



## ANALISIS UJI KADAR $\beta$ -KAROTEN PADA BUAH PATIKALA (*Etlingera elatior* (JACK) R.M. SMITH) SEBAGAI ALTERNATIF SUMBER VITAMIN A DAN ANTIOKSIDAN

Andi Ifriany Harun

Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Tanjungpura, Pontianak

### Article Info

#### Article history:

Received: 15 Maret 2023

Revised: 5 April 2024

Accepted: 27 April 2024

#### Keywords:

Antioxidants

B-Carotene

Patikala

Provitamin A

### ABSTRACT

The high level of pollution in Indonesia causes a large number of free radicals that have the potential to cause several diseases. To overcome this, antioxidants are needed which function to prevent heart disease, anti-aging, strengthen the immune system, protect the nervous system, and nourish the eyes. One known antioxidant is  $\beta$ -carotene. This study aimed to analyze the  $\beta$ -carotene content of patikala fruit (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) originating from Pangandaran (West Java) as an alternative source of vitamin A and antioxidants. The form of research is experimental. The research parameters were linearity test, detection limit and quantitation, system suitability test and determination of  $\beta$ -carotene levels. Analysis of pure  $\beta$ -carotene standard solution using HPLC obtained the results that the maximum absorption occurred at max 450 nm, linearity ( $r$ ) was 0.9999 or close to the value 1. Determination of  $\beta$ -carotene content was carried out in duplicate and the retention time of patikala fruit was 8,564 minutes and 8,597 minutes, respectively. Levels of  $\beta$ -carotene obtained by 0.1 ppm or 10 mg/100 g, while the need for  $\beta$ -carotene per day is 5-6 mg/100 g, consuming patikala fruit of 50 grams per day can meet the daily needs of  $\beta$ -carotene.

Copyright © 2024 Andi Ifriany Harun.

### ✉ Corresponding Author:

Andi Ifriany Harun

Universitas Tanjungpura, Pontianak

Email: andi.ifriani@fkip.Untan.ac.id

### PENDAHULUAN

Pencemaran udara adalah salah satu sumber pencemar yang sangat mengkhawatirkan. Tingginya tingkat pencemaran udara, menyebabkan Indonesia menjadi negara ketiga tertinggi yang mengalami pencemaran udara di dunia. Emisi dari kendaraan bermotor merupakan faktor utama pencemaran udara (85%), selebihnya adalah kebakaran hutan dan industri.

Oksigen dibutuhkan sel tubuh, tetapi oksigen yang sudah teroksidasi dan melepaskan radikal bebas, potensial merusak sel-sel tubuh yang sehat. Radikal bebas terbentuk dari zat kimia yang kehilangan atau mendapatkan elektron sehingga elektronnya menjadi tidak berpasangan dan tidak stabil. Adanya radikal bebas yang tidak stabil ini, dapat menyebabkan kanker. Untuk mencegah kanker akibat radikal bebas, digunakan antioksidan, suatu zat yang berfungsi menetralkan radikal bebas, dimana antioksidan tersebut akan teroksidasi terlebih dahulu untuk melindungi sel-sel yang sehat, sehingga kebutuhan akan antioksidan yang cukup sangat penting

Beberapa buah-buahan dan sayuran mengandung antioksidan yang berfungsi bagi kesehatan diantaranya mencegah penyakit jantung, anti penuaan, menguatkan sistem imun, melindungi sistem saraf, dan menyehatkan mata. Beta karoten adalah salah satu antioksidan yang terkenal.

$\beta$  karoten atau yang dikenal sebagai provitamin A merupakan pigmen yang memberi warna pada tumbuhan, yaitu pigmen orange. Konsumsi  $\beta$ -karoten dalam kadar yang diperlukan, dapat mencegah terjadinya penyakit arteri koroner, stroke, dan penyakit yang berhubungan dengan darah dan jantung. Umumnya buah dan sayuran yang berwarna orange diperkirakan mengandung  $\beta$  karoten.

Selama ini, pemanfaatan buah patikala masih sebatas sebagai bahan tambahan pada makanan khas suatu daerah, misalnya, di Sulawesi Selatan (khususnya di Palopo), buah patikala digunakan untuk membuat kapurung, suatu makanan tradisional, digunakan pada pembuatan palu mara. Di Kolaka (Sulawesi Tengah) dibuat jus herbal yang mempunyai rasa asam yang khas.

