



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PURIFIKASI LIKOPEN DARI BUAH TOMAT
DAN SEMANGKA**

SKRIPSI

**UTAMI NURUL FADILAH
0906601701**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JANUARI
2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PURIFIKASI LIKOPEN DARI BUAH TOMAT
DAN SEMANGKA**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**UTAMI NURUL FADILAH
0906601701**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JANUARI
2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Utami Nurul Fadilah
NPM : 0906601701
Tanda Tangan : 
Tanggal : 18 Januari 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Utami Nurul Fadilah
NPM : 0906601701
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul Skripsi : Isolasi dan Purifikasi Likopen dari Buah Tomat dan Semangka.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Ekstensi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Herman Suryadi, MS., Apt.



Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im M.Si., Apt.



Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt.



Penguji II : Dr. Harmita., Apt.



Penguji III : Dr. Katrin, M.S.



Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 18 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan nikmat, rahmat dan karunia-Nya yang mustahil dapat terhitung sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini tepat waktu. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS.,Apt. sebagai Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Dra. Azizahwati.,M.S.Apt. sebagai Ketua Program Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Herman Suryadi, MS.,Apt. selaku pembimbing I atas kesabarannya dalam membimbing penulis, memberikan petunjuk dan memberikan banyak sekali masukan selama penelitian hingga tersusunya skripsi ini.
4. Dr. Abdul Mun'im, M.Si.,Apt. selaku pembimbing II atas berbagai masukannya yang membuat penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Dra. Maryati Kurniadi, M.Si.,Apt. selaku pembimbing akademik atas berbagai masukan dan saran selama menempuh pendidikan di departemen Farmasi UI.
6. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini.
7. Seluruh laboran dan karyawan Dept. Farmasi FMIPA UI atas waktu dan bantuannya, terutama selama proses penelitian.
8. Distributor bahan-bahan kimia, khususnya PT. Soho Industri, Tbk yang telah memberikan bantuan standar likopen untuk keperluan penelitian penulis.
9. Keluarga yang telah membesarkan penulis, khususnya Ayahanda Bachmith Bahtiar dan Ibunda Masita atas segenap kasih sayang serta

motivasi yang tak ternilai harganya. Tidak lupa pula kepada adik penulis, Dita Oktamaya atas dukungan selama mengerjakan skripsi.

10. Rekan-rekan mahasiswa farmasi ekstensi UI 2009 atas kerjasama yang terbina indah selama ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis akan senang hati menerima segala kritik dan saran demi tercapainya hasil yang lebih baik lagi. Tak ada yang penulis harapkan selain sebuah keinginan agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.

Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Utami Nurul Fadilah
NPM : 0906601701
Program Studi : Farmasi Ekstensi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Isolasi dan Purifikasi Likopen dari Buah Tomat dan Semangka

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 13 Januari 2012
Yang menyatakan



(Utami Nurul Fadilah)

ABSTRAK

Nama : Utami Nurul Fadilah
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul : Isolasi dan Purifikasi Likopen dari Buah Tomat dan Semangka

Likopen adalah pigmen merah yang terdapat pada tumbuhan dan merupakan senyawa karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa ini merupakan senyawa yang tidak stabil, sehingga untuk mendapatkan senyawa murni dibutuhkan proses yang sulit. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan metode isolasi dan purifikasi optimum untuk memperoleh likopen yang murni melalui reaksi saponifikasi. Oleoresin yang berasal dari tomat atau semangka dilarutkan dalam n-propanol selama setengah jam, lalu ditambahkan larutan KOH 45% dan aquadest dengan penimbangan masing-masing komponen tersebut adalah 657,20 mg oleoresin, 16 ml n-propanol, 2,25 ml larutan KOH 45% , dan 3 ml aquadest. Selain n-propanol, pada isolasi ini juga digunakan pelarut etanol dan propilen glikol dengan menggunakan tiga temperatur yang berbeda, yaitu 50°C, 65°C, dan 70°C. Proses isolasi ini berlangsung selama 3 jam, setelah pendinginan selama \pm 4 jam presipitat yang terbentuk disaring dengan menggunakan *filter glass*. Dari ketiga pelarut yang digunakan, n- propanol dengan temperatur 50°C yang memberikan hasil isolasi paling optimum, dengan kadar perolehan kembali likopen yang berasal dari oleoresin tomat dan semangka masing-masing 21,83% dan 18,14%.

Kata kunci : Likopen, semangka, tomat, isolasi, purifikasi, oleoresin.
xiii+63 halaman : 10 tabel; 21 gambar; 6 lampiran
Daftar acuan : 33 (1978-2010)

ABSTRACT

Name : Utami Nurul Fadilah
Study Program : Pharmacy Extension
Title : Isolation and Purification of Lycopene from Tomato and Watermelon Fruits

Lycopene is the red pigment was found in plants and carotenoid compound with antioxidant function. This compound is unstable, hence require difficult process to obtain its pure form. The purpose of this study is to determine optimal method of isolation and purification to obtain pure lycopene was through saponification reaction. Oleoresin from tomatoes or watermelon dissolved in n-propanol for half an hour, then added by 45% (w/v) KOH solution and aquadest with a ratio of each component: 657.20 mg oleoresin, 16 ml n-propanol, 2.25 ml 45% KOH and 3 ml aquadest. Ethanol and propylene glycol were also used as solvents substituted for n-propanol. The reaction were carried out at three different temperature such as 50°C, 65°C, and 70°C respectively. This isolation were processed for 3 hours, and followed by cooling for 4 hours ± to form precipitate. The precipitate was filtered using a filter glass. From three kinds of solvents used, n-propanol with a temperature of 50°C gives the most optimum isolation result. The recovered lycopene from oleoresin tomato and watermelon were 21.83% and 18.14% of oleoresin respectively.

Keyword : Lycopene, tomato, watermelon, isolation, purification, oleoresin.
xiii+63 pages : 10 tables; 21 figures; 6 appendics
Bibliography : 33 (1978-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tomat	3
2.2 Semangka.....	4
2.3 Likopen.....	5
2.4 Pelarut untuk Saponifikasi.....	7
2.5 Teknik Isolasi dan Pemurnian.....	8
2.6 Reaksi Saponifikasi.....	9
2.7 Isolasi Likopen.....	10
2.8 Identifikasi Hasil Isolasi.....	11
2.9 Kolorimetri.....	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat	17
3.3 Bahan	17
3.4 Cara Kerja.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil	22
4.2. Pembahasan.....	24
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR ACUAN	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar.2.1. Rumus Bangun Senyawa All-trans Likopen.	6
Gambar.2.2. Struktur kimia propilen glikol	7
Gambar.2.3. Struktur kimia n-propanol	7
Gambar.2.4. Struktur kimia etanol.....	8
Gambar.2.5. Reaksi Saponifikasi	10
Gambar.3.1. Alat kromatografi Cair kinerja tinggi	34
Gambar.3.2. Alat <i>TLC-Scanner</i>	35
Gambar.3.3. Alat Spektrofotometri UV-Vis.....	35
Gambar.3.4. Alat <i>Freeze Dryer</i>	36
Gambar.3.5. Alat oven vakum.....	36
Gambar.4.1. Bagan Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat dan Semangka.....	37
Gambar.4.2. Bagan Isolasi Likopen dari Buah Tomat.....	38
Gambar.4.3. Spektrum Serapan Standar Likopen 40µg/ml dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v)	39
Gambar.4.4. Kromatogram Standar Likopen 300 µg/ml dengan eluen etil asetat-metanol (4:6) dengan nilai Rf 0,59.....	40
Gambar.4.5. Kromatogram KLT sampel likopen dari buah tomat dengan konsentrasi 300 µg/ml dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v).....	41
Gambar.4.6. Kromatogram KLT sampel likopen dari buah semangka dengan konsentrasi 300µg/ml dalam n-heksan dengan eluen etil asetat- metanol (4:6v/v).....	42
Gambar.4.7. Kromatogram KCKT larutan standar likopen 40 µg/ml dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v).....	43
Gambar.4.8. Kromatogram KCKT larutan sampel likopen dari buah tomat dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v).....	44
Gambar.4.9. Kromatogram KCKT larutan sampel likopen dari buah semangka dalam etil asetat-metanol (1:1v/v).....	45
Gambar.4.10. Kurva kalibrasi standar likopen KCKT.....	46
Gambar.4.11. Likopen hasil isolasi.....	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel.4.1. Hasil Perhitungan Kadar Standar Likopen Setelah Diekstraksi.....	48
Tabel.4.2. Hasil Ekstraksi Buah Tomat dan Semangka dengan n-heksan.....	49
Tabel.4.3. Optimasi Fase Gerak KLT.....	50
Tabel.4.4. Kurva Kalibrasi dengan KCKT.....	51
Tabel.4.5. Isolasi Likopen dari oleoresin Tomat Berdasarkan Perbedaan Pelarut.....	52
Tabel.4.6. Isolasi Likopen dari oleoresin Tomat Berdasarkan Perbedaan Temperatur dengan pelarut n-propanol.....	53
Tabel.4.7. Isolasi Likopen dari oleoresin Semangka Berdasarkan Perbedaan Temperatur dengan pelarut n-propanol.....	54
Tabel.4.8. Identifikasi Hasil Isolasi dengan KLT.....	55
Taembl.4.9. Identifikasi Hasil Isolasi dengan KCKT.....	56
Tabel.4.10. Penetapan Kadar Hasil Isolasi Likopen secara KCKT.....	57



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran1. Cara memperoleh persamaan regresi linier.....	58
Lampiran2 .Cara Perhitungan Kadar dalam Sampel.....	59
Lampiran3.Cara Perhitungan Simpangan Deviasi dan Koefisien Variasi.....	60
Lampiran4.Sertifikat Analisis Standar Likopen	61
Lampiran5.Sertifikat Determinasi Buah Tomat.....	62
Lampiran6.Sertifikat Determinasi Buah Semangka.....	63



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Saat ini antioksidan merupakan topik yang penting dalam berbagai ilmu, khususnya dalam bidang ilmu gizi dan kesehatan. Antioksidan adalah substansi yang menetralkan radikal bebas, sedangkan radikal bebas adalah agen pengoksidasi kuat yang dapat merusak sistem pertahanan tubuh dengan akibat kerusakan sel dan penuaan dini (Yuliarti, Nuherti. 2009). Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan elektron, sewajarnya setiap molekul memiliki elektron yang berpasangan, namun pada radikal bebas, molekul hanya memiliki satu elektron yang menyebabkan berusaha “mencuri” elektron dari molekul lain. Hal inilah yang menjadikan molekul tersebut tidak stabil yang pada akhirnya mampu menyerang dan merusak molekul pada sel-sel yang sehat (Kumalaningsih,2006).

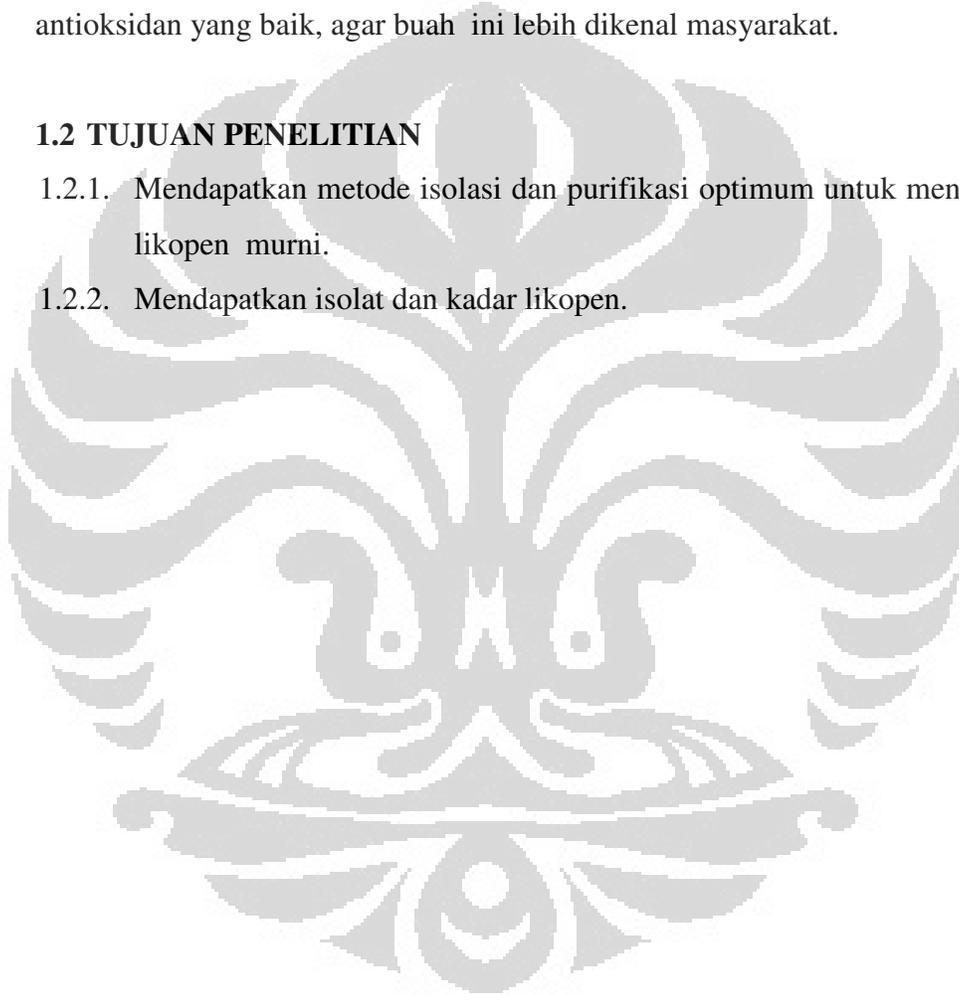
Likopen berkhasiat sebagai antioksidan yang dapat menangkal senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel dalam tubuh. Likopen adalah pigmen merah yang terdapat pada tumbuhan, dan merupakan kelompok karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan efektif yang serbaguna. Likopen bekerja pada jaringan dengan sasaran utamanya plasma pada prostat, testis, perut, kolon, dan dubur. Makanan yang kaya likopen adalah tomat (*Lycopersicum esculentum*) dan produk olahannya yang berupa saus atau pasta. Sekitar 85% dari total sumber likopen adalah dari bahan makanan seperti minyak sawit, stroberi, anggur, dan semangka (Vitahealth.2009).

Baru-baru ini banyak industri makanan yang lebih memfokuskan penggunaan likopen sebagai bahan pewarna makanan, hal itu dikarenakan pertimbangan bagi kesehatan masyarakat. Isolasi senyawa ini sangat menarik untuk pengembangan produk farmasi, seperti suplemen atau sebagai bahan pewarna makanan. Tomat dan semangka merupakan buah-buahan yang paling banyak mengandung likopen, dimana tomat (63,6%) dan semangka (48,8%)

(Tadmor, Y *et al.*, 2005). Bagi masyarakat Indonesia tomat dan semangka sudah tidak asing lagi. Namun, kurangnya pengetahuan terhadap tomat dan semangka menyebabkan masyarakat Indonesia memandangnya hanya sebagai buah atau sayur dan dijual begitu saja tanpa ada produk turunan dari buah tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini dikembangkan untuk menghasilkan kondisi optimum proses pengambilan likopen dari tomat dan semangka sebagai sumber antioksidan yang baik, agar buah ini lebih dikenal masyarakat.

