

**ANALISIS KANDUNGAN BETA KAROTEN PADA  
BROKOLI (*Brassica oleracea* L.) MENTAH, REBUS  
DAN KUKUS DENGAN VARIASI WAKTU SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**SITI NUR AMISYA PUTRI**  
**NIM : 1704085**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2021**

## PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Siti Nur Amisya Putri

NIM : 1704085

Judul Skripsi : Analisis Kandungan Beta Karoten Pada Brokoli (*Brassica Oleracea* L.) Mentah, Rebus dan Kukus dengan Variasi Waktu Secara Spektrofotometri UV-Vis.

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dan unsure plagiarism, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Universitas Perintis Indonesia Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 08 Maret 2021

Siti Nur Amisya Putri

## Lembar Pengesahan Skripsi

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Siti Nur Amisya Putri

NIM : 1704085

Judul Skripsi : Analisis Kandungan Beta Karoten Pada Brokoli (*Brassica Oleracea L.*) Mentah, Rebus dan Kukus dengan Variasi Waktu Secara Spektrofotometri UV-Vis

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan tanggal 08 Maret 2021 berdasarkan ketentuan yang berlaku.

**Ketua Sidang**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

**Pembimbing I**

**Anggota Penguji I**

**Prof. Dr. Hazli Nurdin, M.Sc**

**apt. Puspa Pameswari, M.Farm**

**Pembimbing II**

**Anggota Penguji II**

**Drs. B.A. Martinus, M.Si**

**apt. Mimi Aria, M.Farm**

**Mengetahui :  
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

**apt. Revi Yenti, M.Si**

## PERSEMBAHAN



*“Barang siapa bertakwa kepada Allah maka Dia akan menjadikan jalan keluar baginya, dan memberinya rezeki dari jalan yang tidak ia sangka, dan barang siapa yang bertawakal kepada Allah maka cukuplah Allah baginya, Sesungguhnya Allah melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu kadarnya” (Q.S. Ath-Thalaq ayat 2-3)*

*Alhamdulillah... Alhamdulillah... Alhamdulillahirobbil' alamin*

*Sujud syukurku kusembahkan kepadaMu ya Allah, Tuhan yang Maha Agung nan Maha Tinggi nan Maha Adil nan Maha Penyayang. Atas takdirmu telah Engkau jadikan aku manusia yang senantiasa berpikir, berilmu dan beriman dalam menjalani kehidupan ini. Semoga sebuah perjalanan ini yang telah ku tempuh dengan izinmu ya Allah, menjadi satu langkah awal untuk masa depanku, dalam meraih cita-cita besarku.*

*Segala syukur kuucapkan kepadaMu Ya Rabb, karena sudah menghadirkan orang-orang berarti disekelilingku. Yang selalu memberi semangat dan doa.*

*Untukmu (alm) Apa dan Mama tercinta...*

*Terimakasih telah melahirkan dan membersarkan Ami dengan penuh cinta dan kasih sayang. Sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada dua orang yang paling berharga dalam hidup Ami. Untuk (alm) Apa yang lebih dulu berada disisiNya, terimakasih atas limpahan kasih sayang semasa hidupmu dan memberikan rasa rindu yang berarti. Teruntuk Mama tersayang, terimakasih karena selalu menjaga Ami dalam setiap doa, selalu memberikan semangat, dorongan, nasehat dan kasih sayang serta pengorbanan yang tak tergantikan, serta selalu meridhoi Ami untuk melakukan hal yang lebih baik. Ma, berkat semua doa dan air mata disetiap sujudmu, semoga ini bisa menjadi langkah awal Ami untuk bisa membuatmu bahagia karena Ami sadar selama ini belum bisa berbuat lebih. Semoga Mama Selalu dalam lindungan Allah Swt, Aamiin.*

*Untuk Abang, Kakak dan Orang terdekatku...*

*Bang Pendi, Iyen, Bang Ade. Terimakasih telah memberikan semangat dan inspirasi serta nasehat selama ini kepada adik bungsumu. Terimakasih untuk tak pernah lelah membimbing dan selalu mengarahkan Ami ke hal yang baik, dan yang pastinya selalu mendoakan Ami walau dari jauh. Teruntuk anak-anak Uncu (Opal, Adit dan Davie) yang selalu nanya ‘Uncu kapan pulang?’ dan juga anak Onty (Fiza) terimakasih ya selalu merindukan Onty, kalian penyemangat yang luar biasa. Onty sayang kalian. Dan terimakasih juga untuk seluruh keluarga besar yang tak bisa Ami sebut namanya satu persatu, terimakasih telah mendoakan Ami dan juga memberikan semangat.*

*Teruntuk semua dosen, analis dan staf Universitas Perintis Padang, terimakasih untuk ilmu yang sangat berarti semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada Bapak Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc selaku pembimbing I sekaligus pembimbing akademik Ami dan juga Bapak Drs. B.A Martinus, M.Si selaku pembimbing II Ami, terimakasih ya Pak sudah sangat membantu dalam membimbing serta menasehati Ami selama ini.*

*Teruntuk My Best Friend...*

*Terimakasih selalu memberikan motivasi, semangat, nasihat, dukungan dan hiburan serta doa, dan yang pastinya selalu ada buat Ami. Teruntuk yang jauh disana (Rayssa, Ola, Panji), Amir si gembulku, Annisa si kecuteku, Winda si recehiku, Sri si ramahku, Yaya si perhatian dan juga Baru\_k2 ku tersayang (Yola, Adila, Sadza, Devi, Tya, Isil dan Yuli). Terimakasih kalian telah memberikan banyak hal yang tak terlupakan kepada Ami.*

*Teruntuk keluarga kedua yang Ami sayangi (Kost Hijau Hitz)...*

*Terimakasih buat semua waktu, cinta dan kasih sayang, serta canda dan tawa. Terspesial buat kak Tepi yang selalu ada buat Ami di segala kondisi dan juga kak Caca. Untuk adik-adik kost tersayang (Jesti, Ila, Selli, Fuja) makasih udah mau direpotkan sama kakaknya. Terimakasih yang sebesar-besarnya buat semua yang telah diberikan terutama kebahagiaan dalam kebersamaan.*

*Terimakasih juga sebesar-besarnya kepada:*

*Para pejuang toga yang tersolid dan terhebat yaitu Rekan-rekan Zeviega angkatan 17, terimakasih buat semua kenangan selama Ami berada di keluarga Zeviega ini. Terimakasih atas semua perjalanan panjang serta rasa suka duka yang telah kita lalui bersama. Terimakasih buat kekeluargaan dan kekompakan yang tercipta. Tak lupa juga tim seperjuangan penelitian Beta Karoten (bg Tyo dan Si Adek mungilku, Cahnia), terimakasih atas kerja sama nya. Semoga kita semua dapat meraih mimpi kita dan juga mendapatkan apa yang kita cita-citakan serta mencapai kesuksesan, aamiin.*

*With Love,*

*Siti Nur Amisya Putri, S.Farm*

## KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“ANALISIS KANDUNGAN BETA KAROTEN PADA BROKOLI (*Brassica oleracea* L.) MENTAH, REBUS DAN KUKUS DENGAN VARIASI WAKTU SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Universitas Perintis Indonesia Yayasan Perintis Padang.

Dalam menyelesaikan pendidikan dan penulisan skripsi ini penulis tidak terlepas dari do'a dan bantuan oleh semua pihak, dan pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Hazli Nurdin, M.Sc selaku pembimbing I dan Bapak Drs. B.A Martinus, M.Si selaku pembimbing II, yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan meluangkan waktu, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. Hazli Nurdin, M.Sc selaku Pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
3. Bapak (alm) Prof. Dr. apt. Elfi Sahlan Ben selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia Padang.

4. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm selaku Dekan Universitas Perintis Indonesia Padang.
5. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
6. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis dan Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Universitas Perintis Indonesia.
7. Kerabat yang selalu mendampingi dan rekan – rekan yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Terimakasih untuk cinta dan cerita yang sangat teramat banyak.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang mendukung sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 08 Maret 2021

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kadar beta karoten pada pengolahan brokoli (*Brassica oleracea* L.) dengan variasi waktu secara Spektrofotometri UV-Vis. Teknik pengolahan yang dilakukan adalah merebus dan mengukus. Brokoli mentah digunakan sebagai kontrol. Sampel diekstraksi dengan menggunakan metoda maserasi menggunakan pelarut aseton. Dilakukan analisa kualitatif dengan menggunakan metoda Kromatografi Lapis Tipis. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan sampel Brokoli (*Brassica oleracea* L.) teridentifikasi mengandung senyawa beta karoten dengan nilai Rf yang sama dengan pembanding. Didapatkan nilai Rf pada brokoli mentah 0,58; Brokoli rebus 5, 10 dan 15 menit 0,56 dan Brokoli kukus 5, 10 dan 15 menit 0,55. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan metoda Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 475 nm. Pada uji kuantitatif didapatkan kadar rata-rata pada masing-masing sampel yaitu: Brokoli mentah= 74,3242 mg/100g, Brokoli kukus 5 menit= 62,2859 mg/100g, Brokoli kukus 10 menit= 57,5488 mg/100g, Brokoli kukus 15 menit= 51,5081 mg/100g, Brokoli rebus 5 menit= 47,1621 mg/100g, Brokoli rebus 10 menit= 44,7284 mg/100g dan brokoli rebus 15 menit= 43,2507 mg/100g. Kadar beta karoten tertinggi terdapat pada brokoli mentah diikuti dengan brokoli yang dikukus dan direbus. Hasil analisa data menggunakan *two way* Anova dilanjutkan dengan uji Duncan (SPSS 23.0) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing pengolahan brokoli dengan variasi waktu ( $p < 0,05$ ).

**Kata Kunci** : Beta Karoten, Brokoli (*Brassica oleracea* L.), Spektrofotometri UV-Vis



## ABSTRACT

A study aimed to determine the levels of beta carotene in broccoli (*Brassica oleracea* L.) processing with time variations using UV-Vis Spectrophotometry. The processing technique used is boiling and steaming. Raw broccoli was used as a control. The sample was extracted using the maceration method using acetone as a solvent. Qualitative analysis was performed using the Thin Layer Chromatography method. The qualitative test results showed that each of the broccoli (*Brassica oleracea* L.) samples identified contained beta carotene compounds with the same Rf value as the comparison. The Rf value was obtained for raw broccoli 0.58; Boiled broccoli 5, 10 and 15 minutes 0.56 and broccoli steamed 5, 10 and 15 minutes 0.55. Then a quantitative test was performed using UV-Vis Spectrophotometry at a maximum absorption wavelength of 475 nm. In the quantitative test, the average levels of each sample were obtained, namely: raw broccoli = 74.3242 mg/100g, 5 minutes steamed broccoli = 62.2859 mg/100g, 10 minutes steamed broccoli = 57.5488 mg/100g, broccoli steamed 15 minutes = 51.5081 mg/100g, boiled broccoli 5 minutes = 47.1621 mg/100g, boiled broccoli 10 minutes = 44.7284 mg/100g and broccoli boiled 15 minutes = 43.2507 mg/100g. The highest levels of beta carotene are found in raw broccoli followed by steamed and boiled broccoli. The results of data analysis using *two way* Anova followed by Duncan test (SPSS 23.0) showed a significant difference in each broccoli processing with time variations ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** *Beta Carotene, Broccoli (Brassica oleracea L.), UV-Vis Spectrophotometry*

## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN ORISINALITAS PENYERAHAN HAK CIPTA .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Tinjauan Botani Tanaman Brokoli.....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Brokoli .....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Brokoli .....	5
2.1.3 Varietas Tanaman Brokoli .....	7
2.1.4 Kegunaan Tanaman Brokoli.....	7
2.1.5 Kandungan pada Tanaman Brokoli.....	8
2.2 Tinjauan Beta Karoten .....	9
2.2.1 Karotenoid.....	9
2.2.2 Fungsi dan Aktifitas Farmakologi Beta Karoten.....	11
2.2.3 Sifat Fisik dan Kimia Karotenoid .....	12
2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	13
2.4 Spektrofotometer.....	14
2.4.1 Pengertian Spektrofotometri .....	14
2.4.2 Spektrofotometri Sinar Tampak (Visible).....	15
2.4.3 Hukum Lambert Beer.....	18
2.5 Ekstraksi.....	20
<b>BAB III. METODA PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	23
3.2 Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan .....	23
3.3 Prosedur Penelitian .....	23
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	23
3.3.2 Identifikasi Sampel .....	23

3.3.3	Penyiapan Sampel .....	24
3.3.3.1	Preparasi Sampel Brokoli Mentah.....	24
3.3.3.2	Preparasi Sampel Brokoli Rebus .....	24
3.3.3.3	Preparasi Sampel Brokoli Kukus .....	24
3.3.3.4	Preparasi Sampel Brokoli Tumis .....	24
3.3.4	Penyiapan Larutan Pereaksi .....	24
3.3.4.1	Pembuatan Larutan Fase Gerak .....	24
3.3.4.2	Pembuatan Larutan KOH 15% b/v dalam Metanol.....	24
3.3.5	Ekstraksi Sampel.....	25
3.3.6	Penentuan Rendemen Ekstrak Brokoli .....	25
3.3.7	Analisa Kualitatif .....	25
3.3.8	Analisa Kuantitatif .....	26
3.3.8.1	Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten 1000 ppm .....	26
3.3.8.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	26
3.3.8.3	Pembuatan Kurva Kalibrasi Beta Karoten .....	27
3.3.8.4	Pengukuran Kadar Beta Karoten Pada Sampel .....	27
3.4	Analisa Data .....	27
3.4.1	Kadar Beta Karoten Pada Sampel.....	27
3.4.2	Validasi Metode Analisis .....	28
3.4.2.1	Uji Linearitas dan Kurva Kalibrasi.....	28
3.4.2.2	Simpangan Baku Residual, Batas Deteksi (BD), Batas Kuantisasi (BK) .....	28
3.4.2.3	Uji Presisi .....	29
3.4.3	Uji Statistik .....	29
<b>BAB IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1	Hasil .....	30
4.2	Pembahasan.....	32
<b>BAB V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>38</b>
5.1	Kesimpulan .....	38
5.2	Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>39</b>
<b>LAMPIRAN</b>		

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Kandungan Zat Gizi Brokoli.....	8
2. Hasil Rendemen Ekstrak Pengolahan Brokoli .....	30
3. Hasil Uji Analisa Kualitatif .....	31
4. Hasil Analisis Kadar Beta Karoten Pada Pengolahan Brokoli .....	31
5. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Pengolahan Brokoli .....	50
6. Hasil Perhitungan Uji Analisa Kualitatif .....	52
7. Data untuk Kurva Kalibrasi Beta Karoten .....	54
8. Perhitungan Persamaan Regresi Linear .....	55
9. Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK) .....	57
10. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Mentah .....	58
11. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Kukus 5 menit .....	58
12. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Kukus 10 menit .....	58
13. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Kukus 15 menit .....	58
14. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Rebus 5 menit.....	59
15. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Rebus 10 menit.....	59
16. Hasil Perhitungan Kadar Beta Karoten Brokoli Rebus 15 menit.....	59
17. Persentase Penurunan Kadar Beta Karoten Terhadap Brokoli Mentah .....	60
18. Hasil Statistik Anova Dua Arah.....	63
19. Hasil Statistik Anova Satu Arah Pada Pengolahan Brokoli Kukus .....	65
20. Hasil Statistik Anova Satu Arah Pada Pengolahan Brokoli Rebus .....	66

