

**PENETAPAN KADAR α -TOKOFEROL DALAM MINYAK ZAITUN
(*Olea europaea* L.) DENGAN PELARUT ASETON SECARA
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**



Oleh :
Bella Yunita Kartika Sari
23175054A

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIABUDI
SURAKARTA
2021

**PENETAPAN KADAR α -TOKOFEROL DALAM MINYAK ZAITUN
(*Olea europaea* L.) DENGAN PELARUT ASETON SECARA
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)*

*Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

Bella Yunita Kartika Sari

23175054A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIABUDI
SURAKARTA**

2021

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :

**PENETAPAN KADAR α -TOKOFEROL DALAM MINYAK ZAITUN
(*Olea europaea* L.) DENGAN PELARUT ASETON SECARA
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

Oleh :

**Bella Yunita Kartika Sari
23175054A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 31 Juli 2021

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Dr. Iswandi, M.Farm., Apt

Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.

Penguji :

1. Dr. Nur Aini Harmastuti, M.Si
2. Apt. Vivin Nopiyanti, M.Sc.
3. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.si., Ph.D.
4. Dr. Iswandi, M.Farm., Apt

.....
.....
.....
.....
.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

“ Ya Allah, aku berlindung kepada-Mu dari ilmu yang tidak bermanfaat, hati yang tidak khusyu’, jiwa yang tidak pernah puas, dan do’a yang tidak dikabulkan”.

(HR. Muslim dan an-Nasa’i)

“Hindari terlalu sedih, marah, kecewa, bahkan bahagia. Berusahalah menyikapi semua dengan sewajarnya, karena pada akhirnya dunia ini hanyalah sementara. Ketetapan-Nya menjadi ketetapan terindah ketika usaha dan do’a bertemu dengan apa yang dikehendaki-Nya”

(Dedy Chandra Haludin)

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

Allah SWT

Nabi Muhammad SAW

Kedua orang tua dan keluarga besar tercinta

Sahabat-sahabatku

Pendamping hidupku yang selalu mendukungku

Agama, Almamater, Bangsa dan Negara

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini terdapat jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 11 Maret 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Bella Yunita Kartika Sari', with a stylized flourish at the end.

Bella Yunita Kartika Sari

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT tas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENETAPAN KADAR α -TOKOFEROL DALAM MINYAK ZAITUN (*Olea europaea* L.) DENGAN PELARUT ASETON SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI”** ini merupakan salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada fakultas farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. apt R.A Oetari, SU., M.M., M.Sc selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
3. Dr. apt. Iswandi, S.Si., M.Farm. selaku pembimbing utama yang dengan sabar meluangkan waktu, pengarahan dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
4. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc. selaku pembimbing pendamping yang dengan sabar meluangkan waktu, pengarahan, dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
5. Dr. Nur Aini Harmastuti, M.Si selaku penguji utama yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi ini dapat terlaksanakan.
6. Apt. Vivin Nopiyanti, M.Sc. selaku penguji yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi ini dapat terlaksanakan.
7. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.si., Ph.D. selaku penguji yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga ujian skripsi ini dapat terlaksanakan.

8. Dosen dan karyawan serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.
9. Bapak, ibu tercinta yang selalu memberikan semangat, bantuan do'a dan dukungan baik moril maupun materil selama ini.
10. Rekan Teori 1 yang telah banyak membantu terutama untuk Arsiya Pradana dan Zaitun Nisa yang telah menemani berjuang bersama hingga terselesainya skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya dan bermanfaat untuk masyarakat.

Surakarta, Mei 2021



Bella Yunita Kartika Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Zaitun	5
1. Morfologi dan Klasifikasi Tanaman	5
2. Tempat Tumbuh dan Distribusi Tanaman	6
3. Kandungan Kimia	6
4. Minyak Zaitun.....	7
5. Manfaat Minyak Zaitun.....	8
6. Farmakokinetik Zaitun	8
B. Tokoferol.....	9
1. α -Tokoferol	9
2. β -Tokoferol	10
3. γ -Tokoferol.....	10
4. δ -Tokoferol.....	11

5. Tokoferol Sebagai Antioksidan.....	11
C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	13
1. Instrumentasi KCKT	14
2. Tipe KCKT	16
3. Analisis KCKT.....	17
4. Keuntungan KCKT	18
D. Validasi Metode Analisis	18
1. Kecermatan	18
2. Keseksamaan.....	19
3. Selektivitas	20
4. Linearitas dan Rentang.....	20
5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	21
6. Kekuatan	22
E. Landasan Teori.....	22
F. Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
A. Populasi dan Sampel	25
1. Populasi	25
2. Sampel.....	25
B. Variabel Penelitian	25
1. Identifikasi Variabel Utama	25
2. Klasifikasi variabel Utama	25
3. Definisi Operasional Variabel Utama	26
C. Alat dan Bahan	26
1. Alat	26
2. Bahan	27
D. Jalannya Penelitian	27
1. Pembuatan Larutan Induk	27
2. Pembuatan Fase Gerak	27
3. Optimasi Kondisi Analisis	27
4. Pengujian Sampel	28

