

**INDUKSI ISOMERISASI TRANS LIKOPEN PADA SAUS TOMAT
MENGUNAKAN BEBERAPA PELARUT ORGANIK**

Esty

0606040671



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2009**

**INDUKSI ISOMERISASI TRANS LIKOPEN PADA SAUS TOMAT
MENGUNAKAN BEBERAPA PELARUT ORGANIK**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

Esty

0606040671



DEPOK

2009

SKRIPSI : INDUKSI ISOMERISASI TRANS LIKOPEN PADA SAUS
TOMAT MENGGUNAKAN BEBERAPA PELARUT ORGANIK

NAMA : ESTY

NPM : 0606040671

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009



DR. HERMAN SURYADI, MS

PEMBIMBING I



DR. HARMITA, APT.

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana Farmasi:

Penguji I : Dra. Rosmaladewi A.....

Penguji II : Dra. Sabarijah WittoEng, SKM

Penguji III : Dr. Retnosari, MS

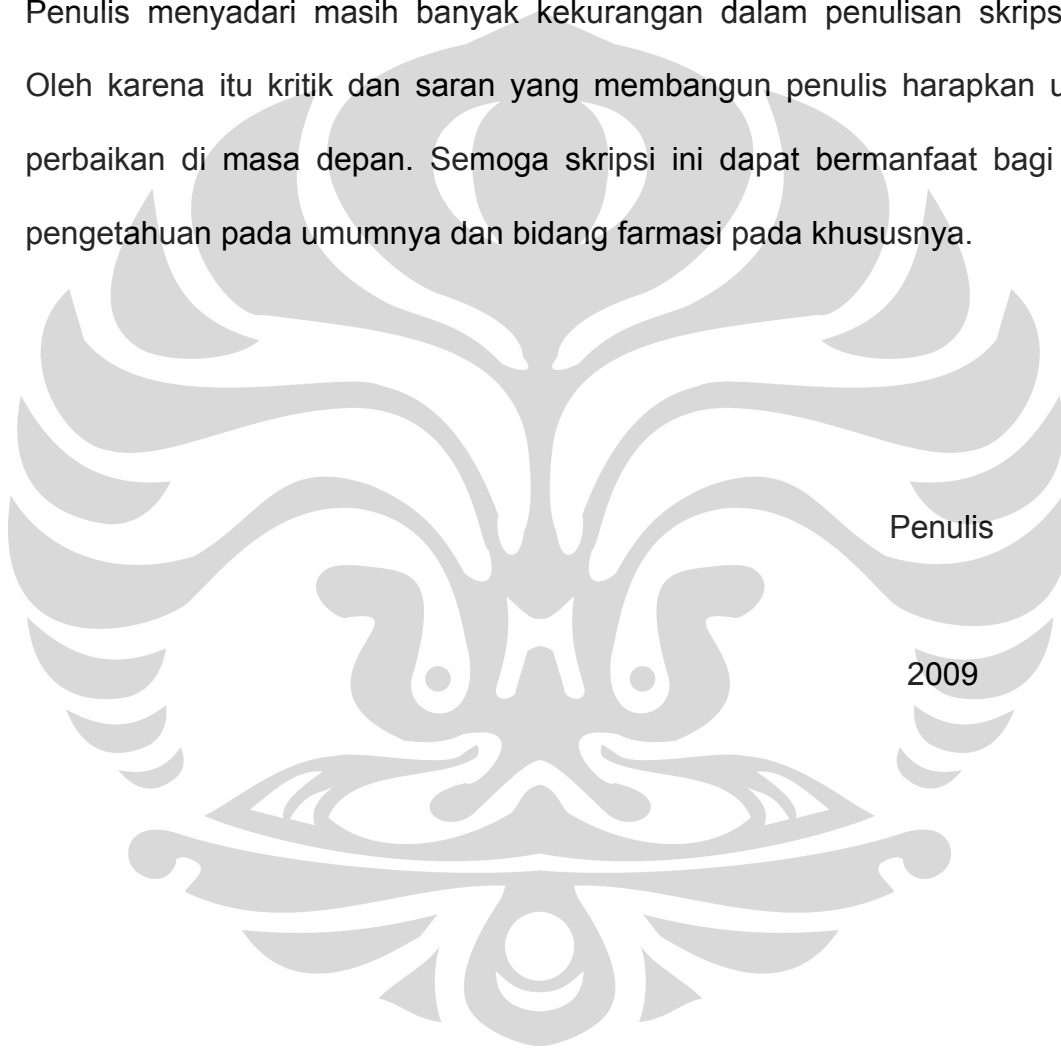
KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya yang berlimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt, sebagai Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
2. Bapak Dr. Herman Suryadi, MS dan Bapak Dr. Harmita, Apt., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Berna Elya, MS., selaku pembimbing akademik.
4. Seluruh staff pengajar Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
5. Seluruh karyawan Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
6. PT. Soho atas bahan baku penelitian yang diberikan.
7. Bapak, ibu, kakak, adik dan Fery atas kasih sayang, semangat, dan dukungan yang diberikan.
8. Teman-teman di farmasi yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan penelitian ini.

9. Seluruh pihak yang telah banyak membantu baik moril maupun materil selama penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun penulis harapkan untuk perbaikan di masa depan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan bidang farmasi pada khususnya.



Penulis

2009

ABSTRAK

Saus tomat memiliki kandungan senyawa karotenoid yang bernama likopen dimana sebagian besar dalam bentuk all-trans yang sukar diabsorpsi di saluran pencernaan. Bentuk all-trans likopen di dalam tubuh akan diubah menjadi bentuk cis yang lebih mudah diabsorpsi. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bentuk cis likopen melalui induksi isomerisasi dengan beberapa pelarut organik. Pelarut organik yang digunakan yaitu n-heksana, n-heksana-metanol = 25:75, aseton. Kondisi optimum reaksi isomerisasi dicari melalui variasi suhu dan lamanya inkubasi. Saus tomat diekstraksi dengan etanol selanjutnya dengan diklorometana hingga menghasilkan supernatan berwarna merah. Kadar trans likopen ditentukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menggunakan kolom fase terbalik (C₁₈) dengan fase gerak campuran asetonitril – diklorometana – metanol = 47,5: 42,5:10 dan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Hasil optimum isomerisasi terjadi pada penambahan aseton pada suhu 37°C selama 45 menit dengan perbandingan cis:trans = 1:44,2.

Kata kunci : Likopen, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Saus Tomat

X + 85 hal; gbr; tab; lam

Daftar acuan : 19 (1986-2007)

ABSTRACT

Tomato sauce contains carotenoid substances named lycopene which most of lycopene from are all-trans form is more difficult to be absorbed. All-trans form in human body will changes to cis form is easier to be absorbed. This research was to get cis form by induction isomerization reaction by many kinds organic solvent. Organic solvent that has been used by n-hexane, n-hexane-methanol = 25:75, and acetone. Condition optimum isomerization reaction search by various temperature and time incubation. Tomato sauce are extracted using ethanol than dichloromethane to produce red supernatant. Trans lycopene concentration to determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using reverse phase column (C₁₈) with mobile phase of mixture acetonitrile – dichloromethane – methanol = 47,5 : 42,5 : 10 and speed 1,0 mL/minute. The research show that adding acetone for 45 minutes produce bigger cis area.

Keywords : Lycopene; High Performance Liquid Chromatography, Tomato Sauce

X + 85 pg; pic; tab; enc

Bibliography : 19 (1986-2007)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
1. Latar Belakang	1
2. Tujuan Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tomat	4
B. Likopen	
B.1. Golongan, pemerian, sifat fisikokimia likopen	5
B.2. Metabolisme Likopen	6
B.3. Safety Dose dan Kegunaan Likopen.....	7
B.4. Toksisitas Likopen	8
C. Isomerisasi cis trans	8
D. Kromatografi	10

E. Validasi.....	10
BAB III. BAHAN, ALAT & CARA KERJA	
A. Bahan	14
B. Alat.....	14
C. Cara Kerja	
C.1. Penyiapan standar likopen	
a. Penanganan standar likopen	15
b. Pembuatan larutan induk standar likopen.....	16
C.2. Optimasi kondisi analisis	
a. Penentuan panjang gelombang maksimum	16
b. Pemilihan fase gerak untuk analisis	17
c. Analisis isomerisasi cis/trans dengan HPLC	17
C.3. Validasi metode analisis	
a. Pembuatan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas	18
b. Penentuan LOQ & LOD.....	18
c. Uji presisi	18
d. Uji perolehan kembali (UPK)	18
C.4. Analisis Likopen dalam sampel saus tomat	
a. Ekstraksi Likopen dari saus tomat.....	19

b. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada standar likopen dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton	20
c. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada sampel dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton.....	20
BAB IV. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Percobaan	
1. Penyiapan standar likopen.....	22
2. Optimasi kondisi analisis	
a. Penentuan panjang gelombang maksimum.....	22
b. Pemilihan fase gerak untuk analisis.....	22
3. Validasi metode analisis	
a. Pembuatan kurva kalibrasi dan Pengujian linearitas.....	23
b. Penentuan LOD & LOQ.....	23
c. Uji presisi.....	23
d. Uji perolehan kembali (UPK).....	23
4. Analisis Likopen dalam sampel	
a. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada standar likopen dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75),aseton.....	24

b. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada sampel dengan penambahan n- heksana; n-heksana-metanol (25:75); aseton.....	24
c. Penetapan kadar trans likopen setelah penambahan n-heksana; n-heksana-metanol = 25:75; aseton.....	25
B. Pembahasan	
1. Penanganan standar likopen.....	25
2. Validasi metode untuk analisis.....	27
3. Pengaruh penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton.....	29
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	30
B. Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Rumus Bangun senyawa all-trans Likopen	34
2. Rumus Bangun senyawa cis Likopen	35
3. Bagan ekstraksi likopen dari saus tomat.....	36
4. Spektrum serapan standar likopen 40 µg/ml dalam diklorometana..	37
5. Kromatogram larutan standar likopen 40 µg/ml dengan fase gerak asetonitril-diklorometana-metanol = 70:20:10	38
6. Kromatogram larutan standar likopen 40 µg/ml dengan fase gerak asetonitril-diklorometana-metanol = 50:40:10.....	39
7. Kromatogram larutan standar likopen 40 µg/ml dengan fase gerak asetonitril-diklorometana-metanol = 47,5:42,5:10.....	40
8. Kurva Kalibrasi standar likopen.....	41
9. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 15 menit.....	42
10. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 30 menit.....	43
11. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 45 menit.....	44
12. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 15 menit	45

13. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 30 menit	46
14. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 45 menit	47
15. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 15 menit.....	48
16. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 30 menit.....	49
17. Kromatogram standar likopen setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 45 menit.....	50
18. Kromatogram sampel saus tomat	51
19. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 15 menit.....	52
20. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 30 menit.....	53
21. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada 37°C selama 45 menit.....	54
22. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 15 menit	55
23. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 30 menit	56
24. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL	

n-heksana-metanol (25:75) pada 37°C selama 45 menit	57
25. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 15 menit.....	58
26. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 30 menit.....	59
27. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 37°C selama 45 menit.....	60
28. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada temperatur 65°C selama 15 menit.....	61
29. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada temperatur 65°C selama 30 menit.....	62
30. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana pada temperatur 65°C selama 45 menit.....	63
31. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 65°C selama 15 menit	64
32. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 65°C selama 30 menit	65
33. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL n-heksana-metanol (25:75) pada 65°C selama 45 menit	66
34. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 65°C selama 15 menit.....	67
35. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 65°C selama 30 menit.....	68

36. Kromatogram sampel saus tomat setelah diinkubasi bersama 1 mL aseton pada 65°C selama 45 menit.....	69
37. Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	70



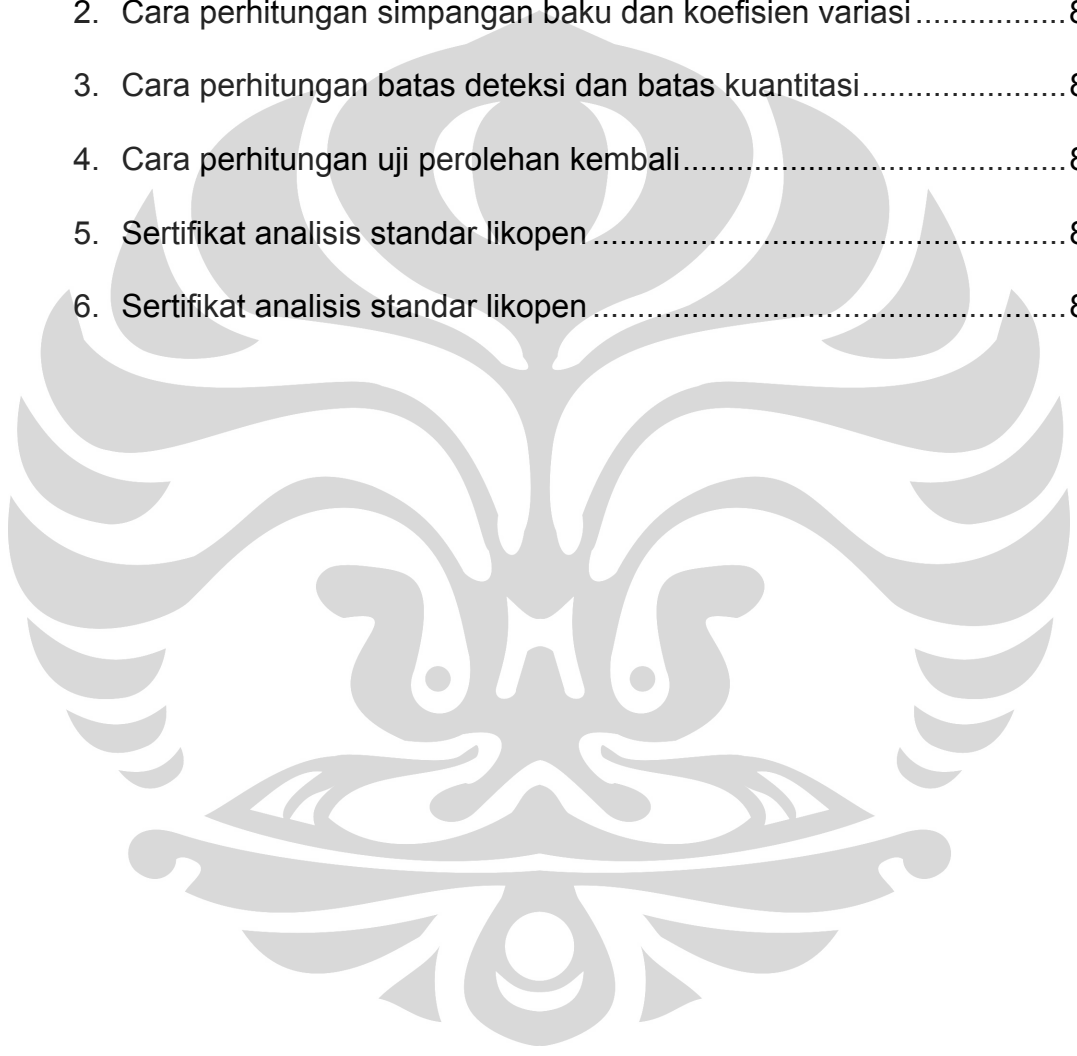
DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil perhitungan kadar standar likopen setelah diekstraksi.....	71
2. Pemilihan fase gerak untuk analisis	72
3. Pembuatan kurva kalibrasi dan Pengujian linearitas	73
4. Hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi	74
5. Hasil perhitungan uji presisi	75
6. Hasil perhitungan uji perolehan kembali (UPK)	76
7. Hasil penetapan kadar trans likopen dari sampel setelah diinduksi dengan n-heksana; n-heksana-metanol (25:75),aseton	77
8. Pengaruh penambahan n-heksana; n-heksana-metanol (25:75), aseton pada standar likopen dengan variasi waktu inkubasi	78
9. Pengaruh penambahan n-heksana; n-heksana-metanol (25:75), aseton pada saus tomat dengan variasi waktu,suhu inkubasi	79
10. Perbandingan area cis dan trans likopen pada standar likopen	80
11. Perbandingan area cis dan trans likopen pada sampel.....	81

LAMPIRAN

Halaman

1. Cara memperoleh persamaan garis linier	82
2. Cara perhitungan simpangan baku dan koefisien variasi	83
3. Cara perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi.....	84
4. Cara perhitungan uji perolehan kembali.....	85
5. Sertifikat analisis standar likopen	86
6. Sertifikat analisis standar likopen	87



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Negara Indonesia merupakan negara tropis dengan kekayaan flora yang melimpah namun pemanfaatannya masih sangat sederhana dan belum optimal. Di samping itu, tuntutan zaman dan perkembangan ilmu pengetahuan untuk kembali ke alam (*back to nature*) dalam kehidupannya. Hal ini mendorong para peneliti untuk bekerja dan berusaha untuk menemukan obat baru yang berasal dari alam. Salah satu bahan alam yang saat ini menjadi sorotan para peneliti adalah tanaman tomat khususnya sebagai kemopreventif ditengah jumlah penderita kanker yang terus meningkat di masyarakat(10).

Saus tomat yang sehari-hari kita kenal, ternyata memiliki kandungan senyawa karotenoid yang bernama likopen. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Stahl dan Sies (1995) menyebutkan bahwa likopen memiliki kemampuan untuk menghambat oksidasi pada tahap progresi dalam karsinogenesis(10).

Produk olahan tomat lainnya seperti jus, kecap, pasta, dan sop, merupakan sumber likopen yang baik juga. Kadar likopen pada bahan makanan olahan lebih tinggi daripada bahan makanan segar sehingga dapat meningkatkan kadar likopen dalam darah(8).

Kandungan likopen dalam produk olahan sebagian besar terdapat dalam bentuk all-trans(10). Isomer all-trans dalam tubuh akan berubah menjadi isomer cis. Lebih dari 50% isomer cis berada dalam serum dan jaringan manusia. Secara umum isomer cis bersifat lebih polar, mempunyai kecenderungan lebih rendah untuk menjadi kristal, lebih larut dalam minyak dan pelarut hidrokarbon, lebih mudah bergabung dengan lipoprotein maupun struktur lipid subseluler, dan terutama lebih mudah diserap tubuh tetapi bersifat kurang stabil dibanding isomer trans(9).

Perubahan isomer all-trans menjadi isomer cis salah satunya menggunakan pelarut organik. Kecepatan isomerisasi trans likopen bergantung pada pelarut yang digunakan dimana n-heksana > kloroform > campuran n-heksana dan metanol (25:75) > metanol > asetonitril > aseton(4).

Oleh karena bentuk cis lebih mudah diserap tubuh maka penelitian ini dilakukan untuk memperoleh bentuk cis dengan mencari kondisi optimum reaksi isomerisasi menggunakan beberapa pelarut organik dan menentukan kadar trans likopen dari saus tomat X secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

B. TUJUAN PENELITIAN

1. Mencari kondisi optimum reaksi isomerisasi menggunakan beberapa pelarut organik.
2. Menentukan kadar trans likopen dari saus tomat X secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. TOMAT

Tomat oleh para ahli botani disebut sebagai *Lycopersicum esculentum* Mill, merupakan tanaman dari famili Solanaceae, yaitu berbunga seperti terompet. Tomat termasuk tanaman setahun (annual) yang berarti umurnya hanya untuk satu kali periode panen. Berikut klasifikasi tomat (11) :

Regnum : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Subkelas : Sympetalae
Ordo : Tubiflorae
Familia : Solanaceae
Genus : Solanum, Lycopersion
Spesies : Solanum lycopersicum

Lycopersion lycopersicum (L) Karst

Pemanfaatan Tomat dapat digunakan baik dalam bentuk segar maupun dalam bentuk olahannya. Dalam bentuk segar, tomat seringkali digunakan sebagai bahan pelengkap masakan (sayur), untuk salad,

sandwich, sambal, dan sebagainya. Dalam bentuk olahan, tomat dapat dibuat menjadi berbagai macam produk kalengan, seperti tomat utuh, potongan tomat, saus. Selain itu, dapat dibuat sari buah dan dipekatkan untuk menghasilkan pasta tomat.

B. LIKOPEN

1. Golongan, pemerian, dan sifat fisikokimia likopen (5)

Rumus molekul : $C_{40}H_{56}$

Nama IUPAC :

*(6E,8E,10E,12E,14E,16E,18E,20E,22E,24E,26E)*2,6,10,14,19,23,27,3

1-Octamethyltriaconta-2,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,30-

tridecaene

Pemerian : kristal seperti jarum, panjang, dalam bentuk tepung berwarna kecoklatan

Kelarutan : larut dalam kloroform, benzen, n-heksana, dan pelarut organik lainnya dan bersifat hidrofobik kuat; tidak larut dalam air

Titik lebur : $172^{\circ}\text{C} - 175^{\circ}\text{C}$.

Berat molekul : 536,89

Likopen merupakan suatu hidrokarbon polien dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh, mempunyai 13 ikatan rangkap, 11 diantaranya ikatan rangkap konjugasi yang tersusun linier dan tidak mempunyai aktivitas provitamin A.

Likopen dikenal sebagai senyawa yang memiliki daya antioksidan tinggi, efektif melawan radikal bebas akibat polusi dan radiasi sinar UV . Radikal bebas bersifat reaktif karena mempunyai satu elektron bebas yang tidak berpasangan dan cenderung memutuskan elektron bebas dari lipid, protein dan DNA dalam tubuh agar dapat mencapai keadaan stabil, oleh karena itu jaringan sel cepat rusak sehingga dapat menyebabkan (salah satunya) penuaan dini. Likopen mampu mengeliminasi intermediet radikal dan mencegah reaksi oksidasi berantai yang lain dengan menjadi senyawa yang dioksidasi serta berpasangan dengan radikal bebas yang mempunyai satu elektron tidak stabil sehingga membentuk senyawa yang lebih stabil.

