

## HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY ANALYSIS OF *COENZYME Q<sub>10</sub>* IN PALM FRUITS (*BORASSUS FLABELLIFER* LINN.)

*Tri Bowo Chahyono,<sup>1</sup> Hari Widada,<sup>2</sup>*

Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta<sup>1</sup>

Lecturer, Muhammadiyah University of Yogyakarta<sup>2</sup>

[bowokzoyon@gmail.com](mailto:bowokzoyon@gmail.com)

*Coenzyme Q<sub>10</sub>* (CoQ<sub>10</sub>) or *ubiquinone*, is one of the most essential coenzymes in our body. CoQ<sub>10</sub> is located on the inner membrane of mitochondria which has a role to produce energy in the form of adenosine triphosphate (ATP). CoQ<sub>10</sub> is oil soluble substances that one of them is being synthesized by plant. Siwalan or Lontar pulp (*Borassus flabelifer* Linn.) is one of palm families that predicted containing a large amount of plant allegedly rich of oil soluble component content, that is CoQ<sub>10</sub>.

The objective of this research was to optimize the extraction process and analysis condition of CoQ<sub>10</sub> from Siwalan pulp (*Borassus flabelifer* Linn.) by using HPLC method. A 100% of methanol was used as the mobile phase, VP-ODS 250L x 4,6 µm was used as the column, UV light at λ = 275 nm was used as the detector, and isocratic elution was conducted at mobile phase rate = 2 mL/minute and temperature at 30°C.

Based on the method that was used, the retention time of CoQ<sub>10</sub> was found to be 9,853 minute and this result was fulfilling the validity parameter requirement. Suitability system parameter was generating a coefficient (CV) as much as 0,34%. The standard calibration curve was found to be  $y = 3,9263x - 914,42$  with correlation coefficient (r) equals to 0,997. The quantifying limit for analysis was found to be 15,20 ng/mL with accuracy and precision (CV) less than 2%. The average concentration of *n*-hexan extract of CoQ<sub>10</sub> from Siwalan pulp with dry extraction was found to be 21,67% and wet extraction was found to be 7,14%.

**Keywords:** HPLC, *Coenzyme Q<sub>10</sub>*, Siwalan (*Borassus flabelifer* Linn.)

### PENDAHULUAN

*Coenzyme Q<sub>10</sub>* (CoQ<sub>10</sub>) atau *ubiquinone*, yaitu komponen yang terdapat pada membran dalam (*inner membrane*) mitokondria. Di dalam mitokondria, CoQ<sub>10</sub> berperan pada jalur fosforilasi oksidatif yang sangat penting dalam pembentukan ATP (Lenaz, 1999). ATP berfungsi sebagai sumber energi utama sel dan mengontrol sejumlah proses biologis, termasuk kontraksi otot, produksi protein dan

antioksidan (Bentinger, 2010). Selain berperan dalam menghasilkan ATP, CoQ<sub>10</sub> juga memiliki aktivitas antioksidan kuat yang bekerja dengan cara mengikat radikal bebas, yaitu komponen yang merusak DNA, membran sel, dan menyebabkan kematian sel. Telah dilaporkan bahwa CoQ<sub>10</sub> memiliki aktivitas antioksidan 10 kali lebih besar dari vitamin E (Han, *et al.*, 2006). CoQ<sub>10</sub> juga berperan dalam sistem kekebalan

tubuh, *signaling cell* dan ekspresi gen (Crane, 2001).

Nama *ubiquinone* berasal dari keberadaannya yang ada di mana-mana di alam (*ubiquitous*). Senyawa *coenzyme Q* (CoQ) hanya disintesis oleh tanaman dan organisme oksigenik yang dapat berfotosintesis, serta merupakan komponen diet utama pada binatang dan juga manusia (Anonim, 2013). CoQ pertama kali diisolasi dari mitokondria hati sapi oleh Frederick Derek of Wisconsin, Amerika Serikat, pada tahun 1957 (Edlud, 1988). Isolasi CoQ dari tanaman pertama kali dilaporkan oleh Crane dan Lester (1958) terkait dengan molekul plastoquinone. Salah satu jenis tanaman palma yang sudah terbukti mengandung CoQ<sub>10</sub> adalah kelapa sawit (Han, *et al.*, 2006; May, *et al.*, 2004).

