

Pengaruh Fermentasi Oleh *Effective Microorganism-4* (EM-4) Terhadap Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
(*The Influence of Fermentation by Effective Microorganism-4 (EM-4) on the Curcumin Content of Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Rhizomes Extract*)

Anita Karolina, I Nyoman Adi Winata, Ika Oktavianawati
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: adiwinata.fmipa@unej.ac.id

Abstrak

Curcuma xanthorrhiza Roxb. merupakan tanaman asli Indonesia yang lebih dikenal sebagai temulawak. Rimpang temulawak merupakan salah satu bahan untuk pembuatan jamu ternak. Jamu ternak berfungsi untuk meningkatkan produktivitas ternak. Pembuatan jamu ternak relatif murah dan mudah, yaitu dengan mencampurkan rimpang temulawak yang telah dihaluskan dengan cairan EM4. Campuran tersebut difermentasi selama 7 hari pada wadah tertutup. Kandungan kimia utama dalam rimpang temulawak adalah kurkumin. Penelitian untuk mengetahui pengaruh fermentasi oleh EM4 (dengan variasi volume 10, 20 dan 30 ml) terhadap kadar kurkumin yang diperoleh dari ekstrak rimpang temulawak yang dianalisa dengan menggunakan metode KLT-Densitometri, menunjukkan semakin banyak EM4 yang ditambahkan, semakin besar kadar kurkumin yang diperoleh. Namun, pada penambahan EM4 sebanyak 10 dan 20 ml kadar kurkumin yang diperoleh lebih sedikit dibanding kontrol (tanpa penambahan EM4). Hal tersebut didukung dengan adanya dua spot baru selain spot pada larutan standar dengan intensitas yang besar. Sedangkan pada penambahan EM4 30 ml memiliki kadar kurkumin paling besar.

Kata Kunci: Fermentasi, Jamu ternak, KLT-Densitometri, Kurkumin, Rimpang temulawak.

Abstract

Curcuma xanthorrhiza Roxb. is locally known as temulawak in Indonesia. Temulawak rhizomes is one kind of material for livestock herbal medicine production. This livestock herbal medicine is aimed to increase the livestock productivity. The production of this livestock herbal medicine is relatively easy, by mixing the temulawak rhizomes powder with EM4 and then following by fermentation using EM4 for 7 days on closed container. It is generally known that the main chemical content in the temulawak rhizome is curcumin. Therefore, this research is aimed to investigate the influence of fermentation using EM4 (vary in volume 10, 2 and 30 ml) on the curcumin content of temulawak rhizome extract analysis using TLC-scanner (densitometry) showed that the increasing number of EM4 that was added has increased the curcumin content on the extract. However, the addition of EM4 as much as 10 and 20 ml on the extract shows a lower curcumin content compared to control (no EM4). This phenomenon was supported by the availability of two new thick spots under curcumin spot on the TLC with large intensity. And the addition of EM4 as much as 30 ml have the greater content of curcumin.

Keywords: Curcumin, Fermentation, herbal medicine, KLT-Densitometry, Temulawak rhizomes.

PENDAHULUAN

Jamu atau obat tradisional sudah dikenal dan digunakan di seluruh dunia sejak waktu yang lama [1]. Penggunaan obat yang berasal dari bahan alam oleh masyarakat Indonesia sudah dimulai sejak zaman dahulu, terutama dalam upaya pencegahan penyakit, peningkatan daya tahan tubuh, mengembalikan kebugaran tubuh setelah melahirkan atau bekerja keras, bahkan kecantikan wanita [2].

Pemanfaatan jamu bukan hanya untuk manusia, tetapi juga untuk hewan. Terhadap hewan, pemberian jamu dapat meningkatkan produktivitas. Jamu untuk hewan telah dimanfaatkan oleh peternak pada peternakan tradisional di daerah dan penggunaannya semakin meningkat akhir-akhir ini, meskipun sosialisasi dan promosi obat atau jamu untuk hewan kurang gencar dibandingkan jamu untuk manusia [3].