Beberapa penelitian yang terkait, menunjukkan efek antimikrobanya besar terhadap bakteri *E. Coli*, *Stap. Aureus*, *B. Subtilis*, *Strep. mutans*, *aeruginosa* dengan nilai  $R_f$  0,63 dan daun patikala mengandung zat antimikroba golongan flavonoid (Yenni, F.N, 2017;13). Penelitian lain yang dilakukan oleh AR. Ahmad (2017;33) menunjukkan bahwa pada buah mengandung flavonoid (1,77% b/b) dan fenolik (2,29 % b/b), sedangkan pada daun mengandung flavonoid (5,45 % b/b) dan fenolik sebesar 6,29 % b/b. Penelitian lain menunjukkan hasil bahwa ekstrak buah patikala memberikan konsentrasi hambat minimal sebesar 10 % terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Fadel M., 2016;25).

$\beta$ -karoten memiliki 11 ikatan rangkap (rumus molekulnya  $C_{40}H_{56}$ ) yang menunjukkan pigmen warna orange pada buah dan sayuran, yang jika berikatan dengan klorofil maupun xantofil, akan menyerap cahaya dalam spektrum cahaya orange atau merah dan akan menimbulkan warna hijau, ungu atau biru (Hock-Eng, et.al., 2011;35).

Berdasarkan pertimbangan di atas, dimana belum ada penelitian tentang kandungan  $\beta$ -karoten pada buah patikala dan karena buah patikala berwarna kuning-orange, maka dilakukan penelitian analisis uji kadar  $\beta$ -karoten pada buah patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith). Tujuannya adalah untuk menganalisis kadar  $\beta$ -karoten pada buah patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) sebagai alternatif sumber vitamin A dan antioksidan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat Penelitian

Kebutuhan bahan sebagai berikut : buah patikala, (THF), butil hidroksi toluena (BHT) 0,1 % dalam aseton, petroleum eter p.a, padatan  $\beta$ -karoten (E. Merck), kertas saring whatman 42, aluminium foil dan aquabidest.

Kebutuhan alat adalah HPLC, , *sentrifuge* dingin Universal 320 R, tabung *sentrifuge*, neraca analitik, *vortex*, dan chamber.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian uji betakaroten pada buah patikala dilakukan pada bulan Mei – November 2019 bertempat di laboratorium kimia dan Laboratorium PT Saraswanti Indo Genetech (SIG) di Kabupaten Bogor, Jawa-Barat.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi Standar Induk $\beta$ -karoten 1000 ppm

Larutan baku  $\beta$ -karoten dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok dibuat dengan cara 25 mg  $\beta$ -karoten ditimbang dan dimasukkan ke labu takar 100 ml dan dicukupkan volumenya dengan heksan.

Pembuatan larutan baku  $\beta$ -karoten 1000 ppm dilakukan dengan cara ditimbang dengan teliti 25 mg  $\beta$ -karoten, dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan larutan heksan hingga tanda batas. Encerkan larutan baku sampai diperoleh konsentrasi 0,05, 0,075, 0,1, 0,25, 0,5, 1 dan 2,5 ppm. Larutan yang sudah diencerkan tersebut, siap untuk diinjeksikan ke dalam kolom HPLC.

#### Pengujian $\beta$ -karoten

##### Ekstraksi secara refluks

Buah Patikala di timbang sebanyak 0,5-1 g, ditambahkan aquabidestilata. Kemudian ditambahkan 1 g Na-ascorbat atau 10 ml asan ascorbat atau 0,1 g pyrogallol atau 100 mg hidroquinon. Kemudian ditambahkan etanol 95% sebanyak 4x bobot sampel ( $\geq 40$  ml) dan KOH 100% sebanyak 1

kali bobot sampel. Diaduk sampai homogen dan ditambahkan batu didih, lalu direfluks dalam penangas air suhu 80°C selama 30 menit, aduk dan didinginkan.