2. Metabolisme likopen (10)

Ketersediaan biologi (*bioavailability*) likopen dipengaruhi oleh bentuk molekul, jumlah likopen dalam makanan, kandungan matriks bahan makanan, medium lemak atau minyak, efek serat makanan dan interaksi dengan karotenoid lain. Metabolisme likopen terjadi bersamaan dengan metabolisme lemak. Di dalam duodenum setelah dicerna oleh lipase pankreas dan diemulsi garam empedu, misel yang mengandung likopen masuk ke dalam mukosa sel usus melalui difusi pasif. Selanjutnya dibawa ke dalam aliran darah melalui sistem limfatik. Likopen didistribusikan ke jaringan terutama melalui LDL. Likopen

paling banyak kandungannya pada beberapa jaringan antara lain testis, kelenjar adrenal, hati dan prostat.

3. Safety Dose & Kegunaan likopen

Sampai saat ini belum ada data resmi yang menyatakan jumlah likopen yang dianjurkan dalam sehari. Dari penelitian yang dilakukan oleh Agarwal dan Rao (1998) dilaporkan bahwa asupan likopen 40mg/hari dapat menurunkan oksidasi LDL secara bermakna dan menurunkan kanker sebesar 50%. Dari data lain didapatkan bahwa orang yang mengonsumsi tomat dan olahannya setidaknya sepuluh kali dalam seminggu atau 6,5 mg likopen per hari, mempunyai resiko yang lebih rendah untuk menderita kanker.

Sekarangnya ada 4 studi kohort yang telah melaporkan adanya hubungan antara konsumsi likopen dengan resiko kanker prostat. Giovannuci (1999) melaporkan bahwa terjadi penurunan resiko kanker prostat sebesar 21 persen pada pria yang mengonsumsi likopen dalam jumlah besar. Penelitian lain juga melaporkan bahwa populasi yang mengonsumsi likopen dalam jumlah tinggi mempunyai resiko 36 persen lebih rendah dibanding populasi yang mengonsumsi likopen sedikit. Gann dan kawan-kawan (1999) melaporkan bahwa pria dengan kadar likopen yang tinggi dalam darah beresiko lebih rendah 25 persen terkena kanker prostat(15). Menurut Arab & Steck (2000), likopen juga bermanfaat untuk mencegah penyakit jantung. Dalam

penelitian lain dinyatakan bahwa level likopen yang rendah di dalam darah berhubungan dengan meningkatnya ketebalan pembuluh darah sebesar 18%(15).

4. Toksisitas likopen

Menurut beberapa penelitian, tidak ada efek samping dari asupan likopen dan aman bagi manusia, terutama dari buah-buahan dan sayuran yang dimakan, sedangkan untuk likopen dalam bentuk suplemen belum diketahui efek samping potensialnya. Karena kandungan likopen yang tinggi dalam produk olahan, maka harus diperhatikan tingginya kadar garam yang terkandung dalam olahan tersebut(15).

C. ISOMERISASI CIS TRANS

Dalam kimia, isomerisme cis-trans atau isomerisme geometrik atau isomerisme konfigurasi adalah sebuah bentuk stereoisomerisme yang menjelaskan orientasi gugus-gugus fungsi dalam sebuah molekul. Secara umum, isomer seperti ini mempunyai ikatan rangkap yang tidak dapat berputar.

Selain itu, isomer ini juga muncul dikarenakan struktur cincin molekul yang menyebabkan perputaran ikatan sangat terbatas. Istilah "isomerisme geometrik" adalah istilah lama yang sudah tidak digunakan lagi dan merupakan sinonim dari "isomerisme cis-trans". Ia kadang-

kadang juga merupakan sinonim untuk stereoisomerisme umum (misalnya isomerisme optis); istilah yang tepat untuk stereoisomerisme non-optis adalah diastereomerisme.

Terdapat dua bentuk isomer cis-trans, yakni *cis* dan *trans*. Ketika gugus substituen berorientasi pada arah yang sama, diastereomer ini disebut sebagai *cis*, sedangkan ketika substituen berorientasi pada arah yang berlawanan, diastereomer ini disebut sebagai *trans*.

Isomer cis dan isomer trans sering kali memiliki sifat-sifat fisika yang berbeda. Perbedaan antara isomer pada umumnya disebabkan oleh perbedaan bentuk molekul atau momen dipol secara keseluruhan. Polaritas merupakan faktor kunci yang menentukan titik didih relatif senyawa karena ia akan meningkatkan gaya antar molekul, sedangkan simetri merupakan faktor kunci yang menentukan titik leleh relatif karena ia memungkinkan penataan molekul yang lebih baik pada bentuk padat. Oleh karena itu, trans-alkena yang kurang polar dan lebih simetris cenderung memiliki titik didih yang lebih rendah dan titik leleh yang lebih tinggi. Sebaliknya cis-alkena secara umum memiliki titik didih yang lebih tinggi dan titik leleh yang lebih rendah.

Salah satu contoh yang mempunyai isomer cis dan trans yaitu likopen. Kandungan Likopen dalam tomat segar sebagian besar terdapat dalam bentuk all-trans yang secara termodinamika merupakan bentuk yang stabil. Secara umum isomer cis bersifat lebih polar, mempunyai

kecenderungan lebih rendah untuk menjadi kristal, lebih larut dalam minyak dan pelarut hidrokarbon, lebih mudah bergabung dengan lipoprotein maupun struktur lipid subseluler, lebih mudah diserap tubuh tetapi bersifat kurang stabil dibanding isomer trans.

D. KROMATOGRAFI (8,9)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan teknik analisis yang paling cepat berkembang dalam analitik. Komponen-komponen KCKT terdiri dari pompa, injektor, kolom, detektor, dan integrator .

Kolom merupakan bagian penting dalam KCKT karena ikut menentukan keberhasilan analisis. Pemisahan bentuk cis dan trans dari suatu senyawa sebaiknya menggunakan kolom khusus yang disebut kolom kiral. Untuk mendapatkan kromatogram dengan 2 peak yang baik menggunakan fase gerak kiral. Umumnya fase gerak kiral berupa ikatan antar matriks silika contohnya siklodekstrin, oligosakarida. Dimana ikatan antar matriks ini akan membentuk ligan silindris.

E. VALIDASI (17)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk

membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

Parameter tersebut adalah :

1. Kecermatan (*Accuracy*)

Kecermatan adalah kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Syarat akurasi yang baik : 98 - 102%, untuk sample hayati (biologis/nabati) : $\pm 10\%$

2. Keseksamaan (*Precision*)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sample-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Pada metode yang sangat kritis, secara umum diterima bahwa standar deviasi relatif (RSD) harus lebih dari 2%.

Keseksamaan dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

- ❖ Hasil analisis adalah $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$ maka simpangan bakunya adalah

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

- ❖ Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

3. Selektivitas (*Specificity*)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel.

Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

4. Linearitas (*Linearity*)

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

Syarat Kelinearan Garis

1. Koefisien korelasi (r)

$$r \geq 0,9990$$

2. Jumlah kuadrat sisa masing-masing titik temu (r_i) mendekati nol(0)

$(r_i)^2$ sekecil mungkin ≈ 0

$$r_i = y_i - (bx_i + a)$$

3. Koefisien fungsi regresi (V_{x_0})

$V_{x_0} \leq 2,0\%$ (sediaan farmasi)

$\leq 5,0\%$ (sediaan biologi)

4. Kepekaan analisis ($\Delta y/\Delta x$)

$$V_y/V_x = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \approx \frac{y_3 - y_2}{x_3 - x_2} \approx \frac{y_4 - y_3}{x_4 - x_3} \approx \frac{y_n - y_{n-1}}{x_n - x_{n-1}}$$

5. Rentang (*Range*)

6. Batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

a. Batas deteksi (Q)

Karena $k = 3$ atau 10

Simpangan baku (S_b) = $\frac{S_y}{x}$, maka $Q = \frac{3S_y/x}{S_1}$

b. Batas kuantitasi (Q)

$$Q = \frac{10S_y/x}{S_1}$$

7. Ketangguhan

8. Kekuatan

BAB III

BAHAN, ALAT & CARA KERJA

A. Bahan

1. Saus tomat X
2. Standar Likopen
3. Sodium klorida jenuh
4. n-Heksana (Merck®)
5. Aseton (Merck®)
6. Diklorometana (Merck®)
7. Metanol (Merck®)
8. Asetonitril (Merck®)
9. Sodium sulfat anhidrat
10. Etanol (Merck®)
11. Aquadest (Otsuka®)

B. Alat

1. Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detector UV-Vis Shimadzu SPD-6AV , kolom stainless steel C18 RP dengan panjang 25 cm.
2. Spektrofotometri Jasco V-360
3. Pengocok homogen
4. Sentrifugator dan tabung sentrifugasi
5. Timbangan analitik (Acculab®) dan alat-alat gelas

6. Inkubator (Imperial III®)

C. Cara Kerja

1. Penyiapan standar likopen

a. Penanganan standar likopen

Standar likopen yang didapat berupa serbuk yang ter-*coating*. Oleh karena itu dalam analisis ini likopen harus dipisahkan dari lapisan *coating*-nya.

Lapisan *coating* tersebut larut dalam air, sedangkan likopen adalah senyawa non polar yang tidak larut air. Serbuk standar likopen disonikasi selama ± 5 menit dalam pelarut air sampai terdapat endapan yang tidak larut lagi, cukupkan volumenya sampai 25,0 mL. Lalu secara seksama larutan tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL, dibilas dengan air menggunakan labu ukur yang sama sebanyak 3 kali dan ditambahkan 20 mL diklorometana untuk menarik likopen.

Setelah dikocok-kocok perlahan selama 10-15 menit, diamkan sampai terbentuk 2 lapisan dimana lapisan air dibagian bawah dan lapisan diklorometana bagian atas. Lapisan air ditampung di erlemeyer pertama dan lapisan diklorometana ditampung di erlemeyer kedua, lalu lapisan air pada erlemeyer pertama dimasukkan ke corong pisah dan tambahkan 20 mL diklorometana,

kocok selama 10-15 menit dan diamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan air tersebut ditampung pada erlemeyer pertama dan lapisan diklorometana ditampung pada erlemeyer kedua dan selanjutnya ulangi seperti langkah di atas sampai warna merah pada lapisan air memudar, kemudian lapisan air dibuang dan lapisan diklorometana ditampung, kemudian tambahkan sodium sulfat anhidrat, vorteks beberapa menit, diamkan. Selanjutnya lapisan diklorometana ditampung ke dalam cawan penguap ukuran 50 mL yang sebelumnya telah ditimbang berat konstananya. Keringkan di dalam lemari asam selama \pm 15 menit. Setelah itu didapat ekstrak yang lengket berwarna merah coklat.

Hasil ekstraksi standar likopen ditimbang. Kemudian dihitung % perolehan kembalinya dan sesuaikan dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis (CA)*.

b. Pembuatan larutan induk standar likopen

Larutan induk standar likopen dibuat dengan melarutkan standar likopen yang ditimbang seksama sebanyak 100 mg kedalam labu ukur 25,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan diklorometana.

2. Optimasi kondisi analisis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Dibuat larutan standar likopen 200 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara menimbang serbuk standar likopen sebanyak 100 mg, lalu dicukupkan

volumenya dalam labu ukur 25,0 mL menggunakan diklorometana, sehingga didapat larutan standar 200 µg/mL. Larutan standar 200 µg/mL tersebut dipipet sebanyak 1,0 mL ke dalam labu ukur 5,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan diklorometana sehingga didapat larutan standar likopen 40 µg/mL.

Larutan standar likopen 40 µg/mL diukur serapannya dengan spektrofotometri menggunakan *range* λ 200 – 800 nm. Setelah itu ditentukan λ max-nya.

b. Pemilihan fase gerak untuk analisis

Larutan standar likopen dengan konsentrasi 40 µg/mL disuntikkan sebanyak 20,0 µL ke dalam injektor KCKT dengan menggunakan kombinasi asetonitril - diklorometana - metanol yang perbandingannya bervariasi, yaitu (70:20:10) ; (50:40:10) ; (47,5:42,5:10). Kecepatan alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit. Setelah itu ditentukan variabel-variabel keefektifan kolom yaitu N, HETP, *tailing factor* (Tf), dan resolusi. Penyuntikkan larutan standar likopen tersebut diulang sebanyak 1 kali, jadi total penyuntikkan adalah 2 kali (duplo).

c. Analisis isomerisasi cis/trans dengan HPLC (3)

Fase gerak : Asetonitril–Diklorometana–Metanol = 47,5:42,5:10

Detektor : UV-Vis shimadzu SPD - 6AV.

3. Validasi metode analisis

a. Pembuatan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas

Konsentrasi yang digunakan yaitu 2,56; 2,88; 3,2; 5,76; 7,2; dan 8,0 µg/mL.

Data serapan di plot ke dalam sebuah kurva kalibrasi. Setelah itu dihitung faktor-faktor kelinearan garis, yaitu r, r_i^2, V_{x_0} dan $\Delta y / \Delta x$.

b. Penentuan LOQ & LOD

Dengan metode statistik, LOD dan LOQ ditentukan dari hasil kurva kalibrasi yang didapat. Rumus untuk perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$LOD = \frac{3 S_y / x}{b} \qquad LOQ = \frac{10 S_y / x}{b}$$

dimana b merupakan nilai kemiringan (*slope*) dari persamaan kurva kalibrasi $y_i = bx + a$

c. Uji presisi

Larutan standar likopen dengan konsentrasi 2,56 µg/mL; 3,2 µg/mL; dan 8,0 µg/mL disuntikkan masing-masing 5 kali dengan menggunakan kombinasi eluen yang terpilih.

d. Uji perolehan kembali (UPK)

UPK ini dilakukan dengan cara adisi. Saus tomat dibagi dua bagian dan dipisahkan. Pada bagian pertama, tambahkan 1,0 mL larutan standar likopen 63,49; 79,36; 95,23 µg/mL , aduk hingga homogen.

Pada bagian kedua tidak ditambah standar. Lalu kedua bagian tersebut sama-sama diekstraksi dengan perlakuan yang sama.

Setelah diekstraksi, masing-masing dibuat larutannya dalam 25,0 mL diklorometana. Kemudian disuntikkan sebanyak 20,0 μ L ke injektor menggunakan kombinasi eluen terpilih. Serapan yang dihasilkan dicatat, kemudian dihitung konsentrasi masing-masing bagian, dan dihitung UPK-nya.

$$UPK = \frac{C2 - C1}{s} \times 100\%$$

C1 = kadar likopen pada bagian yang tidak ditambah standar

C2 = kadar likopen pada bagian yang ditambah standar

S = kadar standar likopen yang ditambahkan

4. Analisis Likopen dalam sampel saus tomat

a. Ekstraksi likopen dari saus tomat

Masukkan \pm 1,0 g saus tomat ke dalam 15 mL tabung sentrifugasi bertutup. Bahan padat tersebut dikocok dengan 2 mL etanol kemudian sampai menghasilkan larutan yang keruh. Selanjutnya larutan keruh tersebut dibuang, residunya dikocok lagi dengan 2 mL etanol. Ulangi tahap pengocokan 3 kali. Selanjutnya kocok residunya dengan 2 mL diklorometana dan pindahkan supernatannya ke dalam tabung sentrifugasi kedua. Kemudian

ulangi tahap pengocokan residu padat dengan 2 mL diklorometana 4 kali. Supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu ukur 25,0 mL dan dicukupkan dengan diklorometana hingga batas. Bagan ekstraksinya dapat dilihat pada Gambar 3.

b. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada standar likopen dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton (3).

Masukkan ekstrak likopen yang diperoleh dari ekstraksi $\pm 50,0$ mg standar likopen dan $\pm 1,0$ mL n-heksana ke dalam tabung sentrifugasi bertutup. Kemudian inkubasi dengan suhu 37°C , 15 menit dalam inkubator. Lakukan kembali tahap inkubasi ini dengan waktu 30 menit; 45 menit serta suhu 65°C dengan 3 variasi waktu. Ulangi point b dengan menggunakan $\pm 1,0$ mL n-heksana-metanol (25:75), aseton.

c. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada sampel dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton (3).

Masukkan ekstrak likopen yang diperoleh dari ekstraksi $\pm 1,0$ g saus tomat dan $\pm 1,0$ mL n-heksana ke dalam tabung sentrifugasi bertutup. Kemudian inkubasi dengan suhu 37°C , 15 menit dalam inkubator. Lakukan kembali tahap inkubasi ini dengan waktu 30 menit; 45 menit serta suhu 65°C dengan 3 variasi waktu.

Ulangi point c dengan menggunakan $\pm 1,0$ mL n-heksana-metanol
(25:75),aseton.



BAB IV

HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Penyiapan standar likopen

Ekstrak standar likopen yang didapat berupa cairan berwarna merah coklat. Dari ekstraksi standar likopen didapat % perolehan kembali sebesar 4,91 %. Tidak berbeda secara bermakna dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis* (CA), yaitu 5,1 %. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Untuk selanjutnya, penimbangan standar likopen menggunakan hasil konversi yang didapat dari perhitungan tersebut.

2. Optimasi kondisi analisis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Pada awal penelitian, dicari panjang gelombang maksimum untuk analisis likopen dalam pelarut diklorometana. Dari kurva serapan yang dibuat, panjang gelombang maksimum yang didapat 514 nm. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4

b. Pemilihan fase gerak untuk analisis

Digunakan komposisi fase gerak asetonitril – diklorometana – metanol dengan perbandingan masing-masing (70:20:10), (50:40:10), dan (47,5:43,5:10), kecepatan alir 1,0 mL/menit.

Dari hasil percobaan dipilih fase gerak asetonitril – diklorometana – metanol (47,5:42,5:10). Hasil percobaan dapat dilihat pada Gambar 5, 6, 7 dan Tabel 2.

3. Validasi metode analisis

a. Pembuatan kurva kalibrasi dan Pengujian linearitas

Persamaan garis linear untuk likopen adalah $y = 80740x + 40673$ dengan koefisien korelasi, r , adalah 0,9990. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8 dan Tabel 3.

b. Penentuan LOD & LOQ

Batas deteksi dan kuantitasi likopen berturut-turut yaitu 0,3478 $\mu\text{g/mL}$ dan 1,1590 $\mu\text{g/mL}$. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.

c. Uji presisi

Larutan likopen dengan konsentrasi 2,56 $\mu\text{g/mL}$; 3,2 $\mu\text{g/mL}$; dan 8,0 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing memberikan nilai koefisien variasi berturut-turut 1,46%, 2,5% dan 2,1%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.

d. Uji perolehan kembali (UPK)

Hasil uji perolehan kembali likopen dengan penambahan standar likopen 63,49 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 102,3%; 100,74%; dan 101%, pada penambahan standar likopen 79,363 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 99,7%; 100,32%;

dan 100,86%, dan pada penambahan standar likopen 95,23 µg/mL yaitu 85,1%; 85,5%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

4. Analisis Likopen dalam sampel

- a. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada standar likopen dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), dan aseton
Pengaruh penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), dan aseton dapat menginduksi terbentuknya isomer cis likopen. Dari data yang didapat, perbandingan yang paling baik adalah setelah penambahan aseton pada suhu 37°C selama 15 menit yaitu 1:47,2. Semakin kecil perbandingan yang diperoleh semakin besar isomer cis yang terbentuk. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9-17 dan Tabel 8, 10.
- b. Optimasi waktu dan suhu inkubasi pada sampel dengan penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), dan aseton.
Pengaruh penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), dan aseton dapat menginduksi terbentuknya isomer cis likopen. Dari data yang didapat, perbandingan yang paling baik adalah setelah penambahan aseton pada suhu 37°C selama 45 menit yaitu 1:44,2. Semakin kecil perbandingan yang diperoleh semakin besar isomer cis yang terbentuk. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 19-36 dan Tabel 9, 11.

- c. Penetapan kadar trans likopen setelah penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton

Kandungan likopen paling besar yang diperoleh dari ekstraksi sampel yaitu 17,9 µg/100mg

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7.

B. PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan berupa saus tomat. Penulis hanya menggunakan satu merek dan pemilihan mereknya berdasarkan harga yang paling mahal pada supermarket yang dikunjungi. Dikarenakan likopen mudah teroksidasi dan terurai oleh pengaruh cahaya, panas, dan faktor-faktor lainnya oleh karena itu analisisnya dilakukan secepat mungkin.

Pada penelitian ini, penulis tidak menggunakan standar likopen murni melainkan bentuk *ter-coating* dikarenakan standar likopen murni harganya mahal.

1. Penanganan standar likopen

Sebelum melakukan analisis, standar likopen harus dipisahkan dari lapisan *coating*-nya. Lapisan *coating*-nya dapat larut dalam air sedangkan likopen tidak larut dalam air. Oleh karena itu, pemisahannya dilakukan di corong pisah menggunakan dua pelarut

yaitu aquadest dan diklorometana. Likopen akan tertarik pada lapisan diklorometana.

Setelah lapisan air dipisahkan dari lapisan diklorometana kemudian tambahkan Sodium Sulfat anhidrat pada lapisan diklorometana untuk menjamin tidak adanya lapisan air didalam ekstrak. Selanjutnya ukur dengan Spektrofotometri, didapat panjang gelombang maksimum 454, 481, 514 nm. Panjang gelombang yang dipilih 514nm karena panjang gelombang pada literatur 513 nm. Nilainya sedikit berbeda dari literatur mungkin disebabkan kesensitifan alat.