Siwalan atau lontar (*Borassus flabellifer* Linn.) adalah salah satu tanaman jenis palem-paleman yang dapat tumbuh baik di ekosistem pantai dan telah diketahui mempunyai banyak manfaat. Sejauh ini bagian yang banyak dimanfaatkan dari pohon siwalan adalah daun dan nira yang dihasilkan dari proses penyadapan yang diperdagangkan dalam bentuk nira segar maupun diolah menjadi produk gula (Mahmud dan Amrizal, 1991).



**Gambar 1.** Pohon Siwalan dan Daging Buah Siwalan

Sebagai tanaman jenis palem-paleman maka buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.) diduga kaya akan kandungan minyak. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha analisis kandungan senyawa CoQ<sub>10</sub> yang terdapat pada daging buah siwalan khususnya buah siwalan berumur muda. Analisis dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) menjadi pilihan yang tepat untuk mengetahui komposisi senyawa CoQ<sub>10</sub> dalam daging buah siwalan

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: 1) Apakah di dalam daging buah siwalan terdapat kandungan CoQ<sub>10</sub>; 2) Bagaimana melakukan analisis penetapan kadar kandungan CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan menggunakan metode HPLC; dan 3) Berapakah kadar CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.).

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kandungan CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan dengan menentukan kondisi optimum dalam isolasi dan analisis menggunakan HPLC.

Dari penelitian ini dapat diketahui kandungan CoQ<sub>10</sub> dalam daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.), sehingga dapat digunakan sebagai sumber referensi dalam pemanfaatannya, baik dalam bentuk produk makanan, kosmetik, sediaan farmasi atau penelitian lebih lanjut secara farmakologis.

## METODE PENELITIAN

**Bahan dan alat:** Standar CoQ<sub>10</sub>, *n*-heksan, Etanol, Etil Asetat, dan Metanol (p.a). Seperangkat alat HPLC Simadzu® AD30; kolom HPLC Shim-pack VP-ODS 250L x 4,6 µm; dan Detektor SPD-20A Uv-Vis.

**Preparasi sampel.** Sampel buah siwalan diekstrak menggunakan 2 cara, yaitu ekstraksi kering dan ekstraksi basah. Ekstraksi kering dilakukan dengan membuat simplisia buah siwalan dengan suhu oven 70°C kemudian dimaserasi dengan etil asetat selama 7 hari. Ekstraksi basah dilakukan dengan langsung mengekstraksi daging buah siwalan segar menggunakan etil asetat selama 24 jam.

**Preparasi larutan induk Standar CoQ<sub>10</sub>.** Standar CoQ<sub>10</sub> ditimbang seksama 10,0 mg, dimasukkan dalam labu takar 10 mL kemudian diencerkan secara kuantitatif dengan metanol sampai tanda tera. Larutan tersebut disonikasi selama 15 menit dan disaring dengan *membrane filter* 0,22 µm. Diperoleh konsentrasi larutan baku standar CoQ<sub>10</sub> 1 mg/mL.

**Preparasi larutan kurva kalibrasi.** Larutan induk standar CoQ<sub>10</sub> (1 mg/mL) diambil masing-masing sebanyak 20, 25, 30, 35, 40 dan 45 µL menggunakan *micropipette* dimasukkan dalam labu takar 5 mL, kemudian diencerkan secara kuantitatif dengan fase gerak metanol sampai tanda tera, sehingga diperoleh konsentrasi 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, dan 9000 ng/mL.

**Preparasi larutan validasi metode.** Larutan induk standar CoQ<sub>10</sub> (1 mg/mL) diambil masing-masing sebanyak 22,5 µL, 32,5 µL, dan 42,5 µL menggunakan *micropipette* dimasukkan dalam labu takar 5 mL, kemudian diencerkan secara kuantitatif dengan fase gerak metanol sampai tanda tera, sehingga diperoleh konsentrasi 4500, 6500, dan 8500 ng/mL. Konsentrasi larutan validasi diambil dari batas bawah, tengah dan tinggi larutan kurva baku mengacu pada ICH (2005) dengan tujuan untuk melihat

kecenderungan adanya kesalahan sistemik dilevel rendah, tengah dan atas.

