

**PERBANDINGAN PENGGUNAAN PELARUT ORGANIK PADA ANALISIS KUANTITATIF
VITAMIN A DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI PADA PRODUK MAKANAN
RINGAN DARI BIJI MORINGA**

Eny Idayati¹, Kartiwan¹, Marthen Y. Saubaki¹

¹*Politeknik Pertanian Negeri Kupang Jalan Prof. Dr. Herman Johanes, Lasiana, Kec. Klp. Lima, Kota Kupang,
Nusa Tenggara Timur*
e-mail: eny.idayati@staff.politanikoe.ac.id

ABSTRAK

Makanan ringan dari biji moringa merupakan produk diversifikasi olahan pangan bernalih fungsional yang bersumber dari senyawa bioaktif terutama dari jenis flavonoid, fenol, triterpenoid, steroid, asam lemak, protein, serta kandungan vitamin A yang mencapai 25.000. Kecukupan vitamin A penting untuk kesehatan mata, kulit, dan sistem kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan mendapatkan pelarut organik yang tepat untuk mengidentifikasi secara kuantitatif kandungan vitamin A dengan metode spektrofotometri dalam produk makanan ringan biji kelor. Pelarut organik yang digunakan yaitu etanol dan aseton pro analisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar vitamin A dengan pelarut organik jenis etanol yaitu 30% dengan absorbansi 0,344, sedangkan aseton sejumlah 32% dengan nilai absorbansi 0,422.

Kata kunci : Makanan Ringan, Biji Moringa, Spektrofotometri, Pelarut Organik, Vitamin A

PENDAHULUAN

Beberapa penelitian terbaru membuktikan biji kelor diklaim sebagai sumber senyawa fungsional yang kaya nutrisi dan senyawa bioaktif diantaranya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat, dan triterpenoida/steroida (Ikalinus *et al*, 2015) sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat. Senyawa fungsional biji kelor terdiri dari 35% w/w minyak (Kurniaty *et al.*, 2018) yang mengandung 82% asam lemak tidak jenuh, 70% asam oleat yang profilnya sama dengan seperti minyak zaitun kecuali untuk asam linoleate (Tsaknis *et al*, 1998), juga terdapat asam askorbat, sterol, tocopherol dan flavonoid (Tsaknis *et al*, 1998; Lallas dan Tsaknis, 2022). Lebih lanjut kadar protein biji kelor mencapai 35,97% (Olagbemide *et al*, 2014) lebih tinggi dari bagian lain seperti daun atau bunga sehingga berpotensi menjadi pangan alternatif sumber protein yang layak dikembangkan untuk pemenuhan kebutuhan protein nabati. Namun dari hasil riset tahun 2021, bahwa akibat proses selama pengolahan snack bar yang difortifikasi oleh 100% biji kelor menghasilkan data penurunan aktivitas antioksidan, total fenolik, dan vitamin C mencapai 60% pada produk akhir.

Salah satu vitamin yang cukup resisten terhadap pengolahan suhu tinggi yaitu vitamin A, dimana kandungannya dalam biji kelor dapat bervariasi tergantung pada jenis biji kelor, metode pengolahan, dan kondisi penyimpanan. Menurut Mbah dkk (2012) dalam penelitian bahwa kadar pro vitamin A dalam biji kelor kering yaitu 1.500-3.000 IU vitamin A per 100 gram. Hal ini setara dengan sekitar 30-60% dari kebutuhan vitamin A harian orang dewasa. Vitamin A merupakan salah satu vitamin yang penting bagi kesehatan mata, kulit, dan sistem kekebalan tubuh.

Kandungan vitamin A pada biji kelor sebagian besar berasal dari beta-karoten. Beta-karoten merupakan karotenoid yang dapat diubah menjadi vitamin A di dalam tubuh (Novamda *et al*, 2022). Selain beta-karoten, biji kelor juga mengandung sejumlah kecil retinol, bentuk vitamin A yang sudah aktif. Untuk mendapatkan manfaat vitamin A dari biji kelor, biji kelor dapat dikonsumsi langsung, diolah

menjadi tepung, atau diolah menjadi minyak. Biji kelor juga dapat difortifikasi ke dalam berbagai makanan, seperti makanan ringan sehingga lebih nyaman dan praktis untuk dikonsumsi.

