



Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)
dengan Berbagai Komposisi Pelarut

SKRIPSI

Oleh

ARIFULLOH
071810301092

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013



**Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)
dengan Berbagai Komposisi Pelarut**

SKRIPSI

**Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Progran Studi Kimia (S1)
dan gelar sarjana Sains**

Oleh

**ARIFULLOH
071810301092**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Dengan segenap ketulusan hati, skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Sumo dan Ibunda Buni tercinta, terima kasih atas kasih sayang, dukungan, bimbingan dan doanya dengan tulus ikhlas;
2. Nenek tersayang Sura'i, terima kasih atas doa, dukungan dan semangatnya;
3. Bapak Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA UNEJ yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
4. almamater tercinta Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

*(Hai orang-orang muslim) kamu adalah sebaik-baiknya ummat, kamu diutus
(untuk memberi manfaat) kepada manusia..... . (Qs. Ali Imran ayat 110)*

*“Yakinlah hanya pada yang terbaik, berpikir sebaik-baiknya, belajar sebaik-baiknya,
miliki tujuan terbaik yang mungkin bagi Anda, jangan pernah puas kecuali
oleh hasil terbaik, berusaha sebaik-baiknya, dan pada akhirnya
segalanya akan memberikan hasil terbaik,
selalu bermakna terbaik”*

(Henry Ford)**

*) Yusuf, saad. 2004. *Munthakhab Ahadits: Tuntunan Sifat-Sifat Mulia Sahabat Nabi Saw.*

**) Asyirint, Gustaf. 2010. *Langkah Cerdas menjadi Guru Sejati Berprestasi.* Yogyakarta: Bahtera Buku.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Arifulloh

NIM : 071810301092

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul *Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (Lycopersicum esculentum Mill.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 5 Februari 2013

Yang menyatakan,

Arifulloh

NIM 071810301092

SKRIPSI

**EKSTRAKSI LIKOPEN DARI BUAH TOMAT (*LYCOPERSICUM
ESCULENTUM MILL.*) DENGAN BERBAGAI
KOMPOSISI PELARUT**

Oleh

ARIFULLOH
071810301092

PEMBIMBING

Dosen pembimbing utama : Ika Oktavianawati S.Si, M.Sc
Dosen pembimbing anggota : I Nyoman Adi Winata S.Si, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (Lycopersicum esculentum Mill.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut* telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Ika Oktavianawati S.Si, M.Sc

I Nyoman Adi Winata S.Si, M.Si

NIP 198010011200312001

NIP 197105011998021002

Penguji 1,

Penguji 2,

Ir. Neran M.Kes

Drs. Mukh. Mintadi

NIP 194808071974121003

NIP 1964102619911031001

Mengesahkan

Dekan,

Prof. Drs. Kusno DEA., Ph.D.

NIP 1961101081986021001

RINGKASAN

Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut, Arifulloh, 071810301092; 2013; 38 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Likopen merupakan suatu hidrokarbon poliena dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh, mempunyai 13 ikatan rangkap, 11 diantaranya ikatan rangkap terkonjugasi yang tersusun linier. Keberadaan ikatan rangkap terkonjugasi, menjadikan likopen sebagai antioksidan yang baik.. Disamping itu, pemanfaatan buah tomat pasca panen sampai saat ini masih belum teroptimalkan karena buah tomat merupakan buah yang mudah busuk padahal buah tomat mengandung likopen paling banyak dibandingkan buah lainnya. Oleh karena itu, buah tomat yang tidak termanfaatkan dapat digunakan sebagai sumber likopen.

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap. Tahap pertama dilakukan ekstraksi likopen dari buah tomat menggunakan pelarut campuran n-heksana:aseton:metanol (1:2:1; 1:1:1; 2:1:1) dan campuran petroleum eter:aseton (3:1). Tahap kedua dilakukan optimasi eluen menggunakan KLT. Eluen yang digunakan antara lain, yaitu n-heksana, PE, n-heksana:PE (2:1), dan PE:Aseton (8:2). Tahap ketiga dilakukan pemisahan ekstrak kasar likopen yang diperoleh menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Tahap keempat dilakukan analisa secara kualitatif yaitu, hasil pemisahan diukur menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 400-700 nm .

Hasil optimasi eluen menggunakan KLT diperoleh pelarut n-heksana:PE (2:1) sebagai pelarut optimum karena proses pemisahannya spotnya baik dengan R_f yang besar. Hasil tersebut digunakan pada proses pemisahan likopen selanjutnya. Hasil analisa secara kualitatif menunjukkan bahwa likopen dapat dipisahkan dari senyawa pengotornya dengan menggunakan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana:PE (2:1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut n-heksana:aseton:metanol dengan komposisi 1:2:1 mampu mengekstrak likopen paling optimal.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk memenuhi pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak akan sempurna tanpa bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis akan menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Drs. Kusno DEA., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Drs. Achmad Sjaifullah M.Sc., Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Ika Oktavianawati S.Si, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Utama yang dengan sabar membimbing, memberikan semangat, motivasi, dan waktu kepada penulis dari awal sampai akhir penyelesaian skripsi ini;
4. I Nyoman Adi Winata S.Si., M.Si, selaku Dosen Pembimbing Anggota, terimakasih atas motivasi dan masukan-masukannya;
4. Ir. Neran M.Kes., selaku Dosen Penguji I dan Drs. Mukh Mintadi, selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Drs. Siswoyo M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik.
6. Teknisi Laboratorium Kimia Organik (Mas Darma) dan Laboratorium Biokimia (Mas Dul) Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang telah membantu dalam penyediaan alat dan bahan analisis;
7. Teman-teman di laboratorium Kimia Organik (Rulita angkatan 2006; Nungki, Ifa, Umi, Badri, Amy, Vici, Norma, Fiefi, Ika, Susi, Ratih, dan Aletiana angkatan 2007; Alviona, Meime, Dodik angkatan 2008) yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, terimakasih untuk bantuan, motivasi dan kerja samanya;
8. Akhi Rohim yang selalu memotivasi dari awal sampai akhir penyelesaian skripsi ini;

9. Teman-teman Baitusshalihin yang telah membantu dan memberikan dukungan serta motivasi dari awal sampai akhir penyelesaian skripsi ini;
10. teman-teman seperjuangan “Chemistry AK27”;
11. Adik-adik angkatan 2009, 2010 dan 2011;
12. semua pihak yang banyak membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari dalam skripsi ini masih terdapat kekurangan, sehingga penulis menerima segala kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi ilmu pengetahuan.

Jember, Februari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.)	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Tomat.....	5
2.1.2 Kandungan Kimia Buah Tomat.....	6
2.1.3 Manfaat Buah Tomat.....	6
2.2 Karotenoid	7
2.3 Likopen	8
2.4 Metode Pemisahan Likopen dalam Buah Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.)	9
2.5.1 Ekstraksi Likopen dengan Metode Maserasi.....	9
2.5.2 Kromatografi Kolom Gravitasi.....	10

2.6 Spektroskopi UV-Vis	11
2.6.1 Hukum Lambert-Beer.....	12
2.6.2 Spektroskopi UV-Vis Karotenoid.....	13
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2 Bahan dan Alat	15
3.2.1 Bahan Kimia.....	15
3.2.2 Bahan Sampel.....	15
3.2.3 Alat.....	15
3.3 Diagram Penelitian	16
3.4 Prosedur Kerja	17
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	17
3.4.2 Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i> Mill.).....	17
3.4.3 Optimasi Eluen dengan KLT.....	17
3.4.4 Pemisahan Likopen dari Ekstrak Likopen.....	18
3.4.5 Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometer Visibel.....	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i> Mill.)	19
4.2 Optimasi Eluen Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis ...	20
4. 3 Pemisahan Likopen dari Ekstrak Likopen dengan Kromatografi Kolom Gravitasi	21
4.4 Analisa Kualitatif Likopen	22
4.5 Optimasi Komposisi Pelarut Ekstraksi	24
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi bahan penyusun buah tomat	6
2.2 Konstanta dielektrikum dan indek polaritas pelarut	10
2.3 Urutan kepolaran eluen, elusi senyawa dan kekuatan adsorben dalam kromatografi	11
4.1 Hasil optimasi eluen KLT untuk ekstrak kasar likopen dari buah tomat	21
4.2 Fraksi dan warna visualisasinya	22
4.3 Urutan kepolaran pelarut ekstraksi likopen dari buah tomat	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah tomat varietas merah	5
2.2 Beberapa contoh senyawa karotenoid	7
2.3 Struktur likopen	8
2.4 Kurva kalibrasi dalam metode spektrometri	12
2.5 Transisi elektronik akibat energy elektromagnetik	13
2.6 Absorpsi sinar tampak dari likopen, γ -karoten, β -karoten, dan α -karoten dalam petroleum eter	14
3.1 Prosedur analisis KLT	16
4.1 Hasil KLT ekstrak kasar likopen pada beberapa jenis eluen	19
4.2 Absorpsi sinar tampak spektrum likopen standar dalam petroleum eter	23
4.3 Absorpsi sinar tampak spektrum fraksi likopen dalam petroleum eter	23
4.4 Absorbansi likopen pada berbagai variasi komposisi pelarut	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data kadar likopen pada variasi komposisi pelarut	31
B. Spektrum absorpsi fraksi likopen dari sampel buah tomat	32
C. Uji keabsahan buah tomat	33

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan likopen sebagai bahan pangan telah banyak menarik minat produsen akhir-akhir ini, baik industri pangan maupun industri farmasi. Pada industri makanan, likopen dimanfaatkan sebagai pewarna alami, sesuai sifat alaminya sebagai pemberi warna merah alami pada buah-buahan sedangkan dalam industri farmasi, likopen yang mana memiliki aktivitas antioksidan tinggi dapat dijadikan sebagai suplemen makanan baik dalam bentuk tablet maupun bubuk. Likopen merupakan suatu hidrokarbon poliena dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh, mempunyai 13 ikatan rangkap, 11 diantaranya ikatan rangkap terkonjugasi yang tersusun linier. Keberadaan ikatan rangkap terkonjugasi, menjadikan likopen sebagai antioksidan yang baik. Kekuatan antioksidan likopen sebagai penangkap singlet oksigen adalah dua kali lipat dari β -karoten (Bohm et al., 2002) dan sepuluh kali lipat dari α -tokoferol (Shi dan Maguer, 2000).

Penggunaan likopen yang meluas tersebut menyebabkan kebutuhan likopen semakin bertambah. Namun hal ini tidak diimbangi dengan stok likopen yang tersedia. Disamping itu, pemanfaatan buah tomat pasca panen sampai saat ini masih belum teroptimalkan karena buah tomat merupakan buah yang mudah busuk padahal buah tomat mengandung likopen paling banyak dibandingkan buah lainnya. Oleh karena itu, buah tomat yang tidak termanfaatkan dapat digunakan sebagai sumber likopen.

