SFJ
SAINSTECH FARMA
JURNAL ILMU KEFARMASIAN
e-ISSN 2776-1878 p-ISSN 2086-7816

Validasi Dan Penetapan Kadar Kurkumin Pada Jamu Gendong Kunyit Asam Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Elsa Vera Nanda[1*], Yopi[2], Yussi Pratiwi[1]

[1]Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jl. R.Mangun Muka Raya, Rawamangun, Kec. Pulo Gadung, Kota Jakarta Timur, Daerah Khusus Ibukota Jakarta 13220
[2]Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Kec. Jagakarsa, Kota Jakarta Selatan, Daerah Khusus Ibukota Jakarta, Indonesia, 12640

**corresponding author*: *elsavera@unj.ac.id*

ABSTRAK

Jamu kunyit asam merupakan obat tradisional Indonesia. Salah satu zat aktif jamu kunyit asam adalah kurkumin. Kurkumin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antispasmodik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kurkumin dalam jamu gendong kunyit asam yang dijual di pasar Kemiri Muka, Depok dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sampel jamu diekstraksi dengan kloroform, diuapkan kemudian dilarutkan dengan etanol. Uji kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan nilai Rf yang sama antara ekstrak dan baku. Validasi pada instrumen KCKT menunjukkan nilai akurasi 94,57%-123,24%, presisi 0,697%, batas kuantifikasi 0,3500 µg/ml, batas deteksi 0,1050 µg/ml, lineritas r = 0,99997 dan persamaan regresi yang digunakan y = 115.54x + 4,0661. Hasil penetapan kadar kurkumin dalam sampel dengan KCKT adalah 0,0185766 mg/ml; 0,0188188 mg/ml; dan 0,0580346 mg/ml. Perbedaan kadar kurkumin dalam sampel dapat terjadi karena tempat memperoleh bahan baku, komposisi, pH larutan dan interaksi cahaya.

Kata kunci: *KCKT, KLT, kunyit asam, kurkumin*

Validation and Determination of Curcumin Levels in Tamarind Turmeric Gendong Herbs from the Kemiri Muka Market, Depok with High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method

ABSTRACT

Tamarind turmeric herbs is an Indonesian traditional medicine. One of the active compound in tamarind turmeric herbs is curcumin. Curcumin has an antioxidant, antiinflammation and antispasmodic activity. The purpose of this research to determine the amount of curcumin in tamarind turmeric herbs that selling in Kemiri Muka Market in Depok with High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The sample was extracted with chloroform, the extract was dried by evaporation and reconstituted with ethanol. Qualitative test with Thin Layer Chromatography (TLC) shown the Rf of sample value close to standard. Validation in HPLC instrument shown accuracy score 94.57%- 123.24%, precision 0.697%, limit of quantification 0.3500 µg/ml, limit of detection 0.1050 µg/ml, linearity r = 0.99997 and linear regression equation is y = 115.54x + 4.0661. The results of the determination of curcumin levels in a sample with HPLC was 0.0185766 mg/ml, 0.0188188 mg/ml, and 0.0580346 mg/ml. Differences in curcumin levels in the sample due to the different location of raw materials taken, composition, pH solution, and light interaction.

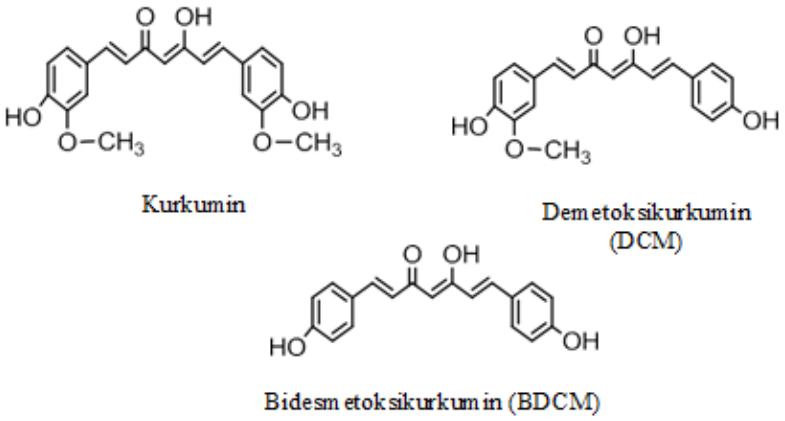
Keywords: *curcumin, HPLC, TLC, kunyit asam*