Sebelum larutan standar disuntikkan, dicoba suntik larutan blanko, dimana hanya pelarutnya saja tanpa ada likopen. Ternyata larutan blanko tidak menghasilkan puncak pada panjang gelombang 514 nm.

Pada pemilihan fase gerak asetonitril-diklorometana-metanol dengan variasi perbandingan, penulis memilih perbandingan 47,5:42,5:10 dengan mempertimbangkan waktu retensinya yang cepat 5,033 menit selain itu puncak yang dihasilkan lebih baik dibanding perbandingan yang lainnya.

2. Validasi metode untuk analisis

Validasi yang dilakukan pertama kali adalah pembuatan kurva kalibrasi. Tujuan pembuatan kurva kalibrasi ini adalah untuk mengetahui kelinieran hubungan antara konsentrasi likopen dengan

area yang dihasilkannya (hukum Lambert-Beer). Koefisien korelasi, r , yang semakin mendekati 1 berarti semakin linier.

Dari keenam konsentrasi yang digunakan, diperoleh koefisien korelasi, $r = 0,9990$. Jadi kurva kalibrasinya cukup linier. Faktor-faktor yang mempengaruhinya antara lain penimbangan, kondisi pembuatan larutan, penyuntikkan, dan lain-lain sehingga tidak bisa diperoleh koefisien korelasi sebesar 0,9999. Dari kurva kalibrasi tersebut juga didapat batas deteksi dan kuantitasi masing-masing 0,3478 dan 1,1590 $\mu\text{g/mL}$.

Setelah pembuatan kurva kalibrasi, dilakukan uji presisi. Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui hasil keterulangan penyuntikkan satu larutan dalam satu hari. Dari tiga konsentrasi yang digunakan, diperoleh hasil koefisien variasi, KV, yang tidak terlalu bagus. Namun bila dilihat pada tabel hasil, untuk semua konsentrasi hasil perhitungan konsentrasi pengukurannya tidak sesuai atau berbeda cukup jauh dengan konsentrasi yang sebenarnya. Hal ini dikarenakan uji presisi untuk konsentrasi di atas dilakukan sehari setelah pembuatan kurva kalibrasi. Perbedaan waktu percobaan uji kurva kalibrasi dan uji presisi ini disebabkan keterbatasan waktu dan tenaga. Uji perolehan kembali (UPK) dilakukan dengan metode adisi. UPK dengan metode adisi kurang akurat bila dibandingkan dengan metode simulasi. Namun percobaan ini juga tidak mungkin dilakukan dengan metode simulasi

3. Pengaruh penambahan larutan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75) dan aseton

Pada awalnya penulis ingin mengoptimasi suhu dan waktu inkubator, tetapi dikarenakan suhu inkubatornya tidak boleh diubah sehingga optimasi suhu 37°C menggunakan inkubator sedangkan pada suhu 65°C menggunakan oven. Kondisi optimum yang diperoleh standar yaitu pada saat setelah penambahan aseton pada suhu 37°C selama 15 menit sedangkan kondisi optimum saus tomat diperoleh pada saat setelah penambahan aseton pada suhu 37°C selama 45 menit. Kromatogram baik dari standar maupun sampel setelah penambahan n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton mengalami pelebaran. Hal ini diindikasikan mungkin terdapatnya kromatogram isomer cis didalam isomer trans. Hal ini disebabkan karena kolom yang digunakan bukan kolom khusus untuk memisahkan isomer-isomer sehingga pemisahan isomer trans dan cis likopenya kurang baik.

Penetapan kadar trans likopen saus tomat X menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi standar likopen. Hasil perhitungan didapat variasi kadar trans likopen. Faktor-faktor yang mempengaruhi variasi kadar tersebut antara lain penimbangan, cara ekstraksi, waktu inkubasi.

Kromatogram likopen hasil ekstraksi standar maupun sampel terdapat puncak lain selain puncak likopen. Penulis tidak dapat menyimpulkan puncak lain tersebut adalah puncak pengotor atau bagian puncak likopen yang terdegradasi.



BAB V

KESIMPULAN & SARAN

A. Kesimpulan

- Kondisi optimum reaksi isomerisasi pada saus tomat X diperoleh setelah penambahan aseton pada suhu 37°C selama 45 menit dengan perbandingan cis : trans yaitu 1 : 44,2.
- Kadar trans likopen dari saus tomat X tertinggi diperoleh pada saat penambahan aseton 37°C selama 30 menit yaitu sebesar 17,9 µg/100mg.

B. Saran

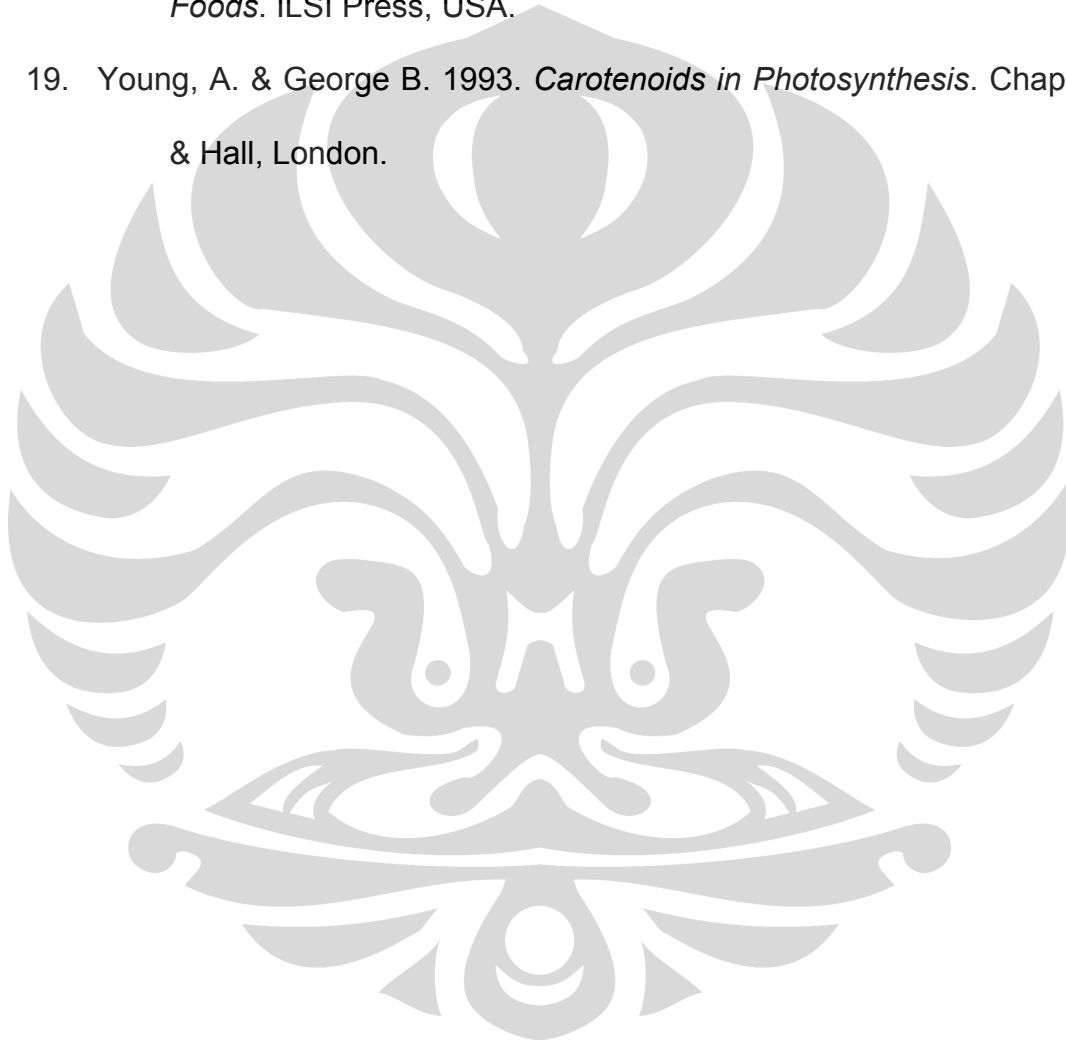
1. Untuk penelitian berikutnya sebaiknya menggunakan kolom khusus untuk memisahkan isomer-isomer seperti kolom kiral.
2. Lebih dioptimalkan kondisi inkubasi baik dari variasi waktu maupun suhu inkubasinya.
3. Sebaiknya menggunakan campuran fase gerak yang murah dan tidak mudah menguap untuk mencegah waktu retensinya berubah-ubah.
4. Pengerjaannya sedapat mungkin cepat dan tidak didiamkan untuk keesokan harinya.

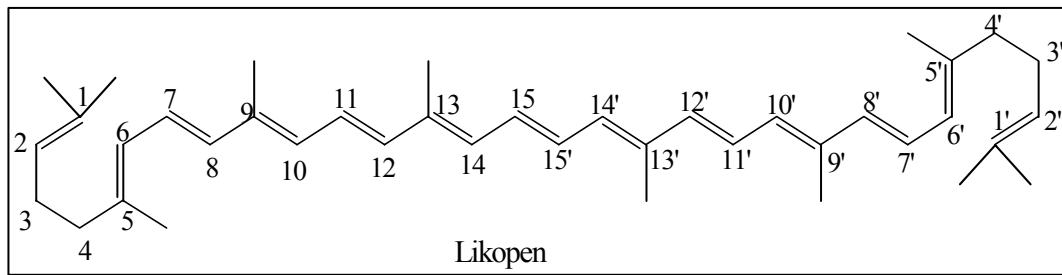
DAFTAR PUSTAKA

1. Sies Helmut, Hanusch Michael. Triplet Carbonyl Species Generated from 3-Hidroxyethyl-3,4,4-Trimethyl-1,2-dioxetane(HTMD) induce on cis/trans Isomerization of Carotenoids. University Dusseldorf-Moorenstrabe Germany : 312-315.
2. Anonim. Clarke's. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material. 2nd edition. London : The Pharmaceutical Press. 1986 : 428.
3. Anonim. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995 : 168.
4. Ping Yuan Jian and Chen Feng. Isomerization of trans-Astaxanthin to cis-Isomers in Organic Solvents. Departement of Botany, The University of Hong Kong. *J Agric and Food Chem*, 1999 : 3656-3660.
5. O'Neil, Maryadale J. (editor). 2006. The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drgs and Biologicals. 14th Edition. N.J., USA : Merck & Co.,Inc.,Hal : 974-975.
6. David Harvey, Modern Analytical Chemistry, 2000. McGraw-Hill, New York, Hal : 578 – 589.
7. Francis Rouessac and Annick Rouessac, Chemical Analysis : Modern Instrumentation Methods and Techniques, 2007, John Wiley & Sons, Chichester, Hal : 63-89.

8. Gartner Christine, Stahl Wilhelm, Sies Helmut. 1997. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than fresh tomatoes. *Am Soc for Clin Nutr.* 66; 116-122.
9. Unlu Nuray Z, Bohn Torsten, et all. 2007. Lycopene from heat induced cis-isomers rich tomato sauce is more bioavailable than from all-trans rich tomato sauce in human subjects. *Brit J of Nutr.* 98; 140-146.
10. Febriansah Rifki, Indriyani Luthfia, Diah Palupi Kartika, Ikawati Muthi, Tomat (*Solanum lycopersicum L*) sebagai agen kemopreventif potensial, Yogyakarta. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
11. Tjitrosoepomo, Gembong. 1991. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). UGM : Gadjah Mada University Press. Hal : 354.
12. DeMan, John M. 1997. Kimia Makanan. Edisi 2. Bandung : Penerbit ITB. Hal : 262-272.
13. I.D.L. Pavia, G. M. Lampman and G.S. Kriz, J.R. 1976. Introduction to Organic Laboratory Techniques, W. B. Saunders Company.
14. Harmita. Buku Ajar Analisis Fisikokimia. Departemen Farmasi FMIPA UI. 2006 :78 - 86.
15. Likopen sebagai senyawa fitonutrien, dari <http://eternalmovement.blogspot.com/2004/08/likopen-sebagai-senyawa-fitonutrien.html>. Tanggal 24 Desember 2008.
16. Experiment Isolation and Isomerization of Lycopene from Tomato Paste, [http://web3.Experiment%201%20\(UV,VIS%20of%20Lycopene](http://web3.Experiment%201%20(UV,VIS%20of%20Lycopene).

17. Harmita.2006. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.
Hal : 1-35.
18. Rodriguez-Amaya & Delia B. 2001. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. ILSI Press, USA.
19. Young, A. & George B. 1993. *Carotenoids in Photosynthesis*. Chapman & Hall, London.

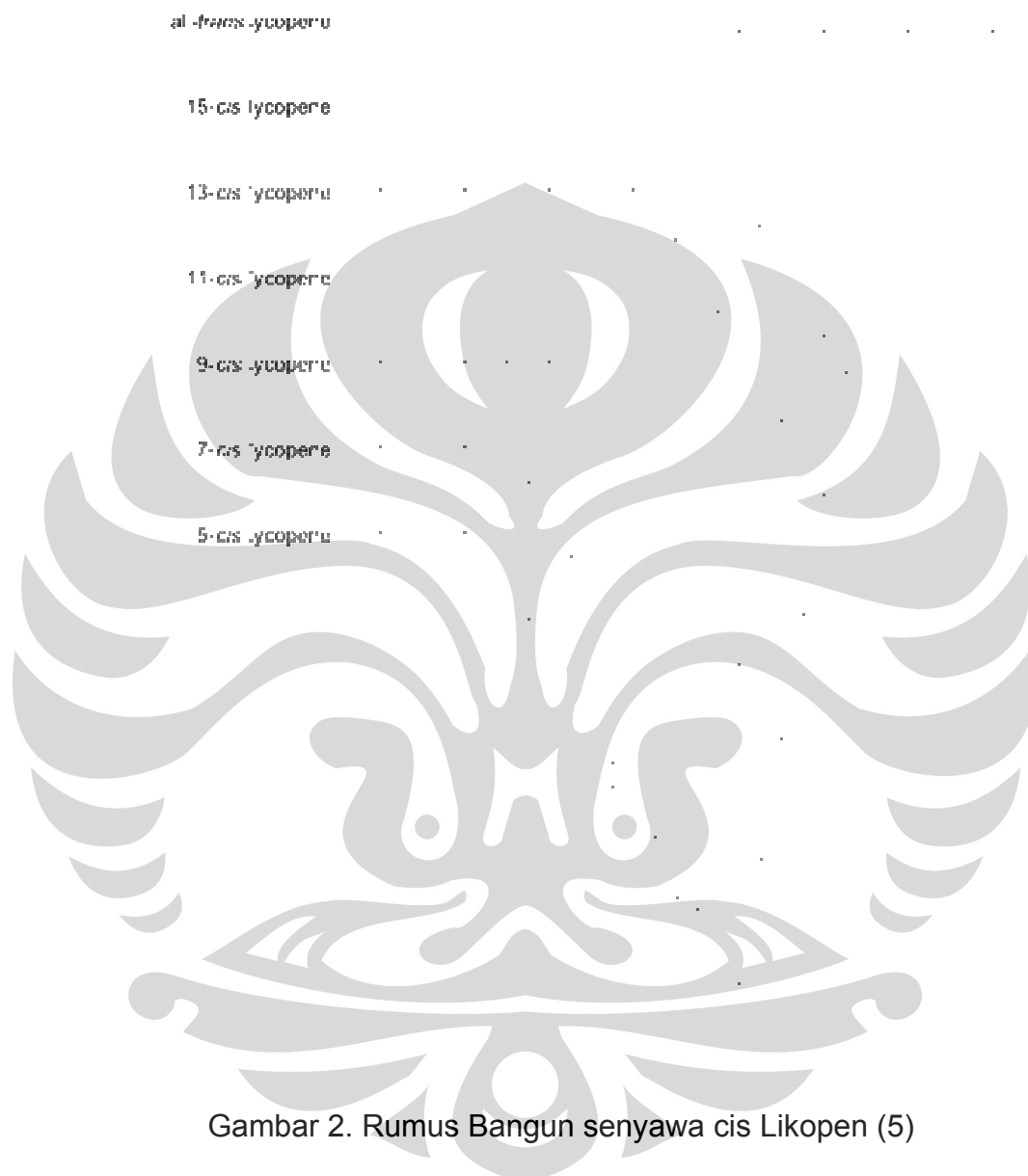




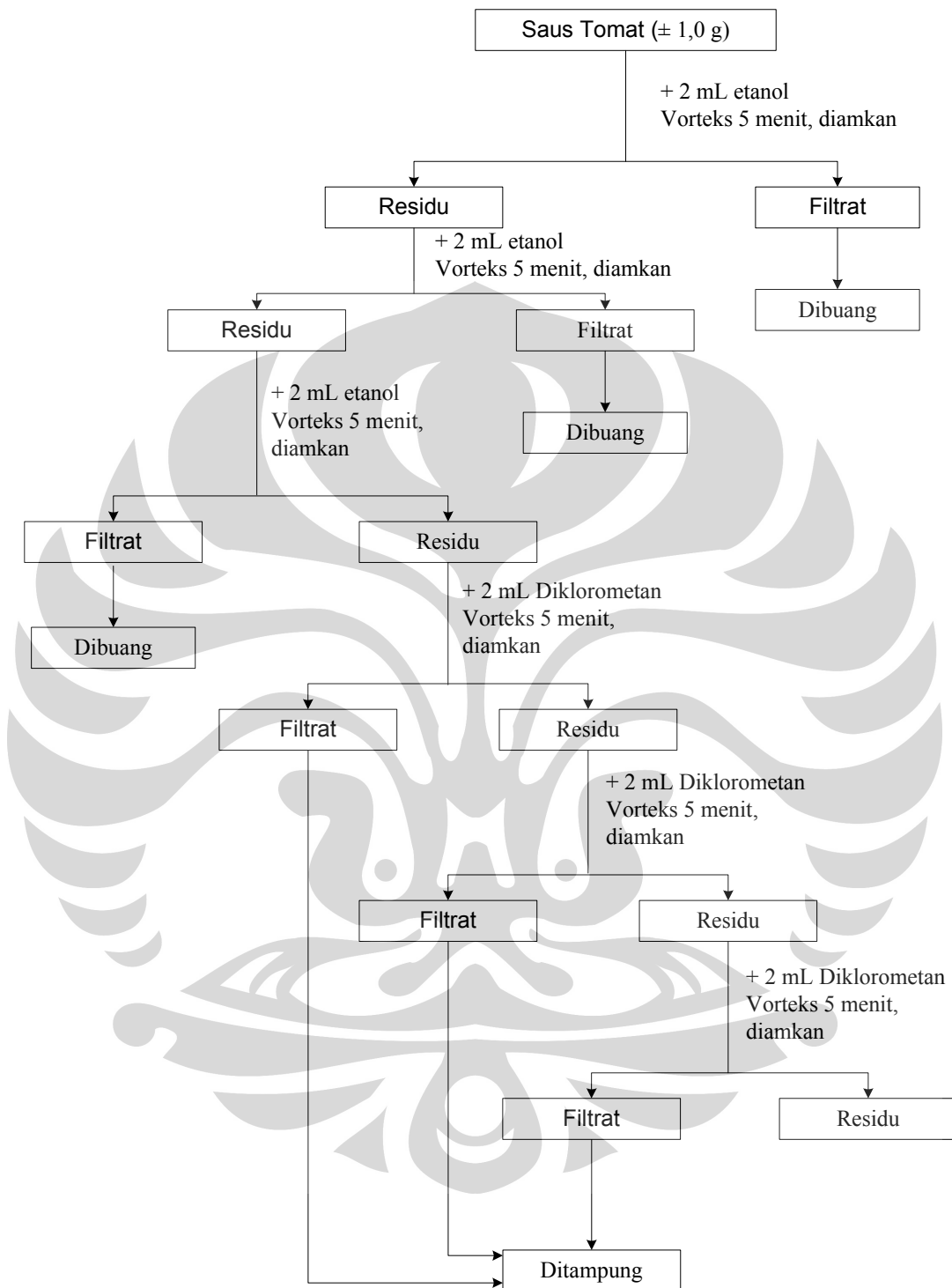
Gambar 1. Rumus Bangun senyawa All-trans Likopen (5)