**Optimasi system HPLC.** Sistem HPLC menggunakan standar eksternal CoQ<sub>10</sub>; fase diam ODS (*octadecyl silane*) C<sub>18</sub>, panjang 250 mm, dan ukuran partikel 4,6 µm; fase gerak metanol 100%; Detektor SPD-20A Uv-Vis; elusi isokratik dengan kecepatan alir 2 mL/menit, suhu 30°C.

**Rancangan kerja validasi HPLC.** Rancangan kerja validasi HPLC meliputi (i) uji kesesuaian system; (ii) Linieritas dan kurva kalibrasi; (iii) batas kuantifikasi, (iv) akurasi; (v) recovery dan (vi) presisi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dilakukan dengan membuat tiga replikasi dari masing-masing proses ekstraksi kering dan ekstraksi basah. Ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini berbentuk ekstrak kental dengan nilai hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Rendemen Ekstrak

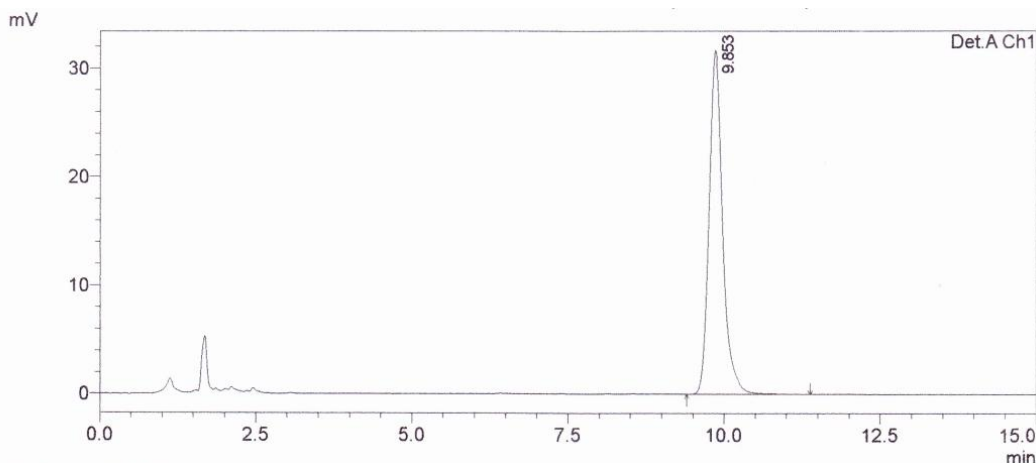
Replikasi	Rendemen Ekstrak (%)	
	Ekstrak Kering	Ekstrak Basah
1	0,363	0,113
2	0,567	0,158
3	0,355	0,185
Rata-rata	0,428	0,152

Ekstrak yang didapat dalam penelitian ini berbentuk ekstrak kental dengan nilai rata-rata rendemen dari ekstraksi kering sebesar 0,428% sedangkan ekstraksi basah memiliki rendemen rata-rata sebesar 0,152% (lampiran 6). Hasil rendemen ini menunjukkan bahwa kadar rendemen ekstraksi kering lebih tinggi daripada ekstraksi basah. Hal ini disebabkan perpindahan massa komponen minyak sampel ke dalam pelarut *n*-heksan terhalang dengan

adanya air dan lama ekstraksi yang berbeda (Khopkar, 2008).

Hasil dari optimasi sistem untuk menganalisis senyawa CoQ<sub>10</sub> diperoleh *time*

*retention* 9,853 menit dengan data kromatogram dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Peak Kromatogram HPLC Kromatogram standar CoQ<sub>10</sub> konsentrasi 1 mg/mL, time retention 9,853 menit; Fase gerak: metanol 100%; (merck®); Fase diam: Shimadzu® Shim-pack VP-ODS 250L x 4,6,, Elusi isokratik, Detektor Shimadzu® SPD-20A Uv-Vis λ 275 nm; volume injeksi 20 µL; laju alir 2 mL/menit.

