

Method Validation of Curcumin Content Determination in Curcuma Rhizome Extract Tablets (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) by HPLC

Validasi Metode Penetapan Kadar Kurkumin pada Tablet Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dengan KCKT

Ramadhan Idam Choliq ^{a*}, Prisma Trida Hardani ^b, Amanda Safithri Sinulingga ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

^b Universitas Brawijaya, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia.

*Corresponding Authors: ramadhanidamc@gmail.com

Abstract

Curcuma rhizome contains antioxidants, where the compound that acts as an antioxidant is curcumin. Temulawak rhizome extract tablets as a supporting supplement for the treatment process of diseases such as liver function disorders, ulcers, coughs, diarrhea, and constipation. This study was conducted to obtain a valid method in determining curcumin levels in temulawak rhizome extract tablet preparations by HPLC. The stages carried out in this study were the preparation of the mobile phase, standard preparation, HPLC optimization, sample preparation, and method validation. Validation consists of several parameters, namely linearity, LOD and LOQ, selectivity, precision, and accuracy. In the curcumin standard all parameters have met the requirements, linearity ($r = 0.9975$), LOD (6.5420 mg/L) and LOQ (21.8067 mg/L), selectivity ($R_s = 1.7139$). In brand A curcumin tablets, precision (RSD < 5.7%), while for accuracy (*recovery* 90-107%). The selected method can be used for the determination of curcumin content in temulawak rhizome extract tablet preparations.

Keywords: Curcumin, Tablets, Validation, HPLC, Reverse Phase.

Abstrak

Rimpang temulawak mengandung antioksidan, dimana senyawa yang bertindak sebagai antioksidan adalah kurkumin. Tablet ekstrak rimpang temulawak sebagai suplemen penunjang untuk proses pengobatan penyakit seperti gangguan fungsi hati, maag, batuk, diare, dan sembelit. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan metode yang valid dalam penentuan kadar kurkumin pada sediaan tablet ekstrak rimpang temulawak dengan KCKT. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pembuatan fase gerak, preparasi standar, optimasi KCKT, preparasi sampel, dan melakukan validasi metode. Validasi terdiri dari beberapa parameter yaitu linieritas, LOD dan LOQ, selektifitas, presisi, dan akurasi. Pada baku kurkumin seluruh parameter telah memenuhi persyaratan, linearitas ($r = 0.9975$), LOD (6.5420 mg/L) dan LOQ (21.8067 mg/L), selektifitas ($R_s = 1.7139$). Pada tablet kurkumin merk A, presisi (RSD < 5,7%), sedangkan untuk akurasi (*recovery* 90-107%). Metode yang dipilih dapat digunakan untuk penetapan kadar kurkumin pada sediaan tablet ekstrak rimpang temulawak.

Kata Kunci: Kurkumin, Tablet, Validasi, KCKT, Fase Terbalik.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 28/06/2024,
Revised: 26/10/2024;
Accepted: 31/10/2-24;
Available Online : 31/10/2024.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v7i4.565>

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki sumber daya alam yang sangat melimpah, terutama tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang ditanam dan digunakan sebagai jamu oleh penduduk Indonesia adalah Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), dimana jamu merupakan obat tradisional berdasarkan pendekatan empiris [1]. Rimpang temulawak memiliki manfaat salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa pada rimpang temulawak yang berperan dalam aktivitas antioksidan adalah kurkumin [2]. Senyawa kurkumin merupakan senyawa aktif golongan polifenol yang mempunyai rumus molekul $C_{21}H_{20}O_6$ [3]. Kurkumin merupakan suatu senyawa bagian dari kurkuminoid dimana meliputi kurkumin 77%, demetoksikurkumin 17%, dan bisdemetoksikurkumin 6% [4]. Ekstrak rimpang temulawak telah tersedia secara komersial dengan berbagai bentuk sediaan salah satunya yaitu tablet. Tablet kurkuma (ekstrak rimpang temulawak) seringkali diresepkan oleh dokter sebagai suplemen penunjang untuk proses pengobatan penyakit seperti gangguan fungsi hati, maag, batuk, diare, dan sembelit [5]. Pada uji praklinik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada itik, mencit, dan tikus yang diinduksi hepatotoksik dengan paracetamol, kemudian diberikan kurkumin 30 mg/KgBB selama 10 hari menunjukkan keefektifitasannya sebagai hepatoprotektor [6]. Untuk mendapatkan kadar kurkumin yang terkandung pada sediaan tablet tersebut maka dilakukan validasi metode dan penetapan kadar.