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Tanaman Brokoli .....	5
2. Struktur Kimia Beta Karoten .....	11
3. Skema Alat Spektrofotometri UV-Vis .....	16
4. Surat Identifikasi Tanaman Brokoli .....	42
5. Tumbuhan Brokoli .....	43
6. Analisa Kualitatif Beta Karoten Pada Brokoli .....	51
7. Hasil Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten .....	53
8. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan Absorban .....	54

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Identifikasi Sampel .....	42
2. Gambar Tumbuhan Brokoli .....	43
3. Pembuatan Ekstrak Brokoli .....	44
4. Analisa Kualitatif Beta Karoten .....	45
5. Analisa Kuantitatif (Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten).....	46
6. Analisa Kuantitatif (Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum) ..	47
7. Analisa Kuantitatif (Pembuatan Kurva Kalibrasi Beta Karoten).....	48
8. Analisa Kuantitatif (Pengukuran Kadar Beta Karoten pada Sampel).....	49
9. Perhitungan Rendemen Ekstrak Pengolahan Brokoli .....	50
10. Hasil Analisa Kualitatif.....	51
11. Perhitungan Hasil Uji Analisa Kualitatif .....	52
12. Gambar Hasil Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten .....	53
13. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan Absorban .....	54
14. Perhitungan Persamaan Regresi Linear .....	55
15. Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK) .....	57
16. Perhitungan Kadar Beta Karoten .....	58
17. Hasil Analisa Anova .....	63

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan alam yang melimpah, dimana sebagian besar tumbuh-tumbuhan dimanfaatkan oleh nenek moyang kita untuk mengobati berbagai penyakit. Salah satu pemanfaatan tumbuhan Indonesia adalah sebagai sumber vitamin. Vitamin merupakan senyawa organik yang sangat penting dalam mempengaruhi proses metabolisme. Vitamin diperlukan tubuh dalam jumlah kecil untuk mempertahankan kesehatan, tetapi vitamin tidak dapat dibuat oleh tubuh manusia (Andarwulan, 1992). Vitamin merupakan zat pengatur yang meskipun jumlah yang dibutuhkan sangat sedikit tetapi harus ada agar sistem metabolisme tubuh dapat seimbang (Sedioetama, 1987 & Linder, 1992). Salah satu masalah defisiensi zat gizi di Indonesia yaitu kekurangan Vitamin A.

Vitamin A adalah salah satu zat gizi esensial yang merupakan kelompok senyawa dengan kandungan retinol yang memiliki aktivitas biologi (Winarno, 2004). Dalam tubuh, vitamin A berfungsi sebagai pembantu pertumbuhan, pemeliharaan kesehatan mata, kesehatan kulit dan selaput lendir untuk perlindungan terhadap infeksi serta membantu perkembangan yang normal dari tulang dan gigi (Setijahartini, 1985). Asupan vitamin A dapat ditingkatkan dengan mengonsumsi bahan makanan sumber beta karoten. Vitamin A dapat diproduksi di dalam tubuh dari karoten tertentu, terutama beta karoten (Maiani, 2009). Vitamin A juga dapat diperoleh dengan mengonsumsi buah-buahan dan sayuran.

Beta karoten merupakan salah satu jenis karotenoid yang umumnya ditemukan pada buah-buahan dan sayuran yang berwarna merah atau kuning serta hijau. Karoten merupakan provitamin A yang dalam tubuh akan diubah menjadi

vitamin A sesuai dengan kebutuhan (Astawan, 2008). Beta karoten adalah bentuk provitamin A paling aktif dalam tubuh dapat diuraikan menjadi dua molekul retinol. Karotenoid terdapat di dalam kloroplas tanaman dan berperan sebagai katalisator dalam fotosintesis yang dilakukan oleh klorofil (Almatsier, 2004).

Beta karoten maupun vitamin A, keduanya sama-sama bisa bertindak sebagai antioksidan dan berperan dalam fungsi tubuh seperti penglihatan, diferensiasi sel, kekebalan, pertumbuhan dan perkembangan, reproduksi, serta pencegahan kanker dan penyakit jantung (Sunarjono, 2012).

Manfaat beta karoten bagi tubuh adalah untuk mencegah dan menurunkan resiko kanker. Mengonsumsi makanan atau buah-buahan yang mengandung beta karoten diharapkan bisa menunjang kebutuhan gizi dan meningkatkan kekebalan tubuh. Sifat antioksidan yang terdapat pada beta karoten dapat melindungi tumbuhan dan mikroorganisme dari sinar matahari yang merusak (Listya, 2010).

Salah satu sayuran yang terdapat kandungan beta karoten adalah brokoli. Brokoli merupakan sayuran yang memiliki kandungan beta karoten dalam jumlah cukup tinggi, yaitu 623 IU/100 gram (Sani, *dkk* 2019). Brokoli biasanya dikonsumsi setelah dimasak. Cara pengolahan yang banyak digunakan yaitu pengolahan menggunakan sumber panas, seperti merebus, mengukus, dan menumis. Pengolahan bahan makanan dapat memengaruhi kandungan zat gizi yang terdapat dalam bahan makanan tersebut. Proses *hydrothermal* berpengaruh terhadap kemampuan penghambatan berkurangnya beta karoten. Penelitian menunjukkan bahwa brokoli segar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dalam kondisi tidak dimasak atau mentah (Gawlik, 2008).



Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengaruh teknik pengolahan beta karoten terhadap brokoli, dan menunjukkan pengolahan terhadap brokoli dapat memengaruhi kadar beta karoten itu sendiri. Persen penurunan kadar beta karoten yang direbus, dikukus dan ditumis dibandingkan dengan brokoli mentah masing-masing sebesar 45,87%, 33,52% dan 22,25% (Sani, *dkk* 2019). Namun, pengolahan brokoli terhadap variasi waktu belum ada dilakukan.

Perebusan merupakan salah satu proses memasak dengan teknik pemanasan secara langsung yaitu proses memasak makanan di dalam air mendidih, yang dapat meningkatkan daya cerna, cita rasa dan membunuh mikroorganisme patogen, serta dapat memengaruhi kandungan zat gizi makanan. *Steam* adalah proses memasak lembab/basah, dengan panas dari uap air atau dikenal dengan istilah mengukus. Makanan yang dikukus tidak bersentuhan dengan air. Hal ini dilakukan untuk menjaga zat gizi agar tidak banyak yang hilang dan menjaga tekstur makanan supaya lebih bagus (Mulyatiningsih, 2007).

Oleh karena itu berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian “Analisis Kandungan Beta Karoten Pada Brokoli (*Brassica Oleracea* L.) Mentah, Rebus dan Kukus dengan Variasi Waktu Secara Spektrofotometri UV-Vis”.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapa kandungan beta karoten pada brokoli (*Brassica oleracea* L.) mentah, rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit.

2. Apakah ada perbedaan kandungan beta karoten pada brokoli (*Brassica oleracea* L.) mentah, rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit.
3. Berapa persentase penurunan kadar beta karoten pada brokoli rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit terhadap brokoli mentah.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui kandungan beta karoten pada brokoli (*Brassica oleracea* L.) mentah, rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit.
2. Untuk mengetahui adanya perbedaan kandungan beta karoten pada brokoli (*Brassica oleracea* L.) mentah, rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit.
3. Untuk mengetahui persentase penurunan kadar beta karoten pada brokoli rebus dan kukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit terhadap brokoli mentah.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Bagi peneliti

Penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi.

2. Bagi masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat akan kandungan beta karoten pada brokoli yang dapat mencegah salah satu masalah defisiensi zat gizi di Indonesia yaitu kekurangan Vitamin A.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Botani Tanaman Brokoli

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Brokoli

Menurut Cahyono (2001) klasifikasi tanaman brokoli adalah sebagai berikut:

Divisi	: Sphermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Famili	: Cruciferae
Genus	: Brassica
Spesies	: <i>Brassica Oleraceae</i> L.



**Gambar 1.** Tanaman Brokoli (*Brassica Oleraceae* L.)

Sumber. (Fatharanni & Anggraini, 2017)

#### 2.1.2 Morfologi Tanaman Brokoli

Brokoli memiliki akar serabut dan akar tunggang. Akar tunggang tumbuh ke pusat bumi, sedangkan akar serabut tumbuh ke arah samping, menyebar dan dangkal (20 cm – 30 cm). Sistem perakaran yang dangkal itu membuat tanaman ini dapat tumbuh dengan baik apabila ditanam pada tanah yang gembur dan ssporous. Batang tumbuh tegak dan pendek ( $\pm$  30 cm), batang tersebut berwarna hijau, tebal, lunak, namun cukup kuat dan bercabang samping. Batang tersebut

halus tidak berambut, dan tidak begitu tampak jelas karena tertutup oleh daun-daun ( Cahyono, 2001).

Daunnya berbentuk bulat telur (oval) dengan bagian tepi daun bergerigi agak panjang dan membentuk celah-celah yang menyirip agak melengkung kedalam. Daun berwarna hijau dan tumbuh berselang-seling pada batang tanaman, tangkainya agak panjang dengan pangkal daun yang tebal dan lunak. Daun-daun yang tumbuh pada pucuk batang sebelum masa bunga terbentuk, berukuran kecil dan melengkung ke dalam melindungi bunga yang sedang mulai tumbuh. Bunga brokoli merupakan kumpulan masa bunga yang berjumlah lebih dari 5.000 kuntum bunga bersatu dan membentuk bulatan tebal serta padat (kompak). Warna bunga sesuai dengan varietasnya, ada yang memiliki masa bunga hijau muda, hijau tua, hijau kebiru-biruan (ungu). Berat berkisar 0,6 - 0,8 kg dengan diameter antara 18 – 25 cm, tergantung pada varietasnya (Rukmana, 1995).

Pada kondisi lingkungan yang sesuai, bunga brokoli dapat tumbuh memanjang menjadi tangkai bunga yang penuh dengan kuntum bunga. Tiap bunga terdiri atas 4 helai daun kelopak (Calyx), 4 helai daun mahkota bunga (Corolla), 6 benang sari yang komposisinya 4 memanjang dan 2 pendek. Bakal buah terbagi menjadi dua ruang, dan setiap ruang berisi bakal biji. Buahnya terbentuk dari hasil penyerbukan bunga yang terjadi karena penyerbukan sendiri ataupun penyerbukan silang dengan bantuan serangga lebah madu. Buah berbentuk polong, berukuran kecil, dan ramping, dengan panjang antara 3 cm – 5 cm. Di dalam buah tersebut terdapat biji berbentuk bulat kecil, berwarna coklat kehitam – hitaman. Biji – biji tersebut dapat di gunakan sebagai benih perbanyak tanaman (Cahyono, 2001).

### **2.1.3 Varietas Tanaman Brokoli**

Menurut Rukmana (1994) brokoli mempunyai varietas yang bunganya bermacam-macam. Ada varietas yang bertunas utama besar dengan sedikit tunas samping, tetapi ada pula yang mempunyai tunas utama kecil dengan tunas sampingnya banyak. Warna massa bunga pun bervariasi., antara lain hijau muda, hijau tua, kebiru-biruan dan ungu. Beberapa varietas brokoli yang pernah terkenal adalah *Waltham 29*, *De Cicco*, dan juga *Midway*, *Green Mountain* serta *Grend Central*, *Royal green*, *sakata*.

Perkembangan dari waktu ke waktu menyebabkan terjadinya pergeseran atau pergantian varietas ke arah yang diinginkan oleh konsumen. Seiring dengan hal itu, beberapa negara produsen benih sayuran komersial telah menghasilkan varietas-varietas unggul terbaru, baik hibrida maupun non hibrida (Rukmana, 1994).

Brokoli yang berasal dari Amerika antara lain varietas *Asgrow's futura*, *Orion*, *Apollo* dan *Gem*. Dalam perkembangan selanjutnya, banyak negara didunia yang memproduksi benih-benih brokoli unggul, kemudian diperkenalkan ke berbagai negara yang telah diketahui potensial untuk pengembangan komoditas tersebut (Rukmana, 1994).

### **2.1.4 Kegunaan Tanaman Brokoli**

Bunga brokoli akan mempercepat penyembuhan setelah sakit berat serta menghambat perkembangan sel kanker. Selain sebagai antioksidan, brokoli yang kaya serat juga bermanfaat untuk mencegah konstipasi (sembelit) dan berbagai gangguan pencernaan lainnya (Dalimartha, 2000:26).

### 2.1.5 Kandungan pada Tanaman Brokoli

Menurut Rukmana (1994) brokoli memiliki komposisi kandungan zat gizi yang lengkap dan cukup tinggi nilainya, dengan demikian, sayuran ini sesuai dikonsumsi untuk meningkatkan kesehatan masyarakat. Secara lengkap, zat-zat yang terkandung dalam brokoli dapat dilihat dalam Tabel 1. Brokoli mengandung bermacam-macam zat gizi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh, sebagai contoh, kalori dan karbohidrat berperan dalam meningkatkan proses metabolisme tubuh, misalnya proses pencernaan, pernafasan, dan lain-lain.

**Tabel 1.** Kandungan Zat Gizi Brokoli dalam 100 g bahan

Komposisi gizi	Kubis bunga		Brokoli
Kalori (cal)	25,0	31,0	23,0
Protein (g)	2,4	2,4	3,5
Lemak (g)	0,2	0,4	0,2
Kabohidrat (g)	4,9	6,1	2,0
Serat (g)	-	0,6	-
Abu (g)	-	0,8	-
Kalsium (mg)	22,0	34,0	78,0
Fosfor (mg)	72,0	50,0	74,0
Zat Besi (mg)	1,1	1,0	1,0
Natrium (mg)	-	8,0	40,0
Kalium (mg)	-	314,0	360,0
Niacin (mg)	-	0,7	0,6
Vitamin A (S.I.)	90,0	95,0	3800,0
Vitamin B1 (mg)	0,1	0,1	0,1
Vitamin B2 (mg)	-	0,1	0,1
Vitamin C (mg)	69,0	90,0	110,0
Air (gr)	91,7	90,3	90,0

Sumber. Direktorat Gizi Dep. Kes. R.I (1981)

## 2.2 Tinjauan Beta Karoten

### 2.2.1 Karotenoid

Karotenoid merupakan antioksidan non-enzimatis yang banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran. Karotenoid tersusun atas  $\beta$ -karoten, likopen, lutein, zeaxanthin dan cryptoxanthin (Winarsih, 2007).

Karotenoid merupakan senyawa isoprenoid C40 dan tetraterpenoid yang terdapat dalam plastida jaringan tanaman, baik yang melakukan fotosintesis maupun tidak. Dalam kloroplas, karotenoid berfungsi sebagai pigmen asesoris dalam pengambilan cahaya. Namun, perannya yang lebih penting adalah dalam detoksifikasi berbagai bentuk oksigen teraktifasi dan klorofil triplet, hasil eksitasi kompleks fotosintesis oleh cahaya. Sebagai pigmen turunan, karotenoid bersifat larut dalam lemak dan berfungsi sebagai peredam singlet oksigen dan radikal bebas (Winarsih, 2007).

