

Analisis Kandungan Beta Karoten pada Daun Bayam Merah (*Amaranthus hybridus L.*) dengan Metode Spektrofotometri Visibel

Boy Chandra²⁾, Zulharmita¹⁾, Alfin Dinda Hutri Handayani²⁾

¹⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang
boy_kimia89@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian penetapan kadar β -karoten pada daun bayam merah (*Amaranthus hybridus L.*) dengan dua jenis perlakuan yaitu segar dan rebus. Sampel diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut petroleum eter dan aseton dengan perbandingan 1 : 4, kemudian ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus hybridus L.*), diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, di dapat nilai rata-rata R_f pembanding dan sampel 0,56 yang berarti ekstrak daun bayam merah mengandung β -karoten. Ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus hybridus L.*) diukur secara kuantitatif dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum 451 nm. Hasil menunjukan bahwa kadar β -karoten rata-rata pada daun bayam merah segar adalah $14,6 \pm 0,00575$ mg/kg, dan untuk daun bayam merah yang direbus $8,50 \pm 0,001703$ mg/kg. Validasi metode analisis untuk nilai akurasi diperoleh rata-rata persen perolehan kembali untuk daun bayam merah segar dan rebus yaitu 91,40 % dan 90,45 %. Presisi *intraday* dan *interday* dari konsentrasi 4, 10 dan 14 ppm diperoleh rata-rata persen SBR ≤ 16 %, linearitas dengan koefisien korelasi yaitu 0,9995, batas deteksi yaitu 0,15153 ppm dan batas kuantitasi yaitu 0,50512 ppm. Validasi metode analisis menunjukan bahwa metode ini memenuhi persyaratan parameter validasi. Analisis statistik dengan uji t dua sampel berpasangan menunjukkan bahwa sig 0,000 (P<0,05) dan ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar rata-rata β -karoten pada daun bayam merah segar dan daun bayam merah rebus.

Kata Kunci : bayam merah, β -karoten, spektrofotometer Visibel

ABSTRACT

The research has been done to determine the level of β -carotene on red spinach leaves (*Amaranthus hybridus L.*) with two types of treatment that is fresh and boiled. Samples were extracted from liquid to liquid using petroleum ether and acetone in a ratio of 1 : 4, then red spinach leaf extract (*Amaranthus hybridus L.*), identified by thin layer chromatography with silica gel 60 F₂₅₄ silent phase, in average R_f value same for the comparison and each sample is 0.56 which qualitatively contains β -carotene. Red spinach leaf extract (*Amaranthus hybridus L.*) was measured cunitatively with a visible spectrophotometer at a maximum wavelength of 451 nm. The results showed that the average β -carotene content of fresh red spinach leaf was 14.6 ± 0.00575 mg/kg, and for red boiled leaf spinach 8.50 ± 0.001703 mg/kg. Validation of the method of analysis for accuracy value obtained the average percent recovery for fresh and boiled red spinach leaves of 91.40 % and 90.45 %. *Intraday* and *interday* precision of concentration 4, 10 and 14 ppm obtained mean percent of SBR ≤ 16 %, linearity with correlation coefficient is 0.9995, the limit of detection is 0.15153 ppm and the limit of quantitation is 0.50512 ppm. Validation of the analysis method indicates that this method meets the validation parameter requirements. Statistical analysis with paired paired t test showed that sig 0.000 (P < 0.05) and this shows that there is a difference of average β -carotene content in fresh red spinach leaves and red boiled spinach leaves.

Keywords : red spinach, β -carotene, Visible spectrophotometer

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif adalah penyakit yang menyebabkan kerusakan terhadap jaringan dan organ tubuh. Oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak dan DNA sel dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif. Penyakit-penyakit degeneratif

disebabkan karena radikal bebas. Radikal bebas terbentuk dalam tubuh secara terus menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, serta akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan,

ultraviolet (UV), dan asap rokok (Syaifuddin, 2015).