Rimpang temu-temuan merupakan bahan utama pembuatan jamu hewan. Salah satunya adalah rimpang dari

tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Pembuatan jamu herbal untuk ternak tergolong sederhana. Bahan mula-mula dibersihkan kemudian dicuci, selanjutnya dirajang dan dihaluskan, kemudian ditambahkan dengan larutan *Effective Microorganism-4* (EM4) sebagai fermentor, dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan didiamkan selama beberapa hari, campuran kemudian disaring, filtratnya merupakan jamu herbal yang siap digunakan [4].

Rimpang temulawak dilaporkan mengandung terpenoid, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, kumarin [5] Menurut Hayani [6], dalam rimpang temulawak terkandung kadar pati, abu dan kurkumin. Warna kuning temulawak berasal dari senyawa turunan fenol yang termasuk kelompok kurkuminoid. Ada dua senyawa kurkuminoid yang ditemukan pada temulawak, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin [7]. Dalam artikel ini akan dibahas mengenai pengaruh fermentasi oleh *effective microorganism-4* (EM-4) terhadap kadar kurkumin ekstrak

rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: rimpang temulawak, larutan EM-4, akuades, kertas saring, plastik wrap, aluminium foil, kloroform p.a, etanol p.a, asam asetat glasial p.a, aseton p.a, plat KLT Silika Gel F₂₅₄.

Sumber Sampel

Sampel berasal dari Hutan Lindung PTPN XII dan telah diuji keabsahannya di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Preparasi Sampel

Tanaman rimpang temulawak dicuci untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada rimpang. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat yang terkandung dalam rimpang. Rimpang yang telah dibersihkan ditimbang ± 50 gram sebanyak 12 wadah dengan berat yang sama. Hasil penimbangan dihaluskan dengan menggunakan *blender*. Dari sampel yang sama, digunakan sebagian untuk pengujian kadar air.

Uji Kadar Air Rimpang

Simplisia ditimbang seberat ± 5 gram (W1), kemudian diletakkan dalam wadah. Wadah berisi simplisia dimasukkan ke dalam oven selama 60 menit pada suhu 105°C. Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 10 - 20 menit dan ditimbang (W2). Perlakuan tersebut dilakukan berulang-ulang hingga memperoleh berat konstan.

Fermentasi Sampel

Hasil penghalusan masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Tiga erlenmeyer pertama ditambahkan aquades 100 ml dan diaduk hingga homogen, Tiga erlenmeyer kedua ditambahkan dengan 10 mL EM-4 dan aquades 100 ml kemudian diaduk hingga homogen. Tiga erlenmeyer ketiga ditambahkan dengan 20 ml EM4 dan aquades 100 ml, kemudian diaduk hingga homogen. Tiga Erlenmeyer sisanya ditambahkan dengan 30 ml EM4 dan aquades 100 ml, kemudian diaduk hingga homogen. Semua Erlenmeyer ditutup dengan plastic wrap. Semua campuran kemudian didiamkan (difermentasi) selama tujuh hari. Setelah tujuh hari, sampel disaring dengan penyaring kasar, kemudian disaring lagi dengan kertas saring. Filtrat kemudian diekstraksi dengan 50 mL kloroform sebanyak tiga kali pengulangan dengan menggunakan corong pisah. Fraksi kloroform selanjutnya dipekatkan dengan evaporator. Padatan yang diperoleh lalu ditimbang untuk dihitung jumlah rendemennya.

Kurkumin standar ditimbang sebanyak 1 mg, dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditambahkan dengan aquades dan EM4, diaduk hingga homogen, didiamkan selama tujuh hari. Kurkumin standar ini digunakan sebagai control positif.

Scanning Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar kurkumin 1 ppm dimasukkan ke dalam kuvet. Dilakukan *scanning* menggunakan spektrofotometer *Visible* pada rentang panjang gelombang 350 – 450 nm

dengan interval 2 nm.