Karoten yang terkenal adalah hidrokarbon tak jenuh turunan likopen yang berupa rantai panjang yang terdiri dari delapan satuan isoprene, merangkai dari kepala sampai ekor sehingga terbentuk sistem ikatan terkonjugasi lengkap. Rangkaian ini merupakan cincin likopen pada salah satu ujung menghasilkan  $\gamma$ -karoten. Sedangkan bila cincin terjadi pada kedua ujungnya terbentuklah hidrokarbon trisiklik, yaitu  $\beta$ -karoten. Isomer (misalnya  $\alpha$  dan  $\gamma$ -karoten) hanya berbeda pada letak ikatan rangkapnya dalam satuan ujung siklik (Ikan, 1997).

Beta karoten merupakan salah satu dari 600 komponen karotenoid yang banyak ditemukan dalam tanaman. Beta karoten biasanya digunakan sebagai suplemen nutrisi maupun prekursor vitamin A. Salah satu peran beta karoten adalah meningkatkan efikasi kemoterapi dan radiasi pada kultur sel kanker

manusia. Banyak mengonsumsi buah-buahan dan sayuran dengan kandungan beta karoten tinggi memiliki resiko rendah terkena berbagai jenis kanker dan penyakit kardiovaskuler (Winarsih, 2007).

Beta karoten adalah antioksidan yang memiliki fungsi melindungi tubuh dari molekul yang disebut radikal bebas yang merusak. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel melalui proses yang dikenal sebagai oksidasi (Ehrlich, 2010). Beta karoten dikatakan memiliki fungsi sebagai scavenger radikal bebas dimana beta karoten melindungi membran lipid dari reaksi peroksidasi dan sekaligus menghentikan reaksi rantai dari radikal bebas.

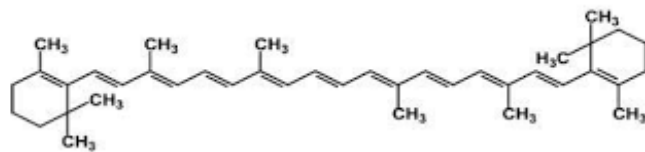
Beta karoten juga memiliki kemampuan untuk memproteksi sel normal dari sel mutan (yang telah mengalami perubahan) pemicu pertumbuhan kanker. Mekanisme yang ditempuh beta karoten adalah dengan mendepresi gen yang menjadi “tumor maker”. Beta karoten memiliki unsur penting penangkal radikal bebas yang merusak jaringan tubuh. Dengan demikian, kalau konsumsi beta karoten itu cukup maka resiko terkena serangan jantung dan penyakit sistem kardiovaskuler lainnya dapat diminimalkan (Listya, 2010).

Karotenoid menghambat pertumbuhan beberapa sel kanker yang memperberat sel kanker prostat, termasuk melanoma, paru-paru, payudara dan sel kanker leukimia. Beta karoten mampu mencegah kerusakan sel normal menjadi ganas, dengan cara meningkatkan keutuhan sel-sel normal dan mengubah sel-sel kanker bertindak seperti halnya sel normal. Antioksidan yang tidak larut dalam air ini berpotensi menjaga integritas membran sel terhadap serangan oksidan, terutama melalui sifatnya yang dapat mengkelat radikal bebas oksigen singlet (Winarsih, 2007).



Potensi beta karoten sebagai prekursor vitamin A dalam mempertahankan kesehatan mata dan integritas membran sel menjadikan senyawa ini bersifat vital bagi tubuh. Sejumlah karotenoid berperan sebagai prekursor retinol dan retinoid, yang penting untuk kesehatan manusia, termasuk di dalamnya untuk mencegah serangan oksidasi melalui potensinya sebagai peredam oksidasi singlet (Gunawan, 2007 ).

Sebagai antioksidan, komponen karotenoid juga mampu menurunkan efek toksik dari senyawa oksigen reaktif. Senyawa oksigen reaktif diketahui dapat berimplikasi dalam etiologi penyakit degeneratif seperti kanker, dan kardiovaskuler (Winarsih, 2007).



**Gambar 2.** Struktur kimia  $\beta$ -karoten (Rohman, 2011)

Rumus	: $C_{40}H_{56}$
Nama IUPAC	: beta, beta-Carotene
Massa molar	: 536,8726 g/mol
Titik didih	: 633°C
Kepadatan	: 940 kg/m <sup>3</sup>
Titik lebur	: 180°C

### 2.2.2 Fungsi dan Aktivitas Farmakologi Beta karoten

Beta karoten berfungsi sebagai antioksidan, penting dalam pembentukan vitamin A, untuk pertumbuhan sel-sel epitel tubuh, mengatur rangsang sinar pada saraf mata, dan membantu pembentukan pigmen di retina mata.

Karotenoid berperang penting dalam pencegahan penyakit degeneratif, dengan cara mempertahankan fungsi sistem imun dan antioksidan. Asupan  $\beta$ -karoten dalam jumlah memadai diyakini dapat mencegah angina pectoris, penyakit kardiovaskuler, dan kanker terutama kanker paru-paru dan kanker lambung (Winarsih, 2007).

Beta karoten banyak dikonsumsi sebagai suplemen karena memiliki berbagai manfaat antara lain untuk kesehatan mata, mencegah penyakit kanker, meningkatkan daya tahan tubuh melalui peningkatan komunikasi antarsel, mengurangi risiko terjadinya stroke, dan memberikan efek analgetik serta antiinflamasi (Astawan, 2008). FDA (2015) merekomendasikan diet vitamin A dalam sehari adalah sebesar 5000 IU atau setara dengan 3 mg beta karoten sintesis.

### **2.2.3 Sifat Fisik dan Kimia Karotenoid**

Menurut *Association of Vitamin Chemistry*, London dalam *Method of Vitamin Assay* (dalam Erawati, 2006), secara umum karotenoid mempunyai sifat fisik dan kimia sebagai berikut :

- a) Larut dalam lemak
- b) Larut dalam kloroform, pewarna, karbon disulfida, petroleum eter
- c) Sukar larut dalam alkohol
- d) Sensitif terhadap oksidasi
- e) Auto oksidasi
- f) Stabil terhadap panas di dalam udara bebas oksigen kecuali untuk beberapa perubahan stereo isometric
- g) Punya spektrum serapan yang spesifik

### 2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan berdasarkan sifat fisis dimana campuran suatu senyawa didistribusikan antara fase diam dan fase gerak. Prinsipnya berdasarkan proses perpindahan atau pergeseran zat dengan kecepatan yang berbeda-beda (Sudjadi, 1998).

Cara pemisahan dengan absorpsi pada lapisan tipis adsorben yang sekarang dikenal dengan kromatografi lapis tipis (*Thin Layer Chromatography* atau TLC) sebenarnya telah dipakai sejak tahun 1938 oleh Ismailov dan Shraiber. Pada tahun 1961 penggunaannya telah meluas dan diakui merupakan cara pemisahan yang baik, khususnya untuk kegunaan analisis kualitatif. Kini TLC dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion organik dengan anorganik, dan senyawa-senyawa organik baik yang terdapat pada bahan alam dan senyawa-senyawa organik sintetik (Adnan, 1997).

Kelebihan penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dibandingkan dengan Kromatografi Kertas (KK) adalah karena dapat dihasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi dan dapat dilaksanakan dengan cepat (Adnan, 1997).

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi adsorpsi dan adsorben bertindak sebagai fase diam. Empat macam adsorben yang sering digunakan atau umum dipakai adalah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oxide), kieselguhr (diatomaceous earth), dan selulosa. Dari keempat jenis adsorben yang paling banyak dipakai adalah silika gel dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama perdagangan bermacam-macam. Ada beberapa jenis silika gel yaitu silika gel G, silika gel H, silika gel PF (Adnan, 1997).

Sistem kromatografi mempunyai kemampuan memisahkan campuran bahan kimia dengan cara menghambat selektif perjalanan senyawa tertentu melalui fase diam sedangkan senyawa lain dibiarkan terus berlalu, oleh karena itu kromatogram dapat dievaluasi secara kualitatif dengan cara menentukan Rf (*Retardation factor*) atau faktor penghambat untuk tiap bahan yang dielusi. Harga Rf didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak antarmuka pelarut dari titik awal.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga Rf dipengaruhi oleh faktor pelarut, bahan pengembang, jenis dan ketebalan lapisan, suhu, kejenuhan ruangan akan pelarut, kelembaban udara, konsentrasi senyawa asing dan pencemaran pelarut (Gritter, 1997).

## **2.4 Spektrofotometer**

### **2.4.1 Pengertian Spektrofotometri**

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis instrumental yang menggunakan dasar interaksi energi dan materi. Spektrofotometri dapat dipakai untuk menentukan konsentrasi suatu larutan melalui intensitas serapan pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang dipakai adalah panjang gelombang maksimum yang memberikan absorbansi maksimum. Dalam analisis cara spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200-380 nm), daerah Visible (380-700 nm), daerah Inframerah (700-3000 nm). Salah satu prinsip kerja spektrofotometri didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh space kimia tertentu didaerah ultra violet dan sinar tampak (visible). Sedangkan peralatan yang digunakan

dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi suatu larutan (Agustina Ayu, 2012).

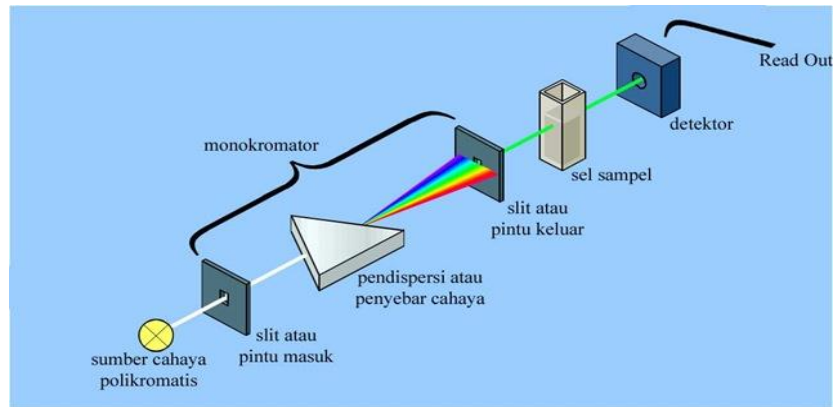
Spektrofotometer terdiri dari beberapa jenis yaitu spektrofotometer visible (sinar tampak), spektrofotometer UV (Ultra Violet), spektrometer infra-merah, spektrofotometer resonansi magnet inti, spektrofotometer serapan, spektrofotometer massa, dan spektrometer fluoresensi. Perbedaan dari jenis spektrometer tersebut terletak pada sumber cahaya atau sampel yang disesuaikan dengan apa yang akan diteliti (Agustina Ayu, 2012).

#### **2.4.2 Spektrofotometri Sinar Tampak (Visible)**

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Yang dimaksud sinar tampak adalah sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400-800 nm serta memiliki energi sebesar 299-149 kJ/mol. Elektron pada keadaan normal atau berada pada kulit atom dengan energi terendah disebut keadaan dasar (*ground-state*). Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju keadaan tereksitasi (Agustina Ayu, 2012).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorpsi pada setiap panjang gelombang didaerah ultraviolet dan tampak. Dalam instrument ini suatu sinar cahaya terpecah sebagian cahaya diarahkan melalui sel transparan yang mengandung pelarut. Ketika radiasi elektromagnetik dalam daerah UV-Vis melewati suatu senyawa yang mengandung ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diabsorpsi oleh senyawa. Hanya beberapa radiasi yang diabsorpsi, tergantung

pada panjang gelombang dari radiasi dalam struktur senyawa. Absorpsi radiasi disebabkan oleh pengurangan energi cahaya radiasi ketika electron dalam orbital dari rendah tereksitasi keorbital energi tinggi.



**Gambar 3.** Skema Alat Spektrofotometri UV – Vis ( David G, 2009)

### 1. Sumber radiasi

Beberapa sumber radiasi yang dipakai pada spektrofotometer adalah lampu deuterium, lampu tungstein, dan lampu merkuri. Sumber-sumber radiasi ultra lembayung yang kebanyakan dipakai adalah lampu hydrogen dan lampu deuterium (D2). Disamping itu sebagai sumber radiasi ultra lembayung yang lain adalah lampu xenon. Kejelekannya lampu xenon tidak memberikan radiasi yang stabil seperti lampu deuterium. Lampu deuterium dapat diapakai pada panjang gelombang 180 nm sampai 370 nm ( daerah ultra lembayung dekat ).

Lampu tungstein merupakan campuran dari filament tungstein gas iodine (halogen), oleh sebab itu sebagai lampu tungstein-iodin pada panjang spektrofotometer sebagai sumber radiasi pada daerah pengukuran sinar tampak dengan rentangan panjang gelombang 380-900 nm.

Lampu merkuri adalah suatu lampu yang mengandung uap merkuri tekanan rendah dan biasanya dipakai untuk mengecek, mengkalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer pada daerah ultra lembayung khususnya daerah

disekitar panjang gelombang 365 nm dan sekaligus mengecek resolusi monokromator.

## **2. Monokromator**

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator pada spektrofotometer biasanya terdiri dari susunan meliputi celah (slit) masuk-filter-prisma-kisi(grating)-celah keluar.

### **a. Celah (slit)**

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer. Celah monokromator berperan penting dalam hal terbentuknya radiasi monokromatis dan resolusi panjang gelombang.

### **b. Filter optik**

Cahaya tampak yang merupakan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang 380-780 nm merupakan cahaya putih yang merupakan campuran cahaya dengan berbagai macam panjang gelombang. Filter optik berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan merupakan cahaya yang berwarna sesuai dengan warna filter optik yang dipakai. Filter optik yang sederhana dan banyak dipakai terdiri dari kaca yang berwarna. Dengan adanya filter optik sebagai bagian monokromator akan dihasilkan pita cahaya yang sangat sempit sehingga kepekaan analisisnya lebih tinggi. Dan lebih dari itu akan didapatkan cahaya hampir monokromatis sehingga akan mengikuti hukum Lambert-Beer pada analisis kuantitatif.

### c. Prisma dan Kisi (grating)

Prisma dan kisi merupakan bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

### **3. Sel / Kuvet**

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang dianalisis. Kuvet ini bentuk biasanya terbuat dari quartz atau leburan silika dan ada yang dari gelas dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1x1 cm, dengan tinggi kurang lebih 5 cm. Pada pengukuran di daerah ultra lembayung dipakai quartz atau leburan silika, sedang kuvet dari gelas tidak dipakai, sebab gelas mengabsorpsi sinar ultra lembayung.

### **4. Detektor**

Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer yang penting oleh sebab itu detektor akan menentukan kualitas dari spektrofotometer adalah merubah signal elektronik.

### **5. Amplifier**

Amplifier dibutuhkan pada saat sinyal listrik elektronik yang dilahirkan setelah melewati detektor untuk menguatkan karena penguat dengan resistensi masukan yang tinggi sehingga rangkaian detektor tidak terserap habis yang menyebabkan keluaran yang cukup besar untuk dapat dideteksi oleh suatu alat pengukur.