Beta karoten merupakan provitamin A yang berperan penting bagi pembentukan vitamin A yang berfungsi sebagai antioksidan. Tubuh membutuhkan antioksidan yang bekerja dengan cara mengurangi kecepatan reaksi inisiasi pada reaksi berantai pembentukan radikal bebas dan bermanfaat sebagai pencegahan kanker, beragam penyakit kardiovaskular dan katarak (Madhavi *et al.*, 1995). Antioksidan alami dapat ditemukan pada sayur-sayuran yang mengandung fitokimia, seperti flavonoid, isoflavin, flavon, antosianin, dan vitamin C (Syaifuddin, 2015).

Bayam merah merupakan salah satu sayuran yang mempunyai gizi yang tinggi dan rendah kalori. Keunggulan nilai nutrisi sayuran bayam terutama kandungan vitamin A (beta karoten), vitamin C, riboflavin, dan asam amino tiamin dan niacin. Kandungan mineral terpenting yang terkandung dalam sayur bayam adalah kalsium dan zat besi, yang sangat penting untuk mengatasi anemia (kekurangan darah) (Badarinath *et al.*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya dilakukan penelitian tentang pengaruh proses pengolahan terhadap kadar beta karoten pada jagung (*Zea mays L.*) dengan metode spektrofotometri sinar tampak. Kadar beta karoten untuk jagung yang mentah $10,62375 \pm 0,03600$ ppm, yang dibakar $2,90300 \pm 0,01336$ ppm, dan yang direbus $4,91417 \pm 0,06047$ ppm (Ilahi, 2016). Dalam sebuah penelitian tentang minyak buah merah yang melibatkan proses pemanasan pada tahap perebusan menyatakan bahwa betakaroten tidak stabil pada suhu yang tinggi, sehingga minyak buah merah dapat menurunkan kualitasnya jika suhu dan lama pemanasan yang digunakan tidak tepat (Satriyanto *et al.*, 2012). Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui berapa banyak kandungan beta karoten yang terdapat di dalam

bayam merah yang segar dan direbus. Beta karoten ini akan dianalisis dengan metode spektrofotometri UV – Vis. Metode ini mempunyai banyak keuntungan diantaranya yaitu murah dan mudah digunakan untuk analisis secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert - Beer (Watson, 2005).

Metode Penelitian

Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu UV-1800), timbangan analitik (Precisa), plat KLT Silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), vortex mixer (Gammy Industrial CorpVM-300), pipet tetes, gelas piala (Pyrex), kertas saring, labu ukur, spatel, batang pengaduk, kaca arloji, pipet ukur (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), corong, corong pisah (Pyrex), dan alat-alat gelas yang menunjang penelitian.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus hybridus L.*), betakaroten (Merck), air suling (PT Brataco), aseton (PT Smart Lab Indonesia), butil hidroksi toluen (BHT) (Merck), petroleum eter (PT Brataco), natrium klorida (NaCl) (PT Brataco), dan natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄) (PT Brataco).

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel bayam merah diperoleh dari kebun di daerah Koto Parak Kelurahan Pisang Kecamatan Pauh Kota Padang Provinsi Sumatera Barat.

Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan dideterminasi di Herbarium Universitas Andalas(ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

Ekstraksi Sampel

Perlakuan sampel meliputi :

1) Bayam merah segar

Bayam merah sebanyak 3 kg dicuci bersih dengan air mengalir, pisahkan daun dari ranting nya.