Beberapa metode analisis yang dapat digunakan dalam mengidentifikasi senyawa kurkumin yaitu dengan FT-IR, KLT Densitometri, LC-MS, Elektroforesis Kapiler, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau disebut juga *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) [7]. KCKT merupakan metode yang dapat digunakan dalam analisis kualitatif maupun kuantitatif karena lebih presisi, akurat dan sensitif. Fase gerak yang biasa digunakan dalam menganalisis senyawa kurkumin yaitu campuran antara asetonitril, asam asetat, metanol, etanol dan air dimana semuanya bersifat polar [8]. Fase diam merupakan kolom yang biasanya menggunakan *Octadecylsilane* (ODS) dimana mempunyai sifat non polar, karena sifat dari fase gerak polar dan fase diam non polar maka fase yang digunakan yaitu fase terbalik [9].

Penelitian yang dilakukan oleh Hanwar et al., (2021) menggunakan sampel berupa kapsul obat herbal berlogo jamu, dimana mempunyai komposisi ekstrak rimpang kunyit dengan metode KCKT. Pada penelitian tersebut dilakukan penentuan kadar kurkumin yang hasilnya memenuhi persyaratan pada setiap parameter dan selektif, dimana dapat memisahkan senyawa demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin dan kurkumin. Pada penelitian kali ini dilakukan secara eksperimental dimana sampel yang digunakan berupa sediaan tablet ekstrak rimpang temulawak. Sampel yang beredar dipasaran saat ini hanya mencantumkan bobot ekstrak rimpang temulawaknya saja, tidak mencantumkan dosis bahan aktifnya yaitu kurkumin. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan metode yang valid dalam penentuan kadar kurkumin pada sediaan tablet ekstrak rimpang temulawak dengan KCKT.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu beaker glass, labu ukur, pipet mikro volume 100 μL -1000 μL (Dragonlab), timbangan analitik (Ohaus), sendok tanduk, batang pengaduk, pipet tetes, *syringe filter nylon* 25 mm 0,45 μm , ayakan mesh 80, *ultrasonic bath* (GT Sonic-P6), HPLC (Agilent 1220 Infinity II) detektor Uv-Vis, Kolom Poroshell 120 EC.C18 (2,7 μm 4,6 x 100 mm), Komputer (Hp Pro Tower 280 G9 PCI Desktop PC), dan software HPLC (Openlab CDS Acquisition Version 2.7 Build number 2.7.0.683). Bahan-bahan yang digunakan pada tingkat *grade pro analysis* dan *grade HPLC* yaitu kurkumin (Merck), asetonitril (Merck) grade HPLC, asam fosfat (Merck) grade p.a., metanol (Merck) grade HPLC, *Water for Injection* (Braun) dan tablet ekstrak rimpang temulawak 20 mg (A, B, C).

Pembuatan fase gerak

Fase gerak dibuat dengan perbandingan asetonitril:asam fosfat 0,5% dengan perbandingan 60:40. Asam fosfat 0,5% dibuat dari pengenceran asam fosfat 85% dengan menggunakan *water for injection* [8].

Pembuatan larutan baku kurkumin

Sebanyak 25 mg baku kurkumin ditimbang lalu dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 25 mL maka didapatkan konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian disonikasi dalam *ultrasonic cleaner* selama 10 menit lalu saring menggunakan *syringe filter nylon* 25 mm 0,45 μm ke dalam vial [10].

Kondisi optimum KCKT

KCKT dijalankan dengan *flow rate* 0,8 mL/menit pada kolom Poroshell 120 EC.C18 2,7 μm 4,6 x 100 mm, panjang gelombang 425 nm [1,11,12] dan volume injeksi 10 μL , dan waktu analisis 3 menit, fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,5% (60:40) [8]. Memenuhi kondisi SST (*System Suitable Test*) dengan injeksi sebanyak 6 replikasi larutan baku 100 ppm, syarat $R_s > 1,5$, $RSD \geq 2\%$, T_f (*Tailing factor*) ≤ 2 , N (*Theoretical plate number*) > 2000 dan R_t (*Retention time*) $< 1\%$ [13]. Parameter yang perlu disesuaikan dalam menganalisis kurkumin yaitu fase diam, fase gerak, *flow rate*, volume injeksi, detektor, dan waktu analisis [10].

Optimasi konsentrasi

Larutan baku kerja dan sampel kurkumin dibuat dengan konsentrasi 10; 25; 50; 75; 100 ppm dalam labu ukur 10 ml dengan pelarut metanol. Pada larutan baku kerja didapatkan dari pengenceran baku induk 1000 ppm. Pada larutan sampel didapatkan dari penimbangan serbuk sampel merk A.