PENDAHULUAN

Perkembangan obat sintetik dengan teknologi yang modern nyatanya tidak mempengaruhi masyarakat untuk tetap menggunakan obat tradisional sebagai pilihan pengobatan dalam mengatasi penyakit. Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan bahan yang dapat berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik, atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes, 2012). Jamu telah ditetapkan sebagai obat tradisional Indonesia. Jamu merupakan obat tradisional yang digunakan berdasarkan tradisi dan pendekatan empirik. (BPOM, 2005; Depkes RI, 2007). Jamu kunyit asam menggunakan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan biji asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sebagai bahan utama.

Kurkuminoid merupakan zat warna kuning

yang terkandung dalam kunyit. Kurkuminoid bermanfaat sebagai antioksidan yang dapat mencegah timbulnya berbagai penyakit yang terkait dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskular, dan penuaan. Kandungan kurkuminoid yang terkandung dalam kunyit umumnya sebesar 5%, meliputi kurkumin, demetoksikurkumin dan bidesmetoksikurkumin (Gambar 1). Kurkumin merupakan komponen terbesar dari ketiga senyawa tersebut (Halliwell, 2000; Foozie, 2016). Senyawa kurkumin diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Boy, 2016). Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) memberikan batas maksimal penggunaan kurkumin sebesar 3 mg/kg BB (BPOM, 2013).



Gambar 1. Kurkumin, Demetoksikurkumin (DMC) dan Bisdemetoksikurkumin (BDMC)

Dalam setiap proses pembuatan jamu kunyit asam, bahan baku kunyit dan asam jawa akan melalui beberapa tahap yang mungkin dapat merusak kandungan senyawa aktifnya, seperti proses pencucian, pegeringan, produksi, distribusi hingga penyimpanan. Oleh sebab itu, diperlukan suatu metode analisis yang tepat untuk mengetahui kadar kurkumin dalam suatu sediaan sehingga dapat memberikan efek terapeutik yang dikehendaki. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kurkumin dalam jamu gendong kunyit asam dan karakteristik validasi pada metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) fase terbalik, sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai sosialisasi kepada para pedagang jamu gendong untuk meningkatkan dan menjaga kandungan kurkumin dalam sediaan jamu kunyit asam.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel jamu gendong yang dijual di pasar Kemiri Muka, Depok. Bahan lain berupa kurkumin *pro analisis* (Sigma), Asetonitril *pro analisis* (Merck), Asam asetat glasial *pro analisis* (Merck), kloroform, etanol 96%.

Alat. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Agilent 1260 Infinity), kolom E-C18 (Poroshel 120), Timbangan Analitik (AS220/C/2), alat suntik, mikropipet, pH meter (Eutech), botol vial (Agilent), power Ultrasonic bath 405, kertas saring *Whatman* 0,45 µm, peralatan gelas (Pyrex), plat *silica gell* 60 F254, *filter syringe* 0,45 µm (Preclean), penangas air, seperangkat komputer dan printer.

Sampling. Penentuan jumlah sampel didapat dengan memasukan populasi pedagang jamu gendong yang berjualan di pasar Kemiri Muka, Depok dengan rumus $\sqrt{n}$ + 1, n adalah populasi sampel (FDA, 2009). Dari hasil perhitungan dengan rumus tersebut didapatkan jumlah sampel jamu kunyit asam yang digunakan sebagai sampel adalah 3 sampel.

