

27082013  
191/FF/2013.

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN KEMITRAAN**

**Tema  
Kedokteran Tropis**



**Analisis Kandungan Vitamin E (Tokoferol dan Tokotrienol) pada buah Siwalan (*Borassus flabellifer Linn.*) dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**

oleh :

Hari Widada, M.Sc., Apt (173120/052107197701)

Tri Bowo Cahyono (20100350063)

Syahid Irawan (20100350059)

Diajukan untuk memperoleh dana penelitian

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Tahun Anggaran 2012/2013

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Analisis Kandungan Vitamin E (Tokoferol dan Tokotrienol) pada buah Siwalan (*Borassus flabellifer Linn.*) dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)
2. Bidang Ilmu : Kesehatan
3. Tema : Kedokteran Tropis
4. Ketua Tim Pengusul : Hari Widada, M.Sc., Apt  
Tempat/tgl. Lahir : Klaten, 21 Juli 1977  
Jenis kelamin : Laki-laki  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Pangkat/golongan/NIK : -/IIIb/ 173120  
Bidang Keahlian : Kimia Farmasi  
Alamat Rumah : Perum Nilagraha 49 , Gonilan, Kartasura, Sukoharjo  
Tlpn./Hp : 0271 715442/ 085229595005  
e-mail : [hr.widada@umy.ac.id](mailto:hr.widada@umy.ac.id) , [hariwid\\_ada@yahoo.com](mailto:hariwid_ada@yahoo.com)
5. Anggota Peneliti : 2 orang
6. Biaya Kegiatan Total : Rp 3.475.000,-
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4,5 bulan

Yogyakarta, 30 Juli 2013

Menyetujui,  
Dekan FKIK UMY,



(Dr. H. Ardi Pramono, Sp.An., M.Kes)

Ketua Tim Pengusul,

(Hari Widada, M.Sc., Apt)  
NIK : 173 120

Mengetahui,  
Kepala LP3M UMY,

(Dr. Mukti Fajar, N.D., S.H., M.Hum.)  
NIK : 173 019

## A. Judul Penelitian

Analisis Kandungan Vitamin E (Tokoferol dan Tokotrienol) pada buah Siwalan (*Borassus flabellifer Linn.*) dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Analysis of Vitamin E (Tocopherol and Tocotrienol) in Siwalan fruit (*Borassus flabellifer Linn.*) with *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Method

## B. Pendahuluan

Vitamin E (tokoferol) adalah vitamin yang larut dalam minyak, bersifat non-toksik dan memegang peranan penting dalam berbagai fungsi fisiologis seperti; fungsi reproduksi, sistem imun, fungsi syaraf serta otot. Vitamin E juga berperan sebagai antioksidan yang membantu melindungi tubuh dari efek radikal bebas (Hillan, 2006). Kejadian pada kekurangan vitamin E dapat mempengaruhi system syaraf, mata dan penyakit anemia (anemia hemolitik). Kekurangan vitamin E juga menyebabkan seseorang menjadi beresiko tinggi terhadap terjadinya serangan penyakit jantung dan kanker (Hillan, 2006).

Di alam vitamin E hanya disintesis di dalam tanaman, dan sumber terbanyak dari vitamin E adalah jenis tanaman yang menghasilkan minyak. Semua tanaman tingkat tinggi (kecuali jenis alga) terdapat  $\alpha$ -tokoferol pada daun dan bagian hijau yang lainnya, sedangkan  $\gamma$ -tokoferol terdapat dalam kadar yang kecil. Secara kimiawi vitamin E dibagi menjadi dua kelas yakni, tokoferol dan tokotrienol, dimana setiap kelas terdiri dari 4 (empat) senyawa yang larut dalam lipida yang disintesis oleh tanaman. Keempat senyawa turunan tokoferol dan tokotrienol tersebut dibedakan dengan tanda huruf Yunani yaitu,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , dan  $\sigma$  (Anonim, 2003).

Tokoferol dan tokotrienol dapat dianalisis dengan berbagai metode. Pada tahun 1970, AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) menampilkan beberapa metode analisis konvensional pada  $\alpha$ -tokoferol dan  $\alpha$ -tokoferil asetat yang berbasis pada analisis kolorimetri atau polarimetri dan tehnik kromatografi lapis tipis. Metode Kromatografi Gas (GC) menjadi metode yang dikembangkan kemudian untuk menetapkan senyawa tokoferol dan tokotrienol. Masalah pada metode GC terletak pada titik didih senyawa tokoferol dan tokotrienol yang tinggi dan berdekatan satu sama lain sehingga menyulitkan pada proses pemisahannya. Permasalahan ini dapat diatasi dengan melakukan prosedur derivatisasi sampel dengan menambah senyawa katalisator.

tokoferol dan tokotrienol menjadi bentuk trimetilsilil (TMS). Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah metode yang banyak digunakan untuk menetapkan tokoferol dan tokotrienol dalam sediaan makanan maupun nutrisi lainnya. Semua bentuk tokoferol dan tokotrienol dapat dipisahkan dan ditetapkan kadarnya dengan metode HPLC baik dengan menggunakan detector UV atau fluoresen. Sensitivitas dan spesifisitas metode HPLC lebih tinggi jika dibandingkan dengan menggunakan metode kolorimetri, polarimetri maupun kromatografi gas. Disamping itu penyiapan sampel pada metode GC juga relatif lebih sederhana dan efisien (Xu, 2002).

Indonesia adalah Negara kepulauan dengan sekitar 17.805 buah pulau yang memiliki garis pantai sepanjang lebih dari 80.000 km (Hantoro, 2001). Ekosistem pantai di perairan Indonesia yang beriklim tropis menyediakan beberapa jenis tanaman khas yang bermanfaat. Siwalan atau lontar (*Borassus flabellifer Linn.*) adalah salah satu tanaman jenis palma yang dapat tumbuh baik di ekosistem pantai dan telah diketahui mempunyai banyak manfaat. Sejauh ini bagian yang banyak dimanfaatkan dari pohon siwalan adalah daun dan nira yang dihasilkan dari proses penyadapan yang diperdagangkan dalam bentuk nira segar maupun diolah menjadi produk gula (Mahmud dan Amrizal, 1991). Sementara pada buah yang dimanfaatkan adalah bijinya yang bertekstur seperti gelatin dengan rasa cairan seperti air kelapa (Nurtama dan Naomi, 1996). Buah muda yang rasanya manis dan gurih seperti buah kelapa muda, sehingga dapat digunakan untuk bahan minuman. Pemanfaatan lebih lanjut dapat diolah untuk manisan, buahkaleng, kue dan selai (Amalo, 2008).

Sebagai tanaman jenis palem-paleman maka buah siwalan (*Borassus flabellifer Linn.*) diduga kaya akan kandungan minyak. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha isolasi dan karakterisasi kandungan senyawa larut minyak yang terdapat pada daging buah siwalan khususnya kandungan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol)-nya. Analisis dan karakterisasi dengan metode HPLC menjadi pilihan yang tepat untuk mengetahui komposisi senyawa tokoferol dan tokotrienol dalam daging buah siwalan (lontar).

### C. Perumusan Masalah

1. Bagaimana kandungan tokoferol dan tokotrienol pada daging buah siwalan (*Borassus flabellifer Linn.*) terhadap kandungan vitamin E

2. Bagaimana melakukan analisis kandungan Vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)?

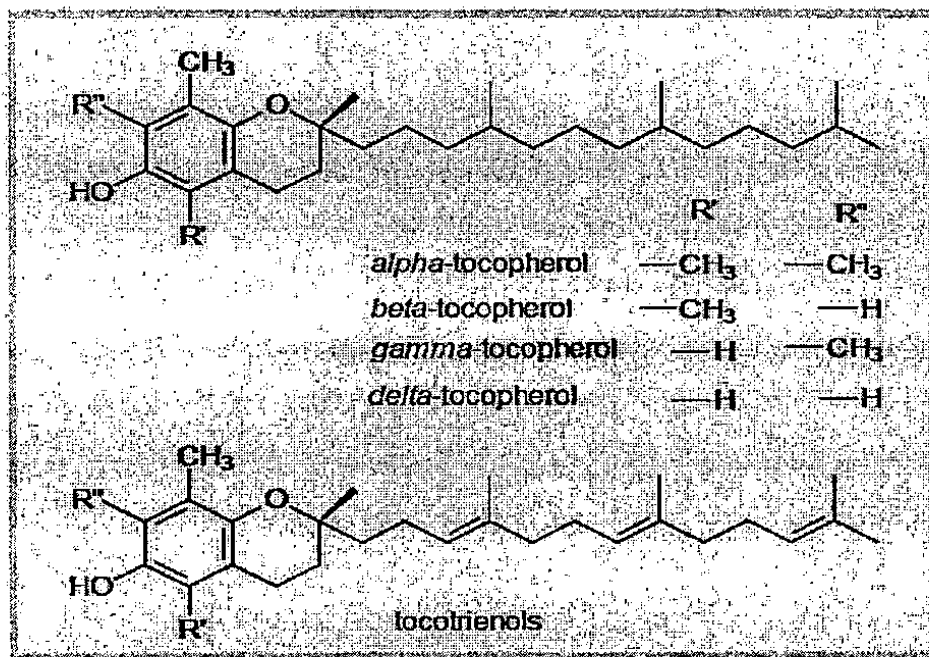
#### D. Tujuan Penelitian

Dengan penelitian ini dapat diketahui kandungan dan komposisi vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) yang terdapat dalam daging buah siwalan atau lontar (*Borassus flabellifer Linn.*) sehingga dapat digunakan sebagai sumber referensi dalam pemanfaatannya dalam produk makanan, kosmetik dan farmasi maupun penelitian lebih lanjut secara farmakologis.

