, flow rate 0,8 mL/menit dideteksi pada panjang gelombang 380-800 nm. Sistem fase gerak ditentukan berdasarkan kekuatan eluen untuk mampu mengelusi analit (kurkuminoid) dari kolom kromatografi. Kekuatan eluen dipengaruhi oleh kekuatan interaksi antara analit dengan fase diam (C18) maupun dengan fase gerak. Kombinasi asetonitril:asam fosfat 0,5% merupakan kombinasi fase gerak yang bersifat polar, sehingga kurkuminoid yang cenderung bersifat polar akan berinteraksi lebih kuat dengan fase gerak dibanding dengan fase



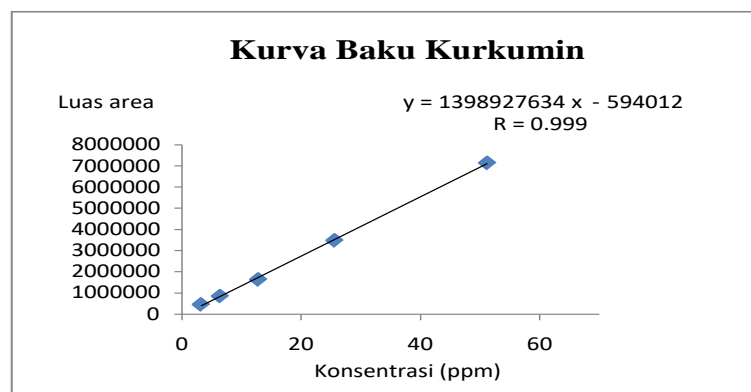
**Gambar 1.** Kromatogram kurkumin dengan kolom SunFire<sup>TM</sup> C18 5  $\mu$ m 4,6 x 150 mm pada panjang gelombang 380-800 nm, fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,5% (65:35) (a), fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,5% (60:40) (b).

diam yang bersifat non polar. Oleh karena itu kombinasi ini akan mudah melulusi kurkuminoid melewati kolom kromatografi. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan kurkuminoid terelusi pada waktu kurang dari 5 menit.

Parameter dalam penentuan fase gerak yang baik yaitu fase gerak terpilih harus dapat memisahkan semua komponen dalam sampel secara tunggal dengan nilai  $R_s$  yang lebih besar sehingga pemisahan yang optimal dapat diperoleh. Kombinasi asetonitril:asam fosfat 0,5% (60:40) (Gambar 1b) lebih dipilih karena memberikan resolusi yang lebih tinggi ( $R_s = 2,1$ ) dibandingkan kombinasi asetonitril:asam fosfat 0,5% (65:35) (Gambar 1a) ( $R_s = 1,7$ ). Nilai

resolusi yang lebih tinggi menunjukkan pemisahan yang lebih baik (Gambar 1b). Peningkatan konsentrasi fase organik dalam sistem pelarut dapat menyebabkan elusi menjadi lebih cepat dan meningkatkan konsentrasi fase air dapat memperluas puncak serta meningkatkan waktu retensi [15]. Panjang gelombang maksimal diperoleh pada 425,5 nm.

Kurkumin diamati sebagai puncak terakhir yang terelusi dengan waktu retensi 5,2 menit (Gambar 1b). Pada sistem HPLC dengan fase gerak asetonitril:buffer asetat (43:57) dilaporkan bahwa kurkuminoid dari berbagai genus *Curcuma* yang terelusi pertama adalah bisdemetoksikurkumin, diikuti oleh demetoksikurkumin dan kurkumin [16].



**Gambar 2.** Kurva Baku Kurkumin diperoleh dari Plot antara Konsentrasi dan Luas Area

Nilai intersep (A) menyatakan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Persamaan regresi linier yang diperoleh mempunyai nilai intersep yang besar sehingga menunjukkan kepekaan analisis yang besar. Nilai kemiringan garis (B) menyatakan sensitifitas suatu metode. Nilai kemiringan garis yang besar menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi yang kecil berpengaruh terhadap sinyal detektor yang dihasilkan, sehingga metode mempunyai sensitifitas yang baik. Nilai R pada kurva baku kurkumin yaitu 0,999 (Gambar 2) menunjukkan koefisien korelasi yang baik (hubungan yang linier) antara konsentrasi kurkumin dan respon detektor (luas area). Selain kurkumin, dua senyawa turunan kurkumin lainnya yaitu demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin juga menunjukkan nilai R yang sama baiknya dengan kurkumin yaitu 0,999.

