



ANALISIS KANDUNGAN KAROTENOID TOTAL
DALAM BUAH JAMBU BIJI MASAK
(*Psidium guajava* L.)
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

ANDI ALNY HILWANY
H 511 02 031



UPT PERPUSTAKAAN UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	11-12-2006
Dari	Fale-Hipq
	1 (satu) CS
	H
	855 / 11-12-06
No. Klas	135278

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006

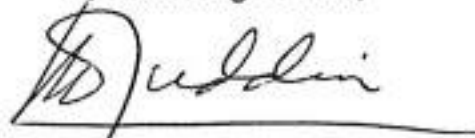
ANALISIS KANDUNGAN KAROTENOID TOTAL
DALAM BUAH JAMBU BIJI MASAK (*Psidium guajava* L.)
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

ANDI ALNY HILWANY

H 511 02 031

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc
NIP. 130 520 080

Pembimbing Pertama,

Drs. H. Fachruddin Tobo, Apt (Aim)
NIP. 130 369 546

Pembimbing Kedua,



Dra. Christiana Lethe, Apt
NIP. 131 122 062

Pada tanggal November 2006

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji bagi-Mu Ya Allah, Penguasa alam semesta, Pemilik langit dan bumi, Pemilik segala ilmu dan kebenaran atas segala rahmat dan hidayah yang telah Engkau berikan pada hamba-Mu yang lemah ini. Berkat kebesaran-Mu lah maka skripsi ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

Meski penulisan skripsi ini menemui banyak kesulitan, namun berkat dukungan maupun bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat juga melewati kendala-kendala dan kesulitan-kesulitan tersebut. Oleh karena itu dari lubuk hati yang paling dalam penulis ingin menghaturkan banyak terima kasih pada pihak-pihak yang telah sangat membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Pertama-tama penulis ingin berterima kasih pada Bapak Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, Almarhum Drs. H. Fachruddin Tobo Apt dan Ibu Dra. Christiana Lethe, Apt karena telah dengan tulus membimbing penulis dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Tak lupa pula pada bapak-bapak dan ibu-ibu dosen Farmasi yang telah banyak memberi masukan ilmu yang amat bermanfaat utamanya dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih pula pada seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi dan Fitokimia atas kerja samanya selama pelaksanaan penelitian ini.

Demikian pula penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sedalam dalamnya pada kedua orang tua penulis, Ayahanda H. A. Abd. Latief Mapparessa dan Ibunda Hj. Hasnah Ani berkat doa yang tak henti-

hentinya, ketabahan dan perjuangan yang telah membesarkan penulis dengan penuh kerja keras dan air mata. Dukungan kalian adalah segala-galanya bagi penulis. Juga kepada adik penulis, A. Asty Safaridah yang telah banyak memberi semangat setiap kali penulis menemui kesulitan dalam pelaksanaan penelitian ini. Terkhusus kepada Almarhumah Hj. Hawiah yang telah penulis anggap seperti Ibu kandung penulis sendiri karena semasa hidupnya telah turut membesarkan penulis sejak kecil dengan penuh kasih sayang dan cinta.

Penulis juga sangat berterima kasih pada seluruh teman-teman angkatan 2002 jurusan farmasi Universitas Hasanuddin yang tak mungkin penulis sebutkan namanya satu-persatu termasuk orang-orang yang pernah dekat di hati penulis yang selama ini telah mau mendengarkan curahan hati penulis, keluh kesah penulis dan telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini. Begitu banyak kenangan suka maupun duka yang telah kita lalui dan tidak akan mungkin terlupakan bagi penulis. Terima kasih atas persahabatan yang tulus dan semua kebersamaan yang indah selama ini.

Sekali lagi penulis ucapkan banyak terima kasih pada semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini. Penulis juga mohon maaf pada semua pihak jika selama ini pernah melakukan kesalahan baik yang disengaja maupun tidak disengaja dalam pelaksanaan penelitian, karena kesalahan dan kekurangan itu sesungguhnya milik penulis dan segala kebenaran dan kesempurnaan hanya milik Allah semata.

Seperti pepatah lama yang mengatakan bahwa tak ada gading yang tak retak, oleh karena itu perbaikan dan saran demi penyempurnaan skripsi ini sangat penulis harapkan. Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amien Ya Rabbal Alamien...

Makassar, November 2006

Andi Alny Hilwany

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang analisis kandungan karotenoid dalam buah Jambu biji masak (*Psidium guajava* Linn.) secara spektrofotometri UV-Vis dengan tujuan melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif kadar karotenoid sampel segar berdasarkan kelarutannya dalam cairan penyari petroleum eter dan dietil eter. Buah *P. guajava* segar diekstraksi secara maserasi dan kemudian diekstraksi partisi dengan dietil eter atau petroleum eter dan disaponifikasi. Analisis kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis dan secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis. Analisis kualitatif dengan cairan pengelusi petroleum eter : benzene (9 : 1) menggunakan pembanding β -karoten murni. Dengan pengamatan secara langsung maupun dengan penampak noda sinar UV 254 nm dan UV 366 nm dapat terlihat noda pada sampel, pembanding β -karoten murni dan campuran antara sampel dan pembanding dalam pelarut petroleum eter dengan warna dan harga Rf yang sama. Pengukuran serapan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 448 nm untuk pelarut petroleum eter diperoleh kadar rata-rata β -karoten sampel sebanyak 0,0932 mg/g sedangkan panjang gelombang maksimum 452 untuk pelarut dietil eter diperoleh kadar rata-rata β -karoten sampel sebanyak 0,1131 mg/g.

Kata kunci : Buah Jambu biji, β -karoten, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

An investigation of quantitative analyzing of carotenoid in Guava (*Psidium guajava* Linn.) by UV-Vis Spectrophotometry had been carried out. The aim of this research is to analyze the qualitative and the quantitative concentration of this carotenoid in fresh rape *P. guajava* fruit both diethyl aether extract and petroleum aether extract. The fresh rape *P. guajava* fruit was extracted by maseration then partial extraction with diethyl aether and petroleum aether. Than Thin Layer Chromatography used to analyze the quality and quantitative analyze with UV-Vis Spectrofotometry. Quantitative analyze using petroleum eter : benzene (9 : 1) which was compared to pure β -carotene. Either with direct view or light spot of UV 254 nm and also UV 366 nm showed a spot from the sample, the mix between pure β -carotene and sample, and pure β -carotene standard with the same Rf and colors. The measuring of the absorption used UV-Vis Spectrofotometer at maximum wavelength 448 nm for fresh *P. guajava* fruit in petroleum aether have resulted that the average rate of β -carotene was 0,0932 mg/g. While at maximum wavelength 452 nm in diethyl aether have resulted that the average rate of β -carotene was 0,1131 mg/g.

Keyword : Guava, β -carotene, UV-Vis Spectrophotometry

DAFTAR ISI



halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENUNJUK SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian umum Jambu biji	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	4
II.1.2 Nama Daerah	4
II.1.3 Morfologi Tanaman	5
II.1.4 Kandungan Kimia	6
II.1.5 Manfaat Tanaman	6
II.2 Uraian Penyari	6
II.2.1 Dietil Eter	6
II.2.1 Petroleum Eter	7

II.3 Karoten dan Peranannya	7
II.3.1 Uraian Umum Karotenoid	7
II.3.2 Peranan Vitamin A	12
II.4 Spektrofotometri UV-Vis	17
II.4.1 Prinsip Dasar	17
II.4.2 Peralatan Spektrofotometer	21
II.4.3 Penentuan Kadar Secara Spektrofotometer	23
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	24
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan	24
III.2 Penyiapan	24
III.3 Pembuatan Larutan Pereaksi	24
III.3.1 Larutan KOH 15 % dalam Metanol	24
III.3.2 Larutan Fase Gerak (Eluen)	24
III.4 Penyiapan Sampel	25
III.5 Analisis Kualitatif	25
III.6 Analisis Kuantitatif	26
III.6.1 Pembuatan Larutan Baku β -karoten	26
III.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	26
III.6.3 Pembuatan Kurva Baku β -karoten	26
III.6.4 Pengukuran Serapan β -karoten Sampel	27
III.7 Pengumpulan dan Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
IV.1 Hasil	28
IV.2 Pembahasan	29

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis buah <i>P. guajava</i> yang diamati secara langsung dan dengan penampak noda UV 254 dan 366 nm	35
2. Hasil pengukuran larutan baku β -karoten dengan pelarut petroleum eter pada panjang gelombang 448 nm	35
3. Hasil pengukuran larutan baku β -karoten dengan pelarut dietil eter pada panjang gelombang 452 nm	36
4. Hasil pengukuran larutan baku β -karoten sampel buah <i>P. guajava</i> dengan penyari petroleum eter	36
5. Hasil penentuan kadar β -karoten sampel buah <i>P. guajava</i> dengan penyari dietil eter	37
6. Hasil penimbangan bobot tetap sampel buah <i>P. guajava</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kromatografi Lapis Tipis β -karoten sampel dan pembanding yang diamati secara langsung serta dengan penampak noda 254 nm dan 366 nm	38
2. Kurva serapan larutan β -karoten standar dengan pelarut petroleum eter	39
3. Kurva serapan larutan β -karoten standar dengan pelarut dietil eter	39
4. Kurva baku larutan β -karoten standar dengan pelarut petroleum eter pada panjang gelombang 448 nm.....	40
5. Kurva baku larutan β -karoten standar dengan pelarut dietil eter pada panjang gelombang 452 nm.....	40
6. Kurva serapan larutan β -karoten sampel buah <i>P. guajava</i> segar dengan pelarut petroleum eter	41
7. Kurva serapan larutan β -karoten sampel buah <i>P. guajava</i> segar dengan pelarut dietil eter.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Contoh Perhitungan Kadar β -karoten Sampel Secara Spektrofotometri UV-Vis	42
2. Contoh Perhitungan Kadar Air Sampel secara Gravimetri	43
3. Skema Kerja	44
4. Foto Buah Jambu biji (<i>P. guajava</i> L.)	46

BAB I

PENDAHULUAN

Sudah sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia mengenal dan memakai tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapinya, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obat modernnya menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tanaman obat ini, merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman, yang secara turun-temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya termasuk generasi saat ini. Dewasa ini, penelitian dan pengembangan tumbuhan obat baik di dalam maupun di luar negeri berkembang, terutama pada segi farmakologi maupun fitokimianya berdasarkan indikasi tumbuhan obat yang telah digunakan oleh sebagian masyarakat dengan khasiat yang teruji secara empiris. Hasil penelitian tersebut, tentunya lebih memantapkan para pengguna tumbuhan obat akan khasiat maupun kegunaannya (1,2,3).