#### **2.4.3 Hukum Lambert Beer**

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel (b) yang disinari, dengan bertambahnya sel, maka serapan akan bertambah.



$$A = k \cdot b$$

Menurut Beer, yang berlaku untuk radiasi monokromatis dalam larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi.

$$A = k \cdot c$$

Jika konsentrasi bertambah, jumlah molekul yang dilalui berkas sinar akan bertambah, sehingga serapan juga bertambah. Kedua persamaan ini digabungkan dalam Hukum Lambert-Beer, maka diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan sel yang dapat ditulis dengan persamaan :

$$A = k \cdot c \cdot b$$

Umumnya digunakan dua satuan c (konsentrasi zat yang menyerap) yang berlainan, yaitu gram per liter atau mol per liter. Nilai tetapan (k) dalam hukum Lambert-Beer tergantung pada sistem konsentrasi mana yang digunakan. Bila c dalam gram per liter, tetapan disebut dengan absorptivitas (a) dan bila dalam mol per liter, tetapan tersebut adalah absorptivitas molar ( $\epsilon$ ).

Hukum Lambert-Beer (Beer's law) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit (Gandjar & Rohman, 2015), yaitu:

$$A = (I_0 / I_t) = abc$$

Keterangan :  $I_0$  : Intensitas sinar datang

$I_t$  : Intensitas sinar yang diteruskan

a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi

A : Absorban

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat didalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda pula dengan ketebalannya, sehingga diperlukan dengan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harborne, J.B, 1987).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati dan simlisia nabati menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan adapun mekanisme ekstraksi yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan melarut dalam pelarut organik tersebut sehingga terjadi perbedaan kosentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi kesetimbangan antara kosentrasi cairan zat aktif dalam dan luar sel (Harborne, J.B.1987).

Secara umum, terdapat empat situasi dilakukanya suatu metode ekstraksi :

a. Senyawa kimia telah diketahui identitasnya untuk diekstraksi dari organisme. Dalam kasus ini, prosedur yang telah dipublikasikan dapat diikuti dan dibuat modifikasi yang sesuai untuk mengembangkan proses atau menyesuaikan dengan kebutuhan pemakai.

b. Bahan diperiksa untuk menemukan kelompok senyawa kimia tertentu, misalnya alkaloid, flavonoid, atau saponin, meskipun struktur kimia sebetulnya

dari senyawa ini, bahkan keberadaannya belum diketahui. Dalam situasi seperti ini, metode umum yang dapat digunakan untuk senyawa kimia yang diminati dapat diperoleh dari pustaka. Hal ini diikuti dengan uji kimia atau kromatografi yang sesuai untuk kelompok senyawa kimia tersebut.

c. Organisme (tanaman atau hewan) digunakan dalam pengobatan tradisional dan biasanya dibuat dengan berbagai cara, misalnya Tradisional Chinese Medicine (TCM) seringkali membutuhkan herba yang dididihkan dalam air dan dekok untuk diberikan sebagai obat. Proses ini harus ditiru sedekat mungkin jika ekstrak akan melalui kajian ilmiah biologi atau kimia lebih lanjut, khususnya jika tujuannya untuk memvalidasi penggunaan tradisional.

d. Sifat senyawa yang akan diisolasi belum ditentukan sebelumnya dengan cara apapun. Situasi ini (utamanya dalam program skrining) dapat timbul jika tujuannya adalah untuk menguji organisme, baik yang dipilih secara cak atau didasarkan pada penggunaan tradisional untuk mengetahui adanya senyawa dengan aktifitas biologi khusus. Oleh karena itu perlu pemilihan metode ekstraksi yang sesuai untuk biosassay dan juga mencoba mengekstraksi sebanyak mungkin tipe senyawa kimia. Secara umum hal ini dicapai dengan menggunakan serangkaian pelarut, tetapi jumlah pelarut yang digunakan harus dibatasi oleh skala program skrining. Jika hanya sedikit organisme yang diuji, dapat dibuat dengan berbagai jenis ekstrak dari tiap sampel, sedangkan dalam program skrining skala besar yang mencakup ribuan organisme, hanya satu atau dua ekstrak (biasanya dengan polaritas berbeda) yang dibuat dari masing-masing sampel (Harborne, J.B.1987).

Salah satu metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu metoda ekstraksi yang dilakukan dengan cara

merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan (Marjoni, 2016).

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

## **BAB III. METODA PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan ± 5 bulan (September 2020–Januari 2021) di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi spektrofotometer UV-Vis (T92+), corong pisah (Pyrex), corong (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), labu ukur (Pyrex), pipet tetes, kertas saring, spatel, batang pengaduk, timbangan analitik, aluminium foil, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat maserasi, dan alat-alat gelas yang menunjang penelitian.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, Aseton, beta karoten murni (p.a), n-heksan (p.a), natrium sulfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat) (p.a), metanol, kalium hidroksida (KOH) (p.a), petroleum eter (p.a), plat KLT Silika gel 60 F<sub>254</sub> (p.a), serta brokoli (*Brassica oleracea* L.).

### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Pengambilan sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah brokoli. Sampel brokoli diperoleh di kebun brokoli Batu Palano, Sungai Puar, Agam, Sumatera Barat.

#### **3.3.2 Identifikasi Sampel**

Identifikasi seluruh bagian tanaman Brokoli dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang.

### **3.3.3 Penyiapan Sampel**

#### **3.3.3.1 Preparasi Sampel Brokoli Mentah**

Brokoli dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan agar airnya turun. Kemudian pisahkan dari daun dan batang yang keras. Brokoli yang sudah dibersihkan kemudian di potong kecil-kecil.

#### **3.3.3.2 Preparasi Sampel Brokoli Rebus**

Brokoli dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil, kemudian dimasukkan dalam panci yang berisi air suling. Dan dipanaskan dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit, dan 15 menit sambil beberapa kali diaduk. Sampel diangkat dan ditiriskan.

#### **3.3.3.3 Preparasi Sampel Brokoli Kukus**

Brokoli dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil. Kemudian dimasukkan ke dalam panci kukusan dan dipanaskan dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit, dan 15 menit. Sampel diangkat dan ditiriskan.

### **3.3.4 Penyiapan Larutan Pereaksi**

#### **3.3.4.1 Pembuatan Larutan Fase Gerak**

N-heksan : aseton (9:1) dibuat sebanyak 30 mL, dengan cara mencampurkan 3 mL aseton dengan 27 mL n-heksan dalam botol eluen, lalu dikocok hingga homogen.

#### **3.3.4.2 Pembuatan Larutan KOH 15% b/v dalam Metanol**

Ditimbang 7,5 g KOH, dilarutkan dalam 25 mL metanol hingga larut. Kemudian cukupkan volumenya hingga 50 mL dengan metanol (Syarif, 2013).

### 3.3.5 Ekstraksi Sampel

Masing-masing sampel brokoli mentah, rebus dan kukus dengan variasi waktu ditimbang sebanyak 50 g, masukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan 550 mL aseton, 6 jam pertama di aduk sesekali kemudian dimaserasi 24 jam, lalu disaring untuk memisahkan ampas dan ekstrak. Ampasnya dibuang dan ekstrak aseton disimpan untuk dilakukan perlakuan lebih lanjut. Hasil ekstrak aseton yang diperoleh diuapkan di *Rotary Evaporator*. 20 mL ekstrak aseton yang telah diuapkan kemudian dilakukan saponifikasi dengan menambahkan KOH 15% dalam metanol sebanyak 20 mL ke dalam labu gelap, dikocok dan diamankan semalaman. Hasil saponifikasi tersebut diekstraksi kembali dengan petroleum eter sebanyak 25 mL dan aquadest 25 mL, lakukan fraksi 15 menit. Lalu cuci dengan air suling sampai bebas basa. Keringkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat diatas kertas saring. Kemudian dicukupkan volumenya hingga 100 mL dengan petroleum eter.

### 3.3.6 Penentuan Rendemen Ekstrak Brokoli

Timbang masing-masing sampel yang telah dibersihkan dan diberi perlakuan, kemudian hasil ekstraksi dari masing-masing pengolahan yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus (Departemen Kesehatan RI, 2000):

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

### 3.3.7 Analisis Kualitatif

Identifikasi beta karoten dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Plat KLT diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian *chamber* yang berisi cairan pengelusi petroleum eter : aseton (9:1) dijenuhkan terlebih dahulu dengan kertas saring. Selanjutnya

pembandingan beta karoten murni dan masing-masing sampel ditotolkan dengan pipet mikro pada lempeng KLT. Setelah kering lempeng KLT dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi cairan pelarut n-heksan : aseton (9:1). Tutup bejana dan biarkan hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Selanjutnya lempeng dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan di udara, dan bercak diamati. Diukur dan dicatat bercak dari titik penotolan. Tentukan harga *Retardation factor* (Rf).

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

### **3.3.8 Analisis Kuantitatif**

#### **3.3.8.1 Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten 1000 ppm**

Ditimbang teliti 50 mg beta karoten murni, dilarutkan dengan petroleum eter hingga volume 50 mL pada labu ukur. Diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Labu ditutup dengan aluminium foil karena beta karoten mudah teroksidasi dan tidak stabil apabila terkena cahaya (Chandra *et al.*, 2017).

Dari konsentrasi 1000 ppm, kemudian dipipet 25 ml, kemudian masukkan dalam labu tentukur 50 mL. Kemudian cukupkan volumenya dengan petroleum eter hingga tanda batas, kocok hingga homogen, diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian labu ukur dilapisi dengan aluminium foil.

#### **3.3.8.2 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten**

Untuk penentuan panjang gelombang serapan maksimum beta karoten dilakukan pada konsentrasi 60 ppm dengan cara dipipet 1,2 mL larutan beta karoten 500 ppm, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Tambahkan petroleum eter hingga tanda batas, homogenkan. Lapisi labu ukur dengan aluminium foil.



Kemudian diukur panjang gelombang serapan maksimum beta karoten dengan Spektrofotometer UV Visibel pada rentang 400-600 nm.

### **3.3.8.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Beta Karoten**

Dari konsentrasi 500 ppm kemudian dipipet 0,8 mL, 1 mL, 1,2 mL, 1,4 mL dan 1,6 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan petroleum eter hingga 10 mL. Diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, dan 80 ppm.

Setelah itu diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 475 nm. Kemudian buat kurva kalibrasi beta karoten dan tentukan persamaan regresi linearnya.

### **3.3.8.4 Pengukuran Kadar Beta Karoten pada Sampel**

Untuk penetapan kadar beta karoten. Dipipet dengan teliti 2 mL larutan sampel masing-masing sampel brokoli, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas dan di ukur serapannya pada panjang gelombang 475,0 nm dan lakukan replikasi sebanyak 3x. Untuk blanko digunakan petroleum eter, kemudian diukur absorbannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 475,0 nm.

## **3.4 Analisa Data**

### **3.4.1 Kadar Beta Karoten Pada Sampel**

Kadar beta karoten dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi.

$$Y = a + bx.$$

Keterangan : Y = Absorban

X = Konsentrasi

a = intersep

b = koefisien regresi/slope

Sehingga konsentrasi dalam sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar} = \frac{C \times F_p \times V}{B_s}$$

Keterangan : C = Konsentrasi sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )

F<sub>p</sub> = Faktor pengenceran baku (mL/mL)

V = Volume sampel (mL)

B<sub>s</sub> = Berat sampel (g)

### 3.4.2 Validasi Metode Analisis

#### 3.4.2.1 Uji Linearitas dan Kurva Kalibrasi

Uji linearitas dan kurva kalibrasi dibuat dengan menggunakan persamaan garis regresi linear ( $y = a + bx$ ) antara konsentrasi beta karoten dengan serapan. Linearitas ditentukan oleh harga r (koefisien korelasi) yang mendekati 1, dimana koefisien korelasi (r) berada pada rentang  $0,990 \leq r \leq 1$  (Harmita, 2014).

#### 3.4.2.2 Simpangan Baku Residual, Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)

Penentuan nilai Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi dilakukan secara statistik melalui persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi, dimana respon instrument berhubungan linear dengan konsentrasi. Berikut adalah rumus mencari Simpangan Baku Residual, Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi, yaitu :

$$SBr = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y_i)^2}{n-2}}$$

$$BD = \frac{3 \times SB}{slope (b)}$$

$$BK = \frac{10 \times SB}{slope (b)}$$

Keterangan : SBr = Simpangan Baku Residual

BD = Batas Deteksi ( $\mu\text{g/mL}$ )

BK = Batas Kuantitasi ( $\mu\text{g/mL}$ )

### 3.4.2.3 Uji Presisi

1. Simpangan baku dapat dihitung berdasarkan persamaan dibawah ini :

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

2. Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah :

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

### 3.4.3 Uji Statistik

Data yang diperoleh diolah secara statistik. Uji *Two Way* Anova digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar beta karoten pada masing-masing pengolahan brokoli terhadap variasi waktu. Uji *One Way* Anova digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar beta karoten pada brokoli rebus terhadap variasi waktu dan brokoli kukus terhadap variasi waktu.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Berdasarkan identifikasi sampel yang dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang menyatakan bahwa jenis sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Brassica oleracea* L.

Setelah dilakukan penelitian tentang analisis kandungan beta karoten pada pengolahan brokoli (*Brassica oleracea* L.) dengan Spektrofotometri UV-Vis maka diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Hasil pemeriksaan panjang gelombang serapan maksimum Beta Karoten yang diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm adalah 475,0 nm dengan absorban 0,368.
2. Rendemen masing-masing ekstrak brokoli diperoleh:

**Tabel 2.** Hasil Rendemen Ekstrak Brokoli

No.	Pengolahan	Rendemen (%)
1.	Mentah	7,476
2.	Brokoli Kukus 5'	2,6768
3.	Brokoli Kukus 10'	4,0182
4.	Brokoli Kukus 15'	3,604
5.	Brokoli Rebus 5'	3,6576
6,	Brokoli Rebus 10'	3,2328
7.	Brokoli Rebus 15'	3,9072

2. Berdasarkan hasil uji kualitatif beta karoten dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terhadap sampel brokoli (*Brassica oleracea* L.) diperoleh hasil

bahwa masing-masing sampel brokoli positif mengandung beta karoten. Nilai Rf yang di dapatkan yaitu:

**Tabel 3.** Hasil Uji Analisa Kualitatif

No.	Pengolahan	Nilai Rf sampel	Nilai Rf pembanding
1.	Mentah	0,58	0,58
2.	Rebus 5 menit	0,56	0,56
3.	Rebus 10 menit	0,56	
4.	Rebus 15 menit	0,56	
5.	Kukus 5 menit	0,55	0,55
6.	Kukus 10 menit	0,55	
7.	Kukus 15 menit	0,55	

3. Berdasarkan hasil uji kuantitatif beta karoten pada masing-masing sampel brokoli (*Brassica oleracea* L.) dengan Spektrofotometri UV-Vis didapatkan kadar rata-rata pada masing-masing sampel yaitu :

**Tabel 4.** Hasil analisis kadar beta karoten pada pengolahan brokoli

No.	Pengolahan	Kadar beta karoten (mg/100g)	% Penurunan kadar beta karoten
1.	Mentah	74,3242	0
2.	Kukus 5 menit	62,2859	16,19
3.	Kukus 10 menit	57,5488	22,57
4.	Kukus 15 menit	51,5081	30,69
5.	Rebus 5 menit	47,1621	36,54
6.	Rebus 10 menit	44,7284	39,82
7.	Rebus 15 menit	43,2507	41,81

## 4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan analisa kandungan kadar beta karoten dari ekstrak aseton brokoli (*Brassica oleracea* L.) dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Sampel brokoli (*Brassica oleracea* L.) diperoleh di kebun brokoli Batu Palano, Sungai Puar, Agam, Sumatera Barat. Sebelumnya sampel brokoli ini telah diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang guna untuk mengetahui spesies dari sampel yang digunakan.