2) Bayam merah rebus

Bayam merah sebanyak 3 kg dicuci bersih dengan air mengalir, pisahkan daun dari ranting nya, direbus selama 3 menit setelah air mendidih,

Tiap perlakuan masing-masing sampel dihaluskan dengan cara diblender kemudian diambil yang mewakili keseluruhan sampel dan ditimbang sebanyak 30 g tiap perlakuan. Penimbangan dilakukan tiga kali untuk masing-masing sampel. Sebelumnya larutkan butil hidroksi toluen (BHT) 0,01 % ke dalam 60 mL aseton di dalam erlemeyer. Larutkan sampel ke dalam petroleum eter : aseton yang berisi butil hidroksi toluen (BHT) 0,01 % dengan perbandingan 1:4 sebanyak 75 mL, lalu di vortex selama 15 menit, lalu saring. Cuci ampas dengan petroleum eter : aseton(1 : 4) sebanyak 75 mL, lalu saring. Kemudian cuci ampas lagi dengan petroleum eter : aseton(1 : 4) sebanyak 60 mL, lalu di vortex lagi, dan saring. Campurkan semua filtrat yang tersaring dan cukupkan volumenya dengan aseton hingga 200 mL dalam gelas piala (Amaya & Kimura, 2004).

Filtrat tersebut kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 500 mL, tambahkan air suling sebanyak 300 mL secara perlahan melalui dinding corong pisah dan 2 mL NaCl jenuh, dikocok selama ± 30 menit lalu didiamkan hingga terbentuk dua fase, yaitu fase petroleum eter dan fase air. Keluarkan fase air dari corong pisah secara perlahan. Tambahkan air suling 200 mL untuk menghilangkan sisa aseton, lakukan sebanyak 3x pengulangan. Keluarkan fase petroleum eter dari dalam corong pisah ke dalam labu ukur 50 mL dengan cara disaring yang di atas kertas saring diletakkan natrium sulfat anhidrat 15 g. Cuci corong pisah dengan pelarut

petroleum eter, dan saring menggunakan natrium sulfat anhidrat. Cukupkan volume ekstrak sebanyak 50 mL dengan petroleum eter dalam labu ukur 50 mL (Amaya & Kimura, 2004).

Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk penjenuhan bejana, tempatkan kertas saring dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring 18 cm dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Masukkan sejumlah larutan pengembang kedalam bejana kromatografi, hingga tingginya 0,5 sampai 1 cm dari dasar bejana. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup kedalam larutan pengembang pada dasar bejana. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, prosedur KLT dilakukan dalam bejana jenuh (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Larutan pengelusi yang digunakan adalah petroleum eter : aseton (9 : 1) (Naid *et al.*, 2012). Plat KLT digunakan plat KLT Silika gel 60 F₂₅₄ (Parwata *et al.*, 2010).

Larutan pembanding beta karoten, dan larutan ekstrak sampel, masing-masing ditotolkan dengan pipet mikro pada lempeng KLT dengan jarak 1,5 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng KLT dan jarak rambat, beri tanda pada jarak rambat. Setelah kering lempeng KLT dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi cairan pengelusi petroleum eter-aseton (9 : 1) (Naid *et al.*, 2012).

Larutan fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totolan jangan sampai terendam. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara, dan bercak diamati dengan lampu UV 254 nm. Diukur dan dicatat tiap-tiap bercak dari titik penotolan. Tentukan harga *Retardation factor* (*R_f*) dan harga *Retardation relative*

(R_r) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten 1000 ppm

Sebanyak 50 mg beta karoten murni ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 30 mL petroleum eter di dalam labu ukur 50 mL, lalu dicukupkan volumenya hingga 50 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat terlebih dahulu larutan beta karoten 500 ppm dengan cara pipet 25 mL larutan induk beta karoten 1000 ppm, masukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian cukupkan volumenya dengan petroleum eter hingga tanda batas, kocok hingga homogen (Naid *et al.*, 2012).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten

Untuk penentuan panjang gelombang maksimum beta karoten dilakukan pada konsentrasi 10 ppm dengan cara dipipet 0,5 mL larutan beta karoten 500 ppm, masukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Tambahkan petroleum eter hingga tanda batas, homogenkan. Setelah itu diukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer Visibel.