Pembuatan sampel uji. Sebanyak 50,0 ml sampel jamu kunyit asam dimasukan ke dalam corong pisah, dilakukan ekstraksi cair-cair dengan ditambahkan 10,0 ml kloroform, kemudian dikocok selama 10-15 menit, dan didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan kloroform dipisahkan dan lapisan air kembali diekstraksi hingga tiga kali pengulangan. Lapisan kloroform dikumpulkan kemudian diuapkan dalam penangas air hingga kering, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 10,0 ml.

Pembuatan larutan standar. Kurkumin *pro analisis* dilarutkan dalam campuran asetonitril dan asam asetat 2%, lalu dibuat larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL, kemudian dari larutan ini dibuat larutan seri dengan konsentrasi 0,5; 1; 2; 5; dan 10 µg/mL.

Uji kualitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silica gel G 60 dan fase gerak kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1), kemudian dideteksi di bawah lampu UV. Masing-masing larutan sampel hasil ekstraksi ditotolkan pada lempeng fase diam, larutan standar ditotolkan 3 cm dari sampel kemudian dielusi dengan fase gerak hingga mencapai batas jarak rambat.

Penentuan panjang gelombang dan kurva kalibrasi. Panjang gelombang kurkumin ditentukan dengan menganalisis larutan standar dengan instrumen kromatografi UV- Vis sebanyak tiga kali. Hasil rata-rata dari pengukuran digunakan sebagai acuan dalam analisis kurkumin dengan KCKT. Kurva kalibrasi dibuat dengan menggunakan satu seri larutan standar pembanding dengan 5 konsentrasi yang berbeda (0,5; 1; 2; 5; dan 10 µg/mL). Kondisi KCKT yang digunakan adalah dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan kolom E-C_{18}, suhu kolom 40^{o}C, fase gerak campuran asetonitril dan asam asetat 2% (55:45), laju alir 0,5 mL/menit dengan detektor UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Kadar kurkumin ditentukan dengan memasukkan rata-rata harga luas area sampel dari tiga kali replikasi ke dalam persamaan regresi linier dari kurva baku, sehingga diperoleh kadar kurkumin dalam sampel dengan satuan µg/mL. Hasil yang diperoleh kemudian dikonversikan ke dalam satuan % b/v dalam 100 ml jamu gendong kunyit asam

Uji Lineritas, Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi. Uji lineritas dilakukan dengan menggunakan seri larutan standar pembanding dengan 5 konsentrasi yang berbeda (0,5; 1; 2; 5;dan 10 µg/mL). Sebanyak 10,00 µL lautan yang telah disaring dengan kertas saring berpori 0,45 µm dan telah disonifikasi diinjeksikan ke dalam sistem KCKT. Hasil uji kemudian digambarkan dalam bentuk kurva, kemudian lineritas, batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan dari kurva tersebut.

Uji Akurasi dan Presisi. Uji akurasi dilakukan dengan menambahkan larutan standar 0,5 µg/mL dan 2 µg/mL ke dalam larutan sampel. Sejumlah 10 µL larutan sampel yang telah dicampur dengan baku disaring dengan kertas penyaring berpori 0,45 µm dan disonifikasi selama 10-15 menit, kemudian disuntikan ke dalam sistem KCKT dan diukur luas puncaknya. Cara yang sama dilakukan terhadap 10 µL larutan sampel tanpa penambahan larutan standar, pengerjaan dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali. Pengerjaan yang sama dilakukan dengan penambahan 2 µg/mL. Uji presisi dilakukan dengan menyuntikkan sejumlah 10 µL larutan baku 2 µg/mL yang telah disaring dengan penyaring 0,45 µm dan disonifikasi selama 10-15 menit, kemudian diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dan diukur luas puncaknya. Pengerjaan dilakukan sebanyak 6 kali dan dihitung simpangan baku relatifnya.