Pembuatan Kurva Standar Kurkumin

Larutan standar kurkumin 10 ppm ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 dan 20 μ L. Penotolan dilakukan pada jarak 1 cm dari bawah, kanan dan kiri plat, jarak antar totolan 1 cm. Eluen yang digunakan yaitu campuran dari pelarut kloroform:etanol:asam asetat glasial dengan perbandingan 97:2:1. Eluen dibiarkan hingga berjalan 9,5 cm dari batas bawah plat KLT. Plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan menggunakan *hair dryer*. Plat KLT dipindai menggunakan *TLC Scanner*. Data yang diperoleh dibuat kurva standar kurkumin dengan sumbu x merupakan massa (ng) dan sumbu y merupakan luas area (AU).

Analisis Kadar Kurkumin

Padatan yang diperoleh dari prosedur 3.4.4 masing-masing dilarutkan dengan aseton menggunakan labu ukur 5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Masing-masing sampel ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipet mikro 1-10 μ l. Penotolan dilakukan secara bertahap dengan proses pengeringan menggunakan *hair dryer*. Penotolan dilakukan pada jarak 1 cm dari batas bawah plat, 1 cm dari samping kanan dan kiri plat, dan jarak masing-masing totolan adalah 1 cm. Setelah proses penotolan, plat diekstraksi hingga berjalan 9,5 cm dari batas bawah plat. Plat diangkat dan dikeringkan. Plat KLT dipindai menggunakan *TLC Scanner* pada panjang gelombang yang diperoleh pada prosedur 3.4.5. Kontrol yang digunakan yaitu sampel tanpa penambahan EM4 (kontrol negatif) dan larutan standar kurkumin yang difermentasi (kontrol positif). Perubahan konsentrasi senyawa kurkumin dalam ekstrak temulawak ditentukan dengan cara membandingkan luas *peak area* spot yang Rf-nya sama pada sampel dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air Rimpang Temulawak

Sampel rimpang temulawak pada penelitian ini memiliki kadar air rata-rata sebesar 76,32 %. Kadar air yang diperoleh dari pengukuran sampel serupa dengan yang dilaporkan oleh Endrasari [8] bahwa kadar air rimpang temulawak segar sekitar 75–80 % (lampiran B). Kadar air hasil perhitungan selanjutnya digunakan untuk menghitung rendemen kurkumin hasil ekstraksi, dengan mensubstitusikan ke dalam perhitungan rendemen.

Rendemen Hasil Fermentasi

Rendemen ekstrak rimpang temulawak dihitung berdasarkan perbandingan antara berat rimpang temulawak sebelum dan sesudah evaporasi. Rendemen diperoleh dalam bentuk presentase. Hasil perhitungan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen hasil fermentasi

Nama ekstrak	Rendemen (%)
Tanpa EM4-1	0,56 \pm 0,049
EM4 10-1	0,11 \pm 0,049
EM4 20-1	0,28 \pm 0,049
EM4 30-1	0,42 \pm 0,001

Secara umum, rendemen sampel dengan penambahan

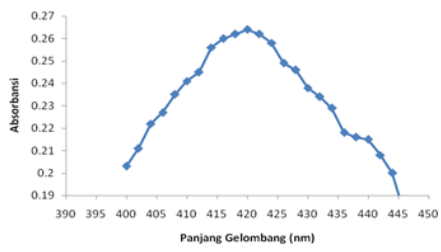
EM4 lebih rendah dibandingkan tanpa penambahan EM4. Semakin banyak volume EM4 yang ditambahkan, rendemen yang dihasilkan semakin besar. Rendemen tanpa penambahan EM4, dengan penambahan 10, 20 dan 30 ml EM4 berturut-turut adalah 0,56; 0,11; 0,28 dan 0,42%.

Besarnya rendemen kemungkinan dipengaruhi oleh banyaknya jumlah komponen yang terekstrak selama proses ekstraksi. Nilai rendemen yang diperoleh tidak dapat menentukan banyaknya kadar kurkumin yang terekstrak, karena kemungkinan bukan hanya kurkumin saja yang terekstrak selama proses ekstraksi.

Faktor pelarut juga dapat mempengaruhi, sampel tanpa penambahan EM4 hanya menggunakan pelarut air, sedangkan sampel dengan penambahan EM4 menggunakan pelarut campuran air dengan EM4. Hal tersebut menyebabkan senyawa yang larut dalam air akan turut terekstrak sehingga menyebabkan rendemen lebih besar.