Linieritas

Dibuat 8 seri konsentrasi baku kerja 50; 60; 70; 80; 90; 100; 110; 120 ppm dari larutan baku 1000 ppm kemudian masukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Hasil yang didapatkan digambarkan dalam bentuk kurva linieritas.

$$y = bx + a \quad (1)$$

dimana y adalah respon instrumen, b adalah slope, x adalah konsentrasi, a adalah intersep [14].

LOD dan LOQ

Nilai LOD dan LOQ didapatkan dari perhitungan hasil linieritas yang dihitung dari persamaan regresi linier. Berikut persamaan LOD dan LOQ:

$$\frac{sy}{x} = \sqrt{\frac{(y-y_i)^2}{n-2}} \quad (2)$$

$$\text{LOD} = 3 \frac{\frac{sy}{x}}{b} \quad (3)$$

$$\text{LOQ} = 10 \frac{\frac{sy}{x}}{b} \quad (4)$$

dimana y_i adalah perhitungan dengan memasukkan nilai konsentrasi ke persamaan regresi yang didapatkan, dan $\frac{sy}{x}$ adalah simpangan baku residual [14].

Preparasi Sampel

Gerus tablet masing-masing merk sebanyak 20 tablet dan pisahkan, kemudian ayak menggunakan ayakan mesh 80 untuk mendapatkan serbuknya saja. Timbang serbuk setiap merk sebanyak bobot yang setara dengan 50 ppm kurkumin, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL, larutkan dengan metanol di dalam labu ukur 10 mL dan disonikasi dalam *ultrasonic cleaner* selama 10 menit [10]. Saring menggunakan *syringe filter nylon* 25 mm 0,45 μm dan masukkan ke dalam vial [8].

Selektifitas

Didapatkan dari resolusi kromatogram kurkumin dengan membandingkan nilai waktu retensi antara larutan baku dan larutan sampel merk A dengan konsentrasi yang sama.

Presisi

Sampel merk A dibuat sebanyak 3 konsentrasi berbeda dan setiap konsentrasi dibuat 3 replikasi, lalu diinjeksikan sebanyak 10 μ L ke dalam injektor KCKT [15]. Berikut persamaan untuk menentukan Simpangan Baku (SD) dan Koefisien Variasi (KV) atau disebut juga sebagai *Relative Standard Deviation* (RSD):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (6)$$

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \quad (7)$$

dimana X_i adalah konsentrasi dari replikasi analit, \bar{X} adalah rata-rata dari konsentrasi replikasi analit, n merupakan jumlah replikasi [14].

Akurasi

Sampel merk A ditimbang sebanyak 3 kali sesuai dengan langkah preparasi sampel, kemudian tambahkan adisi sebanyak 80%, 100%, dan 120% dari larutan baku [14], Kemudian injeksikan sebanyak 10 μ L ke dalam injektor KCKT dan hitung nilai *%recovery*. Berikut persamaan *%recovery* atau perolehan kembali:

$$\%recovery = \frac{C_2}{C_1} \times 100\% \quad (8)$$

dimana C_1 adalah konsentrasi analit yang diketahui, C_2 adalah konsentrasi analit dari respon instrumen [16].

Penetapan kadar

Perolehan konsentrasi didapatkan dari persamaan regresi linier yaitu $y = bx+a$ dengan memasukkan nilai luas area yang didapatkan dari 3 kali replikasi. Maka akan didapatkan kadar dari kurkumin dihitung $\%b/v$ dan $\%b/b$.

Analisis hasil

Validasi metode yang dilakukan harus memenuhi persyaratan pada setiap parameternya. Pada parameter Linieritas, nilai koefisien korelasi atau r atau $R > 0,99$ [17]. Selektifitas didapatkan nilai resolusi atau $R_s > 1,5$ [8]. Presisi didapatkan nilai $RSD < 5,7\%$ [14]. Akurasi didapatkan nilai *recovery* 90-110% [15].

Hasil dan diskusi

Sebelum memulai analisis senyawa kurkumin, terlebih dahulu menentukan kondisi optimum KCKT, hal ini dilakukan agar mendapatkan parameter yang sesuai. Berikut hasil kondisi optimum dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi optimum KCKT

No.	Parameter	Hasil Optimasi
1	Fase diam	C18 (2,7 μ m 4,6 x 100mm)
2	Fase gerak	Asetonitril:Asam Fosfat 0,5% (60:40)
3	Flow rate	0,8mL/menit
4	Volume Injeksi	10 μ L
5	Detektor, λ	Uv-Vis, 425nm
6	Waktu analisis	3 menit