Berdasarkan metode yang digunakan diperoleh waktu retensi CoQ<sub>10</sub> pada menit 9,853 dan telah memenuhi persyaratan parameter validasi. Parameter kesesuaian sistem menghasilkan koefisien variasi (CV) 0,34%. Linieritas menunjukkan koefisien korelasi yang baik ( $r = 0,997$ ) Diperoleh batas kuantifikasi 15,21 ng/mL. Parameter akurasi dan presisi menghasilkan  $CV \leq 2\%$ . Persentase perolehan kembali CoQ<sub>10</sub> diperoleh 101,98%. Hasil dari parameter-parameter validasi metode analisis yang dilakukan telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan untuk pengujian bahan sediaan farmasi. Hal ini menunjukkan bahwa analisis CoQ<sub>10</sub> dapat digunakan untuk penetapan kadar kandungan CoQ<sub>10</sub> pada ekstrak.

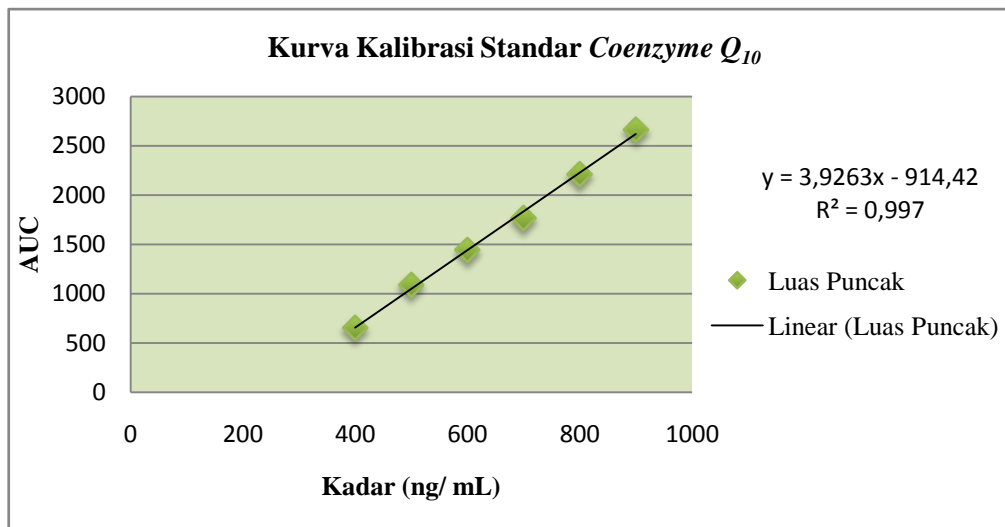
Kurva kalibrasi dilakukan pada seri larutan kurva baku standar CoQ<sub>10</sub> dengan konsentrasi CoQ<sub>10</sub> 400, 500, 600, 700, 800, 900 ng/mL. Hasil uji diperoleh persamaan garis  $y = 3,9263x - 914,42$  dan

koefisien korelasi ( $r$ ) 0,997. Tabel linieritas dan kurva kalibrasi standar CoQ<sub>10</sub> dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 2.

**Tabel 2.** Tabel Linieritas

Kadar (ng/mL)	Luas Area
400	653
500	1088
600	1444
700	1767
800	2211
900	2663
Slope (b)	3,9263
Aksis Intercept (a)	-914,42
Koefisien Korelasi (r)	0,997

Menurut ICH (2005), nilai  $r$  yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan, yaitu harus lebih besar dari 0.990. Nilai  $r$  yang diperoleh mendekati satu sehingga dapat dikatakan bahwa kurva memiliki kelinieran yang tinggi, artinya dengan meningkatnya konsentrasi CoQ<sub>10</sub> maka luas puncak juga akan mengalami kenaikan yang linear.



**Gambar 2.** Kurva Kalibrasi Standar *Coenzyme Q<sub>10</sub>* (x= kadar CoQ<sub>10</sub>, y= area)

Hasil penetapan kadar daging buah siwalan menggunakan sistem HPLC dari hasil validasi dibuat tiga kali ulangan dan dihitng persamaan regresi linier yang

diperoleh dari kurva kalibrasi. Diperoleh kadar CoQ<sub>10</sub> dalam ekstraksi kering sebesar 21,67% dan ekstraksi basah 7,14% dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

**Tabel 32.** Hasil Penetapan Kadar *Coenzyme Q<sub>10</sub>* Ekstrak Daging Buah Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.)