1.2 TUJUAN PENELITIAN

- 1.2.1. Mendapatkan metode isolasi dan purifikasi optimum untuk mendapatkan likopen murni.
- 1.2.2. Mendapatkan isolat dan kadar likopen.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. TOMAT

Tomat (*Lycopersicum esculentum*) merupakan salah satu produk hortikultura yang berpotensi, menyehatkan dan mempunyai prospek pasar yang cukup menjanjikan. Tomat, baik dalam bentuk segar maupun olahan, memiliki komposisi zat gizi yang cukup lengkap dan baik. Buah tomat terdiri dari 5-10% berat kering tanpa air dan 1 % kulit dan biji, dan mengandung likopen sebanyak 63,6% (Tadmor, Y *et al.*, 2005). Jika buah tomat dikeringkan sekitar 50% dari berat keringnya terdiri dari gula-gula pereduksi (terutama glukosa dan fruktosa), sisanya asam-asam organik, mineral, pigmen, vitamin, dan lipid. Secara taksonomi, tanaman tomat digolongkan sebagai berikut (Jones, B. S dan Arlene E. Luchsinger, 1978):

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledonae)
Bangsa : Tubiflorae
Suku : Solanaceae
Marga : Lycopersicum
Jenis : *Lycopersicum esculentum*

Bentuk, warna, rasa, dan tekstur buah tomat sangat beragam. Ada yang bulat, bulat pipih, keriting atau seperti bola lampu. Warna buah masak bervariasi dari kuning, oranye, sampai merah. Ada 5 jenis buah tomat berdasarkan bentuk buahnya (Wahyu, B. T, 2008) :

- a) Tomat biasa (*L. commune*) yang banyak ditemui di pasar-pasar lokal.
- b) Tomat apel atau pir (*L. esculentum*) yang buahnya berbentuk bulat dan sedikit keras menyerupai buah apel atau pir. Tomat jenis ini juga banyak ditemui di pasar lokal.

- c) Tomat kentang (*L.grandifolium*) yang ukuran buahnya lebih besar bila dibandingkan dengan tomat apel.
- d) Tomat gondola (*L.validum*) yang bentuknya agak lonjong , teksturnya keras dan berkulit tebal.
- e) Tomat ceri (*L.cerasiforme*) yang bentuknya bulat, kecil-kecil dan rasanya cukup manis.

2.2. SEMANGKA

Tanaman semangka, *Citrullus vulgaris* atau *C.lanatus*, adalah tanaman yang berasal dari Afrika. Gurun pasir Kalahari adalah pusat penyebarannya. Bila sedang musimnya, buah semangka akan berlimpah ruah. Semua binatang, mulai dari gajah sampai tikus dan binatang buas sangat menyukainya. Bersama para pelayar dan pedagang, tanaman ini ikut beremigrasi ke India dan Cina, setelah itu ke negara lainnya. Penyebarannya ke benua Amerika dilakukan oleh bangsa Amerika sendiri. Di belahan bumi sub-tropika, seperti Jepang, Amerika, tanaman semangka merupakan tanaman yang dapat memberikan keuntungan yang sangat besar.

Buah semangka memiliki daya tarik khusus. Buahnya tergolong mengandung banyak air (sekitar 92 %) dan mengandung likopen sebesar 48,8% (Tadmor,Y *et al.*,2005). Nilai gizi buahnya termasuk rendah, hanya mengandung 7 % karbohidrat dalam bentuk gula. Kandungan vitamin dan mineralnya pun tergolong rendah. Meskipun demikian, buah ini banyak penggemarnya. Batang semangka berbentuk bulat dan lunak, berambut, dan sedikit berkayu. Batang ini merambat, panjangnya sampai 3,5 – 5,6 meter. Cabang-cabang lateral mirip dengan cabang utama. Daunnya berbentuk capping, bertangkai panjang, dan letaknya bersebrangan. Bunga semangka berjenis kelamin satu , tunggal, berwarna kuning, diameternya sekitar 2 cm (Sobir.,F.D, 2010). Secara taksonomi, tanaman semangka digolongkan sebagai berikut (Jones, B. S dan Arlene E.Luchsinger,1978) :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Violales
Suku : Cucurbitaceae
Marga : Citrullus
Jenis : *Citrullus lunatus* (Thunb.) Matsum. et Nankai

2.3. LIKOPEN

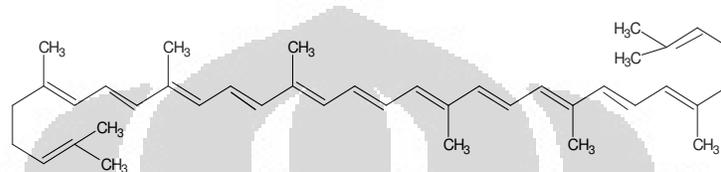
Likopen merupakan suatu hidrokarbon polien dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh, mempunyai 13 ikatan rangkap, 11 diantaranya ikatan rangkap konjugasi yang tersusun linier, likopen tidak mempunyai aktivitas provitamin A karena tidak memiliki cincin β -ionone (Clinton,1998). Senyawa ini di alam, berada dalam bentuk *trans* yang secara termodinamika merupakan bentuk yang stabil. Larut dalam CHCl_3 dan benzene, sangat mudah larut dalam eter dan n-heksan, λ max 446-506 nm, pengaruh cahaya dan pemanasan dapat merubah bentuk *trans* menjadi isomer mono atau poli *cis* (O'Neil, M. J , 2006).

Likopen bersifat hidrofobik kuat dan dapat mengalami degradasi melalui proses isomerisasi dan oksidasi karena cahaya, oksigen, suhu tinggi, teknik pengeringan, proses pengelupasan, penyimpanan dan asam (Shi & Maguer,2000). Likopen menyebabkan warna tomat menjadi merah. Semakin tua/matang tomat, warnanya semakin merah, dikarenakan kadar likopen yang semakin besar. Hal ini dapat dijelaskan bahwa warna merupakan akibat dari adanya ikatan rangkap terkonjugasi. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi dalam molekul, pita serapan utama makin bergeser ke daerah panjang gelombang yang lebih tinggi, akibatnya rona makin merah (DeMan, J. M. 1997).

Struktur molekul likopen sekilas mirip dengan struktur molekul β -karoten. Hal yang membedakannya adalah β -karoten memiliki cincin β -ionone pada ujung molekulnya (semua gugusnya berbentuk alifatik). Hal itu pula yang menyebabkan β -karoten memiliki fungsi sebagai precursor vitamin A, sedangkan likopen tidak memiliki fungsi sebagai precursor vitamin A, karena β -karoten akan diubah menjadi

retinol bila melalui usus halus. Vitamin A adalah molekul yang tersusun dari satu inti β -ionone dan rantai lemak tidak jenuh dengan dua unit isopren dan satu gugus alkohol tambahan (Agarwal, A., H. Shen, dan A. V. Rao. 2001).

2.3.1. Karakteristik Kimia (Lockwood, B. 2007)



Gambar2.1. Struktur Kimia Likopen

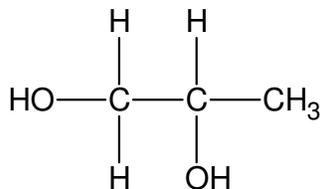
Rumus Molekul	: $C_{40}H_{56}$
Berat Molekul	: 536,88
Pemerian	: kristal seperti jarum, panjang kecoklatan
Kelarutan	: tidak larut dalam air, larut dalam benzene, n-heksan, metilen klorida dan pelarut organik lain.
Jarak Lebur	: $172^{\circ}C-175^{\circ}C$
λ_{max}	: 446-506 nm
Penyimpanan	: temperatur $2^{\circ}C-8^{\circ}C$

2.3.2. Kestabilan likopen saat penyimpanan

Dalam studi oleh Sharma dan Maguer (1996) likopen yang terkandung dalam tomat dilaporkan menurun di bawah pemanasan yang berbeda. Faktor lainnya seperti asam, gula, udara, dan cahaya juga meningkatkan degradasi likopen. Selama penyimpanan, beku-kering sampel lebih rentan terhadap hilangnya likopen bila dibandingkan dengan sampel dikeringkan dalam oven antara $25^{\circ}C$ dan $75^{\circ}C$ (Oikonomakos, I, 2006).

2.4. PELARUT YANG DIGUNAKAN UNTUK REAKSI SAPONIFIKASI

2.4.1. Propilen glikol

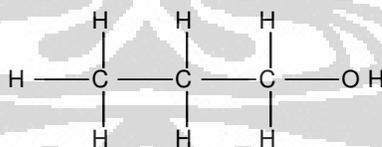


Gambar 2.2 . Struktur kimia propilen glikol

Berupa cairan kental, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, rasa agak manis, higroskopis. dapat bercampur dengan air, etanol 95% dan dengan kloroform; larut dalam 6 bagian eter; tidak dapat bercampur dengan eter minyak tanah dan dengan minyak lemak. Memiliki titik leleh -54°C – 68°C . Berat molekul propilen glikol adalah 76,09 dengan rumus molekul $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$.

Propilen glikol telah banyak digunakan sebagai pelarut, dan pengawet dalam berbagai formulasi farmasi parenteral dan non parenteral. Propilen glikol dapat digunakan sebagai antiseptik mirip dengan etanol hanya sedikit kurang efektif daripada etanol (Rowe, C., Raymond, 2006).

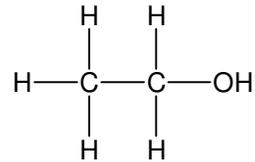
2.4.2. n-propanol



Gambar 2.3. Struktur kimia n-propanol

Berupa cairan jernih tidak berwarna, berbau seperti etanol; kelarutannya dapat bercampur dengan air dan hampir semua pelarut organik. Bobot jenis lebih kurang 0,803. Jarak didih tidak kurang dari 95%, terdestilasi antara 95°C dan 98°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995).

2.4.3. Etanol



Gambar 2.4. Rumus Struktur Etanol

Etanol (disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja), etanol berupa cairan tidak berwarna, higroskopik, bau khas. Mengandung C₂H₅OH tidak kurang dari 99,5% b/b, atau 99,7% v/v (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Karakteristik etanol :

- a) Rumus molekul : C₂H₅OH
- b) Berat Molekul : 46,07 kg/mol
- c) Titik leleh : - 112 °C
- d) Titik didih : 78 °C

2.5. TEKNIK ISOLASI DAN PEMURNIAN (Furniss *et al.*, 1978)

Isolasi terhadap hasil akhir dari suatu reaksi, dibutuhkan untuk mendapatkan suatu produk yang murni dari campuran reaksi. Hasil reaksi yang masih berada dalam campuran mungkin saja masih mengandung pelarut, reagen yang berlebihan ataupun kemungkinan produk yang diinginkan bercampur dengan hasil reaksi lain yang tidak diinginkan.

Beberapa teknik yang berhubungan dengan isolasi dan pemurnian :

2.6. Teknik filtrasi (Furniss *et al.*, 1978)

Filtrasi terhadap suatu campuran setelah reaksi berlangsung merupakan hal yang penting karena dapat mengisolasi produk yang berada dalam bentuk padatan dari pelarutnya maupun dapat memisahkan zat pengotor dan reaktan yang tidak larut dari produk hasil reaksi yang masih berada dalam larutan.

2.7. Teknik rekristalisasi (Furniss *et al.*, 1978)

Senyawa organik berbentuk padat yang diisolasi dari suatu hasil reaksi organik jarang yang sudah berada dalam bentuk murni. Pemurnian dari senyawa tersebut umumnya efektif dengan cara kristalisasi menggunakan pelarut maupun campuran pelarut yang sesuai.

Proses rekristalisasi terdiri dari : (a) melarutkan senyawa yang belum murni ke dalam pelarut yang sesuai pada temperatur titik didihnya; (b) menyaring larutan panas tersebut sehingga zat pengotor yang tidak larut akan terpisah; (c) mendinginkan filtrat panas tersebut, hal ini akan membuat zat yang tadinya terlarut akan mengkristal; (d) pemisahan kristal dari supernatant, kemudian dikeringkan.

Contoh pelarut yang umum digunakan untuk teknik kristalisasi adalah, metanol, etanol, aseton, etil asetat, asam asetat glasial, kloroform, dietil eter, benzen, dioksan, sikloheksan.

2.8. Ekstraksi pelarut (Furniss *et al.*, 1978)

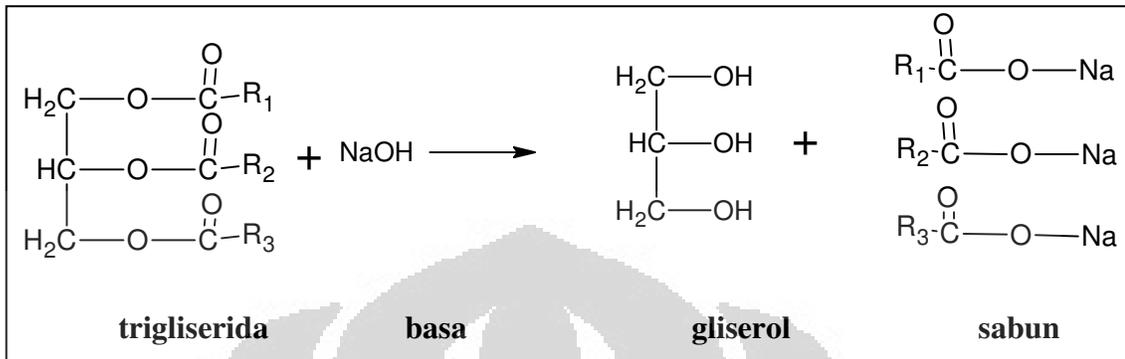
Untuk tahap pertama pemisahan dan pemurnian komponen hasil reaksi umumnya melibatkan proses ekstraksi pelarut. Pelarut yang umumnya digunakan untuk ekstraksi adalah dietil eter atau diisopropil eter, benzen, toluen, kloroform, dan metilen klorida. Pelarut-pelarut tersebut dipilih berdasarkan sifat kelarutan zat yang akan diekstraksi terhadap pelarut dan berdasarkan kemudahan pelarut tersebut dapat dipisahkan dengan larutan.

2.6. REAKSI SAPONIFIKASI (Pine, H.S.,1988)

Hidrolisis ester yang bersifat basa disebut penyabunan. Lemak hewan yang merupakan suatu alkohol, yaitu gliserol (trigliserida), dihidrolisis dengan memanaskannya di dalam larutan basa. Soda abu (kalium karbonat) yang diekstraksi dari abu kayu adalah basa yang biasa digunakan. Pembuatan sabun secara modern menggunakan larutan natrium hidroksida untuk menghidrolisis lemak. Sabun merupakan garam natrium atau kalium dari asam karboksilat berantai ($R = C_{13}-C_{19}$). Asam karboksilat yang berasal dari lemak alam disebut asam lemak. Industri yang

Universitas Indonesia

penting dari segi ekonomi didasarkan pada diperolehnya kembali lemak hewan dari pemrosesan daging dan kemudian perubahan lemak menjadi sabun.