#### E. Tinjauan Pustaka

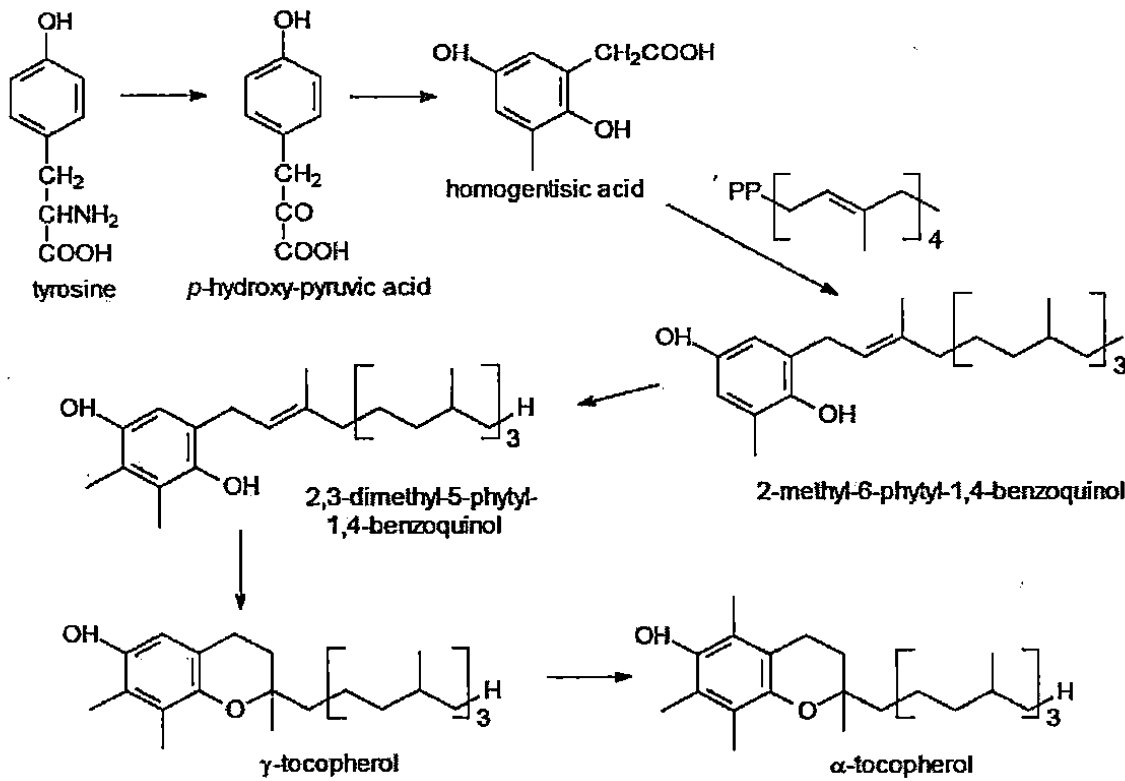
##### 1. Vitamin E; tokoferol dan tokotrienol

Vitamin E selalu diasosiasikan dengan  $\alpha$ -tokoferol, tidak seperti vitamin yang lain yang hanya terdiri dari satu senyawa saja, akantetapi vitamin E terdiri dari 8 (delapan) senyawa yakni, 4 (empat) tokoferol dan 4 (empat) tokotrienol. Keempatnya masing-masing dibedakan dengan tanda huruf Yunani; alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ), dan delta ( $\delta$ ). Tokoferol dan tokotrienol mempunyai persamaan dan perbedaan pada struktur senyawa, yakni terdiri dari bagian kepala (cincin kroman) dan bagaian ekor (rantai fitil pada tokoferol). Semua tokotrienol mempunyai persamaan pada cincin kroman, sedangkan perbedaan pada ekor dimana pada tokotrienol terdapat tiga ikatan rangkap (Papas, 2008).



Gambar 1. Struktur senyawa tokoferol dan tokotrienol (Christie, 2011)

Senyawa tokoferol dan tokotrienol hanya disintesis oleh tanaman dan organism oksigenik lain yang dapat berfotosintesis, serta merupakan komponen diet utama pada binatang dan juga manusia. Tokoferol terdapat di dalam organisme fotosintetik, sedangkan tokotrienol hanya terdapat pada famili tanaman saja. Mekanisme biosintesis tokoferol sudah terelucidasi dengan sangat jelas, dimana melibatkan kopling fitil difosfat dengan asam homogentisat (asam 2,5-dihidrofenilasetat) dan diikuti dengan reaksi siklisasi dan metilasi (Christie, 2011).



Gambar 2. Mekanisme biosintesis tokoferol (Christie, 2011)

Pada berbagai penelitian diketahui bahwa vitamin E yang memiliki aktivitas biologis paling baik adalah bentuk  $\alpha$  dan  $\gamma$ -tokoferol, dan pada penelitian terkini disebutkan bahwa tokotrienol lebih poten daripada tokoferol dalam mencegah penyakit kanker dan kardiovaskuler. Disamping itu tokotrienol juga diketahui mempunyai aktivitas neuroprotektif, antioksidan dan penurun kolesterol yang lebih baik dibanding tokoferol (Yoshida, et.al., 2003).

## 2. Siwalan atan Lontar (*Borassus flabellifer* Linn.)

Di Indonesia dikenal dengan beberapa nama yakni lontar termasuk dalam:

Klas : Liliopsida  
Ordo : Arecales  
Famili : Arecaceae  
Genus : *Borassus*  
Spesies : *Borassus flabellifer* Linn.



Di Indonesia dikenal dengan nama *Lontar*, *Pohon Siwalan* (Banj.), *P. Tuwak* (Tim.), *Lonta* (Minangkabau.), *Ental*, *Etal*, *Lontar*, *Tal* (Jawa), *Taal* (Madura), *Dun Tal* (Sas.), *Jun Tal* (Sumbawa), *Tala* (Sulsel), *Lontara* (Toraja), *Lontoir* (Ambon), *Manggita*, *Manggitu* (Sumba) (Heyne, 1987). Saat ini menjadi flora identitas Provinsi Sulawesi Selatan.

Pohon lontar terdiri atas 2 macam yaitu lontar jantan dan lontar betina. Nira dapat dihasilkan dari lontar jantan dan lontar betina sedangkan buah lontar hanya dapat dihasilkan lontar betina. Pohon lontar berbunga dan berbuah setelah berumur 12-20 tahun. Pemanenan nira berlangsung pada musim kemarau. Umur pohon lontar mencapai 150 tahun, yang memiliki nilai ekonomi hanya sampai 80 tahun (Nuroniah, *et.al.*, 2010).

Pohon siwalan atau lontar (*Borassus flabellifer* Linn) mempunyai banyak manfaat, mulai dari bunga, daun buah dan batangnya dapat dimanfaatkan. Bunya lontar dimanfaatkan dengan diambil niranya, Nira lontar digunakan untuk pembuatan gula lontar, gula lempeng, gula semut, laru, sopi, dan kecap cuka ( Amalo, 2008). Menurut Rosdiati Napitupulu dari LIPI, nira lontar masih dapat dikembangkan untuk menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi seperti etanol. Penduduk setempat seperti di Nusa Tenggara Timur (NTT) dan Minahasa mengolah nira menjadiminumanberalkohol Pengetahuan tradisional tersebut dapat dimanfaatkan sebagai dasar untuk melangkah menuju proses pembuatanbioetanol ( Amalo, 2008). Sedangkan daun lontar dapat dianyam untuk menghasilkan berbagai kerajinan tangan berupa nyiru, keranjang, tempat air, tikar, kipas, aneka tas, tenunan untuk pakaian dan topi (*tilangga* ). Tanpa penganyaman daun lontar dimanfaatkan untuk membuat alat musik *sasando*(alat musik tradisional di Timor), bahan atap rumah, cetakan untuk gula lontar dan pembungkus rokok (Munawaroh, 1999).

Buah lontar yang dimakan adalah bijinya yang bertekstur seperti gelatin dengan rasa cairan seperti air kelapa (Nurtono dan Naomi, 1996). Buah muda yang rasanya manis dan gurih

seperti buah kelapa muda, sehingga dapat digunakan untuk bahan minuman. Pemanfaatan lebih lanjut dapat diolah untuk manisan, buahkaleng, kuedanselai (Amalo, 2008).