#### **Ekstraksi karotenoid ke Petroleum Eter (PE) dalam Corong pisah**

Diekstraksi dalam corong pisah dengan 70 ml Petroleum eter atau 50 ml heksan atau 70 ml petroleum eter : heksan (2:1) atau 100 ml heksan : aseton (60 : 40) lalu dikocok. Lapisan atas yang terbentuk , dipindahkan ke dalam corong pisah untuk sampel yang mengandung lemak tinggi ditambahkan 50 ml KOH 5% ke dalam corong pisah. Diekstrak kembali dengan 2 x 40 ml larutan pengestrak. Ekstrak di cuci denga aquabidestilata hingga bebas basa. Lalu ditambahkan Natrium Sulfat dana disaring melalui kertas saring.

Ekstrak di evaporator (40°C) dan dialirkan gas nitrogen. Residu yang terbentuk ditambahkan dengan fase gerak dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml, lalu di saring menggunakan kertas saring whatman 0,45 µm ke dalam vial untuk diinjeksikan ke HPLC.

#### **Uji Linieritas**

Uji ini dilakukan dengan membuat kurva antara konsentrasi dan luas puncak dengan persamaan  $y = a + bx$ . Larutan baku dibuat beberapa konsentrasi yaitu 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 2.5; 5; 7.5 dan 10 ppm, lalu disuntikkan ke dalam HPLC sebanyak 20 µl. Persamaan  $y$ =garis yang sudah diregresi, dihitung nilai korelasinya (r).

#### **Uji Batas deteksi dan batas kuantitasi**

Uji ini dilakukan dengan cara menimbang 10 mg β-karoten dan dicukupkan volumenya dengan kloroform dalam labu takar 50 ml, selanjutnya diencerkan dengan kloroform hingga diperoleh konsentrasi 10 dan 0,5 ppm. Masing-masing konstentrasi disuntikkan ke HPLC sebanyak 20 µl. Dengan kondisi HPLC optimum, di ukur luas puncak dan dilakukan perhitungan nilai simpangan baku relatif. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kadar terendah yang dideteksi oleh HPLC.

#### **Analisis kuantitatif dengan HPLC**

##### **Uji kesesuaian sistem**

Uji ini dilakukan dengan cara menyuntikkan 20 µl larutan baku sebanyak 5 kali ke HPLC. Nilai simpangan baku diperoleh dengan cara mengukur luas puncak dari hasil HPLC (kondisi optimum). Tujuan uji ini adalah untuk melihat apakah memberikan hasil analisis tunggal dengan kondisi, metode dan alat yang digunakan.

##### **Penentuan konsentrasi β-karoten.**

Larutan baku dan uji yang sudah disonikasi (10 menit) disuntikkan ke HPLC. Kromatogram yang terbentuk, dilakukan pengukuran luas puncak dan dihitung konsentrasinya menggunakan rumus :

$$\text{kadar } \beta - \text{karoten } \left( \frac{\text{mg}}{\text{l}} \right) = \frac{\left\{ \left( \frac{\text{Area}}{\text{slop}} \right) \times \text{VL} \times \text{FP} \right\}}{\text{Bobot sampel}}$$

Dimana:

VL = Volume Sampel

FP = Faktor Pengenceran

## **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Buah patikala berasal dari Pangandaran (Jawa-Barat). Pada waktu penelitian, terdapat kesulitan dalam memperoleh buah ini, karena kebetulan belum berbuah. Di kota Pontianak sendiri, buah ini bisa ditemukan di pasar-pasar tradisional, walaupun belum banyak orang yang mengenal keberadaan buah patikala. Buah patikala yang berasal dari Pangandaran ini adalah buah patikala yang tumbuh di hutan atau sering disebut honje hutan, yang memiliki warna merah kehitaman atau merah maron.

HPLC yang digunakan untuk analisis kadar β-karoten menggunakan kolom kromatografi Lichrospher Rp18 125 x 4 mm; 5 µm dengan detektor PDA. Gradien yang digunakan adalah gradien isokratik. Serapan maksimum terjadi pada λ 450 nm, dan perbandingan fase gerak 50:40:5 (metanol : acetonitril : THF), jumlah yang diinjeksikan sebanyak 20 µl dengan laju alir 1.0 ml/menit. Kombinasi fase gerak memberikan resolusi naik dan waktu retensi cepat.