Panjang Gelombang Maksimum Kurkumin

Larutan standar kurkumin 1 ppm diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400 – 450 nm. Hasil *scanning* menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan standar kurkumin yaitu 420 nm, yang tertera pada gambar 1. Hal ini senada dengan yang diungkapkan oleh Wang [9], bahwa panjang gelombang maksimum kurkumin adalah 420 nm. Adanya ikatan rangkap terkonjugasi yang banyak pada kurkumin menyebabkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ menjadi mudah (memerlukan energi yang rendah), sehingga serapan maksimum pada panjang gelombang yang besar (daerah *visible*).



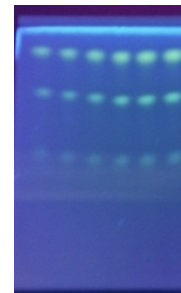
Gambar 1. Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan digunakan untuk memindai spot pada plat KLT hasil elusi. Saat proses pemindaian oleh TLC Scanner, sinar yang dipantulkan memiliki arah yang pasti, yaitu menuju bercak noda. Sinar ini sangat sensitif sehingga perlu diketahui panjang gelombang maksimumnya untuk setiap senyawa yang akan dianalisa.

Kurva Standar Kurkumin

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa standar kurkumin tidak murni karena hasil elusi menampilkan adanya tiga spot pada Rf 0,42; 0,69 dan 0,88. Tiga noda tersebut disinyalir merupakan senyawa kurkumin dan turunannya, yaitu kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Tiga noda yang terbentuk pada plat

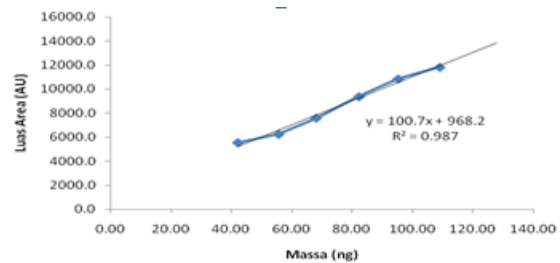
KLT senada dengan yang telah dilakukan oleh Fitrianti [10] dan Srijanto [11], yang hasilnya menunjukkan adanya tiga noda yang terdeteksi dari larutan standar kurkumin, yaitu kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Kromatogram yang diperoleh ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram larutan standar kurkumin

Untuk membuat kurva standar kurkumin, konsentrasi kurkumin pada masing-masing totolan harus diketahui. Dalam hal ini, dilakukan *scanning* dengan menggunakan densitometer pada panjang gelombang 420 nm. Sinar dari scanner yang mengenai spot akan diserap oleh molekul untuk tereksitasi, selanjutnya molekul akan kembali ke keadaan dasar dengan mengemisikan sinar tersebut (fluoresensi) dan akan ditangkap oleh detector [12].

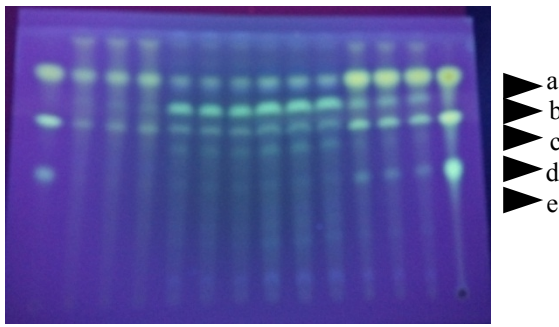
Data yang diperoleh dari hasil *scanning* ini yaitu luas area dengan satuan *Absorption Unit* (AU), *Retardation factor* (Rf), dan luas area dalam persen (%). Data hasil *scanning* disajikan dalam kurva kalibrasi larutan standar kurkumin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva standar larutan kurkumin

Kadar Kurkumin Hasil Ekstraksi Rimpang Temulawak

Sampel dengan penambahan EM4 mengandung senyawa selain kurkuminoid yang lebih banyak dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4 seperti yang terlihat pada kromatogram (Gambar 4). Air memiliki kemampuan maksimum untuk melarutkan senyawa yang merupakan campuran. Adanya senyawa lain yang ikut terekstrak pada sampel dengan penambahan EM4 dapat mengurangi kadar kurkumin yang larut, sehingga hasil perhitungan diperoleh kadar kurkumin yang diekstrak dengan penambahan EM4 lebih rendah dibanding tanpa penambahan EM4.