Kandungan likopen banyak terdapat pada bagian daging buah tomat. Berdasarkan biosintesisnya, likopen terbentuk melalui siklus asam mevalonat yang terjadi di dalam sitosol dan deoksisilolusa fosfat yang terjadi di dalam kloroplas dan kromoplas (Dewick, 2001). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang tepat untuk mengeluarkan likopen tersebut. Ada dua metode ekstraksi likopen yang umum dari buah tomat yaitu metode ekstraksi kering dan metode ekstraksi basah. Metode kering pada ekstraksi likopen mempunyai prinsip bahwa mengeluarkan likopen dan zat yang terlarut dalam lemak (senyawa non

polar) tersebut dari sampel yang telah kering benar dengan menggunakan pelarut anhydrous. Keuntungan dari metode kering ini, pengerjaan menjadi amat sederhana, bersifat universal, dan mempunyai ketepatan yang baik. Kelemahannya membutuhkan proses yang lama dan adanya zat lain yang ikut terekstrak sebagai likopen.

Metode basah yang umum digunakan pada ekstraksi likopen yaitu maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel basah dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, menyebabkan larutan yang pekat di dalam sel didesak keluar. Keuntungan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, perlakuan tanpa pemanasan sehingga kerusakan analit oleh adanya panas dapat diminimalisir, sedangkan kerugiannya yakni membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna.

Pada penelitian kali ini ekstraksi likopen menggunakan metode basah, yaitu buah tomat dijadikan jus kemudian direndam dalam larutan metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh akan di ekstraksi kembali dengan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut campuran. Penggunaan jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi likopen dari buah tomat sangat penting karena likopen yang sifat kepolarannya rendah harus bisa larut secara sempurna kedalam pelarut ekstraksi tersebut. Oleh karena itu, kepolaran pelarut harus mendekati kepolaran likopen.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Maulida dan Naufal (2010) konsentrat likopen telah berhasil diekstraksi dari buah tomat dengan metoda ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut campuran n-heksana, aseton, dan etanol dengan kadar 5,14 mg/100 g. Sedangkan Fitri (2007) telah berhasil mengisolasi likopen dari buah tomat menggunakan metode kromatografi kolom alumina dan eluen petroleum eter dengan kadar 30 mg/g berat bahan.

Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan penggunaan pelarut campuran n-heksana-aseton-metanol untuk mengekstrak likopen belum pernah diteliti sebelumnya, melalui perbandingan yang optimum pada pelarut campuran

tersebut diharapkan partisi akan menjadi lebih sempurna, likopen dan sebagian kecil karotenoid hidrokarbon lainnya akan terekstrak ke dalam pelarut non polar (n-heksana-aseton) sedangkan senyawa xanthin dan senyawa polar lainnya akan terekstrak ke dalam pelarut polar (metanol).

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan yang ingin dipelajari dalam penelitian ini, yaitu berapa perbandingan komposisi optimal pelarut campuran pada ekstraksi likopen dari buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan permasalahan dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Sampel buah tomat diperoleh dari pasar Tanjung, Jember.
- b. Jenis buah tomat yang digunakan adalah tomat buah varietas merah (*Lycopersicum esculentum* Mill.).
- c. Pemisahan pigmen menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60.
- d. Pelarut ekstraksi yang digunakan adalah pelarut campuran n-heksana : aseton : metanol dengan perbandingan berturut-turut adalah 2:1:1; 1:2:1; 1:1:1 dan petroleum eter-aseton (3:1)
- f. Analisa kualitatif likopen menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah menentukan perbandingan komposisi pelarut campuran optimal pada ekstraksi likopen dari buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).

1.5 Manfaat Penelitian

Kebutuhan likopen dalam bidang kimia farma dan penelitian-penelitian ilmiah yang berhubungan dengan aktivitas likopen sangat tinggi sementara stok likopen dalam bentuk kristal masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan sebagai langkah awal untuk produksi kristal likopen.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

2.1.1 Taksonomi Tanaman Tomat

Sistematika tanaman tomat menurut para ahli botani adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiosperma
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Tubiflorae
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Lycopersicum</i>
Spesies	: <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.

Varietas buah tomat yang ada di Indonesia adalah varietas Intan, Ratna, Berlian, Merah, Mutiara, Moneymaker, Precious F1 hybrid (TW-375), varietas Farmers 209 F1 hybrid (TW-369), dan varietas Sugar Pearl F1 hybrid (TW-373). Penamaan tersebut merupakan penamaan resmi dikeluarkan pemerintah, sedangkan nama-nama lain yang sering dipakai dalam perdagangan diantaranya adalah tomat biasa, tomat apel, tomat kentang, dan tomat keriting (Setiawan,1994).



Gambar 2.1 Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

2.1.2 Kandungan Kimia Buah Tomat

Buah tomat merupakan sayuran yang kaya akan berbagai senyawa antioksidan seperti likopen, β -karoten, lutein, vitamin C, flavonoid, dan vitamin E. Adapun komposisi dan kandungan nutrisi buah tomat dapat dilihat pada table 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi bahan penyusun buah tomat.

Bahan penyusun	Kandungan zat gizi/100 g b.d.d*
Protein (g)	1,00
Lemak (g)	0,30
Karbohidrat (g)	4,20
Kalsium (mg)	5,00
Fosfor (mg)	57,00
Zat besi (mg)	0,50
Vitamin A (SI)	1500,00
Vitamin B1 (mg)	0,06
Vitamin C (mg)	40,00
Air (g)	94,00
Kal (kal)	20,00
Bagian yang dapat dimakan	95,00

*b.d.d = berat yang dapat dimakan

Sumber: Departemen Kesehatan R.I. (1981)

2.1.3 Manfaat Buah Tomat

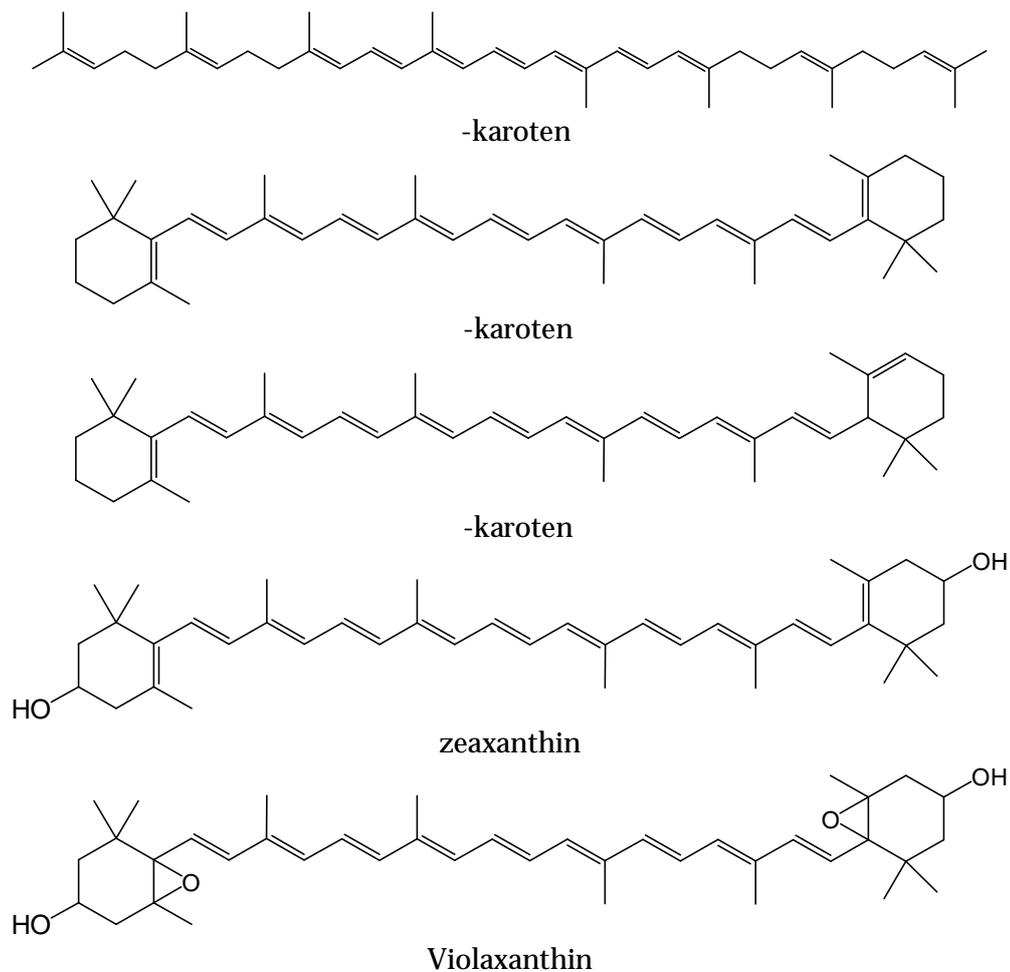
Buah tomat dimanfaatkan terutama untuk bumbu masakan sehari-hari, juga bahan baku industri saus tomat, dimakan segar, diawetkan dalam kaleng, dan berbagai macam bahan makanan bergizi lainnya.

Konsumsi satu buah tomat masak setiap hari selama beberapa bulan, sangat baik bagi orang yang sedang diet. Konsumsi tomat secara rutin tiap hari dapat membantu penyembuhan sakit liver, encok, tuberkulose, dan asma (Departemen Kesehatan R.I. (1981)).

2.2 Karotenoid

Karotenoid merupakan kelompok pigmen alami berwarna kuning, jingga, merah jingga yang dapat ditemui pada tanaman dan hewan. Karotenoid disebut sebagai pigmen lipokromik karena larut dalam lemak. Pada tumbuhan tingkat tinggi karotenoid didapatkan di daun bersama dengan klorofil, mereka juga yang memberikan pigmen warna kuning, jingga dan merah pada bunga dan buah.

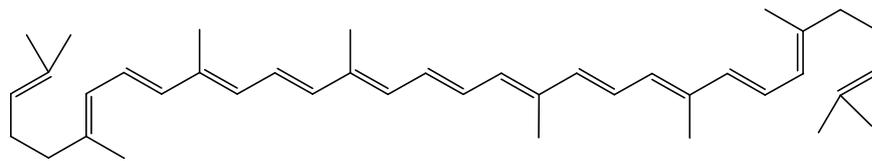
Karotenid dikelompokkan menjadi dua, yaitu hidrokarbon yang larut di dalam petroleum eter, dan xantofil (senyawa turunan oksigen dari karoten) yang larut didalam etanol. Contoh senyawa golongan karotenoid disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Beberapa contoh senyawa karotenoid

2.3 Likopen

Likopen adalah hidrokarbon alifatik yang mengandung tiga belas ikatan rangkap dengan rumus molekul $C_{40}H_{56}$. Terdapat 11 ikatan rangkap terkonjugasi yang tersusun linier sehingga membuat likopen lebih panjang dibandingkan karotenoid lainnya. Struktur asiklik dari likopen menyebabkan simetri planar dan bagaimanapun likopen bukan provitamin A. Likopen lebih larut di dalam kloroform, benzene, dan pelarut organik lainnya daripada di dalam air. Kelarutan likopen di dalam minyak sekitar 0.2 g/L pada temperatur ruang (Preedy et al, 2008). Struktur molekul likopen dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur Likopen

Likopen merupakan pigmen merah alami pada tomat, guava, dan semangka. Buah tomat mentah dan olahan tomat merupakan sumber likopen paling banyak. Sehingga banyak penelitian likopen fokus pada buah tomat dan olahannya (Holden et al. 1999 dalam Preedy, et al. 2008))

Menurut George et al. (2004) kandungan likopen di dalam buah tomat bervariasi (umumnya akibat pengaruh genetik), kematangan buah saat di panen, juga pengaruh agronomis dan kondisi lingkungan selama penanaman. Peningkatan jumlah karotenoid dapat dilihat dari perubahan pigmennya. Begitu juga peningkatan pigmen merah terjadi karena peningkatan konsentrasi likopen.