5. Pembuatan Kurva Baku	29
6. Validasi Metode	29
E. Analisis Hasil	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Pengujian Bobot Jenis Minyak Zaitun	32
B. Pengujian Indeks Bias	32
C. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	32
D. Penentuan Kecepatan Alir.....	33
E. Validasi Metode	34
1. Linearitas.....	34
2. LOD dan LOQ.....	35
3. Akurasi	36
4. Presisi	37
5. Analisis α -tokoferol dalam sampel minyak zaitun.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
A. Kesimpulan	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Data uji linieritas	34
2. Data penentuan LOD dan LOQ.....	36
3. Data hasil uji akurasi	37
4. Data hasil uji presisi	37
5. Data kadar α -tokoferol dalam sampel	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman Zaitun	5
2. Struktur kimia α -tokoferol	9
3. Struktur kimia β -tokoferol	10
4. Struktur Kimia γ -tokoferol.....	10
5. Struktur kimia δ -tokoferol	11
6. Kromatogram kecepatan alir 0.8 mL/menit	33
7. Kromatogram kecepatan alir 1 mL/menit	34
8. Kromatogram kecepatan alir 1.5 mL/menit	34
9. Kurva kalibrasi standar α -tokoferol	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar alat dan bahan	45
Lampiran 2. Hasil penentuan panjang gelombang larutan baku	46
Lampiran 3. Hasil penentuan panjang gelombang sampel.....	47
Lampiran 4. Hasil kromatogram sampel menggunakan KCKT.....	47
Lampiran 5. Hasil pengujian kecepatan alir.....	49
Lampiran 6. Perhitungan pengenceran kurva baku	50
Lampiran 7. Perhitungan pengenceran pada akurasi.....	51
Lampiran 8. Hasil perhitungan presisi	51

ABSTRAK

Bella Yunita K.S., 2021, PENETAPAN KADAR α -TOKOFEROL DALAM MINYAK ZAITUN (*Olea europaea* L.) DENGAN PELARUT ASETON SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Vitamin E atau α -tokoferol merupakan senyawa yang terkandung didalam minyak zaitun (*Olea europaea* L.) dan bertindak sebagai antioksidan. Sifat α -tokoferol sangat non-polar dan larut lemak. α -tokoferol membutuhkan pelarut yang bersifat non-polar untuk bisa mengekstrak senyawa lebih banyak. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh kadar α -tokoferol dalam minyak zaitun jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO), maka perlu pengembangan pelarut yang mampu menghasilkan kadar α -tokoferol secara maksimal dalam suatu bahan.

Sampel minyak zaitun diuji bobot jenis dan indeks bias kemudian di analisis menggunakan KCKT. Dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektro UV-VIS dan variasi perbandingan dilakukan pada kecepatan alir 0.8 mL/menit, 1 mL/menit, 1.5 mL/menit menggunakan KCKT dihitung dari nilai tR, N, HETP, dan TF. Kemudian dilakukan validasi metode yang mencakup parameter linearitas, LOD, LOQ, akurasi, dan presisi.

Hasil penelitian diperoleh kondisi optimum pada KCKT yaitu panjang gelombang maksimum 286 nm, kecepatan alir 1 mL/menit dan volume injeksi 10 μ L. Kadar α -tokoferol yang diperoleh dalam minyak zaitun jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) yaitu 0,145 ppm dengan nilai koefisien korelasi (r) 0.998, nilai % *recovery* 99.77%, % KV 1.53%. Dari hasil parameter validasi yang dilakukan pada sampel minyak zaitun telah memenuhi persyaratan analisis.

Kata kunci : Minyak zaitun, α -tokoferol, aseton, KCKT.

ABSTRACT

Bella Yunita K.S., 2021, DETERMINATION OF α -TOCOPHEROL IN OLIVE OIL (*Olea europaea* L.) WITH ACETONE SOLVENT BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Vitamin E also known as α -tocopherol, is an antioxidant present in olive oil. Because α -tocopherol is non-polar and fat soluble, it necessitates the use of a non-polar solvent to extract α -tocopherol molecules. To acquire the levels of α -tocopherol in Extra Virgin Olive Oil (EVOO), this study needed to create a solvent capable of producing the highest levels of α -tocopherol in a substance.

The specific gravity and refractive index of olive oil samples were determined before HPLC analysis. The maximum wavelength was determined using a UV-VIS analyzer and different comparisons were carried out using HPLC derived from the values of tR, N, HETP, and TF at flow rates of 0.8 mL/minute, 1 mL/minute, and 1.5 mL/minute. The technique is then validated, which includes linearity, LOD, and other factors.