Gambar 4. Kromatogram sampel hasil ekstrak rimpang temulawak

Visualisasi pada gambar 4, plat menunjukkan kromatogram yang dihasilkan berbeda-beda, yaitu ada yang terbentuk tiga dan lima spot. Spot-spot yang terbentuk ada yang sesuai dengan larutan standar dan ada yang tidak sesuai. Kromatogram paling kiri merupakan tolotan larutan standar, dimana larutan tersebut menghasilkan tiga spot yang disebut kurkuminoid. Tiga kromatogram selanjutnya yaitu berturut-turut merupakan spot daro tolotan sampel dengan penambahan 10, 20 dan 30 ml EM4. Dan kromatogram yang paling kanan yaitu kontrol positif.

Sampel tanpa penambahan EM4 terbentuk spot a, b dan c dimana intensitas spot c paling tipis dibandingkan dengan spot a dan b, sehingga kadar kurkumin yang diperoleh tinggi. Sampel dengan penambahan EM4 sebanyak 10 dan 20 ml terbentuk dua spot diluar spot yang dibentuk larutan standar, yaitu spot b dan d dimana intensitas spot b lebih besar dibandingkan dengan spot a yang merupakan spot kurkumin, sedangkan spot a, c dan e lebih tipis, sehingga kadar kurkumin yang diperoleh lebih sedikit. Dan untuk sampel dengan penambahan EM4 30 ml terbentuk spot b dan d dengan intensitas lebih kecil dibandingkan dengan spot b dan d pada sampel dengan penambahan 10 dan 20 EM4. Sedangkan spot a, c dan e memiliki intensitas lebih tebal dibanding spot a, c dan e pada sampel yang lain, sehingga kadar kurkumin yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan sampel lain.

Kadar kurkumin dalam sampel dihitung dengan menggunakan persamaan pada kurva kalibrasi larutan standar kurkumin. Luas area yang diperoleh dari hasil pemindaian dengan TLC Scanner sampel dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi, sehingga diketahui massa kurkumin yang diperoleh dan juga kadar kurkumin pada sampel. Kadar kurkumin dapat diketahui dengan membandingkan massa kurkumin yang diperoleh dari hasil perhitungan dengan massa sampel yang diperoleh dari hasil evaporasi, yaitu yang datanya tersajikan pada Tabel 1 sebelumnya. Data secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar kurkumin dalam ekstrak

Nama Sampel	Kadar kurkumin (mg/kg)
Tanpa EM4	$0,79 \times 10^{-3} \pm 0,00016$
EM4 10 ml	$0,49 \times 10^{-3} \pm 0,00011$
EM4 20 ml	$0,53 \times 10^{-3} \pm 0,00009$
EM4 30 ml	$3,38 \times 10^{-3} \pm 0,00007$
Kontrol positif	$8,6 \times 10^{-5}$

Secara umum, kadar kurkumin semakin bertambah seiring dengan semakin banyaknya penambahan volume EM4. Kadar kurkumin dengan penambahan 10, 20 dan 30 ml EM4 berturut-turut yaitu $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg; $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg; dan $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg.

Kadar kurkumin dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4 lebih sedikit dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4, yaitu $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg dan $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg dibanding dengan $0,79 \times 10^{-3}$ mg/kg. Sedangkan sampel dengan penambahan 30 ml EM4 mengandung kadar kurkumin lebih besar, yaitu $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg.