Bagian brokoli yang digunakan yaitu bunga brokoli. Penetapan kadar beta karoten untuk masing-masing sampel tersebut diawali dengan cara mengekstraksi sampel secara maserasi selama 24 jam dengan menggunakan aseton sebagai pelarut untuk mengekstraksi senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam sampel. Dimana sebelumnya masing-masing sampel telah diberi perlakuan. Untuk brokoli mentah, setelah dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan lalu di potong kecil-kecil. Untuk brokoli yang di rebus dan di kukus setelah dicuci bersih, lalu di potong kecil-kecil dan dilakukan perebusan dan pengukusan selama 5 menit, 10 menit, dan 15 menit dengan suhu  $\pm 100^{\circ}\text{C}$ .

Masing-masing hasil ekstraksi aseton yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya lakukan proses saponifikasi/ penyabunan dengan penambahan KOH 15 % dalam metanol. Proses saponifikasi bertujuan untuk membuang klorofil yang terdapat dalam sampel dan juga melepaskan ikatan ester, asam-asam, dan lemak lainnya. Hal ini dilakukan agar asam-asam lemak yang ada pada ekstrak ikut terlarut bersama KOH 15% b/v dalam metanol. Selanjutnya sampel yang sudah disaponifikasi dilakukan fraksi

menggunakan corong pisah dengan menambahkan petroleum eter dan aquadest sehingga terbentuk 2 fase. Fase lapisan atas merupakan petroleum eter dan lapisan bawah adalah aseton dan air. Tujuan diekstraksi kembali dengan petroleum eter, agar beta karoten yang terkandung dalam sampel ditarik oleh petroleum eter. Sedangkan penambahan air dilakukan untuk membebaskan ekstrak sehingga rantai hidrokarbon yang bersifat hidrofob akan larut dalam petroleum eter sedangkan ion sabun yang bersifat hidrofilik akan larut dalam lapisan air (Idris, 2011). Fase lapisan atas yang merupakan petroleum eter kemudian disaring dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat guna untuk menarik sisa air dalam ekstrak, sehingga diperoleh ekstrak cair petroleum eter. Selanjutnya ekstrak cair petroleum eter yang diperoleh dilakukan analisa kualitatif dan analisa kuantitatif.

Selanjutnya masing-masing ekstrak dilakukan perhitungan rendemen. Ekstrak brokoli mentah diperoleh rendemen: 7,476%; brokoli kukus 5 menit: 2,6768%; brokoli kukus 10 menit: 4,0182%; brokoli kukus 15 menit: 3,604%; brokoli rebus 5 menit: 3,6576%; brokoli kukus 10 menit: 3,2328%; dan brokoli rebus 15 menit: 3,9072%.

Pada analisa kualitatif dilakukan dengan menggunakan metoda Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa beta karoten pada masing-masing brokoli yang telah diberi pengolahan dibandingkan dengan senyawa pembandingnya yaitu beta karoten, dengan tujuan untuk membuktikan apakah sampel tersebut mengandung beta karoten atau tidak.

Harg Rf adalah perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu dengan jarak perambatan baku pembanding. Jika zat uji yang diidentifikasi dan baku pembanding itu sama, maka terdapat kesesuaian dalam warna dan harga Rf

(Depkes RI, 2008). Berdasarkan nilai Rf yang didapat menunjukkan bahwa sampel brokoli yang mentah, kukus dan rebus dengan variasi waktu mempunyai nilai Rf yang sama dengan senyawa pembandingnya. Hal ini menunjukkan bahwa sampel brokoli yang mentah, rebus dan kukus memiliki senyawa beta karoten.

Selanjutnya dilakukan analisa kuantitatif beta karoten dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pada uji ini digunakan beta karoten murni sebagai pembanding dan dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm. Untuk masing-masing konsentrasi diukur serapannya dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum beta karoten 475,0 nm, sehingga diperoleh persamaan regresi linear yaitu  $y = -0,0914 + 0,00767 x$  dengan nilai koefisien korelasi 0,9995. Menurut Harmita (2014) nilai koefisien korelasi yang baik hampir mendekati 1. Hal ini berarti bahwa perbandingan kadar dengan parameter yang diukur memiliki linieritas yang baik. Artinya, parameter yang diukur sesuai dengan deret konsentrasi yang dibuat.

Selanjutnya yaitu menentukan batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK). Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi (Harmita, 2006). Hasil percobaan didapat nilai BD sebesar 1,718252  $\mu\text{g/mL}$ . Batas kuantitasi merupakan nilai terkecil analit dalam sampel yang masih dapat ditentukan dengan metode yang digunakan dan memenuhi kriteria cermat dan seksama. Dari data hasil percobaan diperoleh nilai BK sebesar 5,7275  $\mu\text{g/mL}$ .

Uji selanjutnya yang dilakukan yaitu sebagai pendukung proses validasi metode yaitu uji keseksamaan. Uji keseksamaan atau uji presisi merupakan



ukuran derajat kesesuaian antara hasil individu dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2006). Hasil percobaan yang dilakukan didapat nilai koefisien variasi pengolahan brokoli pada masing-masing variasi waktu sebesar mentah 0,2678; kukus 5 menit 1,2266; kukus 10 menit 1,4147; kukus 15 menit 0,5844; rebus 5 menit 0,5755; rebus 10 menit 0,6729 dan rebus 15 menit 0,7586 dan nilai simpangan baku (SD) sebesar Mentah 0,1991; kukus 5 menit 0,7640; kukus 10 menit 0,8142; kukus 15 menit 0,3010; rebus 5 menit 0,2714; rebus 10 menit 0,3010 dan rebus 15 menit 0,3281. Syarat uji keseksamaan yaitu menghasilkan nilai koefisien variasi  $\leq 2\%$ . Pada validasi metode analisis menunjukkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan parameter validasi. Dimana semua analisis validasi yang didapat memenuhi syarat. Dan dapat dikatakan bahwa metode Spektrofotometri Visibel merupakan metode yang valid untuk analisis beta karoten pada brokoli.

Pengukuran kadar beta karoten pada masing-masing pengolahan brokoli dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum beta karoten 475,0 nm (dilakukan replikasi 3 kali). Sehingga diperoleh kadar rata-rata beta karoten pada masing-masing pengolahan brokoli yaitu: brokoli mentah= 74,3242 mg/100g, brokoli kukus 5 menit= 62,2859 mg/100g, brokoli kukus 10 menit= 57,5488 mg/100g, brokoli kukus 15 menit= 51,5081 mg/100g, brokoli rebus 5 menit= 47,1621 mg/100g, brokoli rebus 10 menit= 44,7284 mg/100g dan brokoli rebus 15 menit= 43,2507 mg/100g.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar beta karoten pada brokoli mentah lebih tinggi dibandingkan dengan kadar beta karoten pada brokoli yang

diberi pengolahan dengan cara direbus maupun dikukus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit. Karotenoid mengalami penurunan karena adanya proses pemanasan. Pada brokoli yang direbus pengurangan kandungan karotenoid tersebut kemungkinan disebabkan oleh pelepasan karoten ke dalam air mendidih (Sani, *dkk* 2019). Semakin lama proses perebusan maka penurunan total karotenoid juga semakin banyak. Berdasarkan hasil yang didapat, yaitu semakin lama waktu perebusan maka semakin menurun kadar beta karoten dari sampel.

Pada brokoli yang diberi perlakuan dengan cara dikukus menunjukkan bahwa kadar beta karoten pada brokoli mentah lebih tinggi dibandingkan dengan kadar beta karoten pada brokoli yang diberi perlakuan dengan cara dikukus dengan variasi waktu 5, 10 dan 15 menit. Pengukusan adalah prosedur memasak terbaik untuk menjaga kandungan total karoten. Pemanasan dapat menyebabkan beta karoten terisomerisasi dari bentuk trans ke cis sehingga menurunkan kandungan beta karoten (Adelina, 2013). Hal ini kemungkinan besar menyebabkan adanya penurunan kandungan beta karoten pada brokoli yang diberi perlakuan dengan cara dikukus. Hasil yang didapat yaitu semakin lama waktu pengukusan maka semakin menurun kadar beta karoten dari sampel. Namun, dibandingkan dengan brokoli yang direbus, kadar brokoli yang dikukus lebih tinggi daripada yang direbus. Penampilan fisik yang paling menarik terdapat pada brokoli yang diberi pengolahan dengan cara dikukus karena memiliki warna hijau yang lebih terang dibandingkan dengan brokoli yang diolah dengan cara direbus.

Pengolahan bahan makanan dengan melibatkan panas merupakan salah satu proses pengolahan pangan yang banyak dilakukan baik pada skala rumah tangga atau skala industri. Pengolahan pada bahan makanan dilakukan untuk

menambah daya cerna pada manusia (Sani, *dkk* 2019). Pengolahan pada brokoli sebaiknya mengutamakan teknik pengolahan dengan cara dikukus untuk menjaga tampilan masakan agar tetap menarik dan untuk menjaga kadar beta karoten pada brokoli tidak banyak terbuang. Sebaiknya apabila mengolah sayuran dengan teknik perebusan menggunakan air sedikit mungkin dan tidak membuang air sisa perebusan agar tetap mendapatkan manfaat dari kandungan beta karoten yang larut selama proses perebusan.

Dari data analisa statistik untuk penetapan kadar beta karoten pada pengolahan brokoli dengan variasi waktu dilakukan dengan uji *Two Way* Anova didapatkan nilai signifikan 0,0001 ( $p < 0,05$ ), bahwa ada perbedaan yang signifikan dari hasil pemeriksaan kadar beta karoten pengolahan brokoli antara kelompok mentah, rebus dan kukus. Hasil *One Way* Anova dari pengolahan brokoli rebus dan kukus dengan variasi waktu 5, 10 dan 15 menit juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikan 0,0001 ( $p < 0,05$ ).

Dari hasil uji lanjutan Duncan terlihat bahwa berbeda secara nyata antara setiap kelompok pengolahan brokoli. Pada uji Duncan menunjukkan bahwa brokoli mentah dan brokoli rebus berbeda nyata, brokoli mentah dan brokoli kukus berbeda nyata, dan brokoli rebus dan brokoli kukus berbeda nyata. Kadar beta karoten tertinggi terdapat pada brokoli mentah yaitu tanpa diberi pengolahan. Hasil juga menunjukkan setiap pengolahan dengan variasi waktu memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar beta karoten. Dimana semakin lama waktu pengolahan memberikan pengaruh yang paling buruk terhadap kadar beta karoten pada brokoli.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Uji kuantitatif beta karoten pada masing-masing sampel brokoli (*Brassica oleracea* L.) dengan spektrofotometri UV-Vis didapatkan kandungan beta karoten yaitu: brokoli mentah= 74,3242 mg/100g, brokoli kukus 5 menit= 62,2859 mg/100g, brokoli kukus 10 menit= 57,5488 mg/100g, brokoli kukus 15 menit= 51,5081 mg/100g, brokoli rebus 5 menit= 47,1621 mg/100g, brokoli rebus 10 menit= 44,7284 mg/100g dan brokoli rebus 15 menit= 43,2507 mg/100g.
2. Berdasarkan Analisis *two way* dan *one way anova*, didapatkan nilai signifikan 0,0001 ( $p < 0,05$ ), adanya perbedaan yang signifikan dari hasil pemeriksaan kadar beta karoten pada kelompok mentah, kukus dan rebus. Dimana kadar yang tertinggi yaitu brokoli mentah, selanjutnya brokoli yang di kukus dan terakhir brokoli yang di rebus dengan diikuti masing-masing variasi waktu.
3. Persentase penurunan kadar beta karoten pada brokoli kukus dan rebus dengan variasi waktu 5 menit, 10 menit dan 15 menit terhadap brokoli mentah yaitu: Brokoli kukus 5 menit= 16,19%, Brokoli kukus 10 menit=22,57%, Brokoli kukus 15 menit=30,69%, Brokoli rebus 5 menit=36,54%, Brokoli rebus 10 menit= 39,82% dan brokoli rebus 15 menit= 41,81%.

### 5.2 Saran

Disarankan untuk peneliti selanjutnya melakukan pengukuran kadar beta karoten pada bagian tanaman brokoli lainnya seperti daun maupun bonggolnya. Ataupun mengukur kadar senyawa lainnya yang ada pada tanaman brokoli.


## DAFTAR PUSTAKA

- Adelina R, Noorhamdani & Annasary M. Perebusan dan penumisan menurunkan kadar beta-karoten dalam wortel. *Jurnal Gizi dan Dietetik Indonesia*. 2013;1(3):164-68
- Adnan, M. 1997. *Technik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Penerbit Andi: Yogyakarta.
- Agustina, A., Nurul H, Putri S. 2019. Penetapan Kadar  $\beta$ -Karoten Pada Wortel (*Daucus Carota, L*) Mentah dan Wortel Rebus Dengan Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*: 05 (01) 7-13.
- Almatsier, S., 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Penerbit Gramedia Pustaka Utama
- Andarwulan, N., dan Koswara. 1992. *Kimia Vitamin*. Jakarta : Penerbit Rajawali
- Astawan. M dan Andreas L.K 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia.
- Ayu,Agustina.2012.Spektrofotometri.<http://augustiienayoe.blogspot.com/2012/5/spektrofotometri.html>. Diakses pada 18 Juni 2015.
- Cahyono, B. 2001. *Kubis Bunga Dan Broccoli Teknik Budidaya Dan Analisis Usaha Tani*. Yogyakarta : Kanisus
- Chandra, B., Dinda, A., & Handayani, H. 2017. Analisis Kandungan Beta Karoten pada Daun Bayam Merah ( *Amaranthus hybridus L.*) dengan Metode Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(2), 149–158.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Puspa Swara. Jakarta.
- David, G., dan Watson. 2009. Analisis Farmasi, Edisi 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia.2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharatara Karya Aksara

- Ehlich, Steven D. 2010. *Beta-carotene* (Online). VeriMed Healthcare Network. <http://www.umm.edu/altmed/articles/beta-carotene-000286.htm>. diakses 14 Januari 2012.
- Erawati, C. M. 2006. Kendali Stabilitas Beta Karoten Selama Proses Produksi Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.). Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, 76
- Fatharanni, M. O., & Anggraini, D. I. 2017. Efektivitas Brokoli (*Brassica Oleracea var. Italica*) dalam Menurunkan Kadar Kolesterol Total pada Penderita Obesitas. *Majority*. 6(1), 64–71.
- Food and Drug Administration (FDA)*. 2015. Foodborne Illnesses: What You Need to Know
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, 323-346. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gawlik-Dziki U. 2008. Effect of Hydrothermal Treatment on the Antioxidant Properties of Broccoli (*Brassica oleracea* var. botrytis italica) florets. *Food Chemistry*; 109:393-401.
- Gritter, R, J. 1997. *Pengantar kromatografi Edisi II*. Penerbit ITB. Bandung.
- Gunawan, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi V*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Ftiokimia*. Bandung: Penerbit ITB
- Harmita. 2014. *Analisa Fisikokimia (Kromatografi)*. Jakarta: EGC.
- Harmita. 2006. *Analisa Fisikokimia*. UI Press. Jakarta. 2006;17,144-152.
- Idris, N. 2011. Analisis Kandungan B-Karoten Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Buah Melon (Cucumis Melo Linn.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Skripsi*. Makassar : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Ikan, R. 1997. *Organic Chemistry Fifth Edition*. Mc.Graw-Hill. inc. New York.
- Linder C. M. 1992. *Biokimia Nutrisi & Metabolisme*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 178.
- Listya, Ana, Sinly dan Satuhu S,. 2010. *Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng*. FMIPA Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.