Vitamin adalah bahan organik yang sebagian besar tidak dapat dibentuk dalam tubuh sebagai tenaga maupun untuk membangun jaringan tubuh. Meskipun digunakan tubuh dalam jumlah sedikit, tetapi tidak ada golongan gizi lain yang dapat menggantikannya. Peranan yang sebenarnya dari beberapa vitamin tidak diketahui, tetapi vitamin-vitamin bekerja satu sama lain atau dengan zat gizi lainnya dalam memperlancar fungsi tubuh secara normal. Sebagian besar fungsi tersebut dikaitkan

dengan tindakannya sebagai enzim pembantu dalam metabolisme zat gizi lainnya dan dalam melepaskan energi. Vitamin A termasuk vitamin yang larut lemak dalam bentuk retinol atau sebagai provitamin (pendahulu) dalam zat warna karotenoid tanaman. Provitamin A biasanya dalam bentuk betakaroten ditemukan dalam jenis sayuran yang berwarna dan buah-buahan yang berwarna seperti aprikot, mangga, jambu, pepaya dan persimon. Betakaroten (*carotaben*) sebagai provitamin A terpenting juga diperoleh dari Algae laut *Dunaliella salina* yang membentuknya dalam jumlah besar. Berkhasiat antioksidan spesifik untuk menetralkan oksigen singlet reaktif dan mencegah pembentukan radikal-peroxyl akibat peroksidasi lipida. Juga berperan pada komunikasi intraseluler. Betakaroten terbagi menjadi dua yaitu betakaroten alamiah dan betakaroten sintetis (4,5,6).

Vitamin A digunakan secara generik untuk turunan-turunan semua β -ionon selain karotenoid, yang menunjukkan aktivitas biologis *all-trans* retinol. Karotenoid provitamin A mengandung paling sedikit satu cincin β -ionon yang tidak disubstitusi. Karotenoid provitamin A diubah menjadi vitamin A oleh enzim-enzim 15-15' karotenoid deoksigenase dalam mukosa usus pada berbagai efisiensi. Karotenoid-karotenoid itu mampu dipecah oleh sistem deoksigenase seluler yang diubah sebagian menjadi retinal yang lebih lanjut berkurang menjadi retinol dan kemudian diesterifikasi. Ester-ester retinol yang merupakan komponen dari kilomikron ini melewati sistem limfatik menuju hati, dimana pada sel-sel

parenkim hati ini terjadi hidrolisis. Retinol seluler dalam bentuk Retinol Binding protein (RBP) ketika cukup disuplai akan diesterifikasi kembali oleh acyl donor, sebagian besar berupa palmitoyl-CoA, stearyl-CoA dan oleyl-CoA yang disimpan dalam suatu lipoglikoprotein kompleks (7,8).

Menurut penelitian-penelitian yang pernah dilakukan umumnya tanaman jambu biji memiliki khasiat sebagai anti diare, anti inflamasi, anti mutagenik, antimikroba dan analgesik. Beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam jambu biji antara lain polifenol, karoten, flavonoid dan tannin. Dengan adanya kandungan senyawa-senyawa itu diperkirakan jambu biji juga mempunyai aktivitas antioksidan yang erat khasiatnya dalam mengobati berbagai penyakit (9,10).

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan penelitian terhadap buah jambu biji dengan tujuan untuk menentukan kadar karotenoid total dalam buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) masak dan segar yang dihitung sebagai betakaroten dengan cara spektrofotometri UV-VIS sehingga dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang adanya kandungan betakaroten di dalamnya yang mempunyai cukup banyak manfaat bagi kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Umum Jambu biji

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (11)

Dunia	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Anak Divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledoneae
Anak kelas	:	Dialypetaiae
Bangsa	:	Myrtales
Suku	:	Myrtaceae
Marga	:	<i>Psidium</i>
Jenis	:	<i>Psidium guajava</i> L.

II.1.2 Nama Daerah (1)

Sumatera	:	Glima breueh, glimeu beru, galiman, masiambu, biawas, jambu biawas, jambu biji.
Jawa	:	Jambu klutuk, bayawas, jambu kutuk, petokal, jhambhu bhender.
Nusa Tenggara	:	Kojobas, sotong, guawa.
Sulawesi	:	Gayawas, boyawat, koyawas, dambu, jambu paratugala, jambu paratukala.

Maluku : kayawase, kejawusu, lainehatu, lutuhatu, gawaya.

II.1.3 Morfologi Tanaman (1,11)

Perdu atau pohon kecil dengan banyak percabangan, tinggi sekitar 2 – 10 m, berasal dari Amerika tropis. Banyak ditanam sebagai pohon buah-buahan, sering tumbuh liar dan terdapat dari dataran rendah sampai 1200 m di atas permukaan laut yang tumbuh pada tanah yang gembur maupun liat, di tempat terbuka dan banyak air.

Batangnya keras, kulit batang permukaannya halus berwarna coklat dan mudah terkelupas. Daun muda berambut halus, daun yang tua permukaan atasnya menjadi licin. Bentuk daun bulat telur agak menjorong, atau agak bundar sampai meruncing, dengan panjang 6 – 14 cm, lebar 3 – 6 cm, bertangkai pendek sekitar 3 mm – 7 mm. Tepi daun rata agak melengkung ke atas, bertulang menyirip, warnanya hijau, letak berhadapan. Bunga keluar dari ketiak daun, 1 – 3 bunga, berwarna putih, bertangkai 2 cm – 4 cm.

Buahnya buah buni, bulat sampai bulat telur terbalik, berwarna hijau kekuningan. Daging buahnya putih kekuningan atau merah jambu. Bijinya kecil-kecil, keras, banyak banyak. Perbanyak dengan biji, okulasi dan tunas yang berakar.

II.1.4 Kandungan Kimia (1,12)

Daun	: Tannin, minyak atsiri (eugenol), minyak lemak, damar 3 %, zat samak, triterpenoid, asam apfel, zat samak 90 % dan Ca-oxalat.
Buah	: Asam amino (triptofan, lisin), kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin A, B ₁ dan C.
Kulit	: Zat samak 30 %.

II.1.5 Manfaat Tanaman

Buah jambu biji memiliki rasa lebih manis dibanding jambu Bangkok. Buah jambu biji merah memiliki khasiat meningkatkan ketahanan tubuh bagi penderita demam berdarah (9).

Akar kulit dan daun (sebagai dekoktum atau infusum) digunakan untuk obat diare, gastro enteritis (disentri menahun) terutama pada anak-anak), obat sariawan, sebagai stiptikum, maupun sebagai adstrigen. Selain itu, jambu biji juga mempunyai khasiat sebagai anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik (9,12).

II.2 Uraian Penyari

II.2.1 Dietil Eter (13, 14, 15)

Pemerian	: Cairan transparan, tidak berwarna, bau khas, rasa manis dan membakar. Sangat mudah menguap, sangat mudah terbakar, campuran uapnya dengan oksigen, udara
----------	--

atau dinitrogenoksida pada kadar tertentu dapat meledak.

Bobot Jenis : Antara 0,714 dan 0,718

Tetapan Dielektrik (ϵ): Kira-kira 20

II.2.2 Petroleum Eter (14, 15)

Pemerian : Tidak berwarna, mudah menguap, sangat mudah terbakar, diperoleh dari minyak tanah, terdiri dari campuran hidrokarbon parafin rendah.

Bobot Jenis : Tersedia dalam fraksi berikut :

- jarak didih 30° - 40°, bobot jenis = 0,63
- jarak didih 40° - 60°, bobot jenis = 0,64
- jarak didih 50° - 70°, bobot jenis = 0,66
- jarak didih 60° - 80°, bobot jenis = 0,67
- jarak didih 80° - 100°, bobot jenis = 0,70
- jarak didih 100° - 120°, bobot jenis = 0,72
- jarak didih 120° - 160°, bobot jenis = 0,75

Tetapan Dielektrik (ϵ): Kira-kira 5

II.3 Karoten dan Peranannya

II.3.1 Uraian Umum Karotenoid

Aktivitas biologis vitamin A bagi manusia dan hewan, terdapat pada senyawa alami maupun sintetik. Senyawa dengan aktivitas vitamin A yang

terdapat dalam tanaman, termasuk dalam kelompok karotenoid akan diubah menjadi vitamin A pada proses metabolisme tubuh setelah dikonsumsi oleh manusia atau hewan. Di dalam tubuh hewan, vitamin A paling banyak disimpan di dalam hati dalam bentuk alkohol atau ester (5).

Ternyata tidak semua karoten merupakan prekursor vitamin A. Hanya karotenoid yang mengandung gelang beta ionon yang dapat diubah menjadi vitamin A. Karotenoid yang merupakan prekursor vitamin A disebut sebagai provitamin A, sedangkan vitamin A yang disimpan dalam jaringan hewan disebut sebagai vitamin A. Semua prekursor vitamin A merupakan zat organik yang berwarna kuning, oranye, merah. Dalam tumbuhan yang berwarna demikian besar kemungkinan terdapat provitamin A. Sering juga warna karotenoid ini ditutupi oleh warna hijau yang disebabkan oleh klorofil. Klorofil dan karotenoid ini terdapat bersamaan dalam organel kloroplas karena ada hubungan fungsional dalam proses fotosintesa. Dalam praktek dapat disimpulkan bahwa semakin hijau warna tumbuhan, semakin tinggi pula kadar provitamin A yang dikandungnya (5,16).

Karotenoid di alam sebagian besar berupa hidrokarbon yang larut dalam air dan lemak, serta berkaitan dengan senyawa yang strukturnya menyerupai lemak. Selain itu terdapat pula kompleks karoten yang kemungkinan berada di dalam larutan aquous. Hal ini mungkin disebabkan karena karotenoid terdapat dalam lokasi yang terhindar terhadap oksigen dalam bahan pangan, misalnya dalam bentuk dispersi

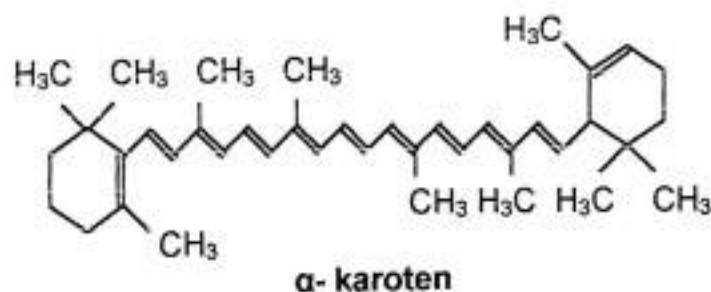
koloid dalam media lemak atau dalam bentuk kompleks dengan protein (5).