Gambar .2.5. Reaksi Saponifikasi

Sifat yang dimiliki sabun disebabkan karena bergabungnya gugus karboksilat yang polar dan rantai hidrokarbon tak polar di dalam molekul yang sama. Di dalam medium berair, sejumlah besar molekul sabun berhimpun dalam suatu struktur bola yang disebut *misel*. Ujung karboksilat yang polar dari molekul terdapat pada tepi luar misel karena dayanya untuk menarik air (hidrofil). Ujung hidrokarbon yang tak polar dari molekul berkumpul menjadi satu di pusat misel sehingga memperkecil setiap hubungan dengan air (hidrofob).

2.7. ISOLASI LIKOPEN (Ausich et al., 1999).

Dalam isolasi likopen dengan reaksi saponifikasi, digunakan perbandingan bahan-bahan yang digunakan adalah 50 % oleoresin, 30 % propilen glikol, 10 % kalium hidroksida 45%, dan 10 % air. Reaksi saponifikasi, dapat juga digunakan NaOH atau alkali lainnya selain KOH, tetapi bentuk sabun kalium lebih diinginkan karena KOH umumnya lebih terdispersi dalam larutan berair daripada NaOH, dan NH₄OH cenderung mudah menguap pada suhu tinggi. Kulit tomat yang telah dibuang bijinya yang mengandung likopen diekstraksi dengan n-heksan selama 30 menit pada temperatur 40°C, kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam gelas piala 500 ml dan ditambahkan propilen glikol 67,4 g dimana berat oleoresin tersebut adalah

114 g, dan campuran dipanaskan sampai temperatur 55°C. Campuran tersebut ditambahkan larutan KOH 45% dan air dalam keadaan campuran propilen glikol dan oleoresinnya hangat.

Setelah reaksi saponifikasi selesai, campuran disaring dengan penyaring Whatman No.4, kemudian kristal dikumpulkan dan dicuci dengan air hangat. Kristal yang didapat dikeringkan pada temperatur 40°C. Hasil isolasi dapat dideterminasi menggunakan KLT, HPLC, atau spektrofotometri. Dalam hal ini kadar likopen dianalisis dengan HPLC. Diperoleh kadar perolehan kembali likopen sebesar 66% b/b dari oleoresin.

2.8. IDENTIFIKASI HASIL ISOLASI

2.8.1. Kromatografi Lapis Tipis

2.8.1.1. Pendahuluan

Kromatografi didefinisikan sebagai suatu prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu sistemnya bergerak berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat tersebut menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, ukuran molekul atau kerapatan ion (Bernard dan Joseph, 1996).

Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak berfungsi membawa zat terlarut melalui media, hingga terpisah dari zat terlarut lainnya. Umumnya zat terlarut dibawa melalui media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen. Fase diam dapat bertindak sebagai penjerap, seperti halnya alumina dan silika gel yang telah diaktifkan, atau dapat bertindak untuk melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak (Bernard dan Joseph, 1996).

2.8.1.2. Penggunaan KLT (Touchstontou dan Murrell, 1983)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sering digunakan untuk analisis kualitatif skala besar, dan dapat juga digunakan untuk analisis kuantitatif. Saat ini metode KLT banyak diaplikasikan untuk:

- a) Memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen zat dalam suatu campuran.
- b) Menganalisis komponen-komponen yang terkandung dalam suatu campuran senyawa secara kuantitatif.

Penggunaan metode KLT yang semakin luas dapat disebabkan metode ini memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah :

- a) Penggunaannya mudah, aplikasinya luas untuk bermacam-macam sampel, sensitivitasnya tinggi, waktu pemisahannya cepat dan tidak memakan biaya mahal.
- b) Polaritas pelarut atau jenis campuran pelarut dapat diubah berdasarkan percobaan.
- c) Jumlah cuplikan dan pelarut yang digunakan sedikit.
- d) Tidak memerlukan kemurnian sampel yang sama seperti pada KCKT.

2.8.1.3. Sistem KLT (Touchstontou dan Murrell, 1983)

Pemisahan pada KLT terjadi karena adanya interaksi dari komponen-komponen yang akan dipisahkan dengan fase diam dan fase gerak yang digunakan.

a. Fase Diam (Fase stasioner)

Adsorben/penjerap yang umumnya digunakan adalah silika gel, alumina, kieselghur dan selulosa karena strukturnya yang berpori dan luas permukaannya besar. Ukuran partikel rata-rata dari adsorben tersebut adalah antara 10 dan 50 μm . Adsorben ini melapisi plat KLT yang dapat terbuat dari kaca, gelas, atau aluminium dengan ketebalan 250 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya (Ganjar dan Abdul, 2007).

Sebelum digunakan, sebaiknya pelat kromatografi yang dilapisi adsorben dimurnikan dulu dengan cara mengelusnya menggunakan *prewashing agent* yaitu metanol. Hal ini dimaksudkan untuk membersihkan pelat dari pengotor-pengotor selain air. Selain dimurnikan dengan metanol, pelat juga harus diaktifkan dulu dengan pemanasan 120°C selama 30 menit. Tujuannya adalah untuk mengangkat air yang mungkin terdapat pada permukaan fase diam. Temperatur yang digunakan maupun waktu pemanasan jangan terlalu tinggi karena dapat menyebabkan perubahan pada komposisi fase diam. Temperatur juga jangan terlalu rendah karena dikhawatirkan masih ada sisa-sisa dari metanol sebagai *prewashing agent* (Touchstontou dan Murrell, 1983).

b. Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dipilih berdasarkan sifat zat yang ingin dipisahkan dan juga tipe adsorben yang digunakan. Komposisi fase gerak bisa tunggal atau campuran yang terdiri dari tiga sampai empat campuran pelarut dengan proporsi tertentu. Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat terjadi secara optimal (Ganjar dan Abdul, 2007).

Pemilihan fase gerak sebaiknya memenuhi syarat (Harmita, 2006) :

- a) Memberikan nilai R_f antara 0,2 – 0,8
- b) Memberikan selektifitas yang cukup baik kepada komponen zat aktif yang akan dipisahkan
- c) Fase gerak yang digunakan harus memiliki kemurnian sangat tinggi dan stabilitas yang baik
- d) Memiliki viskositas yang rendah
- e) Tidak toksik

c. Penotolan Sampel

Pemisahan yang optimal pada KLT jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin. Penotolan sampel yang tidak tepat akan

menyebabkan bercak yang menyebar dan puncak ganda.

Untuk memperoleh reproduibilitas, volume sampel yang ditotolkan paling sedikit 0,5 μl . Jika volume yang ditotolkan lebih besar dari 2-10 μl maka penotolan harus dilakukan bertahap dengan dilakukan pengeringan antar totolan.

d. Deteksi Bercak

Deteksi bercak pada KLT dapat dilakukan secara kimia maupun fisika. Cara kimia digunakan dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika digunakan dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet.

Cara-cara kimiawi untuk mendeteksi bercak (Harmita, 2006):

- a) Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna.
- b) Mengamati lempeng dibawah lampu ultraviolet pada λ emisi 254 atau 366nm.
- c) Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut organik yang akan tampak sebagai bercak hitam sampai kecoklat-coklatan.
- d) Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam chamber tertutup.
- e) Melakukan scanning pada permukaan lempeng dengan densitometer.

2.8.2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) atau KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan teknik analisis yang paling cepat berkembang dalam kimia analitik. Penggunaannya yang sangat banyak terdiri atas berbagai metode dalam kromatografi cair (Harmita,2006).

Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri atas:

a. Pompa

Tujuan penggunaan pompa adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan.

b. Injektor

Injektor berfungsi untuk memasukkan cuplikan ke dalam kolom. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan memasukkan sampel ke kolom.

c. Kolom

Kolom berfungsi untuk memisahkan masing-masing komponen. Kolom yang baik memiliki HETP yang kecil dan N yang besar. Untuk suatu puncak yang simetris, faktor ikutan (T_f) besarnya satu, dan besarnya harga T_f ini akan bertambah jika kromatogram makin tampak berekor.

d. Detektor KCKT

Detektor UV-Vis merupakan detektor yang paling banyak dipakai, akan tetapi karena banyak analit yang diukur maka akan ada kecenderungan puncak-puncak kromatogram yang tidak terdeteksi dan juga akan ada pergeseran puncak-puncak kromatogram. (Gandjar & Rohman, 2007).

e. Komputer, integrator, rekorder

Ketiganya adalah alat pengumpul data dan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram.

Pada penelitian ini akan digunakan kromatografi partisi atau yang disebut juga kromatografi fase terikat (Gandjar & Rohman, 2007).

Kromatografi partisi fase terbalik adalah kromatografi yang paling populer digunakan saat ini. Jenis kolom (fase diam) pada fase balik antara lain $-C_{18}$, $-C_8$, $-CN$,

-fenil; sedangkan jenis eluennya antara lain metanol, air, asetonitril. Pada fase terbalik, fase gerak relatif lebih polar daripada fase diam, sehingga urutan elusinya adalah polar dielusi lebih awal dan non polar dielusi terakhir (Gandjar & Rohman, 2007).

2.9. KOLORIMETRI

Metode analisis spektrofotometri sinar tampak atau dikenal juga dengan kolorimetri adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatis yang diserap zat dan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang antara 380-780 nm. (Sandel,E.B.,1973). Metode kolorimetri merupakan cara penetapan kadar yang didasarkan pada pembentukan senyawa berwarna dan memberikan serapan terhadap sinar tampak. (Skoog,D.A, 1980).

Daerah Spektrum Elektromagnetik (Harmita, 2006)

Nama	Panjang gelombang
Sinar UV	190- 380 nm
Sinar tampak	380-900 nm

Cara mengukur jumlah zat dalam larutan sekaligus mengetahui warnanya yaitu dengan melewati sebuah sinar melalui pelarutnya. Dalam hal ini terjadi bila sinar baik yang polikromatis atau monokromatis mengenai suatu zat atau media perantara, maka intensitas sinar tersebut akan berkurang. Hal ini terjadi karena sebagian cahaya tersebut diserap oleh media perantaranya dan sebagian kecil dipantulkan kembali atau dihamburkan (Underwood,A.L, 1994). Pada umumnya, zat-zat yang dapat menimbulkan warna adalah ion-ion kompleks. Warna tersebut muncul karena adanya elektron-elektron yang tidak berpasangan. Konsentrasi berwarna dapat diperkirakan secara visual (Khopkar, 2002).

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif dan Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia, dari bulan September sampai November 2011.

3.2 ALAT

Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1601, alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom Kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5 μ m), *TLC-Scanner* Camag-3 (*Camag*), alat penentu titik lebur merek Scientific, kuvet, lempeng KLT *silica gel* 60 F₂₅₄, *chamber* KLT, timbangan analitik, pipet volume, balon karet, *filter glass*, *ultrasonic*, *oven vakum*, *evaporator rotary*, *freeze dryer* (Scamvac); *magnetic stirrer*, alat-alat gelas, corong pisah.

3.3 BAHAN

Standar Likopen (DSM), buah tomat (Balitro Bogor), buah semangka (Balitro Bogor), n-heksan (Merck), etil asetat (Mallinckrodt), metanol (Merck), propilen glikol, n-propanol (Merck), etanol (Merck), kloroform (Merck), diklormetan (Merck), Aquadest, dan KOH (Merck).

3.4 CARA KERJA

3.4.1 Penyiapan larutan standar

3.4.1.1. Isolasi Standar Likopen

Standar likopen yang didapat berupa serbuk yang ter-*coating*. Oleh karena itu dalam analisis ini likopen harus dipisahkan dari *coating*-nya. *Coating* tersebut larut dalam air, sedangkan likopen adalah senyawa non polar yang tidak

larut air. Serbuk standar likopen 101,7 mg disonikasi selama ± 10 menit dalam pelarut air hingga terdapat endapan yang tidak larut lagi, cukupkan volumenya sampai 25,0 ml. Lalu secara seksama larutan tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah berukuran 250 ml, ditambahkan 20 ml n-heksan untuk menarik likopen. Setelah dikocok-kocok perlahan selama 10-15 menit, lapisan air dan n-heksan dipisahkan secara seksama. Lapisan n-heksan ditampung sampai tersisa sedikit di corong pisah, lalu ditambahkan 10 ml n-heksan untuk menarik likopen kembali. Lapisan n-heksan tersebut ditampung sisakan sedikit di corong pisah dan ditambahkan 10 ml n-heksan lagi sampai diperoleh lapisan n-heksan yang cukup encer. Setelah diperoleh lapisan n-heksan yang cukup encer, kemudian lapisan air dibuang dan lapisan n-heksan ditampung. Kemudian tambahkan natrium sulfat anhidrat, dikocok dengan vortex beberapa menit dan diamkan. Selanjutnya lapisan n-heksan ditampung dalam cawan penguap ukuran 50 ml yang telah ditimbang berat konstanannya. Keringkan di dalam lemari asam pada temperatur ruang ± 15 menit dan terlindung dari cahaya. Setelah itu diperoleh ekstrak yang lengket berwarna merah coklat. Hasil ekstraksi standar likopen ditimbang. Kemudian dihitung % perolehan kembalinya dan dibandingkan dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis* (CA).

3.4.1.2. Pembuatan Larutan Induk Standar Likopen.

Larutan induk standar likopen dibuat dengan melarutkan standar likopen yang ditimbang seksama sebanyak 25,0 mg kedalam labu ukur 25,0 ml dan ditambahkan pelarut etil asetat-metanol (1:1 v/v), kocok hingga homogen, didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$.

3.4.1.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan induk standar likopen dipipet 5 ml ke dalam labu ukur 50 ml cukupkan volumenya dengan etil asetat-metanol (1:1 v/v). Diperoleh larutan likopen dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$. Dari larutan induk tersebut selanjutnya dilakukan serangkaian pengenceran. Konsentrasi yang dibuat diantaranya 20,4;

30,6;40,8; 51,0 dan 60,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan tersebut lalu disuntikkan sebanyak 20 μl ke alat KCKT dengan kondisi analisis terpilih. Dari data pengukuran kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan luas puncak (area) sehingga diperoleh persamaan regresi linier.

3.4.2 Optimasi kondisi analisis

3.4.2.1. Kondisi Analisis Likopen Untuk KCKT.

Kondisi analisis likopen yang digunakan adalah kondisi analisis penelitian sebelumnya (Harya Pradana, 2008), yaitu dengan menggunakan alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom Kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5 μm), perbandingan fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), panjang gelombang 473 nm, dan kecepatan alir yang digunakan 1,0 ml/menit.