Beberapa vitamin terlarut dalam lemak salah satunya yaitu Vitamin A (Youness *et al*, 2022). Oleh karena itu, pelarut organik yang digunakan untuk analisis kuantitatif vitamin A harus bersifat polar. Pelarut organik yang sering digunakan untuk analisis kuantitatif vitamin A antara lain: Etil asetat, Kloroform, metanol, dan aseton. Pemilihan pelarut organik yang tepat untuk analisis kuantitatif vitamin A perlu mempertimbangkan beberapa faktor, antara lain: a) Klarifikasi sampel, sampel yang mengandung lemak, protein, atau karbohidrat dapat menyebabkan terjadinya absorpsi sinar ultraviolet pada panjang gelombang yang sama dengan vitamin A. Pelarut organik yang memiliki polaritas tinggi dapat membantu mengklarifikasi sampel sehingga dapat meningkatkan sensitivitas analisis; b)stabilitas vitamin A, pelarut organik yang dapat menjaga stabilitas vitamin A dapat meningkatkan presisi analisis, serta c) tersedia dengan mudah dan memiliki harga yang terjangkau dapat meningkatkan efisiensi analisis.

Berdasarkan faktor-faktor tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil terbaik pengujian vitamin A dengan spektrofotometer pada makanan ringan dari biji kelor dengan menggunakan pelarut organik metanol dan aseton, yang merupakan pelarut organik yang paling sering digunakan untuk analisis kuantitatif vitamin A. Keduanya memiliki polaritas yang baik sehingga dapat membantu mengklarifikasi sampel, juga dapat menjaga stabilitas vitamin A dan tersedia secara luas serta memiliki harga yang terjangkau.

METODE PENELITIAN

Tahapan Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengawasan Mutu Pangan Jurusan Tanaman Pangan dan Hortikultura Politeknik Pertanian Negeri Kupang.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : perangkat gelas laboratorium, spektrofotometer UV Vis DLAB SP-UV1000 range 200-1000 nm, kuvet, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, aluminium foil, dan botol pembilas.

Bahan

Makanan ringan berbasis biji kelor diperoleh dari biji kelor, *rice crispy*, kacang tanah, tomat kering yang dirakatkkan dengan madu melalui proses pengeringan pada suhu 130°C selama 30 menit. Bahan kimia untuk analisis antara lain β -karoten p.a (Sigma), ethanol p.a (Sigma), aseton p.a (E Merck), kertas saring, dan kertas aluminuim foil.

Analisis Vitamin A Metode Spektrofotometri

1. Pembuatan Larutan Baku β -karoten 50 ppm

Pembuatan 1000 ppm dengan penimbangan 5 mg β -karoten p.a ditambahkan sesuai jenis perlakuan pelarut organik dalam labu takar 5 ml. Kemudian ditambahkan etanol dalam labu takar 100 ml untuk mendapat 50 ppm.

2. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ_{\max})

Pipet 1 ml dari larutan baku β -karoten 50 ppm dimasukkan ke labu ukur 10 mL (5 ppm) dan ditambahkan pelarut organik hingga 10 ml. Serapan kemudian diukur dengan Spektrofotometri UV Vis pada panjang gelombang dari 380 sampai 780 nm.

3. Penetapan Kurva Baku

Sejumlah 0,5 ml; 1 ml; 1,5 ml; 2 ml dan 2,5 ml diukur dari larutan induk β -karoten 50 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL kemudian tambahkan pelarut organik sampai tanda tera sehingga diperoleh konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm.

4. Penetapan Kadar β -karoten pada makanan ringan berbasis biji kelor

Timbang 10 mg ekstrak makanan ringan berbasis biji kelor campurkan dengan pelarut organik pada labu takar 5 mL. Pipet 0,5 mL dan tambah pelarut organik dalam labu takar 50 mL. Selanjutnya, serapan diukur dengan Spektrofotometri Visibel pada λ_{\max} dengan jenis perlakuan pelarut organik sebagai blangko. Selanjutnya, kadar beta-karoten pada sampel dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier: $Y=bX+a$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