Vitamin A dalam diet manusia sebagian besar berasal dari vitamin A retinol dan provitamin A karotenoid. Biosintesis vitamin A dari provitamin A seperti β -karoten sebagian besar terjadi pada mukosa usus dengan pembelahan simetrik (symmetrical fission) dan atau oksidasi terminal absorpsi (penyerapan) untuk membentuk retinal yang kemudian direduksi menjadi retinol dan diangkut ke dalam hati untuk disimpan (5).

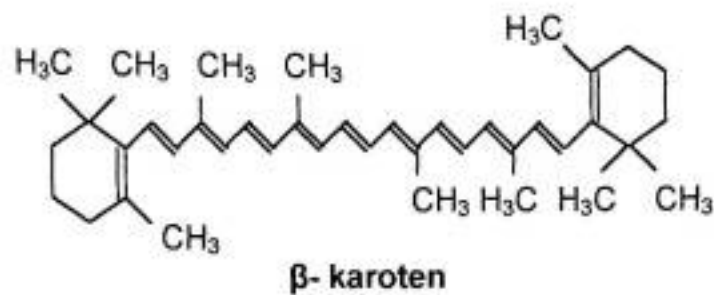
Dewasa ini telah dikenal 10 jenis provitamin A yang terdapat di alam, yaitu α -, β -, γ - karoten, kriptostantin, ekhinenon, mixoxantin, leproten, aphanisin dan β -apo-8'-karotenal. Di samping itu diduga masih terdapat provitamin A lain yang belum ditemukan pada saat ini. Semua provitamin A mempunyai persamaan pada bagian tengah struktur kimianya yang berupa rantai alifatik simetris yang terdiri dari 18 atom karbon dan memiliki ikatan rangkap secara kontinyu. Rantai karbon alifatik tersebut mengandung 4 gugus metil. Perbedaan antara satu provitamin A dengan yang lainnya terletak pada struktur cincin yang terdapat di kedua sisi rantai alifatik tersebut. β -karoten mempunyai 2 struktur cincin β -ionon (Δ^5 -1, 1, 5- trimetil-sikloheksan). α - karoten mempunyai 1 struktur cincin β -ionon dan disisi lainnya terdapat struktur α - ionon (ikatan rangkap pada posisi 4 dan 5). γ - karoten pada satu sisi tidak mempunyai struktur cincin tetapi memiliki jumlah atom karbon yang sama dengan provitamin A lainnya (5).

Provitamin A sangat sensitif terhadap oksidasi, onto-oksidasi dan cahaya, tetapi stabil terhadap panas dalam atmosfer inert (bebas O_2). Vitamin A dan provitaminnya juga mudah rusak oleh penyinaran ultraviolet. α -karoten merupakan satu-satunya provitamin A yang mempunyai aktivitas optik karena memiliki suatu atom karbon asimetris (5,16).

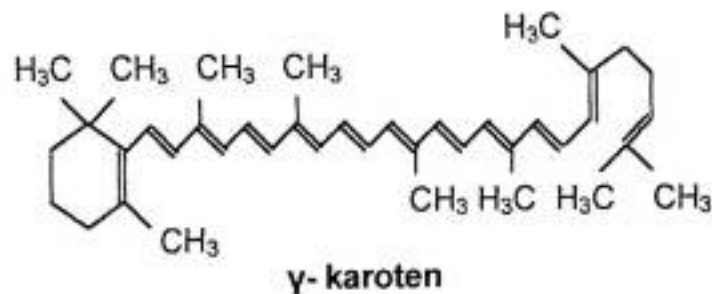
α -karoten adalah provitamin A yang mempunyai keaktifan setengah dari β -karoten. Merupakan kristal prisma berwarna ungu, titik lebur $187,50^\circ C$, mudah larut dalam karbon disulfida, kloroform, larut dalam eter dan benzene, sedikit larut dalam alkohol. Praktis tidak larut dalam air, asam dan alkali (17).



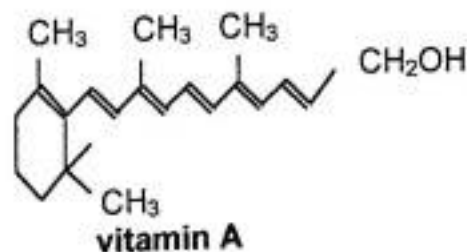
β -karoten merupakan provitamin A yang terpenting, tersebar luas dalam tumbuhan dan hewan. Kristal berwarna merah, titik lebur $183^\circ C$, larut dalam benzene, kloroform, eter, petroleum eter dan minyak-minyak, praktis tidak larut dalam air, asam dan basa. Larutannya berwarna kuning, mengabsorpsi oksigen dari udara yang mempercepat terjadinya produk yang tidak aktif. Kristal β -karoten komersial mempunyai aktivitas vitamin A 1,67 juta UI pergram, $0,6 \mu g$ (1 UI) β -karoten ekuivalen dengan $0,3 \mu g$ vitamin A (17).



γ-karoten juga mempunyai aktivitas vitamin A, tetapi jumlahnya sedikit dalam tumbuh-tumbuhan, banyak terdapat pada *Penicillium scletiorum*. Kristalnya berwarna merah, titik leburnya 177,5° C. Kelarutannya lebih kecil dibandingkan dengan β-karoten (17).



Karoten-karoten tersebut berperan sebagai prekursor terhadap vitamin A, dan masing-masing dapat dikonversikan menjadi vitamin A oleh enzim dalam hati. Pada konversi ini, 1 molekul β-karoten menghasilkan 2 molekul vitamin A, α- dan γ- karoten hanya menghasilkan 1 molekul saja. Adapun struktur vitamin A tersebut adalah:



Semua jenis-jenis provitamin A mempunyai kelarutan yang sama, yaitu larut dalam kloroform, karbon disulfida (CS₂) dan benzena, tetapi

agak sukar larut dalam petroleum eter dan tidak larut dalam alkohol. Kriptostantin karena memiliki gugus hidroksil dalam molekulnya, bersifat agak larut dalam alkohol. Semua provitamin A larut dalam lemak (5).

II.3.2 Peranan Vitamin A

Fungsi vitamin A di dalam tubuh yaitu dalam proses melihat, dalam metabolisme umum protein dan dalam proses reproduksi. Dari semua anggota homolog vitamin A ternyata vitamin A asam (retinoic acid) tidak dapat berfungsi dalam proses melihat dan proses reproduksi. Hanya dalam proses metabolisme umum protein, vitamin A asam mempunyai aktivitas biologis. Tubuh tidak dapat mengubah vitamin A asam menjadi homolog lainnya, sedangkan homolog vitamin A dapat diubah menjadi vitamin A acid (16)

Peranan vitamin A yang paling utama adalah dalam penglihatan. Fungsi vitamin A di dalam mata dapat dibedakan dua jenis yaitu fungsi dalam jaringan mata yang dapat dipenuhi oleh semua homolog vitamin A, termasuk asam vitamin A dan fungsi dalam proses melihat yang dapat dipenuhi oleh asam vitamin A (vitamin A acid) (16).

Proses melihat yang dipengaruhi oleh vitamin A ialah penglihatan cahaya lemah (dim light), yang dilakukan oleh batang (rods) yang terdapat di dalam jaringan retina. Fungsi melihat warna dilakukan pada intensitas cahaya kuat, dilaksanakan oleh kerucut (cones) yang terdapat pada daerah macula lutea. Di dalam batang terdapat zat protein untuk proses melihat cahaya lemah yang disebut rhodopsin (visual purple), terdiri atas

opsin (bagian protein) dan retinen (bagian non-protein). Retinen ini adalah vitamin A aldehyd (retinal) yang terdapat sebagai bentuk isomer 11-*cis retinal*. Bentuk ini diubah oleh suatu penyerapan seberkas cahaya menjadi bentuk *all-trans* yang pada akhirnya memetik pembentukan perubahan konformasi lain dari protein. Hanya sekitar satu persen dari seluruh vitamin A di dalam tubuh yang berfungsi di dalam rhodopsin (7,16).

Kelainan fungsional karena kekurangan vitamin A yang dini pada mata ialah *hemeralopia* (*nyctalopia*) yang sehari-hari disebut buta senja (buta ayam). Kelainan ini disebabkan oleh penurunan kesanggupan adaptasi mata terhadap cahaya remang-remang setelah lebih dahulu dikenai cahaya berintensitas kuat. Gejala-gejala defisiensi vitamin A yang mengenai mata disebut *xerophthalmia* yang dapat dibedakan menjadi fase *xerosis* dan fase *keratomalacia*. Kelainan-kelainan yang terjadi yaitu kekeringan pada epitel conjunctiva bulbi (*xerosis conjunctivae*) dan kekeringan pada kornea (*xerosis corneae*) (16).

Fungsi vitamin A yang terbanyak di dalam tubuh adalah dalam metabolisme protein. Fungsi ini dapat dipenuhi oleh semua bentuk vitamin A termasuk Asam vitamin A (retinoic acid). Peranannya antara lain dalam pertumbuhan dan pembedaan (diferensiasi) sedikit diketahui. Dua hipotesis utama adalah bahwa vitamin A ikut serta dalam sintesis glikoprotein khusus yang mengontrol pembedaan sel dan bahwa vitamin A yang terikat pada PPRS secara langsung ikut serta dalam mengontrol

ekspresi gen. Dalam hipotesis pertama, enzim retinil fosfomanosa memindahkan manosa secara spesifik pada kelompok N-glikosidik glikoprotein yang terpilih. Banyak kenyataan terlihat untuk hipotesis ini yaitu bahwa sintesis glikoprotein turun secara nyata pada hewan yang kekurangan vitamin A, lekatan antarsel yang semuanya kelihatannya mengikutsertakan glikoprotein dipengaruhi oleh berbagai retinoid, serta penambahan vitamin A atau analognya pada jaringan yang diisolasi dari hewan yang kekurangan vitamin A, secara nyata menstimulasi sintesis glikoprotein (7).