### 3.2. Validasi Metode Analisis HPLC

Validasi metode merupakan bukti kesesuaian metode dengan tujuan yang dimaksudkan. Metode HPLC terbukti sensitif serta memiliki akurasi dan presisi yang baik untuk analisis senyawa kurkumin [13]. Penetapan parameter validasi yang dilakukan adalah akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi dan selektifitas.

#### 3.2.1. Akurasi

Akurasi dilakukan dengan metode penambahan standar yang dinyatakan dengan nilai perolehan kembali. Berdasarkan data analisis parameter akurasi, diperoleh nilai perolehan kembali rata-rata  $100,19 \pm 1,54\%$  dengan

RSD rata-rata 1,54% (Tabel 1), nilai ini berada pada batas keberterimaan, yaitu 95–105% [17].

Penelitian lain menunjukkan nilai perolehan kembali yang tidak lebih baik dari penelitian yang dilakukan yaitu berkisar antara 95-110% pada analisis kurkumin dalam produk makanan menggunakan kolom C18, fase gerak asetonitril:kalium dihidrogen ortofosfat (60:40), laju alir 0,8 mL/menit, detektor PDA deteksi pada  $\lambda$  424 nm [15]. Hal yang sama juga diungkapkan oleh Kumudhavalli dalam penelitiannya terhadap analisis kurkumin dalam sediaan farmasi tablet dengan perolehan kembali yang didapatkan yaitu 98,1-102,79% yang menggunakan fase gerak asetonitril:sodium asetat dengan sistem elusi gradien, laju alir 1 mL/menit dan deteksi dengan detektor UV pada  $\lambda$  250 nm [12]. Sediaan farmasi seperti tablet dapat memberikan perolehan kembali yang lebih baik dalam analisis kurkumin karena matriks dalam sampel tablet yang tidak kompleks. Berbeda dengan sampel ekstrak yang memiliki matriks yang lebih kompleks sehingga rentang perolehan kembalipun menjadi lebih besar.

Hasil penelitian memberikan nilai perolehan kembali yang baik hanya untuk senyawa kurkumin, sedangkan demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin memberikan hasil akurasi yang buruk. Hal ini dapat disebabkan oleh kestabilan kurkuminoid yang dapat rusak oleh beberapa faktor, diantaranya suhu, udara dan cahaya sehingga konsentrasi senyawa kurkuminoid dalam sampel dapat berubah (berkurang atau bertambah). Preparasi sampel yang dilakukan harus

**Tabel 1.** Hasil Analisis Parameter Akurasi

No Sampel	Perolehan kembali rata-rata $\pm$ SD	RSD (%)	Batas keberterimaan (%)	Kesimpulan
1 Replikasi 1	101,82 $\pm$ 2,78		Perolehan kembali = 95-105, RSD < 3,7	Memenuhi syarat
2 Replikasi 2	100,00 $\pm$ 4,92	1,54		Memenuhi syarat
3 Replikasi 3	98,75 $\pm$ 5,07			Memenuhi syarat
Rata-rata	100,19 $\pm$ 1,54			



sesuai prosedur yang benar untuk menghindari kerusakan tersebut, misalnya menutup sampel ekstrak temulawak dengan aluminium foil, ekstrak temulawak harus segera dianalisis setelah ditimbang dan dilarutkan. Namun secara keseluruhan sistem HPLC yang digunakan memberikan akurasi yang baik untuk analisis kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak.

### 3.2.2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis yang diekspresikan sebagai simpangan baku relatif (RSD) dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik [17]. Presisi dilakukan pada tingkatan keterulangan dan presisi antara dengan replikasi 3 kali. Presisi dilakukan untuk mengetahui adanya kesalahan acak yang berasal dari preparasi sampel dan instrumen. Kesalahan acak dapat menunjukkan kemampuan metode untuk dapat digunakan dalam menganalisis sampel secara terus-menerus.