- Maiani G, Caston MJP, Catasta G, Toti E, Cambrodon IG. et al. 2009. Carotenoids: Actual Knowledge on Food Sources, Intakes, Stability and Bioavailability and Their Protective Role in Humans. *Mol. Nutr. Food. Res.*; 53:194-218.
- Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. CV. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- Mulyatiningsih, E. 2007. Teknik-teknik Dasar Memasak. *Diklat Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta*. Yogyakarta
- Rohman A. 2011. *Analisis Bahan Pangan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Rukmana, R. 1995. *Budidaya Kubis Bunga Dan Broccoli*. Kanisus. Yogyakarta
- Rukmana, R. 1994. *Budidaya Kubis Bunga Dan Broccoli*. Kanisus. Yogyakarta
- Sani, M. F. H., Setyowati, S., & Kadaryati, S. 2019. Pengaruh Teknik Pengolahan Terhadap Kandungan Beta Karoten pada Brokoli (*Brassica oleracea L.*). *Ilmu Gizi Indonesia*, 2(2), 133.
- Sediaoetama D.A. 1987. *Vitaminologi*. Penerbit Balai Pustaka, Jakarta, 103-105
- Setijahartini, S, Didik Suyanto dan Santoso, 1985, *Pangan dan Gizi*, Balai Kerja Sama Perguruan Tinggi Negeri Indonesia Bagian Timur. Ujung Pandang.
- Sudjadi. 1998. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi UGM : Yogyakarta.
- Sunarjono H, & Ramayulis R. 2012. *Timun suri dan blewah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Syarif, S. Flaning, M. 2013. Analisis Kandungan  $\beta$ -Karoten Pada Jenis Sawi Putih (*Brassica Pekinensia L*) dan Jenis Sawi Hijau (*Brassica Juncea L Coss*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *As-Syifaa* : 05 (01) 55-61.
- Winarno, FG. 2004. *Kimia Makanan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.

## Lampiran 1. Identifikasi Sampel



**HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)**  
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar  
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. \*811 e-mail: [nas\\_herb@yahoo.com](mailto:nas_herb@yahoo.com);  
[herbariumandaunand@gmail.com](mailto:herbariumandaunand@gmail.com)

---

Nomor : 303/K-ID/ANDA/IX/2020  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,  
Siti Nur Amisy Putri  
Di  
Tempat

Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Siti Nur Amisy Putri  
No. BP : 1704085  
Instansi : STIFI YP PADANG

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
I.	Brassicaceae	<i>Brassica oleracea</i> L.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 8 September 2020  
Kepala,  
  
Dr. Nurainas  
NIP. 196908141995122001

**Gambar 4.** Scan Surat Identifikasi Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea* L.)

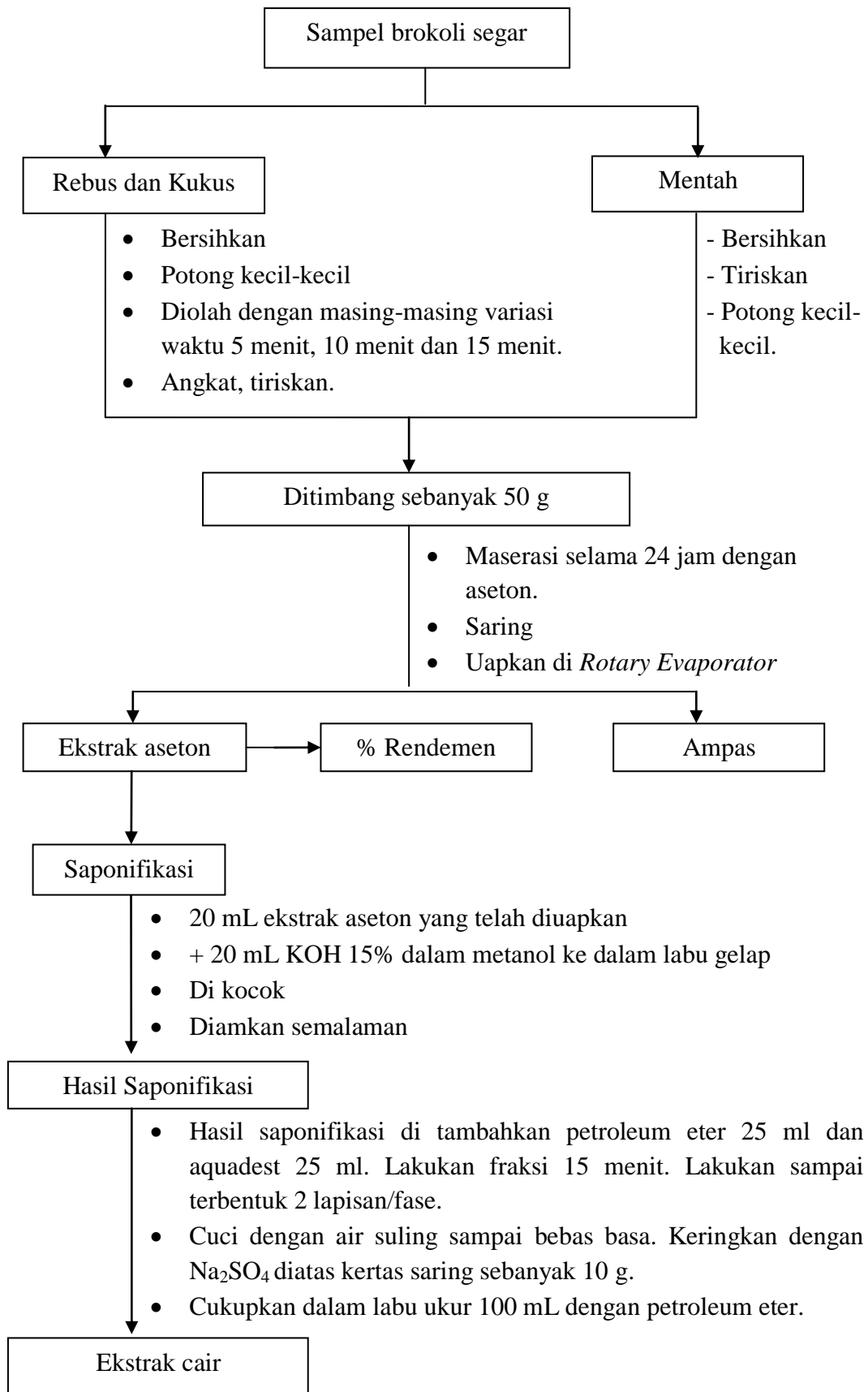


## Lampiran 2. Gambar Tumbuhan Brokoli

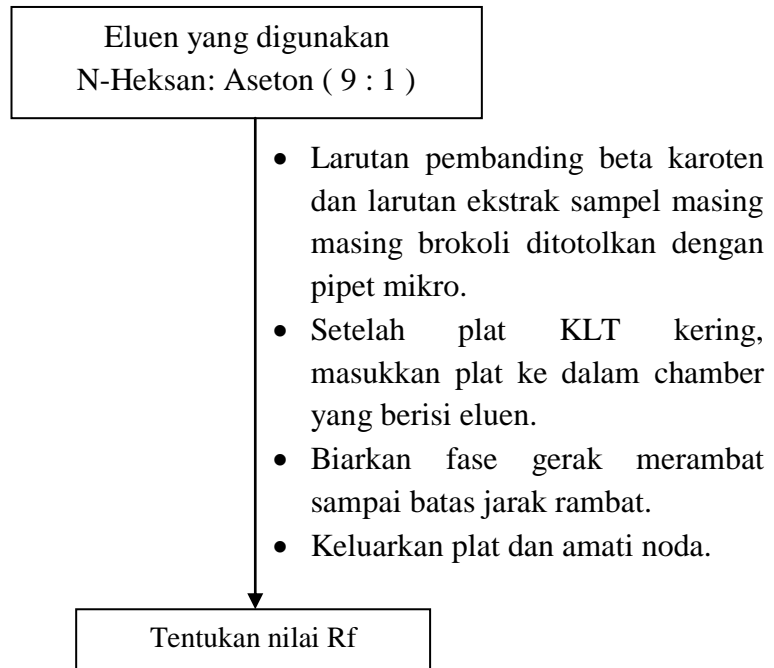


**Gambar 5.** Tumbuhan Brokoli

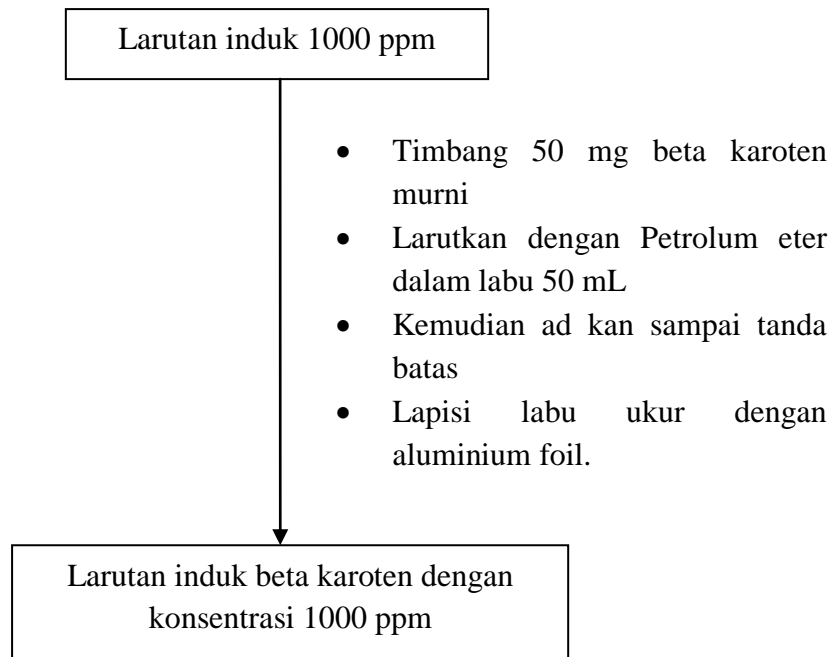
### Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Brokoli



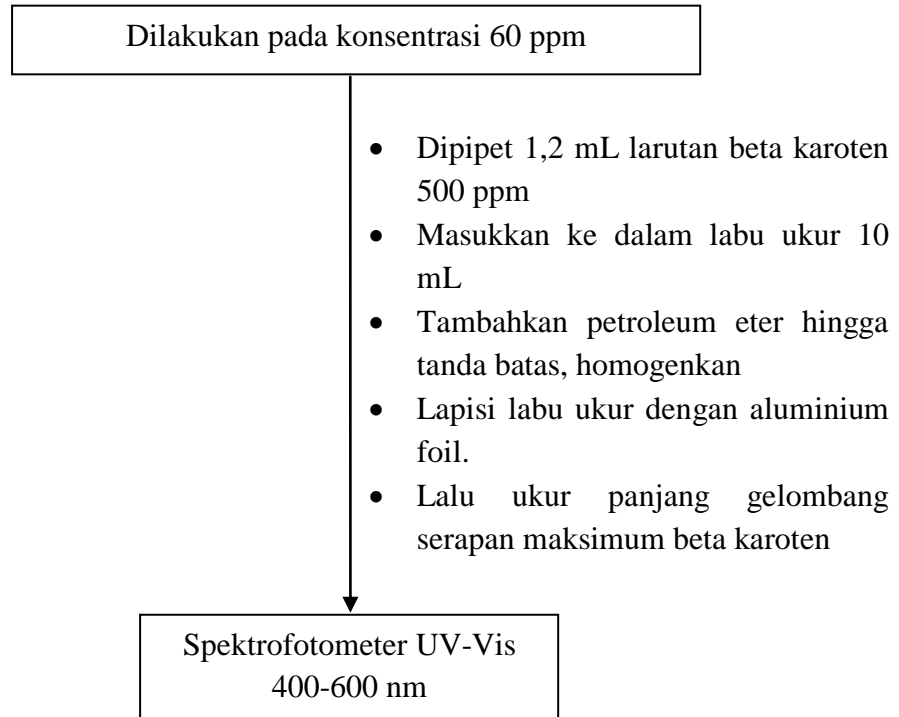
#### Lampiran 4. Analisa kualitatif Beta Karoten



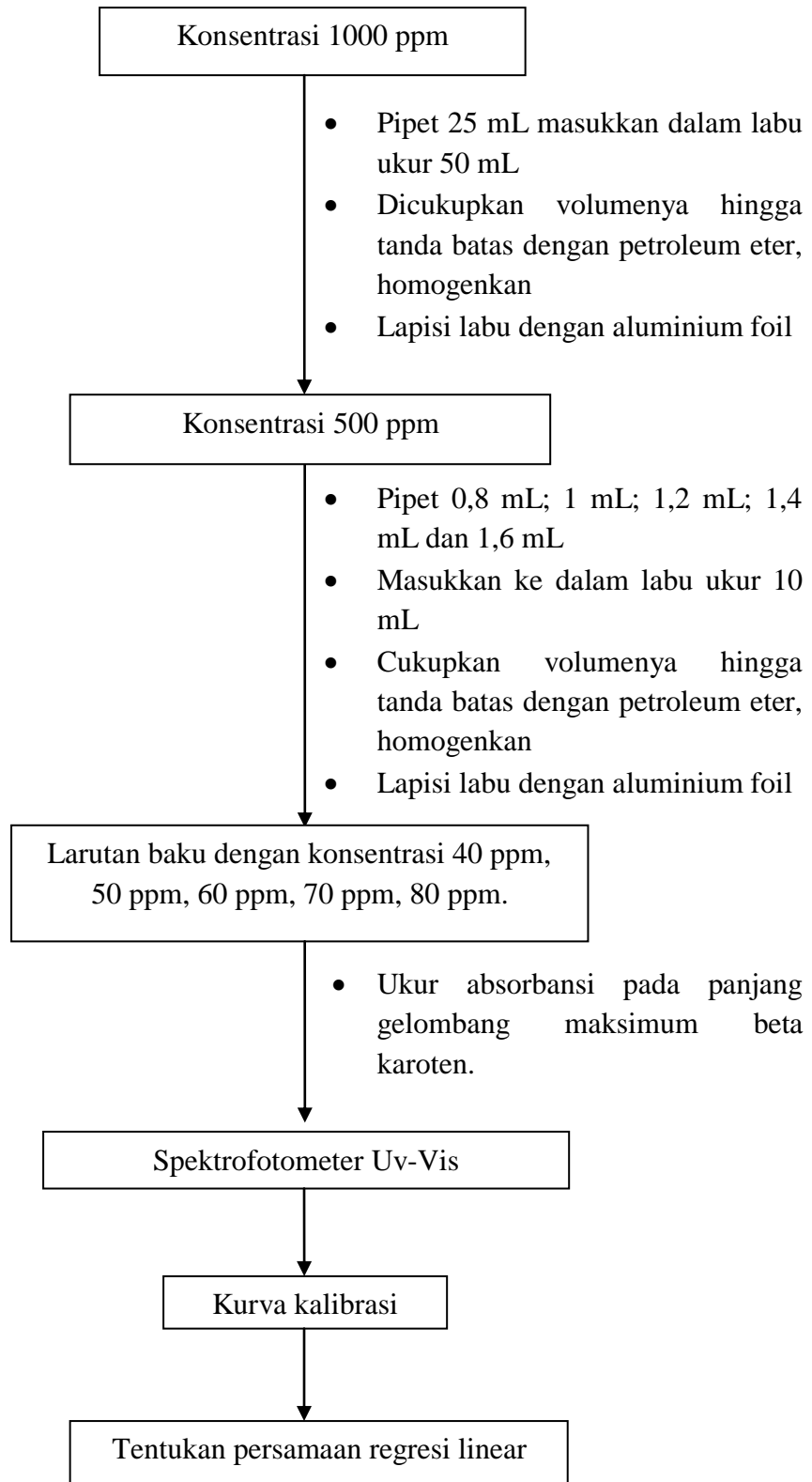
### Lampiran 5. Analisa Kuantitatif (Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten)