Dari hasil linieritas, larutan baku β-karoten murni mempunyai nilai r sebesar 0,9999 atau mendekati nilai 1. Hal ini menunjukkan bahwa luas puncak yang terdeteksi oleh HPLC dan konsentrasi larutan mempunyai koefisien korelasi baik dan dapat digunakan untuk penelitian (tabel 1).

**KURVA 1**

C. Std Induk (mg/L)	V. Pemipetan (ml)	V. Labu Ukur (ml)	C. Std (mg/L)	RT	Area	C. Injeksi	% Residual
0,97	0,50	10,00	0,049	8,54	4944,28	0,057	17,994
0,97	0,75	10,00	0,073	8,53	7349,69	0,076	4,746
0,97	1,00	10,00	0,097	8,54	10015,71	0,097	0,241
97,06	0,03	10,00	0,243	8,53	30344,85	0,258	6,228
97,06	0,05	10,00	0,485	8,52	55764,56	0,458	-5,540
97,06	0,10	10,00	0,971	8,51	119758,78	0,964	-0,726
97,06	0,25	10,00	2,427	8,47	305903,62	2,433	0,264
Slope					126684,62		
Intercept					-2310,09		
R <sup>2</sup>					0,9997		
R					0,9999		

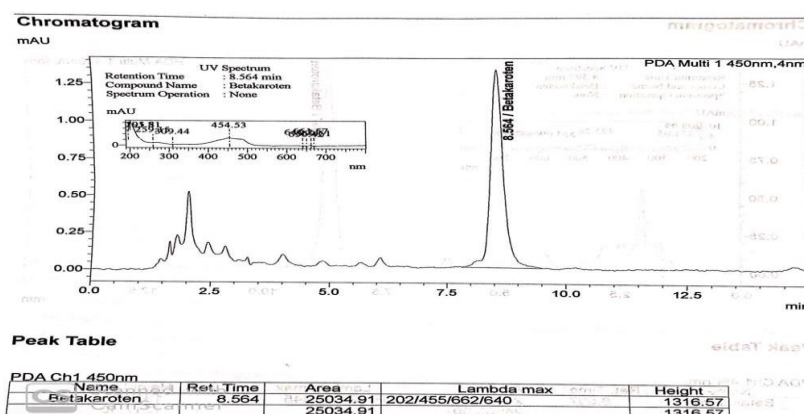
**Gambar 1. Regresi linier  $\beta$ -karoten murni**

Dari HPLC terhadap larutan standar betakaroten murni pada  $\lambda_{\max}$  dengan detektor PDA, hasilnya terlihat sebagai berikut (tabel 2).

**Tabel 2. Larutan standar  $\beta$ -karoten murni dengan Luas Area Di Bawah Kurva dan Waktu Retensi**

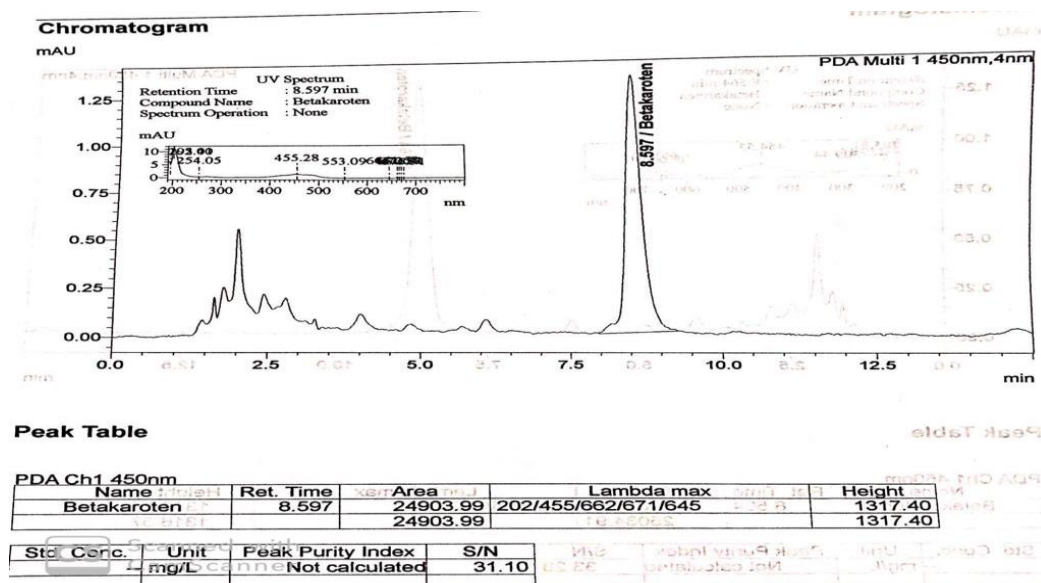
Konsentrasi $\beta$ -karoten (ppm)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area Di Bawah Kurva
0,05	8.543	4.944,28
0.075	8.527	7349.69
0,10	8.535	10015.71
0,25	8.528	30344.85
0,50	8.523	55764.56
Konsentrasi $\beta$ -karoten (ppm)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area Di Bawah Kurva
1,00	8.512	119758.78
2,50	8.472	305903.62