### 3. Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau sering diterjemahkan menjadi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah salah satu tehnik analisis utama yang banyak digunakan pada laboratorium analisis. Sejumlah prosedur analisis HPLC telah dikembangkan untuk aplikasi di bidang farmasi, kimia, pangan, kosmetik dan juga kimia lingkungan. Popularitas analisis HPLC adalah terletak pada kemampuannya dalam memisahkan sekaligus mengkuantifikasi suatu sampel. Prinsip pemisahan HPLC yakni, komponen dalam bentuk campuran dipisahkan oleh kolom yang tersusun atas partikel berbasis silica (sebagai fase diam), dengan memompakan solven (sebagai fase gerak) melalui kolom (fase diam). Tergantung pada afinitas spesifik masing-masing komponen (analit) diantara fase gerak dan fase diam, masing-masing komponen analit bergerak melintasi kolom dengan kecepatan yang berbeda-beda serta keluar dari kolom dengan waktu yang berbeda pula (Skoog, 2001). Analit dengan afinitas yang tinggi pada fase gerak akan bergerak lebih cepat melintasi membran, sedangkan yang mempunyai afinitas tinggi pada fase diam akan lebih lambat. Waktu bergerak analit ini yang disebut sebagai *retention time* ( $R_t$ ), bersifat spesifik pada masing-masing analit dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis dan kadar komponen analit tersebut (Skoog, 2001)

Komponen dasar system HPLC meliputi; pompa solven, portal penginjeksi sampel, kolom, dan detector (gambar 3). Kinerja HPLC membutuhkan instrument dengan karakteristik yang tidak terdapat pada kebanyakan sistem *Liquid Chromatography* (LC). Aliran pelarut harus stabil dan terkalibrasi secara akurat dengan kecepatan alir pada rentang 1 mL/ menit – 100 mL/ menit.



Gambar 3. Skema komponen instrument HPLC





gram dan dikeringkan menggunakan oven suhu 70°C. Didapat simplisia kering dan dilakukan perhitungan susut pengeringan.

Simplisia kering masing-masing bagian dihaluskan menggunakan blander dan diayak (disaring untuk menyeragamkan partikel simplisia). Masing-masing serbuk simplisia dilarutkan dalam 200 mL *n*-heksan dalam bejana kaca dan diaduk sampai homogen. Proses ini (maserasi) dilakukan selama 5 hari dan digojok setiap pagi, siang dan sore. Hari ke-5, dilakukan penyaringan dan remaserasi dengan menambahkan masing-masing 150 mL *n*-heksan selama 2 hari dengan perlakuan sama. Hari ke-2 remaserasi dilakukan penyaringan. Hasil penyaringan (filtrat) maserasi dan remaserasi dicampur dan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Larutan pekat yang didapat diuapkan kembali menggunakan cawan porselen dengan kipas angin sampai tidak tercium bau pelarut. Didapat ekstrak siwalan dan dihitung rendemen ekstrak masing-masing bagian.

b. Preparasi ekstraksi sampel basah

Daging buah siwalan segar (sampel) sebanyak 750 gram dibedakan menjadi tiga bagian, masing-masing 250 gram. Ketiga bagian sampel dilarutkan terlebih dahulu menggunakan etanol 70% sebanyak 150 mL selama 24 jam kemudian digojok sampai tercapur rata. Masing-masing bagian ditambahkan 350 mL *n*-heksan dan sesering mungkin digojok. Dipisahkan larutan (filtrat) dengan ampas daging buah siwalan menggunakan penyaring. Filtrat yang didapat dari masing-masing bagian digojok kembali kemudian dipisahkan dalam corong pisah. Diambil bagian fase minyak dan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 50°C.

kipas angin sampai tidak tercium bau pelarut. Didapat ekstrak siwalan dan dihitung rendemen ekstrak masing-masing bagian.

Ekstrak basah dan ekstrak kering yang didapat dihitung perolehan rendemen dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{a}{(1 - \% \text{ susut pengeringan}) \times b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = bobot akhir

b = bobot sampel (simplisia kering/ basah)

\* untuk ekstrak basah  $\rightarrow (1 - \text{susut pengeringan})$  diabaikan = 1

a. Analisis HPLC kandungan vitamin E

Analisis HPLC kandungan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dalam komponen minyak buah Siwalan. Mengeset system HPLC sesuai dengan petunjuk. Membilas sistem dengan fase gerak selama 10 menit dengan kecepatan alir 1,5 ml/ menit selanjutnya menghubungkan kolom dengan detector. Menyetimbangkan kolom dengan fase gerak pada kecepatan alir 1,5 mL/ menit sampai baseline stabil. Menginjeksikan sampel (25-100  $\mu\text{L}$ ) dan dianalisis menggunakan fase gerak dengan kecepatan alir 1,5 mL/ menit (fase normal).

Bagian HPLC	Keterangan
Kolom	C <sub>18</sub>
Dimensi Kolom	4.6 mm x 25 cm
Fase Gerak	Etil asetat/asam asetat/heksana 1:1:198 (v/v/v)
Kecepatan Alir	2 ml/ menit
Ilusi	Isokratik
Detektor	UV-Vis
Panjang Gelombang	295 nm
Suhu	40° C
Volume Injeksi	20 $\mu\text{l}$

## H. Jadwal Pelaksanaan

### 1. Tempat Penelitian

Tempat Penelitian di Laboratorium Penelitian Prodi Farmasi FKIK UMY dan Laboratorium Penelitian Terpadu Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

### 2. Waktu Penelitian

TAHAP KEGIATAN	Minggu				
	I&II	III&IV	V&VI	VII&VIII	IX&X
<b>I. Tahap Persiapan</b>					
1. Pemesanan bahan					
2. Penyiapan laboratorium					
<b>II. Tahap Pelaksanaan</b>					
1. Preparasi isolasi senyawa aktif					
2. Isolasi komponen minyak dari buah siwala/ lontar					
3. Analisis komponen tokoferol dan tokotrienol dengan HPLC					
<b>III. Tahap Penyelesaian</b>					
1. Analisis data					
2. Penyusunan laporan					
3. Pengumpulan laporan					

## I. Hasil dan Pembahasan

### 1. Ekstraksi

Dalam penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua cara yaitu, maserasi kering (ekstraksi kering) dan maserasi basah (ekstraksi basah). Ekstraksi kering dilakukan dengan cara sampel dikeringkan dan diserbuk kemudian dilarutkan dalam *n*-heksan. Dari beberapa sampel hasil pengeringan menggunakan oven suhu 70°C selama 24 jam diperoleh hasil pada tabel 1, sedangkan ekstraksi basah sebelum dilakukan penyaringan fase minyak menggunakan *n*-heksan ditambahkan pelarut etanol

**Tabel 1.** Hasil Berat Simplisia Pengeringan 70°C selama 24 jam

Replikasi	Bobot Sampel	
	Sebelum dikeringkan	Sesudah dikeringkan
1	250 gram	22,86 gram
2	250 gram	21,97 gram
3	250 gram	22,34 gram
	Rata-rata	22,39 gram

Ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini berbentuk ekstrak kental dengan nilai hasil rendemen sebagai berikut:

**Tabel 2.** Hasil Rendemen Ekstrak

Replikasi	Rendemen Ekstrak (%)	
	Ekstrak Kering	Ekstrak Basah
1	4,892	0,113
2	7,632	0,158
3	4,782	0,185
	Rata-rata	0,152

Rendemen ekstrak yang diperoleh sangat rendah karena sebagian besar massa buah Siwalah tersusun dari komponen air, sehingga proses pengeringan menyebabkan susut bobot yang sangat besar, dimana pada ekstraksi kering diperoleh konsentrasi rendemen rata-rata sebesar 5,765 % . Sedangkan pada proses ekstraksi basah rendemen yang dihasilkan juga jauh lebih kecil jika dibanding ekstraksi kering karena proses ekstraksi (cair-cair) dilakukan secara langsung dengan pelarut n-heksan untuk menarik komponen larut minyak dalam buah Siwalan dari dalam massa cair yang didominasi komponen larut air. Kecilnya kandungan komponen minyak menyebabkan rendemen yang dihasilkan juga jauh lebih kecil, yakni dengan rata-rata 0,152 %.

