

PENETAPAN KADAR β -KAROTEN PADA WORTEL (*Daucus carota*, L) MENTAH DAN WORTEL REBUS DENGAN SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Anita Agustina, Nurul Hidayati, Putri Susanti

Prodi D3 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Klaten, Email: nurulhidayati1983@gmail.com

Abstrak

Wortel (*Daucus carota*, L) merupakan jenis sayuran yang banyak mengandung β -karoten. Dalam tubuh, β -karoten diubah menjadi vitamin A. β -karoten dalam wortel selain dapat memenuhi kebutuhan vitamin A, juga berfungsi sebagai antioksidan dalam mengurangi efek radikal bebas. vitamin A sangat mudah teroksidasi oleh udara dan rusak bila dipanaskan pada suhu tinggi. Akan tetapi, studi mengenai pemasakan terhadap kandungan gizi vitamin A masih sangat terbatas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus. Sampel dalam penelitian ini adalah wortel mentah dan wortel rebus yang diekstraksi dengan heksan:aseton:etanol (2:1:1). Ekstrak yang didapat kemudian dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif menggunakan KLT silika gel 60 F254 dengan fase gerak petroleum eter:benzen (9:1). Analisis kuantitatif dengan spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 451,50 nm. Hasil kualitatif menunjukkan terdapat 1 bercak noda kuning dengan nilai Rf 0,5 pada wortel mentah dan wortel rebus. Hasil analisis kuantitatif menunjukkan kadar rata-rata β -karoten wortel mentah adalah $34,94 \pm 7,810$ % dan pada wortel rebus adalah $23,31 \pm 4,246$ %. Besarnya kadar β -karoten kemudian dianalisis menggunakan uji sample paired t-test dan menunjukkan hasil nilai P value 0,06 ($> 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus.

Kata Kunci: β -karoten; Wortel; Spektrofotometri Visibel.

DETERMINATION OF β -CAROTENE CONCRETE ON RAW CARROTS (*Daucus carota*, L) AND BOILED CARROTS WITH VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

Abstract

Carrots (*Daucus carota*, L) are vegetable plants containing lots of β -carotene. In human body, β -carotene will be converted into vitamin A. β -carotene in carrots, in addition to meet the needs of vitamin A, also serves as an antioxidant. However, studies on the effects of cooking on nutritional content are limited. The objectives of the study were to determinate of β -carotene concrete on raw carrots (*Daucus carota*, L) and boiled carrots. Each sample of 100 grams of carrots (raw and boiled carrots) was extracted with Hexane:Acetone:Ethanol (2:1:1) of 200 mL. The extracts were then analyzed qualitatively and quantitatively. Qualitative analysis used Thin Layer Chromatography with silica gel 60 F254 with petroleum Ether:Benzene (9:1), while Quantitative used Visible Spectrophotometry at wavelength 380–780 nm. Qualitative results showed that between raw carrots and boiled carrots positively contained β -carotene, which was indicated by the same result with the reference standard, namely the presence of 1 yellow stain spots with Rf value of 0.5 cm. The result of quantitative analysis showed that average carotene content of raw carrots was $34.94 \pm 7.810\%$ w/w, while boiled carrots was $23.31 \pm 4.246\%$ w/w. The amount of β -carotene analyzed by paired t-test sample showed the result that P value 0,06 ($> 0,05$), meaning there was no significant difference between β -carotene level in raw and boiled carrots.

Keywords: β -carotene; carrot; visible spectrophotometry

Penulis Korespondensi :

Nurul Hidayati

Prodi D3 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Klaten

Email: nurulhidayati1983@gmail.com

PENDAHULUAN

Vitamin A adalah salah satu zat gizi esensial yang merupakan kelompok senyawa dengan kandungan retinol yang memiliki aktivitas biologi. Vitamin A sangat mudah teroksidasi oleh udara dan rusak bila dipanaskan pada suhu tinggi bersama udara, sinar, dan lemak yang sudah tengik. Pigmen karotenoid (umumnya β -karoten) diperoleh dari buah dan retinil ester diperoleh dari hewan [14]. Karotenoid sangat berperan penting dalam tahapan fotosintesis dalam tanaman serta melindungi klorofil dari foto oksidasi. Karotenoid merupakan senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi bersifat sangat reaktif dan bertindak sebagai penangkal radikal bebas [1]

Sumber vitamin A berasal dari buah dan hewan. Sayur dan buah yang berwarna kuning kemerahan banyak mengandung β -karoten, salah satunya adalah wortel (*Daucus carota*, L). Semakin banyak kandungan β -karoten pada tanaman, maka semakin pekat warna pada buah yang mengarah ke warna kuning kemerahan [12].