3.4.2.2. Pemilihan Fase Gerak Untuk KLT

Larutan standar dan larutan sampel likopen 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ditotolkan 2 μl pada lempeng KLT. Lempeng dielusi dengan fase gerak kemudian tentukan Rf (0,2-0,8). Perbandingan fase gerak :

- a. kloroform-metanol (9:1)
- b. etil asetat-n-heksan (3:7)
- c. etil asetat-n-heksan (5:5)
- d. diklormetan-metanol (8:2)
- e. diklormetan-metanol (9:1)
- f. etil asetat-metanol (4:6)
- g. n-heksan-etil asetat-metanol (2,5:2,5:5)

3.4.3 Persiapan Sampel

3.4.3.1. Buah Tomat

Buah tomat segar jenis apel sebanyak 30kg yang telah dibuang bijinya dipotong-potong kecil dan diblender, kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* dan setelah setengah kering, dikeringkan kembali dengan oven vakum.

3.4.3.2. Buah Semangka

Daging buah semangka segar yang berwarna merah sebanyak 30kg dipotong-potong kecil dan diblender, kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* dan setelah setengah kering, dikeringkan kembali dengan oven vakum.

3.4.4. Ekstraksi Likopen Menggunakan n-heksan untuk Mendapatkan Oleoresin Likopen

Serbuk kering buah tomat sebanyak 980 gram dan 700 gram semangka masing-masing diekstraksi dengan maserasi dalam n-heksan selama 6 jam. Kemudian rendaman disaring dan diuapkan dengan *evaporator rotary*, ekstraksi dilakukan lima kali hingga serbuk kering dari buah memudar. Simpan oleoresin likopen tersebut terlindung dari cahaya.

3.4.5. Isolasi dan Purifikasi Likopen dengan Reaksi Saponifikasi

Oleoresin likopen sejumlah 657,20 mg, dilarutkan dalam 16 ml n-propanol, lalu ditambahkan larutan KOH 45% 2,25 mL dan 3 ml aquadest. untuk membentuk reaksi saponifikasi perlahan-lahan pada temperatur 50 °C -70°C menggunakan *stirring* selama 60-180 menit. Setelah 3 jam, dilakukan pengenceran dengan penambahan aquadest 2 kali dari volume awal sambil diaduk dengan pengaduk magnetik pada temperatur ruang selama 4 jam. Saring ekstrak saponifikasi yang telah diencerkan untuk mendapatkan senyawa likopen. Likopen yang telah dikumpulkan dicuci dengan air hangat dan dikeringkan pada temperatur 40°C. Isolasi dilakukan 7 kali dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol, dan propilen glikol dan temperatur 50 °C, 65 °C dan 70 °C.

3.4.6. Identifikasi dan Analisis Hasil Isolasi Likopen

3.4.6.1. Identifikasi Hasil Isolasi Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Fase diam yang digunakan adalah *silica gel* 60 F₂₅₄. Eluen etil asetat-metanol (4:6) dijenuhkan dalam bejana kromatografi. Sejumlah hasil isolasi likopen dilarutkan dalam n-heksan dengan konsentrasi 300 µg/ml. Larutan tersebut ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis dan kemudian dielusi sampai garis batas. Bercak yang dihasilkan dibandingkan dengan standar.

3.4.6.2. Analisis Hasil Isolasi Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Sampel hasil isolasi dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif secara KCKT pada kondisi analisis yang sudah didapat sebelumnya.

Hasil Isolasi sebanyak 15 mg dilarutkan dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v) ke dalam labu ukur 10 ml. Diperoleh larutan hasil isolasi dengan konsentrasi 1500 µg/mL. Kemudian pipet 3,5 ml ke dalam labu ukur 100 ml. Diperoleh larutan hasil isolasi dengan konsentrasi 52 µg/mL. Ambil sebanyak 20 µl menggunakan *syringe*. Lalu suntikkan ke dalam alat KCKT dengan kondisi analisis optimum yang didapat sebelumnya. Kadar likopen dihitung dengan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh.

BAB 4 HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

4.1. HASIL PERCOBAAN

4.1.1. Penyiapan standar likopen

Ekstrak standar likopen yang didapat berupa padatan lengket berwarna merah coklat. Bila dilarutkan dalam pelarut etil asetat-metanol (1:1 v/v), larutannya berwarna kuning.

Dari ekstraksi standar likopen yang ditimbang sejumlah 101,7 mg yang dilakukan triplo didapat % bobot yang diperoleh kembali sebesar 5,28%. Tidak berbeda secara bermakna dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis (CA)*, yaitu 5,30%. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1. Untuk selanjutnya, penimbangan standar likopen menggunakan hasil konversi yang didapat dari perhitungan tersebut.

4.1.2. Pembuatan kurva kalibrasi

Persamaan Linier Untuk likopen adalah $y = -61819,25 + 10619,39x$ dengan koefisien korelasi, r adalah 0,9989. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel.4.4.

4.1.3. Optimasi kondisi Analisis

4.1.3.1. Kondisi Analisis Likopen Untuk KCKT.

Kondisi analisis likopen yang digunakan adalah kondisi analisis penelitian sebelumnya (Harya Pradana, 2008), yaitu dengan menggunakan KCKT LC 6A (Shimadzu) dengan kolom Kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5 μ m), perbandingan fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), panjang gelombang 473 nm, dan kecepatan alir yang digunakan 1,0 ml/menit. Hasil kromatogram larutan standar likopen dapat dilihat pada Gambar 4.7.

4.1.3.2. Pemilihan fase gerak KLT

Larutan standar likopen dalam n-heksan ditotolkan pada lempeng KLT. Lempeng dielusi dengan fase gerak kemudian tentukan Rf (0,2-0,8). Perbandingan fase gerak :

- a. kloroform-metanol (9:1)
- b. etil asetat-n-heksan (3:7)
- c. etil asetat-n-heksan (5:5)
- d. diklormetan-metanol (8:2)
- e. diklormetan-metanol (9:1)
- f. etil asetat-metanol (4:6)
- g. n-heksan-etil asetat-metanol (2,5:2,5:5)

Dari hasil percobaan dipilih fase gerak etil asetat-metanol (4:6). Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.3. dan Gambar. 4.4.

4.1.4. Persiapan sampel

Dari hasil determinasi diperoleh hasil bahwa tomat yang digunakan pada penelitian ini adalah tomat jenis apel (*L. esculentum*) dan semangka dengan jenis *Citrullus lunatus*. Surat hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 7. Sampel hasil pengeringan tomat dan semangka diperoleh masing-masing sebesar 980 gram dan 700 gram.

4.1.5. Isolasi likopen

Hasil isolasi likopen dari oleoresin yang berasal dari buah tomat dan semangka menghasilkan produk berupa granul berwarna merah kecoklatan. Data hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.5- Tabel 4.7. Senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar. 4.11.

4.1.6. Identifikasi dan analisis hasil isolasi

4.1.6.1. Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Densitometri

Analisa kualitatif secara kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri dilakukan dengan menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (4:6). Hasil elusi senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan standar likopen bisa dilihat pada Tabel.4.8. Hasil kromatogram KLT densitometri dapat dilihat pada Gambar.4. 5 dan Gambar 4.6.

4.1.6.2. Analisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Analisa kualitatif dan kuantitatif secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dilakukan dengan menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (3:7). Hasil elusi senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan standar likopen bisa dilihat pada Tabel 4.10. Hasil kromatogram KCKT dapat dilihat pada Gambar. 4.8 dan Gambar 4.9.

4.2. PEMBAHASAN

4.2.1. Penanganan standar likopen

Standar likopen terbungkus oleh lapisan yang sangat berbeda polaritasnya. *Coating* standar likopen dapat larut dalam air sedangkan likopen tidak larut dalam air. Oleh karena itu, pemisahannya dilakukan di corong pisah menggunakan dua pelarut yaitu aquabidest dan n-heksan. likopen akan tertarik pada lapisan n-heksan.

Setelah lapisan air dipisahkan dari lapisan n-heksan, kemudian tambahkan Sodium Sulfat Anhidrat pada lapisan n-heksan untuk menjamin tidak adanya lapisan air di dalam ekstrak. Selanjutnya diuapkan di lemari asam. Ekstrak standar yang didapat kemudian dilarutkan dalam pelarut etil asetat-metanol (1:1 v/v). Kemudian ekstrak standar yang telah dilarutkan dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v), diukur dengan spektrofotometri UV-Vis, didapat panjang gelombang maksimum 447, 473, dan 504,5 nm. Hal ini bukan karena likopen tercemar zat lain, melainkan karena struktur ikatan rangkap terkonjugasi likopen yang khas sedemikian rupa menghasilkan kurva serapan yang memiliki tiga panjang gelombang maksimum pada

daerah cahaya tampak. Panjang gelombang yang diperoleh masih memenuhi rentang panjang gelombang maksimum likopen pada literatur yaitu 446, 472, 505 nm (O'Neil, M. J., 2006).

Panjang gelombang maksimum yang dipilih adalah 473 nm tidak berbeda secara bermakna dengan panjang gelombang penelitian terdahulu, yaitu 472 nm (HaryaPradana,2008). Panjang gelombang maksimum 473 nm dipilih karena pada panjang gelombang tersebut serapan likopen paling tinggi bila dibandingkan dengan kedua panjang gelombang yang lain.

4.2.2. Kurva kalibrasi dan linearitas likopen

Pada pembuatan kurva kalibrasi dan linearitas dibuat larutan standar likopen dengan berbagai konsentrasi yaitu, 20,4; 30,6; 40,8; 51,0; dan 60,2 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing larutan tersebut disuntikkan ke alat KCKT dengan volume penyuntikan 20 μl pada kondisi analisis optimum. Dari data yang diperoleh didapatkan persamaan regresi linier untuk likopen yaitu, $y = -61819,25 + 10619,39x$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9989.

4.2.3. Pemilihan fase gerak KLT

Pada pemilihan fase gerak untuk KLT, penulis memilih perbandingan dua fase gerak yaitu etil asetat-metanol (4:6), dikarenakan R_f yang dihasilkan paling baik diantara fase gerak yang lain, yaitu 0,59. Hal itu dikarenakan, likopen merupakan senyawa yang bersifat non-polar, jika menggunakan pelarut yang sama-sama non-polar senyawa likopen tidak tertahan pada saat dielusi seperti dengan etil asetat-n-heksan yang memberikan nilai R_f 0,90. Sedangkan jika menggunakan pelarut yang lebih bersifat polar yaitu dengan menggunakan kloroform-metanol senyawa likopen tersebut tidak terlalu tertarik sehingga menghasilkan R_f yang kecil yaitu 0,38. Oleh karena itu digunakan fase gerak etil asetat-metanol sehingga dihasilkan R_f yang terbaik dibandingkan fase gerak yang lain yaitu dengan nilai R_f 0,59.

4.2.4. Persiapan sampel

Untuk keperluan penelitian ini digunakan buah tomat jenis apel (dan semangka yang memiliki daging berwarna merah. Sampel tomat dan semangka yang tela dideterminasi di Balitro Bogor. Kandungan likopen dalam tomat dan semangka segar sebagian besar terdapat dalam bentuk *all-trans* yang secara termodinamika merupakan bentuk yang stabil. Secara umum isomer *cis* bersifat lebih polar, mempunyai kecendrungan yang lebih rendah untuk menjadi kristal.

4.2.5. Isolasi likopen dari oleoresin yang berasal dari buah tomat dan semangka

Dalam isolasi likopen dengan reaksi saponifikasi, digunakan perbandingan bahan-bahan yang digunakan adalah 657,20 mg oleoresin, 16 ml pelarut, dalam hal ini digunakan tiga pelarut yang berbeda (n-propanol, etanol, dan propilen glikol), 2,25 ml larutan KOH 45%, dan 3 ml aquadest (Ausich *et al.*,1999). Reaksi saponifikasi, dapat juga digunakan NaOH atau alkali lainnya selain KOH, tetapi bentuk sabun kalium lebih diinginkan karena KOH umumnya lebih terdispersi dalam larutan berair daripada NaOH, dan NH₄OH cenderung mudah menguap pada temperatur tinggi.

Pada dasarnya, analisis likopen merupakan pekerjaan yang sangat sulit karena likopen merupakan antioksidan yang sangat kuat, sehingga sangat mudah teroksidasi dan terurai oleh pengaruh cahaya, panas, dan faktor-faktor lain. Penanganannya harus secepat mungkin agar menghindari terjadinya oksidasi. Pada penelitian ini digunakan tiga pelarut dan tiga temperatur yang berbeda Tujuan dari isolasi ini adalah untuk mencari metode optimum untuk menghasilkan senyawa hasil isolasi yang murni serta penetapan kadar dari hasil isolasi likopen. Kondisi isolasi yang digunakan adalah untuk sampel buah tomat digunakan pelarut n-propanol temperatur 50°C (Sampel A₁), pelarut n-propanol temperatur 65°C(Sampel A₂), pelarut n-propanol temperatur 70°C(Sampel A₃), pelarut etanol temperatur 65°C (Sampel B), pelarut propilen glikol temperatur 65°C (Sampel C). Sedangkan untuk buah semangka kondisi isolasi yang digunakan adalah dengan menggunakan pelarut n-propanol temperatur 50°C (Sampel D₁) dan pelarut n-propanol temperatur 70°C (Sampel D₂).

Dari hasil isolasi tersebut berdasarkan karakterisasi menggunakan KLT densitometry dan KCKT sampel A₁ dan sampel D₁ menunjukkan hasil isolasi lebih optimum dibandingkan dengan dua pelarut yang ada yaitu sampel B dan sampel C. Hal ini disebabkan karena viskositas pelarut yang digunakan pada sampel A₁ lebih kecil dibandingkan dengan pelarut yang digunakan pada sampel B dan sampel C sehingga kelarutan untuk melarutkan asam lemak yang terdapat dalam oleoresin lebih besar. Dan pada temperatur yang minimum yaitu 50°C likopen ini tidak terdegradasi dibandingkan dengan kedua temperatur yang lain yaitu 65°C dan 70°C. Karena likopen merupakan suatu senyawa yang sangat tidak stabil dan suatu antioksidan kuat yang mudah terdegradasi pada temperatur tinggi (Shi & Maguer,2000).

4.2.6. Identifikasi dan analisis senyawa hasil isolasi

4.2.6.1. Analisis kualitatif hasil isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis dengan Densitometri

Untuk mengetahui senyawa hasil Isolasi yang diperoleh merupakan senyawa yang murni maka dilakukan uji kemurnian senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis. Fase gerak yang dipilih harus bisa memisahkan dengan baik dan menghasilkan R_f yang samadengan standar likopen. Dalam pemilihan fase gerak, 7 sistem fase gerak dicoba, yaitu kloroform-metanol (9:1), etil asetat-n-heksan (3:7) , etil asetat-n-heksan (5:5), diklormetan-metanol (8:2), diklormetan-metanol (9:1), etil asetat-metanol (4:6), dan n-heksan-etil asetat-metanol (2,5:2,5:5).