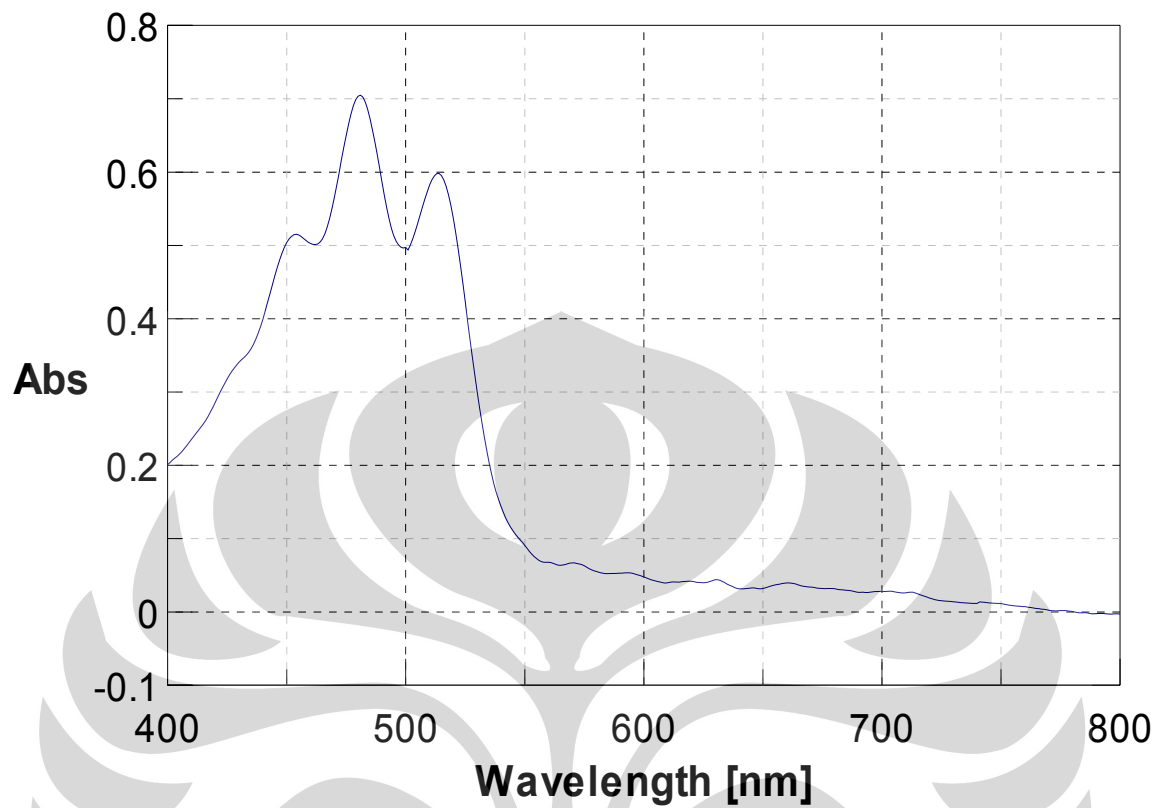
Geometrical isomers of lycopene



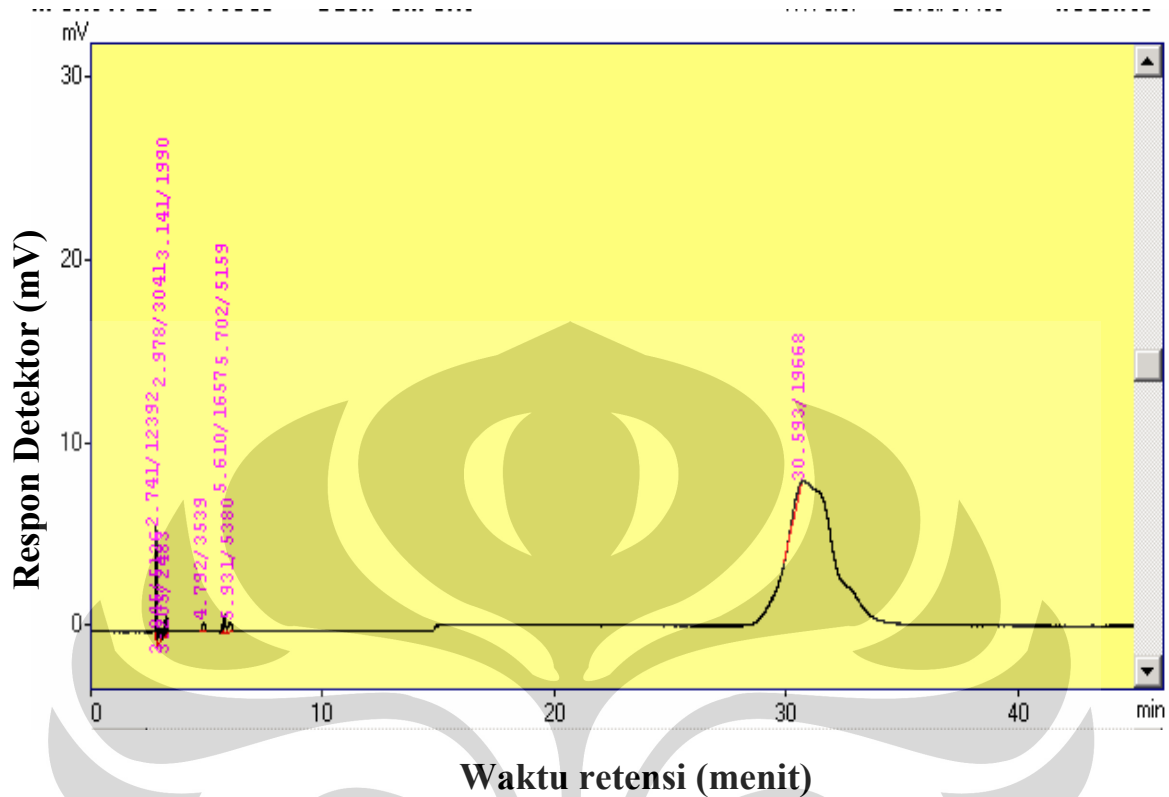
Gambar 2. Rumus Bangun senyawa cis Likopen (5)



Gambar 3. Bagan Ekstraksi Likopen dari Saus Tomat



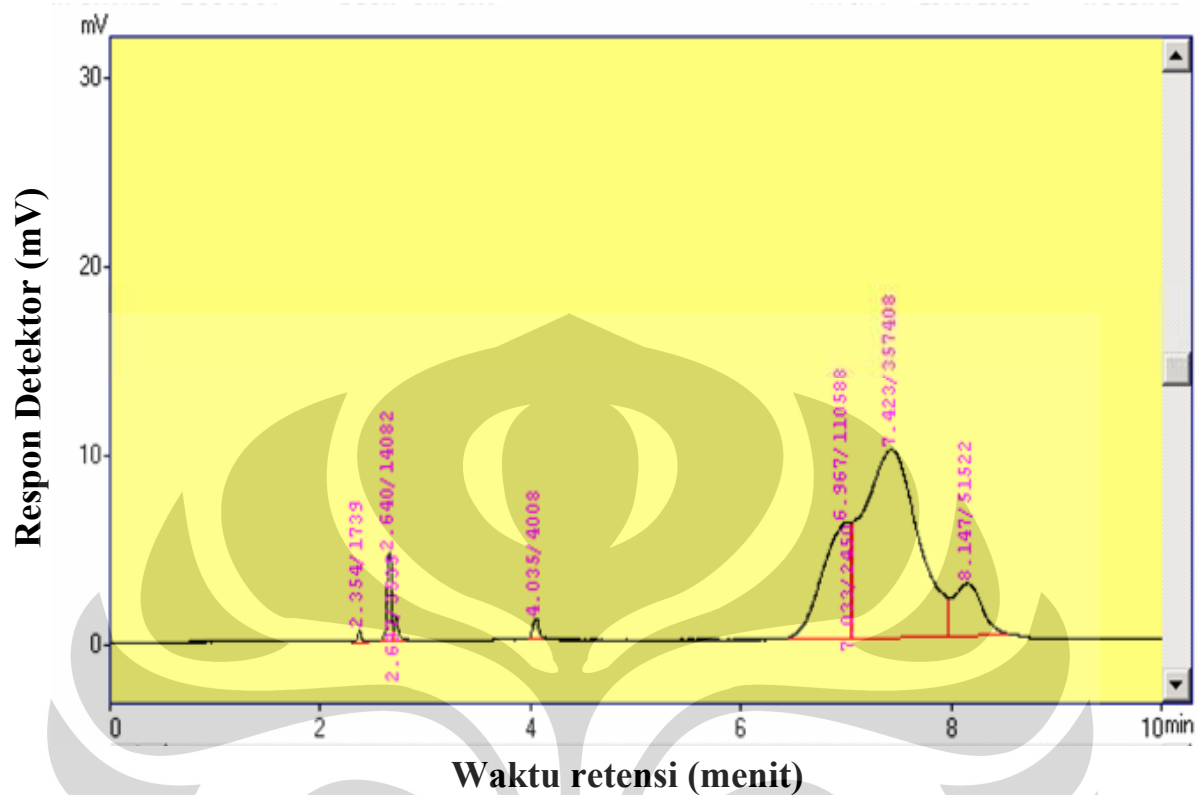
Gambar 4. Spektrum serapan standar likopen 40 $\mu\text{g/mL}$ dalam diklorometana



Gambar 5. Kromatogram larutan standar likopen 40 $\mu\text{g/mL}$ dalam diklorometana.

Kondisi analisis :

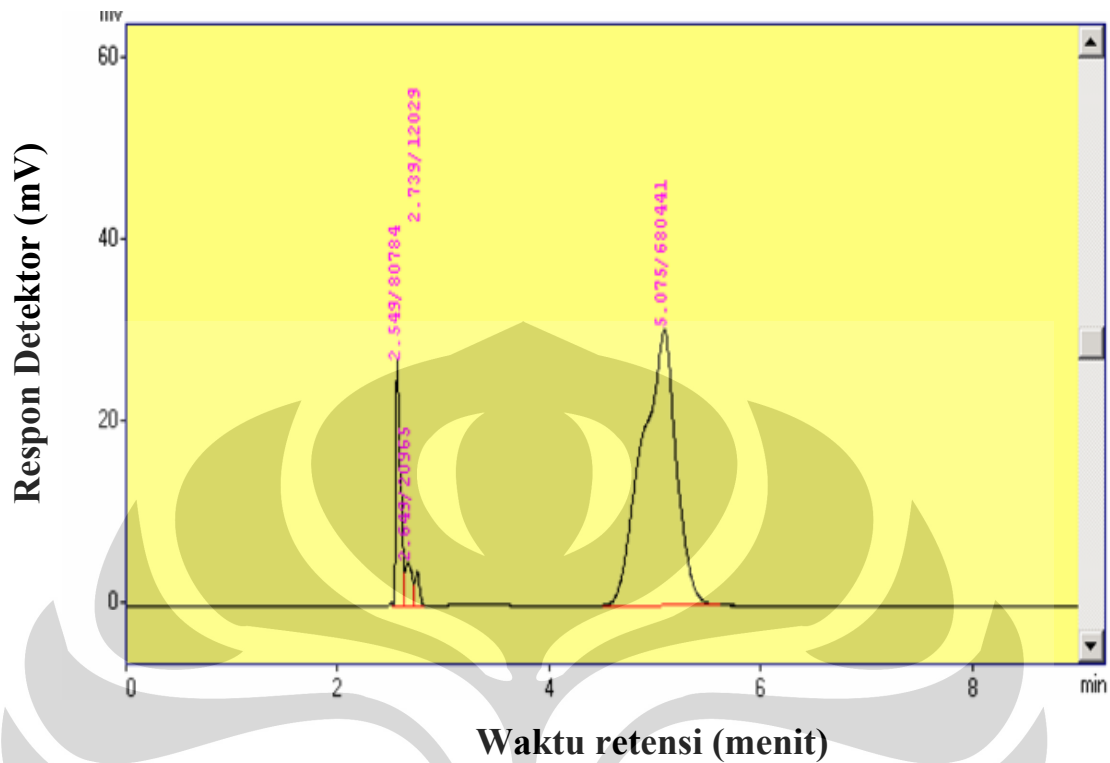
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril-diklorometana-metanol (70:20:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 6. Kromatogram larutan standar likopen 40 $\mu\text{g/mL}$ dalam diklorometana.

Kondisi analisis :

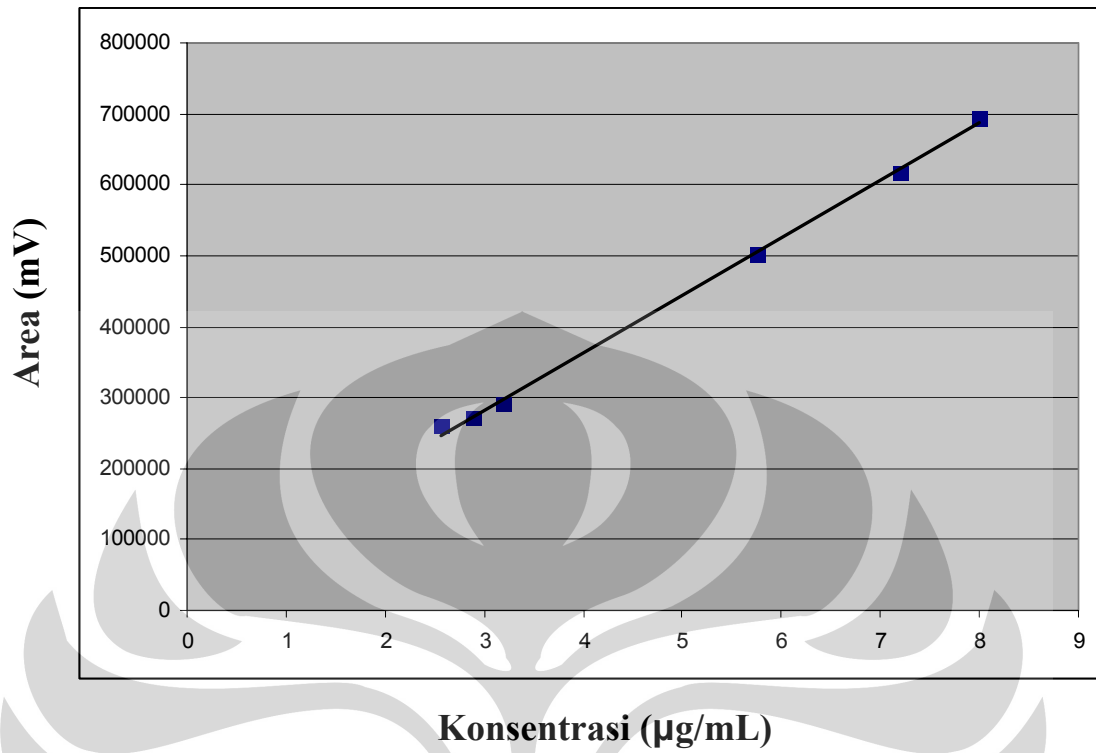
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (50:40:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 7. Kromatogram larutan standar likopen 40 $\mu\text{g/mL}$ dalam diklorometana.

Kondisi analisis :

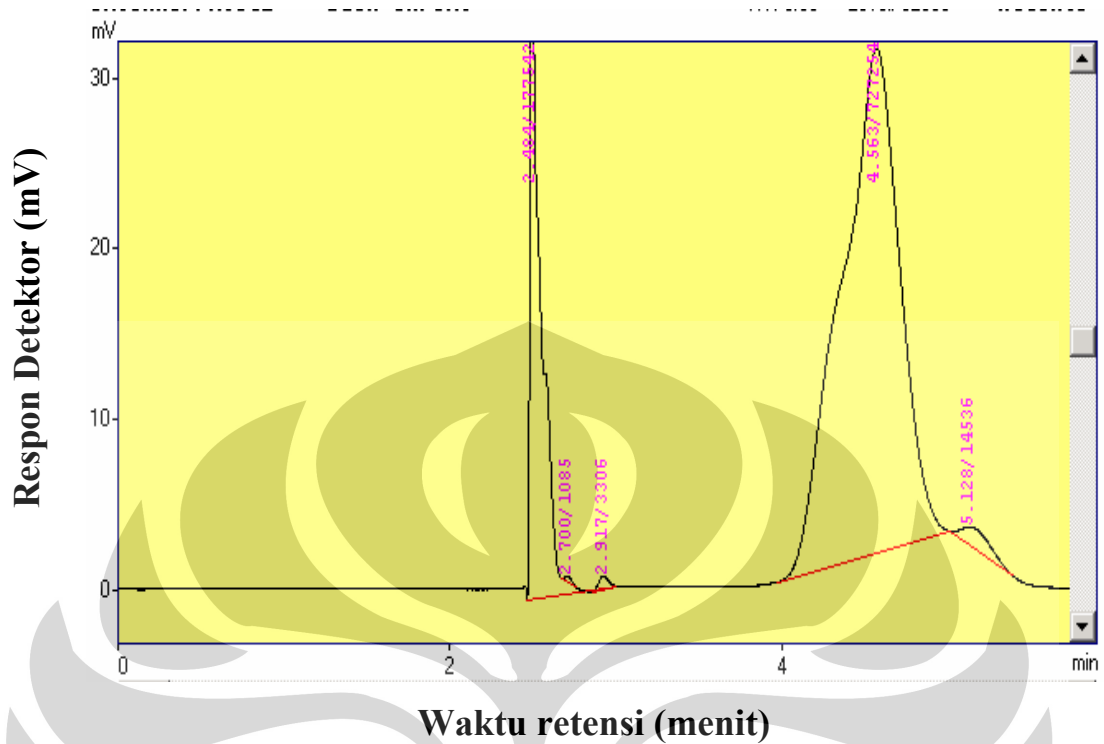
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 8. Kurva kalibrasi standar likopen

Keterangan :

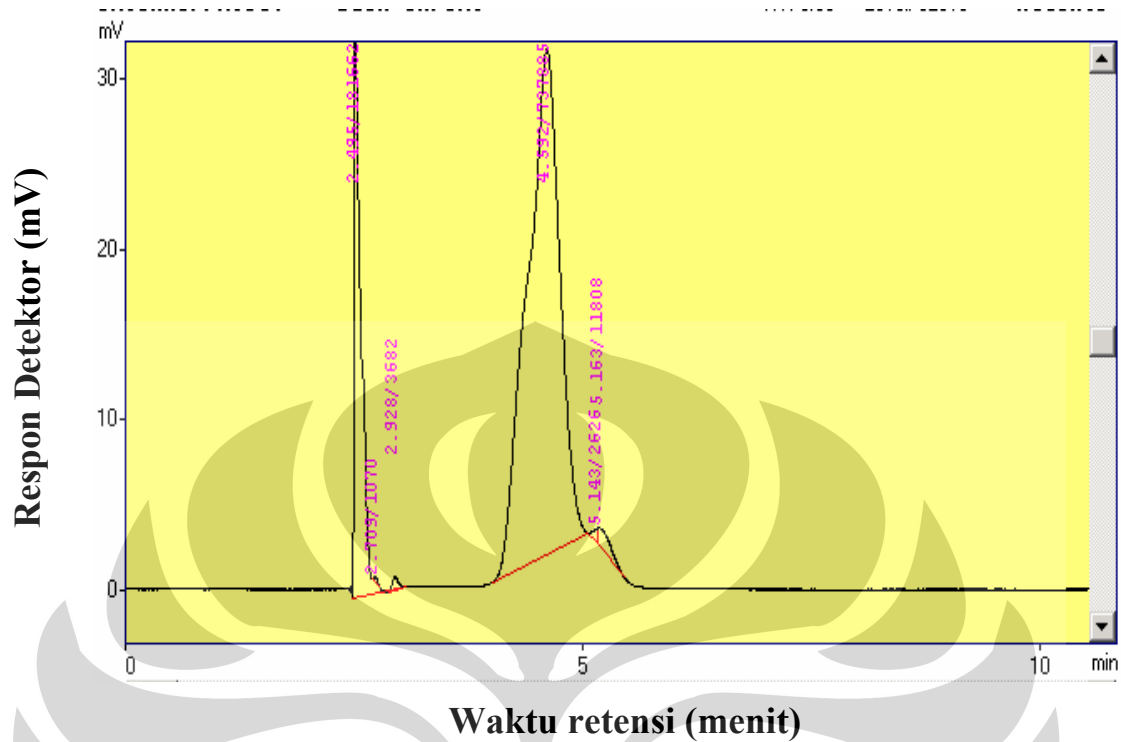
Persamaan kurva kalibrasi : $y = 80740x + 40673$, dengan koefisien korelasi $r = 0,9990$



Gambar 9. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

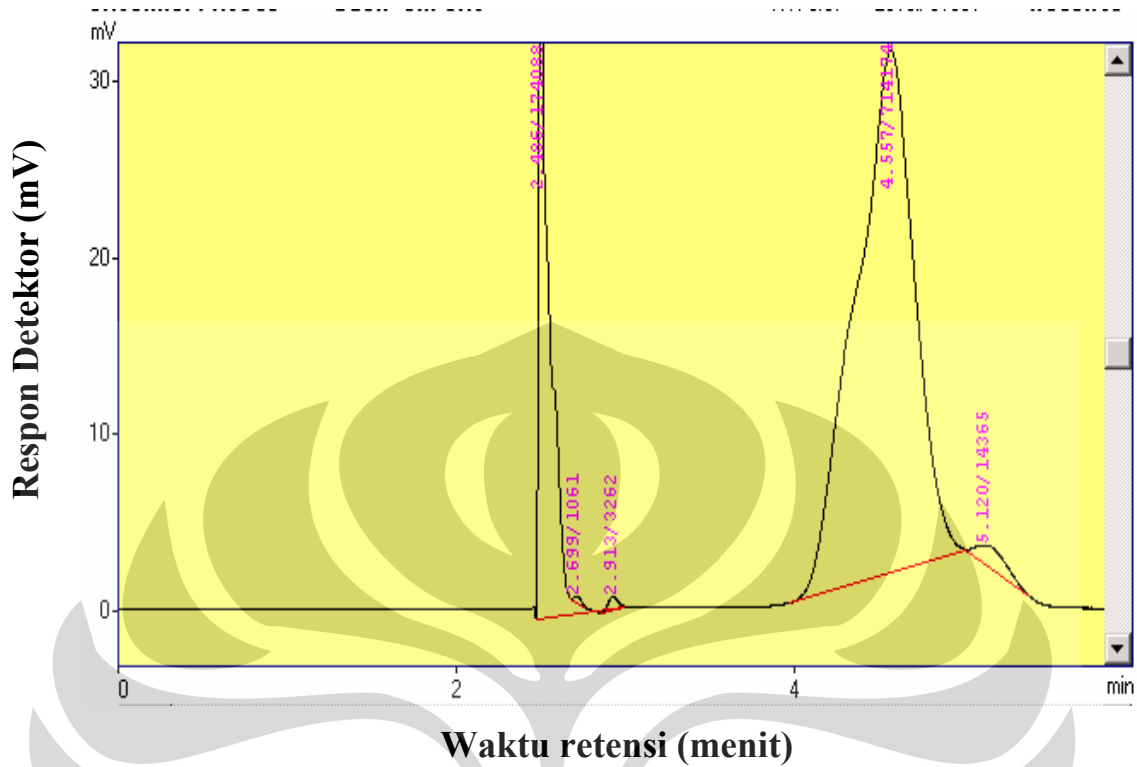
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 10. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