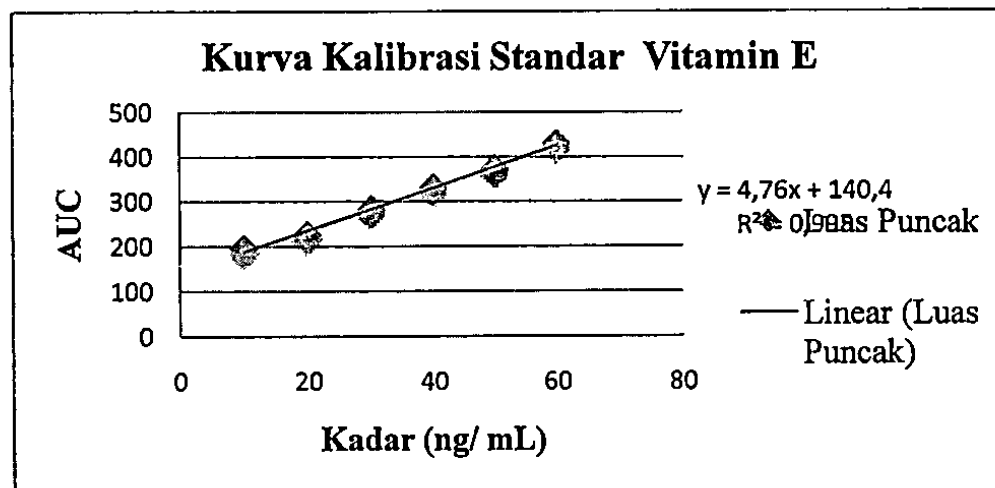
## **2. Validasi Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**

Sistem HPLC yang akan digunakan untuk analisis kandungan vitamin E adalah

Bagian HPLC	Keterangan
Kolom	C <sub>18</sub>
Dimensi Kolom	4.6 mm x 25 cm
Fase Gerak	Etil asetat/asam asetat/heksana 1:1:193 (v/v/v)
Kecepatan Alir	2 ml/ menit
Modus	Isokratik
Detektor	UV-Vis
Panjang Gelombang	295 nm
Suhu	40° C
Volume Injeksi	20 µl

Sumber: Sarikaya and Kayalar, 2011.

Proses validasi yang dilakukan meliputi; 1) Uji kesesuaian system, 2) Linieritas, 3) *Limit of Quantification*, 4) Akurasi, 5) Presisi dan 6) *Recovery* (perolehan kembali). Proses diawali dengan membuat kurva kalibrasi menggunakan senyawa standar vitamin E dengan menggunakan satu seri konsentrasi yaitu, 10, 20, 30, 40, 50, 60 ng/mL. Dari semua seri kadar tersebut diinjeksikan pada system HPLC di atas dengan menggunakan detector UV pada panjang gelombang 291,5 nm. Sehingga diperoleh data luas puncak (Area Under Curve/ AUC) yang kemudian dibuat plot persamaan garis lurus kurva kalibrasi (gambar1).



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar vitamin E

Dari kurva kalibrasi di atas diperoleh persamaan regresi  $y = 4.76 x + 140.4$  dengan  $r^2 = 0.995$ . Nilai korelasi 0.995 membuktikan linieritas hasil pengukuran dengan system yang sudah didesain. Selanjutnya ditentukan nilai parameter validasi

... dengan hasil perhitungan dengan kriteria standar yang berlaku

untuk sediaan farmasi (FDA, 2001). Dari hasil pengukuran dan perhitungan yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa system yang digunakan untuk menganalisis kandungan vitamin E dalam buah Siwalan memenuhi kriteria yang diharapkan dalam proses validasinya (tabel 3).

**Tabel 3.** Nilai Parameter Valisadasi Metode

No	Jenis Pengujian	Kriteria (FDA, 2001)	Hasil
1	Uji Kesesuaian Sistem	% CV <2%	1.34%
2	Kurva Kalibrasi dan Linearitas	Nilai korelasi (R)>0.99, LOQ %error<20% dan titik lain<15%	R=0.995 % error=14.71 %
3	Limit of Quantification (LOQ)	Nilai rata-rata %deviasi<15% dan nilai %CV<15%	10.00%
4	Akurasi	Nilai rata-rata % deviasi <15 % dan nilai % CV < 15 %	15 ng/mL= 9.17 % 35 ng/mL= 3.32 % 55 ng/mL= 0.69 %
5	Recovery	Nilai % recovery antara 80-120%	15 ng/mL= 95.14 % 35 ng/mL= 100.70 % 55 ng/mL= 758.00 %
6	Presisi intra-day	Nilai %CV<15 %	15 ng/mL= 9.17 % 35 ng/mL= 3.32 % 55 ng/mL= 0.69 %
7	Presisi inter-day	Nilai %CV<15 %	15 ng/mL= 7.77 % 35 ng/mL= 1.03 % 55 ng/mL= 2.86 %

### 3. Analisis Kandungan Vitamin E dalam buah Siwalan

Analisis kandungan vitamin E dalam buah Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.) dengan metode HPLC dilakukan menggunakan metode fase normal karena dalam sistem ini fase diam yang digunakan bersifat polar sedangkan fase geraknya bersifat polar. Detektor yang digunakan adalah detektor UV karena pada struktur vitamin E terdapat system ikatan- $\pi$  (kromofor) yang mengabsorpsi sinar UV pada area panjang gelombang 291,5 nm, sehingga senyawa yang dianalisis kompatibel bagi penggunaan detektor UV.

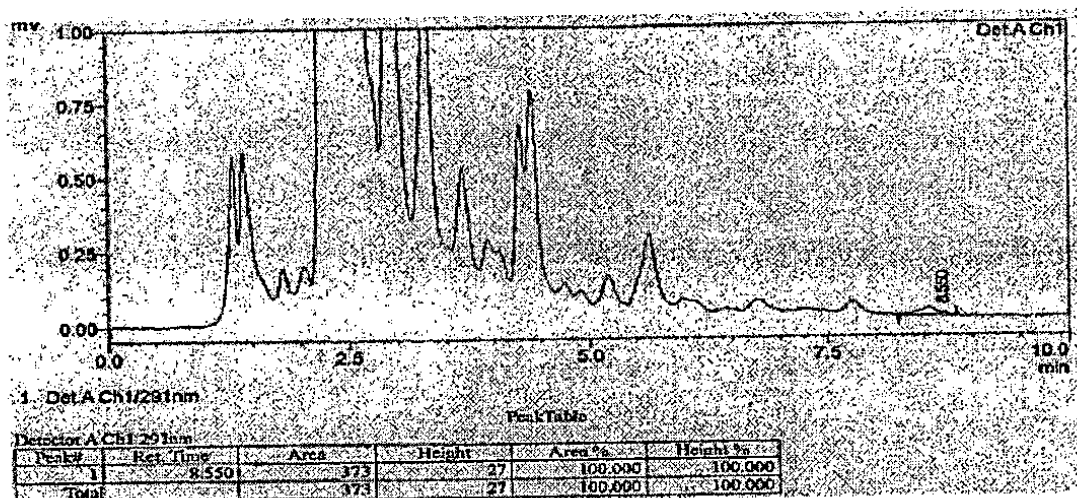
Analisis kandungan vitamin E dalam buah Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.)

basah. Dari hasil analisis pada ekstrak kering diperoleh kadar rata-rata sebesar  $(3,19 \pm 0,12) \%$ , sedangkan analisis terhadap ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi basah didapat hasil rata-rata sebesar  $(4,76 \pm 0,17) \%$  (tabel 4). Hasil analisis kandungan vitamin E dari ekstraksi basah didapat hasil yang lebih besar kemungkinan disebabkan oleh factor stabilitas senyawa vitamin E terhadap pengaruh suhu. Pemanasan yang dilakukan pada proses pengeringan ekstrak menyebabkan rusaknya kandungan vitamin E dalam sampel.

Dari hasil analisis kandungan vitamin E dalam buah Siwalan, tidak dapat dilakukan pemisahan komponen penyusun dalam campuran vitamin E yaitu, tokoferol dan tokotrienol, dikarenakan oleh keterbatasan sensitifitas dan resolusi dari alat HPLC yang digunakan. Sehingga hasil yang diperoleh adalah kadar vitamin E total. Hal ini ditunjukkan dari hasil kromatogram dan data luas puncak yang hanya menunjukkan 1 (satu) puncak (gambar 2).

**Tabel 4.** Hasil Analisis Kandungan Vitamin E Dalam Buah Siwalan

Sampel	Bobot (mg)	Faktor Pengenceran	Volume (mL)	Area	Concentration Calculate	Kadar (% b/ b)	Kadar Rata-rata	SD	% CV
Ekstrak Kering	100	20	10	218	16.303	3.261%	3.19%	0.12%	3.80%
	100	20	10	213	15.252	3.050%			
	100	20	10	218	16.303	3.261%			
Ekstrak Basah	100	10	10	373	48.866	4.887%	4.76%	0.17%	3.50%
	100	10	10	358	45.714	4.571%			
	100	10	10	370	48.235	4.824%			





## J. Kesimpulan

1. Dalam buah Siwalan terdapat kandungan vitamin E dengan kadar rata-rata; ekstrak kering sebesar:  $3.19\% \pm 0.12\%$  dan ekstrak basah sebesar:  $4.76\% \pm 0.17\%$
2. Metode HPLC dengan fase normal dapat digunakan untuk analisis kandungan vitamin E dalam buah Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.)

