

Penetapan Kadar Senyawa β -Karoten Dalam Buah Semangka Kuning (*Citrullus vulgaris Schrad*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Maya Nisrina Huwaida¹, W Wirasti^{2*}, S Slamet³, Achmad Vandian Nur⁴

^{1,2,3,4}Sarjana Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Indonesia

*email: wirasti.kharis@gmail.com

Abstract

Watermelon is a fruit that favored by the peoples because it tastes sweet and is good for health, watermelon also contains β -carotene. β -carotene is a natural pigment that is found in large amounts in red-orange fruits, including yellow watermelons. The purpose of this study was to determine β -carotene compounds and β -carotene levels in yellow watermelon flesh. The method used in this study for qualitative analysis using TLC method with chloroform: ethyl acetate (5: 5) mobile phase and for quantitative analysis using UV-Vis Spectrophotometry method. The test results showed that the yellow watermelon flesh sample contained β -carotene with a maximum wavelength of 458 nm and the β -carotene content of the yellow watermelon flesh was 146,253 $\mu\text{g}/100$ grams. Levels of β -carotene compounds in yellow watermelon flesh are included in the low category.

Keywords: Yellow watermelon, β -carotene, TLC, UV-Vis spectrophotometry

Abstrak

Semangka merupakan buah yang banyak digemari oleh masyarakat karena rasanya manis dan baik bagi kesehatan, juga memiliki kandungan β -karoten. β -karoten adalah pigmen alami yang terdapat dalam jumlah besar pada buah-buahan yang berwarna merah-orange termasuk pada buah semangka kuning. Tujuan peneltian ini adalah untuk mengetahui senyawa β -karoten dan kadar β -karoten pada daging buah semangka kuning. Metode yang digunakan dalam penelitian ini untuk analisis kualitatif menggunakan metode KLT dengan fase gerak kloroform : etil asetat (5 : 5) dan untuk analisis kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengujian menunjukkan sampel daging buah semangka kuning megandung β -karoten dengan Panjang gelombang maksimum yaitu 458 nm dengan kadar β -karoten pada daging buah semangka kuning yaitu 146,253 $\mu\text{g}/100$ gram. Kadar senyawa β -karoten dalam daging buah semangka kuning termasuk dalam kategori rendah.

Kata kunci: Semangka kuning; β -karoten; KLT; spektrofotometri UV-Vis

1. Pendahuluan

Semangka termasuk jenis tanaman menjalar atau merambat. Helai daun menyirip, permukaan daunnya berbulu, bentuk daun mirip jantung di bagian pangkalnya, ujung meruncing, tepinya bergelombang dan berwarna hijau tua. Tanaman semangka menghasilkan 3 macam bunga, yaitu bunga jantan, betina dan bunga sempurna [9].

Semangka (*Citrullus vulgaris*, Schard) merupakan buah yang digemari masyarakat Indonesia karena rasanya yang manis, renyah dan kandungan airnya yang banyak. Kandungan lainnya adalah protein, karbohidrat, lemak, serat, abu dan vitamin (A,B dan C) juga mengandung asam amino, sirulin, asam aminoasetat, asam malat, asam fosfat, arginine, betain, likopen, karoten, bromine, natrium, kalium, silvit, lisin, fruktosa, dekstrosa dan sukrosa [1], [10]. Warna kuning pada semangka

menandakan tingginya kadar karotenoid, salah satu komponen karotenoid seperti halnya β -karoten [8].

β -Karoten adalah pigmen berwarna merah-orange yang sangat berlimpah pada tanaman dan buah-buahan [11]. β -karoten diperkirakan memiliki banyak fungsi yang tidak dimiliki senyawa lain. Jumlah yang dibutuhkan didalam tubuh hanya ukuran milligram perhari [12]. Tetapi apabila tidak terpenuhi dapat menimbulkan gangguan fungsi [2].

Mengkonsumsi makanan atau buah-buahan yang mengandung β -karoten diharapkan bisa menunjang kebutuhan gizi dan meningkatkan kekebalan tubuh [14]. Sifat antioksidan yang terdapat pada β -karoten dapat melindungi tumbuhan dan mikroorganisme dari sinar matahari yang merusak. Sumber β -karoten dapat diperoleh dari buah-buahan maupun sayuran [2].

Seiring dengan perkembangan zaman menimbulkan perubahan pada gaya hidup masyarakat yang cenderung menjalani gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok, minum minuman keras, mengkonsumsi *junk food* dan jarang berolahraga [13]. Akibat dari gaya hidup tersebut, di dalam tubuh banyak terkandung radikal bebas yang sangat membahayakan tubuh. Senyawa radikal bebas ini dapat terbentuk akibat dari proses kimia yang terjadi di dalam tubuh, seperti proses oksidasi, metabolisme dan peradangan [15]. Untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, maka tubuh memerlukan antioksidan, antara lain terdiri dari β -karoten, vitamin E, vitamin C dan selenium [3].