Uji Selektivitas. Uji selektivitas dilakukan dengan menbandingkan hasil kromatogram dan waktu retensi dari larutan baku standar 10 µg/mL dan larutan sampel. Selektivitas dapat dinyatakan baik jika tidak terdapat puncak yang dapat mengganggu.

Penetapan Kadar Kurkumin. Masing-masing sampel yang telah disiapkan dimasukkan dalam *degassing ultrasonic* untuk menghilangkan gelembung udara. Sampel kemudian disaring dengan *fillter syringe* 0,45 µm dan diinjeksikan ke dalam sisiten KCKT sebanyak 10,0 µg/mL dan direplikasi sebanyak tiga kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) memiliki keuntungan diantaranya analisis yang lebih selektif dan waktu analisis yang lebih singkat. Kondisi KCKT yang digunakan adalah dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan kolom E-C_{18}, suhu kolom 40^{o}C, fase gerak campuran asetonitril dan asam asetat 2% (55:45), laju alir 0,5 mL/menit. Sebelum digunakan, masing-masing komponen larutan fase gerak disaring dengan penyaring berpori 0,45 µm. Hal ini dimaksudkan untuk menghilangkan partikel-partikel yang mungkin terbawa pada proses penyiapan larutan (Rohman, 2016).

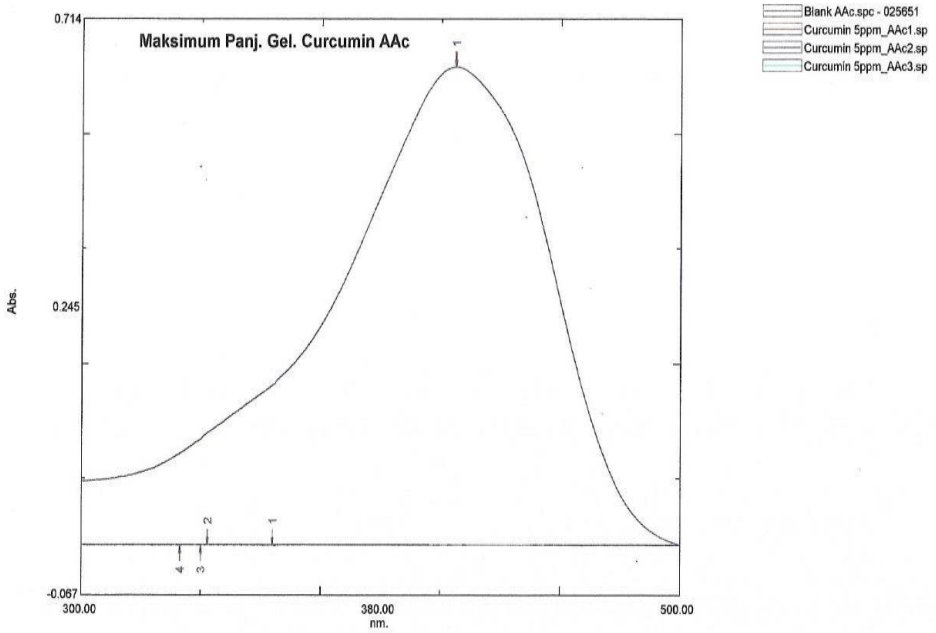
Uji Kualitatif

Uji Kualitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak yang dipilih merupakan campuran kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1). Pada hasil uji kualitatif didapatkan hasil faktor retardasi (Rf) pada sampel A, B, dan C memiliki kedekatan nilai antara sampel dan baku standar kurkumin. Pada profil KLT, bercak standar berada di sebelah kiri, sedangkan bercak untuk sampel di sebelah kanan (Gambar 2). Baik pengamatan secara visual maupun pengamatan di bawah lampu UV tidak ditemukan bercak lain selain bercak kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Hal ini menguatkan bahwa sampel yang digunakan merupakan kurkumin.