Sampel	Bobot (mg)	C. Cal	Kadar (% b/ b)
Ekstrak Kering	100	2175,99	21,76
	100	2167,71	21,68
	100	2158,80	21,59
		Rata-rata	21,67
		SD	0,09
		% CV	0,40
Ekstrak Basah	100	699,750	7,00
	100	720,890	7,21
	100	720,380	7,20
		Rata-rata	7,14
		SD	0,12
		% CV	1,69

\*FP = Faktor Pengenceran; C. Cal = *Concentration Calculate*.

Besarnya kadar CoQ<sub>10</sub> pada ekstraksi kering hanya menunjukkan bahwa proses ekstraksi menggunakan pemanasan 70°C memberikan perolehan kadar CoQ<sub>10</sub> lebih banyak dibandingkan dengan ekstraksi basah, tetapi tidak menunjukkan stabilitas senyawa CoQ<sub>10</sub> yang pasti, yaitu perbandingan antara kadar senyawa CoQ<sub>10</sub> dengan senyawa hasil degradasi CoQ<sub>10</sub> akibat pemanasan pada masing-masing ekstrak. Oleh karena itu dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi

analisis perbandingan senyawa CoQ<sub>10</sub> dengan senyawa hasil degradasi CoQ<sub>10</sub> akibat pemanasan masing-masing ekstrak. Masih tinggi perolehan senyawa CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan pada proses ekstraksi kering diduga dikarenakan senyawa CoQ<sub>10</sub> pada simplisia masih dapat dilindungi oleh jaringan-jaringan *kotiledon* (jaringan tempat penyimpanan lemak pada tumbuhan bagian buah) (Sipayung, 2003) dan masih dapat distabilkan oleh senyawa-senyawa lain yang terdapat didalam ekstrak. Hal ini juga

dibuktikan oleh Cahyanine *at al.*, (2008) dalam ekstraksi tokoferol dari bekatul (*Oryza sativa*) dengan pemanasan 121°C masih menghasilkan kadar tokoferol sebesar 3,89 mg/gram. Tokoferol mempunyai kemiripan struktur dengan CoQ<sub>10</sub> dimana tokoferol mempunyai titik lebur 3°C (Anonim<sup>2</sup>, 2013). Selain itu, pada ekstraksi kering proses penyarian senyawa larut minyak dengan pelarut *n*-heksan lebih optimum karena sudah tidak adanya kadar air dalam sampel dan waktu ekstraksi yang lebih lama (7 hari). Pada ekstraksi basah, faktor daya tembus pelarut *n*-heksan lebih rendah karena terhalangi dengan adanya air dan waktu penyarian lebih cepat (24 jam), sehingga mendapatkan rendemen ekstrak dan senyawa CoQ<sub>10</sub> lebih sedikit.

Dalam tubuh manusia, CoQ<sub>10</sub> diperoleh dari oksidasi CoQ<sub>10</sub>H<sub>2</sub> dalam mitokondria

oleh *flavoenzymes* seperti *mitochondrial succinate dehydrogenase* dan NADH. CoQ<sub>10</sub> merupakan senyawa minyak dengan struktur mengacu pada kelompok kimia kuinon yang mempunyai rantai poliisoprena mengandung unit isoprena 10 (masing-masing 5 karbon) atau total 50 karbon (Lenaz, 1999). CoQ<sub>10</sub> mempunyai bentuk tereduksi 2,3-dimethoxy - 5-methyl-6-decaprenyl-1,4-benzohydro-quinone (*Ubiquinol*) (Folkers *at al.*, 1958). Rantai poliisopren dalam CoQ<sub>10</sub> akan mengalami oksidasi dalam proses pemanasan yang tinggi seperti senyawa-senyawa minyak pada umumnya. Pemanasan dengan suhu sangat tinggi akan menyebabkan perubahan rantai rangkap poliisopren CoQ<sub>10</sub> menjadi rantai tunggal sehingga akan membentuk senyawa lain.