Wortel yang masih mentah mempunyai kandungan karoten lebih tinggi dibandingkan dengan wortel yang sudah dimasak, tetapi absorpsi karoten dari wortel yang sudah dimasak lebih mudah dibandingkan dengan wortel mentah. Dinding sel wortel mentah bersifat keras sehingga tubuh hanya mampu mengkonversi < 25% β -karoten menjadi vitamin A. Proses pengolahan makanan dengan memasak merupakan proses melarutkan selulosa dari dinding sel dengan cara memecah membran sel [8]. Perebusan merupakan salah satu proses memasak dengan teknik pemanasan secara langsung yang dapat meningkatkan daya cerna, cita rasa dan membunuh mikroorganisme patogen, serta dapat mempengaruhi kandungan zat gizi makanan [6].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus menggunakan analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kuantitatif dengan Spektrofotometri Visibel pada λ 380-780 nm.

METODE

Determinasi Tanaman

Sampel wortel berumur 3-3,5 bulan yang didapatkan dari perkebunan sayuran di Selo,

Boyolali dilakukan determinasi di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Preparasi Sampel Wortel Mentah

Wortel dicuci bersih, dipotong dengan ketebalan \pm 0,5 cm, dihaluskan dengan blender tanpa air, kemudian diambil sebanyak 100 gram dan diekstraksi dengan heksan:aseton:etanol dengan rasio perbandingan 2:1:1 sebanyak 200 mL. Fase atas diambil sedangkan fase air diekstraksi lagi sampai lapisan bawah tidak berwarna, kemudian fase atas diuapkan sehingga memperoleh larutan kental.

Preparasi Sampel Wortel Rebus

Wortel dicuci bersih, dipotong dengan ketebalan \pm 0,5 cm, kemudian dimasukkan dalam panci yang berisi air suling mendidih dan dipanaskan selama \pm 7 menit sambil beberapa kali diaduk. Kemudian sepotong sampel diambil lalu ditusuk dengan garpu/pisau, apabila sudah lunak berarti sudah matang. Sampel diangkat dan ditiriskan, kemudian dilakukan preparasi seperti pada wortel mentah.

Analisis Kualitatif β -karoten

Fase gerak yang digunakan adalah petroleum eter:benzen (9:1). Fase diam yang digunakan adalah Silika gel 60 F254 [10]. Chamber dijenuhkan dengan fase gerak. Larutan β -karoten murni sebagai pembanding dan larutan sampel ditotolkan bersama -sama pada lempeng KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng KLT dan jarak rambat (pada jarak rambat diberi tanda). Setelah lempeng KLT kering dimasukkan ke dalam chamber yang berisi cairan [7]. Larutan fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totalan tidak boleh sampai terendam. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan sistem fase gerak dibiarkan merambat sampai tanda batas jarak rambat. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara, dan bercak diamati dengan lampu UV 254 nm. Diukur dan dicatat tiap-tiap bercak dari titik penotolan. Nilai Rf kemudian dihitung [2].

Pembuatan Larutan Induk β -karoten 50 ppm

Ditimbang 50 mg β -karoten murni ditambahkan dengan etanol dalam labu takar 50 mL (1000 ppm). Larutan induk 1000 ppm dipipet

5 mL kemudian ditambahkan etanol dalam labu takar 100 mL (50 ppm) [9].

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ_{max}) β -karoten

Larutan induk β -karoten 50 ppm dipipet 1 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL (5 ppm) dan ditambahkan etanol hingga 10 mL. Setelah itu serapan diukur dengan Spektrofotometri Visibel pada λ 380-780 nm.

Penentuan Kurva Kalibrasi

Sebanyak 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml dipipet dari larutan induk β -karoten 50 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya menggunakan etanol hingga 10 mL sehingga didapat konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm.

Penetapan Kadar β -karoten

Ditimbang 10 mg ekstrak wortel lalu dilarutkan dan diencerkan dengan etanol pada labu takar 5 mL. Kemudian dipipet 0,5 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol dalam labu takar 10 mL. Kemudian serapan diukur dengan Spektrofotometri Visibel pada λ_{max} dengan etanol sebagai blangko. Kadar β -karoten pada sampel kemudian ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier $Y=bX+a$ [5].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Determinasi dilakukan untuk mengetahui keaslian dan kebenaran tanaman yang digunakan sebagai sampel. Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta menurut C.A.Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian merupakan asli dan benar wortel (*Daucus carota*, L) familia Apiaceae.