Vitamin A diperlukan pula pada sintesa mucopolysaccharide, yaitu komponen dari lendir dan matrix atau bahan dasar jaringan-jaringan nonseluler. Vitamin ini dilaporkan memegang peranan dalam inkorporasi zat belerang (S) ke dalam struktur mucopolysaccharide. Telah diperlihatkan bahwa vitamin A berperan dalam permeabilitas membran sel, baik membran yang terdapat meliputi seluruh sel, maupun membran struktural yang membentuk organel di dalam sel itu seperti mitokondria, lisosom, sistem retikulum dan sebagainya. Dikemukakan bahwa vitamin A mengatur derajat permeabilitas struktur membran ini terhadap berbagai nutrient. Defisiensi vitamin A dapat memberikan disorganisasi dalam struktur membran dari sel-sel ini (16).

Pertumbuhan bakal gigi juga mengalami gangguan pada defisiensi vitamin A yaitu terganggunya fungsi ameloblast yang merupakan sel penghasil email. Dilaporkan juga bahwa vitamin A diperlukan dalam

mekanisme pembentukan hormon steroid. Hormon ini berkurang pada defisiensi vitamin A dan kembali menjadi normal konsentrasinya bila ditambahkan vitamin A. Hormon-hormon steroid ini ada sejumlah tertentu yang berpengaruh mengatur fungsi yang berhubungan dengan reproduksi serta keseimbangan mineral dan air di dalam tubuh (16).

Vitamin A, khususnya dalam dosis tinggi efektif dalam penyembuhan banyak kelainan-kelainan kulit. Analog-analog aktif vitamin A termasuk asam retinoat dan beberapa dari kelompok retinoid. Meskipun demikian, hal yang pasti tentang bagaimana vitamin A menyembuhkan kelainan-kelainan yang cenderung menimbulkan kulit menjadi bersisik atau terjadinya pengerakan (keratinasi) masih belum jelas. Dalam abad akhir ini, vitamin A dan banyak retinoid telah juga diuji terhadap berbagai jenis kanker. Meskipun aksi retinoid yang paling utama adalah dalam pencegahan neoplasia (pertumbuhan abnormal yang ditandai dengan pembentukan daging tumbuh), sebagian retinoid aktif terhadap tumor-tumor yang ditransplantasi. Apakah karotenoid dan retinoid, pada tahap fisiologis aktif dalam pencegahan kanker manusia, adalah merupakan salah satu dari banyak spekulasi dan penelitian-penelitian yang sedang berlangsung. Sekarang ini perhatian sedang diarahkan pada kemungkinan penggunaan retinoid secara klinis dan dalam mekanismenya. Vitamin A bekerja secara sinergis dengan beberapa karotenoid, vitamin-vitamin lain seperti C,D, dan E, mineral dan

antioksidan lain untuk menurunkan tingkat kanker dan untuk meningkatkan kemungkinan umur yang lebih panjang (7,19).

Kandungan vitamin A sering dinyatakan dalam Satuan Internasional/S.I (International Unit/I.U). Satu SI setara dengan 0,344 μg vitamin A asetat kristal atau 0,300 μg vitamin A alcohol atau 0,600 μg β -karoten. Dosis harian yang dianjurkan untuk vitamin A oleh *National Research Council Food and nutrition Board* ialah 5000 SI untuk orang dewasa. Sumber lain menyatakan kebutuhan manusia sekitar 1 μg /hari. Kondisi pertumbuhan yang cepat, kehamilan atau laktasi meningkatkan kebutuhan vitamin A. Keracunan vitamin A dapat terjadi pada manusia dalam dosis sepuluh kali lipat dari jumlah kebutuhan yang seharusnya jika berlangsung dalam beberapa bulan. Gejala-gejala yang timbul karenanya biasanya adalah terdapatnya tumor otak semu (*Pseudo-brain tumor*) (7,18,19).

Organisasi Pertanian dan Makanan (FAO) dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), Perserikatan Bangsa-Bangsa dan *National Academy of sciences* Amerika serikat (1974A) menyarankan aktifitas vitamin A dilaporkan sebagai bobot setara retinol. Untuk menghitung kesetaraan retinol total, diusulkan agar analisis makanan menguraikan retinol, karoten dan karotenoid provitamin A lainnya secara terpisah. Kita juga perlu membedakan antara bentuk *-cis* dan bentuk *-trans* provitamin dalam sayur yang dimasak. Menurut definisi, kesetaraan retinol sama dengan 1 μg retinol atau 6 μg β -karoten atau 12 μg karotenoid provitamin

A lain. Dalam Satuan Internasional, laporan *National Academy of Science* Amerika Serikat (1974A) menyatakan bahwa 1 kesetaraan retinol sama dengan 3,3 SI retinol atau 10 SI β -karoten (18).

II.4 Spektrofotometri UV-VIS

II.4.1 Prinsip Dasar

Metode-metode yang tergolong spektrofotometri didasarkan pada interaksi antara zat kimia dengan energi, biasanya energi cahaya. Metode spektrofotometri sinar tampak (visible) berdasarkan pada penyerapan sinar tampak oleh suatu larutan berwarna. Hanya larutan senyawa berwarna yang dapat ditentukan dengan metode ini. Senyawa tak berwarna dapat dibuat berwarna dengan mereaksikannya dengan pereaksi yang menghasilkan senyawa berwarna. Konsentrasi larutan berwarna diukur dengan melihat absorbansi sinar. Jadi pada daerah tampak konsentrasi dapat ditentukan dengan tiga teknik, yaitu kolorimetri atau kolorimetri visual, fotometri dan spektrofotometri. Lazimnya, kolorimetri dilakukan dengan membandingkan larutan standar dengan cuplikan yang dibuat pada keadaan yang sama dengan menggunakan tabung Nessler atau kolorimeter Dubosq. Dengan kolorimetri elektronik (canggih) jumlah cahaya yang diserap (A) berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Teknik spektrofotometri dapat digunakan untuk mengukur absorbansi dalam daerah tampak dan UV sedangkan

kolorimetri dan fotometri terbatas hanya pada pengukuran daerah tampak (20,21).

Pada metode spektrofotometri UV (Ultra violet=Ultra Ungu) cahaya yang diserap bukan cahaya tampak tapi cahaya UV. Dengan cara ini larutan tak berwarna dapat diukur. Seperti pada spektrofotometri sinar tampak, dalam spektrofotometri UV ini, energi cahaya terserap digunakan untuk transisi elektron (elektronik transition). Energi UV dapat menyebabkan transisi elektron σ atau π karena energi cahaya UV lebih besar dari energi cahaya tampak (20).

Pengukuran absorbansi atau transmitansi dalam spektroskopi UV dan daerah tampak digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif spesies kimia. Absorbansi spesies ini berlangsung dalam dua tahap, yang pertama yaitu $M + h\nu = M^*$, merupakan eksitasi spesies akibat absorpsi foton ($h\nu$) dengan waktu hidup terbatas ($10^{-9} - 10^{-8}$ detik). Tahap kedua adalah relaksasi dengan berubahnya M^* menjadi spesies baru dengan reaksi fitokimia. Puncak absorpsi (λ_{maks}) dapat dihubungkan dengan jenis ikatan-ikatan yang ada dalam spesies. Spektroskopi absorpsi berguna untuk mengkaraktisasikan gugus fungsi dalam suatu molekul dan untuk analisis kuantitatif. Spesies yang mengabsorpsi dapat melakukan transisi yang meliputi elektron π , σ , n , elektron-elektron d dan f serta transfer muatan elektron (21).

Jenis transisi yang meliputi elektron π , σ dan n -elektron terjadi pada molekul-molekul organik dan sebagian kecil anion anorganik.

Molekul tersebut mengabsorpsi radiasi elektromagnetik karena adanya elektron valensi yang akan tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Absorpsi terjadi dalam daerah UV vakum (< 185 nm), sedangkan kromofor dengan energi eksitasi yang rendah mempunyai daerah absorpsi di atas 180 nm. Elektron dari molekul organik yang mengabsorpsi meliputi elektron yang digunakan pada ikatan antara atom-atom dan elektron nonbonding atau elektron tidak berpasangan yang pada umumnya terlokalisasi. Transisi elektronik pada tingkat-tingkat energi terjadi dengan mengabsorpsi radiasi sehingga menyebabkan terjadi transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$, dimana σ^* dan π^* adalah orbital atom anti-ikatan sedangkan n merupakan orbital tidak berikatan yang mempunyai energi di antara orbital ikat dan anti-ikatan. Jadi, pada transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ elektron pada suatu orbital ikat σ tereksitasi ke orbital anti-ikat σ^* , dengan mengabsorpsi radiasi (21).

Unsur-unsur blok d menabsorpsi pada daerah UV dan daerah tampak. Terjadinya transisi logam golongan f disebabkan karena elektron-elektron pada orbital f . Unsur-unsur transisi dalam, mempunyai puncak yang sempit karena interaksi elektron-elektron $4f$ ataupun $5f$, misalnya pada unsur lantanida dan aktinida. Pita-pita yang sempit teramati karena adanya efek *screening* (pelindung) orbital dalam dari pengaruh luar. Sebaliknya untuk transisi $3d$ dan $4d$ mempunyai pita yang lebar dan umumnya terdeteksi dalam daerah tampak, puncak-puncak absorpsi tersebut dipengaruhi oleh lingkungan yang mengelilinginya. Sifat spektrum

dari logam transisi meliputi transisi elektronik antara tingkat-tingkat energi yang berbeda pada orbital d (21).

Spektrum absorpsi transfer muatan (harga $\epsilon > 10000$) merupakan cara yang peka untuk menentukan spesies absorpsi. Kompleks-kompleks yang meliputi absorpsi muatan ini harus terdiri dari elektron donor dan elektron akseptor sehingga transfer elektron dapat terjadi dan menghasilkan absorpsi radiasi. Secara umum kompleks tersebut mengabsorpsi pada h yang lebih panjang, karena bertambahnya transfer elektron memerlukan energi radiasi yang lebih kecil. Pada semua kompleks transfer muatan, logam bertindak sebagai akseptor elektron (21).

Analisis dengan prinsip penyerapan sinar UV kebanyakan digunakan untuk menganalisis kadar vitamin-vitamin, bahan-bahan biokimia dan komponen-komponen aromatik. Pada UV umumnya satuan panjang gelombang dinyatakan dalam milli mikron ($m\mu$) dan satuan dari frekuensi dinyatakan dalam Fresnel (f) dengan vibrasi 10^{12} per detik. Nilai visibel pada panjang gelombang 400 $m\mu$ setara dengan 750 f dan nilai UV pada panjang gelombang 200 $m\mu$ setara dengan 1500 f (22).