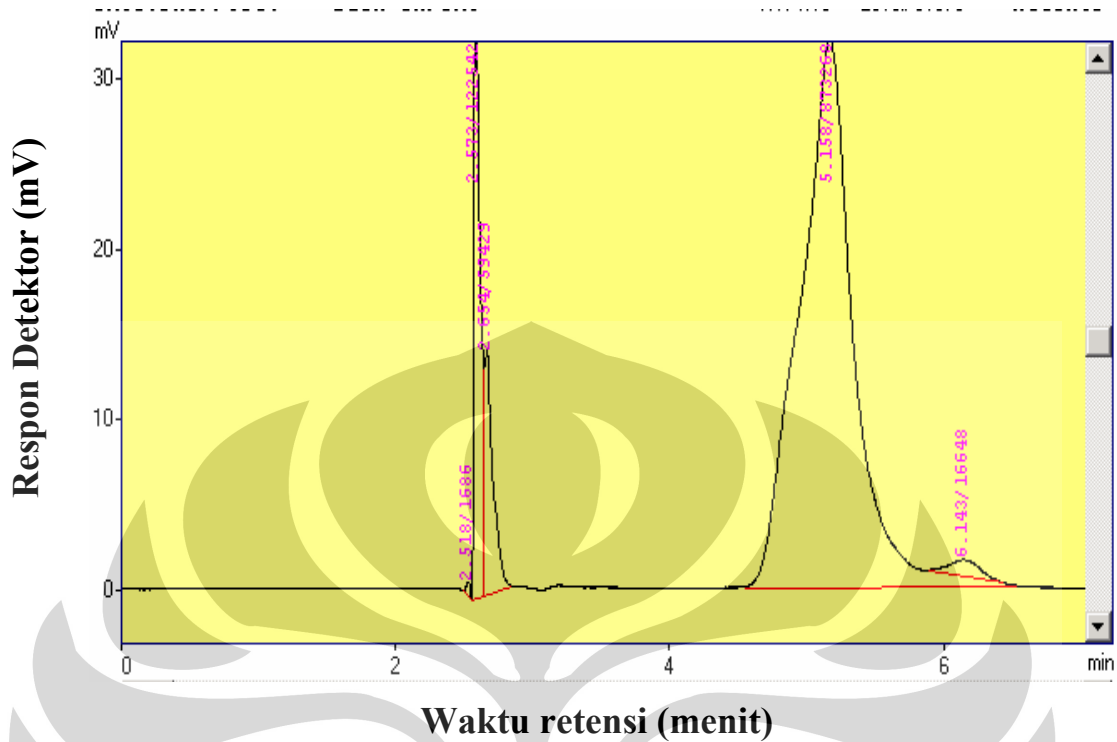
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 11. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

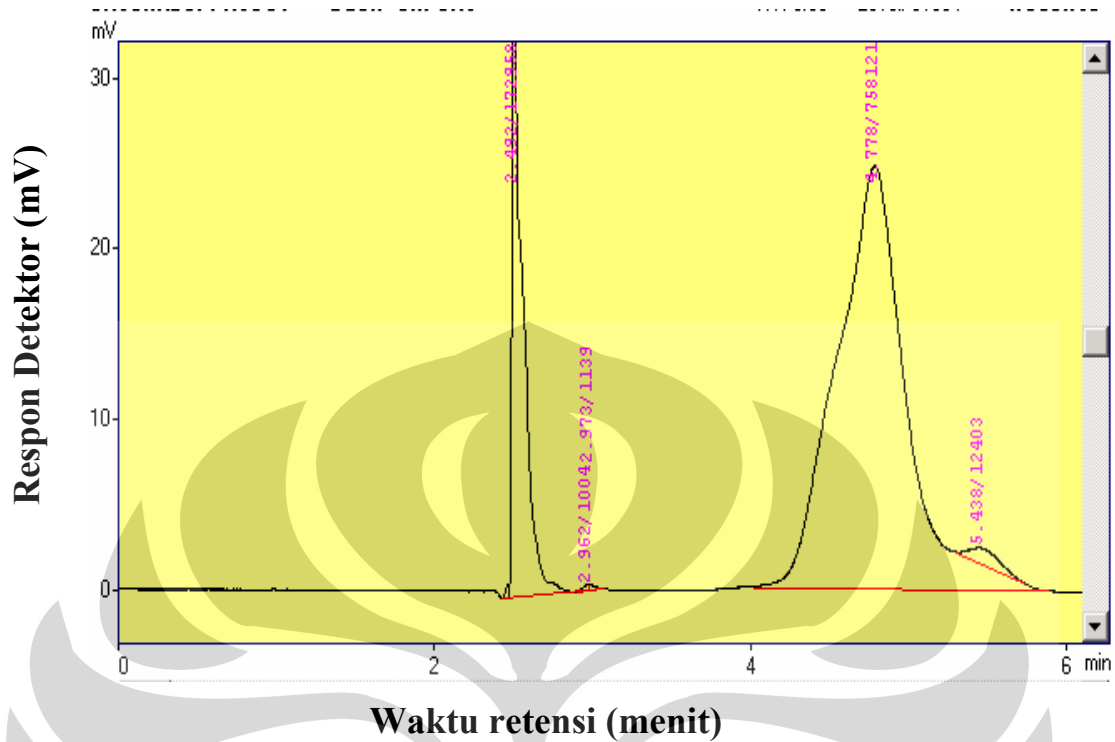
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 12. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

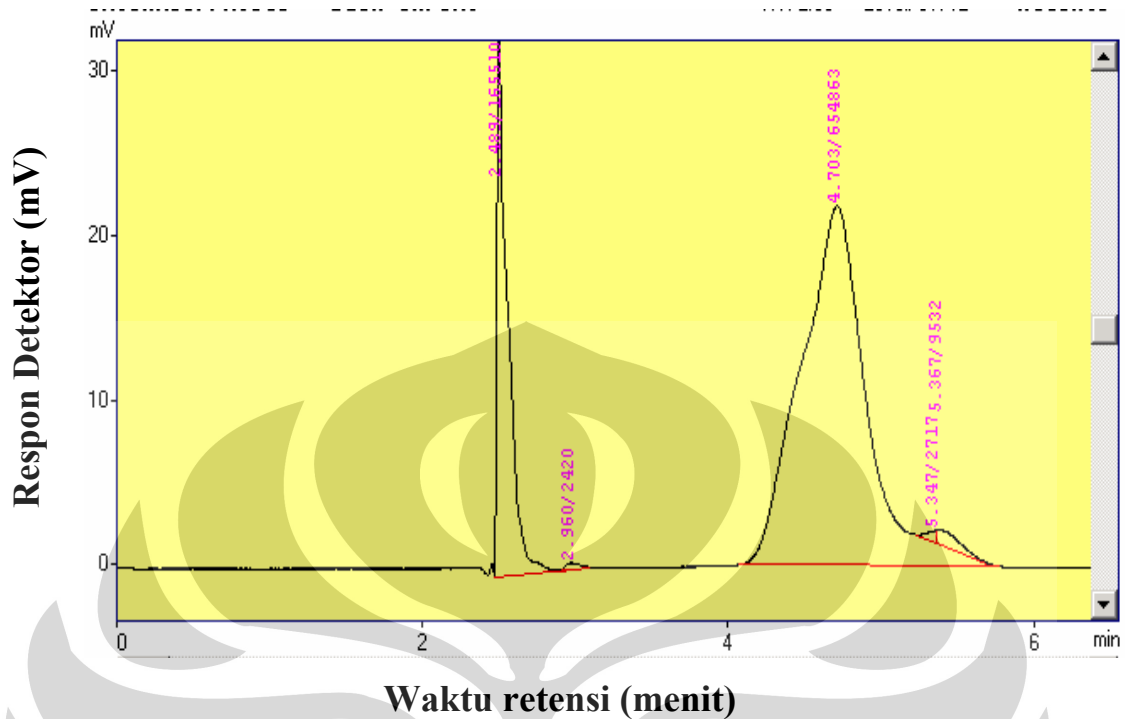
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 13. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25 : 75) pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

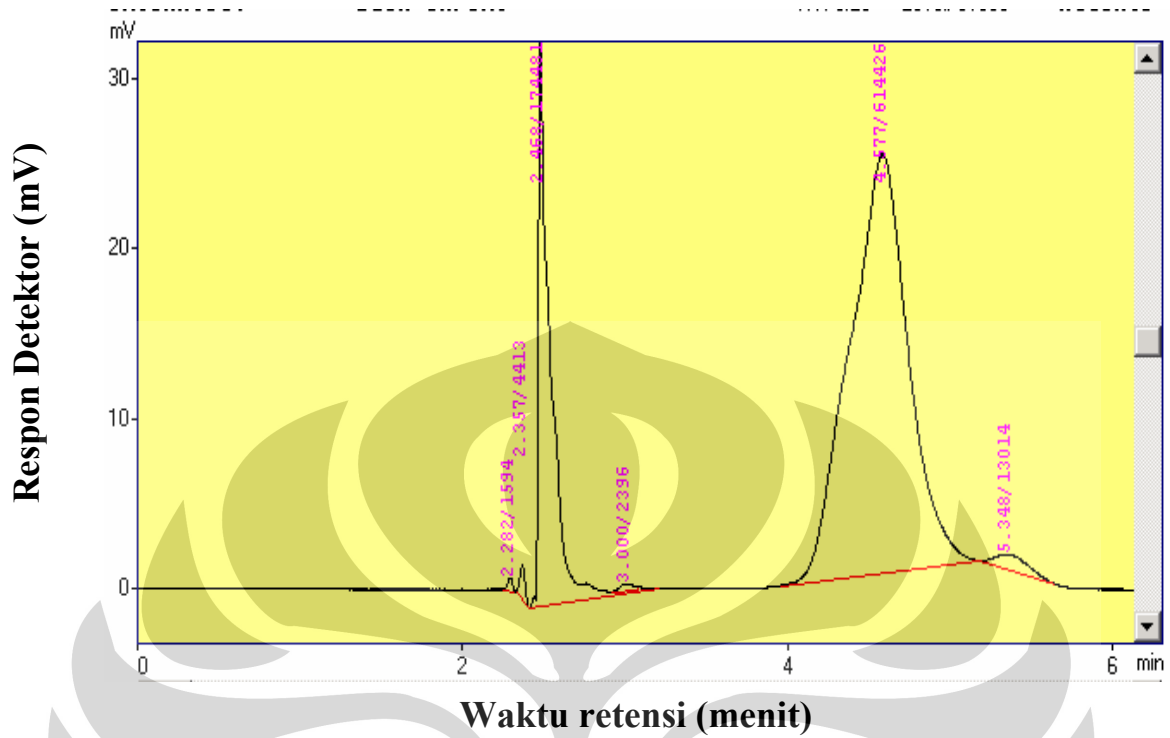
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 14. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25 : 75) pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

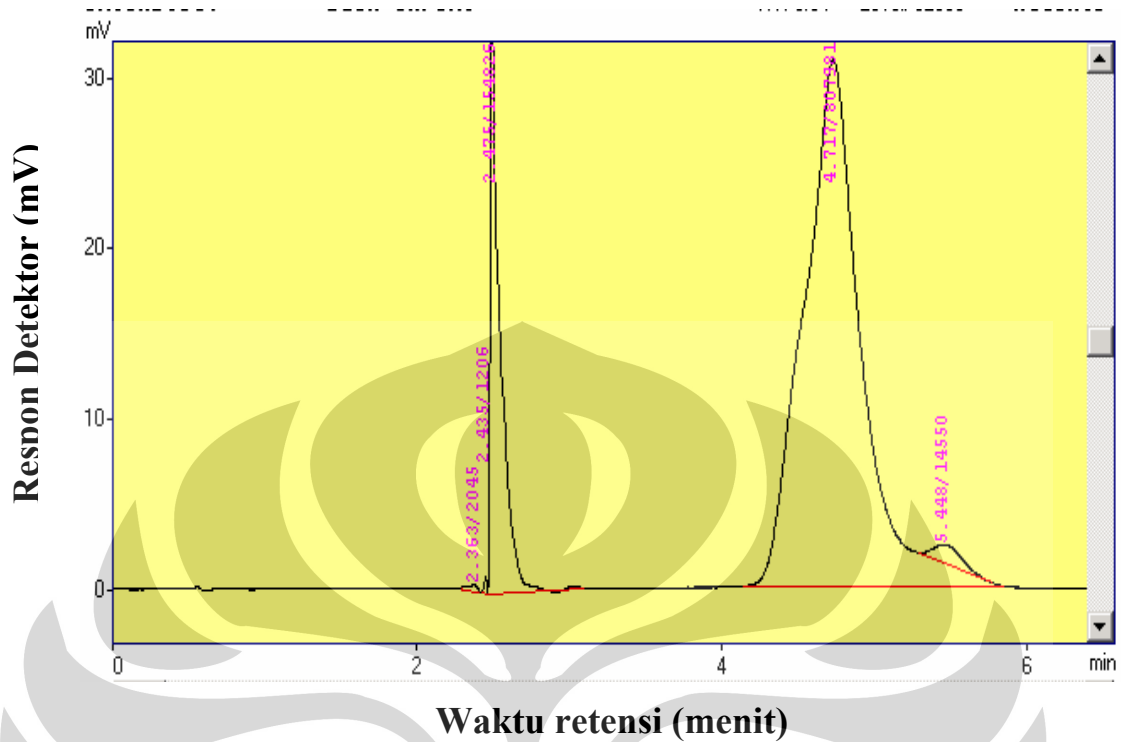
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 15. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

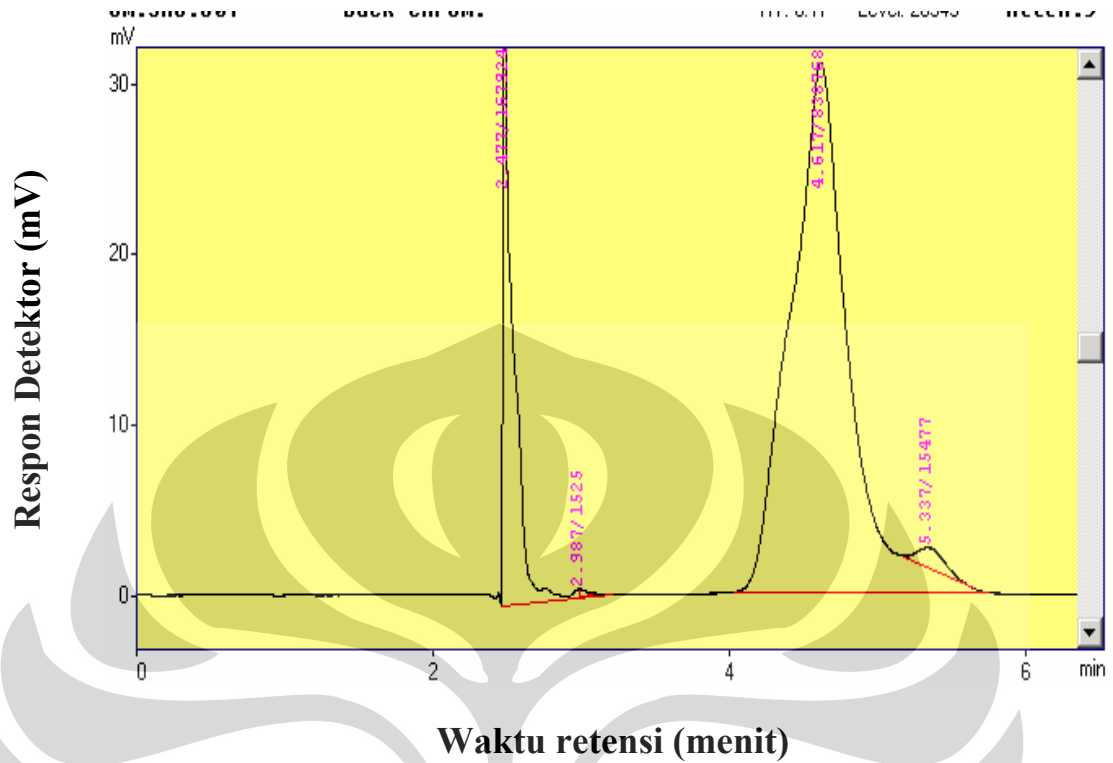
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 16. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

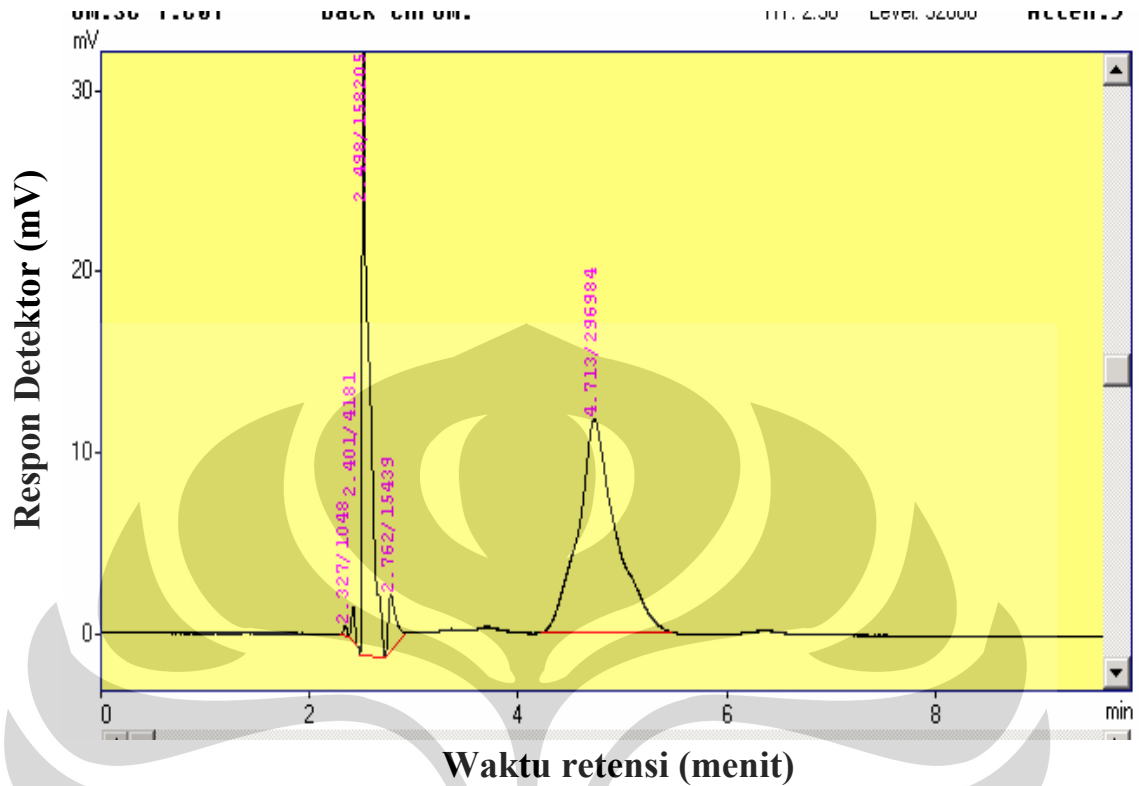
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 17. Kromatogram standar likopen setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

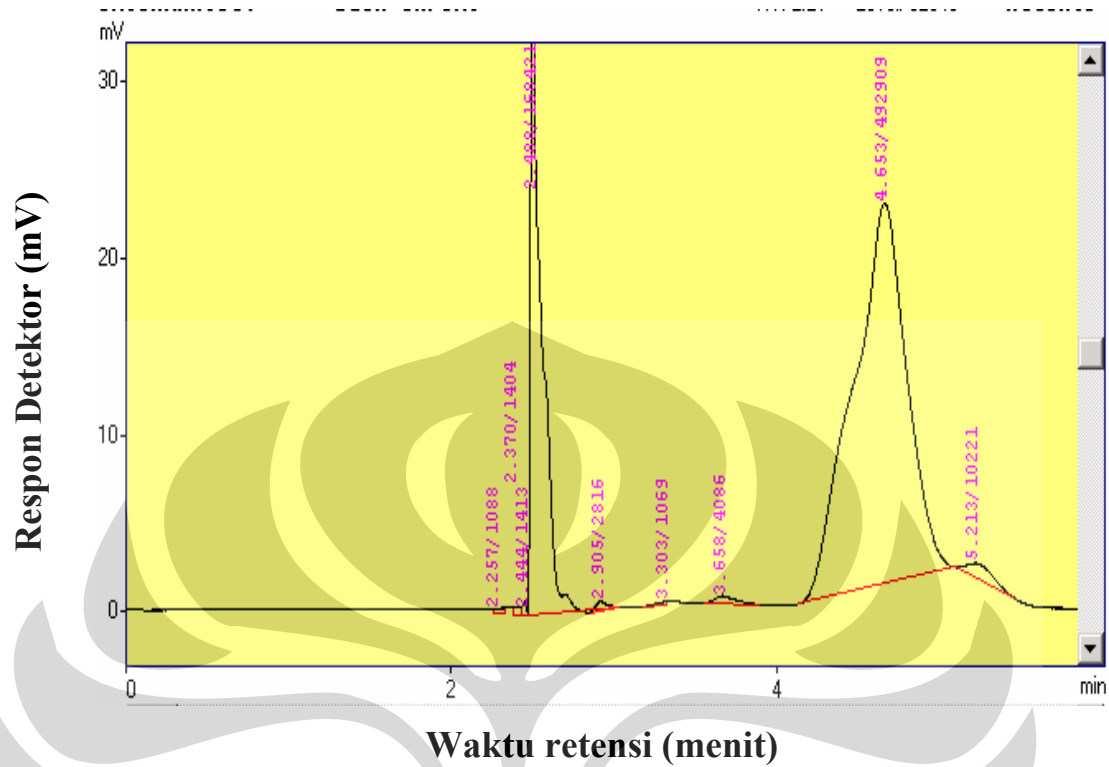
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 18. Kromatogram sampel saus tomat X