Pada penelitian ini digunakan fase terbalik, dimana fase diam (kolom) bersifat non polar, sedangkan fase gerak asetonitril dan asam fosfat 0,5% bersifat polar. Asam fosfat digunakan untuk menjaga kestabilan senyawa kurkumin, hal ini dikarenakan kurkumin tidak stabil pada perubahan pH dimana pada suasana asam berwarna kuning, sedangkan dalam suasana basa mengalami degradasi dan warna berubah menjadi merah [18]. Kurkumin mempunyai sifat non polar dikarenakan mempunyai dua gugus metoksi, oleh karena itu kurkumin tertahan lebih lama di kolom dibandingkan dengan demetoksikurkumin yang bersifat semi polar dikarenakan kehilangan satu gugus metoksi dan bisdemetoksikurkumin yang bersifat polar

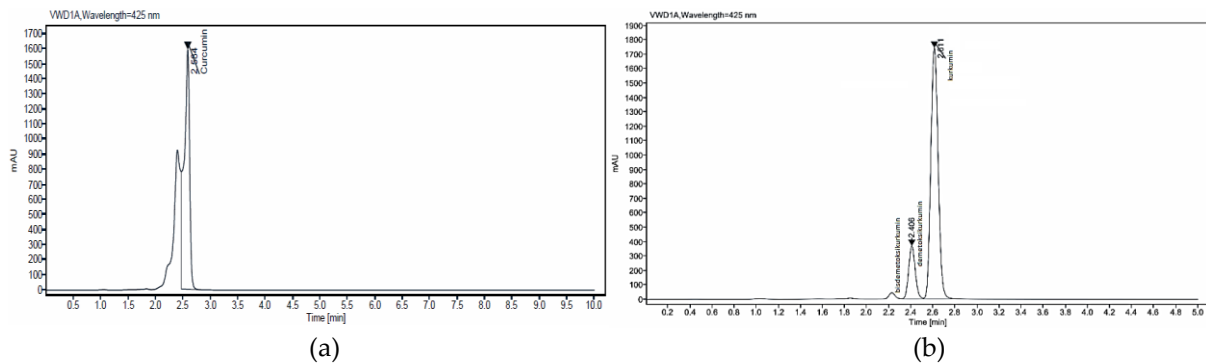
dikarenakan kehilangan dua gugus metoksi [19]. Volume injeksi yang terlalu banyak mengakibatkan pemisahan senyawa kurang baik dan nilai resolusi (R_s) < 1,5 dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil kondisi optimum KCKT untuk menganalisis senyawa kurkumin harus memenuhi persyaratan kondisi SST (*System Suitability Test*) dengan injeksi sebanyak 6 replikasi menggunakan larutan baku 100ppm, berikut data dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kondisi optimum KCKT

Replikasi	N	Tf	Rs	R _t	Luas Area
1	6734,3245	1,1022	1,6784	2,6130	8337,3009
2	5767,9322	1,0279	1,5628	2,6060	9162,6850
3	7319,2359	1,1153	1,7570	2,6110	8050,9358
4	6401,2382	1,0928	1,6449	2,6090	8828,5582
5	6996,0675	1,0895	1,7209	2,6100	8358,8898
6	7290,1795	1,0706	1,7764	2,6150	8079,9550
Rata-rata±SD				2,6110±0,0030	8469,7208±439,5635
RSD (%)				0,1149	5,1898

SST diterapkan untuk menentukan efisiensi kolom, resolusi, dan pengulangan (*repeatability*) kromatografi sehingga memastikan kemampuannya dalam menganalisis senyawa kurkumin. Menurut USP dan ICH, SST merupakan fungsi penting dari semua prosedur KCKT. Parameter penting dalam melakukan SST pada analisis menggunakan KCKT yaitu *repeatability* respon dan R_t yang dinyatakan dalam RSD, resolusi (R_s), *tailing factor* (T_f), dan efisiensi kolom (N). Persyaratan *repeatability* 6 replikasi $\geq 2\%$, $R_t < 1\%$, $R_s > 1,5$, $T_f \leq 2$, dan $N > 2000$ [13]. Dari Tabel 2 seluruh data yang didapatkan telah memenuhi persyaratan SST, maka dari itu kondisi optimum KCKT sudah terpenuhi.



Gambar 1. Kromatogram baku kurkumin 100ppm dengan volume injeksi 20µL (a) dan 10µL (b).