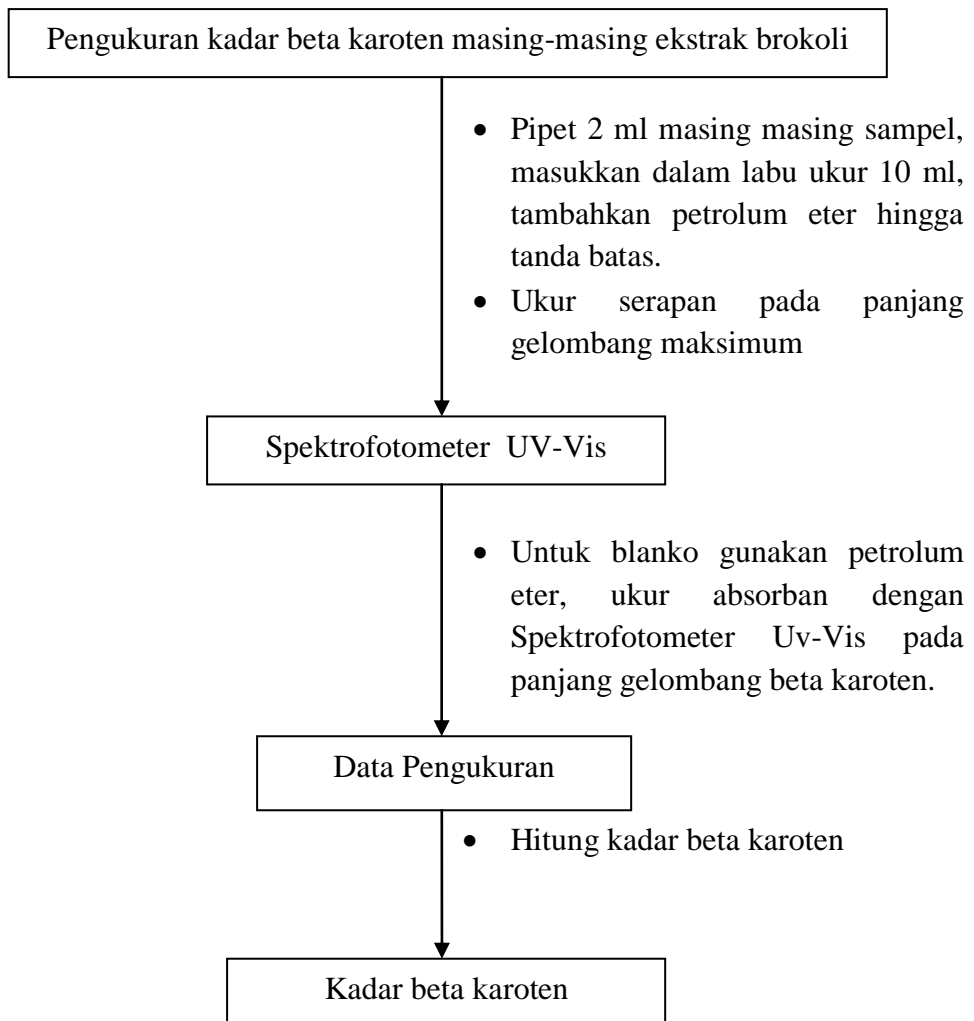
**Lampiran 6. Analisa Kuantitatif (Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten)**



### Lampiran 7. Analisa Kuantitatif (Pembuatan Kurva Kalibrasi Beta Karoten)



**Lampiran 8. Analisa Kuantitatif (Pengukuran Kadar Beta Karoten pada Sampel)**



## Lampiran 9. Perhitungan Rendemen Ekstrak Brokoli

**Tabel 5.** Hasil Rendemen Ekstrak Pengolahan Brokoli

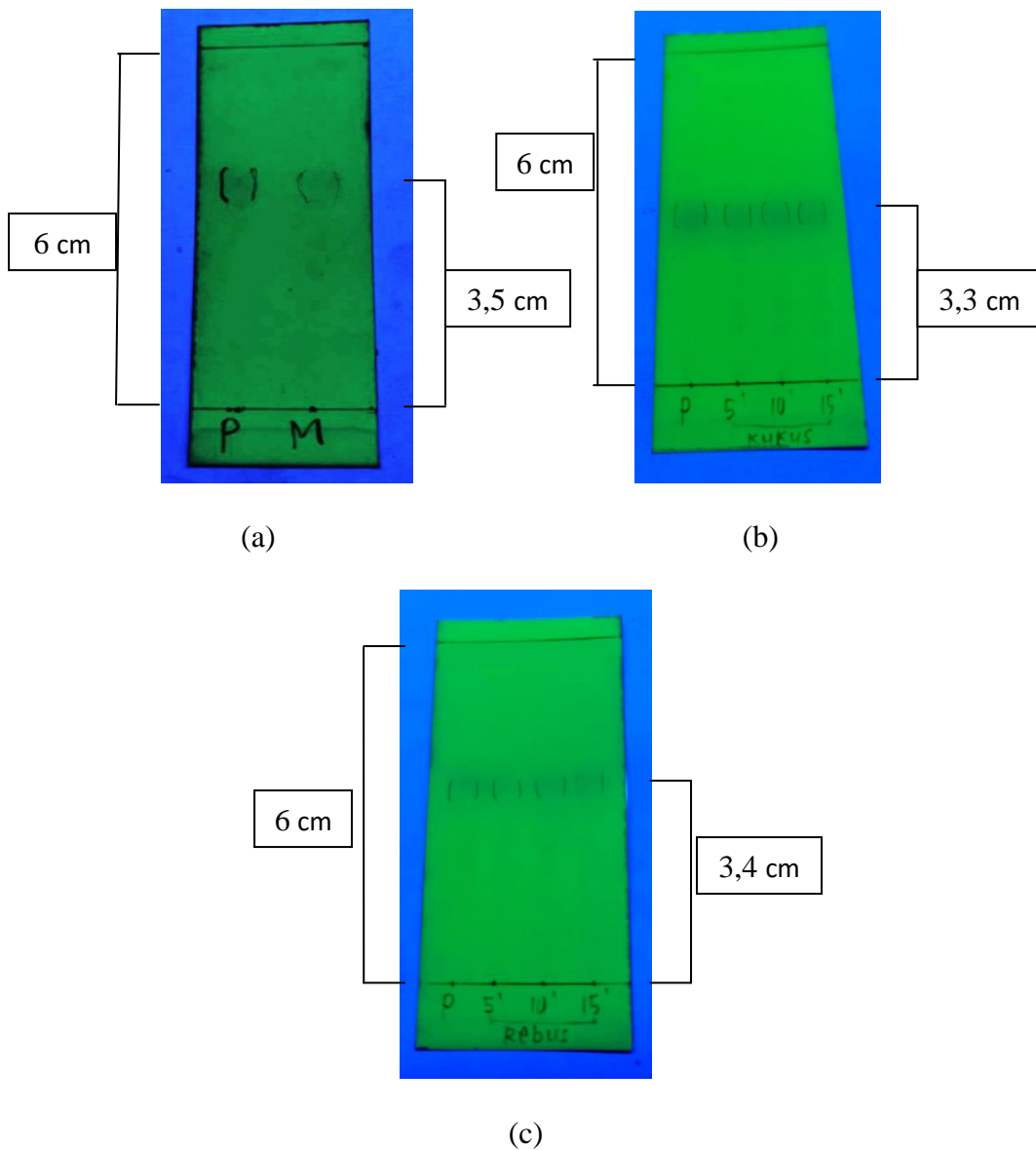
Pengolahan	Berat Ekstrak yang diperoleh (g)	Berat sampel segar (g)	Rendemen (%)
Mentah	3,738	50	7,476
Brokoli Kukus 5'	1,3384	50	2,6768
Brokoli Kukus 10'	2,0091	50	4,0182
Brokoli Kukus 15'	1,802	50	3,604
Brokoli Rebus 5'	1,8288	50	3,6576
Brokoli Rebus 10'	1,6164	50	3,2328
Brokoli Rebus 15'	1,9536	50	3,9072

Contoh Perhitungan Rendemen:

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{3,738 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7,476 \%\end{aligned}$$



## Lampiran 10. Hasil Analisa Kualitatif



**Gambar 6.** Analisa Kualitatif dengan Lampu UV 254

- (a). Pemandangan dan Brokoli mentah
- (b). Pemandangan dan Brokoli Kukus 5, 10 dan 15 menit
- (c). Pemandangan dan Brokoli Rebus 5, 10 dan 15 menit

## Lampiran 11. Perhitungan Hasil Uji Analisa Kualitatif

**Tabel 6.** Hasil Uji Analisa Kualitatif

No.	Sampel	Nilai Rf	Jumlah Noda	Nilai Rf pembanding
1.	Mentah	0,58	1	0,58
2.	Rebus 5 menit	0,56	1	0,56
3.	Rebus 10 menit	0,56	1	
4.	Rebus 15 menit	0,56	1	
5.	Kukus 5 menit	0,55	1	0,55
6.	Kukus 10 menit	0,55	1	
7.	Kukus 15 menit	0,55	1	

Contoh Perhitungan Nilai Rf :

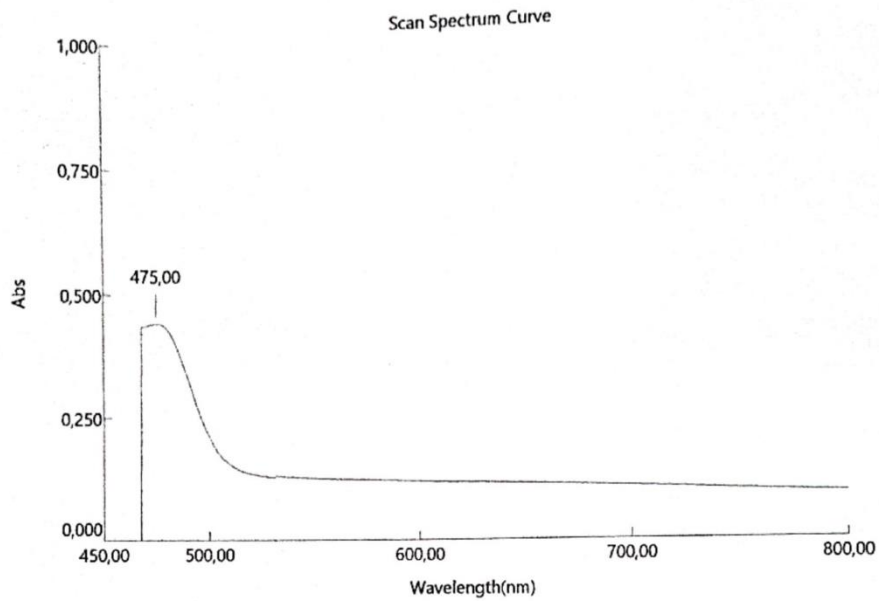
- Pembanding Beta Karoten Murni

$$\begin{aligned}\text{Nilai Rf} &= \frac{\text{Jarak yang di tempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \\ &= \frac{3,5 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} \\ &= 0,58\end{aligned}$$

- Brokoli mentah

$$\begin{aligned}\text{Nilai Rf} &= \frac{\text{Jarak yang di tempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \\ &= \frac{3,5 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} \\ &= 0,58\end{aligned}$$

## Lampiran 12. Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten



- **Instrument Performance**

Model : UV-VIS Spectrophotometer  
Number : 20-1950-21-0012  
Spectral Bandwidth : 2.00 nm

- **Scan Spectrum Performance**

Scan Range : 400.00 to 800.00 nm  
Measure Mode : Abs  
Interval : 1.00 nm  
Speed : Medium  
Data File : P, Gelombang.spd  
Create Date/Time : 02 Desember 2020 12:47:20  
Data Type : Original  
Method File:

- **Analyse Note**

Analyser : Administrator  
Sample Name :  
Comment :

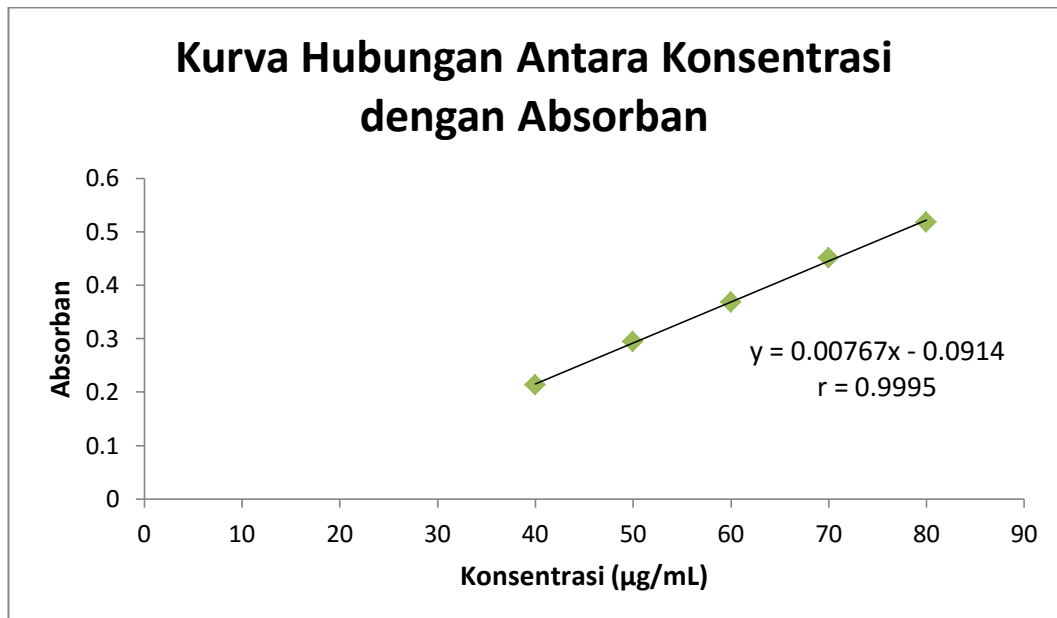
No.	P/V	Wavelength(nm)	Abs	Comment
1	Peak	475,00	0,368	