Gambar 2. Hasil elusi uji kualitatif sampel A, B dan C

Pengukuran Panjang Gelombang dan Kurva Baku Kurkumin

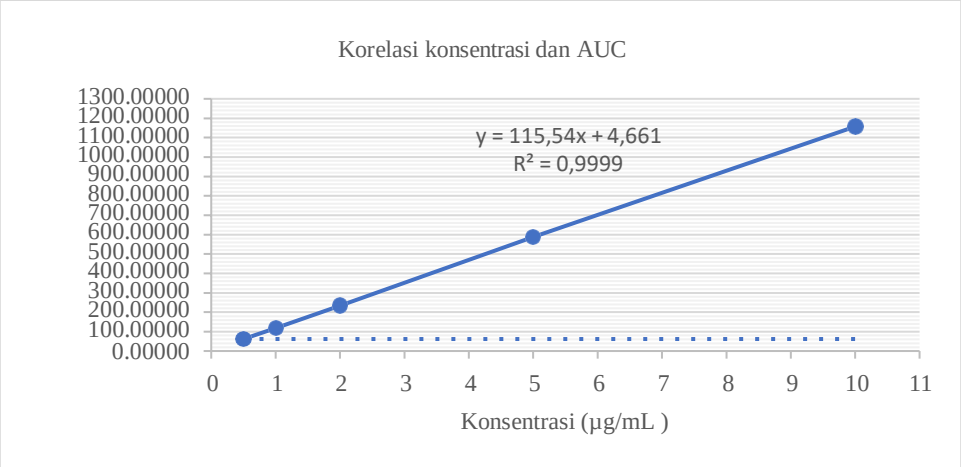
Pengukuran panjang gelombang digunakan larutan standar 5 µg/mL yang dianalisis dengan instrumen UV- Vis dan direplikasi tiga kali. Hasil pengukuran menunjukkan λ_{max} maksimal kurkumin berada pada panjang gelombang 425 nm (Gambar 3). Panjang gelombang 425 nm digunakan sebagai acuan pada analisis dengan menggunakan KCKT. Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi larutan baku dengan tingkat *Area Under Curve* (AUC) yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan lima seri konsentrasi larutan baku kurkumin yaitu 0,5; 1; 2; 5; dan 10 µg/mL yang direplikasi sebanyak tiga kali. Persamaan kurva baku terbaik yang dipilih, yaitu mempunyai persamaan koefisien korelasi (r) lebih besar dari 0,999 (Ganjar & Rohman, 2013). Hasil pengukuran spektrofotometri digunakan dalam persamaan analisis kuantitatif kurkumin yaitu dengan persamaan regresi y = 155,536250x + 4,066132.



Gambar 3. Hasil pengukuran panjang gelombang kurkumin 5 µg/mL

Uji Lineritas, Uji Batas Deteksi dan Uji Batas Kuantifikasi

Lineritas merupakan penggambaran dari kemampuan suatu metode analisis untuk memberikan hubungan yang ideal antara konsentrasi senyawa yang terkandung dengan respon yang dihasilkan (Rohman, 2013). Hasil uji lineritas diperoleh persamaan garis regresi y = 155,536250x + 4,066132, dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,99997 (Gambar 4). Nilai linearitas yang baik adalah $0,99 \leq r \leq 1$ (Boy, 2016). Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat memberikan lineritas yang baik. Penetapan batas deteksi dan batas kuantifikasi didapatkan dengan menggunakan garis regresi yang diperoleh dari uji lineritas. Hasil uji batas deteksi memberikan informasi konsentrasi terendah dari kurkumin yang dapat dikenali oleh sistem, yaitu 0,1050 µg/mL. Hasil uji batas kuantifikasi memberikan informasi konsentrasi terendah dari kurkumin yang dapat ditetapkan kadarnya dengan presisi dan akurasi yang masih dapat diterima yaitu 0,3500 µg/mL. Dengan diketahuinya batas kuantifikasi dan batas deteksi dapat dijadikan pedoman kadar kurkumin terendah dalam sampel yang dapat disiapkan untuk penetapan kadar.