Selanjutnya melakukan optimasi konsentrasi kurkumin untuk menentukan konsentrasi yang efektif agar mencapai hasil yang sesuai dalam menganalisis senyawa kurkumin, dimana rentang nilai *recovery* antara 90-110% [15]. Berikut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai %*recovery* optimasi konsentrasi

No.	Konsentrasi (ppm)	% <i>Recovery</i>
1	10	74,8885
2	25	96,3796
3	50	101,3776
4	75	107,6823
5	100	101,9720

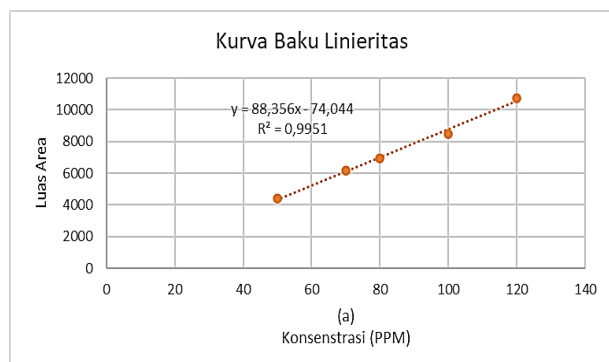
Dari Tabel 3 konsentrasi 25 hingga 100ppm memenuhi rentang, namun yang digunakan untuk tahap validasi yaitu konsentrasi 50ppm dimana %recovery bernilai sebesar 101,3776%. Konsentrasi optimum mempengaruhi hasil dari parameter presisi dan akurasi, jika bias yang dihasilkan terlalu besar maka tingkat keberhasilan untuk memasuki rentang dari %RSD dan %recovery semakin rendah [17]. Setelah didapatkan konsentrasi optimum, selanjutnya melakukan validasi metode analisis.

Parameter yang pertama dilakukan yaitu linieritas dimana menurut ICH, dalam menentukan suatu linieritas digunakan minimal sebanyak lima konsentrasi [15]. Maka konsentrasi yang digunakan untuk membuat kurva baku yaitu 50; 70; 80; 100; 120 ppm. Berikut hasil respon dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Linieritas

No.	Konsentrasi (ppm)	Luas Area
1	50	4411,1803
2	70	6155,4338
3	80	6949,5675
4	100	8503,6836
5	120	10719,2767

Dalam linieritas, hasil dinyatakan dalam bentuk persamaan regresi sederhana ($y=bx+a$) dan nilai koefisien korelasi (r atau R). Koefisien korelasi merupakan hubungan linier antara konsentrasi senyawa kurkumin dengan respon yang didapatkan dari instrumen [5]. Semakin besar nilai r maka hasil yang didapatkan semakin linier, hal ini ditunjukkan pada Gambar 2.



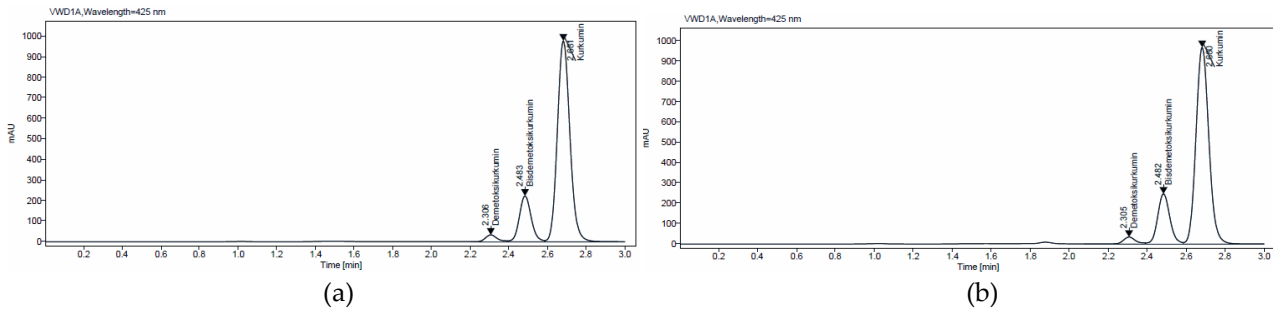
Gambar 2. Kurva baku linieritas kurkumin

Hasil yang didapatkan $y = 88,3560x - 74,0440$ dan nilai $r^2 = 0,9951$ dan $r = 0,9975$, maka memenuhi persyaratan dimana $r > 0,99$ [17]. Penelitian yang menggunakan analit kurkumin juga dilakukan oleh Hanwar et al., 2021 dengan nilai $r^2 = 0,9900$ dan $r = 0,9950$, pada penelitian yang dilakukan oleh Kadam et al., 2018 nilai $r^2 = 0,9999$ dan $r = 0,9999$, sedangkan penelitian Erpina et al., 2017 nilai $r^2 = 0,9999$ dan $r = 0,9999$ [8,11,20].