Menurut Di Mascio et al. (1989) dan Stahl, et al. (1992), tidak semua karotenoid memiliki keefektifan yang sama sebagai pelindung fotokimia. Likopen dikenal secara khusus relatif lebih efisien sebagai penangkap oksigen singlet daripada karotenoid lainnya (lebih tinggi daripada β -karoten dan α -karoten). Kekuatan antioksidan likopen sebagai penangkap oksigen singlet adalah dua kali lipat dari β -karoten (Bohm et al., 2002) dan sepuluh kali lipat α -tokoferol (Shi dan Maguer, 2000).

Likopen dalam buah tomat mampu mengurangi risiko terjadinya bercak-bercak kulit karena usia (age related macular degeneration atau ARMD),

ateroklerosis, dan multiplesclerosis dengan cara mencegah peroksidasi lipid (Mortesen et al. 2001).

2.4 Metode Pemisahan Likopen dalam Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

2.4.1 Ekstraksi Likopen dengan Metode Maserasi

Ekstraksi adalah proses perpindahan satu atau lebih senyawa dari satu fase ke fase lainnya (Wilson, et al, 2000). Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, larutan yang pekat di dalam sel di desak keluar.

Pemilihan pelarut ekstraksi bergantung pada keadaan sampel dan komposisi karotenoid. Karoten larut pada pelarut nonpolar seperti heksana dan toluen sedangkan xanthofil larut pada pelarut polar seperti etanol dan piridin. Jika kisaran kepolaran karotenoid dalam sampel sangat lebar, maka cara ekstraksinya memerlukan lebih dari satu jenis pelarut, sehingga digunakan pelarut campuran, misalnya aseton-metanol (Britton, et al, 1995 dalam Susilowati, 2008)

Maulida dan Naufal (2010) mengekstrak likopen dari buah tomat dengan metoda ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut campuran n-heksana-aseton-etanol perbandingan 2:1:1, dimana caranya adalah sampel dicampur dengan pelarut dan dikocok dengan shaker pada kecepatan 140 rpm selama 10 menit. Pada prosedur isolasi karotenoid di dalam Britton (1995) buah tomat diekstrak dengan aseton dan methanol (7:3). Metode ekstraksi yang digunakan pada sampel tersebut adalah maserasi.

Pada ekstraksi likopen dari buah tomat digunakan pelarut n-heksana, aseton, methanol, dan petroleum eter. Secara fisika tingkat polaritas ini dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum suatu pelarut. Semakin besar konstanta dielektrikum suatu pelarut disebut semakin polar

(Sudarmaji, dkk, 2007). Konstanta dielektrikum pelarut ditunjukkan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan indeks polaritas pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrikum (D)	Indeks polaritas
n-heksana	1,89	0,1
Aseton	20,70	5,1
Methanol	33,60	5,1
Petroleum eter	1,90	-

Sumber: diadaptasi dari Sudarmadji, dkk (2007)

2.4.2 Kromatografi Kolom Gravitasi

Kromatografi pertama kali ditemukan oleh Michel Tswett pada tahun 1903, seorang ahli dari Botani Rusia, yang menggunakan kromatografi untuk memisahkan pigmen-pigmen dari daun dengan menggunakan suatu kolom yang berisi kapur (CaCO_3) dengan larutan petroleum. Michel Tswett telah menggunakan kromatografi untuk pemisahan senyawa-senyawa yang berwarna, nama kromatografi diambil dari senyawa yang berwarna (Underwood and Day, 2002).

Kromatografi adalah teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa pembentukan kolom dimana fase gerak dibiarkan untuk turun (kromatografi kolom) atau berupa pembentukan lapis tipis dimana fase gerak dibiarkan untuk naik berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis/KLT) (Christian, 1994).

Metode pemisahan menggunakan kromatografi kolom gravitasi, sampel dilarutkan dalam sebuah pelarut, kemudian dilewatkan ke dalam kolom yang berisi adsorben dan mengelusinya dengan pelarut yang sama atau berbeda. Kromatografi kolom gravitasi digunakan secara konvensional untuk tujuan pemisahan komponen-komponen dari sejumlah campuran dalam kuantitas milligram atau gram (Lehman, 2008).

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi kolom tergantung pada kemampuan untuk berinteraksi dengan fasa diam dengan cara melarut di dalamnya, teradsorpsi atau bereaksi secara kimia (penukar ion) (Anonim, 2011). Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung pada komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaite and Smith, 1995). Komponen yang terpisah merupakan pita-pita dalam fase diam dan masing-masing pita didorong keluar kolom dengan penambahan fase gerak, ditampung, dipisahkan dan diidentifikasi (Mimir, 2011).

Tabel 2.3 Urutan kepolaran eluen, elusi senyawa dan kekuatan adsorben dalam kromatografi

Urutan Polaritas Eluen	Urutan Elusi Senyawa	Urutan Adsorben
n-heksana	Hidrokarbon tak jenuh	Selulosa
Petroleum eter	Alkena	Gula
Karbon tetraklorida	Hidrokarbon Aromatik	Silika gel
Benzene	Eter	Florisil (magnesium Silikat)
Kloroform	Aldehida, keton, ester	Aluminium oksida (alumina)
Dietil eter	Alkohol	
Etil asetat	Asam karboksilat	
Aseton		
Metanol		
Air		

Sumber : Johnson et al (1991) dan Khopkar (1990)

2.4 Spektrometri UV-Vis

Spektroskopi adalah ilmu yang mempelajari interaksi antara materi dengan radiasi elektromagnetik. Spektroskopi UV-Vis menghasilkan informasi tentang senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Cahaya ultraviolet dan cahaya tampak harus mempunyai energi yang cocok untuk menyebabkan transisi elektron. Cahaya ultraviolet adalah radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang berkisar antara 180-400 nm. Cahaya tampak adalah radiasi

elektromagnetik dengan panjang gelombang berkisar antara 400-780 nm (Bruice, 2004).

2.4.1 Hukum Lambert-Beer

Landasan hukum dasar telah dikemukakan oleh Lambert (1760) dan Beer (1852). Lambert (1760) dan Beer (1852) serta Bourger menunjukkan hubungan antara (T), (Po), dengan (P). Analisis suatu komponen atau multikomponen secara spektrofotometri menggunakan landasan hukum dasar yang dikemukakan oleh hukum Lambert (1760) dan Beer (1852), seringkali disebut hukum Lambert-Beer. Hubungan antara medium (b) dengan besarnya penyerapan energi cahaya dinyatakan Lambert sebagai:

$$\text{Log } I_0/I_i = Kb \dots \dots \dots \langle 2.1 \rangle$$

Sedangkan hubungan antara konsentrasi spesies (c) dengan besarnya penyerapan Beer, dinyatakan sebagai:

$$\text{Log } I_0/I_i = Kc \dots \dots \dots \langle 2.2 \rangle$$

Sehingga gabungan dari hukum Lambert-Beer yaitu:

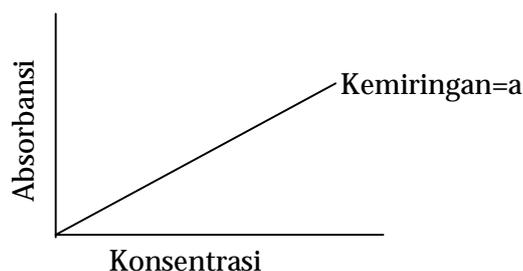
$$\text{Log } I_0/I_i = Kbc \dots \dots \dots \langle 2.3 \rangle$$

$$A = abc \dots \dots \dots \langle 2.4 \rangle$$

Istilah dikenal sebagai absorban yang dinyatakan dengan A, sedangkan c menyatakan konsentrasi spesies terlarut dan menyerap cahaya yang dinyatakan dalam mol/L atau g/L (Khopkar, 1990).

Karena sifat linieritas antara A dan c, penentuan konsentrasi bahan/sampel dapat dilakukan dengan mudah jika bekerja dengan absorbansi A.

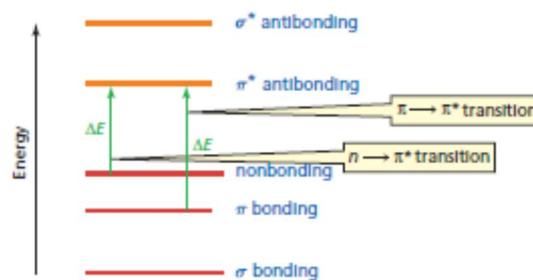
Jika hukum Beer diikuti maka akan terbentuk suatu grafik yang disebut sebagai kurva kalibrasi.



Gambar 2.4 Kurva kalibrasi dalam metode spektrometri

2.4.2 Spektroskopi UV-Vis Karotenoid

Molekul organik, dalam banyak hal, absorpsi cahaya ultra ungu-sinar tampak (ultraviolet-visible) terjadi pada gugus kromofor yang mengandung elektron-elektron valensi. Proses absorpsi cahaya UV-Vis berkaitan dengan promosi elektron dari satu orbital molekul dengan tingkat energi elektronik tertentu ke orbital molekul lain dengan tingkat energi elektronik yang lebih tinggi. Transisi elektronik tersebut biasanya adalah $\pi \rightarrow \pi^*$ atau $n \rightarrow \pi^*$ (bersesuaian dengan energi cahaya UV), dan $\sigma \rightarrow \sigma^*$ atau $n \rightarrow \sigma^*$ (bersesuaian dengan energi cahaya tampak), seperti ditunjukkan pada gambar dibawah ini.



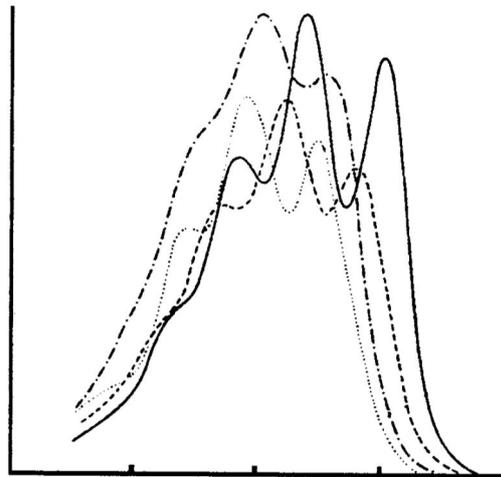
Gambar 2.5 Transisi elektronik akibat energy elektromagnetik

Sistem ikatan rangkap terkonjugasi merupakan kromofor penyerap cahaya yang memberikan warna menarik pada karotenoid dan menghasilkan spektrum sinar tampak yang berfungsi sebagai dasar untuk identifikasi dan kuantifikasi. Warna memungkinkan analisis untuk memantau langkah-langkah yang berbeda dari analisis karotenoid. Kehilangan atau perubahan warna pada setiap saat selama analisis mengindikasikan secara langsung terhadap degradasi atau modifikasi struktural. Warna menjadi pemantauan visual pada pemisahan karotenoid dengan kromatografi kolom. Untuk alasan ini teknik klasik masih menjadi pilihan yang tepat untuk analisis kuantitatif karotenoid (Rodrigues-Amaya, 2005).