Penentuan Kurva Kalibrasi Beta Karoten

Penentuan kurva kalibrasi diawali dengan pembuatan larutan seri standar beta karoten dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm yang dilakukan dengan cara sebagai berikut: Dari larutan betakaroten 500 ppm sebanyak 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL, dan 0,7 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, lalu dicukupkan volumenya dengan menggunakan petroleum eter hingga tanda batas. Setelah itu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Visibel pada panjang gelombang maksimum beta karoten, buat

kurva kalibrasi beta karoten dan tentukan persamaan regresi linearnya.

Penetapan Kadar Beta Karoten

Untuk penetapan kadar betakaroten, ekstrak cair yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu dilarutkan dengan petroleum eter hingga homogen dan dicukupkan hingga tanda batas. Untuk blanko digunakan petroleum eter, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Visibel pada panjang gelombang maksimum beta karoten. Kadar beta karoten dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi $y = a + bx$ (Jones, 2002) :

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{(n \sum x^2 - (\sum x)^2) \cdot (n \sum y^2 - (\sum y)^2)}}$$

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{(n \sum x^2) - (\sum x)^2}}$$

$$a = \frac{\sum y - (b \cdot \sum x)}{n}$$

Validasi Metode Analisis

Uji akurasi

Uji akurasi yang dilakukan dengan metode penambahan baku dengan cara mengekstrak sampel (segar dan rebus) kemudian ditambahkan dengan larutan larutan baku beta karoten sebanyak 80%, 100% dan 120 % dari kadar rata-rata sampel yang terukur. Ukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer Visibel, tentukan kadar menggunakan persamaan regresi linear dan hitung persen perolehan kembalinya (Harmita, 2004).

Uji presisi

Uji presisi (keseksamaan) dilakukan dengan cara buat larutan beta karoten dengan konsentrasi 6 ppm, 10 ppm dan 14 ppm dengan cara pipet sebanyak 0,3 mL; 0,5 mL dan 0,7 mL dari larutan beta karoten 500 ppm, masukan

kedalam labu ukur 25 mL cukupkan dengan petroleum eter sampai tanda batas. Ukur absorban *intraday* (pagi, siang dan sore) dan *interday* (hari pertama, kedua dan ketiga). Hitung simpangan baku relatif dari masing-masing konsentrasi (Harmita, 2004).

Linearitas

Linearitas diuji berdasarkan analisis regresi linear pada kurva kalibrasi dimana koefisien korelasi (*r*) berada pada rentang $0,990 \leq r \leq 1$ (Harmita, 2004).

Uji Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Uji batas deteksi dan batas kuantitasi dilakukan dengan cara membandingkan simpangan baku dengan arah garis linear (*slope*) dari kurva kalibrasi.

Analisis data

Data yang diperoleh diolah secara statistik. Analisis yang dilakukan yaitu uji deskriptif berupa nilai rata-rata, simpangan baku, batas deteksi, batas kuantitasi, uji normalitas data dan uji t dua sampel berpasangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi

Bayam merah yang telah diambil kemudian diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas dengan hasil nama Famili Amaranthaceae, nama Spesies *Amaranthus hybridus* L.

2. Pemeriksaan Ekstrak

Ekstrak daun bayam merah yang diperoleh dalam penelitian ini adalah berupa larutan bening berwarna merah kecoklatan.

3. Dari uji kualitatif yang telah dilakukan yaitu dengan cara Kromatografi Lapis Tipis menggunakan pelarut petroleum eter : aseton (9 : 1), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, sampel daun bayam merah yang segar dan yang direbus mengandung senyawa beta karoten, dimana untuk membanding dan sampel daun bayam merah segar maupun daun bayam merah yang direbus masing masing nya mempunyai rata-rata nilai *R_f* (*retardation factor*) yang sama yaitu 0,56 dan nilai rata-rata *R_r* (*retardation relative*) masing-masing nya juga sama yaitu 1, yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel I. Data Nilai *R_f* pada Daun Bayam merah