**Tabel 43.** Hasil Konversi kandungan CoQ<sub>10</sub> dalam daging buah segar siwalan

Jenis Ekstraksi	Buah Segar	Ekstrak <i>n</i> -heksan	Coenzyme Q <sub>10</sub>	CoQ <sub>10</sub> / daging buah (gram/kg)
Kering	250 gram	1070 mg	231,87 mg	0,93 g/ kg
Basah	250 gram	380 mg	15,732 mg	0,063 g/ kg

CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.) merupakan senyawa dengan kadar rendah, yaitu dalam 1 kg daging buah siwalan terdapat CoQ<sub>10</sub> 0,93 gram untuk ekstraksi kering 0,063 gram untuk ekstraksi basah. Metode ekstraksi yang optimum digunakan dalam memperoleh kandungan senyawa CoQ<sub>10</sub> dari daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.) adalah dengan menggunakan metode ekstrak kering. Rendemen ekstrak ekstrasi kering diperoleh sebanyak 0,428% dan ekstraksi basah 0,152%. Kadar rata-rata CoQ<sub>10</sub> ekstrak *n*-heksan daging buah siwalan pada ekstraksi kering 21,67% dan ekstraksi basah 7,14%.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Efektivitas metode ekstraksi yang paling optimum digunakan dalam memperoleh kandungan senyawa CoQ<sub>10</sub> dari daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.) adalah dengan menggunakan metode ekstrak kering. Rendemen ekstrak *n*-heksan ekstrasi kering diperoleh sebanyak 0,428% dan ekstraksi basah 0,152%. Kondisi optimum yang diperoleh dalam analisis CoQ<sub>10</sub> dengan metode HPLC yaitu dengan fase diam: ODS

(*octadecyl silane*) C<sub>18</sub>, 250L x 4,6 µm, fase gerak: metanol 100%, elusi: isokratik, kecepatan alir: 2 mL/ menit, Suhu : 30°C. Dari sitem tersebut diperoleh waktu retensi CoQ<sub>10</sub> pada menit 9,853 dan telah memenuhi persyaratan parameter validasi. Parameter kesesuaian sistem menghasilkan koefisien variasi (CV) 0,34%. Linieritas diperoleh dengan memplotkan luas area puncak dengan konsentrasi CoQ<sub>10</sub> menunjukkan korelasi yang baik (r = 0,997) dengan persamaan  $y = 3,9263x - 914,42$ . Diperoleh batas kuantifikasi 15,21 ng/mL. Parameter akurasi dan presisi menghasilkan CV ≤ 2%. Persentase perolehan kembali CoQ<sub>10</sub> berada dalam rentang 80-120%, yaitu 101,98%.

2. Kadar rata-rata senyawa CoQ<sub>10</sub> ekstrak n-heksan daging buah siwalan menggunakan metode ekstraksi kering sebesar 21,67% dan ekstraksi basah 7,14% atau dalam 1 kg sampel segar daging buah siwalan dengan metode ekstraksi kering terdapat 0,93 gram dan untuk metode ekstraksi basah diperoleh 0,063 gram senyawa CoQ<sub>10</sub>.

## SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan beberapa hal sebagai berikut:

1. Diperlukan optimasi pemilihan umur sampel terhadap analisis kandungan senyawa CoQ<sub>10</sub> pada daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.).
2. Diperlukan optimasi analisis senyawa hasil degradasi senyawa CoQ<sub>10</sub> terhadap temperatur.

3. Dilakukan pemanfaatan dan pembuatan sediaan obat atau produk lain dari daging buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.).