Hasil Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif identifikasi β - karoten pada wortel mentah dan wortel rebus dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan cairan pengelusi petroleum eter : benzene (9:1) dengan penampak noda UV 254 nm menunjukkan hasil yang sesuai dengan baku pembanding yaitu baik sampel wortel mentah maupun wortel rebus

menunjukkan 1 bercak berwarna kuning dengan nilai Rf 0,5. Hasil analisis kualitatif disajikan pada tabel 1. Harga Rf adalah perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu dengan jarak perambatan baku pembanding. Jika terdapat kesamaan antara zat uji yang diidentifikasi dengan baku pembanding, maka terdapat kesesuaian dalam warna dan harga Rf antara keduanya [2].

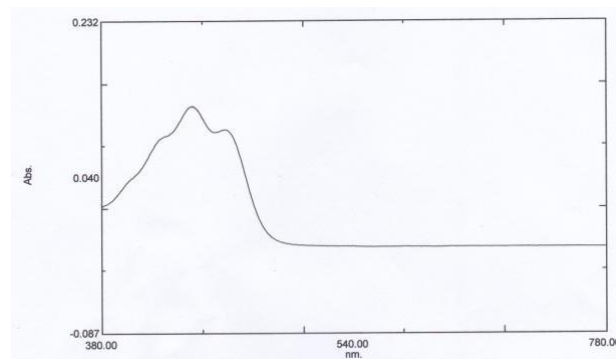
Berdasarkan hasil yang didapat menunjukkan bahwa sampel wortel mentah dan wortel rebus mempunyai warna dan nilai Rf yang sama dengan baku pembandingnya. Sehingga wortel mentah dan wortel rebus positif mengandung senyawa β -karoten. Hasil analisis kualitatif menggunakan metode KLT disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis kualitatif

| Sampel | Nilai Rf |
|-----------------|----------|
| Baku pembanding | 0,54 |
| Wortel mentah | 0,54 |
| Wortel rebus | 0,54 |

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max}) yang diperoleh yaitu 451,50 nm. Senyawa-senyawa karotenoid merupakan senyawa poliena yang terdiri atas 8 sampai 11 ikatan rangkap terkonjugasi sehingga memiliki panjang gelombang yang besar dan dapat mengabsorpsi cahaya dalam spektrum sinar tampak [4]. Hasil penentuan λ_{max}) disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Panjang gelombang serapan maksimum β -karoten standar

Data Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi larutan β -karoten dibuat dengan cara membuat seri larutan baku dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Hasil pengukuran kurva kalibrasi disajikan

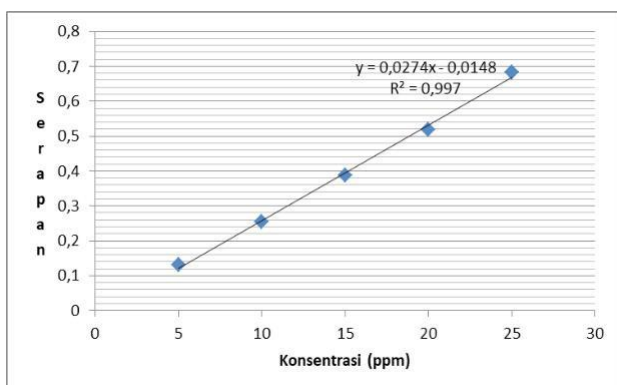
dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil konsentrasi dan serapan larutan baku

| Konsentrasi larutan (ppm) | Serapan |
|---------------------------|---------|
| 5 | 0,132 |
| 10 | 0,255 |
| 15 | 0,388 |
| 20 | 0,519 |
| 25 | 0,684 |

Konsentrasi larutan (ppm)

Berdasarkan data-data pada tabel 1 diperoleh persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan β -karoten standar (X) dengan serapan (Y) yaitu, $Y = 0,0274X + 0,0148$ dengan nilai $r = 0,997$. Nilai koefisien korelasi (r) = $0,990 \leq r \leq 1$ menunjukkan serapan memiliki nilai yang baik [3]. Kurva hubungan antara konsentrasi larutan β -hubungan antara konsentrasi dengan karoten standar dengan serapan disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi larutan β -karoten standar dengan serapan

Penetapan Kadar β -karoten

Penetapan kadar β -karoten dilakukan pada wortel mentah dan wortel rebus yang positif mengandung β -karoten. Penetapan kadar β -karoten wortel mentah dan wortel rebus dilakukan dengan metode Spektrofotometri Visibel yang dilakukan replikasi 3 kali pada setiap sampel. Hasil penetapan kadar β -karoten disajikan dalam tabel 4.