Kadar kurkumin dalam ekstrak temulawak yang diekstrak dengan penambahan EM4 lebih rendah dari ekstrak temulawak yang diekstrak tanpa penambahan EM4. Kurkumin kemungkinan terdekomposisi dengan adanya penambahan EM4 sehingga kadar kurkumin pada penambahan 10 dan 20 ml EM4 lebih sedikit dibandingkan dengan tanpa penambahan EM4. Pada kondisi tersebut, bakteri diperkirakan masih berada pada fase adaptasi (*lag phase*). Sedangkan pada penambahan 30 ml EM4, bakteri telah mencapai fase eksponensial (*log phase*) sehingga kadar yang dihasilkan paling besar. Pada fase adaptasi, bakteri tidak mengalami pertambahan populasi sel, namun mengalami perubahan komposisi kimiawi. Sedangkan pada fase eksponensial, bakteri telah melakukan konsumsi nutrien dan proses fisiologis lainnya [13].

KESIMPULAN

Semakin banyak volume EM4 yang ditambahkan, semakin besar kadar kurkumin yang diperoleh. Kadar kurkumin yang diperoleh berturut-turut untuk penambahan EM4 10, 20 dan 30 EM4 sebesar $0,49 \times 10^{-3}$ mg/kg; $0,53 \times 10^{-3}$ mg/kg; dan $3,38 \times 10^{-3}$ mg/kg.

Sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4 terbentuk spot baru yang tidak terdapat pada larutan standar kurkumin (spot b dan d), dengan kadar yang cukup besar, sehingga kadar kurkumin yang terhitung menjadi lebih rendah dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan EM4. Sebaliknya, pada penambahan 30 ml EM4, intensitas spot kurkumin yang terbentuk lebih tebal dibandingkan dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4. Spot b dan d yang terdapat pada *lane* 30 ml EM4 ini lebih tipis dibandingkan spot yang terdapat dalam sampel dengan penambahan 10 dan 20 ml EM4. Hal ini menyebabkan kadar kurkumin yang terhitung menjadi paling besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak penguji atas kritik, saran dan masukan yang diberikan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dalam pelaksanaan penelitian ini hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bakri, B.D. 2002. *Uji Adaptasi Pemberian Jamu pada Ayam Buras Potong*. Jakarta: BTP.
- [2] Badan POM RI. 2011. *Info Badan POM RI : Mari Minum Obat Bahan Alam dan Jamu dengan Baik dan Benar*. Vol. 12 (3): 1829 – 9334.

- [3] Sarwono. 2005. *Jamu untuk Ternak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [4] Harwono, R. 2013. *Jamu Herbal untuk Ayam Kampung*. Tanpa tahun.
- [5] Halim, Tan, Ismail, dan Mahmud. 2012. Standardization and Phytochemical Studies of Curcuma Xanthorrhiza Roxb. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science*, 4 (3): 606 – 610.
- [6] Hayani, E. 2006. Analisis Kandungan Kimia Rimpang Temulawak. Bogor : Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- [7] Said, A., 2007. *Buku Pengayaan Seri PKK: Khasiat dan Manfaat Temulawak*. Yogyakarta: PT. Sinar Wadja Lestari.
- [8] Endrasari, R., Qanytah., dan Prayudi, B. 2008. *Pengaruh Pengeringan terhadap Mutu Simplisia Temulawak di Kecamatan Tembalang Kota Semarang*. Semarang: Balai Pengkajian Teknologi Jawa Tengah .
- [9] Wang, Y.J et al. 1996. Stability of Curcumin in Buffer Solutions and Characterization of Its Degradation Products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 15 (12): 1867 – 1876.
- [10] Fitrianti, S.C. 2011. Diferensiasi Temulawak, Kunyit, dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan *IMAGEJ*. *Skripsi*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- [11] Srijanto, B., I. Rosidah, E. Rismana, G. Syabirin, Aan dan Mahreni. 2004. Pengaruh Waktu, Suhu dan Perbandingan bahan Baku-Pelarut pada Ekstraksi Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Pelarut Aseton. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses 2004. 1411-4216.
- [12] Braithwaite, A dan Smith, F.J. 1996. *Chromatographics Methods*. 5th ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- [13] Monod, J. 1949. The Growth of Bacterial Cultures. *Annual Reviews Microbial*, 3, 371-394.