No	Pengolahan	Pla	Jarak Noda Sampel (cm)	Jarak Noda Pembanding (cm)	Jarak Pelarut (cm)	Nilai <i>R_f</i> Sampel (cm)	Nilai <i>R_f</i> Pembanding (cm)	Nilai <i>R_r</i> (cm)
1	Segar	1	2	2	3,5	0,57	0,57	1,0
		2	1,9	1,9	3,5	0,54	0,54	1,0
		3	2	2	3,5	0,57	0,57	1,0
Σ						1,68	1,68	3,0
\bar{x}						0,56	0,56	1,0
2	Rebus	1	1,9	1,9	3,5	0,54	0,54	1,0
		2	2	2	3,5	0,57	0,57	1,0
		3	2	2	3,5	0,57	0,57	1,0
Σ						1,68	1,68	3,0
\bar{x}						0,56	0,56	1,0

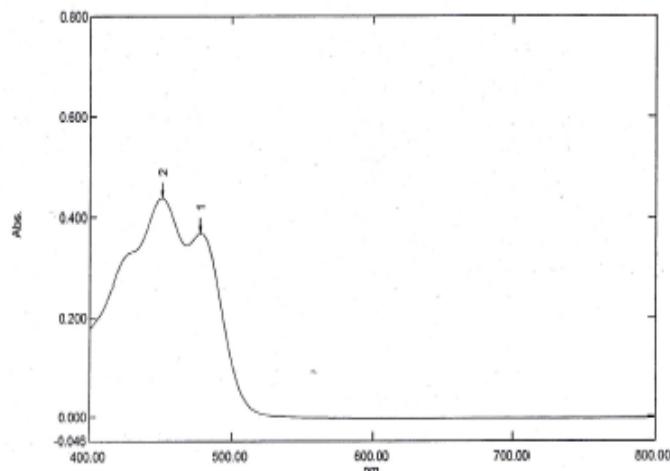
Harga R_r adalah perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu dengan jarak perambatan baku pembanding. Jika zat uji yang diidentifikasi dan baku pembanding itu sama terdapat kesesuaian dalam warna dan harga R_f (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008). Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa sampel daun bayam merah yang segar dan rebus mempunyai nilai R_f yang sama dengan senyawa pembandingnya. Hal ini menunjukkan bahwa sampel daun

bayam merah yang segar dan yang direbus memiliki senyawa beta karoten.

4. Penentuan panjang gelombang pada konsentrasi 10 ppm didapatkan adanya tiga puncak yang dihasilkan, tetapi dipilih absorban yang paling maksimum yaitu 451,00 nm dengan absorban 0,437. Sementara itu menurut literatur panjang gelombang maksimum betakaroten adalah 450,50 nm (Amaya, *et al.*, 2004). Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang memberikan serapan yang maksimum (Tabel II, Gambar 1).

Tabel II. Data Panjang Gelombang dan Absorban Beta Karoten

Panjang Gelombang	Absorban
478,00	0,366
451,00	0,437
468,00	0,343



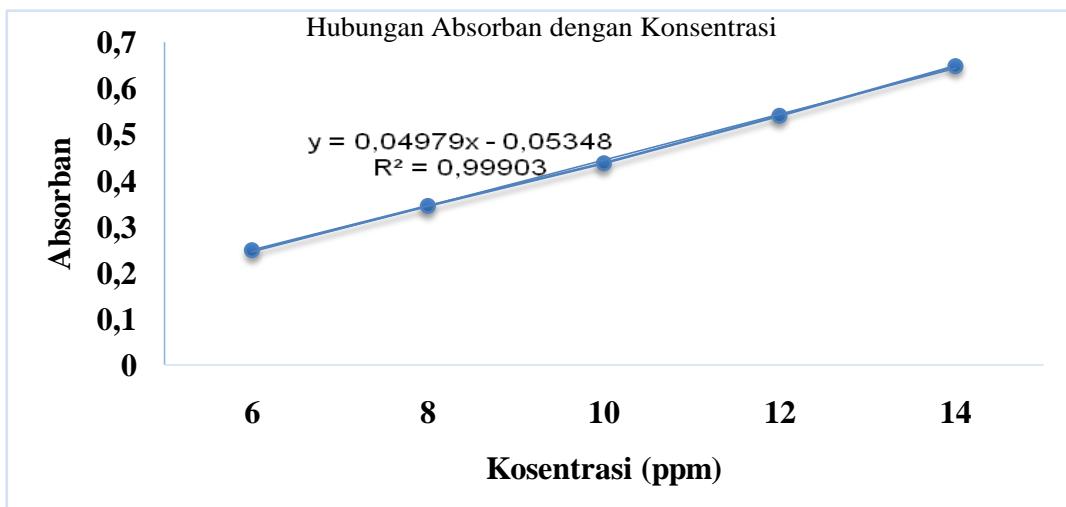
Gambar 1. Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Beta Karoten pada konsentrasi 10 ppm