Spektrum ultraviolet dan tampak adalah salah satu cara untuk mengidentifikasi karotenoid. Panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max}) dan bentuk spektrum merupakan karakteristik dari kromofor. Karotenoid kebanyakan absorpsi maksimum pada tiga panjang gelombang, yang ditunjukkan dengan tiga puncak spektrum (Gambar 2.6). Semakin banyak jumlah ikatan rangkap

terkonjugasi, semakin tinggi nilai λ_{max} . Dengan demikian, karotenoid dengan rantai karbon asiklik tak jenuh yaitu likopen dengan 11 ikatan rangkap terkonjugasi, berwarna merah dan menyerap pada panjang gelombang terpanjang (λ_{max} di 444, 470, dan 502 nm) (Gambar 2.6).

Setidaknya 7 ikatan rangkap terkonjugasi diperlukan senyawa karotenoid untuk memiliki warna yang mencolok. Dengan demikian, β -karoten berwarna kuning muda. memiliki struktur asiklik, spektrumnya memiliki tiga puncak yang jelas (λ_{max} pada 378, 400, dan 425 nm), tetapi berada pada panjang gelombang yang jauh lebih rendah daripada panjang gelombang likopen (Rodrigues-Amaya, 2005).



Gambar 2.6 Absorpsi sinar tampak dari likopen (—), β -karoten (----), α -karoten (-.-.-), dan γ -karoten (.....) dalam petroleum eter.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada Desember 2011 hingga Desember 2012.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan Kimia

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : pelarut aseton, methanol, n-heksana, petroleum eter (PE), aquades, dan kertas karbon.

3.2.2 Bahan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) yang diperoleh di pasar Tanjung Jember.

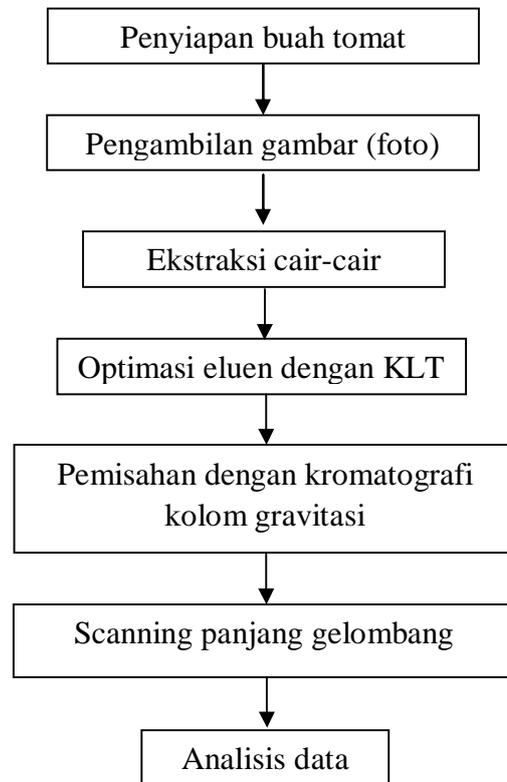
3.2.3 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua kelompok, yaitu:

- a. Alat-alat untuk melakukan ekstraksi dan pemisahan meliputi kertas saring whatman no.1, blender, corong pisah, rotarievaporator, botol kaca, corong Buchner, pisau, pompa vakum, botol semprot, shaker, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, pipet mohr, spatula, gelas beaker, buret.
- b. Alat untuk melakukan analisis sampel meliputi gelas chamber, plat KLT, kuvet, dan spektrofotometer visible (UV756CRT).

3.3 Diagram Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan satu varietas sampel dengan beberapa warna yang tersedia. Tahapan penelitian dirancang sesuai dengan diagram di bawah ini:



3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) yang diperoleh dari pasar Tanjung Kabupaten Jember yang telah diuji keabsahannya di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember.

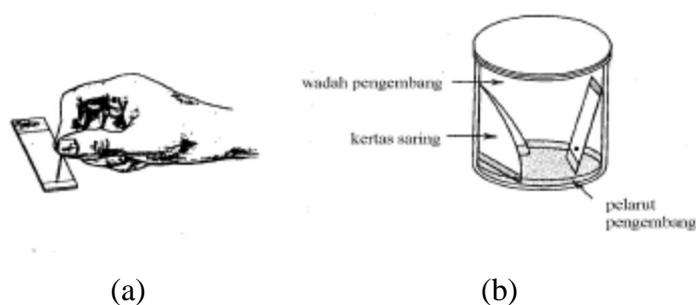
3.4.2 Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

Ekstraksi buah tomat dilakukan dengan metode maserasi dengan variasi komposisi pelarut. Sebanyak 1 kg buah tomat ditimbang, dihaluskan dengan blender, kemudian dimasukkan kedalam gelas beaker 500 mL dan ditambah dengan 150 mL methanol. Campuran diaduk selama 5 menit. Selanjutnya, campuran disaring, endapan dengan kuantitas yang sama dimasukkan ke dalam empat erlenmeyer 1000 mL bertutup yang dilapisi dengan kertas karbon pada bagian luar. Tambahkan campuran pelarut n-heksana, aseton, dan metanol dengan perbandingan berturut-turut 2:1:1; 1:2:1; dan 1:1:1, serta PE-aseton (3:1) (volume pelarut adalah 5 kali volume sampel basah), kemudian di shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit. Campuran dipindahkan ke dalam corong pisah, ditambah 10 mL aquades, dikocok kembali kemudian didiamkan selama 15 menit (sampai terbentuk dua fase). Lapisan atas (non polar) diambil dan diuapkan menggunakan rotavapor. Ekstrak pekat hasil rotavapor dimasukkan ke dalam botol kaca dan diukur volumenya. Beberapa mL ekstrak tersebut diuji dengan KLT dan sisanya dilewatkan dalam kolom kromatografi.

3.4.3 Optimasi Eluen dengan KLT

Ekstrak kasar likopen ditotolkan pada plat KLT silika gel 60 ukuran 3x10 cm yang sudah di plot dengan pensil (dan tangan tidak menyentuh permukaan plat yang mengandung silika gel). Jarak plot sampel satu dengan yang lainnya adalah 0,5 cm. Sampel yang sudah ditotolkan dikering anginkan. Lalu, di masukkan ke dalam wadah pengembang (gelas chamber) yang berisi eluen petroleum eter-

aseton (8:2 v/v). Dibiarkan noda mengembang sampai eluen berada pada batas yang sudah di garisi dengan pensil. Kemudian diambil dan dikering anginkan dan di lihat spotnya dibawah sinar UV dan hitung Rfnya. Dilakukan hal yang sama untuk eluen PE, n-heksana, dan n-heksana-PE (2:1 v/v).



Gambar 3.1 Prosedur analisis KLT, (a) Proses penempatan/ penotolan noda, (b) proses pengembangan noda

Perhitungan Rf:

Rf : _____

3.4.4 Pemisahan Likopen dari Ekstrak Likopen

Ekstrak pekat likopen dilewatkan dalam kolom kromatografi yang didalamnya terdapat fase diam silica gel 60 dan eluen optimum yaitu campuran n-heksana-PE perbandingan 2:1. Fraksi dengan warna pita berbeda ditampung dalam wadah yang berbeda.

3.4.5 Analisis Kualitatif dengan Spektrofotometer Visibel

Masing-masing fraksi dilakukan scanning panjang gelombang dari 400-700 nm dengan blangko menggunakan petroleum eter.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Likopen merupakan senyawa metabolit skunder yang terdapat di dalam kromoplas dan sitosol dari sel-sel buah tomat. Metode ekstraksi merupakan cara yang cocok untuk mengeluarkan likopen dari buah tomat. Pelarut ekstraksi merupakan faktor penting untuk keberhasilan proses ekstraksi sehingga pada subbab ini bertujuan untuk optimasi beberapa variasi komposisi pelarut. Untuk melakukan optimasi pelarut ekstraksi dilakukan isolasi dan analisis likopen secara kualitatif. Hasil analisis tersebut digunakan sebagai data pendukung untuk memperoleh pelarut ekstraksi optimum.

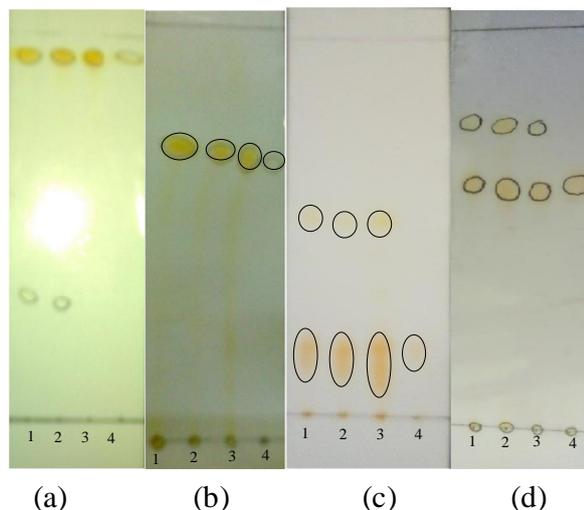
4.1 Ekstraksi Likopen dari Buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

Ekstraksi likopen dari buah tomat dilakukan dengan metode maserasi karena senyawa karotenoid tidak stabil pada suhu tinggi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan variasi pelarut yaitu campuran n-heksana:aseton:methanol (2:1:1; 1:2:1; 1:1:1) dan PE:aseton (3:1). Waktu yang digunakan untuk maserasi adalah selama 30 menit dan pengocokan dengan shaker pada kecepatan 150 rpm. Setelah itu dilakukan penyaringan, sehingga diperoleh filtrat yang berwarna jingga. Warna jingga memberikan gambaran bahwa pada filtrat tersebut mengandung senyawa karotenoid.

Filtrat yang diperoleh diekstrak cair-cair menggunakan corong pisah. Penambahan aquades menyebabkan terbentuknya dua fase, yaitu fase air (aseton:methanol:air) dan fase n-heksana. Fase n-heksana yang mengandung senyawa karotenoid diambil untuk dilakukan tahap evaporasi dengan rotary evaporator vacuum, sehingga dihasilkan ekstrak pekat berwarna merah. Ekstrak pekat ini dijadikan sebagai ekstrak kasar likopen.

4.2 Hasil Optimasi Eluen menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Optimasi eluen menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silica gel 60 dilakukan sebelum ekstrak kasar likopen dilewatkan ke dalam kolom kromatografi gravitasi yang berisi silica gel 60 sebagai fase diam. KLT bertujuan untuk menentukan pelarut yang paling baik terhadap pemisahan likopen pada kromatografi kolom. Penelitian ini menggunakan beberapa eluen diantaranya PE:Aseton (8:2), PE, n-heksana, dan n-heksana:PE (2:1). Kromatogram yang dihasilkan tertera pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil KLT ekstrak kasar likopen dengan beberapa jenis eluen (a) PE:Aseton(8:2), (b) PE, (c) n-Heksana, (d) n-Heksana:PE(2:1) : pelarut ekstraksi (1) n-heksana-aseton-metanol (2:1:1), (2) n-heksana-aseton-metanol (1:2:1), (3) n-heksana-aseton-metanol (1:1:1), (4) PE-metanol (3:1)

Karotenoid merupakan pigmen warna kuning-merah pada buah dan sayuran. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi yang dimiliki oleh senyawa karotenoid maka semakin mengarah pada warna merah. Likopen memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih banyak dibandingkan senyawa karotenoid lainnya, yaitu sebanyak 11 ikatan rangkap terkonjugasi sehingga likopen berwarna jingga.