Gambar 4. Hasil uji lineritas dengan larutan seri standar

Uji Akurasi dan Uji Presisi

Uji akurasi dilakukan sebagai uji perolehan kembali (r*ecovery*) dengan metode penambahan baku (*standard addition method*). Uji ini dilakukan dengan menganalisis larutan sampel sebanyak 3 kali pengulangan dan dihitung rata-rata kadar kurkumin. Sampel yang telah ditambahkan larutan standar selanjutnya dianalisis dan dilakukan 3 kali pengulangan. Perolehan kembali dihitung dengan persamaan

$$\text{Perolehan kembali} = \frac{Wt - Wu}{Wb} \text{ X } 100\ \% \quad \text{——} \quad (1)$$

Keterangan :
Wt = Bobot analit dalam sampel setelah penambahan baku pembanding
Wu = Bobot analit dalam sampel
Wb = Bobot baku pembanding yang ditambahkan

Hasil uji perolehan kembali yang didapatkan pada pengujian ini adalah 94,57%-129,64%. Syarat persen perolehan kembali yang diterima adalah dengan nilai rentang 98% - 102% ± 2% (Rohman, 2016). Ketidaksesuaian antara kisaran yang ditetapkan dengan hasil pengukuran diduga akibat dari kesalahan pada penyiapan bahan, dimana standar yang digunakan merupakan hasil dari pengenceran larutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga besar kemungkinan terjadinya gangguan pada proses pemipetan ataupun proses pengenceran larutan.

Uji presisi dilakukan dengan menggambarkan Simpangan Baku Residual (SBR). Uji presisi dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku kurkumin 2 µg/mL sebanyak 6 kali ke dalam instrumen KCKT untuk mengetahui penyimpangan yang terjadi. Simpangan Baku Residual (SBR) dapat dihitung denga memasukkan rumus

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X - \bar{x}i)^2}{(n-1)}} \quad (2)$$

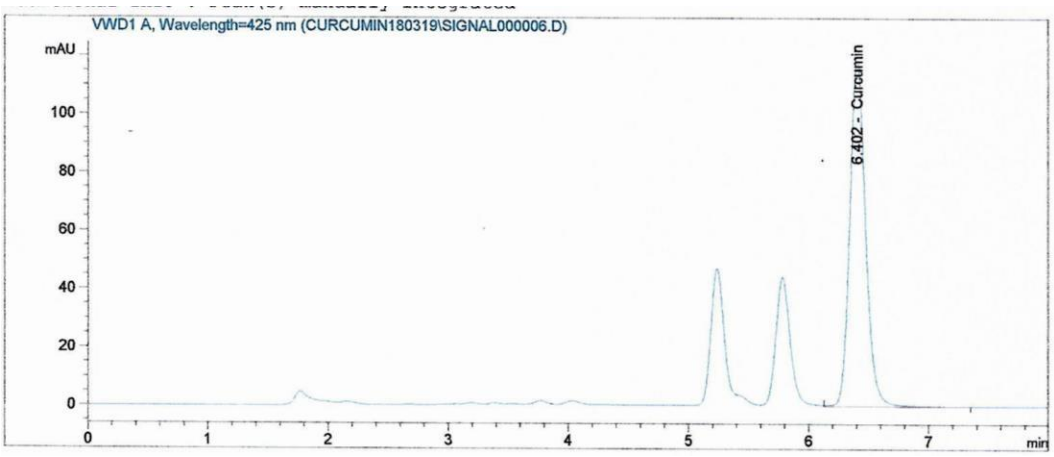
$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}i}\ x\ 100\% \quad (3)$$