## K. incian Biaya Penelitian

No	Bahan	Jumlah	Harga
1	Methanol Gradient Grade for Liquid Chromatography Merck	2 L	466200
2	Aqua for Liquid Chromatography	1 L	30000
3	Ethanol Absolute for Analysis	100 mL	34000
4	Standar vitamin E	30 mg	15000
5	Filter Solvent Whatman 0,22 µL	2	200000
6	Spuite injeksi	2	20000
7	Alumunium foil	1	5000
8	Log book	1	5000
9	Kertas label	1	1000
10	HPLC per injek Rp. 25000	60	1500000
11	Full Validasi + Preparasi sampel validasi	7	350000
12	Biaya preparasi sampel	2	20000
13	Biaya lembur	3 hari	150000
	Jumlah		2796200

## L. Lampiran-lampiran

### 1. Daftar Pustaka

Amalo, P. 2008. Multiguna, dari akar hingga nira. *Media Indonesia*. 21 November 2008. Hal 5.

Anonim, 2003, Risk Assessment; Vitamin E, Expert Group on Vitamin and Minerals, <http://www.food.gov.uk/science/ouradvisors/vitandmin/evmpapers>

Christie, W.W., 2011, *Tocopherols and tocotrienols – structure, composition, biology and analysis*, @ <http://lipidlibrary.aocs.org>

- Hantoro W.S. 2001. Low stand sea level and landform changes: climatic changes consequence to epicontinental shelf and fauna migration through Indonesian Archipelago. In Preceeding of: "The environmental and Cultural History and Dynamics of the Australian-Southeast Asian Region" seminar, Melbourne, December 10-12, 1996
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid. 1. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- Hillan, J., 2006, *Facts About Vitamin E*, Department of Family, Youth and Community Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Lam, H., Performance Verification of HPLC @ <http://www.cvg.ca/images/HPLC-PV.pdf>
- Mahmud, Z., dan Amrizal. 1991. Palma sebagai bahan pangan, pakan dan konservasi. *Buletin Balitka* No. 14 Tahun 1991, Hlm 106 – 113. Balai Penelitian Kelapa. Manado.
- Munawaroh, E. 1999. Upaya konservasi dan budidaya lontar (*Borassum flabellifer* Linn.) oleh masyarakat Melolo di kabupaten Sumba Timur Nusa Tenggara Timur. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya, LIPI
- Nuroniah, H.S., dkk., 2010, Lontar (*Borassus flabellifer*, Linn.) Sebagai Sumber Energi Bioetanol Potensial, *Sintesa Hasil Penelitian*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Peningkatan Produktivitas Hutan, Departemen Kehutanan RI.
- Nurtama, B. dan I. Naomi. 1996. Paket industri pembuatan buah lontar (*Borassus flabellifer* Linn.) olahan. *Buletin Teknik dan Industri Pangan* Vol. VII No 2. Halaman 95-99
- Papas, A.M., 2008, *Vitamin E: A New Perspective*, Nutri News, Douglass Laboratories
- Skoog, D.A., and West, D.M., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> edit., pp. 643-649
- Xu, Z., 2002, Analysis of Tocopherols and Tocotrienols, *Protocols in Food Analytical Chemistry* (2002) D1.5.1-D1.5.12, John Wiley and Sons Inc.
- Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. 2003, Comparative study on the action of tocopherols and

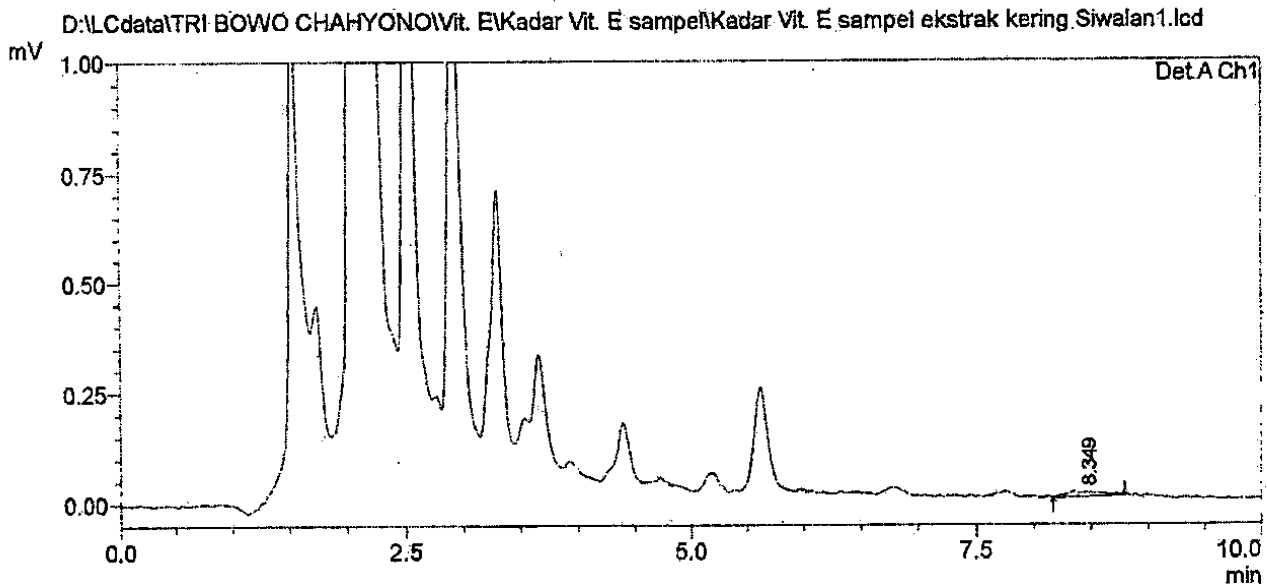


## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan1.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan1.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/24/2013 2:12:08 PM  
 Data Processed : 6/24/2013 2:22:11 PM

### <Chromatogram>



PeakTable

Detector A Ch1 291nm

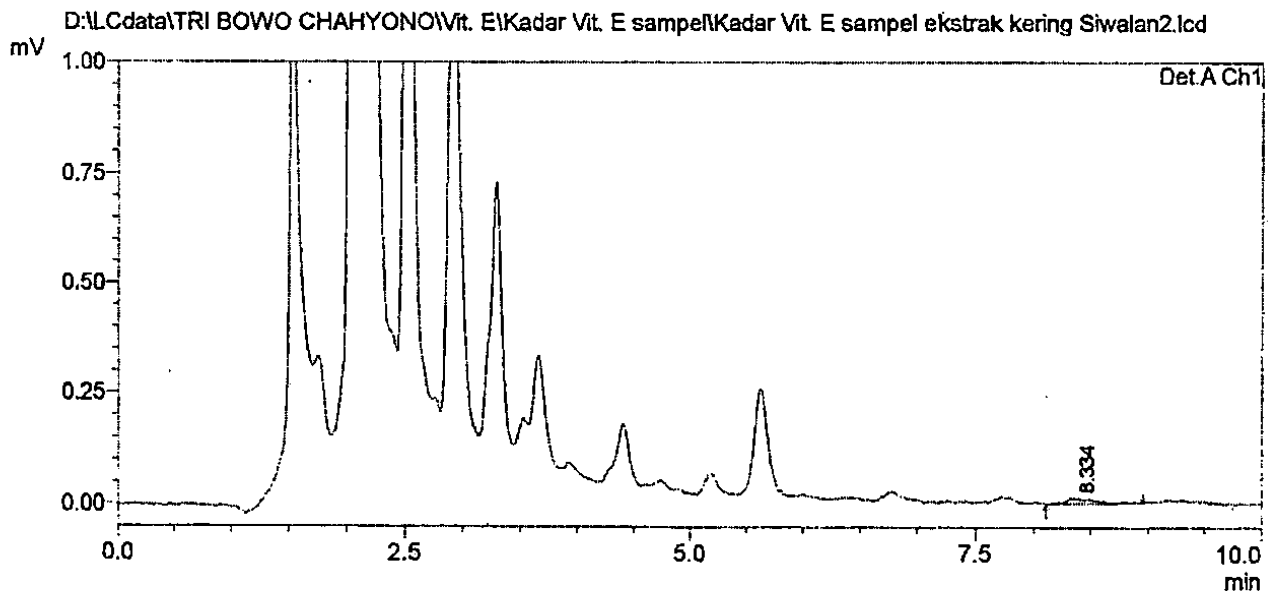
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.349	218	13	100.000	100.000
Total		218	13	100.000	100.000

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan2.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan2.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/24/2013 2:55:05 PM  
 Data Processed : 6/24/2013 3:05:06 PM