5. Pembuatan kurva kalibrasi larutan beta karoten dibuat dengan cara membuat seri larutan baku dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12 dan 14 ppm dengan pelarut petroleum eter. Pada pengukuran di peroleh absorban masing-masing 0,249; 0,345; 0,438; 0,541; dan 0,649 dan nilai

koefisien korelasi yang dapat adalah 0,9995 dengan persamaan regresi linear yaitu $y = -0,05348 + 0,04979x$. Nilai koefisien korelasi (r) $= 0,990 \leq r \leq 1$ menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan absorban memiliki nilai yang baik (Harmita, 2004) (Tabel III, Gambar 2).

Tabel III. Serapan Berbagai Konsentrasi Beta Karoten pada Panjang Gelombang Serapan Maksimum 451 nm

Konsentrasi (ppm)	Absorban
6	0,249
8	0,345
10	0,438
12	0,541
14	0,649

**Gambar 2.** Kurva kalibrasi berbagai konsentrasi larutan standar beta karoten terhadap nilai serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum 451 nm

6. Kemudian dilakukan penetapan kadar beta karoten pada daun bayam merah yang dilakukan dengan cara mengukur ekstrak daun bayam merah segar dan rebus dengan menggunakan spektrofotometer visibel. Pada panjang

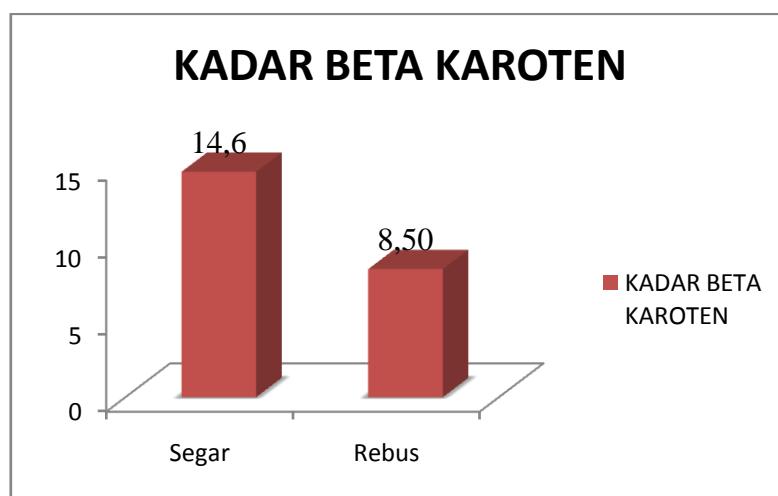
gelombang maksimum 451 nm dan diperoleh absorban untuk sampel daun bayam merah segar 0,386; 0,387; 0,387 dan 0,204; 0,204; 0,205 untuk sampel daun bayam merah rebus (Tabel IV).