LOD (*Limit of Detection*) dilakukan untuk menentukan batas terendah dari suatu analit dalam sampel yang dapat terdeteksi, sedangkan LOQ (*Limit of Quantitation*) dilakukan untuk menentukan batas terendah dari suatu analit dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif. LOD dan LOQ senyawa kurkumin dihitung secara statistika menggunakan data dari linieritas dan persamaan regresi. Konsentrasi terendah kurkumin yang dapat dideteksi pada penelitian ini oleh metode KCKT sebesar 6,5420mg/L atau 6,5420ppm, sedangkan konsentrasi terendah yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi sebesar 21,8067mg/L atau 21,8067ppm. Semakin rendah nilai LOD dan LOQ maka sensitivitas dari suatu metode semakin baik [21]. Apabila konsentrasi analit pada sampel kurang dari nilai LOD, maka respon yang terbaca merupakan pengotor sehingga metode yang dipilih tidak dapat digunakan [22]. Pada penelitian yang dilakukan Kadam et al., 2018 mendapatkan nilai LOD sebesar 2,23ppm dan LOQ sebesar 6,77ppm, lalu penelitian yang dilakukan Erpina et al., 2017 nilai LOD sebesar 0,0250ppm dan LOQ sebesar 0,0833ppm,

sedangkan yang dilakukan oleh Korany et al., 2017 nilai LOD sebesar 3,5ppm dan LOQ sebesar 11,8ppm [11,20,23].

Selektifitas merupakan kemampuan suatu metode untuk mengukur analit dengan adanya senyawa lain pada sampel, dilakukan dengan membandingkan hasil kromatogram baku kurkumin dan sampel yang didapatkan dari respon instrumen [1]. Pada kromatogram baku kurkumin nilai R_s yang didapatkan sebesar 1,7468 dan R_t sebesar 2,681 menit sedangkan untuk kromatogram sampel merk A nilai R_s yang didapatkan 1,7139 dan R_t sebesar 2,680 menit. Kromatogram yang diteliti mempunyai konsentrasi yang sama yaitu 50ppm. Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram baku kurkumin (a) dan sampel kurkumin (b) pada konsentrasi 50ppm

Suatu metode dikatakan memiliki selektifitas yang baik apabila nilai R_s yang dihasilkan lebih dari 1,5. Suatu metode dikatakan tidak selektif jika nilai R_s yang dihasilkan kurang dari 1,5. Hal ini dikarenakan pemisahan senyawa yang terkandung pada sampel tidak terpisah dengan baik [8], dari data yang didapatkan metode KCKT dapat digunakan dalam menganalisis senyawa kurkumin, sehingga dapat dikatakan juga bahwa metode ini selektif dalam menganalisis senyawa kurkumin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hanwar et al., 2020 nilai R_s yang didapatkan sebesar 1,7, lalu pada Erpina et al., 2017 nilai R_s sebesar 1,5, sedangkan pada Korany et al., 2017 nilai R_s sebesar 1,8 [5,11,23].

Presisi merupakan suatu prosedur analisis yang menyatakan kedekatan kesesuaian antara serangkaian pengukuran yang diperoleh dari beberapa pengambilan sampel yang sama. Presisi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu *repeatability* dimana dilakukan dalam kondisi dan dihari yang sama. Nilai presisi dinyatakan dalam %RSD [9], sedangkan akurasi merupakan kesesuaian antara hasil yang diperoleh dengan nilai sebenarnya dimana menyatakan bahwa bahan baku yang digunakan sebagai alat pembanding telah sesuai. Nilai akurasi dinyatakan sebagai %*recovery* [17]. Berikut data presisi dan akurasi pada Tabel 5.

Tabel 5. Data presisi dan akurasi

No.	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata respon konsentrasi (ppm)±SD	RSD (%)	%Recovery±SD
1	90	90,0357±2,3192	2,5759	100,0397±2,5769
2	100	93,6709±1,5311	1,6345	93,6709±12,8600
3	110	101,0293±1,3930	1,3788	91,8449±25,0449

Nilai RSD yang didapatkan berturut-turut 2,5759%; 1,6345%; 1,3788%, menurut ICH, *repeatability* harus dilakukan menggunakan minimal sembilan penentuan dengan rentang yang ditentukan yaitu tiga konsentrasi dan tiga replikasi setiap konsentrasi [15]. Nilai RSD yang didapatkan memenuhi persyaratan karena kurang dari 5,7% [14]. Hasil dari penelitian serupa oleh Hanwar et al., 2021 mendapatkan nilai RSD sebesar 1,16%, kemudian pada penelitian Erpina et al., 2017 mendapatkan nilai RSD sebesar 2,32%, dan pada penelitian Kadam et al., 2018 nilai RSD sebesar 1,77% [8,11,20].