### <Chromatogram>



PeakTable

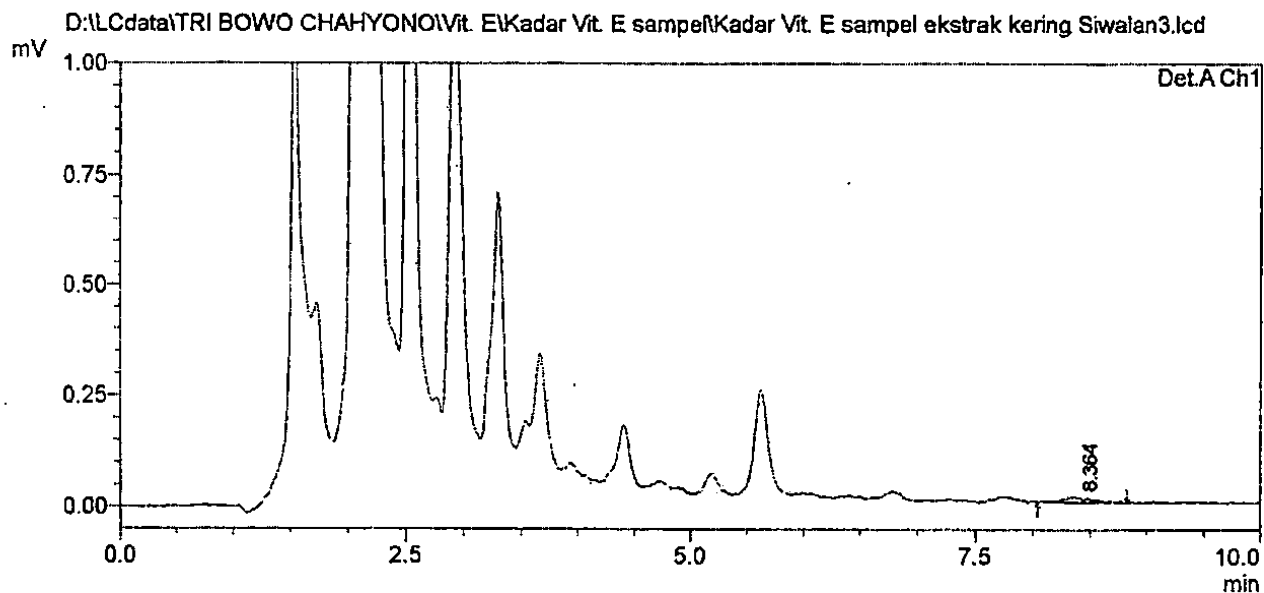
Detector A Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.334	213	12	100.000	100.000
Total		213	12	100.000	100.000

# ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan3.lcd  
 Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak kering Siwalan3.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/24/2013 1:57:47 PM  
 Data Processed : 6/24/2013 2:07:49 PM

## <Chromatogram>



Peak Table

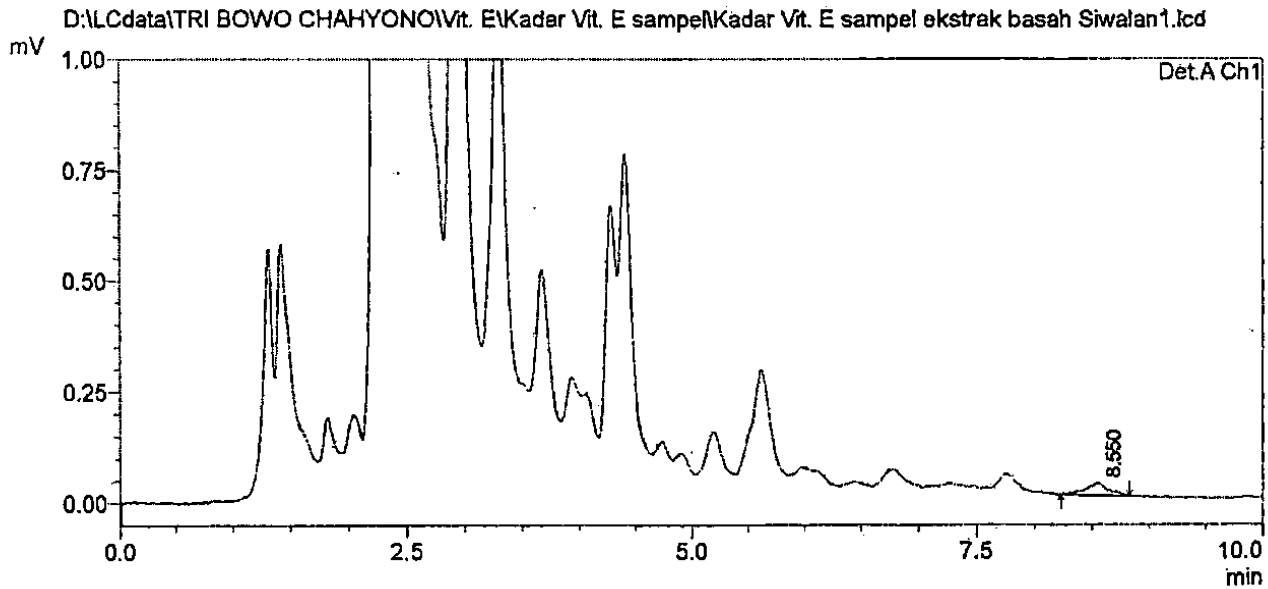
Detector A Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.364	218	12	100.000	100.000
Total		218	12	100.000	100.000

# ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONOW\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan1.lcd  
 Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan  
 Sample ID :  
 Vail # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan1.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/23/2013 1:35:32 PM  
 Data Processed : 6/23/2013 1:45:35 PM

## <Chromatogram>



PeakTable

Detector A Ch1 291nm

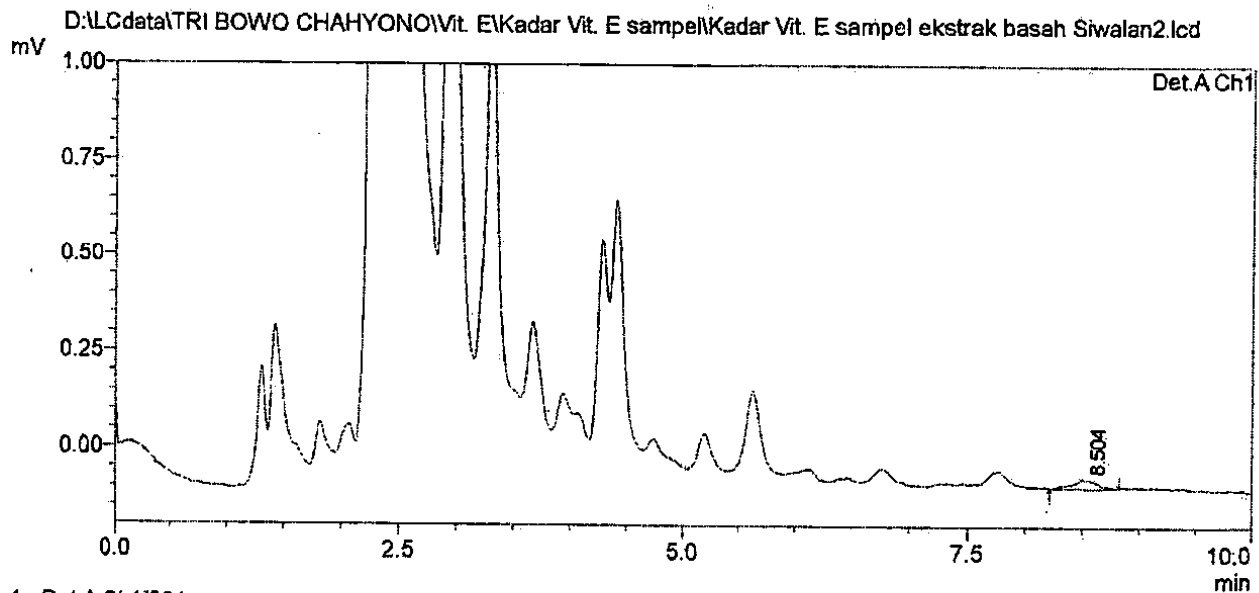
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.550	373	27	100.000	100.000
Total		373	27	100.000	100.000

# ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan2.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan2.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/23/2013 1:22:52 PM  
 Data Processed : 6/23/2013 1:32:56 PM

## <Chromatogram>



PeakTable

Detector A.Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.504	358	24	100.000	100.000
Total		358	24	100.000	100.000