Secara teoritis semakin banyak spot yang diperoleh pada KLT maka pemisahannya semakin baik. Sesuai Gambar 4.1, KLT dengan menggunakan eluen PE:aseton (8:2) dan eluen PE diperoleh 2 spot berwarna kuning. Spot pertama

dengan R_f yang lebih kecil dimungkinkan mengandung karotenoid hidroksi (xanthofil) sedangkan spot kedua dimungkinkan mengandung campuran likopen dan karotenoid hidrokarbon lainnya seperti β -karoten. KLT dengan menggunakan eluen n-heksana dan n-heksana:PE (2:1) diperoleh 3 spot dengan 2 berwarna kuning dan satu berwarna jingga. Pita pertama dimungkinkan mengandung senyawa xanthofil, pita kedua dimungkinkan mengandung senyawa likopen sedangkan pita ketiga dimungkinkan mengandung senyawa karoten seperti β -karoten dan α -karoten.

Tabel 4.1 Hasil optimasi eluen KLT untuk ekstrak kasar likopen dari buah tomat

Eluen	R_{f1}	R_{f2}	R_{f3}
Petroleum eter- Aseton (8:2)	0,340	0,96	-
Petroleum eter	0	0,688	-
n-Heksana-Petroleum eter (2:1)	0	0,626	0,791
n-Heksana	0	0,215	0,538

$R_f = 0$ menunjukkan bahwa totalan sampel tak bergerak ke atas, tetap pada posisi semula.

Eluen campuran n-heksana:PE dengan perbandingan 2:1 memiliki R_f yang lebih besar daripada eluen n-heksana. Sehingga apabila eluen n-heksana:PE (2:1) digunakan pada kromatografi kolom maka spot-spot ekstrak kasar likopen yang dipisahkan akan keluar lebih cepat. Berdasarkan data tabel 4.1, campuran n-heksana:PE (2:1) merupakan eluen yang paling cocok digunakan sebagai eluen pada pemisahan senyawa dalam ekstrak likopen buah tomat.

4.3 Pemisahan Likopen dari dari Ekstrak Kasar Likopen dengan Kromatografi Kolom Gravitasi

Hasil penelitian Nurdin (1996) menunjukkan bahwa pigmen pada buah tomat mengandung 6 komponen karoten dan 5 komponen xantofil. Likopen memiliki 11 ikatan rangkap terkonjugasi sehingga berinteraksi dengan silica gel lebih kuat dibandingkan β -karoten dan karoten lainnya yang memiliki tidak lebih dari 10 ikatan

rangkap terkonjugasi. Namun interaksi likopen tersebut lebih lemah dibandingkan xanthofil yang memiliki gugus hidroksi sehingga fraksi β -karoten akan keluar kolom lebih dahulu diikuti fraksi likopen. Sedangkan fraksi xanthofil tetap di dalam kolom sehingga mengeluarkannya dengan penambahan pelarut yang lebih polar (metanol) ke dalam eluen.

Pemisahan fraksi-fraksi dari kromatografi kolom gravitasi didasarkan pada warna tiap fraksi yang terpisah di dalam kolom. Warna yang berbeda ditampung pada wadah yang berbeda. Dari hasil kromatografi kolom diperoleh 4-5 fraksi pada tiap variasi pelarut ekstraksi. Warna masing-masing fraksi yang diperoleh diperlihatkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Fraksi dan warna visualisasinya

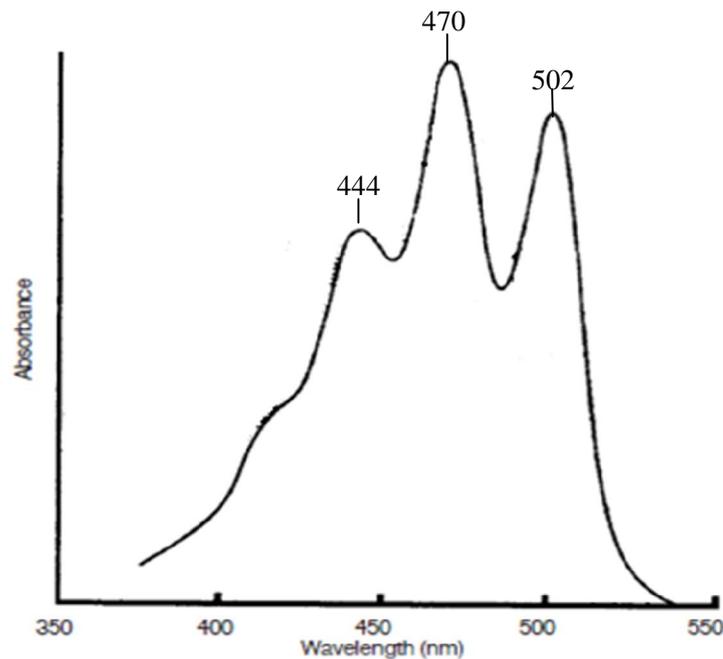
Fraksi ke-	Warna Cairan
1	Kuning
2	Merah
3	Jingga
4	jingga
5	Kuning kehijauan

4.4 Analisa Kualitatif Likopen

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari pemisahan dengan kromatografi kolom kemudian dianalisa kualitatif. Analisis kualitatif merupakan proses identifikasi keberadaan suatu senyawa dalam suatu sampel atau analit. Analisa kualitatif likopen pada penelitian ini dilakukan dengan cara membandingkan spektrum likopen standar dengan spektrum likopen hasil pengukuran. Spektrum likopen standar tidak menggunakan spektrum dari hasil pengukuran larutan standar likopen melainkan diperoleh dari literatur. Sehingga analisis kuantitatif tidak dapat dilakukan pada penelitian ini.

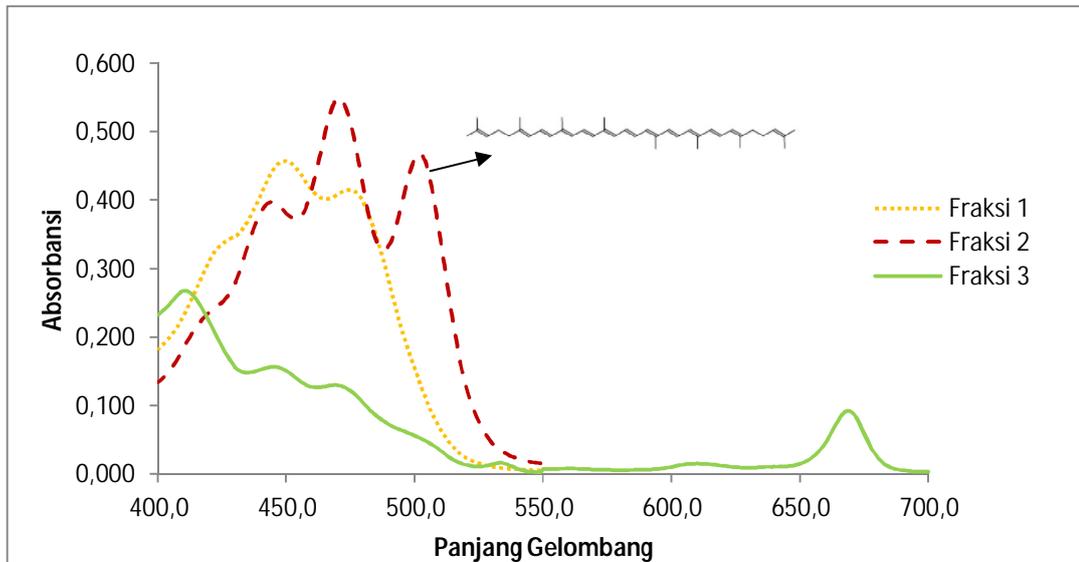
Secara umum serapan maksimum karotenoid berada pada tiga panjang gelombang yang dimunculkan dalam bentuk tiga puncak spektrum. Senyawa dengan

jumlah ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih banyak memiliki nilai panjang gelombang maksimum (max) lebih tinggi. Likopen dengan 11 ikatan rangkap terkonjugasi menyerap pada panjang gelombang yang paling tinggi dibandingkan karotenoid lainnya. Spektrum UV-tampak likopen khas pada daerah 400-550 nm, dengan 3 puncak utama di sekitar 444, 470, dan 502 nm (Rodrigues-Amaya,2005).



Gambar 4.2 Absorpsi sinar tampak spektrum likopen standar dalam petroleum eter

Setiap fraksi yang diperoleh pada penelitian ini di analisis menggunakan spektrofotometer visibel dengan melakukan scanning panjang gelombang. Pola spektrum yang diperoleh menggambarkan serapan suatu molekul dimana setiap molekul memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang tertentu dengan pola tertentu pula. Dari lima fraksi yang di scanning diperoleh 3 pola spektrum yang berbeda pada setiap variasi pelarut ekstraksi (gambar 4.3).



Gambar 4.4 Absorpsi sinar tampak fraksi 1 (.....), fraksi 2 (---), dan fraksi 3 (—) dalam petroleum eter:

Sesuai gambar 4.3 fraksi 2 memiliki kemiripan dengan gambar 4.2 baik pola spektrum maupun nilai max. Kesamaan pola dan puncak max antara spektrum-spektrum yang dibandingkan (spektrum likopen hasil pengukuran dan spektrum likopen standar) menunjukkan kesesuaian senyawa tersebut. Berdasarkan pola dan puncak spektrum dari sampel tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel dengan pola spektrum seperti di atas mengandung senyawa likopen. Fakta menunjukkan bahwa hanya beberapa fraksi hasil penelitian yang memiliki pola spektrum seperti pada Gambar 4.3 dengan puncak-puncak serapan yang mendekati (Lampiran B). Rata-rata fraksi-fraksi tersebut larutannya berwarna merah (2). Sedangkan fraksi yang larutannya berwarna hijau-kuning (1 dan 3) tidak menunjukkan pola spektrum seperti di atas.

4.5 Hasil Optimasi Komposisi Pelarut Ekstraksi

Penetapan kadar likopen pada penelitian ini tidak dapat dilakukan. Hal ini disebabkan karena tidak terdapat kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran larutan standar likopen. Sehingga optimasi komposisi pelarut tidak dapat dilakukan

kuantitas metanol diperoleh likopen lebih banyak. Berdasarkan nilai konstanta dielektrikum dan indeks polaritas pelarut pada tabel 2.2 di dalam tinjauan pustaka, secara kualitatif urutan kepolaran pada variasi di atas dari polar ke nonpolar tertera pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Urutan kepolaran pelarut ekstraksi likopen dari buah tomat

Variasi pelarut	Urutan kepolaran
n-hex-aseton-meOH (1:2:1 v/v)	Polar  Nonpolar
n-hex-aseton-meOH (1:1:1 v/v)	
n-hex-aseton-meOH (2:1:1)	
PE-aseton (3:1 v/v)	

Sumber: diadaptasi dari Johnson et al (1991), Khopkar (1990) dan Sudarmadji, dkk (2007)

Aseton secara teoritis dapat larut sempurna di dalam metanol maupun n-heksana sehingga pada perbandingan 1:2:1, aseton yang menjadi jembatan dalam menentukan kepolaran pelarut campuran tersebut mampu mengoptimalkan ekstraksi likopen dari pelarut polar (air-metanol) ke dalam pelarut nonpolar (n-heksana).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Komposisi campuran pelarut yang optimum pada ekstraksi likopen dari buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) adalah campuran pelarut n-heksana:aseton:methanol dengan perbandingan 1:2:1.