Nilai *recovery* yang didapatkan hasil berturut-turut 100,0397%, 93,6709%, 91,8449%, mengacu pada USP-46 bahwa persyaratan nilai *recovery* kurkumin yang diperoleh memiliki rentang 90-110% [15], maka penelitian yang dilakukan memenuhi persyaratan. Pada penelitian serupa oleh Hanwar et al., 2021 mendapatkan nilai *recovery* sebesar 108,08%, kemudian pada penelitian Erpina et al., 2017 mendapatkan nilai

recovery sebesar 92,61%, dan pada penelitian Kadam et al., 2018 mendapatkan nilai *recovery* sebesar 101,32% [8,11,20].

Setelah melakukan validasi metode analisis, melakukan penetapan kadar kurkumin pada setiap sampel yaitu merk A, B, C. Hasil penetapan kadar kurkumin pada tablet ekstrak rimpang temulawak dengan menggunakan metode KCKT dinyatakan dalam %b/v dan %b/b. Berikut data dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data penetapan kadar

No.	Sampel	Konsentrasi (ppm)±SD	Rata-rata kadar %b/v±SD	Rata-rata kadar %b/b±SD
1	Merk A	68,7812±2,4484	0,0069±0,0002	0,9171±0,0326
2	Merk B	47,3559±0,4215	0,0047±0,0000	0,6314±0,0056
3	Merk C	72,3216±1,6733	0,0072±0,0002	0,9643±0,0223

Pada penelitian ini didapatkan hasil kadar merk A (%b/v = 0,0069; %b/b = 0,9171), merk B (%b/v = 0,0047; %b/b = 0,6314), dan merk C (%b/v = 0,0072; %b/b = 0,9643). Pada penelitian serupa oleh Hanwar et al., 2021 dengan sampel berupa kapsul ekstrak rimpang kunyit dimana kadar dalam %b/v yang didapatkan sebesar 0,0999%, kemudian dalam penelitian Nanda et al., 2021 dengan sampel berupa jamu gendong kunyit asam didapatkan sebesar 0,0019%, dan pada penelitian Eneş et al., 2023 dengan sampel kapsul ekstrak rimpang kunyit didapatkan sebesar 0,0004% [1,8,24]. Dalam 1 tablet ekstrak rimpang temulawak pada merk A dengan bobot rata-rata (397,44mg) mengandung sebanyak 3,6449mg kurkumin, pada merk B (437,22mg) mengandung sebanyak 2,7606mg kurkumin, dan pada merk C (307,66mg) mengandung sebanyak 2,9668mg kurkumin. Menurut Kemenkes RI, 2016 dosis yang dibutuhkan agar kurkumin dapat bertindak sebagai hepatoprotektor sebesar 30mg/Kg BB, maka sediaan tablet ekstrak rimpang temulawak dari ketiga sampel diatas tidak memberikan khasiat sebagai hepatoprotektor [6].

Kesimpulan

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi merupakan metode valid dalam menganalisis kurkumin pada tablet ekstrak rimpang temulawak, hal tersebut dibuktikan dengan terpenuhinya seluruh parameter validasi. Linieritas ($r^2 = 0,9951$ dan $r = 0,9975$), LOD dan LOQ (6,5420ppm; 21,8067ppm), selektifitas baku dan sampel ($R_s = 1,7468$; $R_t = 2,681$ menit dan $R_s = 1,7139$; $R_t = 2,680$ menit), presisi (RSD = 2,5759%; 1,6345%; 1,3788%), dan akurasi (*recovery* = 100,0397%; 93,6709%; 91,8449%).

Conflict of Interest

Semua penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan.

Acknowledgment

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan fasilitas yang diberikan oleh Program Studi Farmasi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya sehingga penelitian ini dapat berjalan hingga selesai.

Supplementary Materials

References

- [1] Nanda EV, Yopi Y, Pratiwi Y. Validasi Dan Penetapan Kadar Kurkumin Pada Jamu Gendong Kunyit Asam Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian* 2021;14:12-8. <https://doi.org/10.37277/sfj.v14i1.932>.