Kondisi analisis :

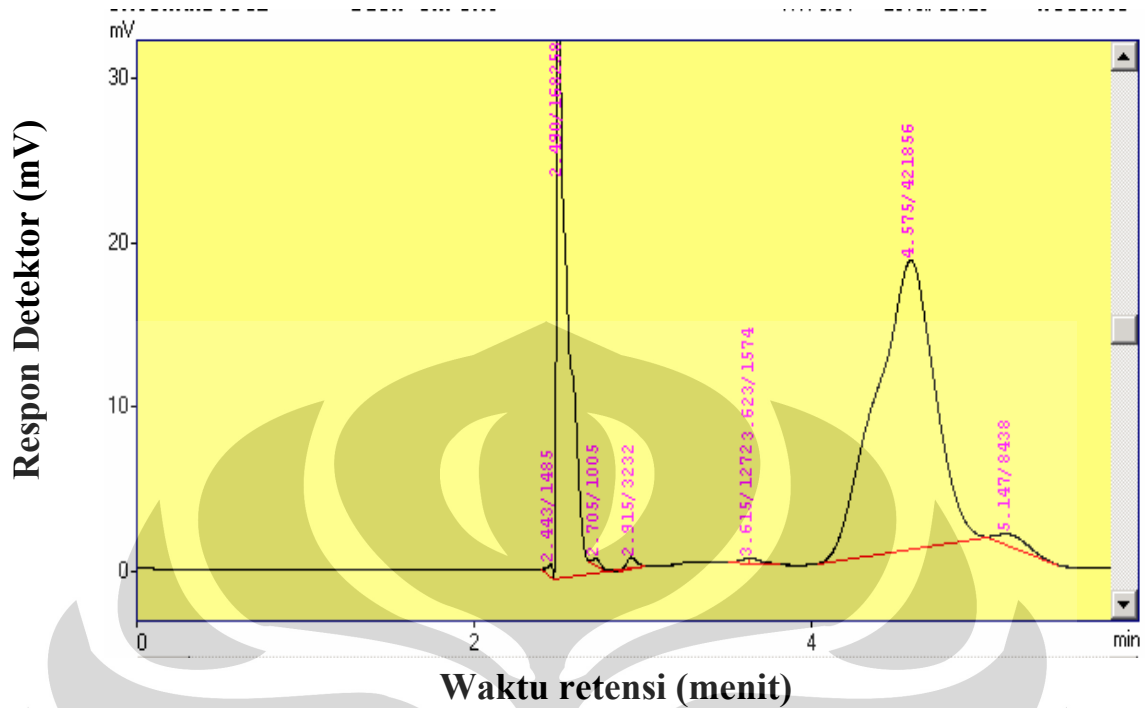
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 19. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

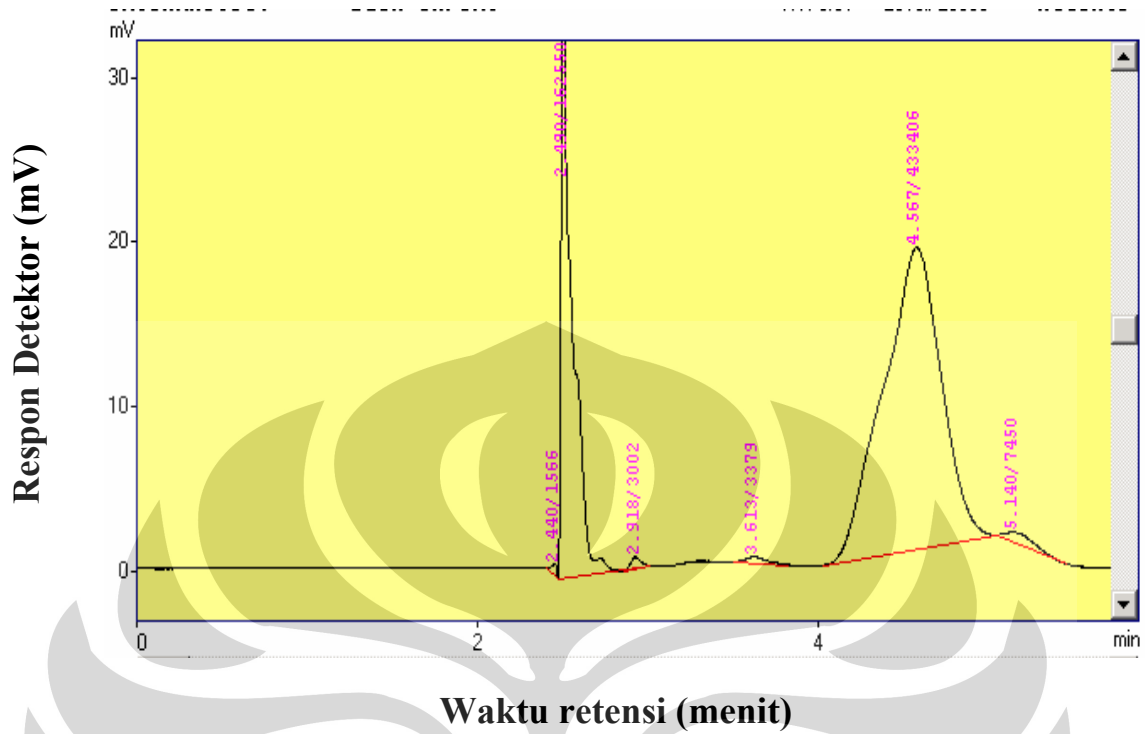
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 20. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

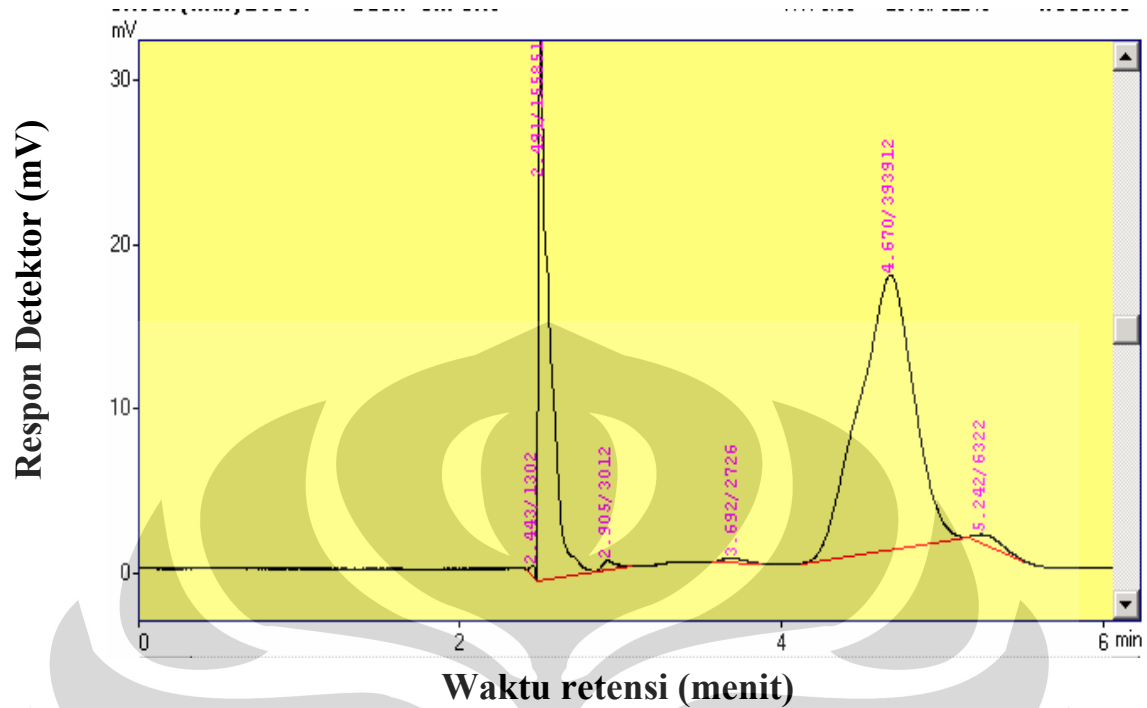
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 21. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

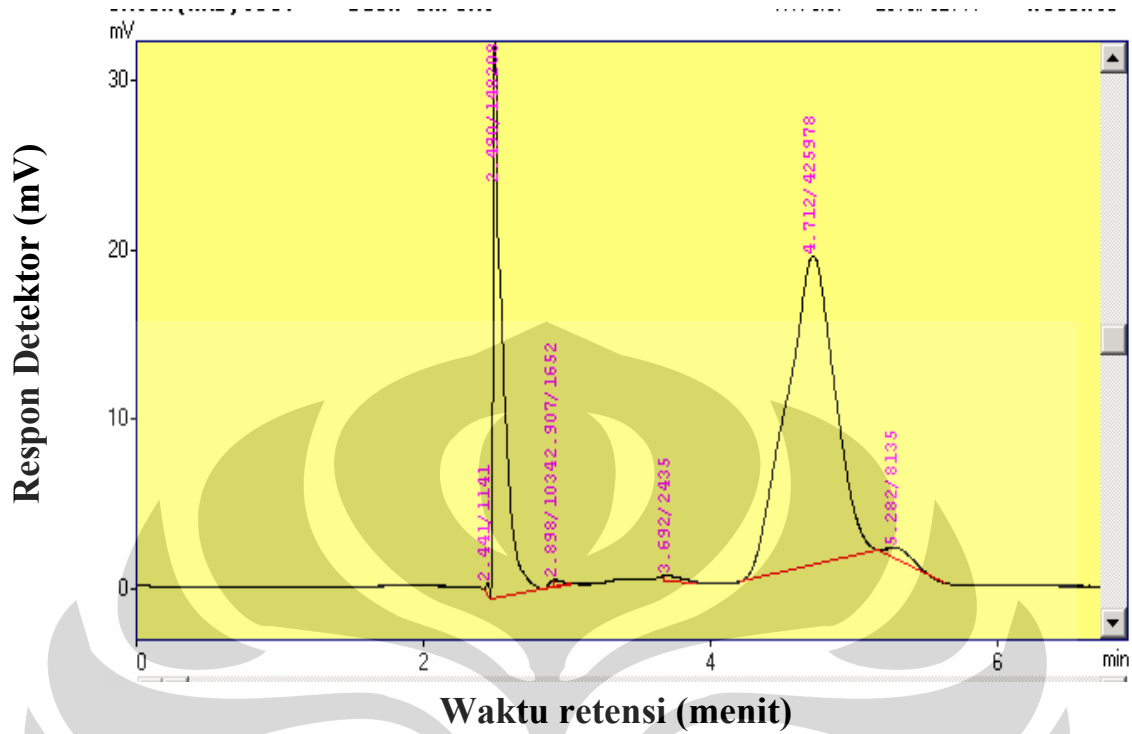
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 22. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

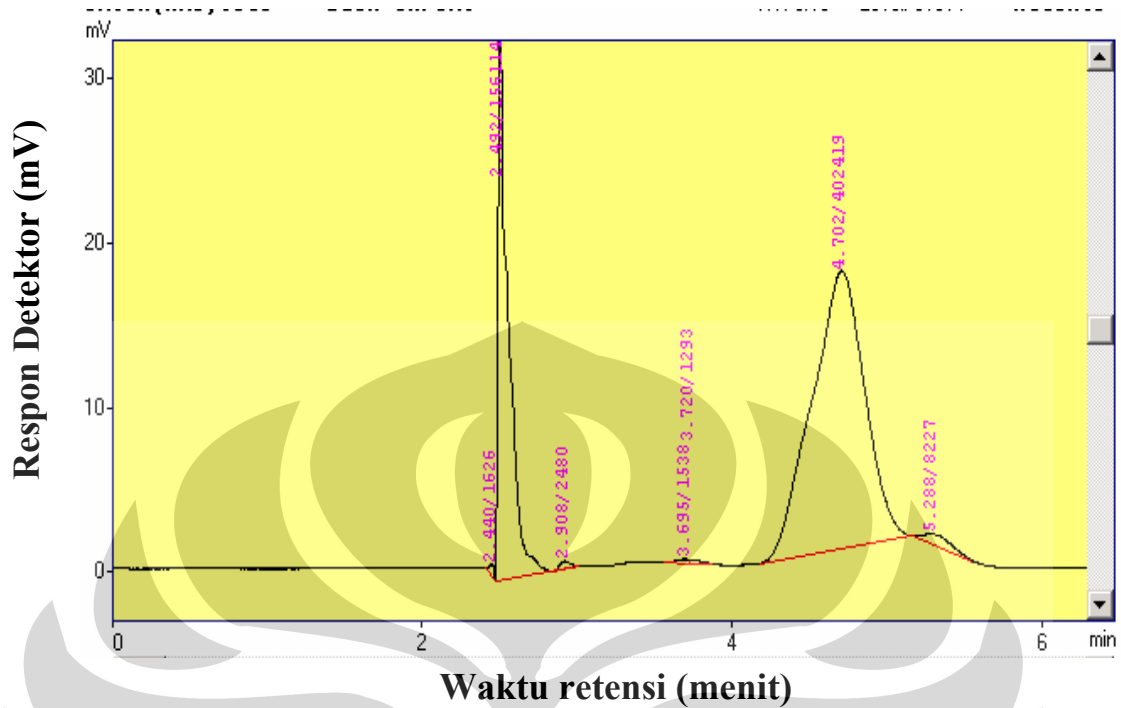
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 23. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

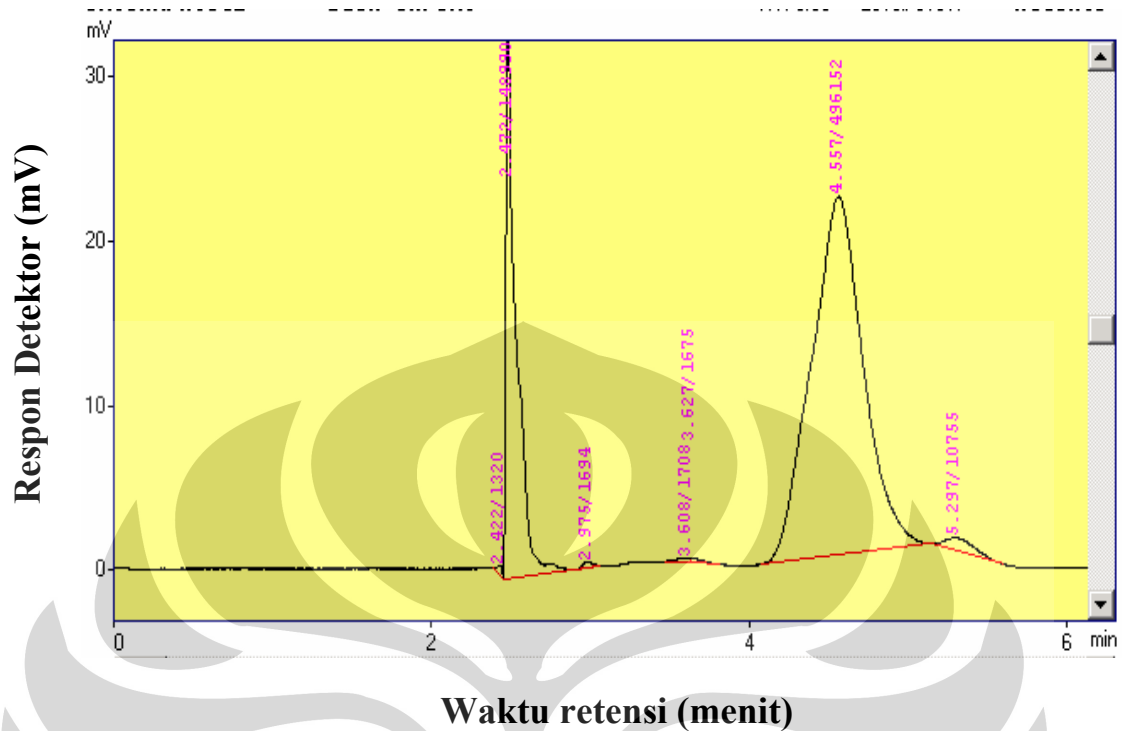
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 24. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25 : 75) pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

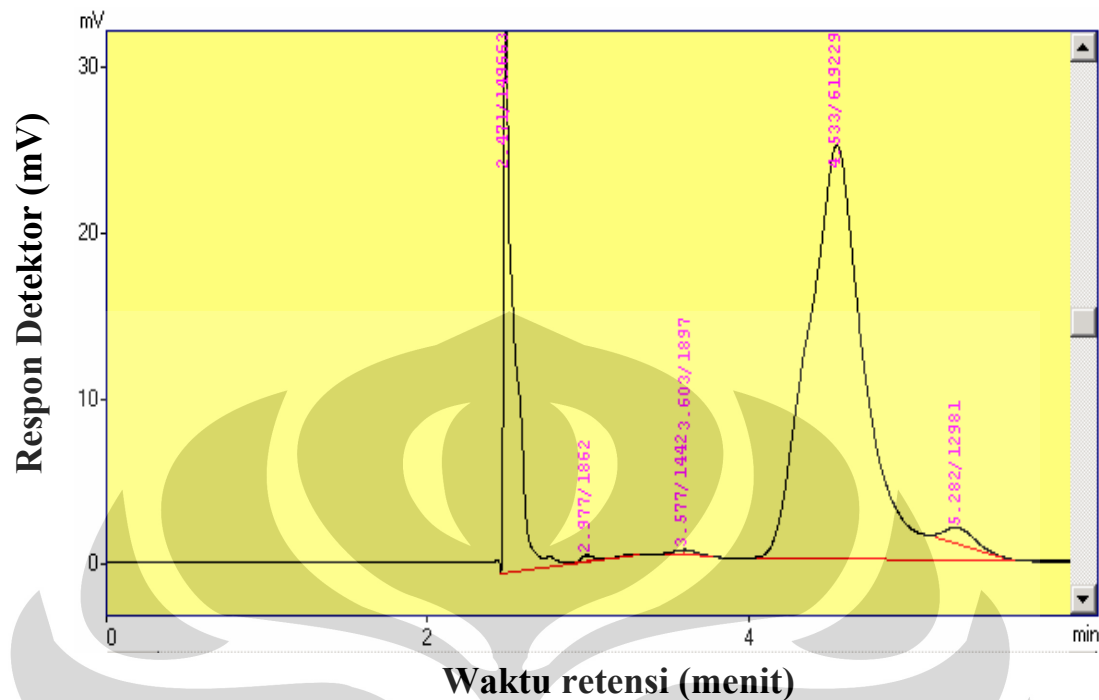
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 25. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

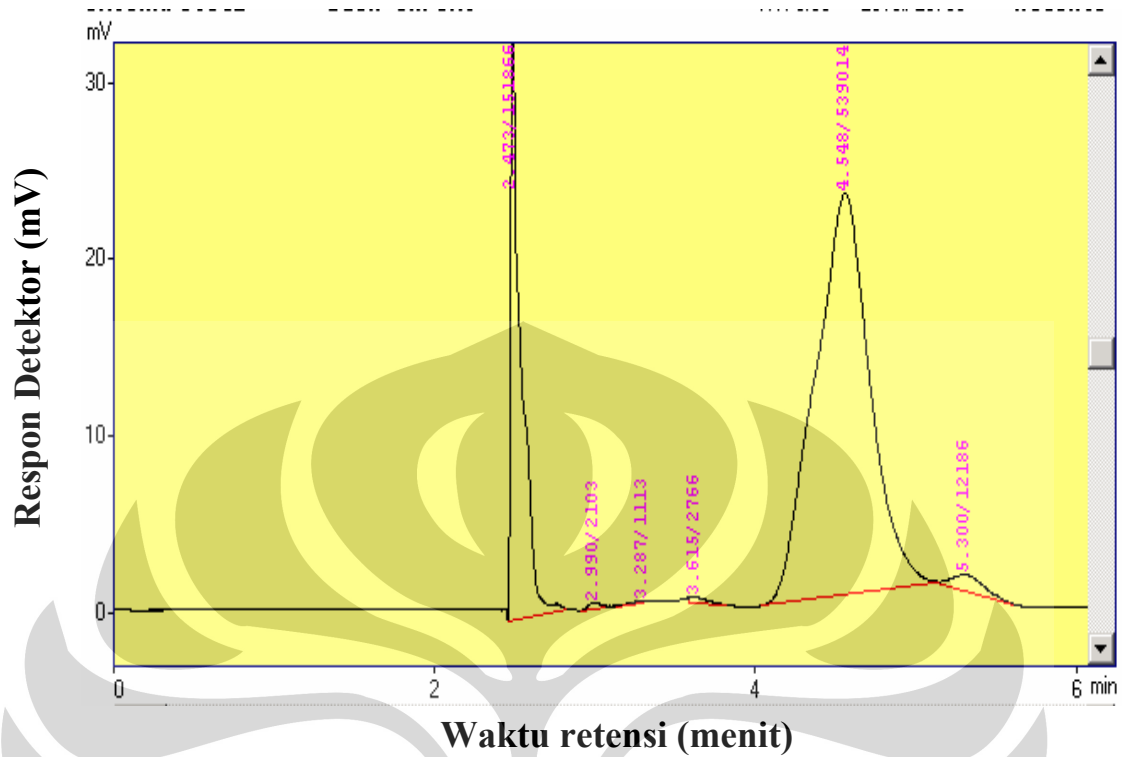
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 26. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