Keterulangan merupakan parameter untuk melihat tingkat kedekatan hasil uji pada hari yang sama. Keterulangan dapat digunakan untuk mengetahui adanya kesalahan acak (random) yang berasal dari preparasi sampel seperti penimbangan ekstrak temulawak, pembuatan larutan dan penyaringan. Berdasarkan data penelitian diperoleh nilai RSD rata-rata  $0,64 \pm 0,39\%$ . Nilai ini memenuhi kriteria keberterimaan yaitu RSD kurang dari 3,7% [17], oleh karena itu kesalahan acak yang berasal dari preparasi sampel ekstrak temulawak dalam penelitian yang dilakukan tidak mempengaruhi hasil analisis secara nyata.

Presisi antara adalah tingkat presisi yang digunakan untuk melihat tingkat kedekatan hasil uji pada kondisi percobaan yang berbeda. Nilai RSD presisi antara rata-rata yang diperoleh adalah  $0,49 \pm 0,06\%$ . Data ini memperlihatkan bahwa kesalahan acak dari kondisi percobaan yang berbeda tidak mempengaruhi hasil analisis. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa metode

HPLC memiliki presisi yang baik, sehingga metode ini dapat digunakan untuk menganalisis sampel ekstrak secara terus menerus. Berdasarkan hasil penelitian dapat dikatakan metode HPLC memiliki presisi yang baik untuk analisis kurkumin.

### 3.2.3. Linieritas

Linieritas merupakan parameter untuk melihat respon metode analisis terhadap perubahan konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu [17]. Berdasarkan data hasil penelitian diperoleh koefisien korelasi (R) 0,994 (n=3). Nilai ini memenuhi syarat keberterimaan yang ditetapkan yaitu  $R > 0,99$ . Nilai koefisien korelasi yang tinggi menunjukkan hubungan yang linear antara respon detektor yang terukur dan jumlah kurkumin dalam sampel standar kurkumin.

### 3.2.4. Batas Deteksi dan Kuantitasi

Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan dari hasil perhitungan secara statistik dengan menggunakan data kurva baku. Parameter ini ditentukan untuk mengetahui konsentrasi terendah pada saat sinyal antara blanko dan analit dapat dibedakan. Batas deteksi diukur untuk mengetahui konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi oleh prosedur analisis [17]. Batas deteksi metode HPLC yang diperoleh untuk analisis kurkumin dalam sampel ekstrak rimpang temulawak yaitu sebesar 12 ng/mL. Nilai ini menunjukkan bahwa sinyal antara kurkumin dan blanko dapat dibedakan pada konsentrasi terendah 12 ng/mL.

Batas kuantitasi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang dapat ditentukan oleh suatu metode pada tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima [17]. Nilai batas kuantitasi yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian ini adalah 41 ng/mL. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa metode HPLC memiliki sensitifitas metode yang cukup baik. Penelitian lain untuk analisis kurkumin dalam produk makanan dengan HPLC juga menunjukkan sensitifitas metode yang baik dengan nilai batas deteksi dan

batas kuantitasi yang diperoleh berturut-turut 10 dan 30 ng/mL [15].

#### 3.2.5. Selektifitas

Selektifitas dilakukan untuk melihat kemampuan metode untuk memberikan respon pada banyak senyawa kimia dan respon analit bisa dibedakan dari respon senyawa kimia lainnya [17]. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai resolusi kromatogram kurkumin pada sampel ekstrak temulawak yaitu 1,7. Nilai ini memenuhi syarat keberterimaan yaitu nilai resolusi senyawa yang dituju  $\geq 1,5$ . Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa metode HPLC memiliki selektifitas yang tinggi sehingga dapat memisahkan senyawa dalam campuran dengan baik. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa metode HPLC memiliki selektifitas yang cukup baik untuk analisis kurkumin dalam produk makanan dengan nilai resolusi 1,85 [15].