**Gambar 7.** Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten

### Lampiran 13. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan Absorban

Tabel 7. Data untuk Kurva Kalibrasi Beta Karoten

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorban
40	0,213
50	0,294
60	0,368
70	0,451
80	0,518



Gambar 8. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan Absorban

## Lampiran 14. Perhitungan Persamaan Regresi Linear

**Tabel 8.** Perhitungan Persamaan Regresi Linear

No.	Konsentrasi (x)	Absorban (y)	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>	x.y
1	40	0,213	1600	0,045369	8,52
2	50	0,294	2500	0,086436	14,7
3	60	0,368	3600	0,135424	22,08
4	70	0,451	4900	0,203401	31,57
5	80	0,518	6400	0,268324	41,44
Σ	300	1,844	19000	0,738954	118,31

Persamaan Regresi Linear:

$$Y = a + bX$$

Keterangan : Y = absorban

X = konsentrasi

a = intersep

b = koefisien regresi/slop

➤ Koefisien korelasi (r)

$$\begin{aligned}
 r &= \frac{n\sum xy - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{[(n\sum x^2 - (\sum x)^2)(n\sum y^2 - (\sum y)^2)]}} \\
 &= \frac{5 \cdot 118,31 - 300 \cdot 1,844}{\sqrt{[(5 \cdot 19000 - (300)^2)(5 \cdot 0,738954 - (1,844)^2)]}} \\
 &= \frac{591,55 - 553,2}{\sqrt{[(95000 - 90000)(3,69477 - 3,400336) ]}} \\
 &= \frac{38,35}{\sqrt{[(5000)(0,294434) ]}} \\
 &= \frac{38,35}{\sqrt{1.472,17}} \\
 &= \frac{38,35}{38,368} \\
 &= 0,9995
 \end{aligned}$$

➤ Koefisien regresi (b)

$$\begin{aligned} b &= \frac{n\sum xy - (\sum x \cdot \sum y)}{n\sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{5 \cdot 118,31 - (300 \cdot 1,844)}{5 \cdot 19000 - (300)^2} \\ &= \frac{591,55 - 553,2}{95000 - 90000} \\ &= \frac{38,35}{5000} \\ &= 0,00767 \end{aligned}$$

➤ Konstanta (a)

$$\begin{aligned} a &= \frac{\sum y - b \cdot \sum x}{n} \\ &= \frac{1,844 - 0,00767 \cdot 300}{5} \\ &= \frac{-0,457}{5} \\ &= -0,0914 \end{aligned}$$

Jadi persamaan regresi yang diperoleh adalah :

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0914 + 0,00767 x$$

**Lampiran 15. Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)**

**Tabel 9.** Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)

No	Konsentrasi (µg/mL)	Y	Yi	Y – Yi	( Y – Yi ) <sup>2</sup>
1	40	0,213	0,2154	-0,0024	0,00000576
2	50	0,294	0,2921	0,0019	0,00000361
3	60	0,368	0,3688	-0,0008	0,00000064
4	70	0,451	0,4455	0,0055	0,00003025
5	80	0,518	0,5222	-0,0042	0,00001764
<b>Total</b>					0,0000579
<b>N</b>					5
<b>SBr (µg/ml)</b>					0,004393
<b>BD (µg/ml)</b>					1,71825
<b>BK (µg/ml)</b>					5,7275

Keterangan :

Y = Nilai absorban terbaca

Yi = Nilai absorban perhitungan

Y-Yi = Selisih nilai absorban perhitungan dengan absorban terbaca

SBr = Simpangan baku residual

BD = Batas Deteksi (µg/ml)

BK = Batas Kuantisasi (µg/ml)

**1. Simpangan Baku Residual Kadar Beta Karoten pada Brokoli**

$$SBr = \sqrt{\frac{\sum(y-yi)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0,0000579}{5-2}} = 0,004393 \text{ µg/mL}$$

**2. Batas Deteksi (BD) Kadar Beta Karoten pada Brokoli**

$$BD = \frac{3 \times SBr}{slope (b)} = \frac{3 \times 0,004393}{0,00767} = 1,71825 \text{ µg/mL}$$

**3. Batas Kuantisasi (BK) Kadar Beta Karoten pada Brokoli**

$$BK = \frac{10 \times SBr}{slope (b)} = \frac{10 \times 0,004393}{0,00767} = 5,7275 \text{ µg/mL}$$

## Lampiran 16. Perhitungan Kadar Beta Karoten

**Tabel 10.** Hasil Kadar Beta Karoten Brokoli Mentah

Perhitungan	Brokoli Mentah		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,480	74,4980	74,498
2	0,477	74,1070	74,1069
3	0,479	74,3680	74,3677
$\Sigma$			222,9726
$\bar{X}$			74,3242
SD			0,1991
KV (%)			0,2678

**Tabel 11.** Hasil Kadar Beta Karoten Kukus 5 menit

Perhitungan	Brokoli Kukus 5 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,393	63,1550	63,1551
2	0,384	61,9820	61,9817
3	0,382	61,7210	61,7210
$\Sigma$			186,8578
$\bar{X}$			62,2859
SD			0,7640
KV (%)			1,2266

**Tabel 12.** Hasil Kadar Beta Karoten Kukus 10 menit

Perhitungan	Brokoli Kukus 10 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,343	56,6360	56,6362
2	0,352	57,8100	57,8096
3	0,355	58,2010	58,2008
$\Sigma$			172,6466
$\bar{X}$			57,5488
SD			0,8142
KV (%)			1,4147

**Tabel 13.** Hasil Kadar Beta Karoten Kukus 15 menit

Perhitungan	Brokoli Kukus 15 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,305	51,6820	51,6819
2	0,305	51,6820	51,6819
3	0,301	51,1600	51,1604
$\Sigma$			154,5242
$\bar{X}$			51,5081
SD			0,3010
KV (%)			0,5844



**Tabel 14.** Hasil Kadar Beta Karoten Rebus 5 menit

Perhitungan	Brokoli Rebus 5 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,271	47,2490	47,2490
2	0,268	46,8580	46,8579
3	0,272	47,3790	47,3794
	$\Sigma$		141,4863
	$\bar{X}$		47,1621
	SD		0,2714
	KV (%)		0,5755

**Tabel 15.** Hasil Kadar Beta Karoten Rebus 10 menit

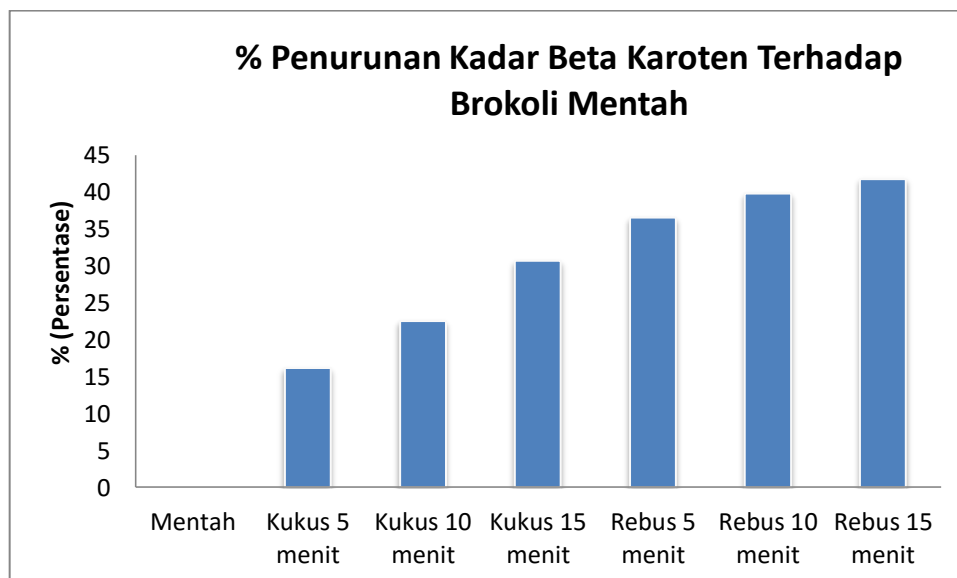
Perhitungan	Brokoli Rebus 10 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,249	44,3810	44,3807
2	0,253	44,9020	44,9022
3	0,253	44,9020	44,9022
	$\Sigma$		134,1851
	$\bar{X}$		44,7284
	SD		0,3010
	KV (%)		0,6729

**Tabel 16.** Hasil Kadar Beta Karoten Rebus 15 menit

Perhitungan	Brokoli Rebus 15 menit		
	Absorban	Cons ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ )
1	0,243	43,5980	43,5984
2	0,238	42,9470	42,9465
3	0,240	43,2070	43,2073
	$\Sigma$		129,7522
	$\bar{X}$		43,2507
	SD		0,3281
	KV (%)		0,7586

**Tabel 17.** Persentase Penurunan Kadar Beta Karoten Terhadap Brokoli Mentah

No.	Pengolahan	% Penurunan kadar beta karoten
1.	Mentah	0
2.	Kukus 5 menit	16,19
3.	Kukus 10 menit	22,57
4.	Kukus 15 menit	30,69
5.	Rebus 5 menit	36,54
6.	Rebus 10 menit	39,82
7.	Rebus 15 menit	41,81



### Contoh Perhitungan :

#### ➤ Kadar Beta Karoten Brokoli Mentah

1. 0,480

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0914 + 0,00767x$$

$$0,480 = -0,0914 + 0,00767x$$

$$x = \frac{0,480 + 0,0914}{0,00767}$$

$$x = 74,4980 \mu\text{g/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar} &= \frac{C \times FP \times V}{\text{Berat sampel}} \\ &= \frac{74,4980 \mu\text{g/ml} \times 10\text{mL} / 2\text{mL} \times 100 \text{ mL}}{50 \text{ g}} \\ &= \frac{37.249 \mu\text{g}}{50 \text{ g}} \\ &= 744,98 \mu\text{g/g} \\ &= 0,74498 \text{ mg/g} \\ &= 74,498 \text{ mg/100g} \end{aligned}$$

#### ➤ Perhitungan Standar Deviasi (SD)

$$\text{Rumus : SD} = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{n-1}}$$

Brokoli mentah

$$X_1 = 74,498$$

$$X_2 = 74,1069$$

$$X_3 = 74,3677$$

$$X \text{ rata-rata} = 74,3242$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(74,498-74,3242)^2 + (74,1069-74,3242)^2 + (74,3677-74,3242)^2}{3-1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{0,0793}{2}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{0,03965}$$

$$\text{SD} = 0,1991$$

#### ➤ KV (Koefisien Variasi)

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

$$= \frac{0,1991}{74,3242} \times 100\%$$

$$= 0,002678 \times 100\%$$

$$= 0,2678 \%$$

➤ **Persentase penurunan**

Brokoli kukus 5 menit

$$\begin{aligned}\% \text{ Penurunan} &= \frac{\text{Brokoli mentah} - \text{brokoli kukus 5 menit}}{\text{Brokoli mentah}} \times 100\% \\ &= \frac{74,3242 - 62,2859}{74,3242} \times 100\% \\ &= 16,19 \%\end{aligned}$$

## Lampiran 17. Hasil Analisa Statistik

**Tabel 18.** Hasil Statistik Anova Dua Arah

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Kadar Beta Karoten

Sampel	Pengolahan	Mean	Std. Deviation	N
Mentah	tanpa pengolahan	74,324200	0,1991457	3
	Total	74,324200	0,1991457	3
Kukus	5 menit	62,285933	0,7639235	3
	10 menit	57,548867	0,8142356	3
	15 menit	51,508067	0,3010882	3
	Total	57,114289	4,7139143	9
Rebus	5 menit	47,162100	0,2713932	3
	10 menit	44,728367	0,3010882	3
	15 menit	43,250733	0,3281132	3
	Total	45,047067	1,7302160	9
Total	tanpa pengolahan	74,324200	0,1991457	3
	5 menit	54,724017	8,2995177	6
	10 menit	51,138617	7,0435090	6
	15 menit	47,379400	4,5314888	6
	Total	54,401181	10,5979247	21

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar Beta Karoten

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2243,022 <sup>a</sup>	6	373,837	1587,093	,0001
Intercept	62143,669	1	62143,669	263825,523	,0001
Pengolahan	655,280	1	655,280	2781,935	,0001
Waktu	161,860	2	80,930	343,582	,0001
pengolahan * waktu	36,638	2	18,319	77,772	,0001
Error	3,298	14	,236		
Total	64395,578	21			
Corrected Total	2246,320	20			

## Lampiran 17. Lanjutan

### Kadar Beta Karoten

	Sampel	N	Subset		
			1	2	3
Duncan <sup>a,b,c</sup>	Rebus	9	45,047067		
	Kukus	9		57,114289	
	Mentah	3			74,324200
	Sig.		1,000	1,000	1,000

### Kadar Beta Karoten

	Pengolahan	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan <sup>a,b,c</sup>	15 menit	6	47,379400			
	10 menit	6		51,138617		
	5 menit	6			54,724017	
	tanpa pengolahan	3				74,324200
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Standardized Residual for hasil	0,142	21	0,200*	0,961	21	0,535

**Lampiran 17. Lanjutan**

**Tabel 19.** Hasil Statistik Anova Satu Arah Pada Pengolahan Brokoli Kukus

**Descriptives**

Pengolahan Kukus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5	3	62,285933	,7639235	,4410514	60,388242	64,183625	61,7210	63,1551
10	3	57,548867	,8142356	,4700992	55,526193	59,571540	56,6362	58,2008
15	3	51,508067	,3010882	,1738333	50,760122	52,256011	51,1604	51,6819
Total	9	57,114289	4,7139143	1,5713048	53,490854	60,737724	51,1604	63,1551

**ANOVA**

Pengolahan Kukus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175,093	2	87,547	196,409	,0001
Within Groups	2,674	6	,446		
Total	177,768	8			

**Pengolahan Kukus**

	waktu	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan <sup>a</sup>	15	3	51,508067		
	10	3		57,548867	
	5	3			62,285933
Sig.			1,000	1,000	1,000

**Lampiran 17. Lanjutan**

**Tabel 20.** Hasil Statistik Anova Satu Arah Pada Pengolahan Brokoli Rebus

**Descriptives**

Pengolahan Rebus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5	3		
10	3	44,728367	,3010882	,1738333	43,980422	45,476311	44,3807	44,9022
15	3	43,250733	,3281132	,1894362	42,435655	44,065812	42,9465	43,5984
Total	9	45,047067	1,7302160	,5767387	43,717105	46,377028	42,9465	47,3794

**ANOVA**

Pengolahan Rebus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23,405	2	11,703	129,089	,0001
Within Groups	,544	6	,091		
Total	23,949	8			

**Pengolahan Rebus**

	waktu	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan <sup>a</sup>	15	3	43,250733		
	10	3		44,728367	
	5	3			47,162100
	Sig.			1,000	1,000