Tabel IV. Kadar Beta Karoten pada daun bayam merah

No	Kadar Beta Karoten			
	Beta Karoten pada Daun Bayam Merah Segar		Beta Karoten pada Daun Bayam Merah Rebus	
	Absorban	Kadar (mg/kg)	Absorban	Kadar (ppm)
1	0,386	14,6	0,204	8,32
2	0,387	14,6	0,204	8,6
3	0,387	14,6	0,205	8,6
Rata-rata		14,6	Rata-rata	8,50
SD		0,00575	SD	0,001703

Kadar beta karoten yang didapat pada daun bayam merah untuk yang segar adalah $14,6 \pm 0,00575$ mg/kg, dan untuk daun bayam merah yang direbus adalah $8,50 \pm 0,001703$ mg/kg. Dari data tersebut dapat terlihat bahwa adanya pengaruh

pemanasan terhadap kadar beta karoten. Kadar beta karoten untuk sampel yang direbus mempunyai kadar yang lebih kecil dibandingkan dengan sampel yang segar karena adanya pemanasan (Susilowati, 2008) (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram Kadar Beta Karoten dari Ekstrak Daun Bayam Merah

7. Validasi metode analisis

a. Akurasi

Persen perolehan kembali dengan penambahan larutan baku beta karoten 80 %, 100 % dan 120 % pada sampel daun bayam merah segar diperoleh persen perolehan kembali yaitu 80,30 %, 93,30 % dan 100,59 % dengan rata-rata 91,40 %. Untuk daun bayam merah rebus persen perolehan kembali yang diperoleh yaitu 80,14 %; 87,92 % dan 103,28 % dengan rata-rata 90,45 %. Dari hasil tersebut rata-rata persen perolehan kembali dari daun bayam merah segar dan rebus masuk dalam rentang yaitu 80–110 % (Harmita, 2004)

b. Presisi

Penentuan presisi *intraday* beta karoten dilakukan pada waktu pagi, siang dan sore hari dengan tiga konsentrasi berbeda. Antara konsentrasi dan absorban diperoleh persen RSD pada konsentrasi 6 ppm yaitu 0,20 %; 0,039 % dan 0,78 %. Konsentrasi 10 ppm di peroleh persen RSD yaitu 0,36 %; 1,01 % dan 0,12 %.

Konsentrasi 14 ppm di peroleh persen RSD yaitu 0,44 %; 0,44 % dan 0,14 %.

Penentuan presisi *interday* larutan baku beta karoten dilakukan selama 3 hari berturut-turut pada tiga konsentrasi berbeda. Konsentrasi 6 ppm pada hari pertama, kedua, dan ketiga diperoleh persen RSD berturut-turut antara konsentrasi dan absorban yaitu 0,63 %; 1,22 % dan 1,71 %. Konsentrasi 10 ppm diperoleh persen RSD yaitu 0,15 %; 0,45 % dan 0,39 %. Konsentrasi 14 ppm di peroleh persen RSD berturut-turut 0,48 %; 0,17 % dan 0,10 %. Dari hasil presisi *intraday* dan *interday* yang dilakukan memenuhi syarat validasi metode analisis karena diperoleh persen RSD $\leq 16\%$. Presisi yang dapat diterima jika persen RSD $\leq 16\%$.

c. Linearitas

Hasil kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan absorban memberikan hasil yang linear dengan nilai $r = 0,9995$. Koefisien korelasi di atas menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan absorban memiliki nilai yang lebih baik

karena lebih mendekati 1 sesuai dengan literatur yang menyatakan kriteria penerimaan yaitu nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1 ($0,990 \leq r \leq 1$) (Harmita, 2004).

d. Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Nilai batas deteksi dan batas kuantitas dari beta karoten dengan metode absorban diperoleh yaitu 0,15153 ppm dan 0,50512.

Analisis statistik

Analisis data secara statistik dilakukan dengan uji t dua sampel berpasangan. Sebelum dilakukan uji statistik dengan uji t dua sampel berpasangan, dilakukan uji normalitas data terlebih dahulu. Dimana untuk mengetahui suatu data terdistribusi normal salah satu caranya adalah menggunakan nilai Skewness dan standar errornya, bila nilai Skewness dibagi standar errornya menghasilkan angka ≤ 2 , maka data terdistribusi normal.