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian kandungan karotenoid dari buah semangka kuning (*Citrullus vulgaris* Schrad) untuk menemukan serta mengetahui berapa besar kadar karotenoid dari buah semangka kuning tersebut.

2. Metode

Bahan

Buah semangka kuning dari salah satu pasar di Kota Pekalongan yaitu Pasar Banjarsari, standar β -karoten, kloroform, etil asetat, lempeng KLT silika gel 60 F254 (*Merck*).

Alat

rotary evaporator, pipet mikro (*Merck*), mikro filter (Lokal), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV-Vis 1280*), bejana kromatografi, *Water Bath*, timbangan analitik (*Ohauss*), timbangan mikro (*Ohauss*), blender, kertas saring whatman no. 40 dan alat-alat gelas.

Pembuatan ekstrak

Sampel buah semangka kuning ditimbang seberat 500 gram dan diblender menggunakan etil asetat 3 L. Sampel dimasukkan dalam bejana maserasi. Kemudian bejana disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya selama 3 – 5 hari. Setiap harinya dilakukan pengadukan selama 1 jam. Filtrat hasil maserasi dipisahkan dan kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* dengan kecepatan 80 rpm dan suhu 40 °C. Filtrat yang terpisah dari pelarut dimasukkan ke dalam

cawan porselein dan diuapkan di atas waterbath pada suhu 40 °C. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya.

Analisis Kualitatif

Sebanyak 10 mg sampel hasil ekstraksi dilarutkan dalam kloroform p.a. sebanyak 10 mL. Larutan tersebut ditotolkan pada silika gel 60 F245(Merck) yang merupakan fase diam, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah larutan kloroform:etil asetat dengan perbandingan 5:5. Pola pemisahan pigmen yang terbentuk digambar dan dihitung nilai Rfnya.

Analisis kuantitatif

a. Pembuatan larutan baku β-karoten

Sejumlah 10 mg β-karoten murni dilarutkan dengan 10 mL kloroform p.a. menggunakan labu ukur 10 mL.

b. Pembuatan deret larutan standar β-karoten

Larutan baku β-karoten diencerkan menjadi 5 variasi konsentrasi yaitu 2,5; 5; 10; 15 dan 20 µg/mL.

c. Penetapan panjang gelombang β-karoten

Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara scanning serapan larutan induk β-karoten pada konsentrasi 15 µg/mL dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm. Nilai panjang gelombang maksimum yang diperoleh selanjutnya akan digunakan untuk mendeteksi β-karoten.

d. Penetapan kadar

Sejumlah 10 mg sampel ekstrak buah semangka kuning dilarutkan dalam 10 mL kloroform p.a. dan diuji menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

3. Hasil dan Pembahasan

a. Determinasi Tanaman

Tanaman semangka kuning (*Citrullus vulgaris* Schrad) yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Ahmad Dahlan dengan berdasarkan buku Flora of Java karangan Backer dan Van den Brink (1965). Hasil determinasi tanaman *Citrullus vulgaris* Schrad adalah sebagai berikut :

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33c – 631a – 632a – 633a – 634b – 635b – 636b – 637b – 638a – 639b – 640b – 652d – 653a – 654b Cucurbitaceae

1b – 2b – 4b – 6b – 7b – 9b – 11b – 12a – 13a – 14c – 15b – 16a – 17b – 19b Citrulus

1. *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai

Sinonim *Citrullus vulgaris* Schrad.

Berdasarkan hasil determinasi di atas dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman semangka kuning yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Citrullus vulgaris* Schrad.

b. Ekstraksi

Analisis kandungan β -karoten dilakukan dengan memisahkan senyawa β -karoten dari senyawa lain atau zat pengotor dengan metode ekstraksi yang digunakan secara maserasi. Filtrat ekstrak yang didapat berwarna kuning. Warna kuning sebagai petunjuk awal bahwa pada ekstrak tersebut terdapat senyawa karotenoid, karena karotenoid merupakan kelompok pigmen berwarna jingga, merah dan kuning. Ekstrak kental daging buah semangka kuning yang diperoleh seluruhnya adalah 50 mg [6].

c. Analisis Kualitatif

Identifikasi komposisi pigmen dilakukan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan plat silika gel 60 F254 sebagai fase diam/normal dan fase gerak adalah kloroform : etil asetat (5:5). Untuk dapat mengidentifikasi senyawa target yang dimiliki, dalam sampel dianalisis menggunakan faktor reteransi atau *retardation factor* (Rf). Untuk menghitung nilai Rf pada hasil KLT diperoleh dari perbandingan jarak yang ditempuh oleh pigmen dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Hasil peneitian ini menunjukkan nilai Rf pada baku β -karoten sebesar 0,74 cm dan nilai Rf pada sampel ekstrak buah semangka kuning sebesar 0,71 cm.