Fase gerak etil asetat-metanol (4:6) dipilih karena menghasilkan R_f yang terbaik, yaitu 0,59. Senyawa hasil isolasi likopen pada sampel A₁ dan D₁ memiliki R_f yang sama dengan standar likopen, yaitu dengan nilai R_f 0,59, sedangkan senyawa hasil isolasi dengan menggunakan pelarut dan temperatur yang lain menghasilkan nilai R_f yang tidak terlalu jauh dengan standar likopen. Kesamaan nilai R_f tersebut menunjukkan senyawa hasil isolasi likopen pada sampel A₁ dan D₁ sudah cukup murni dibandingkan dengan menggunakan pelarut dan temperatur yang lain.

4.2.6.2. Analisis kualitatif hasil isolasi secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Dari hasil isolasi senyawa likopen dilakukan analisa secara kualitatif dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi pada kondisi analisis optimum, dimana menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v) dengan kecepatan alir 1,0 ml/menit. Hasil isolasi dianalisa secara kualitatif dengan membandingkan waktu retensi yang didapat dengan waktu retensi yang dimiliki oleh standar likopen. Dari hasil analisa diperoleh bahwa hasil isolasi likopen dan standar likopen memiliki waktu retensi masing-masing 12,116 menit dan 12,121. Dibandingkan pada penelitian terdahulu dengan menggunakan fase gerak yang sama yaitu etil asetat-metanol 1:1 v/v tidak memiliki waktu retensi yang berbeda, pada penelitian terdahulu (Harya Pradana,2008) puncak likopen yang dihasilkan muncul pada waktu retensi 12 menit. Dilihat dari waktu retensi yang didapat memiliki kemiripan dengan standar, maka senyawa yang terdapat dalam sampel hasil isolasi merupakan senyawa likopen.

4.2.6.3. Penetapan kadar hasil isolasi likopen secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Penetapan kadar likopen hasil isolasi dilakukan pada kondisi analisis optimum menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v) dengan kecepatan alir 1,0 ml/menit. Berdasarkan penelitian ini dihasilkan kadar likopen dari sampel A₁ sebesar 21,83%, sampel A₂ sebesar 21,73%, sampel A₃ sebesar 10,79%, sampel B sebesar 18,35% dan sampel C sebesar 16,14%. Sedangkan kadar likopen yang berasal dari sampel D₁ sebesar 18,14% dan sampel D₂ sebesar 10,73%. Berdasarkan hasil tersebut kadar likopen terbesar diperoleh dari sampel A₁. Pada penelitian terdahulu (Madhavi. D.L., dan Kagan D.I.,2002) disebutkan bahwa pelarut dengan viskositas yang lebih tinggi dibutuhkan temperatur yang lebih tinggi untuk dapat melarutkan asam lemak yang terdapat dalam oleoresin, sedangkan sifat dari likopen tersebut merupakan senyawa yang sangat tidak stabil dan dapat dengan mudah terdegradasi pada temperatur tinggi (Shi & Maguer,2000).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ausich *et al.*,1999 isolasi likopen dengan pelarut propilen glikol pada temperatur 50°C menghasilkan kadar likopen

sebesar 66%, sedangkan pada penelitian ini diperoleh kadar likopen dengan menggunakan pelarut propilen glikol pada temperatur 65°C sebesar 16,14%. Kadar yang diperoleh lebih kecil dari penelitian sebelumnya, hal ini dapat dikarenakan kondisi analisis yang berbeda yaitu temperatur pada proses isolasi atau pun dikarenakan sampel oleoresin yang digunakan pada penelitian tersebut lebih banyak dibandingkan dengan penelitian ini dan dapat juga dikarenakan sampel tomat yang digunakan pada penelitian ini berasal dari lokasi yang berbeda dengan penelitian sebelumnya.



BAB 5

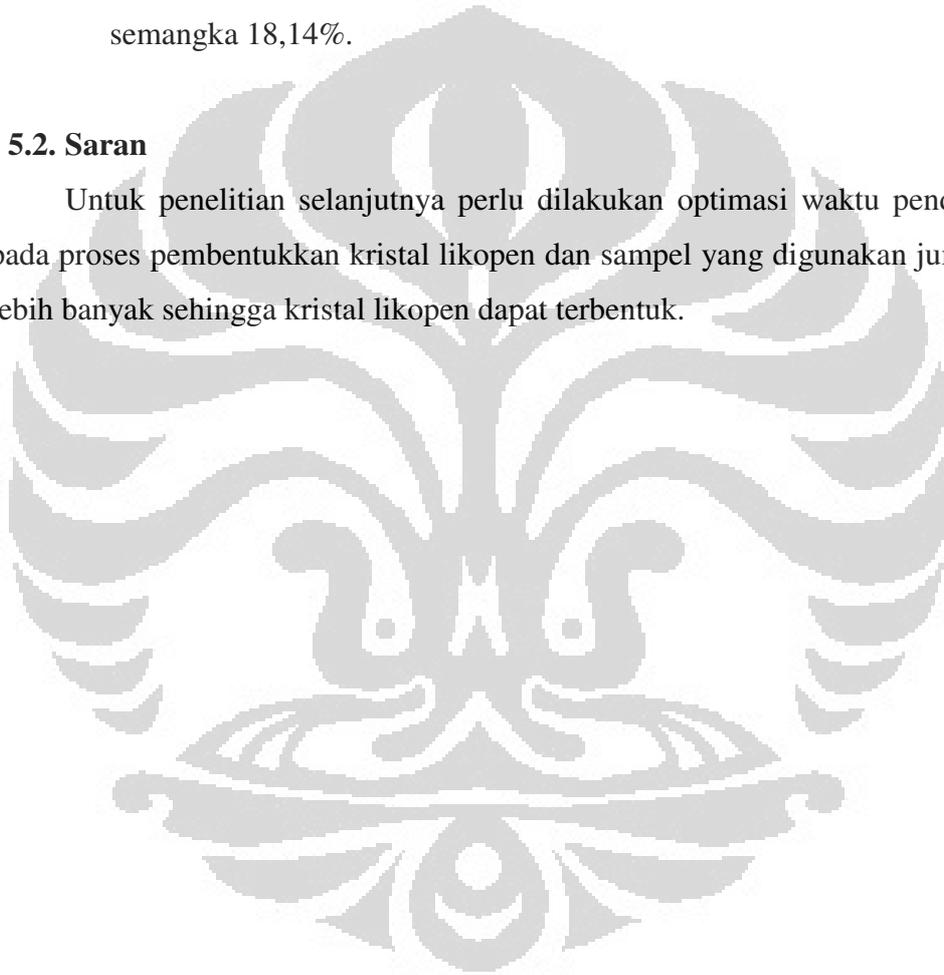
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Metode isolasi dan purifikasi terbaik untuk mendapatkan senyawa likopen adalah dengan menggunakan pelarut n-propanol dan temperatur isolasi 50°C.
- 5.1.2. Kadar likopen yang diperoleh dari tomat sebesar 21,83% dan dari semangka 18,14%.

5.2. Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi waktu pendinginan pada proses pembentukan kristal likopen dan sampel yang digunakan jumlahnya lebih banyak sehingga kristal likopen dapat terbentuk.



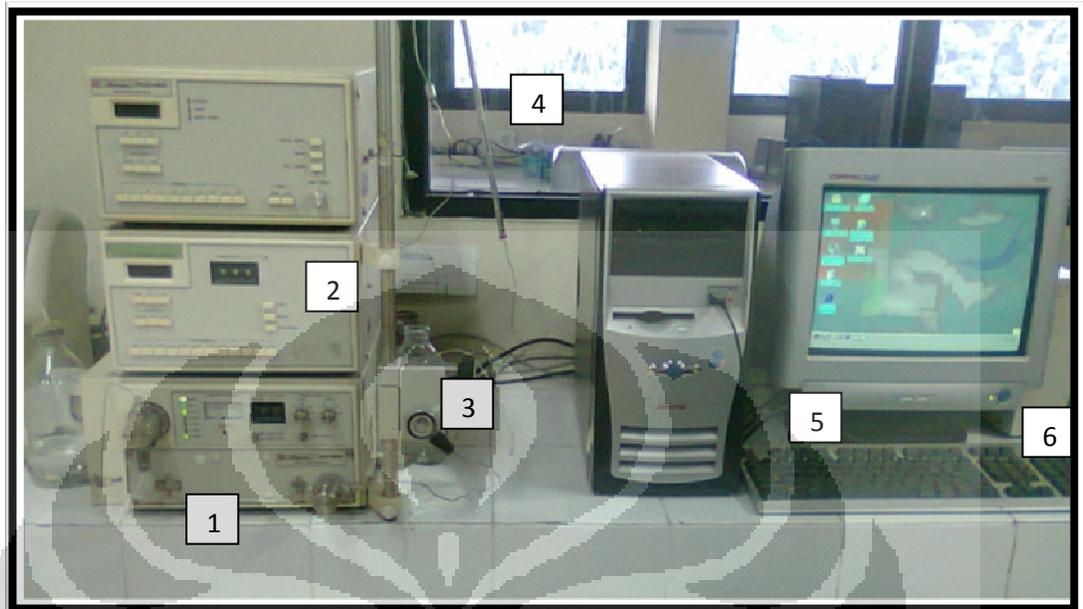
DAFTAR ACUAN

- Agarwal, A., H. Shen, dan Rao.A.V. 2001. Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J. Med. Food.* **4**: 9-15.
- Ausich *et al.*,1999. *Process For The Isolation an Purification Of Lycopene Crystal.* United States Patent Documents, United States, 5,858,700.
- B, Jones Samuel dan Arlene E. L. 1987. *Plant Systematics 2nd edition.* Singapura : University Georgia Libraries.
- Baga, M. K. 2008. *Bertanam semangka.* Jakarta : Penebar Swadaya
- Bernard, F dan Joseph S. 1996. *Practical Thin Layer Chromatography, A Multidisciplinary Approach.* USA : CRC Press. Hal.1-15.
- Clinton, S. K. 1998. Lycopene: Chemistry, Biology, and Implications for Human Health and sisease. *J.Nutr.* **56**:367-381.
- DeMan, J. M. 1997. *Kimia Makanan. Edisi 2.* Penerbit ITB. Bandung. Hal : 262-272.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV.* Korpri Sub Unit Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1193.
- Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Rogers, V., Smith, P.W.G., dan Tatchel, A.R. (1978). *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry Fourth Edition.* Longman Group Ltd. England:100-230, 795
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Pine, H.S.,James B. Hendrickson *et al.* 1988. *Kimia Organik I,* Bandung: Penerbit ITB. 359-360.

- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok:Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Johnson, E. C. & Stevenson.R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Bandung: Penerbit ITB.
- Khopkar, S.M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kumalaningsih,S. 2006. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*. Cetakan pertama. Surabaya: Trubus Agrisarana,2-4.
- Lockwood, B. 2007.*Nutraceuticals 2nd edition*.USA: Pharmaceutical Press.
- Madhavi. D.L., dan Kagan D.I.,2002.Process For The Isolation Of Mixed Carotenoids From Plants, United States Patent Documents, United States, 6,380,442 B1,
- O'Neil, M. J. (editor). 2006. *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 14th Edition*. N.J., USA : Merck & Co., Inc,. Hal : 630, 974-975 dan 6973.
- Oikonomakos, I. 2006. *Maturity and temperature influence on lycopene distribution during filtration processing of red-fleshed watermelons*. Oklahoma State University:USA
- Pradana,H. 2008.*Pengaruh Temperatur Lama Pemanasan dan Penambahan Minyak Zaitun Terhadap Kadar Likopen dalam Sampel Buah Tomat*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Rao, A. V. 2002. Lycopene, Tomatoes and the Prevention of Coronary Heart Disease. *J. Med. Biology*, **227**(10):908-913.
- Richelle, M.,Bortlik, K.,Liardet,S.,Hager,C.,Lambelet,P.,Baur,M.,*et al*. 2002. A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J. Nutr.***132**:404-408.
- Rowe, C., Raymond. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 5th edition*. Amerika : The Pharmaceutical Press.

- Sandel, E.B. 1973. *Colorimetric Determination of Traces Metals 2nd edition*. New York: Interscience Publishers Inc. 46-51.
- Shi, J., & Le Maguer. M. 2000. Lycopene in Tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *J.Biotech.* **20**(4):293-334.
- Skoog, D.A., *et al.* 1980. *Principals of Instrumentals Analysis 2nd edition*. Philadelphia: Saunders College. 32-76.
- Tadmor, Y *et al.* 2005. Comparative Fruit Colouration in Watermelon and Tomato. *J.Food Int.* **38**: 837-841.
- Touchstontou, JC, dan Murrell FD. 1983. *Practice of Thin Layer Chromatography 2nd edition*. USA : Joh Wiley & Sons, Inc. 13-14, 24, 142-146, 251-258.
- Underwood, A.L. 1994. *Analisa Kimia Kuantitatif Edisi Keempat* (Iis Sopyan, penerjemah). Jakarta: Erlangga.
- Sobir., F. 2010. *Budidaya Semangka*. Bogor : Penebar Swadaya.
- Vitahealth. 2009. *Seluk-beluk Food Supplement*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wahyu, B. 2008. *Bertanam Tomat*. Tangerang: PT Agromedia Pustaka.
- Yuliarti, N. 2009. *A to Z Food Supplement*. Yogyakarta : C.V Andi Offset.