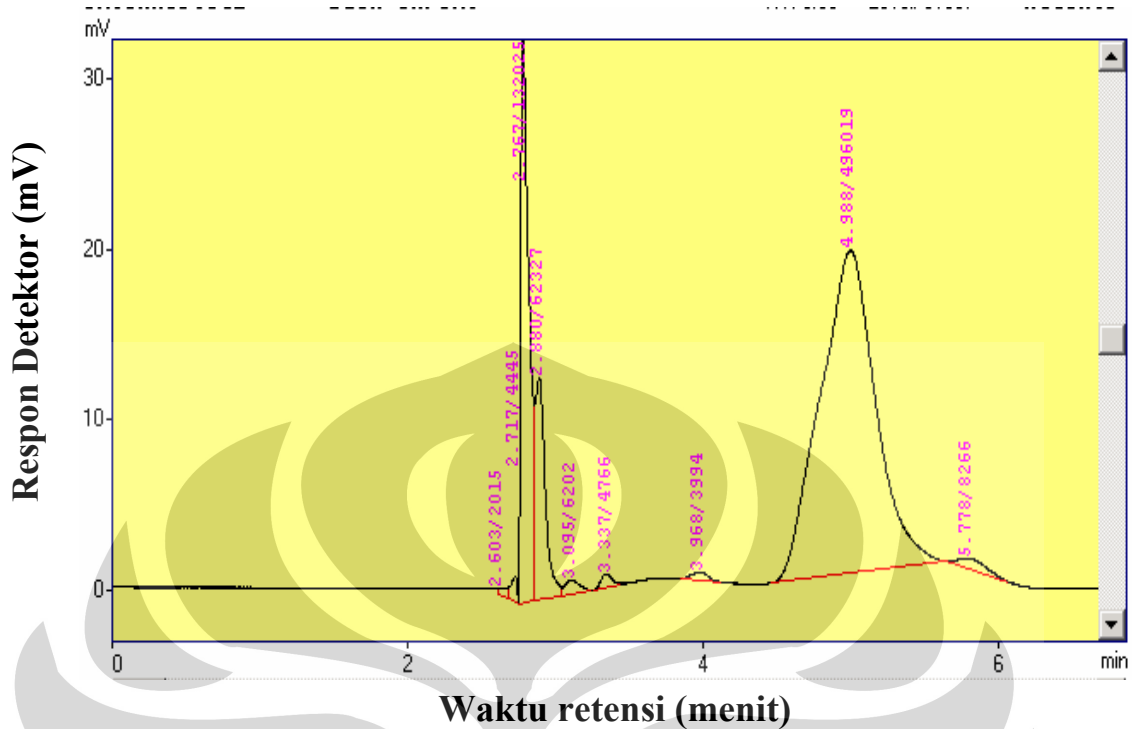
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 27. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 37 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

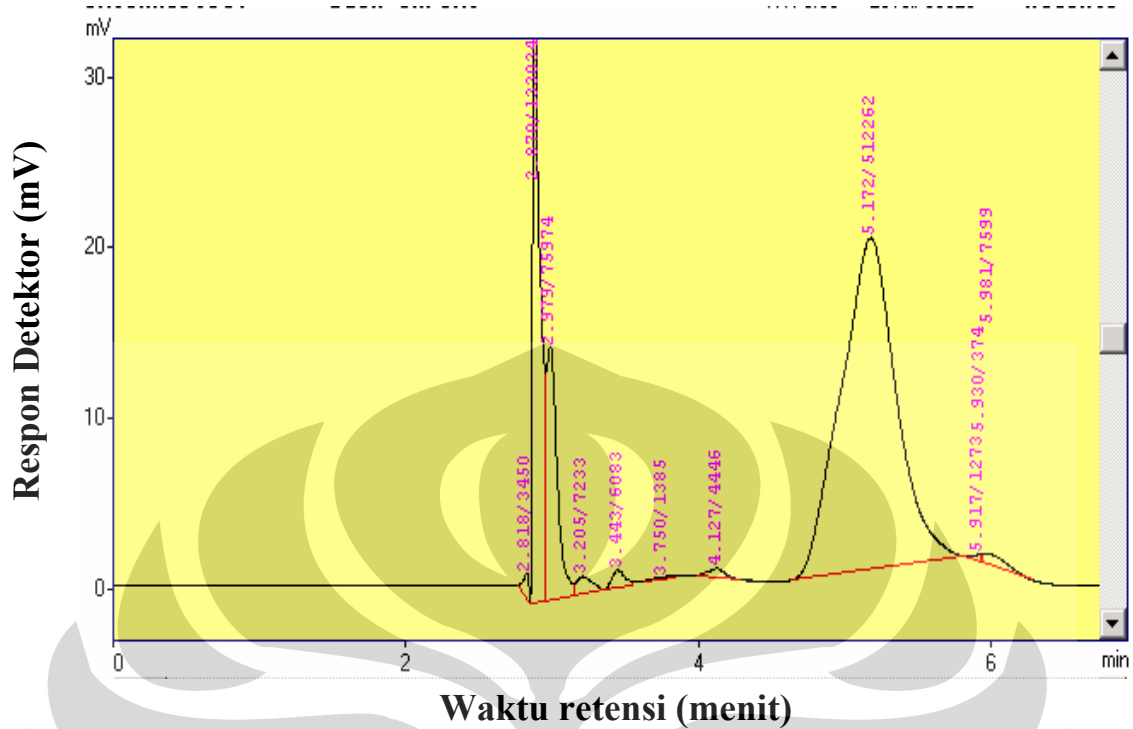
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 28. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 65 °C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

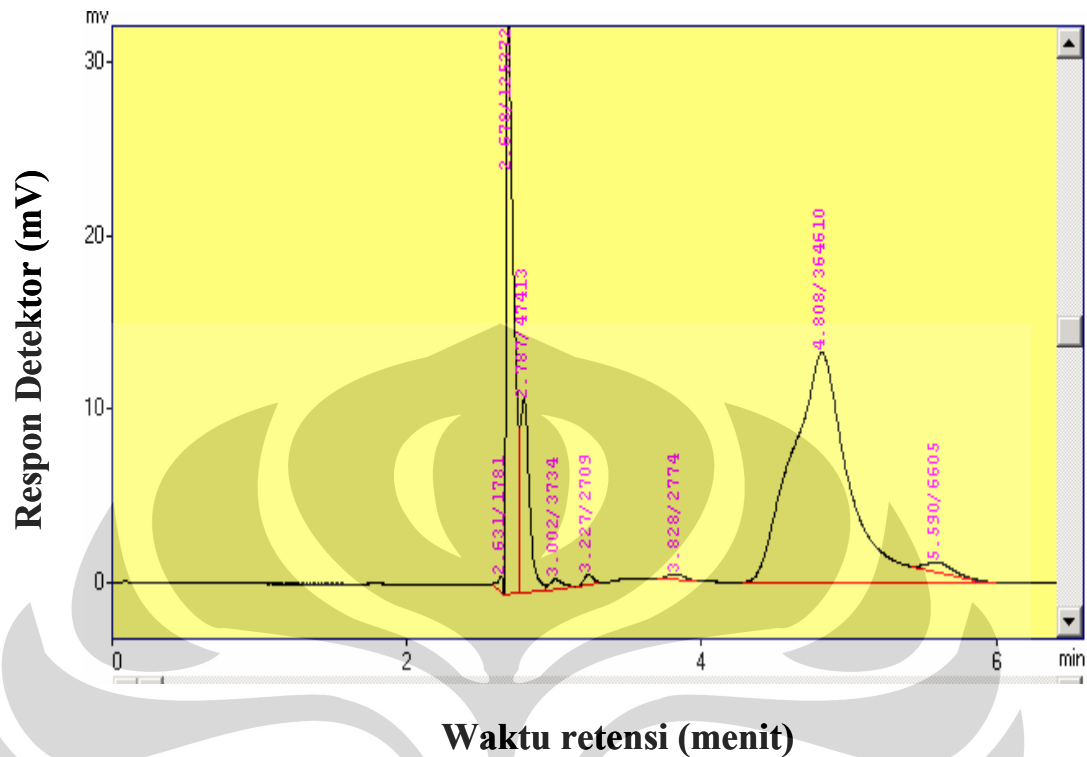
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 29. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 65 °C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

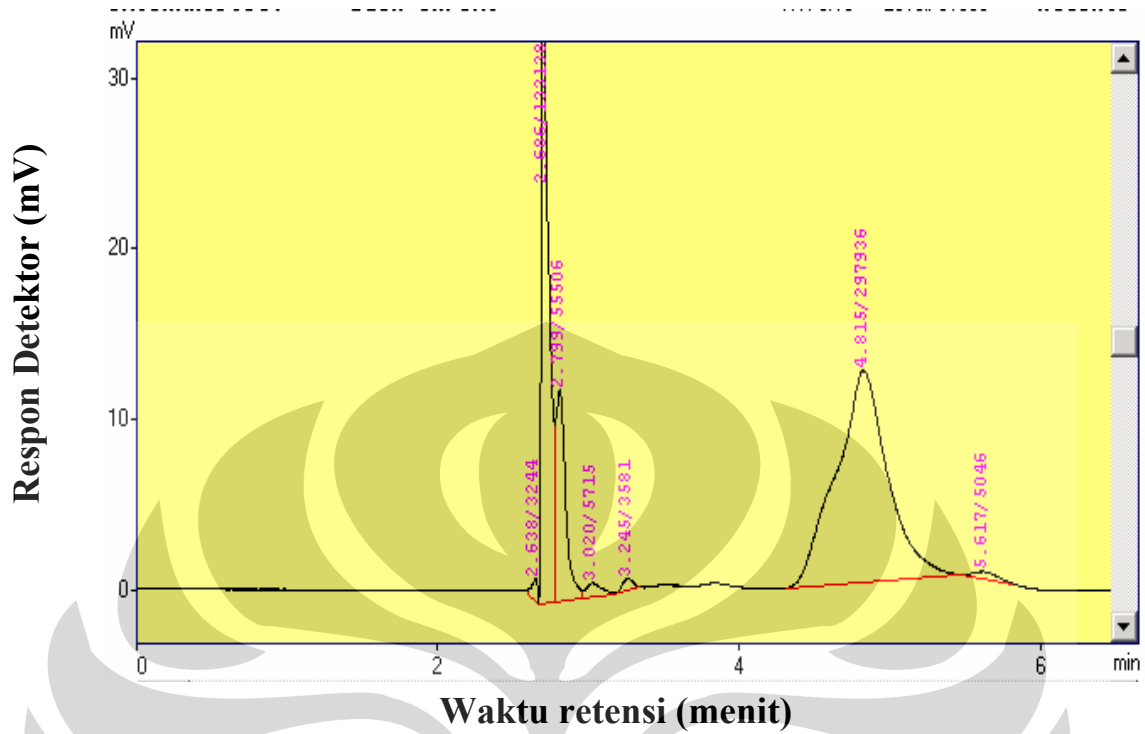
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 30. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana pada temperatur 65 °C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

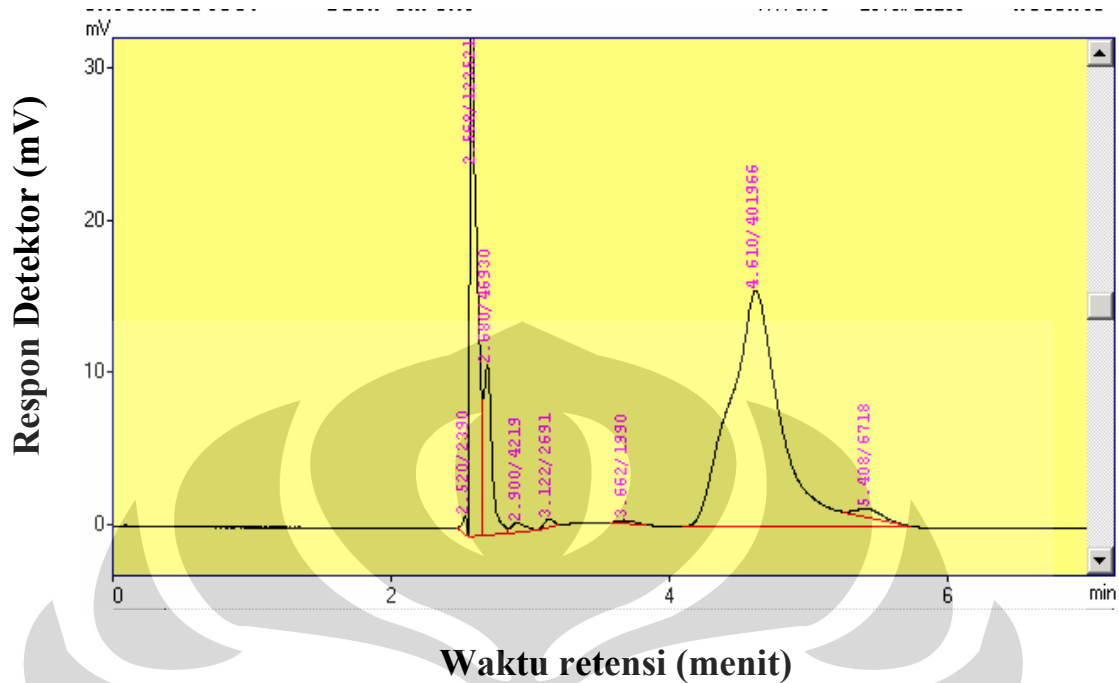
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 31. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 65°C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

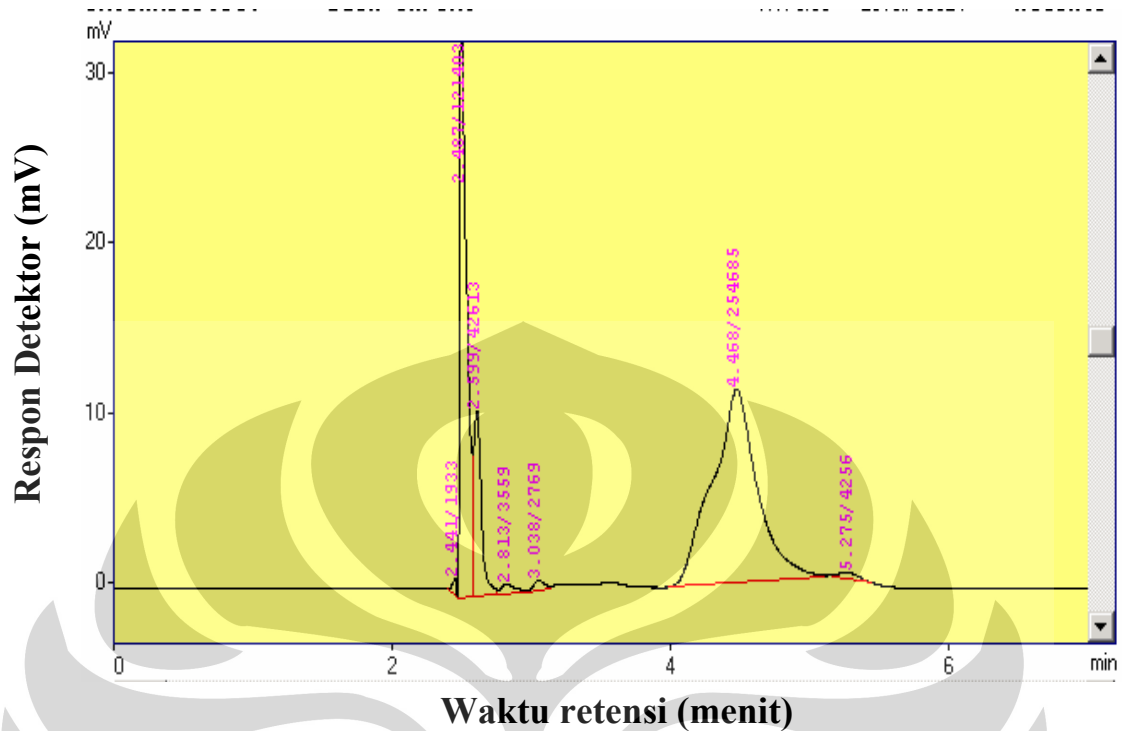
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 32. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 65°C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

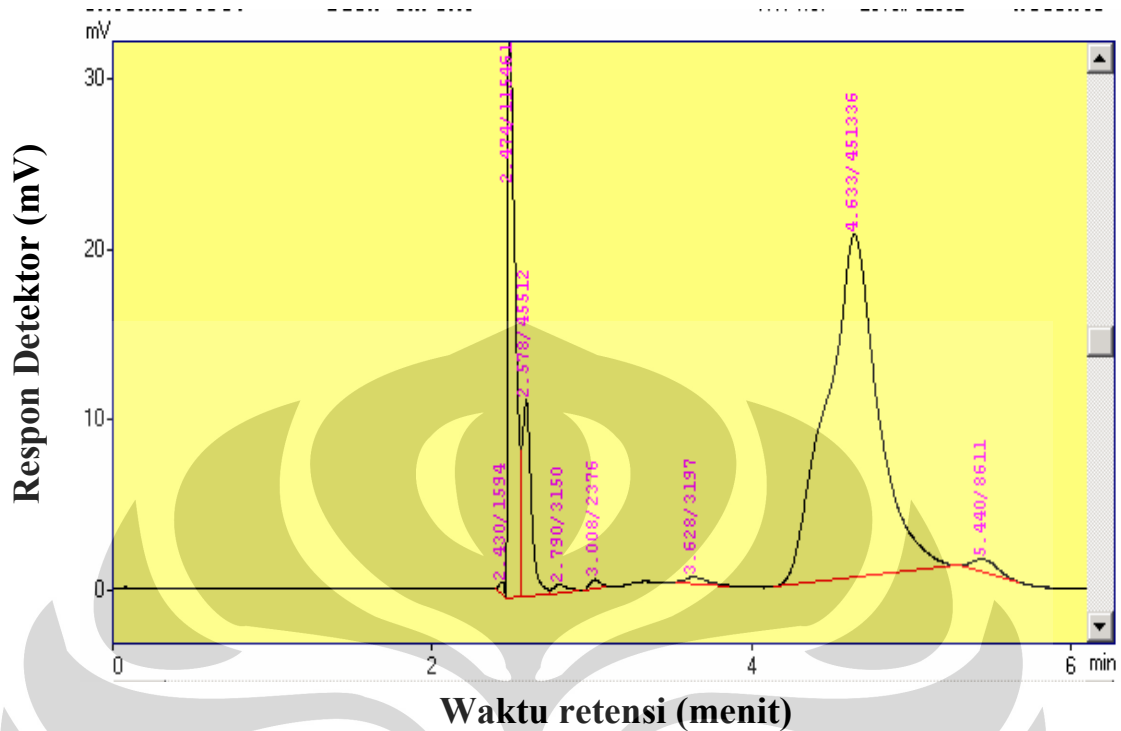
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 33. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml n-heksana dan metanol (25:75) pada temperatur 65°C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

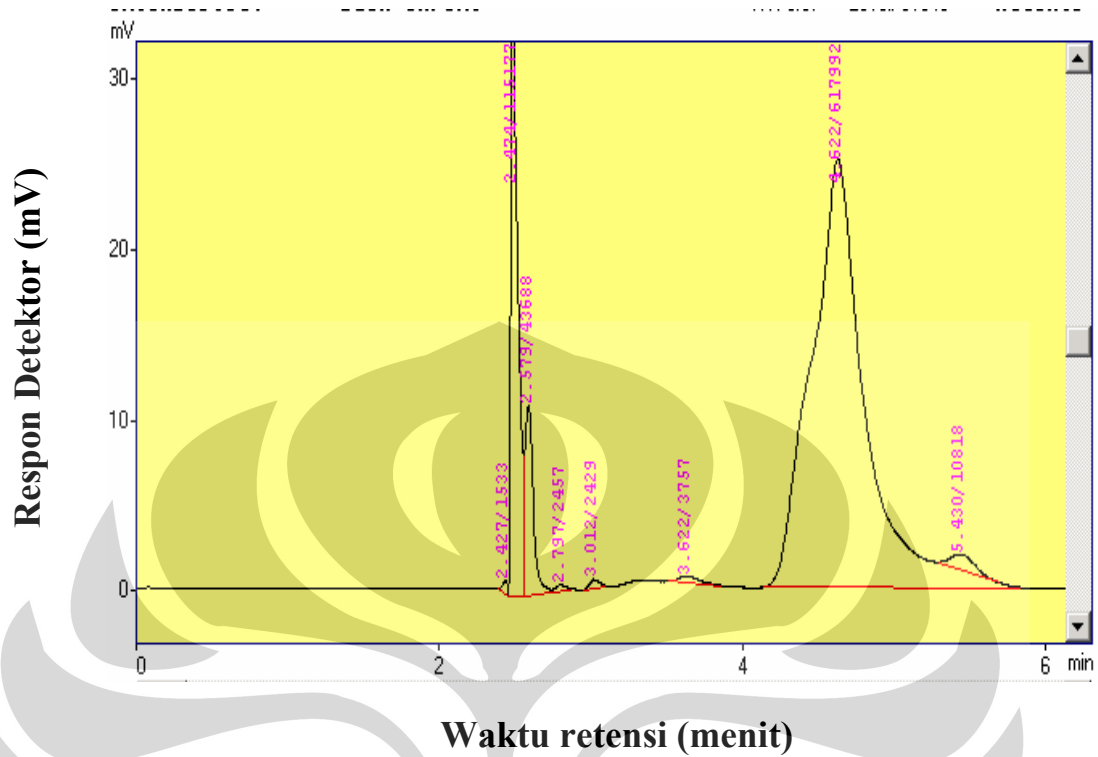
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 34. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 65°C selama 15 menit.