Suatu senyawa akan berwarna dengan konjugasi yang cukup, contohnya licopen yang memberi warna merah pada tomat mempunyai sebelas ikatan rangkap terkonjugasi, juga vitamin = A = retinol = dan β -karoten merupakan polimer dengan satu kromofor yang terdiri dari 5 atau 11 ikatan rangkap terkonyugasi. Retinol mengabsorpsi pada 325 nm

dari logam transisi meliputi transisi elektronik antara tingkat-tingkat energi yang berbeda pada orbital d (21).

Spektrum absorpsi transfer muatan (harga $\epsilon > 10000$) merupakan cara yang peka untuk menentukan spesies absorpsi. Kompleks-kompleks yang meliputi absorpsi muatan ini harus terdiri dari elektron donor dan elektron akseptor sehingga transfer elektron dapat terjadi dan menghasilkan absorpsi radiasi. Secara umum kompleks tersebut mengabsorpsi pada h yang lebih panjang, karena bertambahnya transfer elektron memerlukan energi radiasi yang lebih kecil. Pada semua kompleks transfer muatan, logam bertindak sebagai akseptor elektron (21).

Analisis dengan prinsip penyerapan sinar UV kebanyakan digunakan untuk menganalisis kadar vitamin-vitamin, bahan-bahan biokimia dan komponen-komponen aromatik. Pada UV umumnya satuan panjang gelombang dinyatakan dalam milli mikron ($m\mu$) dan satuan dari frekuensi dinyatakan dalam Fresnel (f) dengan vibrasi 10^{12} per detik. Nilai visibel pada panjang gelombang 400 $m\mu$ setara dengan 750 f dan nilai UV pada panjang gelombang 200 $m\mu$ setara dengan 1500 f (22).

Suatu senyawa akan berwarna dengan konjugasi yang cukup, contohnya licopen yang memberi warna merah pada tomat mempunyai sebelas ikatan rangkap terkonjugasi, juga vitamin - A - retinol - dan β -karoten merupakan polimer dengan satu kromofor yang terdiri dari 5 atau 11 ikatan rangkap terkonyugasi. Retinol mengabsorpsi pada 325 nm

dalam daerah UV, β -karoten mengabsorpsi sinar biru pada 451 nm dan berwarna jingga (23).

II.4.2 Peralatan Spektrofotometer (21,23,24)

Komponen-komponen pokok spektrofotometer meliputi :

1. Sumber tenaga radiasi

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinyu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang dipelajari. Sumber yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram. Sumber radiasi terlihat dan radiasi infra merah dekat yang biasa digunakan adalah filament tungsten. Filament tungsten menghasilkan radiasi dalam daerah antara 350 nm dan 2500 nm.

2. Monokromator

Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang meragikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggal. Dalam spektrofotometer, radiasi polikromatik diubah menjadi monokromatik. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian ini dapat digunakan celah. Jika celah posisinya tetap, maka prisma atau grating yang dirotasikan untuk mendapatkan panjang gelombang yang

diinginkan. Ada dua tipe prisma yaitu susunan Cornu dan susunan Litrow. Secara umum tipe Cornu menggunakan sudut 60° , sedangkan tipe Litrow menggunakan prisma dimana pada sisinya tegak lurus dengan arah sinar yang berlapis aluminium serta mempunyai sudut optik 30° .

3. Tempat cuplikan atau sel absorpsi

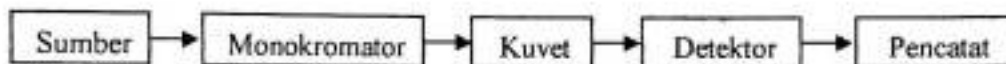
Pada pengukuran di daerah tampak kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvetnya adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi untuk silinder dapat juga digunakan. Kita harus menggunakan kuvet yang bertutup untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan serta eragam keseluruhannya. Sebelum sel dipakai harus dibersihkan dengan air atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan deterjen atau asam nitrat panas.

4. Detektor dan pencatat

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Pada spektrofotometer, tabung pengganda elektron yang digunakan. Dengan kata lain, detektor menyerap tenaga foton yang

mengenai cuplikan dan merubah tenaga tersebut untuk diukur secara kuantitatif seperti sebagai arus listrik atau perubahan-perubahan panas. Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat.

Diagram sederhana spektrofotometer adalah sebagai berikut :



II.4.3 Penentuan Kadar secara Spektrofotometer (25,26)

Ada empat cara analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri yaitu :

1. Membandingkan absorpsi atau transmisi zat yang dianalisis dengan zat murni.
2. Membuat kurva Baku.
3. Memakai sistem ekstingsi spesifik ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$).
4. Memakai nilai ekstingsi molar (ϵ).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

iii.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana KLT (*Pyrex*), labu tentukur 25 ml (*Pyrex*), Rotavapor (*Buchi*), Spektrofotometri UV-Vis (*HP-Diode Array 8452A*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah benzen p.a, buah *P. guajava*, β -karoten murni, dietil eter p.a, kalium hidroksida, metanol p.a, natrium sulfat anhidrat, petroleum eter p.a.

iii.2 Penyiapan

Sampel berupa buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) masak dan segar diambil secara selektif di kota Makassar kemudian dibersihkan dan dipotong kecil-kecil dengan cara disayat-sayat tipis.

III.3 Pembuatan Larutan Pereaksi

III.3.1 Larutan KOH 15 % dalam Metanol

Ditimbang 7,5 gram KOH dengan 25 ml metanol, diaduk hingga larut kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 50 ml.

III.3.2 Larutan Fase Gerak (Eluen)

Dibuat eluen petroleum eter : benzene (9 : 1) sebanyak 30 ml dengan cara mencampur 27 ml petroleum eter dengan 3 ml benzen dalam botol, dikocok hingga homogen.

III.4 Penyarian Sampel (5)

Penyarian sampel yang mengacu pada pustaka :

Sampel segar dalam wadah kaca tahan panas ditimbang masing-masing sebanyak 100 gram dan disari dengan 500 ml metanol secara maserasi.

Sari metanol yang diperoleh dari masing-masing sampel segar diuapkan dengan menggunakan rotavapor dan dicukupkan volumenya menjadi 100 ml.

Masing-masing sari metanol tersebut dipipet 10 ml untuk disari dengan 10 ml petroleum eter dan 10 ml sari metanol lain disari dengan 10 ml dietil eter masing-masing 3 kali.

Hasil penyarian tersebut dikisatkan sampai kurang lebih 5 ml, dan dilakukan saponifikasi dengan menambahkan larutan KOH 15 % dalam metanol sebanyak 5 ml, dikocok dan didiamkan semalam.

Hasil saponifikasi masing-masing disari kembali dengan 10 ml petroleum eter atau dietil eter sesuai cairan penyarian masing-masing, dan dicuci dengan air sampai bebas basa.

Masing-masing hasil penyarian disaring melalui Na_2SO_4 anhidrat ke dalam labu tentukur 25 ml untuk sari dietil eter maupun sari petroleum eter dan dicukupkan volumenya sesuai cairan penyarinya.

III.5 Analisis Kualitatif

Analisis dilakukan secara kromatografi lapis tipis terhadap sampel, pembanding β -karoten murni, dan campuran antara sampel dan

pembanding, ditotolkan pada lempeng KLT yang sama dan dielusi dengan cairan pengelusi petroleum eter : benzene (9 : 1). Noda yang dihasilkan diamati secara langsung dan dengan pengamatan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

III.6 Analisis Kuantitatif

III.6.1 Pembuatan Larutan Baku β -Karoten

Larutan baku dari β -karoten murni dibuat dengan cara ditimbang 50 mg β -karoten murni dan dilarutkan dalam pelarut petroleum eter atau dietil eter sebanyak 100 ml (500 bpj), kemudian secara berturut-turut dipipet sebanyak 400, 500, 600, 700, dan 800 μ l dengan menggunakan pipet mikro dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml dan dicukupkan volumenya dengan petroleum eter atau dietil eter sehingga diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 bpj.

III.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku dengan konsentrasi 30 bpj diukur serapannya pada panjang gelombang antara 400 nm sampai 800 nm. Nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum.

III.6.3 Pembuatan Kurva Baku β -Karoten

Larutan baku dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 bpj diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang

gelombang 448 nm untuk cairan penyari petroleum eter dan 452 nm untuk penyari dietil eter.

III.6.4 Pengukuran Serapan β -Karoten Sampel

Sampel yang telah disari dengan petroleum eter dan dietil eter masing-masing diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yaitu 448 nm untuk cairan penyari dietil eter dan 452 nm untuk penyari dietil eter.

III.7 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil pengukuran dikumpulkan untuk dianalisis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil

Hasil analisis kandungan β -karoten terhadap sampel buah *P. guajava* secara spektrofotometri UV-Vis adalah sebagai berikut :

1. Hasil analisis kualitatif secara Kromatografi Lapis tipis menggunakan cairan pengelusi petroleum eter : benzene (9 : 1) yang dilihat langsung, serta dengan penampak noda UV 254 nm dan 366 nm memperlihatkan masing-masing satu noda yang mempunyai nilai Rf yang sama untuk pembanding β -karoten murni, sampel maupun campuran antara sampel dan pembanding yaitu 0,64 (Hasilnya dapat Dilihat pada Gambar 1).
2. Hasil analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri menggunakan penyari petroleum eter pada panjang gelombang 448 nm diperoleh kadar rata-rata β -karoten dalam buah *P. guajava* segar sebanyak 0,0932 mg/g sampel (Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4).
3. Hasil analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri menggunakan penyari dietil eter pada panjang gelombang 452 nm diperoleh kadar rata-rata β -karoten pada buah *P. guajava* sebanyak 0,1131 mg/g sampel (Hasilnya dapat dilihat pada tabel 5)

IV.2 Pembahasan

Analisis kandungan β -karoten dalam buah *Psidium guajava* yang diperoleh secara acak di kota Makassar dilakukan secara Kromatografi Lapis tipis untuk kualitatif dan secara spektrofotometri UV Vis untuk kuantitatif.

Senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam sampel ditarik dengan cara penyarian menggunakan pelarut tertentu. Metode ekstraksi sampel yang dipilih adalah maserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 5 hari. Metode ini bertujuan untuk meminimalisasi kemungkinan terjadinya kerusakan komponen kimia pada sampel. Setelah dilakukan maserasi, kemudian dilakukan partisi dengan menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan untuk menarik karotenoid dalam sampel adalah dietil eter dan petroleum eter. Kedua pelarut ini dipilih karena β -karoten cukup larut di dalamnya.