Gambar 3.1. Alat kromatografi Cair kinerja tinggi (Shimadzu)

Keterangan :

1. Pompa LC-6A Shimadzu
2. Detektor UV LC-6A Shimadzu
3. Injektor
4. Kolom (Kromasil[®]) C₁₈ fase terbalik (25 x 0,64 cm; 5 μ m)
5. Monitor
6. Integrator CBM-102 (Shimadzu)



Gambar .3.2. Alat *TLC-Scanner 3* (CAMAG)



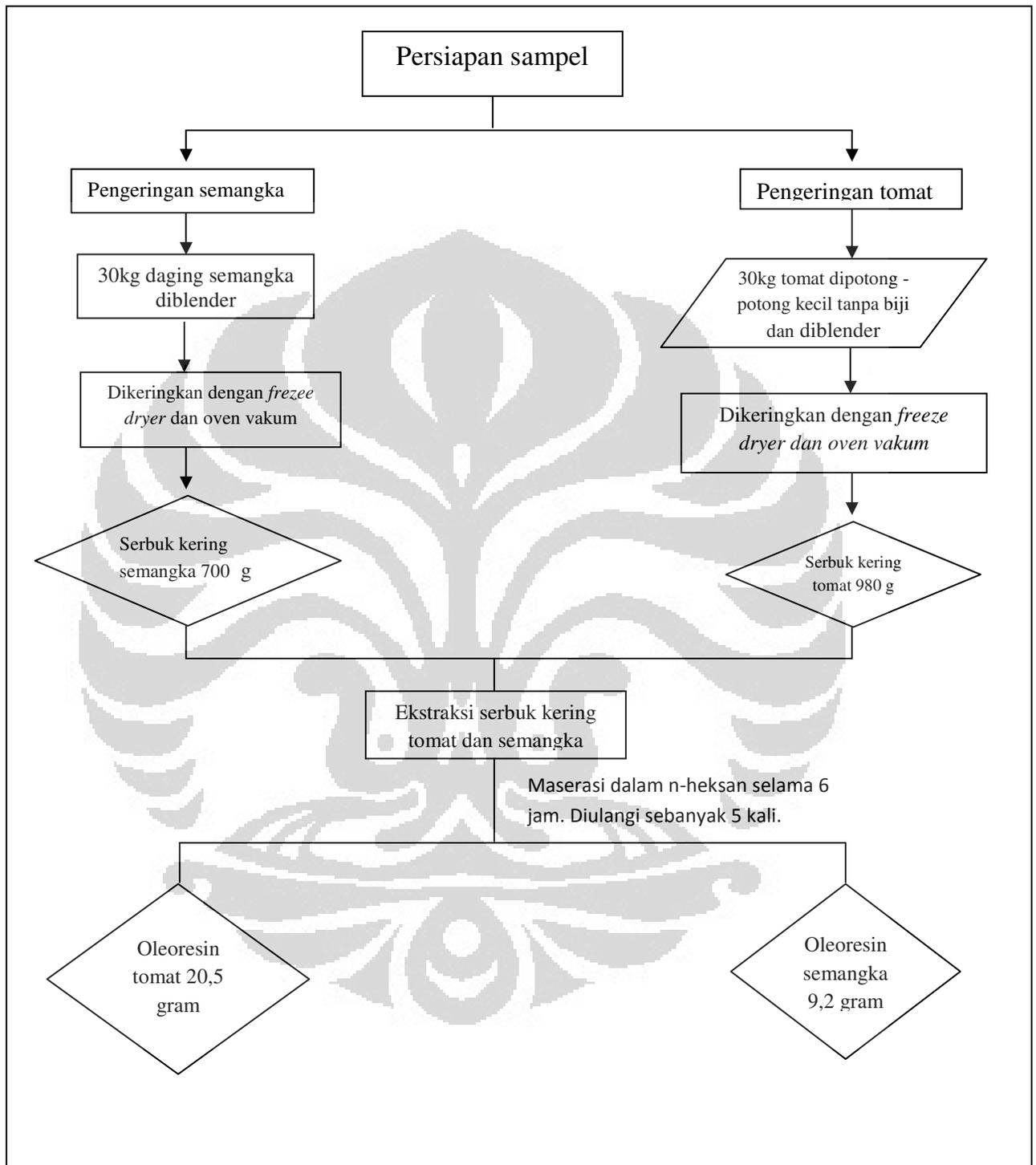
Gambar 3.3. Alat Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1601)



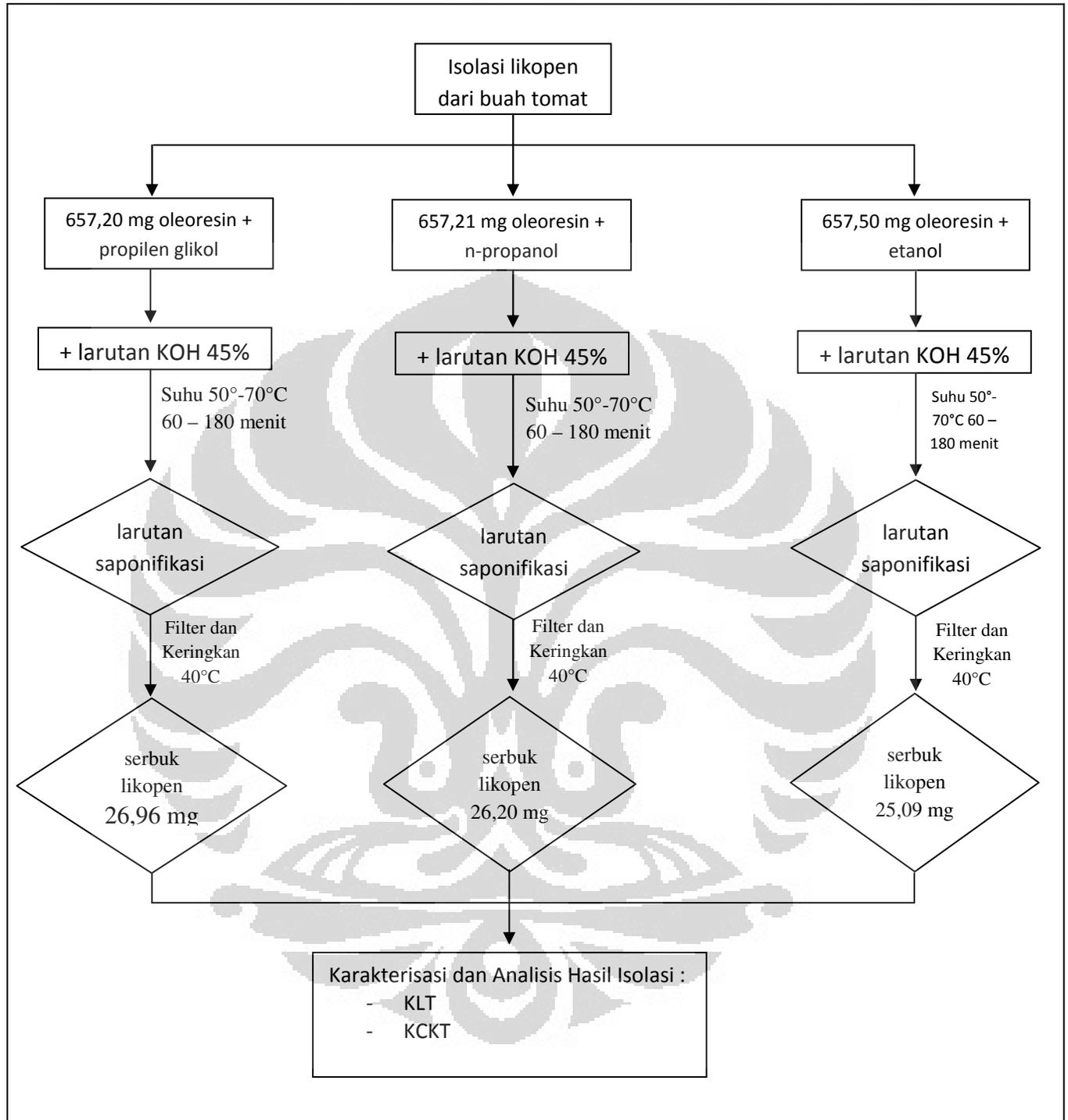
Gambar 3.4. Alat *Freeze Dryer*(Scamvac)



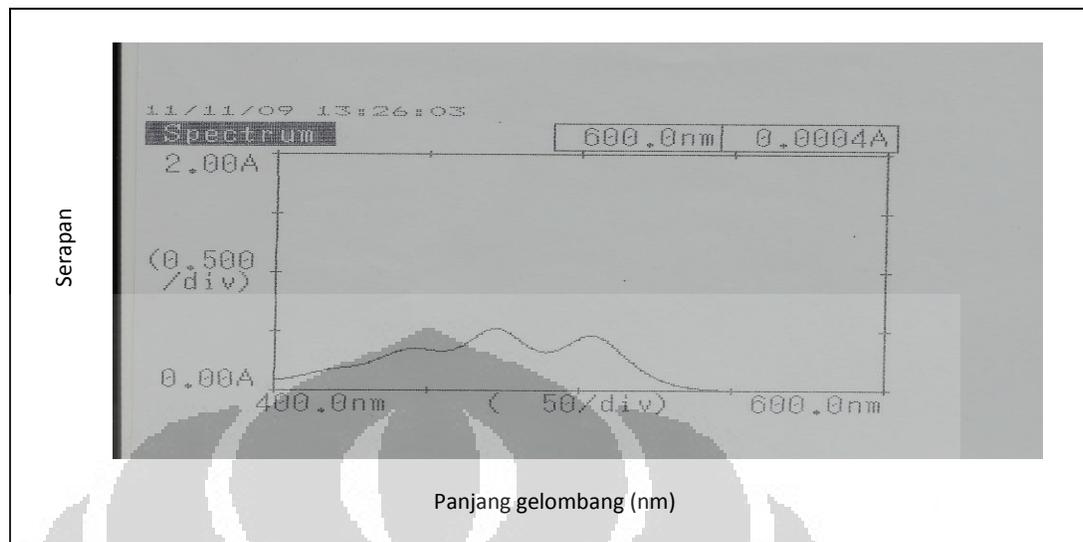
Gambar 3.5. Alat oven vakum



Gambar 4.1. Bagan ekstraksi likopen dari buah tomat dan semangka



Gambar 4.2. Bagan isolasi likopen dari buah tomat

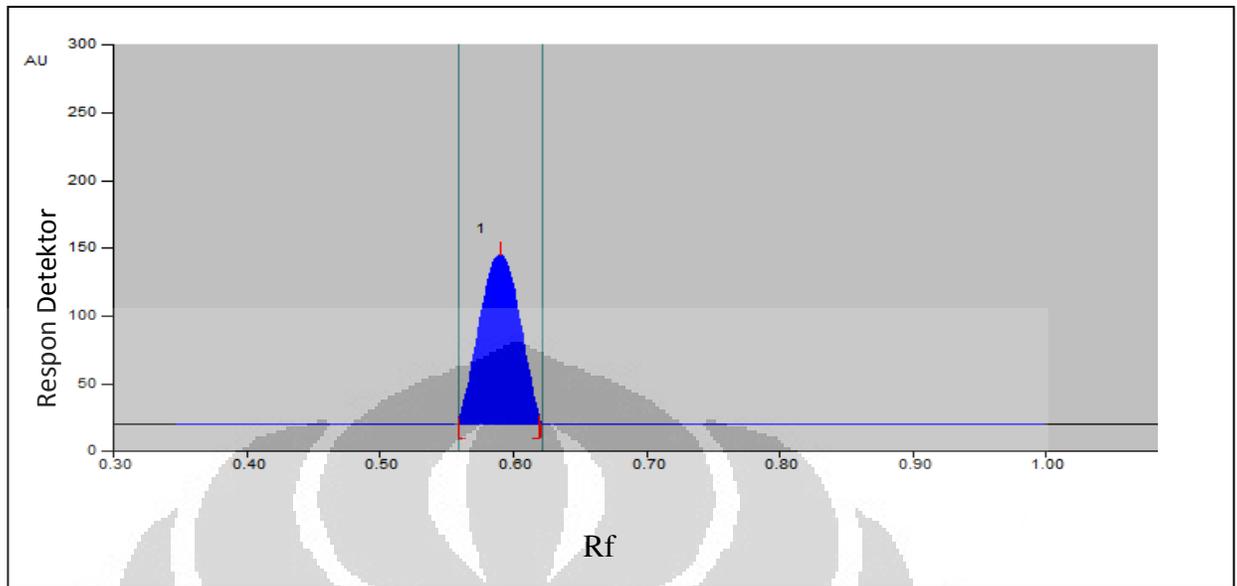


Keterangan :

Panjang gelombang : 473 nm

Serapan : 0,5277

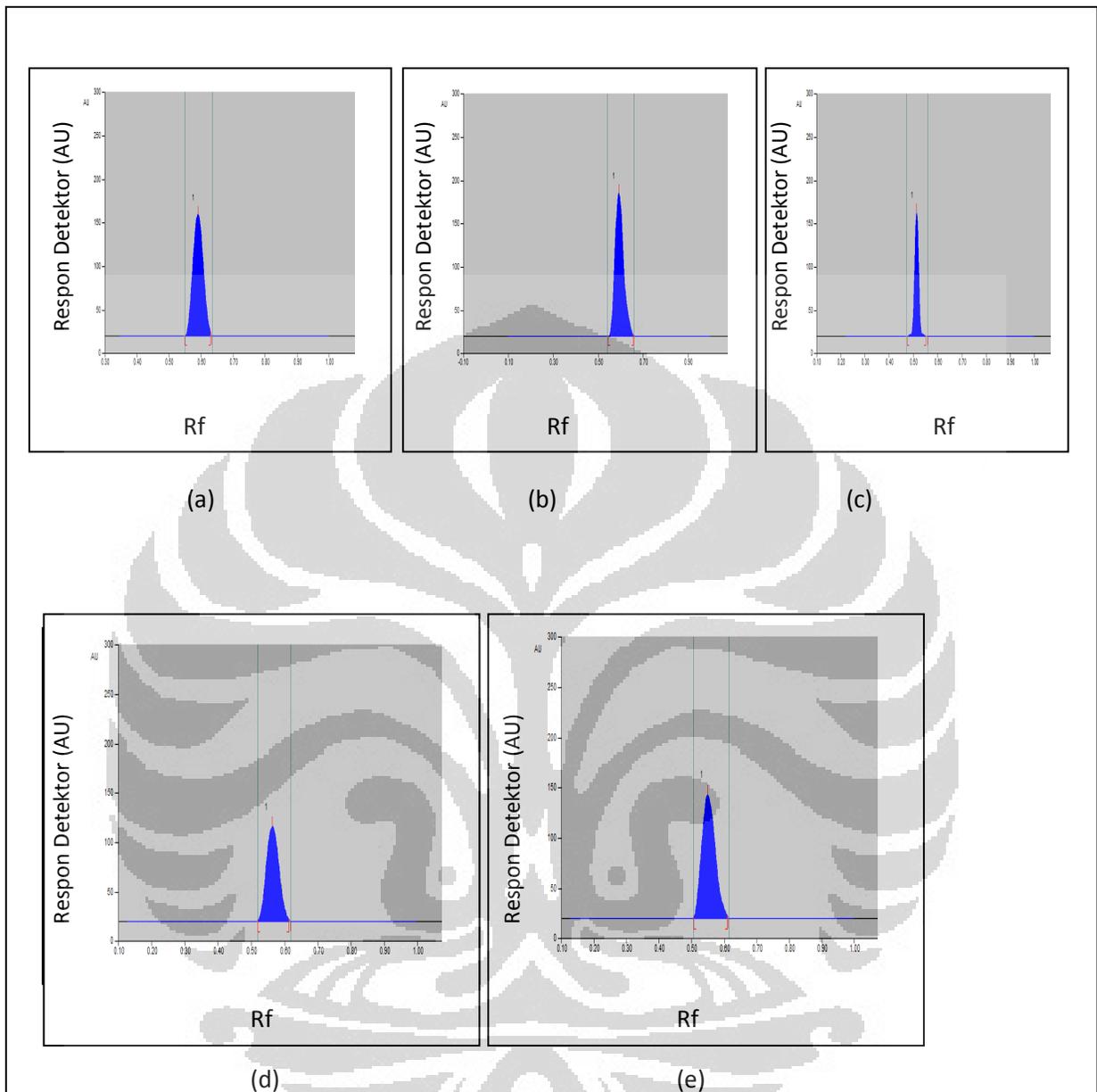
Gambar 4.3 Spektrum serapan standar likopen 40 μ g/ml dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v)



Kondisi Analisis:

Alat KLT densitometri (*Camag-3*), volume penotolan 2 μl , fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v) pada panjang gelombang 473 nm.