Untuk uji normalitas data, hasil bagi antara nilai Skewness dengan standar errornya adalah 1,4138 (≤ 2) yang berarti data terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji t dua sampel berpasangan. Berdasarkan t hitung = 2708,049 dengan Sig. = 0,000 ($< 0,05$) yang berarti H_0 ditolak atau terdapat perbedaan kadar beta karoten pada daun bayam merah segar dan daun bayam merah rebus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Adapun dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Metode spektrofotometri Visibel merupakan metode yang valid untuk analisis beta karoten pada daun bayam merah. Nilai akurasi berada pada rentang 80–110 %, presisi ≤ 16 %, koefisien korelasi (r) yaitu 0,9995, nilai batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi

(BK) adalah 0,15153 ppm dan 0,50512 ppm

2. Kadar beta karoten untuk daun bayam merah segar lebih tinggi dari pada daun bayam merah rebus, dimana untuk daun bayam merah segar diperoleh $14,6 \pm 0,00575$ mg/kg, dan untuk daun bayam merah yang direbus $8,50 \pm 0,001703$ mg/kg.

3. Korelasi antara kedua variabel, yang menghasilkan angka 1,000 dengan nilai Sig. = 0,004 ($< 0,05$) yang berarti bahwa korelasi antara kadar beta karoten pada daun bayam merah segar dan daun bayam merah rebus adalah sangat erat dan benar-benar berhubungan nyata. Berdasarkan t hitung = 2708,049 dengan Sig. = 0,000 ($< 0,05$) yang berarti H_0 ditolak atau terdapat perbedaan kadar beta karoten pada daun bayam merah segar dan daun bayam merah rebus.

3.1 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya melakukan penelitian dengan sampel yang sama, tetapi menggunakan metode yang berbeda atau sebaliknya melakukan penelitian dengan sampel yang berbeda dan metode yang digunakan sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaya, D.B.G.,& Kimura, M. (2004). *Harvest plus handbook or carotenoid analysis* (2nd ed). Washington DC and California: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT).
- Badarinath, A.V., Mallikarjuna, A., Chetty, C.M.S., Ramkanth, S., Rajan, T.V.S., & Gnanaprakash, K. (2010). A Review on In-vitro Antioxidant Methode Comparisons, Correlations and Consideration. *Int. J. Pharm. Tech Res.* 2(2): 1276-1285.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu kefarmasian*, 1 (3), 117 - 135.
- Ilahi, R.G.T.N., (2016). Pengaruh Proses Pengolahan Terhadap Kadar Beta Karoten pada Jagung (*Zea mays L.*) dengan Metode Spektrofotometri Sinar Tampak.(Skripsi). Padang: STIFARM Padang.
- Jones, D.S. (2002). *Statistik Farmasi*. Diterjemahkan oleh Hesty Utami Ramadaniati dan Harrizul Rivai. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1995). *Food antioxidant, technological, toxicological, and health perspectives*. California: Marcel Dekker, inc.
- Naid, T., Muflihunna, A., & Madi, M.I.O. (2012). Analisis Kadar β -Karoten Pada Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Asal Ternate Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 16(3): 127-130.
- Parwata, M.O.A., Ratnayani, K., & Listya, A. (2010). Aktifitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata*
- Satriyanto, B., Widjanarko, S.B., & Yunianta. (2012). Stabilitas Warna Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus*) Terhadap Pemanasan Sebagai Sumber Potensial Pigmen Alami. *JTP*. 13(3): 157-168.
- Susilowati. (2008). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Karotenoid dari Cabe Merah (Capsicum annuum Linn.)*. (Skripsi). Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Syaifuddin. (2015) *Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah Segar dan Rebus dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picylhydrazyl)* (skripsi). Semarang: Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
- Watson, D.G. (2005). *Analisis farmasi: buku ajar mahasiswa farmasi dan praktisi kimia farmasi*(Edisi 2). Penerjemah: W. R. Syarie. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.