Sari petroleum eter dan sari dietil eter yang diperoleh ditambahkan dengan KOH 15 %. Hal ini dilakukan untuk memutuskan ikatan ester dalam senyawa karotenoid dari bahan alam. Sampel yang telah ditambahkan KOH kemudian didiamkan semalaman agar proses penyabunannya lebih baik. Proses selanjutnya adalah sampel dipartisi kembali dengan dietil eter dan petroleum eter. Untuk menghilangkan lapisan sabun yang telah terbentuk, maka sampel terlebih dahulu dicuci dengan aquadest sampai bebas basa. Rantai hidrokarbon yang bersifat hidrofob akan larut dalam petroleum eter maupun dietil eter, sementara

ion sabun yang bersifat hidrofilik akan larut dalam lapisan air. Untuk memperoleh hasil analisis yang baik, maka sebelumnya sampel yang telah bebas basa dihilangkan airnya dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat.

Hasil analisis kualitatif secara kromatografi lapis tipis menggunakan cairan pengelusi petroleum eter : benzen (9 : 1) dengan penampak noda UV 254 nm dan UV 366 nm dan pengamatan secara langsung diperoleh masing-masing satu noda yang berwarna kuning pada visibel dan UV 254 sedangkan pada UV 366 warnanya pudar. Nilai Rf noda pada sampel, pembanding β -karoten murni maupun campuran sampel dengan pembanding β -karoten murni adalah sama yaitu 0,64.

Noda β -karoten tidak tampak jelas pada sinar ultra violet karena senyawa-senyawa karotenoid kecuali fitofluen adalah senyawa polien yang terdiri dari 8 sampai 11 ikatan rangkap terkonyugasi, sehingga memiliki panjang gelombang yang besar dan hanya dapat dideteksi dengan sinar biasa.

Kandungan karoten yang diteliti adalah karotenoid total karena alat spektrofotometri hanya dapat mengukur serapan dari gugus kromofor senyawa dan tidak dapat membedakan bentuk isomer senyawa total karoten yang dinyatakan sebagai β -karoten.

Berdasarkan hasil penelitian kuantitatif dengan metode spektrofotometri sinar tampak (visibel) menggunakan penyari petroleum eter pada panjang gelombang 448 nm diperoleh kadar rata-rata β -karoten

pada buah *P. guajava* segar sebanyak 0,0932 mg/g sampel (Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4). Sedangkan dengan menggunakan penyari dietil eter pada panjang gelombang 452 nm diperoleh kadar rata-rata β -karoten pada buah *P. guajava* segar sebanyak 0,1131 mg/g sampel. Hasil ini menunjukkan bahwa penyarian β -karoten dengan penyari dietil eter menghasilkan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan penyari petroleum eter.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Buah *P. guajava* mengandung β -karoten.
2. Dengan penyari petroleum eter, buah *P. guajava* segar mengandung β -karoten sebanyak 0,0932 mg/g sampel.
3. Dengan penyari dietil eter, buah *P. guajava* segar mengandung β -karoten sebanyak 0,1131 mg/g sampel.
4. Perbedaan cairan penyari menunjukkan adanya perbedaan kadar karotenoid.

V.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai senyawa-senyawa kimia lain dalam buah jambu biji yang mempunyai aktivitas antioksidan.
2. Perlu dilakukan analisis kuantitatif dengan menggunakan instrumen lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wijayakusuma, Hembing. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*. Jilid II. Pustaka Kartini. Jakarta. 9,61-2.
2. Dalimartha, S. 2004. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Trubus Agriwidya. Jakarta. vii, 140-2.
3. Abd Rahman, M.D., & Derus. 1998. *Pengenalan dan Penggunaan Herba Ubatan*. Multi Triple Vision Sdn Bhd. Kuala Lumpur. 21.
4. Suhardjo, dkk. 1992. *Pangan, Gizi dan Pertanian*. UI Press. Jakarta. 71-4.
5. Andarwulan, N., & Koswara, S. 1992. *Kimia Vitamin*. Rajawali Press. Jakarta. 4,171-3, 179-184.
6. Tjay, T.H., Rahardja, K. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Samping*. Elex Media Komputindo. Kelompok Gramedia. Anggota IKAPI. Jakarta. 801-2.
7. Nasoetion, A.K., dkk. 2001. *Vitamin*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 16-9.
8. Burtis C.A., Ashwood E.R. 2001. *Tietz Fundamentals Of Chemical Chemistry*. Fifth Edition. W.B Saunders Company. Philadelphia. 546.
9. Indariani, S. 2006. *Jambu biji berkhasiat sebagai Antioksidan..* Institut Pertanian Bogor. www.ipbc.ac.id/viewNews.php3?no=2, diakses 7 Februari 2006.
10. <http://www.mahkotadewa.com/Indo/in-to/jambu-biji.htm>, diakses 12 Februari 2006.
11. Tjiitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan Tingkat Tinggi..* UGM Press. Yogyakarta. 221-3.
12. Sastroamidjojo. 1997. *Obat Asli Indonesia*. Dian Rakyat. Jakarta. 89.
13. Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 66, 672-3.

14. Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 65-6, 1036, 1154.
15. Martin, A., Swarbrick, J., Cammarata, A. 1990. *Farmasi Fisik, Dasar-Dasar Kimia Fisik dalam Ilmu farmasi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 564.
16. Sediaoetama, D.A. 1987. *Vitaminologi*. Balai Pustaka. Jakarta. 104-112.
17. Budavari, S. 1989. *The Mercks Index and Encyclopedia of Chemical and Biological*. Merck & Co. Publishing. USA. 432-4.
18. Deman, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Edisi II. Penerbit ITB. Bandung. 396-7.
19. Slaga, J.T. 2005. *The Detox Revolution*. PT Buana Ilmu Populer Gramedia. Jakarta. 94-5, 109.
20. Hendayana, S., dkk. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. IKIP Semarang Press. Semarang. 4-5.
21. Khopkar, M.S. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerbit UI-Press. Jakarta. 201-4, 216-7.
22. Harley, H.J., Wiberley, E.S. 1962. *Instrumental Analysis*. John Wiley & Sons Inc New York. London. 49.
23. Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopik*. Penerbit ITB. Bandung. 3.
24. Sastroamidjojo, H. 1985. *Spektroskopi*. Liberty. Jakarta. 22-3.
25. Roth, H., Gottfried B. 1994. *Analisis Farmasi*. UGM Press. Yogyakarta. 367, 374-5.
26. Mulja, M., Syahrani, A. 1990. *Aplikasi Analisis Spektrofotometri UV-Vis*. Mecphiso Grafika. Surabaya. 31.

Tabel 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Buah *P. Guajava* yang Diamati secara Langsung dan dengan Penampak Noda UV 254 nm dan 366 nm

NODA	SAMPEL		
	A	B	C
Rf	0,64	0,64	0,64
Warna			
Visibel UV 254 nm UV 366 nm	Kuning Kuning Pudar	Kuning Kuning Pudar	Kuning Kuning Pudar

Keterangan :

- A = Sampel (buah *P. guajava*) dalam pelarut petroleum eter
 B = pembanding β -karoten murni
 C = campuran sampel dan pembanding β -karoten murni
 Cairan pengelusi = Petroleum Eter : Benzen (9 : 1)
 Penyerap = Silika gel 60 F₂₅₄

Tabel 2. Hasil Pengukuran Larutan Baku β -karoten dengan Pelarut Petroleum Eter pada Panjang Gelombang 448 nm

Konsentrasi (bpj)	Serapan
20	0,1426
25	0,2075
30	0,2401
35	0,2563
40	0,3277

Persamaan Garis Regresi $Y = a + bx$

Dimana : Y adalah serapan

X adalah konsentrasi dalam bpj

Berdasarkan rumus yang tertera pada lampiran A, maka diperoleh nilai :

$$a = -0,0166$$

$$b = 0,0084$$

$$r = 0,9777$$

Maka Persamaan garis regresi yang baru adalah :

$$Y = -0,0166 + 0,0084x$$

Tabel 3. Hasil Pengukuran Larutan Baku β -karoten dengan Pelarut Dietil Eter pada Panjang Gelombang 452 nm

Konsentrasi (bpj)	Serapan
20	0,3582
25	0,4195
30	0,4414
35	0,5450
40	0,7256

Persamaan Garis Regresi $Y = a + bx$

Dimana : Y adalah serapan

X adalah konsentrasi dalam bpj

Berdasarkan rumus yang tertera pada lampiran A, maka diperoleh nilai :

$$a = -0,01824$$

$$b = 0,017206$$

$$r = 0,9447$$

Maka Persamaan garis regresi yang baru adalah :

$$Y = -0,01824 + 0,017206x$$

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar β -karoten Sampel Buah *P. Guajava* dengan Penyari Petroleum Eter

Sampel	Berat Sampei (g)	Serapan	Kadar (mg/g)	Kadar Rata-rata (mg/g)
Segar	100	0,2915	0,0916	0,0932
	100	0,2934	0,0922	
	100	0,3054	0,0958	

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar β -karoten Sampel Buah *P. guajava* dengan Penyari Dietil Eter

Sampel	Berat Sampel (g)	Serapan	Kadar (mg/g)	Kadar Rata-rata (mg/g)
Segar	100	0,3631	0,1108	0,1131
	100	0,3691	0,1125	
	100	0,3809	0,1159	

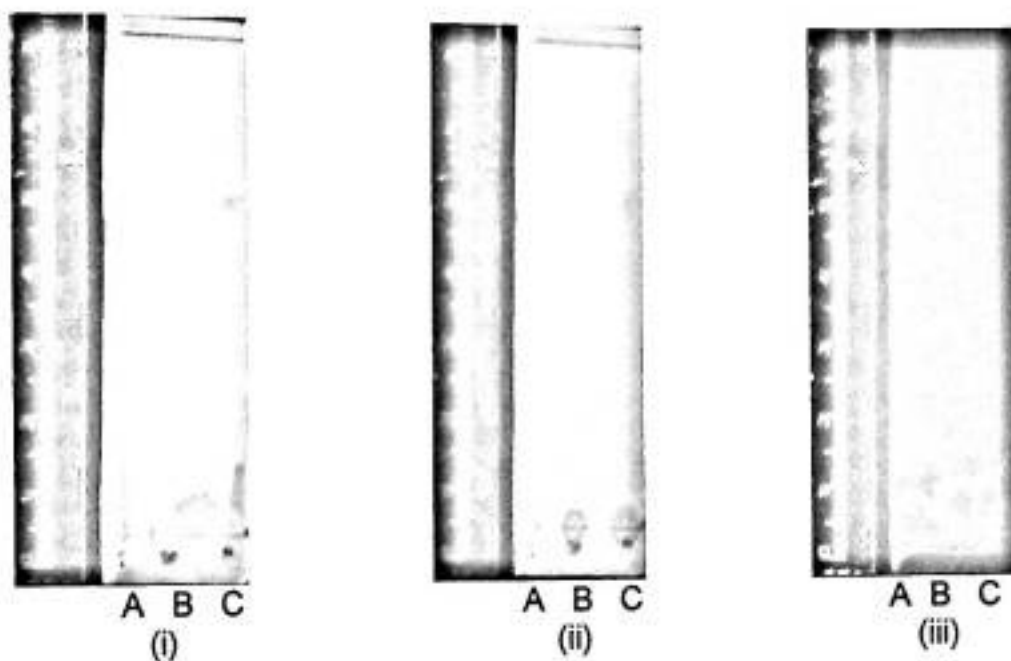
Tabel 6. Hasil Penimbangan Bobot Tetap Sampel Buah *P. guajava*