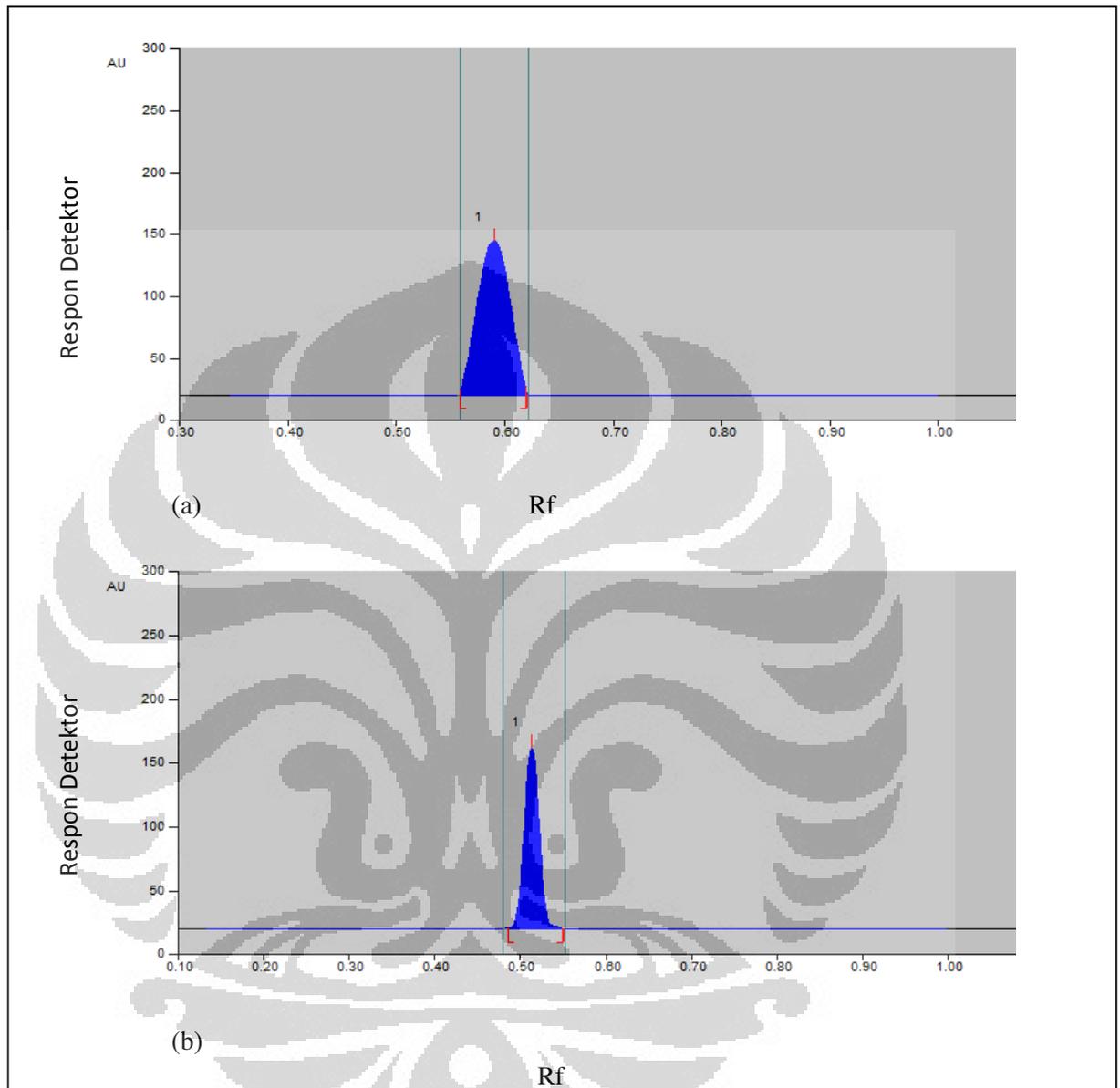
Gambar 4.4. Kromatogram standar likopen 300 μg / dengan nilai Rf 0,59



Keterangan :

- (a) Sampel A₁: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 50°C
- (b) Sampel A₂: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 65°C
- (c) Sampel A₃: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 70°C
- (d) Sampel B : oleoresin tomat dengan pelarut etanol pada temperatur 65°C
- (e) Sampel C : oleoresin tomat dengan pelarut propilen glikol pada temperatur 65°C

Gambar 4.5 Kromatogram KLT sampel likopen dari buah tomat dengan konsentrasi 300 µg/ml dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)

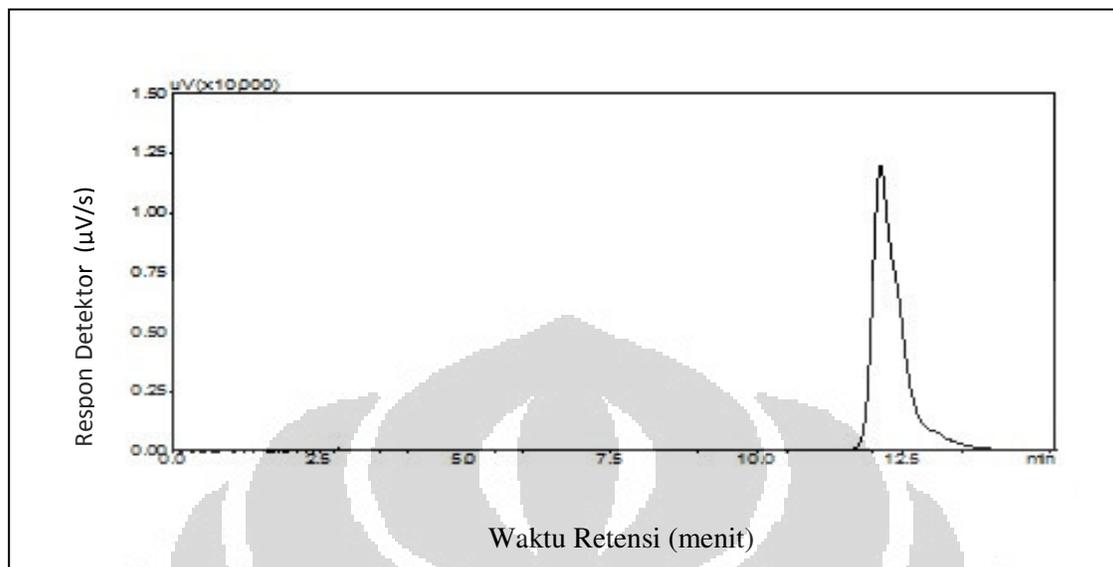


Keterangan :

(a) Sampel D₁: oleoresin semangka dengan pelarut n-propanol pada temperatur 50°C

(b) Sampel D₂: oleoresin semangka dengan pelarut n-propanol pada temperatur 70°C

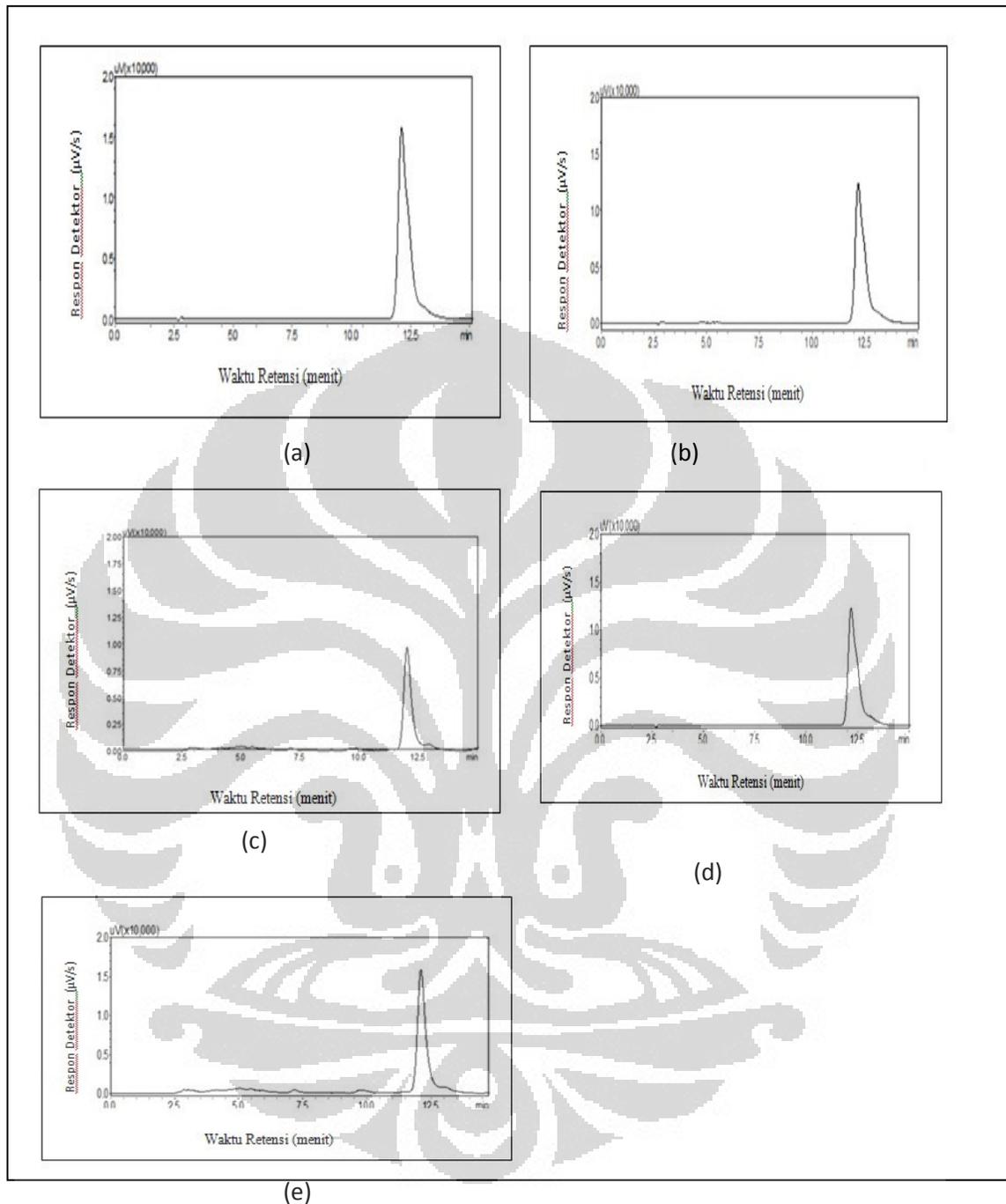
Gambar 4.6. Kromatogram KLT sampel likopen dari buah semangka dengan konsentrasi 300 μ g/ml dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6v/v)



Kondisi Analisis :

Alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom Kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5µm), volume penyuntikan 20 µl, fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473nm.

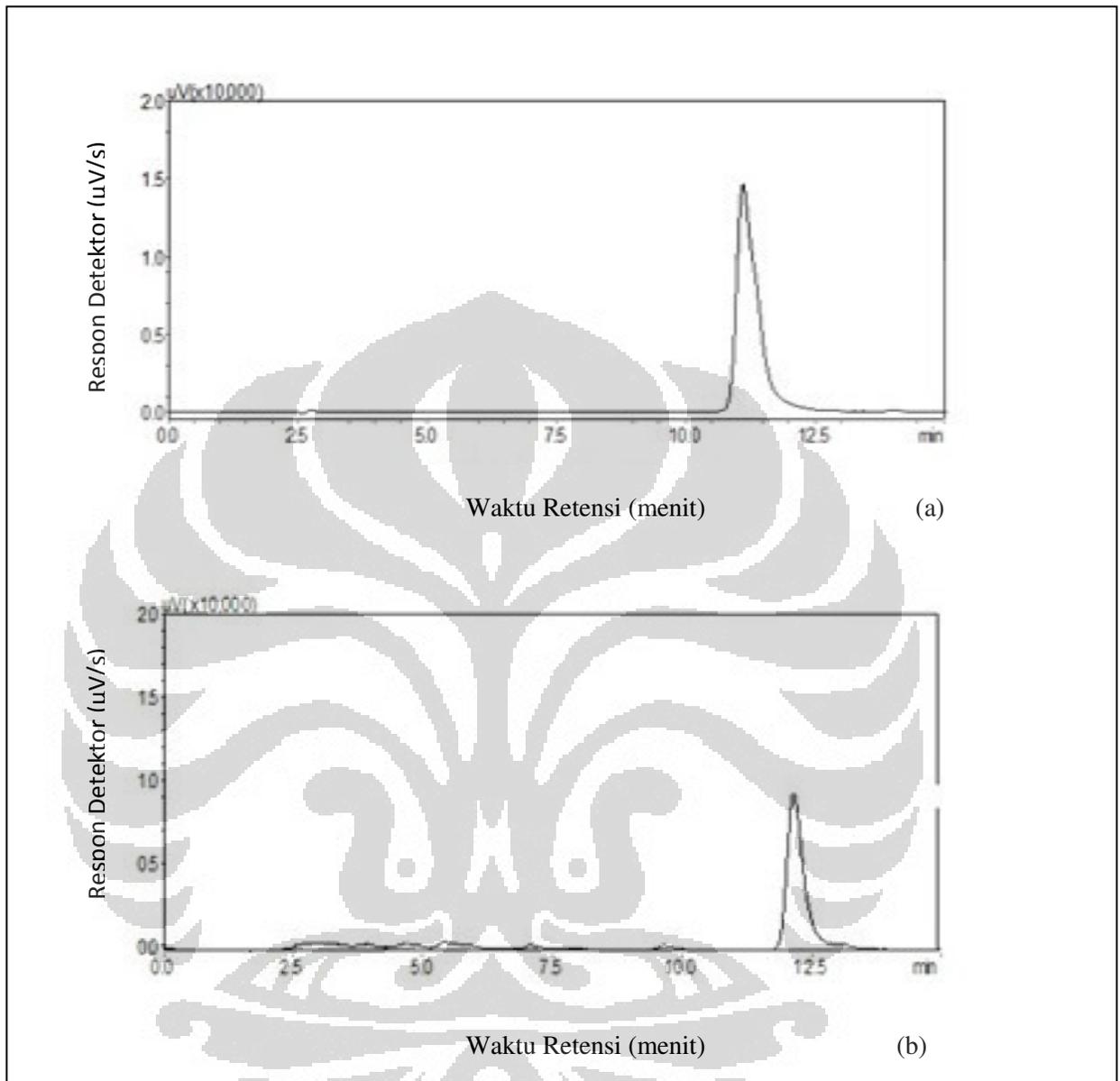
Gambar 4.7 Kromatogram KCKT larutan standar likopen 40 µg/ml dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v)



Keterangan :

- (a) Sampel A₁: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 50°C
- (b) Sampel A₂: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 65°C
- (c) Sampel A₃: oleoresin tomat dengan pelarut n-propanol pada temperatur 70°C
- (d) Sampel B : oleoresin tomat dengan pelarut etanol pada temperatur 65°C
- (e) Sampel C : oleoresin tomat dengan pelarut propilen glikol pada temperatur 65°C