Kondisi analisis :

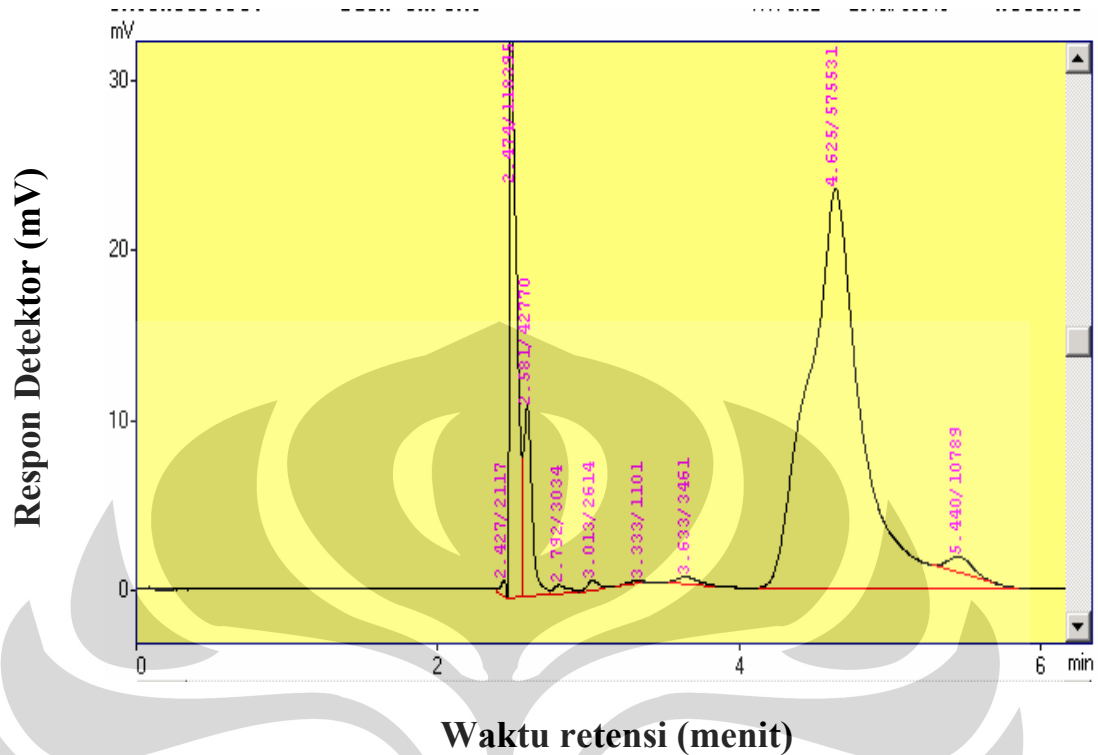
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 35. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 65°C selama 30 menit.

Kondisi analisis :

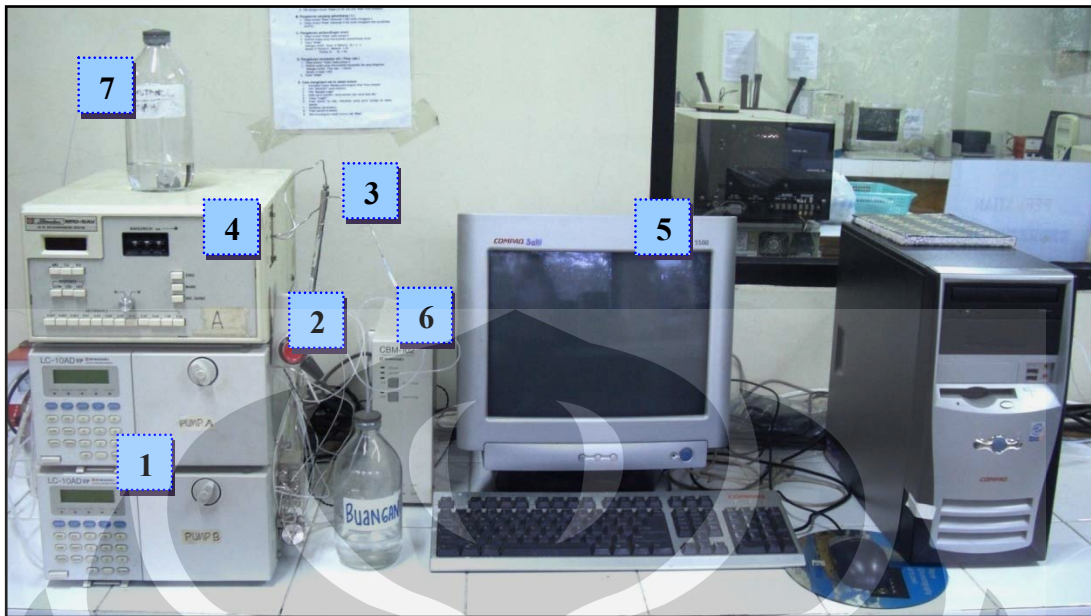
Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 36. Kromatogram sampel saus tomat setelah di inkubasi bersama 1 ml aseton pada temperatur 65°C selama 45 menit.

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana-metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.



Gambar 37. Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Keterangan:

1. Pompa LC-10AD (Shimadzu)
2. Injektor Rheodyne
3. Kolom Kromasil™ LC-18 (25 cm x 4,6 mm)
4. Detektor SPD-5AV (Shimadzu)
5. Komputer Class LC-10
6. Integrator CBM-102 (Shimadzu)
7. Botol fase gerak

Tabel 1
 Hasil perhitungan kadar standar likopen setelah diekstraksi

Berat Cawan penguap kosong (gram)	Berat standar yang ditimbang (mg)	Berat cawan penguap berisi ekstrak (gram)	Kadar (%)
47,4058	100,6	52,3352	4,90
45,8193	100,4	50,7088	4,87
47,3735	100,2	52,3334	4,95
		rata-rata	4,91

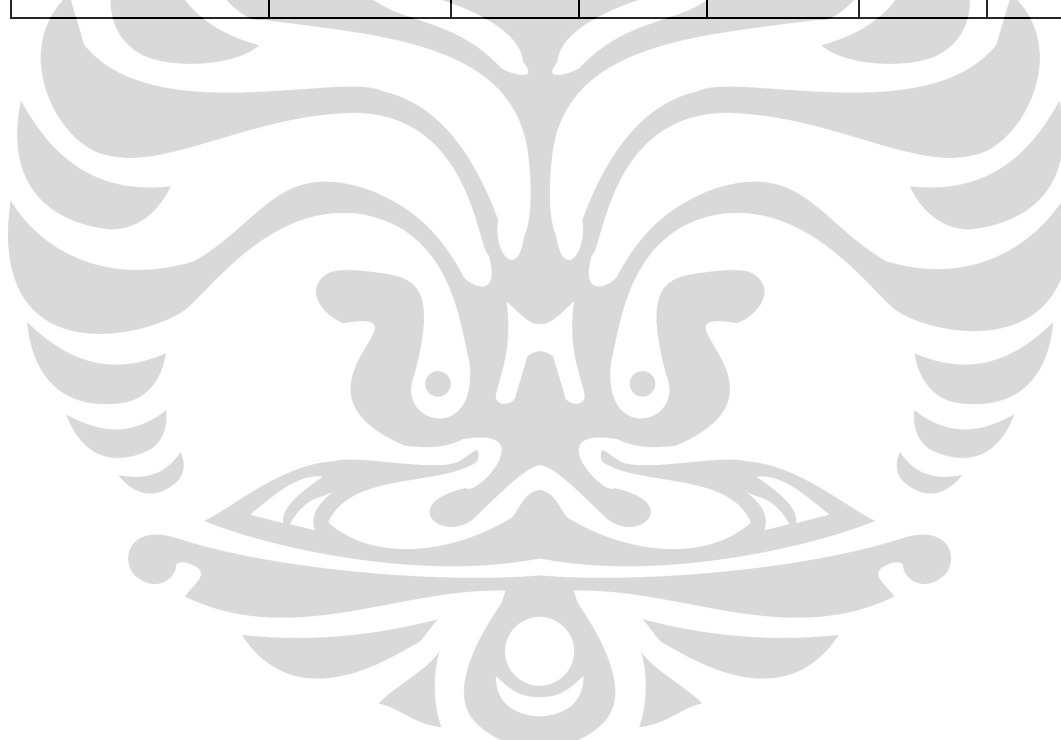
Kemurnian standar likopen diperoleh :

$$\frac{4,91}{5,1} \times 100\% = 96,27\%$$

Tabel 2

Pemilihan fase gerak untuk analisis

komposisi fase gerak (asetonitril- diklorometana- metanol)	kecepatan alir (mL/menit)	waktu retensi (menit)	faktor ikutan	jumlah lempeng teoretis	HETP (cm)	resolusi
70:20:10 v/v	1,0	30,593	1,3	784	0,032	14
50:40:10 v/v	1,0	7,423	1,11	408,04	0,061	10,1
47,5:42,5:10 v/v	1,0	5,033	0,385	592	0,042	12,16



Tabel 3

Pembuatan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{v/s}$)
2,56	259427
2,88	271129
3,20	290731
5,76	501047
7,20	616253
8,00	695351

Persamaan garis kurva kalibrasi: $y = 80740 x + 40673$ dengan koefisien korelasi, r , adalah 0,9990.

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.

Tabel 4

Hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{v/s}$)	y_i	$(y - y_i)^2$
2,56	259427	247367,4	145433952,2
2,88	271129	273204,2	4306455,0
3,20	290731	299041	69056100
5,76	501047	505735,4	21981094,6
7,20	616253	622001	33039504
8,00	695351	686593	76702564
		jumlah	350519669,8

$$S(y/x) = 9361,1$$

$$\text{Batas deteksi} = 0,3478 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Batas kuantitasi} = 1,1590 \mu\text{g/mL}$$

Tabel 5

Hasil perhitungan uji presisi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi pengukuran ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi rata-rata ($\mu\text{g/mL}$)	Simpangan Baku (SB)	Koefisien variasi (KV) (%)
2,56	262109 259427 265014 266992 268538	2,74 2,71 2,77 2,80 2,82	2,76	1,59	1,46
3,20	297926 298019 310282 311530 312787	3,18 3,19 3,34 3,35 3,37	3,28	2,59	2,5
8,00	696000 707660 712665 733184 750493	8,12 8,26 8,32 8,57 8,79	8,41	3,0	2,1

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.

Tabel 6

Hasil perhitungan uji perolehan kembali (UPK)

Sampel	Jumlah ditimbang (gram)	Standar ditambahkan ($\mu\text{g/mL}$)	Area ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	UPK (%)
I	1,0857	-	296.984	3,17	102,30
	1,1008	63,40	1.154.920	138	
	1,0857	-	296.984	3,17	100,74
	1,1015	63,40	1.143.786	136	
	1,0857	-	296.984	3,17	101,00
	1,1008	63,40	1.140.624	136,2	
II	1,0857	-	296.984	3,17	99,70
	1,0205	79,36	1.390.800	167,2	
	1,0857	-	296.984	3,17	100,30
	1,1053	79,36	1.401.264	168,5	
	1,0857	-	296.984	3,17	100,80
	1,0387	79,36	1.406.550	169,2	
III	1,2478	-	313.538	3,38	85,10
	1,5410	84,49	1.432.531	172,38	
	1,2478	-	313.538	3,38	85,50
1,2190	84,49	1.431.919	172,31		

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.

Keterangan :

Semua ekstrak dibuat larutannya sebanyak 25,0 mL. Pada bagian yang tidak ditambah standar, larutannya tidak diencerkan.

Sedangkan pada bagian yang ditambah standar, dilakukan pengenceran 10 kali, yaitu dipipet 1,0 mL ke dalam labu ukur 10,0 mL, kemudian dicukupkan volumenya hingga batas.

Tabel 7

Hasil penetapan kadar trans likopen setelah diinduksi dengan
n-heksana, n-heksana-metanol (25:75), aseton

No	Pelarut Organik	waktu inkubasi (menit)	Berat sampel ditimbang (g)	Area trans (mV)	Kadar ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)
I	n-heksana	15	1,0544	492.909	14
		30	1,076	421.856	11,8
		45	1,0845	433.406	12,2
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	1,0924	393.912	10,9
		30	1,069	425.978	11,9
		45	1,0288	402.419	11,2
	aseton	15	1,0108	496.152	14,1
		30	1,0517	619.229	17,9
		45	1,0477	539.014	15,4
II	n-heksana	15	1,1901	496.019	14,1
		30	1,0165	512.262	14,6
		45	1,0089	364.610	10,0
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	0,9229	297.936	7,9
		30	1,1203	401.966	11,2
		45	1,1056	254.685	6,6
	aseton	15	1,0744	451.336	12,7
		30	1,207	617.992	17,8
		45	1,0088	575.531	16,6

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μL ; panjang gelombang 514 nm.

Keterangan :

Semua ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi saus tomat dimasukkan ke labu ukur 25,0 mL dan dicukupkan dengan diklorometana hingga batas.

(I = suhu 37°C inkubator) & (II = suhu 65°C oven).

Tabel 8

Pengaruh penambahan n-heksana; n-heksana-metanol (25:75), aseton pada standar likopen dengan variasi waktu inkubasi

Pelarut Organik	waktu inkubasi (menit)	Berat standar yang ditimbang (mg)	Area trans (mV)	Area cis (mV)
n-heksana	15	57,8	727.254	14.536
	30	51,2	737.885	11.808
	45	53,8	714.174	14.365
n-heksana - metanol (25 : 75)	15	53,8	873.268	16.648
	30	52,1	758.121	12.403
	45	51,6	654.863	9.532
aseton	15	51,2	614.426	13.014
	30	51,1	807.981	14.550
	45	54,3	838.768	15.477

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.

Keterangan :

Standar likopen diinkubasi pada suhu 37°C

Tabel 9

Pengaruh penambahan n-heksana; n-heksana-metanol (25:75), aseton pada sampel saus tomat dengan variasi waktu dan suhu inkubasi

No	Pelarut Organik	waktu inkubasi (menit)	Berat sampel yang ditimbang (mg)	Area trans (mV)	Area cis (mV)
I	n-heksana	15	1,0544	492.909	10.221
		30	1,076	421.856	8.438
		45	1,0845	433.406	7.450
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	1,0924	393.912	6.322
		30	1,069	425.978	8.135
		45	1,0288	402.419	8.227
	aseton	15	1,0108	496.152	10.755
		30	1,0517	619.229	12.981
		45	1,0477	539.014	12.186
II	n-heksana	15	1,1901	496.019	8.266
		30	1,0165	512.262	7.599
		45	1,0089	364.610	6.605
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	0,9229	297.936	5.046
		30	1,1203	401.966	6.718
		45	1,1056	254.685	4.256
	aseton	15	1,0744	451.336	8.611
		30	1,207	617.992	10.818
		45	1,0088	575.531	10.789

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetonitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.

Keterangan :

I = suhu 37°C menggunakan inkubator

II = suhu 65°C menggunakan oven

Tabel 10
Perbandingan area cis dan trans likopen pada standar likopen

Pelarut Organik	waktu inkubasi (menit)	Perbandingan cis : trans
n-heksana	15	1:50
	30	1:62,5
	45	1:49,7
n-heksana - metanol (25 : 75)	15	1:52,4
	30	1:61,1
	45	1:68,7
aseton	15	1:47,2
	30	1:55,5
	45	1:54,2

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetoneitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 µL; panjang gelombang 514 nm.

Tabel 11

Perbandingan area cis dan trans likopen pada sampel saus tomat

No	Pelarut Organik	waktu inkubasi (menit)	Perbandingan cis : trans
I	n-heksana	15	1:48,2
		30	1:50
		45	1:58,2
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	1:62,3
		30	1:52,4
		45	1:48,9
	aseton	15	1:46,1
		30	1:47,7
		45	1:44,2
II	n-heksana	15	1:60
		30	1:67,4
		45	1:55,2
	n-heksana - metanol (25 : 75)	15	1:59
		30	1:59,8
		45	1:59,8
	aseton	15	1:52,4
		30	1:57,1
		45	1:53,3

Kondisi analisis :

Kolom kromasil TM LC-18 (25 cm x 4,6 mm); fase gerak asetoneitril–diklorometana–metanol (47,5:42,5:10); kecepatan alir 1,0 mL/menit; volume penyuntikkan 20,0 μ L; panjang gelombang 514 nm.

Keterangan :

I = suhu 37°C menggunakan inkubator

II = suhu 65°C menggunakan oven

Lampiran 1
Cara Memperoleh Persamaan Garis Linier

Persamaan garis $y = bx + a$

Untuk memperoleh nilai a dan b digunakan kuadrat terkecil (*least square*)

$$a = \frac{(\sum yi)(\sum xi^2) - (\sum xi)(\sum yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2}$$

$$b = \frac{N(\sum xi.yi) - (\sum xi)(\sum yi)}{N(\sum xi^2) - (\sum xi)^2}$$

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[(N\sum x^2) - (\sum x)^2][(N\sum y^2) - (\sum y)^2]}}$$

Lampiran 2

Cara Perhitungan Simpangan Baku dan Koefisien Variasi

Rata-rata
$$:\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Simpangan Baku
$$:SB = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Koefisien Variasi
$$:KV = \frac{SB}{\bar{x}} \times 100\%$$

Contoh :

Hasil uji presisi standar likopen 8,0 µg/mL :

Konsentrasi rata-rata (\bar{x}) = 8,41 µg/mL.

$$SB = \sqrt{\frac{(8,0-8,41)^2 + \dots + (8,79-8,41)^2}{5-1}}$$

SB = 3,0

KV = 2,1

Lampiran 3

Cara perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2}}$$

Batas deteksi $LOD = \frac{3S(y/x)}{b}$

Batas kuantitasi $LOQ = \frac{10S(y/x)}{b}$

Contoh :

Persamaan kurva kalibrasi likopen : $y = 80740 x + 40673$

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{350.519.669,8}{6 - 2}}$$

$$= 9.361,1$$

Batas deteksi likopen :

$$LOD = \frac{3 \times 9361,1}{80740} = 0,3478 \mu\text{g/mL}$$

Batas kuantitasi likopen :

$$LOQ = \frac{10 \times 9361,1}{80740} = 1,159 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4

Cara perhitungan uji perolehan kembali

Contoh : UPK sampel saus tomat

Penimbangan pada bagian yang ditambah standar = 1,1008 gram

Penimbangan pada bagian yang tidak ditambah standar = 1,0857 gram

Pengenceran larutan yang ditambah standar = 10 x

Pengenceran larutan yang tidak ditambah standar = 1 x

Area pada bagian yang ditambah standar = 1.154.920 $\mu\text{v/s}$

$$x' = 13,8 \times 10$$

$$x' = 138 \mu\text{g/mL}$$

Area pada bagian yang tidak ditambah standar = 296.984

$$x' = 3,17 \times 1$$

$$x' = 3,17$$

Banyaknya likopen dalam 1,0857 g = 3,17 $\mu\text{g/mL}$ x 25 mL

$$= 79,363 \mu\text{g}$$

Banyak likopen dalam 1,1008 g = $\frac{1,1008}{1,0857} \times 79,363 \mu\text{g}$

$$= 80,47 \mu\text{g}$$

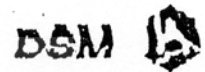
Konsentrasi likopen dalam 1,1008 g = 80,47 μg / 25 mL

$$= 3,22 \mu\text{g} / \text{mL}$$

$$\text{UPK} = \frac{(138 - 3,22) \mu\text{g} / \text{ml}}{131,8 \mu\text{g} / \text{ml}} \times 100\% = 102,3\%$$

Lampiran 6

Sertifikat standar likopen

REDIVIVO (LYCOPENE) 5% TG/P**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Product code : 6003407
 Lot No. : LIT07021000
 Analysis No. : 03549287

Test	Result	Limits / Specifications	Dimension / Units
Appearance	free-flowing particles		
Colour	reddish		
Fineness (US standard sieves):			
- through sieve No. 20	100	100 to 100	%
- through sieve No. 40	98	min. 85	%
- through sieve No. 100	4	max. 15	%
Loss on drying	7	max. 8	%
Heavy metals	<10	max. 10	ppm
Arsenic	<3	max. 3	ppm
Lycopene content	5.1	min. 5	%
Microbiological purity	corresponds		

This lot was analysed and released by our authorized Quality Control Department and was found to meet the specifications as given above.

DSM Nutritional Products Ltd
 The Quality Assurance Manager

Gaessler Martina

Lampiran 5

Sertifikat analisis standar likopen

REDIVIVO (LYCOPENE) 5% TG/P**COVERSHEET FOR CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Productcode : 5003407
Lot No. : UT07021008
Analysis No. : 03549387

CFC Number : 01096382
Articlecode : 5003407304
Sales Name : REDIVIVO (LYCOPENE) 5% TG/P
Manufacturing Date : 08,12,2007
Best Use Before Date : 07,02,2010
Invoice Number : 2831073480
Destination : Soekarno-Hatta
Customer Ref. No. : 154/2007-PH
Customer Article No. :
Customer Name : P.T. MENJANGAN SAKTI
JL H.R. RASJUNA SAID KAV. B-34
JAKARTA