Gambar 3.1 Hasil kromatogram baku β -karoten dan ekstrak buah semangka kuning

Tabel 3.1 Hasil perhitungan nilai Rf baku β -karoten dan ekstrak buah semangka kuning

	Warna Bercak	Nilai Rf
Sampel	Orange	0,71 cm
Baku	Kuning kecoklatan	0,74 cm

Jika senyawa sampel yang diidentifikasi memiliki warna yang sama dengan warna senyawa pembanding serta nilai Rf yang hampir sama, maka dapat dijelaskan bahwa dalam sampel terkandung senyawa yang sama dengan senyawa

pembanding. Dengan demikian nilai R_f sampel dan bercak kuning yang ditampilkan pada variable ini menunjukkan bahwa buah semangka kuning mengandung β -karoten [7].

d. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif β -karoten dalam sampel buah semangka kuning dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Blanko dari pelarut yang digunakan pada analisa kuantitatif ini adalah kloroform p.a. Larutan blanko merupakan larutan yang tidak mengandung analit untuk dianalisis. Larutan blanko digunakan sebagai kontrol dalam suatu percobaan sebagai nilai 100% transmitan.

Adanya ikatan ganda terkonjugasi dalam struktur β -karoten menandakan adanya gugus kromofor yang menyebabkan terbentuknya warna pada senyawa β -karoten. Selain itu, struktur β -karoten juga memiliki spektrum yang khas yaitu antara 400 – 500 nm dengan dua puncak utama di sekitar 450 nm sesuai dengan pelarut yang digunakan dan biasanya ada dua puncak tambahan pada kedua sisi puncak utama [4].

Penentuan kadar β -karoten dalam sampel diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 458 nm dengan absorbansi 0,355 pada baku seri β -karoten 15 $\mu\text{g/mL}$.

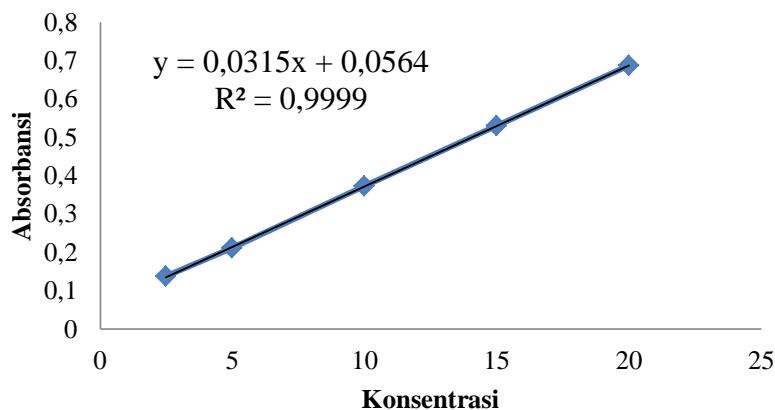
Tabel 3.2 Serapan larutan baku β -karoten dengan 3 konsentrasi yang berbeda pada panjang gelombang serapan maksimum

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	λ (nm)
5	471
10	456
15	458

Tahap selanjutnya adalah penentuan kurva kalibrasi baku β -karoten. Persamaan regresi kurva baku β -karoten adalah $y = 0,0315x + 0,0563$ dan $R^2 = 0,9999$ dengan konsentrasi larutan baku seri yaitu 2,5; 5; 10; 15 dan 20 $\mu\text{g/mL}$. Nilai lineritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang dihasilkan. Jika koefisien determinasi atau R^2 mendekati satu atau sama dengan satu menunjukkan persamaan tersebut semakin baik dan berkorelasi positif atau linear. Koefisien determinasi adalah suatu indikator yang digunakan untuk menggambarkan berapa banyak variasi yang dijelaskan dalam model. Berdasarkan nilai R^2 dapat diketahui tingkat signifikansi atau kesesuaian hubungan antara variabel bebas dan variabel tak bebas dalam regresi linier.