1. 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian ekstraksi likopen dari buah tomat dengan cara dikeringkan dengan pengepresan dingin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. Kromatografi. [http://sintarostika29.blogspot.com/2011/bab-1-
pendahuluan-1_6134.html](http://sintarostika29.blogspot.com/2011/bab-1-
pendahuluan-1_6134.html)[16 juni 2011].
- Bohm, V., N.L. Puspitasari-Nienaber, M. G. Ferruzi, dan S.J. Schwarts. 2002. Trolox equivalen antioxidant capacity of different geometrical isomer of α -caroten, β -caroten, lycopene, and zeaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 50:221-226.
- Braithwaite, A and Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. London : Kluwer Academic Publishers.
- Britton, G., Jensen, S.L., and Pfander, H., 1995. *Carotenoids Volume IA: Isolation and Analysis*. Berlin: Birkhausen Verlag dalam Susilowati. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Karotenoid dari Cabai Merah (Capsicum Annuum Linn.)*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Bruice, P.Y. 2004. *Organic Chemistry, Fourth Edition*. Prentice Hall: Upper Saddle River, NJ.
- Christian, G.D. 1994. *Analytical Chemistry, Fifth Edition*. USA : University of Washington. John Wiley & Sons.
- Departemen Kesehatan R.I. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Direktorat Gizi. Departemen Kesehatan R.I. Bhratara.
- Di Mascio, P., S. Kaiser and H. Sies.1989. Lycopene as the Most Efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.*, 274:532-538.
- Fitri, B.L. 2007. *Pengaruh Varietas dan Lama Penyimpanan terhadap Kandungan Likopen Buah Tomat (Lycopersicum esculentum Mill.)*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Ilmu Sains dan Teknologi UIN Malang.
- George, B., C. Kaur, D. S. Khurdiya, and H. C. Kapoor. 2004. Antioxidant in Tomato (*lycopersicum esculentum*) as a function of Genotype. *Food Chem.* 84:45-51.

- Holden, J.M. and A.L. Eldridge, G.R. Beecher, I. Buzzard, B. Marilyn, C.S. Seema Davis, L.W. Douglass, H.D. Gebhardt, and S.S. Schakel. 1999. Carotenoid content of U.S. foods: an update of the database. *J. Food Composition Anal.* 12:169-196. dalam Preedy, V.R. and Ronald, R.W. 2008. *Lycopene: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties.* USA : Science Publishers, Enfield, NH.
- Johnson, E.L dan Stevenson R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair.* Bandung : Institut Teknik Bandung.
- Jos, B., Aryani, R.D., dan Setiyono. 2003. Ekstraksi Karotenoid dari Minyak Sawit Mentah (CPO), Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia 2003. Yogyakarta dalam Susilowati. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Karotenoid dari Cabai Merah (Capsicum Annuum Linn.).* Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Lehman, J.W. 2008. *Operational Organic Chemistry 4th Edition.* Prentice Hall: Upper Saddle River, NJ.
- Maulida, D. dan Naufal, Z. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton dan Etanol. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Mimir. 2011. Cara Kerja Kromatografi Kolom. <http://robbaniryo.com/instrumen-kimia/cara-kerja-kromatografi-kolom> [21 juni 2012].
- Mortensen, A., Skibsted, L.H., and Truscott, T.G. 2001. The Interaction of Dietary Carotenoids with Radical Species. *Arch. Biochem. Biophys.* 385 (1):13-19 .
- Nurdin, H. 1996. Separation Carotenoids in tomato. *Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas* 5:1.
- Preedy, V.R. and Ronald, R.W. 2008. *Lycopene: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties.* USA : Science Publishers, Enfield, NH.

- Rodrigues-Amaya, D.B. 2005. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. Washington: ILSI Press.
- Rodrigues-Amaya, D.B and M. Kimura. 2004. Harvest Plus Handbook for Carotenoid analysis Ed. ke-2. Washington: Harvest Plus Technical monograph.
- Rukmana, R. 1994. Selada Bertanam dan Pengolahan Pascapanen. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Setiawan, A. I. 1994. Toma: Pembudidayaan secara Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Shi, J and M.L. Maguer. 2000. Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical properties affected by food processing. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.40:1.
- Stahl, W. and H. Sies. 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. J. Nutr. 122: 2161-2166.
- Sudarmaji, S., Haryono, B. dan Suhardi. 2007. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Penerbit Liberty
- Tugiyono, H. 1986. Bertanam Tomat. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Underwood, A.L dan R.A Day. 2002. Analisis Kimia Kuantitatif edisi keenam. Jakarta : Erlangga.
- Wilson, I.D., Edward, R. Adlard, M. Cooke, and Poole. Encyclopedia of Separation Sciens. Edinburgh: Academic Press.

Lampiran A. Data Absorban Likopen pada Variasi Komposisi Pelarut

Variasi Komposisi Pelarut	Fraksi Ke-	Volume Fraksi (mL)	Absorban pada 470 nm	Faktor Pengenceran
PE:Aseton (3:1)	U1F2	20	0.143	125
	U2F2	20	0.143	125
	U3F2	20	0.147	125
n-heksana:aseton:MeOH (1:1:1)	U1F2	20	0.35	125
	U2F2	20	0.362	125
	U3F2	20	0.370	125
n-heksana:aseton:MeOH (2:1:1)	U1F2	20	0.425	125
	U2F2	20	0.432	125
	U3F2	20	0.410	125
n-heksana:aseton:MeOH (1:2:1)	U1F2	20	0.815	125
	U2F2	20	0.805	125
	U3F2	20	0.815	125

Keterangan:

UnFm adalah fraksi likopen

Dimana: Un = ulangan ke-n

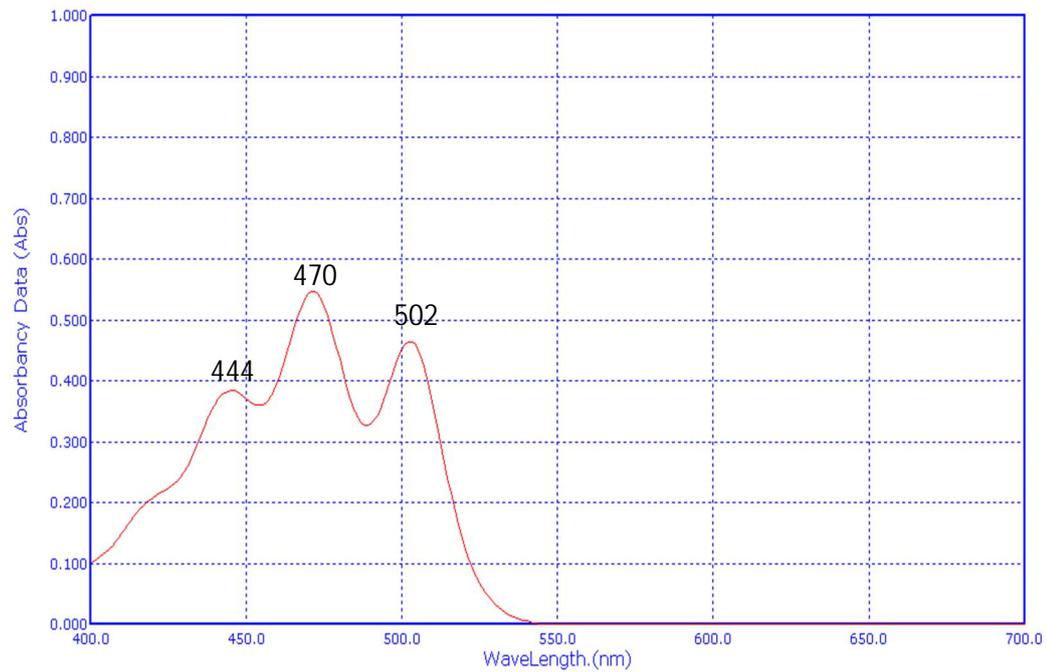
Fm = fraksi ke-m

Lampiran B. Spektrum Absorpsi Fraksi Likopen dari Sampel Buah Tomat

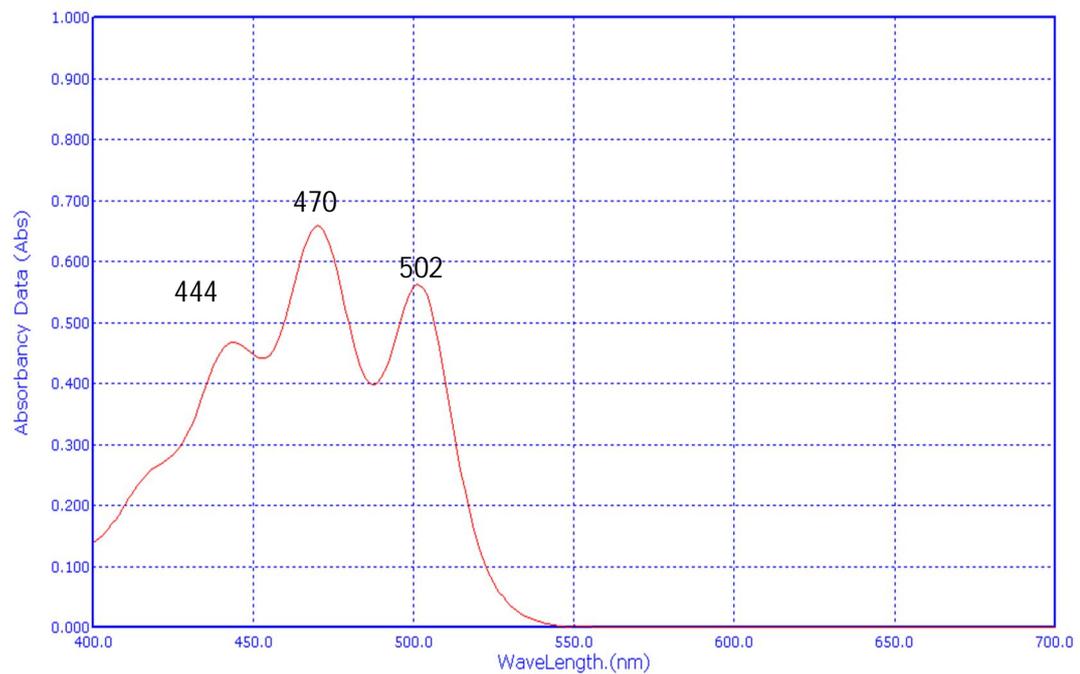
B.1 Spektrum Absorpsi pada beberapa jenis pelarut

D.1.1 Pelarut Campuran n-Heksana-aseton-metanol (1:1:1)