$$\text{CV Horwitz} = 2^{1-(0{,}5\ x\ log\ c)} \quad (4)$$

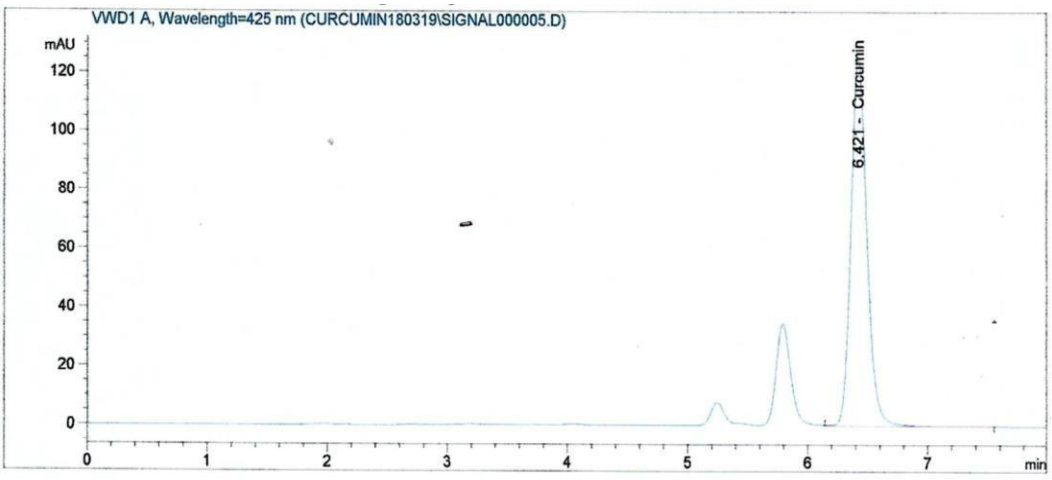
Nilai RSD yang dapat diterima tidak boleh lebih dari 2% (Farmakope Indonesia edisi IV, 1995). Perhitungan batas presisi berdasarkan rumus CV Horwitz adalah 14,435%. Perhitungan presisi diperoleh niai SBR sebesar 0,001658%, sehingga metode yang digunakan pada penelitian ini memenuhi persyaratan yang ditatapkan.

Uji Selektivitas

Hasil uji selektivitas menunjukkan metode yang digunakan dapat dinyatakan selektif. Hal ini ditunjukkan dengan tidak ditemukannya puncak lain yang megganggu pada kisaran analit yang dituju. Selain itu, adanya kedekatan waktu retensi, yaitu 6,421 menit untuk larutan baku dan 6,402 menit untuk larutan sampel menunjukkan selektivitas yang baik (Gambar 5 & 6).



Gambar 5. Hasil kromatogram larutan sampel



Gambar 6. Hasil kromatogram larutan baku 10 µg/mL

Penetapan Kadar Kurkumin

Hasil penetapan kadar kurkumin dari masing-masing ekstrak ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penetapan kadar kurkumin

Sampel	Kadar rata-rata (µg/mL)
A	18,5766 (± 0,0192)
B	18,8188 (± 0,0103)
C	58,0346 (± 0,00831)

Data hasil penetapan kadar pada jamu kunyit asam diperoleh kadar kurkumin yang berbeda pada setiap produsen jamu gendong. Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa kadar tertinggi kurkumin diperoleh dari sampel C dengan nilai sebesar 58,0346 µg/mL, sedangkan kadar terendah diperoleh dari sampel A dengan nilai sebesar 18,5766 µg/mL. Hal ini menunjukkan dalam satu kali penyajian (100 ml) diperoleh kadar kurkumin untuk ketiga sampel berturut-turut sebesar 1,85766 mg; 1,88188 mg; dan 5,80346 mg. Berdasarkan BPOM (2013), batas maksimal penggunaan kurkumin sebesar 3 mg/kg BB. Berdasarkan hasil penentapan kadar yang dilakukan, kadar per sajian (100 ml) kurkumin dalam kunyit asam yang diproduksi oleh pedagang jamu gendong di Pasar Kemiri Muka, Depok memenuhi persyaratan keamanan yang ditetapkan BPOM.