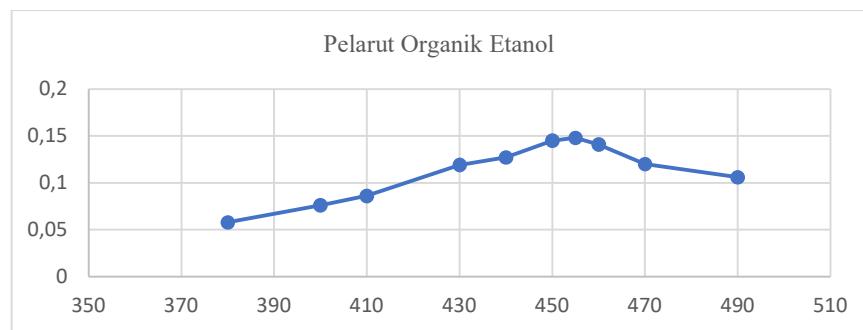
1. Hasil Preparasi Sampel

Dalam penelitian ini, sampel makanan ringan diekstraksi menggunakan corong pisah. Sampel dihaluskan, lalu diambil 100 gram dan diekstraksi dengan 100 ml heksan, 50 ml aseton, dan 50 ml etanol. Sampel wortel kemudian diuapkan pada *waterbath* pada suhu 40 derajat Celcius untuk membentuk ekstrak kental. Hasilnya adalah 1,2 gram ekstrak.

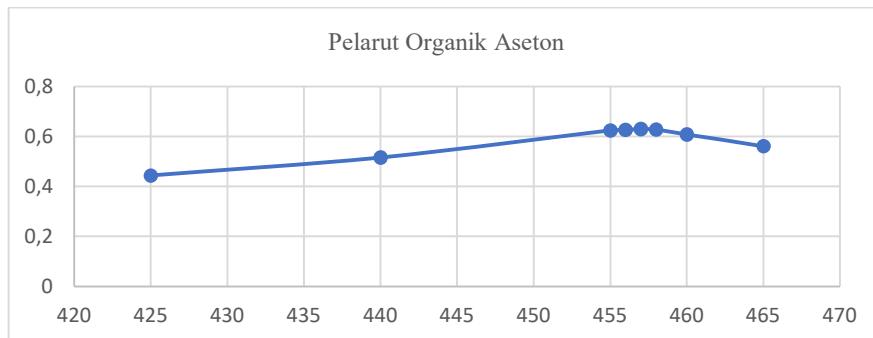
2. Hasil Pengujian Vitamin A

a. Penentuan Panjang Gelombang maksimum

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum pada perlakuan pelarut organik yaitu etanol dan aseton dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Panjang Gelombang maksimum dengan pelarut Etanol



Gambar 2. Panjang Gelombang maksimum dengan pelarut Aseton

Panjang gelombang maksimum pada uji vitamin A menggunakan pelarut organik menggunakan ethanol yaitu di 456 nm sedangkan untuk aseton yaitu di 457 nm.

b. Data Persamaan Regresi

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran serapan β -karoten maksimal oleh pelarut organik ethanol dan aseton dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Absorbansi Pada Panjang Gelombang Maksimal

Konsentrasi Larutan	Nilai Absorbansi Larutan	
	Ethanol	Aseton
5	0,212	0,292
10	0,310	0,521
15	0,392	0,768
20	0,486	1,003
25	0,561	1,224

Dari data absorbansi pada panjang gelombang maksimal yaitu 456 nm untuk pelarut organik ethanol menghasilkan persamaan regresi linier yaitu $0,0175x + 0,13$ dengan nilai $R^2 = 0,9983$ Sedangkan 457 nm sedangkan untuk pelarut aseton dengan persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0469x + 0,0578$ dengan nilai $R^2 = 0,9997$. Dari data Koefisien korelasi (R) = $0,990 \leq r \leq 1$ menunjukkan bahwa serapan memiliki nilai yang positif.

3. Pengujian Kandungan β -karoten

Kadar β -karoten pada makanan ringan berbasis biji kelor diukur dengan metode spektrofotometri visibel, dengan pengulangan tiga kali pada setiap sampel. Nilai absorbansi makanan ringan berbasis biji kelor dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Kadar β -karoten Pada Pengukuran kadar vitamin A