Tabel 3.3 Serapan larutan baku β -karoten untuk kurva standar

Konsentrasi Larutan Baku (ppm)	Nilai Absorbansi
2,5	0,137
5	0,211
10	0,372
15	0,529
20	0,686



Gambar 3.2 Kurva hubungan antara konsentrasi dengan serapan larutan baku pembanding β -karoten

Hasil pengukuran β -karoten sampel menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 458 nm menghasilkan konsentrasi 14,626 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini menjelaskan bahwa pada ekstrak buah semangka kuning mengandung β -karoten. Setiap nilai absorbansi pada spektrofotometer ditentukan oleh setiap nilai konsentrasi yang diberikan. Nilai konsentrasi yang tinggi mengindikasikan warna larutan semakin pekat sehingga banyak cahaya yang diserap oleh larutan yang berdampak pada tingginya absorbansi. Sementara apabila konsentrasi larutan yang rendah, mengindikasikan semakin banyak cahaya yang lolos atau diteruskan. Dengan kata lain dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi menunjukkan semakin tinggi pula absorbansi.

Tabel 3.4 serapan sampel ekstrak buah semangka kuning dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 458 nm.

Replikasi	Serapan	Kadar b/b	Kadar dalam 500 g	Rata-rata \pm SD
1	0.517	14.63	731.265	
2	0.517	14.63	731.265	731.265 \pm 0
3	0.517	14.63	731.265	

Hasil analisis kuantitatif yang telah dilakukan dengan spektrofotometri Visibel menunjukkan kadar β -karoten dalam sampel ekstrak buah semangka kuning pada 3 replikasi adalah sama yaitu sebesar 731,265 $\mu\text{g}/500 \text{ g}$ daging buah semangka. Menurut Perkins Veazie (2006), kadar β -karoten dalam varietas semangka *citrullus lanatus* yaitu 0,9 – 9,3 mg/kg. maka dapat disimpulkan bahwa kadar β -karoten dalam buah semangka kuning yang diteliti termasuk dalam kategori rendah [5].

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak daging buah semangka kuning mengandung senyawa β -karoten dan kadar senyawa β -karoten rata-rata sebesar 146,253 μg β -karoten / 100 gram daging buah semangka kuning. Kadar senyawa β -karoten dalam daging buah semangka kuning termasuk dalam kategori rendah.

Referensi

- [1] Anonim, 2012, *Petunjuk Operasional Penerapan CPOB*, 603-623, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- [2] Idris, Nurhasanah, 2011, Analisis Kandungan β -Karothen dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Buah Melon (*Cucumis melo Linn.*) Secara Spektrofotometri UV-Vis, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- [3] Mangunsong, Sonlimar., Rifqi Assiddiqy, Eka Puspa Sari, Priscila Natalia Marpaung dan Rahma Arum Sari, 2019, Penentuan β -Karothen Dalam Buah Wortel (*Daucus Carota*) Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (U-HPLC), *Skripsi*, Program Studi Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Palembang, Palembang.
- [4] Gao,Y., dan Kispert, L.D., 2003, Reaction of carotenoids and ferric chloride:equilibria, isomerization, and products, *J. Phys Chem*, 107:5333–5338.
- [5] Veazie, Perkins, Julie K. Collins, Angela R. Davids and Warren Roberts, 2006, Carotenoid Content of 50 Watermelon Cultivars, *J. Agric. Food Chem*, 54:2593-2597.
- [6] Salim, M., Sulistyaningrum, N., Isnawati, A., Sitorus, H., Yahya, Y., & Ni'mah, T., 2017, Karakterisasi Simplicia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi, *Indonesian Pharmaceutical Journal* 6(2) : 117128.
- [7] Majid, R., 2010, Title of thesis: *Comparative Analysis of β -karoten in flask (*Cucurbita moschata*) according to maturation state by spektrofotometri UV-Vis*, Faculty of Health Sciences UIN Alauddin Makassar, Indonesia, PP: 1-64.
- [8] Prajnanta, F., 2003, *Agribisnis Semangka Non-biji*, Penebar Swadaya, Jakarta, Hal. 1-4.
- [9] Rukmana, R., 1994, *Budidaya Semangka Hibrida*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, Hal. 11-18.
- [10] Murray, J., 2007, *Watermelon*, ABDO Publishing Company, Minnesota, Hal. 6-8.
- [11] American Accreditation Health Care Commission, 2011, *Vitamin A Vitamin C*, U.S. National Library of Medicine and National Institutes of Health, Bethesda.
- [12] Pinem, Adresta, 2010, *Adisi HCl pada Karotenoid dengan Menggunakan Katalis PdCl₂*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera, Medan.
- [13] Stutz H, Bresgen N, Eckl PM., 2015, Analytical tools for the analysis of β -carotene and its degradation products, *Free radical research*.
- [14] Kusbandari, Aprilia dan Hari Susanti, 2017, Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri UV-Visibel, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- [15] Nururrahman dan Wiwied Widiarnu, 2013, Analisis Kadar Beta-Karoten Kulit Buah Naga Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, *Jurnal Dinamika*, Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Cokroaminoto Palopo.