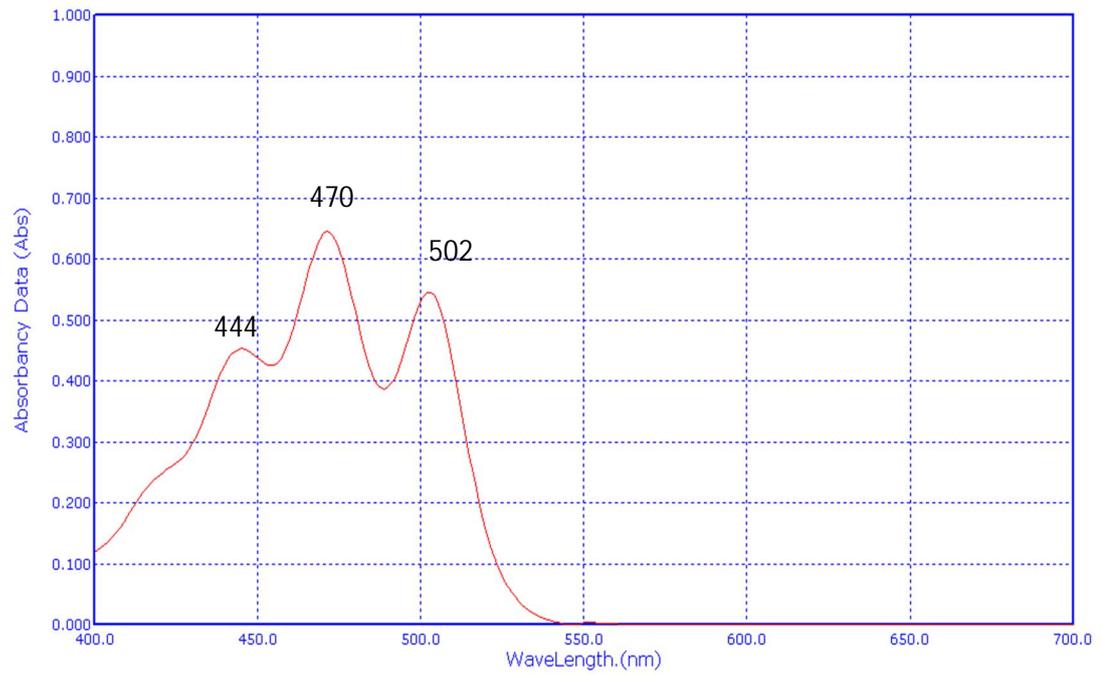
a. Fraksi ke-2 Ulangan 1



b. Fraksi ke-2 Ulangan 2



c. Fraksi ke-2 Ulangan 3

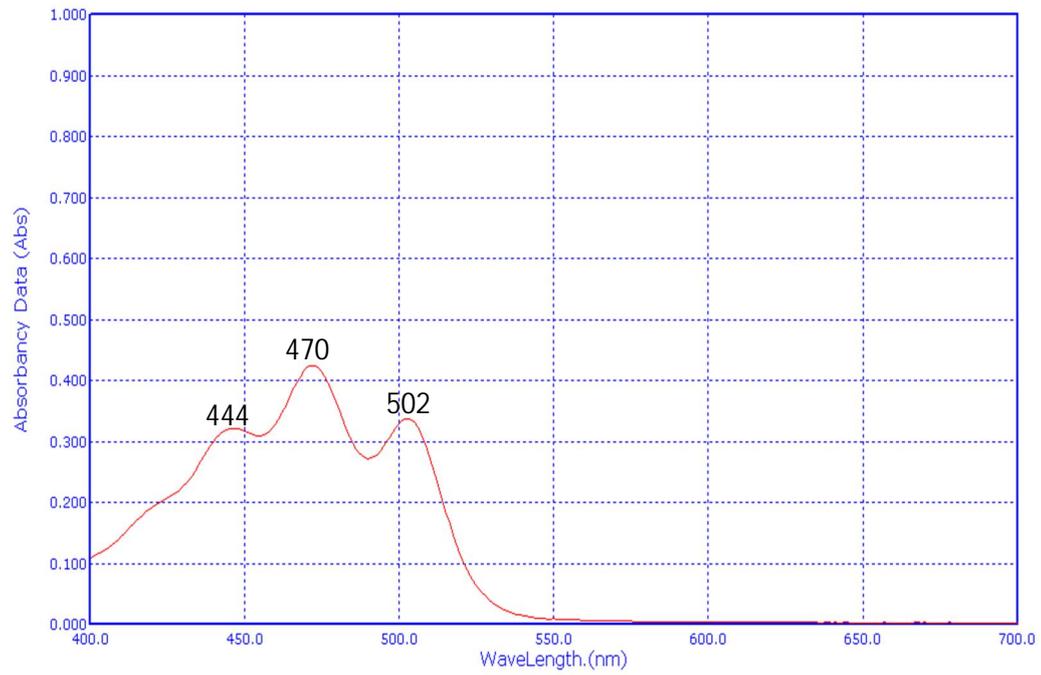


B.1.2 Pelarut Campuran n-Heksana-aseton-metanol (1:2:1)

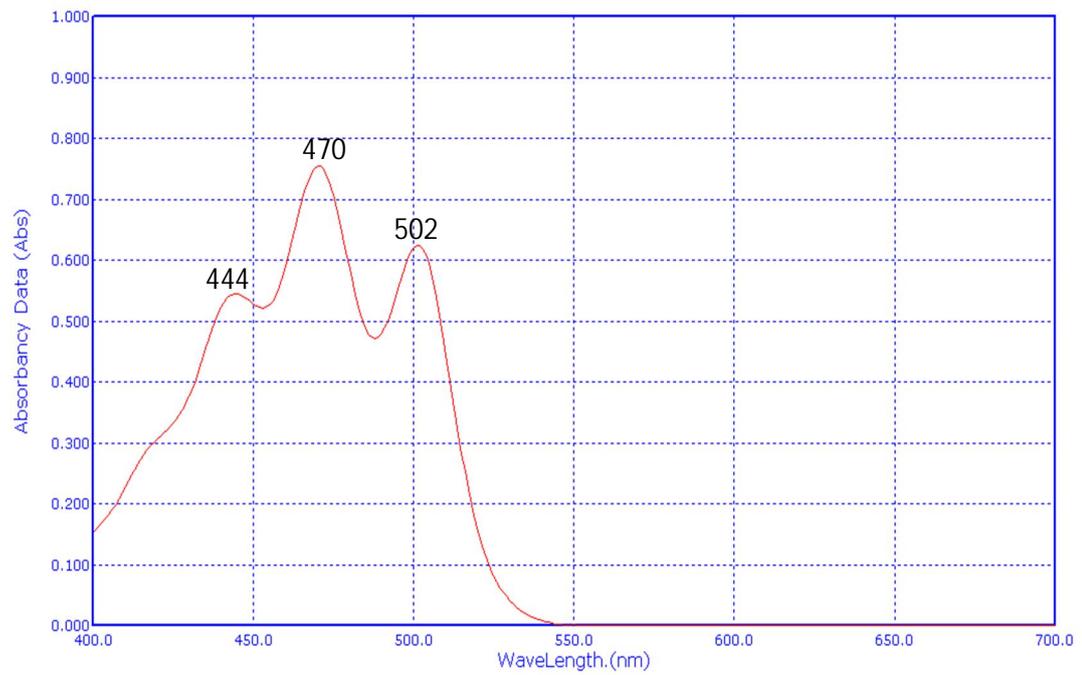
a. Fraksi ke-2 Ulangan 1



b. Fraksi ke-2 Ulangan 2

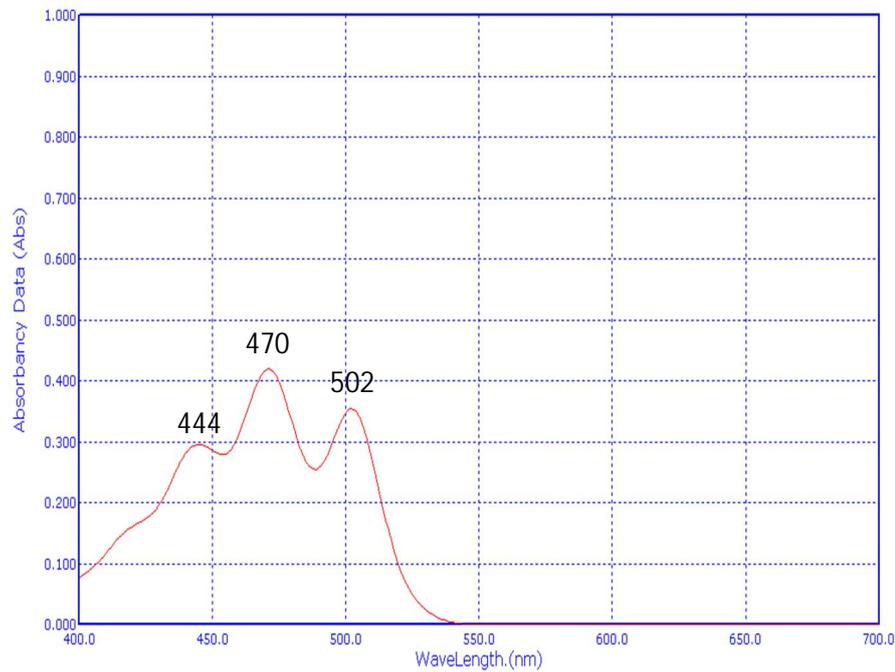


c. Fraksi ke-2 Ulangan 3

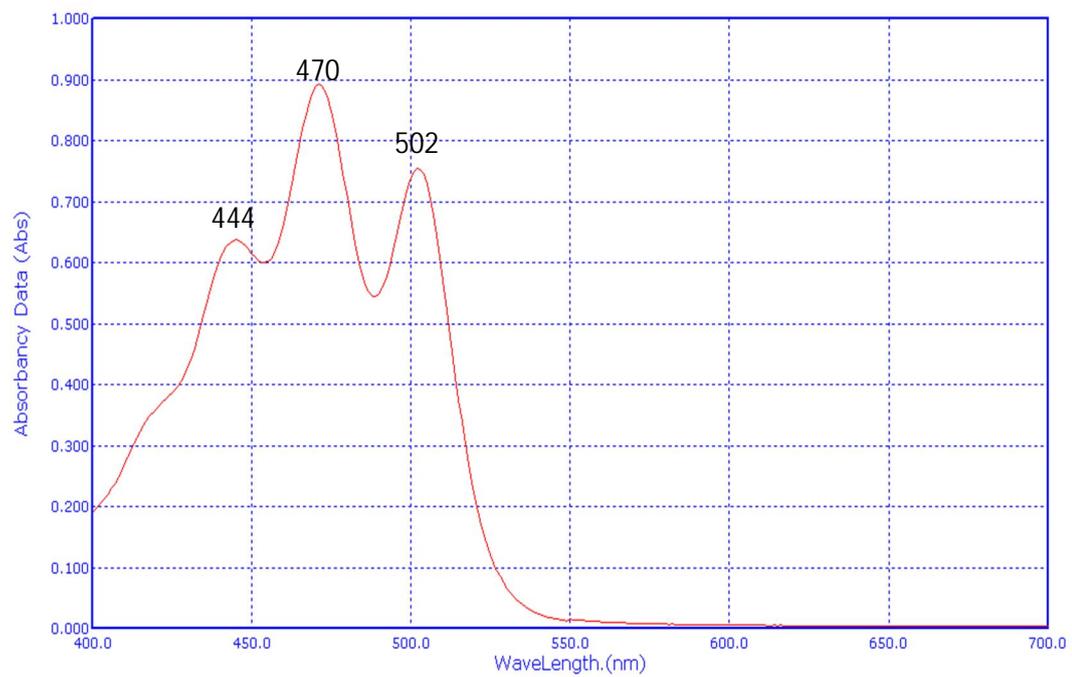


B.1.3 Pelarut Campuran n-Heksana-aseton-metanol (2:1:1)