Para penjual jamu gendong pada umumnya meracik jamunya berdasarkan pengalaman dan ilmu turun menurun, sehingga dalam menakar bahan-bahan yang digunakan hanya menggunakan perkiraan, bukan penakaran yang pasti. Hal ini menyebabkan kadar kurkumin yang terkandung dalam kunyit asam berbeda antara para pedagang jamu gendong. Asam jawa digunakan untuk menstabilkan kandungan kurkumin dalam larutan, yaitu dengan mengubah pH larutan menjadi asam. Kurkumin dalam larutan basa dapat berubah menjadi kuning kecoklatan akibat terbentuknya feruloilmetan (Mustikhati & Nurkhasanah, 2015). Selain itu, para pedagang jamu gendong umumnya menggunakan botol kaca transparan untuk menyimpan sediaan jamu gendong. Hal ini dapat memicu terjadinya degradasi fitokimia untuk bahan-bahan yang sensitif terhadap cahaya seperti kurkumin.

KESIMPULAN

Hasil validasi metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menghasilkan data nilai akurasi

94,57%-129,64%, presisi 0,697%, lineritas 0,99997, LoD 1050 µg/ml, LoQ 0,3500 µg/ml. Kadar kurkumin yang diperoleh dari sampel A, B dan C memiliki rentang 0,0185766 - 0,0580346 mg/ml sehingga kadar untuk satu kali penyajian (100 ml) memiliki rentang antara 1,858 mg - 5,8 mg.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2005). *Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Manakan Republik Indonesia Nomor : HK.00.05.41.1384 Tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar Dan Fitofarmaka*. Retrieved from http://www.pom.go.id/public/hukum_perundangan/pdf/KRITCARA%20PENDAFT.OT.pdf. Di akses pada 23 September 2018

Chandra B, Rivai H, Marianis. (2016). *Pengembangan dan Validasi Metoe Analisis Ranitidin Hidroklorida Tablet Dengan Metode Absorbansi dan Luas Daerah Di Bawah Kurva Secara Spektrofotometri Ultraviolet.Universitas Andalas Padang.*, 96-101.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2007). *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan RI, Jakarta. 661,.

Departemen Mentri Kesehatan. (2012). *Peraturan Mentri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 006 Tahun 2012 Tentang Industri dan Usaha Obat Tradisional*. Retrieved from https//www.pom.go.id/produk/PERATURAN%2520MENTR/Permenkes_006-2012_Industri_Usaha_Obat_Tradisional1.pdf. Diakses tanggal 27 Oktober 2018.

Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia, Edisi IV.*

FDA, *Investigations Operations Manual,* Subchapter 4.3: Collection Technique, section 4.3.7.2 Random Sampling, https://www.pharmtech.com/view/statistical-solutions-square-root-n-1-sampling-plan. Diakses 19 Februari 2019

Foozie, S., Maedeh, M., *et al*. (2016). *Extraction of bioactive compound curcumin from turmeric (Curcuma longa L) via different routes: a comparative study.Babol Noushirvani University of Technology. Iran.*, 173.

Ganjar I.G, R. A. (2013). *Kimia Farmasi Analisis.* Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Halliwell, B dan J.M.C. Gutteridg. (2000). Free radical in biology and medicine. *New York, Oxford University Press*.

Mustikahati F, Nurkhasanah. (2015). *Evaluasi Kadar Kurkumin dalam Jamu Tradisional Kunir Asam yang Dijual di Pasar Kota Gede Bulan Februari 2015.Universitas Ahmad Dahlan.Yogyakarta*, 116-122.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2013). *Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna.* Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

Rohman, A. (2016). *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia.* Universitas Gajah Mada Yogyakarta. 46, 89, 96- 109. 122-135.