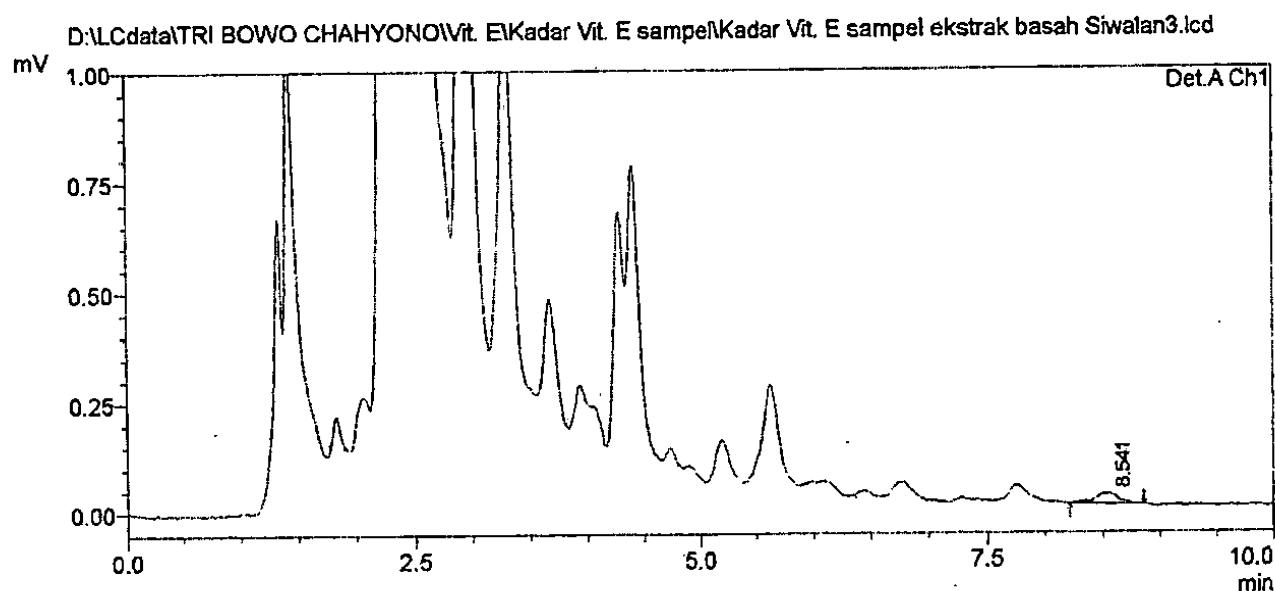


## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONOWit. E\Kadar Vit. E sampel\Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan3.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Kadar Vit. E sampel ekstrak basah Siwalan3.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/23/2013 1:47:00 PM  
 Data Processed : 6/23/2013 1:57:04 PM

### <Chromatogram>



PeakTable

Detector A Ch1 291nm

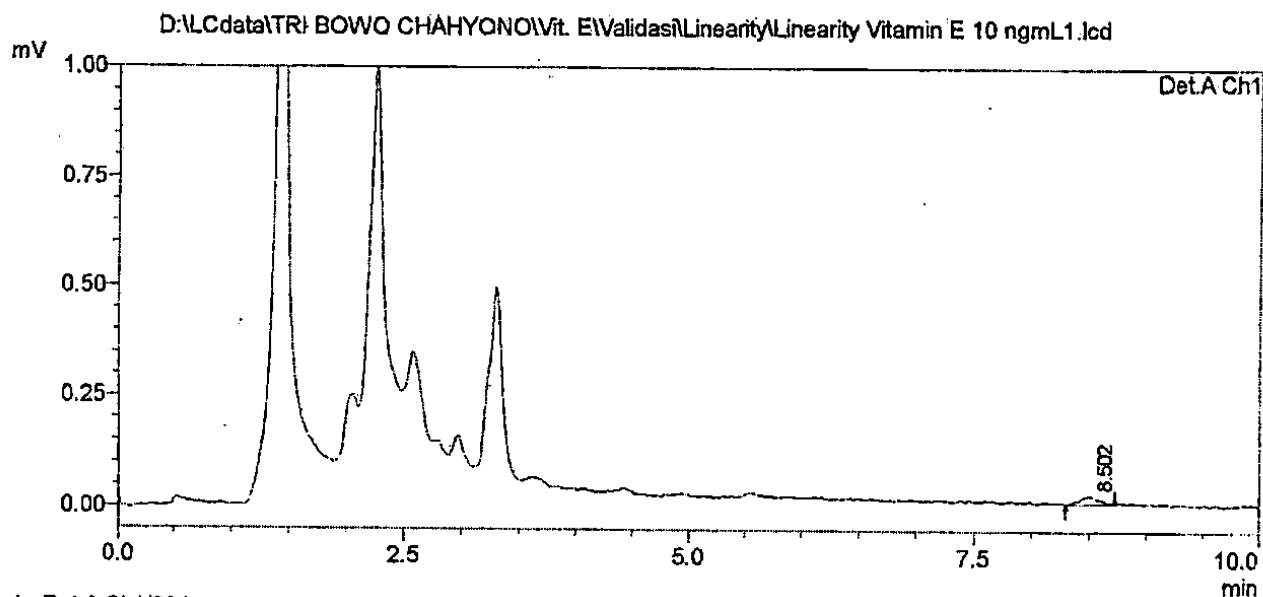
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.541	370	25	100.000	100.000

# ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report =====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 10 ngmL1.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 10 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 10 ngmL1.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 9:22:20 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 9:32:22 AM

## <Chromatogram>



PeakTable

Detector A Ch1 291nm

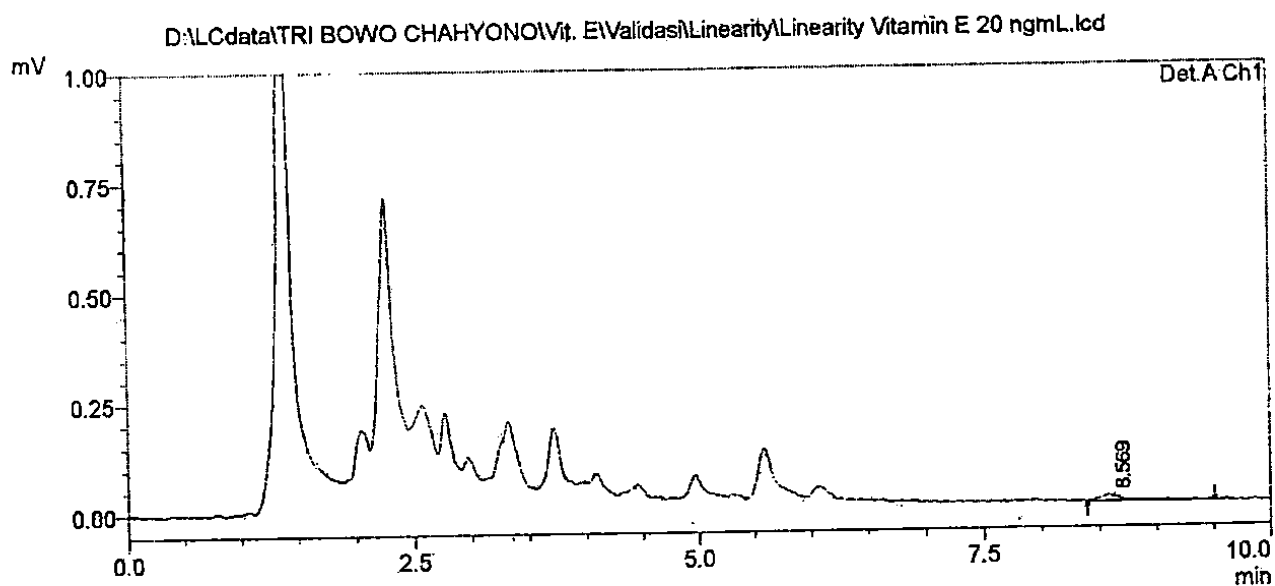
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.502	195	18	100.000	100.000
Total		195	18	100.000	100.000

# ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 20 ngmL.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 20 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 20 ngmL.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 9:34:00 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 9:44:03 AM

## <Chromatogram>



1 Det.A Ch1/291nm

PeakTable

Detector A Ch1 291nm

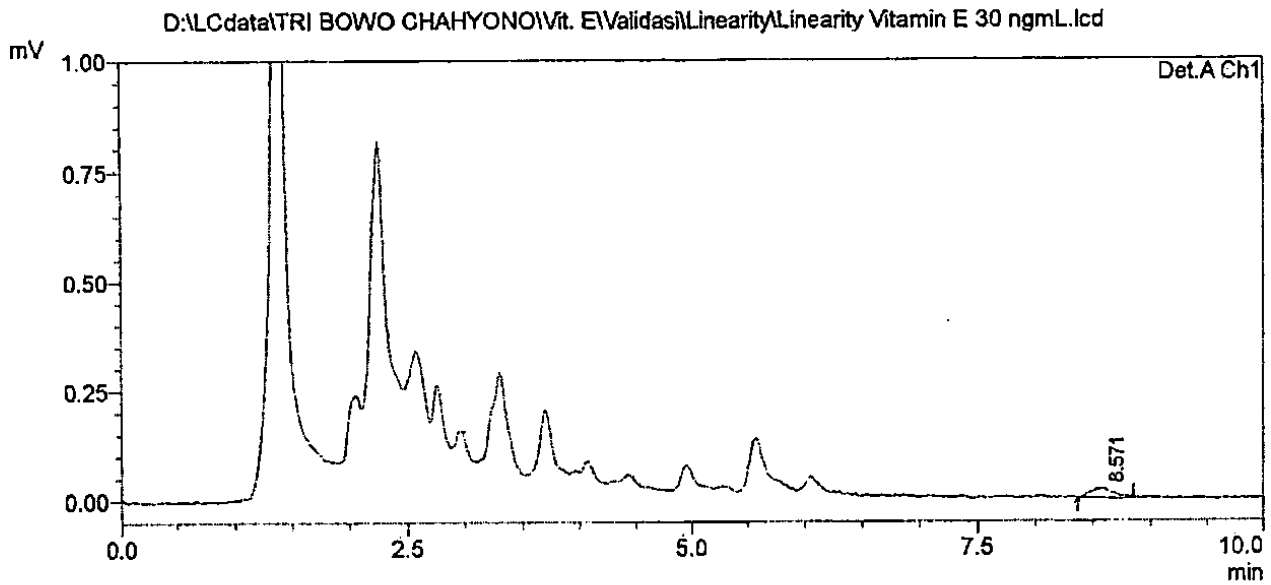
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.569	226	15	100.000	100.000