Sampel	ppm (Ethanol)	ppm (Aseton)
Ulang 1	24,34	10,13

Ulang 2	25,31	12,09
Ulang 3	25,89	9,71
Rata-rata	24,825	11,11

Dari Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pada pengujian vitamin A dengan perlakuan pelarut organik dengan hasil kandungan β -karoten tertinggi terdapat pada perlakuan pelarut organik jemis ethanol yaitu rata-rata 24,83 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa pelarut ethanol memiliki sifat polar sehingga dapat melarutkan vitamin A secara sempurna. Vitamin A merupakan senyawa yang bersifat semipolar sehingga membutuhkan pelarut yang bersifat polar untuk dapat larut sempurna serta stabilitas vitamin A dalam terjaga dengan baik yang disebabkan karena ethanol bersifat asam lemah sehingga dapat menghambat oksidasi sampel. Selain itu Ethanol tidak bersifat toksik dan tidak mudah terbakar, sehingga lebih efesien dalam waktu analisis seperti yang dilaporkan oleh Goudarzi, *et al* (2015) . Hal ini disebabkan karena ethanol memiliki titik didih yang lebih tinggi sehingga lebih sulit untuk diuapkan. Sedangkan pada pelarut organik aseton bersifat semipolar, sedangkan vitamin A merupakan senyawa yang bersifat nonpolar sehingga tidak dapat melarutkan vitamin A secara sempurna. Hal ini dapat menyebabkan hasil analisis vitamin A menjadi tidak akurat. Aseton juga bersifat basa, sedangkan vitamin A merupakan senyawa yang rentan terhadap oksidasi. Oleh karena itu, aseton dapat mengoksidasi vitamin A dan menyebabkan penurunan kadar vitamin A, juga menjadi pertimbangan juga karena sifatnya yang beracun dan mudah terbakar. Perbedaan penggunaan pelarut organik untuk mengekstraksi vitamin A dari sampel sangat berpengaruh terhadap perhitungan akhir kadar vitamin A produk (Ucak *et al*, 2022).

KESIMPULAN

Ethanol dan aseton keduanya dapat digunakan untuk analisis kuantitatif vitamin A dengan metode spektrofotometri. Namun untuk pengujian vitamin A pada makanan ringan berbasis biji kelor, terbukti pelarut ethanol lebih efektif dengan hasil pengukuran lebih tinggi dibandingkan pelarut aseton.

DAFTAR PUSTAKA

- Mbah, B.O., Eme, P.E., and Ogbusu, O.F. 2012. Effect of Cooking Methods (Boiling and Roasting) on Nutrients and Anti-nutrients Content of *Moringa oleifera* Seeds. *Pakistan Journal of Nutrition* 11 (3): 211-215, 2012
- Goudarzi, N., Farsimadan, S., Arab Chamjangali, M., & Bagherian, G. A. 2015. Development of coupled ultrasound-assisted and reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction before high-performance liquid chromatography for the sensitive determination of vitamin A and vitamin E in oil samples. *Journal of Separation Science*, 38(18), 3254–3261. doi:10.1002/jssc.201500522.
- Ikalinus, R. K., Sri, W., Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. Bali. 4 (1) : 71 – 79.
- Kurniaty, I., Febriyanti, Y., Septian, R. (2018). Isolasi Protein Biji Kelor (*Moringa Oleifera*) Menggunakan Proses Hidrolisis. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta.

- Lalas, S., Tsaknis, J. (2002). Extraction and Identification of Natural Antioxidants from the seeds of *Moringa oleifera* tree variety of Malawi. Journal Am. Oil Chem. Soc., 79: 677-683.
- Nofanda, Indra Wahyu Ismi Dwi. 2022. Skrining Fitokimia Dan Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Metode DPPH. thesis, Universitas dr. SOEBANDI.
- Olagbemide, P.T., Philip, C.N.A. (2014). Proximate Analysis and Chemical Composition of Raw and Defatted *Moringa oleifera* Kernel. Advances in Life Science and Technology, 24, 92-99.
- Tsaknis, J., Lalas, S., Gergis, V., Spiliotis,V. (1998). A total characterization of *Moringa oleifera* Malawi seed oil. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, 75, 21–27.
- UÇAK, I., Khalily, R. 2022. Effects of Different Solvent Extractions on the Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Lemon and Orange Peels. Eurasian Journal of Food Science and Technology 2022; Vol:6, Issue:1, pp:23-28.
<https://dergipark.org.tr/en/pub/ejfst/issue/71094/1125291>
- Youness, A. R., Dawoud, A., ElTahtawy, O., Farag, A. M. 2022. Fat-soluble vitamins: updated review of their role and orchestration in human nutrition throughout life cycle with sex differences. Youness et al. Nutrition & Metabolism. <https://doi.org/10.1186/s12986-022-00696-y>