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalo, P., 2008, Multiguna, dari akar hingga nira, *Media Indonesia*, 21 November 2008. Hal 5.
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: DepKes RI
- Anonim, 2002, [NCCAM] National Center for Complementary and Alternative Medicine, Study Suggests Coenzyme Q10 Slows Functional Decline in Parkinson's Disease, Tersedia di: <http://nccam.nih.gov/taxonomy/term/116?nav=gsa>. Diakses pada 15 Mei 2013.
- Anonim, 2007, Coenzyme Q<sub>10</sub>, *Journal Tishcon/Geltec 30 New York Avenue Westbury, NY 11590, Q-FACTS™* (Updated May, 2007).
- Anonim, 2012, [NCCAM]. National Center for Complementary and Alternative Medicine, Cancer and Complementary Health Practices, Tersedia di: <http://nccam.nih.gov/taxonomy/term/116?nav=gsa>. Diakses pada 15 Mei 2013.
- Anonim, 2013, [NMCD]. Natural Medicines comprehensive database, Coenzymes Q<sub>10</sub> monograph, Tersedia di: <http://naturaldatabase.com/nd/Search.aspx?cs=&s=ND&pt=100&id=938&ds=>. Diakses pada 15 Mei 2013.
- Anonim<sup>2</sup>, 2013, Alpha-Tocopherol-Compound Summary, PubChem, NCBI, tersedian di: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=14985#x27>. diakses pada tanggal 08 Desember 2013.
- AOAC, 1995, Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists, Washington D.C.
- Bentinger, M., Tekle, M., Dallner, G., 2010, Coenzyme Q – Biosynthesis and functions, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396 (2010) 74–79 (Received 15 February 2010).
- Bruno, G., 2009, Coenzyme Q<sub>10</sub>, *Huntington College of Health Sciences*, 800-290-4226.
- Bugg, TDH. 2004. *Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry*: Ed ke-2. UK: Blackwell Publishing.
- Cahyanine, M., Estiasih, T. Dan Nisa, FC., 2008, High-Tocopherol Fraction from Rice Bran (*Oryza sativa*) Prepared by low-temperature Solvent Crystallization. *Jurnal Teknologi Pertanian*, Vol. 9 No. 3 hal 165-172.
- Clark J., 2007, Thin layer chromatography, Tersedia di: <http://www.chemguide.co.uk/analysis/chromatography/thinlayer.html>. Diakses pada 16 Mei 2013.
- Crane FL, Lester, RL., 1958, Internal Distribution Of Coenzyme Q In Higher Plants, *Plant Physiol*, Vol. 33(Suppl):vii.
- Crane, FL., 2001, Biochemical Functions of Coenzyme Q<sub>10</sub>, *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 20, No. 6, 591–598.
- Debasis, E., 1982, Submitting HPLC methodes to the compendia and regulatory agencies, *Pharm. Tech.*, September 1982. p. 120.
- Depkes RI., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, Hal. 4-13.
- Depkes RI., 2009, *Farmakope Herbal Indonesia edisi*, Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta, Hal. 5.
- Edlund, PO., 1988, Determination of Coenzyme Q<sub>10</sub>, α-tocopherol and cholesterol in biological samples by coupled-column liquid chromatography with coulometric and ultraviolet detection, *Journal of Chromatography*, No. 425: 87-97.