- [2] Widyastuti I, Luthfah HZ, Hartono YI, Islamadina R, Can AT, Rohman A. Antioxidant Activity of Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and its Classification with Chemometrics. *Indonesian Journal of Chemometrics and Pharmaceutical Analysis* 2021;1:28–41. <https://doi.org/10.22146/ijcpa.507>.
- [3] Kusbiantoro D, Purwaningrum Y. Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat. *Jurnal Kultivasi* 2018;17. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v17i1.15669>.
- [4] Susanto, Ermin Katrin Winarno. Determination of Curcumin from Curcuma Plants after Gamma Irradiation, Indonesia: Center for Isotopes and Radiation Application, National Nuclear Energy Agency; 2018, p. 247.
- [5] Hanwar D, Handayani VR, Suhendi A. Validasi Metode HPLC untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Prosiding University Research Colloquium* 2020:371–8.
- [6] Kemenkes RI. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 6 Tahun 2016 tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia. Database Peraturan | JDIH BPK 2016. <http://peraturan.bpk.go.id/Details/112998/permenkes-no-6-tahun-2016> (accessed October 12, 2023).
- [7] Prabaningdyah NK, Riyanto S, Rohman A, Siregar C. Application of HPLC and response surface methodology for simultaneous determination of curcumin and desmethoxy curcumin in Curcuma syrup formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2017;7:058–64. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.71207>.
- [8] Hanwar D, Anwar 'Aina Fahrina, Suhendi A. Pengawasan Mutu Produk Obat Herbal Berbasis Curcuma sp. Dengan Parameter Kadar Kurkumin Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Prosiding University Research Colloquium* 2021:973–80.
- [9] Watson DG. *Pharmaceutical analysis: a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists*. Fourth edition. Edinburgh; New York: Elsevier; 2017.
- [10] Chrissanti RD, Darmawati A, Yuwono M. Optimasi Metode KCKT untuk Penetapan Kadar 4-Isobutilasetofenon dan 2-(4-Isobutirilfenil) Asam Propanoat dalam Tablet Ibuprofen. *JFIKI* 2020;7:26. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v7i12020.26-34>.
- [11] Erpina E, Rafi M, Darusman L, Vitasari A, Putra B, Rohaeti E. Simultaneous Quantification of Curcuminoids and Xanthorrhizol in Curcuma Xanthorrhiza by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2017;40. <https://doi.org/10.1080/10826076.2017.1343729>.
- [12] Kusumadewi AP, Mujahid R, Martien R, Purwanto P, Styawan AA, Irnawati I, et al. Analysis of Curcumin Contents in Curcuma xanthorrhiza using FTIR Spectroscopy and HPLC-UV in Combination with Multivariate Calibration. *Traditional Medicine Journal* 2023;28:171–7. <https://doi.org/10.22146/mot.82220>.
- [13] Bose A. HPLC Calibration Process Parameters in Terms of System Suitability Test. *Austin Chromatography* 2014;1.
- [14] Riyanto. *Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai Dengan Iso/Iec17025 Laboratorium Pengujian Dan Kalibrasi*. 3rd ed. Yogyakarta: Deepublish; 2016.
- [15] USP Convention. *The United States pharmacopeia 46*. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention; 2023.
- [16] Muryanto M. Validasi Metode Analisa Amonia pada Air Tanah Menggunakan Metode Spectrofotometri. *IJL* 2020;2:40. <https://doi.org/10.22146/ijl.v2i1.54490>.
- [17] Moldoveanu Șerban, David V. *Selection of the HPLC method in chemical analysis*. 1st ed. Amsterdam, Netherlands; Cambridge, MA, United States: Elsevier; 2017.
- [18] Wahyuningtyas SEP. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Kurkumin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 2017;6:61–70.
- [19] Shary AK, Mahfur M. Skrining Fitokimia Dan Uji Kadar Kurkumin Pada Fraksi Etil Asetat Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa*) Dengan Metode Klt Dan Spektrofotometri Uv-Vis. *Pena: Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* 2023;37:111–8. <https://doi.org/10.31941/jurnalpena.v37i2.3080>.
- [20] Kadam PV, Yadav KN, Bhingare CL, Patil MJ. Standardization and quantification of curcumin from Curcuma longa extract using UV visible spectroscopy and HPLC. *J Pharmacogn Phytochem* 2018;7:1913–8.
- [21] Anggraini YD, Anwar K, Budiarti A. Analisis Kadar Hidrokuinon dan Asam Kojic Dalam Tiga Merek Dagang Body Lotion Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Ilmiah Sains* 2023;23:20–30. <https://doi.org/10.35799/jis.v23i1.45703>.
- [22] Trisnawati NN, Suari PPV, Krismayanti NPA. Validasi Metode Uji Merkuri Menggunakan Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry (ICPE) 9000. *Journal of Applied Chemistry* 2021;9.
- [23] Korany MA, Haggag RS, Ragab MAA, Elmallah OA. A validated stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of Silymarin and Curcumin in various dosage forms. *Arabian Journal of Chemistry* 2017;10:S1711–25. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.06.021>.
- [24] Eneş D, ÇelebiEr M, DiKmen D, Altinöz S. RP-HPLC Method Development for Determination of Curcumin in Commercial Turmeric Capsules. *HUJPHARM* 2023. <https://doi.org/10.52794/hujpharm.1253858>.