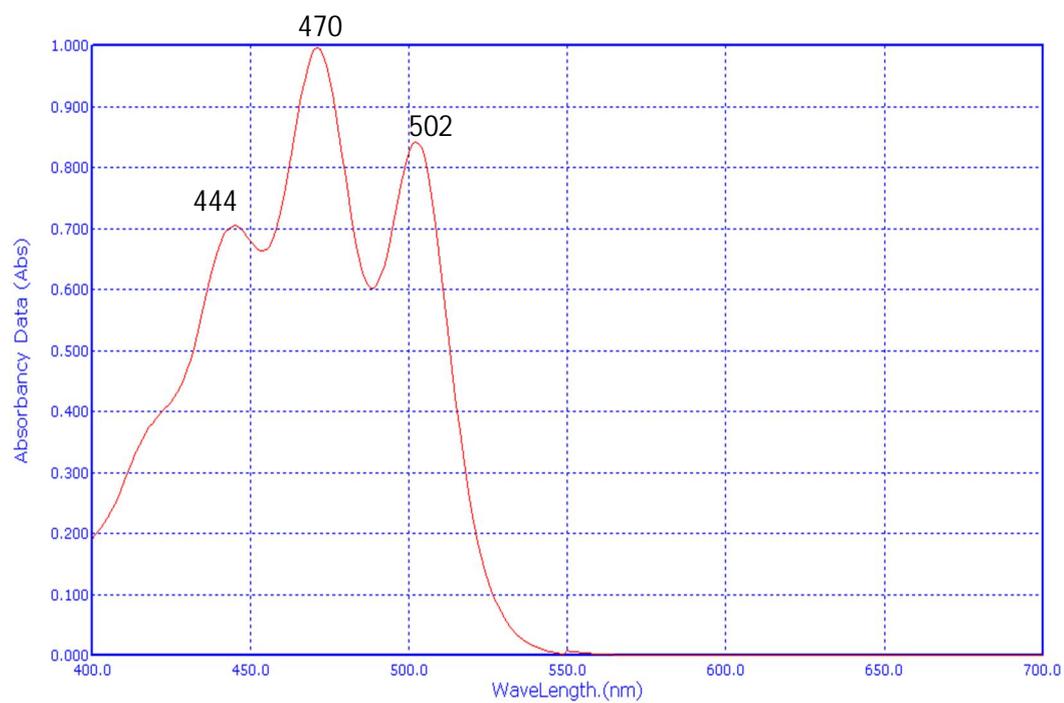
a. Fraksi ke-2 Ulangan 1



b. Fraksi ke-2 Ulangan 2

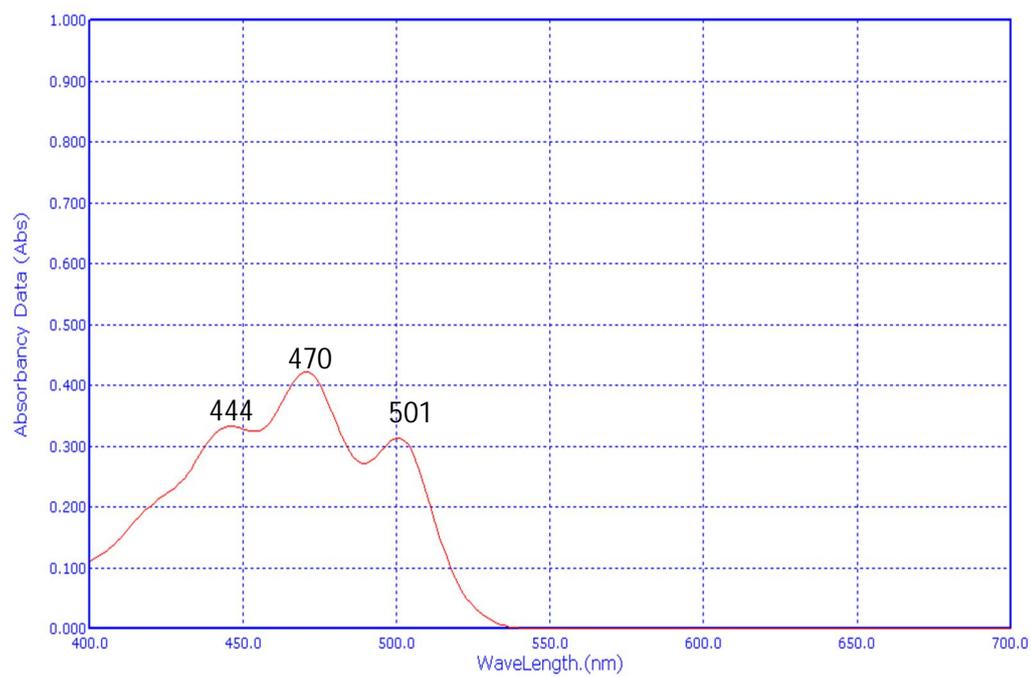


c. Fraksi ke-2 Ulangan 3

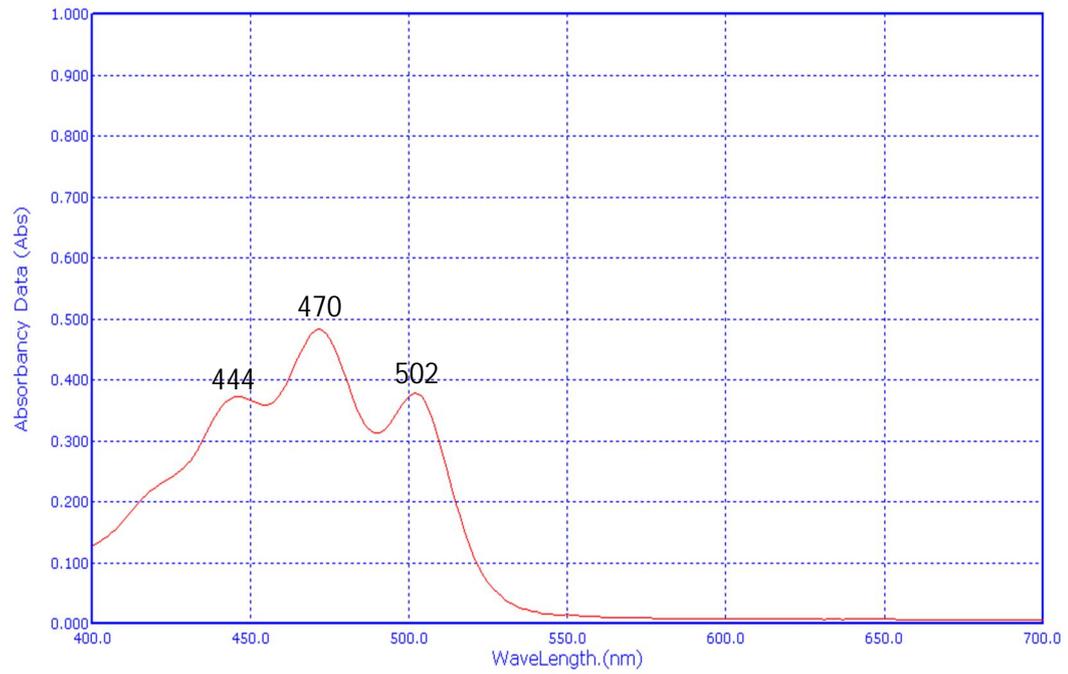


B.1.4 Pelarut PE:Metanol (3:1)

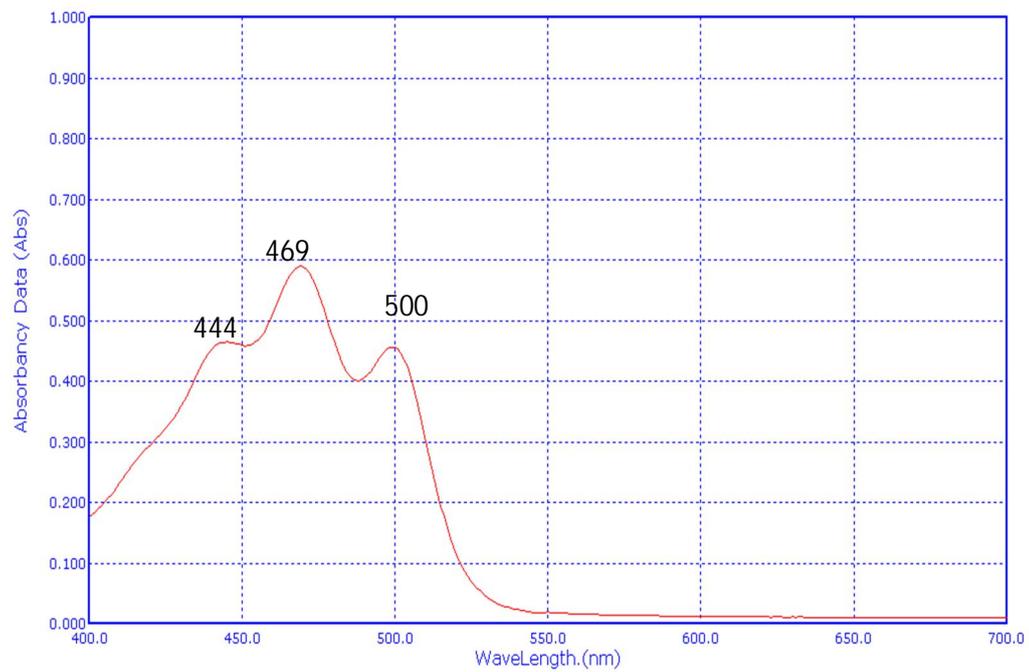
a. Fraksi ke-2 Ulangan 1



b. Fraksi ke-2 Ulangan 2



c. Fraksi ke-2 Ulangan 3



Lampiran C. Uji Keabsahan Buah Tomat

HERBARIUM JEMBERIENSE (JR)
JURUSAN BIOLOGI-FMIPA UNIVERSITAS JEMBER
JEMBER, INDONESIA

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

Berdasarkan hasil pengamatan dari spesimen tumbuhan (**buah**) yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama/NIM : Arifulloh /071810301092
Jur./Fak./PT : Kimia/MIPA/Universitas Jember

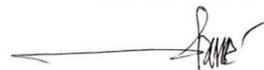
maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Solanum lycopersicum* L. : Syn. *Lycopersicum esculentum* Mill.,
Lycopersicum esculentum Mill., *Solanum esculentum* L. (Family – Solanaceae
; Vernacular name – tomat)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 2 Agustus 2012

Ka. Laboratorium,



Dra. Dwi Setyati, MSi

NIP 196404171991032001