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 30 ng/mL.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 30 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vail # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 30 ng/mL.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 9:45:47 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 9:55:48 AM

### <Chromatogram>



1 Det.A Ch1/291nm

PeakTable

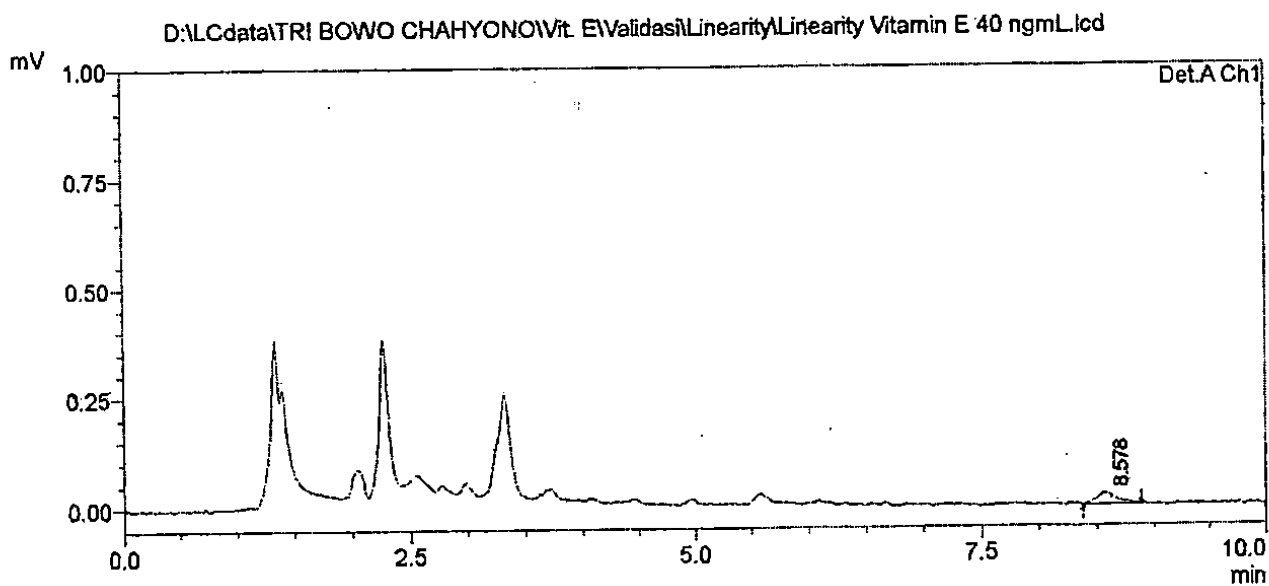
Detector A Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.571	284	21	100.000	100.000
Total		284	21	100.000	100.000

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\Vit. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 40 ngmL.lcd  
 Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 40 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 40 ngmL.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 9:57:55 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 10:07:59 AM

<Chromatogram>



1 Det.A Ch1/291nm

PeakTable

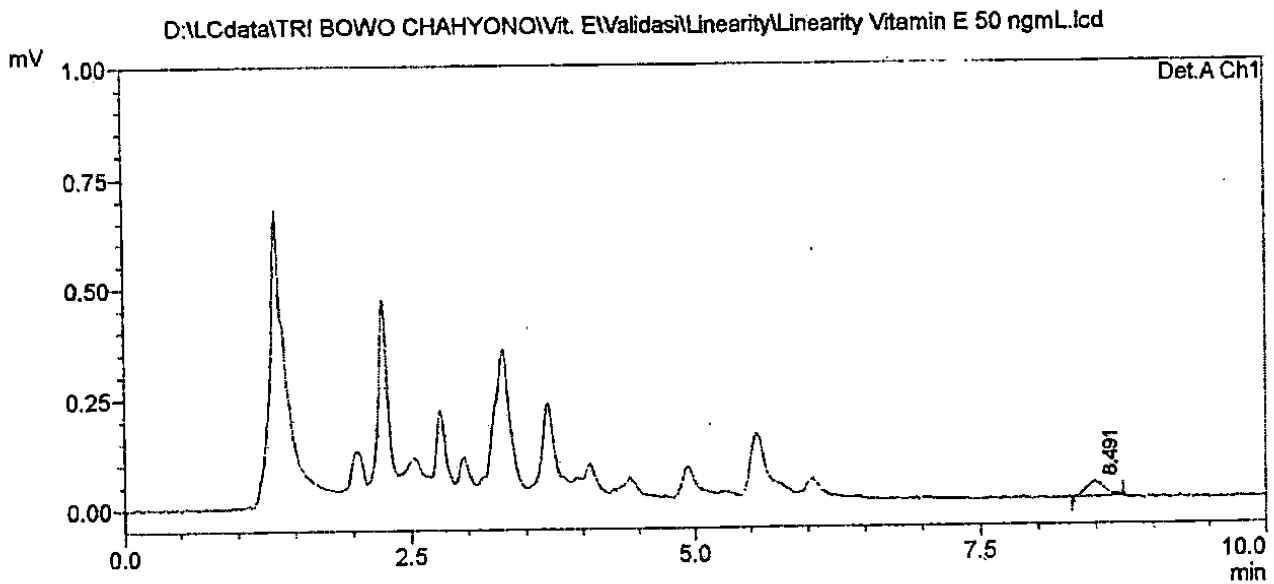
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.578	333	27	100.000	100.000

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\vit. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 50 ngmL.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 50 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 50 ngmL.lcd  
 Method File Name : Metode Vit. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 10:09:35 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 10:19:37 AM

### <Chromatogram>



1 Det.A Ch1/291nm

PeakTable

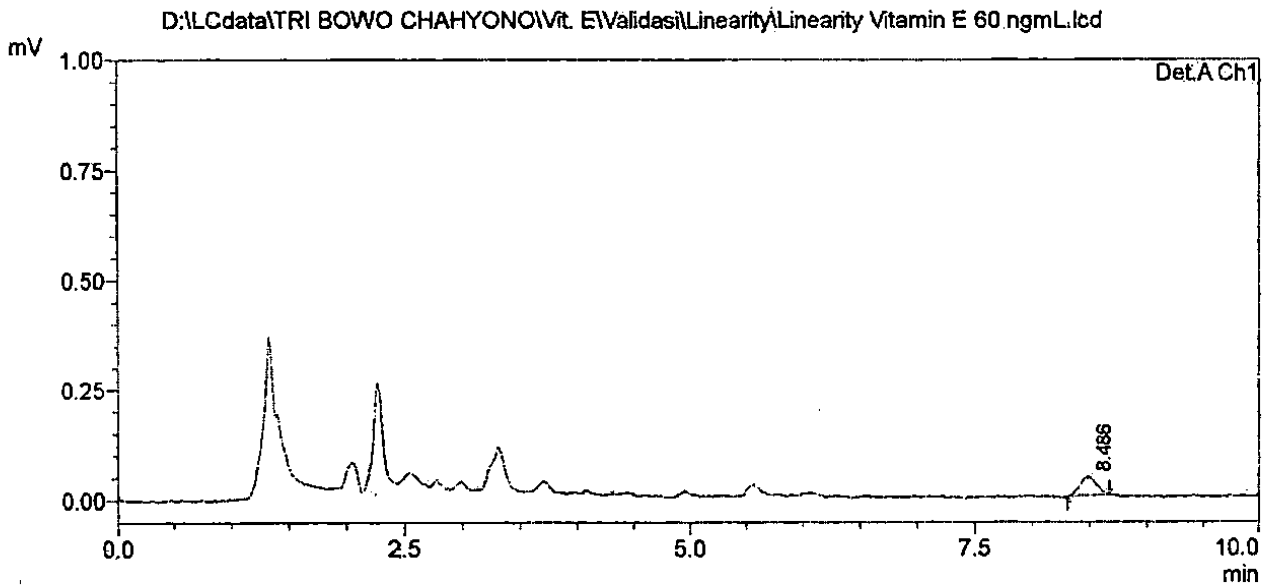
Detector A Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.491	375	33	100.000	100.000

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

D:\LCdata\TRI BOWO CHAHYONO\vt. E\Validasi\Linearity\Linearity Vitamin E 60 ngmL.lcd  
 Acquired by : Admin  
 Sample Name : Linearity Vitamin E 60 ng/mL  
 Sample ID :  
 Vial # :  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : Linearity Vitamin E 60 ngmL.lcd  
 Method File Name : Metode VIt. E.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 6/22/2013 10:21:32 AM  
 Data Processed : 6/22/2013 10:31:35 AM

### <Chromatogram>



1 Det.A Ch1/291nm

PeakTable

Detector A Ch1 291nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.486	429	42	100.000	100.000
Total		429	42	100.000	100.000