- Erdmann, RL., 2010, What is Coenzyme Q<sub>10</sub>?, *Green Library Offprint*, No. 40
- Ermer, J. And Miller, JHM., 2005, *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*, 21-22, 123-124, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim.
- [FDA], Food and Drug Administration, 2001, guidance for industry Bioanalytical Method Validation, <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>, United States.
- Folkers, K., Shunk, CH., Linn, BO., Wong, EL., Wittreich, PE., and Robinson, F.M., 1958, Coenzyme Q: *Synthesis of 6-farnesyl- and 6-phytyl- derivatives of 2,3- dimethoxy-5-methyl benzoquinone and related analogs*. *J. Am. Chem. Soc.* 1958;80:4753.
- Gandjar, GL., & Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Harborne, JB., 1987, *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Harjadi W. 1993. *Kimia Analitik*. Jakarta: Gramedia.
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No.3, Desember 2004, 117 - 135.
- Hemmi N., Bhagavan, & Chopra, RK., 2006, Coenzyme Q<sub>10</sub>: Absorption, tissue uptake, metabolism and Pharmacokinetics, *Tishcon Corporation, 30 New York Avenue, Westbury, NY 11590*, Vol. 40 (5): 445-453.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 1, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- [ICH] International Conference On Harmonisation, 2005, ICH Of Echnical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use; *International Conference On Harmonisation Harmonised Tripartite Guideline Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1)*, Current Step 4 version.
- Khopkar, SM., *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Jakarta, UI-Press, 2008.
- Kieburtz K., Koroshetz, W., McDermott, M., Beal, MF., Greenamyre, JT., & Ross, CA., 2001, A randomized, placebo-controlled trial of coenzyme Q<sub>10</sub> and remacemide in Huntington's disease. *Neurology*, Vol. May 24;397-404.
- Lenaz, G., Faro R., DeBernardo S., Jarreta, D., Costa, A., Genova ML., & Parenti CG., 1999, Location and mobility of coenzyme Q in lipid bilayers and membranes, *Biofactors*, Vol. 9: 87-94.
- Miles, MV., Horn, PS., Morrison, JA., Tang, PH., DeGrauw, T., & Pesce, AJ., 2003, Plasma coenzyme Q<sub>10</sub> reference intervals, but not redox status, are affected by gender and race in self-reported healthy adults, *Clin Chim Acta*, Vol. 332: 123-132.
- Mosca, F., Fattorini, D., Bompadre, S., & Littarru, G., 2002, Assay of coenzyme Q<sub>10</sub> in plasma by a single dilution step, *Analytical Biochemistry*, 305:49-54.
- Munawaroh, E., 1999, Upaya konservasi dan budidaya lontar (*Borassus flabellifer* Linn.) oleh masyarakat Melolo di kabupaten Sumba Timur Nusa Tenggara Timur, *UPT Balai Pengembangan Kebun Raya*, LIPI.
- Nuroniah, HS., 2010, Lontar (*Borassus flabellifer*, Linn.) Sebagai Sumber Energi Bioetanol Potensial, *Sintesa Hasil Penelitian*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Peningkatan Produktivitas Hutan, Departemen Kehutanan RI.
- Nurtama, B., & Naomi, I., 1996, Paket industri pembuatan buah lontar (*Borassus flabellifer* Linn.) olahan, *Buletin Teknik dan Industri Pangan*, Vol. VII No 2. Hal. 95-99.
- Paulsen, P., 2003, Coenzyme Q<sub>10</sub>, Reviewed 5 Mei 2003\_Original Author Jonathan Reilly.
- Poedjadi, Anna dan Titin Supriyanti. FM., 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : UI-Press
- Rossidy, I., 2008, *Fenomena Flora dan Fauna dalam Prespektif al-Qur'an*, Malang, UIN Press.
- Roy JG., James M., Bobbit, AES., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Rozen, TD., Oshinsky, ML., Gebeline, CA., Bradely, KC., Young, WB., & Shechter, AL., 2002, Open label trial of coenzyme Q<sub>10</sub> as a migraine preventive, *Cephalalgia*, Vol. Mar;22(2):137-41.
- Shults, CW., Oakes, D., Kieburtz, K., Beal, MF., Haas, R., & Plumb, S., 2002, Effects of Coenzyme Q<sub>10</sub> in Early Parkinson Disease: Evidence of Slowing of The Functional Decline, *Arch of Neurology*, Vol. Oct;59(10):1541-50.
- Sipayung, R., 2003, Biosintesis Asam Lemak pada Tanaman, *Skripsi*, Jurusan Budidaya Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Selatan. Diakses pada 07 Oktober 2013.
- Skoog, 2004, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Brooks/Cole, a division of Thomson Learning, Inc, *United States of America*, eighth edition.
- Skoog, DA., West, DM., Holler, FJ., 1996, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7th edition, *New York: Saunders College Publishing*, Hal. 17-25.
- Snyder, LR., Kirkland, JJ., and Glajeh, JL., 1997, *Practical HPLC Method Development*, 2nd Ed, 2 191, 208, 297-299, 687-706, 722 John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Stiff, MR., 2010, Coenzyme Q<sub>10</sub> Biosynthesis in Plants: Is the Polyphenyltransferase an Appropriate Gene Target for the Increased Production of CoQ?, *Disertasi*, Faculty of North Carolina State University, North Carolina.
- Suman, A., Mishra, AK., Prasad, M., dan Chattopadhyay, P., 2011, A reverse-phase high performance liquid chromatographic method for determination of CoQ<sub>10</sub> in pharmaceutical formulation, *Journal of Analytical Chemistry*, ISSN 2229 - 6867, Vol 1:2, 2011.
- [USP] United States Pharmacopeia, 2003, The United States Pharmacopeia, *USP*, Ed ke- 26. Rockville.
- Tang, PH., Miles, MV., DeGrauw, A., Hershey, A., & Pesce, A., 2001, HPLC analysis of reduced and oxidised coenzyme Q<sub>10</sub> in human plasma, *Clinical Chemistry*, 47:256-65.
- Vanderwielen, RPJ., Albers, R., Brink, EJ., Hendriks, HFJ., Taran, VND., & Mohede, ICM., 2003, *Eur. L. Clin. Nutr.*; 57, 595-6003.
- Winarno. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.