Penimbangan	SS	SK 100°, 1 jam pertama	SK 100°, 1 jam Kedua
1	50,021 g	7,131	7,133
2	50,013 g	7,124	7,135

Keterangan :

SS : Sampel segar

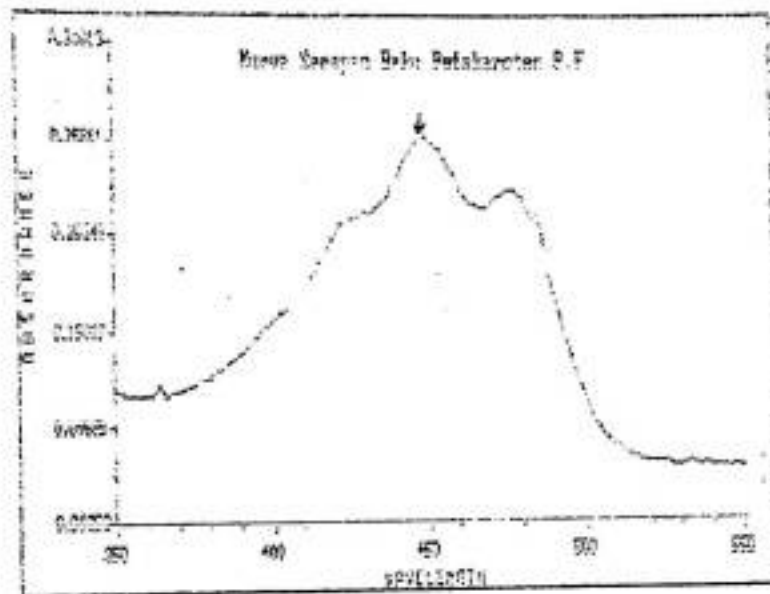
SK : Sampel setelah dikeringkan



Gambar 1. Kromatografi Lapis Tipis β -karoten Sampel dan Perbandingan yang Diamati secara Langsung serta dengan Penampakan Noda 254 nm dan 366 nm.

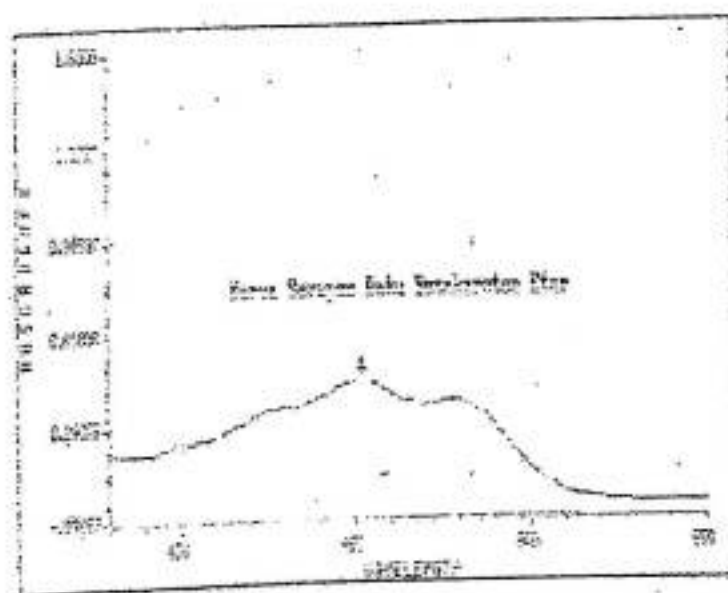
Keterangan :

- | | |
|-----------------|--|
| A | = Sampel |
| B | = Sampel + Perbandingan β -karoten murni |
| C | = Perbandingan β -karoten murni |
| Cairan pelarut | = Petroleum eter : Benzen (9 : 1) |
| Penyerap | = Silika gel 60 F254 |
| Ukuran Lembaran | = 3,5 x 7 cm |
| Penampakan Noda | = (i) Visibel
(ii) UV 254 nm
(iii) UV 366 nm |



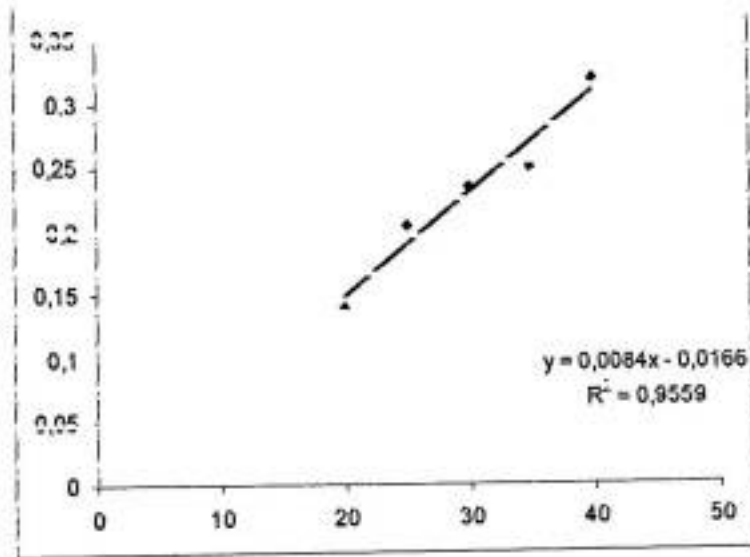
Annotated Wavelengths:
 1 : Wavelength = 452 Result = 0.256287

Gambar 2. Kurva Serapan Larutan β -karoten Standar dengan Pelarut Petroleum Eter.

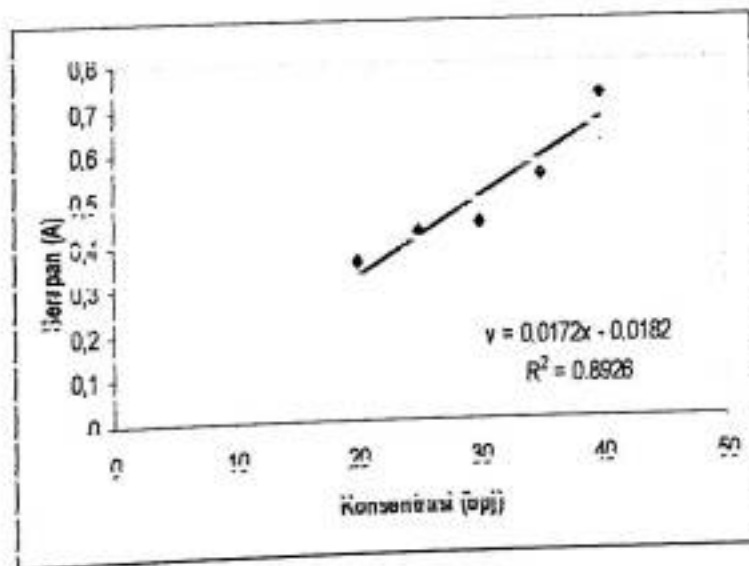


Annotated Wavelengths:
 1 : Wavelength = 452 Result = 0.441361

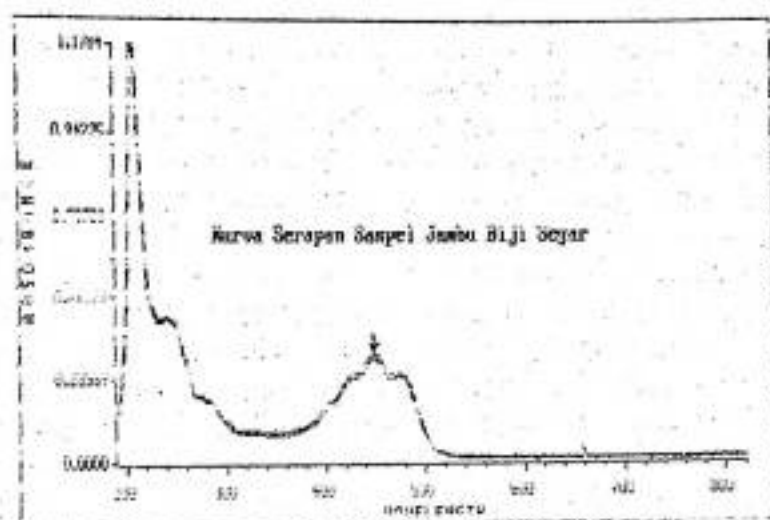
Gambar 3. Kurva Serapan Larutan β -karoten Standar dengan Pelarut Dietil Eter.



Gambar 4. Kurva Baku Larutan β -karoten Standar dengan Pelarut Petroleum Eter pada Panjang Gelombang 448 nm.



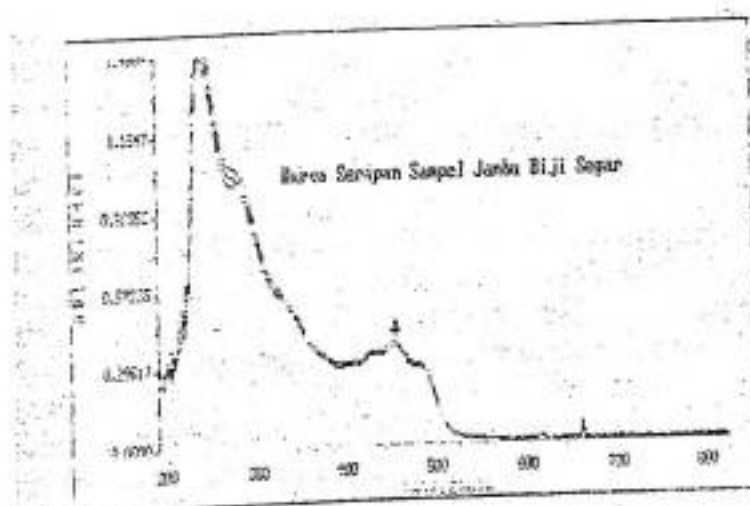
Gambar 5. Kurva Baku Larutan β -karoten Standar dengan Pelarut Dietil Eter pada Panjang Gelombang 452 nm.



Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 448	Result = 0.291550
2 : Wavelength = 482	Result = 0.210471
3 : Wavelength = 448	Result = 0.305496

Gambar 6. Kurva Serapan Larutan β -karoten Sampel Buah *P. guajava* Segar dengan Pelarut Petroleum Eter.



Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 452	Result = 0.363190
2 : Wavelength = 482	Result = 0.301141
3 : Wavelength = 452	Result = 0.380920

Gambar 7. Kurva Serapan Larutan β -karoten Sampel Buah *P. guajava* Segar dengan Pelarut Dietil Eter.

Lampiran 1. Contoh Perhitungan Kadar β -karoten Sampel secara Spektrofotometri UV-Vis

Contoh	= Sampel segar (Petroleum eter) 1
Berat contoh	= 100 g
Serapan	= 0,2915
Faktor pengenceran	= 10
Volume analisis	= 25 ml

Persamaan regresi linear dari larutan baku β -karoten :

$$Y = -0,0166 + 0,0084x$$

$$\text{Sehingga konsentrasi } \beta\text{-karoten dalam larutan (x)} = \frac{0,2915 + 0,0166}{0,0084}$$

$$= 36,6785 \text{ bpj.}$$

$$= 36,6785 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Jadi, kadar } \beta\text{-karoten dalam contoh} = \frac{36,6785 \mu\text{g/ml} \times v \times f_p}{B.c}$$

$$= \frac{36,6785 \mu\text{g/ml} \times 25 \text{ ml} \times 10}{100 \text{ g}}$$

$$= \frac{9169,62 \mu\text{g}}{100 \text{ g}}$$

$$= \frac{9,16925 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

$$= 0,0916 \text{ mg/g}$$

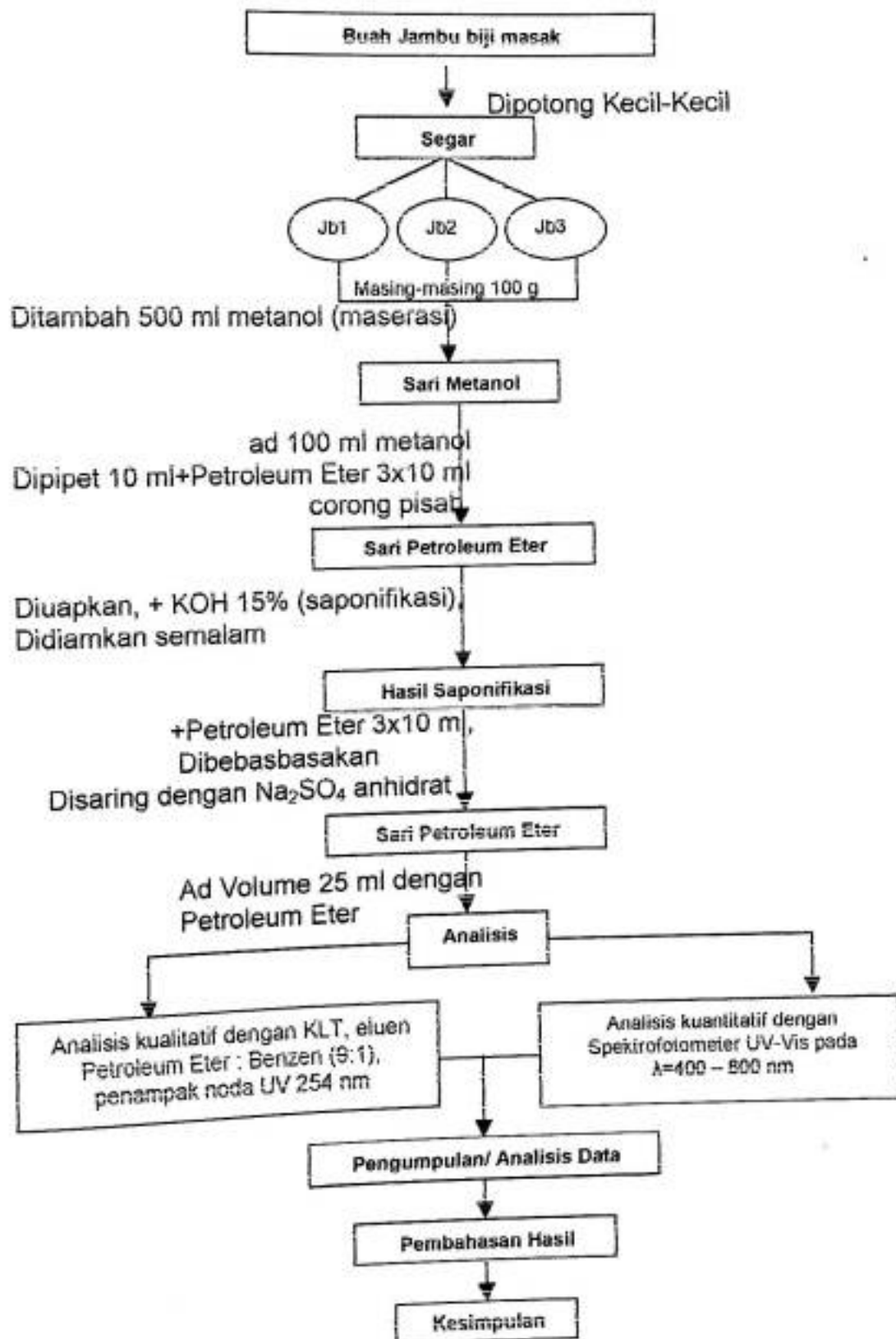
Lampiran 2. Contoh Perhitungan Kadar Air Sampel secara Gravimetri

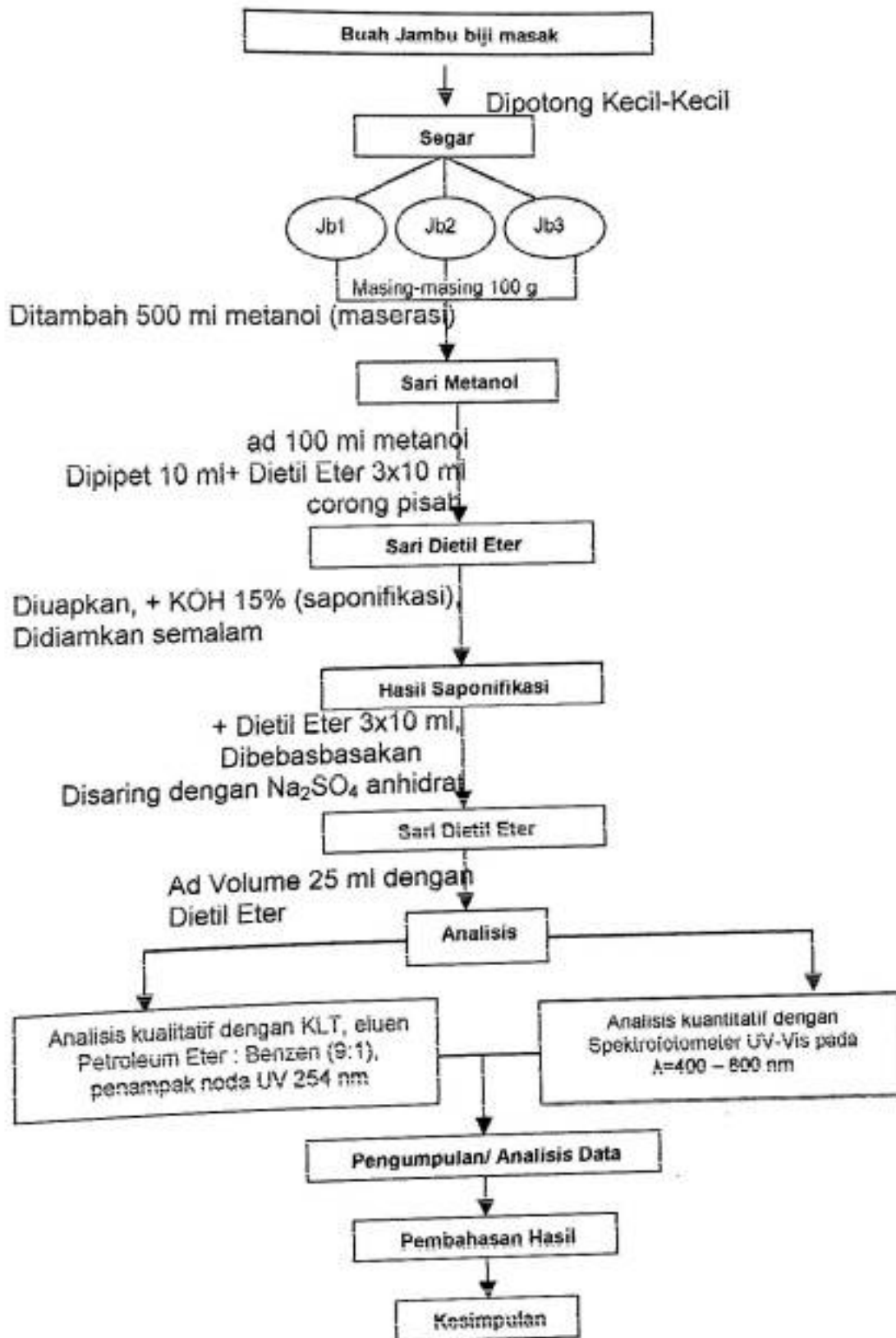
Berat contoh segar (BS) = 50,021 g

Berat contoh yang dikeringkan (BK₁) 100°C = 7,131 g

$$\begin{aligned}\text{Kadar air dalam contoh segar} &= \frac{BS - BK_1}{BS} \times 100\% \\ &= \frac{50,021g - 7,131g}{50,021g} \times 100\% \\ &= \frac{42,89g}{50,021g} \times 100\% \\ &= 0,857439 \times 100 \% \\ &= \mathbf{85,7439 \%}\end{aligned}$$

Lampiran 3. Skema Kerja





* Penentuan Kadar Air secara Gravimetri

Lampiran 4. Foto Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