Penentuan kadar  $\beta$ -karoten menggunakan HPLC diperoleh melalui perbandingan waktu retensi dan luas area di bawah kurva kromatogram larutan standar  $\beta$ -karoten murni dengan kromatogram sampel buah patikala. Pengujian sampel dilakukan 2 kali (duplo). Hasilnya, diperoleh pada pengujian pertama, waktu retensi buah patikala sebesar 8.564 menit, seperti pada kromatogram berikut :



**Gambar 2. Kromatogram 1 analisis kadar  $\beta$ -karoten buah patikala.**

Sedangkan pada pengujian kedua, diperoleh waktu retensi sebesar 8.597 menit, hasilnya dapat dilihat pada kromatogram berikut :



Gambar 3. Kromatogram 2 analisis kadar  $\beta$ -karoten buah patikala

Dari hasil pengujian tersebut, kadar  $\beta$ -karoten pada buah patikala asal dari Pangandaran (Jawa Barat) sebesar 0.1 ppm atau 10 mg/100 g, sedangkan kebutuhan  $\beta$ -karoten perhari adalah 5 - 6 mg/100 g. Sehingga disimpulkan bahwa mengkonsumsi buah patikala sebesar 50 gram per hari sudah dapat memenuhi kebutuhan  $\beta$ -karoten harian.  $\beta$ -karoten pada buah patikala lebih tinggi kadarnya dari  $\beta$ -karoten yang terdapat pada talas ungu (asal Pontianak).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan menyatakan jawaban dari hipotesis dan/atau tujuan penelitian yang telah Konsentrasi  $\beta$ -karoten yang terdapat pada buah patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) yang berasal dari Pangandaran (Jawa Barat) sebesar 10 mg/100 g sampel.

### SARAN

Setelah melakukan penelitian analisis uji kadar  $\beta$ -karoten pada buah patikala sebagai alternatif sumber vitamin A dan antioksidan disarankan melakukan penelitian lanjutan tentang :

- perbandingan kadar  $\beta$ -karoten dari buah patikala yang berasal dari beberapa daerah, mengingat adanya perbedaan warna buah patikala dari masing-masing daerah penghasil buah tersebut.
- Membuat sediaan buah patikala dalam bentuk serbuk yang akan dikembangkan menjadi minuman kesehatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad AR., 2017, *Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala*, Pharm Sci Res !SSN 2407-2354, april 2015 (vol 2 no.1), Lab farmakognosi fak farmasi UMI Makassar
- Andarwulan, N. dan Koswara, Sutrisno. 1992. *Kimia Vitamin*. Rajawali Press.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Cappuccino, J.C. and N. Shjerman, 1987, "Microbiology: Laboratory Manual", The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.
- Fadel, M., 2016, *Daya Hambat ekstrak buah patikala terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus*, Skripsi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Kristianingrum S, 2010, *Tinjauan Berbagai Metode Analisis Karoten dalam Bahan pangan*, Prosiding Seminar Nasional penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.

- Mangunsong S., et.all., 2019, *Penentuan  $\beta$ -Karoten Dalam Buah (Daucus Carota) Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ( U-HPLC)*, AcTion Journal, P-ISSN : 2527-3310 E-ISSN : 2548-5741, Volume 4, Nomor 1
- Yenni, F.N., dkk, 2017, *Uji anti mikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol daun patikala terhadap beberapa mikroba uji* , Journal.uin-alaudidin.ac.id, Makassar.