Berdasarkan data pada tabel 4 terlihat adanya perbedaan kadar β -karoten antara wortel mentah dan wortel rebus. Kadar β -karoten pada wortel direbus mempunyai kadar yang lebih kecil dibandingkan dengan wortel mentah karena adanya pemanasan, hal ini sesuai dengan

penelitian [11]. Proses pemanasan pada β -karoten menurunkan kandungan β -karoten karena β -karoten terisomerisasi dari bentuk trans ke bentuk cis [13]. Pada penelitian ini, batas suhu pemanasan tidak diukur dengan jelas sehingga tidak dapat menentukan suhu kerusakan β -karoten.

Besarnya kadar β -karoten kemudian dianalisa menggunakan uji sample paired t-test untuk mengetahui ada dan tidaknya perbedaan yang bermakna antara kadar β -karoten wortel mentah dan wortel rebus. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai P value 0,06 ($> 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar β -karoten

| Sampel (Replikasi) | Serapan | Konsentrasi (ppm) | Kadar (%) | Rata-rata \pm SD (%) |
|--------------------|---------|-------------------|-----------|------------------------|
| Wortel mentah (1) | 0,600 | 21,35 | 42,70 | |
| Wortel mentah (2) | 0,495 | 17,52 | 35,04 | 34,94 \pm 7,810 |
| Wortel mentah (3) | 0,386 | 13,54 | 27,08 | |
| Wortel rebus (1) | 0,401 | 14,09 | 28,18 | |
| Wortel rebus (2) | 0,294 | 10,18 | 20,36 | 23,31 \pm 4,246 |
| Wortel rebus (3) | 0,308 | 10,70 | 21,40 | |

KESIMPULAN DAN SARAN Kesimpulan

Hasil analisis kuantitatif menunjukkan kadar β -karoten pada wortel mentah adalah 34,94 \pm 7,810 % dan pada wortel rebus adalah 23,31 \pm 4,246 %. Hasil dianalisis dengan uji sample paired t-test menunjukkan bahwa nilai P value 0,06 ($> 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus.

Saran

Meskipun kadar β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus tidak terdapat beda yang bermakna dianjurkan untuk mengkonsumsi wortel setelah pengolahan, yaitu dengan perebusan karena adanya keterbatasan kemampuan cerna pada tubuh manusia. Disarankan pula untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian

mengenai bioavalabilitas β -karoten pada wortel mentah dan wortel rebus.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahamad, N.M., Saleemullah, M., Shah, H.U., Khalil, I.A., and Saljoqi, A.U.R., "Determination of Beta Carotene Content In Fresh Vegetables Using High Performance Liquid Chromatography", *Sarhad J. Agric.*, 2007, 23 (3).
- [2] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, *Farmakope Herbal Indonesia*, (Edisi I), Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008.
- [3] Harmita, "Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya", *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2004, 1 (3): 117-135.
- [4] Idris, N., "Analisis Kandungan β -karoten dan Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Buah Melon (*Cucumis melo* Linn.) secara Spektrofotometri UV-Vis", *Skripsi*, Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2011.
- [5] Jones, D. S., "Statistik Farmasi", *Diterjemahkan oleh Hesty Utami Ramadaniati dan Harrizul Rivai*, Jakarta: EGC, 2002.
- [6] Mulyatiningsih, E., "Teknik-teknik Dasar Memasak", *Diktat Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta*, Yogyakarta, 2007.
- [7] Naid, T., Muflihunna, A., Madi, M.I.O., "Analisis Kadar β -karoten Pada Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Asal Ternate Secara Spektrofotometri UV-Vis", *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 2002, 16 (3): 127-130.
- [8] Nurmawati, T., Wulandari, N., Fata., U.H., "Potensi Wortel (*Daucus carota*) Sediaan Mentah dan Matang Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)". *Jurnal Ners dan Kebidanan*. 2014,1 (3): 212-215.
- [9] Octaviani, T., Guntarti, A., Susanti, H., "Penetapan Kadar β -karoten Pada Beberapa Jenis Cabe (Genus *capsicum*) Dengan Metode Spektrofotometri Tampak", *Pharmaciana*, 2014, 4 (2) : 101-109.
- [10] Parwata, M.O.A., Ratnayani, K., Listya, A., "Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.)". *Jurnal Kimia*, 2010, 4 (1): 54-62.
- [11] Susilowati. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Karotenoid dari Cabe Merah (*Capsicum annum* Linn.)", *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang. 2008.
- [12] Tampiasih dan Lilis, "Penetapan Kadar Betakaroten pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicu*) merah, kuning dan hijau secara Spektrofotometri Visibel", Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta. 2010.
- [13] Updike, A., Schwartz, S., "Thermal Processing of Vegetables Increases cis Isomers of Lutein and Zeaxanthin", *J. Agric Food Chem Agric Food Chem*, 2003, 51 (21): 84-90.
- [14] Winarno, FG. *Kimia Makanan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta, 2004.