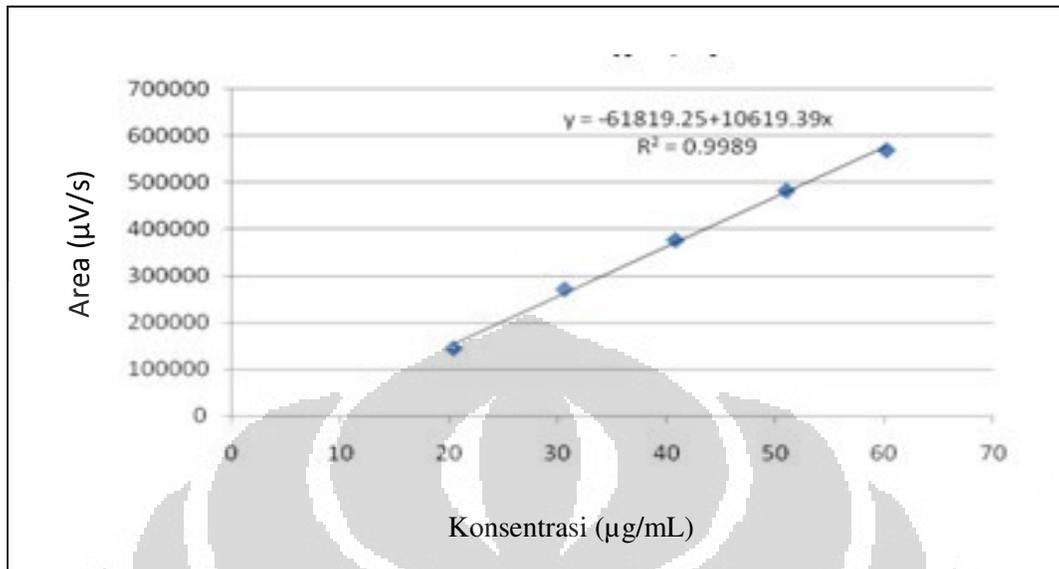
Gambar 4.8. Kromatogram KCKT larutan sampel likopen dari buah tomat dalam etil asetat-metanol (1:1 v/v)



Keterangan :

- (a) Sampel D₁: oleoresin semangka dengan pelarut n-propanol pada temperatur 50°C
- (b) Sampel D₂: oleoresin semangka dengan pelarut n-propanol pada temperatur 70°C

Gambar 4.9. Kromatogram KCKT larutan sampel likopen dari buah semangka dalam etil asetat-metanol (1:1v/v).



Keterangan :

Persamaan garis : $y = -61819,25 + 10619,39x$

Koefisien korelasi : $r = 0,9989$

Kondisi Analisis :

Alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom Kromasil® C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5µm), volume penyuntikan 20 µl, fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473nm.

Gambar 4.10. Kurva Kalibrasi Standar Likopen KCKT



Gambar 4.11. Likopen Hasil Isolasi



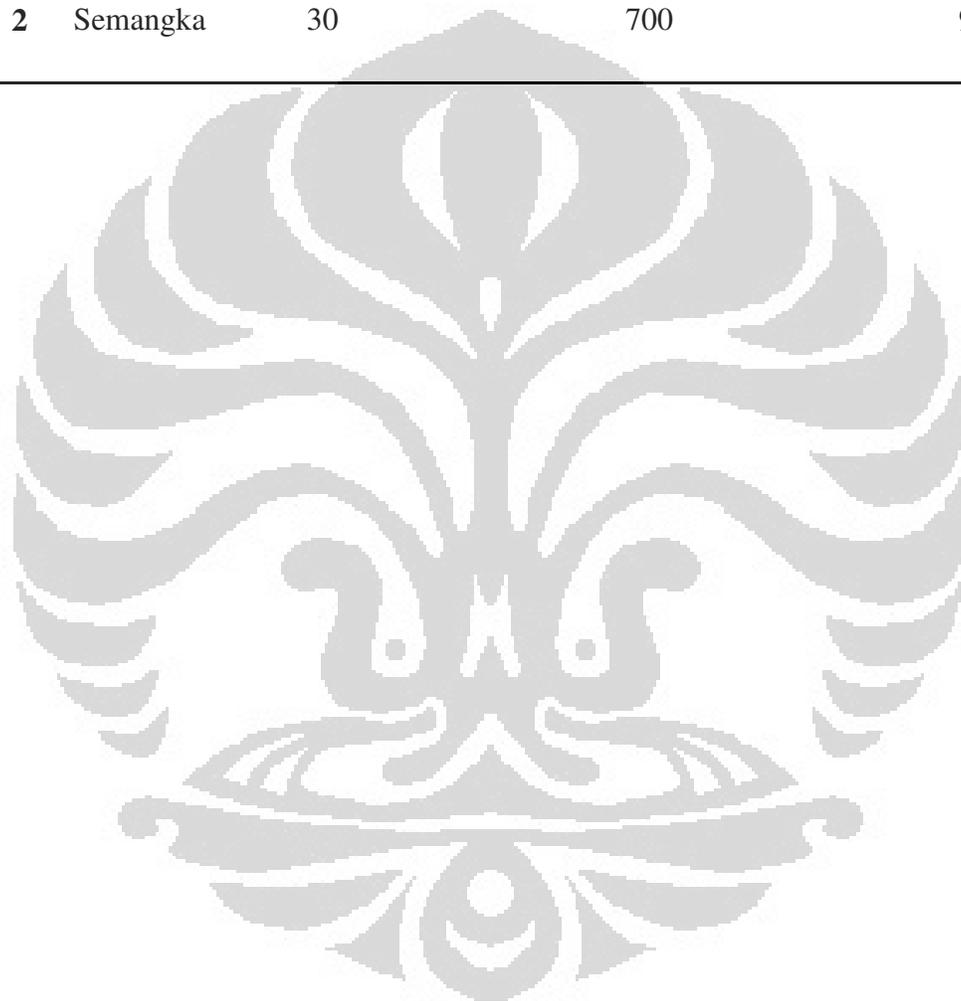
Tabel 4.1. Hasil Perhitungan kadar standar likopen setelah diekstraksi

Berat standar yang ditimbang (gram)	Berat Cawan Penguap kosong (gram)	Berat Cawan Penguap berisi ekstrak (gram)	Kadar (%)
101,7	48,8857	54,2453	5,27
101,7	48,9855	54,3451	5,27
101,5	48,8667	54,2361	5,29
		Rata-rata	5,28

$\% \text{ perolehan kembali} = 5,28\% / 5,30\% \times 100\% = 99,62\%$

Tabel 4.2. Hasil ekstraksi buah tomat dan semangka dengan n-heksan

No.	Buah.	Buah Segar (kg)	Buah yang telah dikeringkan (gram)	Oleoresin (gram)
1	Tomat	30	980	20,5
2	Semangka	30	700	9,2



Tabel 4.3.Optimasi fase gerak KLT

Fase Gerak	Rf
kloroform-metanol (9:1)	0,44
etil asetat-n-heksan (3:7)	0,90
etil asetat-n-heksan (5:5)	0,91
diklorometan-metanol (8:2)	0,71
diklorometan-metanol (9:1)	0,77
etil asetat-metanol (4:6)	0,59
n-heksan-etil asetat-metanol (2,5:2,5:5)	0,68

Tabel 4.4. Kurva kalibrasi dengan KCKT

No.	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Area ($\mu\text{V/s}$)
1	20.4	145052
2	30.6	271703
3	40.8	376896
4	51.0	482963
5	60.2	570027

Keterangan :
 Persamaan garis : $y = -61819,25 + 10619,39x$
 Koefisien korelasi : $r = 0,9989$

Kondisi Analisis

Alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5 μm), volume penyuntikan 20 μl , fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473nm.

Tabel 4.5. Isolasi likopen dari oleoresin tomat berdasarkan perbedaan pelarut

No.	Berat Oleoresin Yang ditimbang (mg)	Pelarut Yang digunakan	Berat Hasil Isolasi (mg)
1.	657,20	propilen glikol	26,96
2.	657,21	n-propanol	26,20
3.	657,50	etanol	25,09

Tabel 4.6. Isolasi likopen dari oleoresin tomat berdasarkan perbedaan temperatur dengan pelarut n-propanol

No.	Berat Oleoresin Yang ditimbang (mg)	Temperatur (°C)	Berat Hasil Isolasi (mg)
1.	657,82	50	26,20
2.	657,91	70	25,97

Tabel 4.7. Isolasi likopen dari pleoresin semangka berdasarkan perbedaan temperatur dengan pelarut n-propanol

No.	Berat Oleoresin Yang ditimbang (mg)	Temperatur (°C)	Berat Hasil Isolasi (mg)
1.	658,50	50	19,20
2.	659,00	70	18,92

Tabel 4.8.Identifikasi hasil Isolasi dengan KLT

Sampel	Pelarut	Temperatur (°C)	Rf
Tomat	n-propanol	50	0,59
		65	0,59
		70	0,51
	etanol	65	0,56
	propilen glikol	65	0,65
Semangka	n-propanol	50	0,59
		70	0,51

Kondisi Analisis:

Alat KLT densitometri (*Camag-3*), volume penotolan 2 µl, fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v) pada panjang gelombang 473 nm.

Tabel 4.9.Identifikasi hasil isolasi dengan KCKT

Sampel Likopen	Pelarut	Temperatur (°C)	t_R (menit)	Area (μV/s)
Tomat	n-propanol	50	12.121	482691
		65	12.182	479530
		70	12.037	207237
	etanol	65	12.182	396506
	propilen glikol	65	12.105	340536
Semangka	n-propanol	50	11.122	391166
		70	12.162	205690

Kondisi Analisis :

Alat KCKT merek Shimadzu dengan model LC-6A yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis Shimadzu SPD-6AV, kolom Kromasil[®] C18 RP dengan ukuran (25cmx4,6mm; 5μm), volume penyuntikan 20 μl, fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473nm.

Tabel.4.10. Penetapan kadar hasil isolasi likopen dari buah tomat dan semangka dengan KCKT

Sampel		Berat ditimbang (g)	Area	Kadar likopen	kadar rata-rata	SD	KV
		(g)	(μ V/s)	(%)	(%)		(%)
Tomat	Likopen (n-propanol, 50 °C)	0,6571	482691	21,85	21,83	0,02	0,09
			481689	21,80			
	Likopen (n-propanol, 65°C)	0,6569	479530	21,71	21,73	0,01	0,05
			480535	21,75			
	Likopen (n-propanol, 70°C)	0,6570	207237	10,80	10,79	0,02	0,17
			206697	10,76			
Likopen (etanol, 65°C)	0,6571	396456	18,38	18,35	0,03	0,16	
		394446	18,31				
Semangka	Likopen (propilen glikol, 65°C)	0,6570	340536	16,13	16,14	0,01	0,06
			340567	16,15			
	Likopen (n-propanol, 50°C)	0,6573	391166	18,18	18,14	0,03	0,18
			389169	18,10			
	Likopen (n-propanol, 70°C)	0,6569	205690	10,74	10,73	0,01	0,09
			205591	10,72			

Kadar rata-rata

Tomat

Likopen (n-propanol, 50°C) = (21,83±0,02)

Likopen (n-propanol, 65°C) = (21,73±0,01)

Likopen (n-propanol, 70°C) = (10,79±0,02)

Likopen (etanol, 65°C) = (18,35±0,03)

Likopen (propilen glikol, 65°C) = (16,14±0,01)

Semangka

Likopen (n-propanol, 50°C) = (18,14±0,03)

Likopen (n-propanol, 70°C) = (10,73±0,01)

Keterangan :

Kondisi analisis yang digunakan adalah volume penyuntikan 20 μ l, fase gerak etil asetat-metanol (3:7 v/v), laju alir 1,0 ml/menit, dan detektor UV-Vis pada 473 nm.



Lampiran 1. Cara memperoleh persamaan regresi linier

Persamaan garis $y = a + bx$

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

$$a = \frac{(\sum y_i) (\sum x_i^2) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N (\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

$$b = \frac{N (\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N (\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{N (\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{\sqrt{(N (\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2)(N (\sum y_i^2) - (\sum y_i)^2)}}$$

Lampiran 2. Cara Perhitungan Kadar dalam Sampel

Kadar sampel hasil isolasi likopen :

$$\% \text{ kadar} = \frac{\text{konsentrasi (ppm) dari kurva kalibrasi} \times \text{faktor pengenceran} \times \text{volume pengenceran terakhir}}{\text{berat sampel (gram)}}$$

Keterangan :

$$\% \text{ kadar} = \text{gr} / 100 \text{ gr (b/b)}$$

Lampiran 3.Cara Perhitungan Simpangan Deviasi dan Koefisien Variasi

Rata-rata :

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Simpangan deviasi :

$$SD = \left(\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \right)^{1/2}$$

Koefisien variasi :

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

Lampiran 4. Sertifikat analisis likopen

Lampiran E
FPK 7-01-03-31/05-R00

 PT. SOHO Industri Farmasi	QA Division Sertifikat Analisa Baku Pembanding Kerja	Hal 1 dari 1
--	---	--------------

Nama Baku Pembanding Kerja	Lycopene	No. Sertifikat Analisa	SWS/0055/10
No Batch Baku Pembanding Kerja	1569WS110	Uji Ulang	06 Juli 2011
No Batch Asal Baku Pembanding Kerja	UT09030008	Expired Date	27 Maret 2012
Manufacturer	D S M	Kondisi Penyimpanan	2° – 8°
Manufacturing Date	28 Maret 2009	Tanggal Pembuatan Baku Pembanding Kerja	06 Juli 2010

No	Uji	Spesifikasi	Hasil
01	Deskripsi	Serbuk granul halus warna kemerah-merahan	Serbuk granul kemerahan
02	Identifikasi :		
2.1	Spektrum UV	Harus sesuai	Sesuai
03	Loss on Drying	Tidak lebih dari 8.0 %	7.0 %
04	Assay (Spektrofotometri)	Tidak kurang dari 5.0 %	5.3 %

Catatan : -

Memenuhi Persyaratan / Tidak Memenuhi Persyaratan

	Disusun Oleh	Diperiksa Oleh	Disetujui Oleh
Tanda Tangan			
Tanggal	07 Juli 10	07 Jul 10	08 Juli 10

Lampiran 5. Surat Determinasi Tomat



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 5 Oktober 2011

Nomor : 1345/IPH.1.02/If.8/X/2011
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Utami Nurul Fadilah
 Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Tomat	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Solanaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setiyo Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

Lampiran 6. Surat Determinasi Semangka

		LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (Indonesian Institute of Sciences) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (Research Center for Biology) Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612	
Nomor : 1429 /IPH.1.02/If.8/X/2011 Lampiran : - Perihal : <u>Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan</u>		Cibinong, 28 Oktober 2011	
Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdr(i). <u>Utaminurul Fadilah</u> Mhs. Univ. Indonesia			
Dengan hormat, Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :			
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Semangka	<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	Cucurbitaceae
Demikian, semoga berguna bagi Saudara.			
Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI,  <u>Dr. Joeni Setiyo Rahajoe</u> NIP. 196706241993032004			
D:\Ident 2011\Utaminurul Fadilah.doc\JJA-DG			
Page 1 of 1			