#### 4. KESIMPULAN

Validasi metode HPLC mendapatkan nilai perolehan kembali  $100,19 \pm 1,54\%$  dengan RSD 1,54 %, keterulangan dan presisi antara didapatkan nilai RSD berturut-turut  $0,64 \pm 0,39\%$  dan  $0,49 \pm 0,06\%$ , linieritas diperoleh R 0,994, batas deteksi dan batas kuantitasi diperoleh berturut-turut 12 ng/mL dan 41 ng/mL serta selektifitas dengan resolusi 1,7. Berdasarkan nilai-nilai parameter validasi tersebut maka metode HPLC untuk analisis kurkumin dalam ekstrak rimpang temulawak adalah valid.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

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

#### REFERENSI

- [1] Das, K.C. and Das, C.K. Curcumin (diferuloylmethane), a singlet oxygen (1O<sub>2</sub>) quencher, *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 295: 62–66.
- [2] Atmadja, L.W., Ito, Y., Baker, G.L., McCuskey, R.S. Effect of curcuminoids as anti-inflammatory agents on the hepatic microvascular response to endotoxin, *Shock.* 2002; 17: 399–403.
- [3] Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications, *Curr Sci.* 2004; 87: 44-50.
- [4] Himesh, S., Sharan, P.M., Klishra, K., Govind, N., Singhai, A.K. Qualitative and Quantitative Profile of Curcumin from Ethanolic Extract of *Curcuma longa*, *International Research Journal of Pharmacy*, 2011; 2: 180-184
- [5] Rohman, A. Analysis of Curcuminoids in Food and Pharmaceutical Products, *International Food Research Journal*, 2012; 19:1, 19-27.
- [6] Inoue, K., Yoshimura, Y., Nakazawa, H. Evaluation of the turmeric (*Curcuma longa* L) based on flow injection analysis with ultraviolet and fluorometric detections, *Analytical Letters.* 2011; 34(10): 1711-1718.
- [7] Revathy S., Elumalai S., Merina B. and Benny A. Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography, *J Exp Sci.* 2011; 2: 21-25.
- [8] Hanwar D., Aisyah S., Suhendi A. Validasi Metode KLT Densitometri untuk Penetapan Kadar Kurkumin pada Produk Obat Herbal Berbasis *Curcuma* sp, *Proceeding of The Urecol 7.* 2018: 379-385
- [9] Hanwar D., Widyastuti V., Suhendi A. Validasi Metode Penetapan Kadar Kurkumin pada Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan KLT-Densitometri, *Proceeding of The Urecol 12.* 2020: 243-248
- [10] Cserháti, T., Forgács, E. Deyl, Z. and Miksik, I. Chromatography in authenticity and traceability tests of vegetable oils and dairy products: a review. *Biomedical Chromatography.* 2005; 19: 183–190.
- [11] Bos, R., Windono, T., Woerdenbag, H.J., Boersma, Y., Koulman, A., Kayser, O.

- HPLC-Photodiode Array Detection Analysis of Curcuminoids in Curcuma Species Indigenous to Indonesia, *Phytochemical Analysis*. 2007; 18: 118–122.
- [12] Kumudhavalli, M.V., Saravanan, C., Thamizh, M.M., Jayakar, B. Analytical Method Development and Validation of Curcumin in Tablet dosage Form by RP-HPLC Method, *IRJP*. 2011; 2, (1): 233-236.
- [13] Paramapojn, S., Gritsanapan, W. Free radical scavenging activity determination and quantitative analysis of curcuminoids in Curcuma zedoaria rhizome extracts by HPLC method, *Current science*. 2009; 97:1069-1073.
- [14] Paramasivam, M., Aktar, Md.W., Poi, R., Banerjee, H., Bandyopadhyay, A. Occurrence of curcuminoids in Curcuma longa: A quality standardization by HPTLC, *Bangladesh J Pharmacol*. 2008; 3:55-58.
- [15] Nagappan, K.V., Meyyanathan, S.N., Rajinikanth, B.R., Kannan, E. A Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Determination of Curcumin and Piperine in Food Products Using Diode Array Detection, *Asian Journal Research Chemistry*. 2009; 2:2, 115-118.
- [16] Zhang, Y.H., Zhang D., Wang, Y., Cai, D.F., Sun, J. Determination of curcuminoids in Turmeric by HPLC, *Chinese Pharmaceutical Journal*. 2009; 44:1423-1425.
- [17] Mulja M dan Hanwar D. Prinsip-prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik (Good Laboratory Practice), *Majalah Farmasi Airlangga*. 2003; 3 (2): 71-76