The results showed that the optimum conditions for HPLC were a maximum wavelength of 286 nm, a flow rate of 1 mL/minute and an injection volume of 10 μ L. The level of-tocopherol obtained in Extra Virgin Olive Oil (EVOO) olive oil is 0.145 ppm with a correlation coefficient (r) of 0.998, percent recovery value of 99.77 percent, and percent KV of 1.53 percent. From the results of the validation parameters carried out on the olive oil sample.

Keywords : Zaitun oil, α -tocopherol, acetone, HPLC.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Vitamin E (tokoferol) dapat diperoleh dari tanaman zaitun dan merupakan salah satu komponen utama dari minyak zaitun. Senyawa antioksidan pada vitamin E sangat dibutuhkan oleh tubuh karena memiliki peranan dalam menghambat proses oksidasi dan menjaga sel dari radikal bebas agar tetap seimbang. Tokoferol merupakan antioksidan yang larut dalam lemak, termasuk ke dalam vitamin E yang sebagian besar terkandung dalam minyak nabati dan nabati. Vitamin E (Tokoferol) yang terkandung dalam minyak zaitun memiliki sifat tidak larut dalam air, larut dalam pelarut lemak seperti minyak, alkohol, aseton, eter. Penelitian Nisa (2010) menyatakan bahwa senyawa α -tokoferol akan semakin banyak larut apabila kepolaran pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi semakin mendekati kepolaran dari senyawa yang terkandung dalam bahan tersebut. Yulianthi *et al* (2017) telah melakukan penelitian pada senyawa α -tokoferol dalam *Sargassum polycystum* menggunakan beberapa kombinasi pelarut, dan menghasilkan kadar α -tokoferol tertinggi pada pelarut aseton, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan analisis α -tokoferol menggunakan pelarut aseton.

Penelitian oleh Martakos *et al* (2019) telah melakukan analisis pada minyak zaitun jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dan *Virgin Olive Oil* (VOO) menggunakan pelarut isopropanol dan menghasilkan kadar α -tokoferol yang cukup tinggi menggunakan instrumen KCKT. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa sifat pelarut sangat berpengaruh dalam mengekstrak suatu senyawa, dimana sifat pelarut yang digunakan harus mendekati sifat kepolaritasan senyawa yang akan dianalisis.

Minyak zaitun (*Olea europaea* L.) jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) sering digunakan dalam hal kecantikan, karena bisa membantu menstimulasi perbaikan sel. *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) diperoleh dari buah zaitun dengan proses ekstraksi mekanis dibawah suhu tertentu, sehingga menghasilkan minyak

yang berkualitas dan mengandung banyak senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi tubuh sebagai sumber antioksidan, antikanker, antibakteri, dan antiinflamasi (Martakos *et al.*, 2019), sehingga pada penelitian ini menggunakan minyak zaitun jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dalam menetapkan kadar senyawa α -tokoferol. Produk yang akan dikembangkan dan metode yang digunakan berbeda dari penelitian sebelumnya harus dilakukan validasi dalam menentukan kadar α -tokoferol, sehingga dapat digunakan untuk menentukan kualitas dan konsistensi suatu hasil analisis (Kalra, 2011).

Validasi metode analisis merupakan parameter suatu penilaian terhadap parameter tertentu yang didasarkan pada pengujian di laboratorium untuk dibuktikan bahwa parameter yang digunakan telah memenuhi syarat penggunaannya (Harmita, 2004). Hasil dari metode validasi dapat digunakan untuk menilai kualitas, reliabilitas, dan konsistensi hasil analisis. Metode validasi harus dilakukan di laboratorium menggunakan standar atau sampel yang sama dengan sampel uji untuk dianalisis secara tetap (Nursiah *et al.*, 2016). Suatu metode analisis yang baku atau standar dapat memberikan hasil analisis yang berbeda jika dilakukan didalam laboratorium yang berbeda, disebabkan karena adanya perbedaan lingkungan kerja, waktu, tempat, serta analisis yang melaksanakannya, maka perlu evaluasi kerja dari metode tersebut. Metode yang harus divalidasi di laboratorium sebelum digunakan sebagai metode analisis tetap antara lain metode non-standar, metode yang didesain atau dikembangkan metode standar yang digunakan di luar ruang lingkup (rentang) yang ditentukan dan mengalami modifikasi (Leny, 2017). Dalam melakukan validasi ada beberapa parameter diantaranya yaitu linearitas, presisi, akurasi, spesifisitas, batas deteksi (LOD), batas kuantitas (LOQ), kekuatan atau *robustness* (Shabir., 2003). Dalam melakukan validasi metode analisis tidak harus mengerjakan semua parameter validasi, tetapi didasarkan pada penilaian yang dilakukan oleh analisis yang akan melakukan validasi (Ajay dan Rohit, 2012).

Analisis vitamin E pada minyak zaitun dapat dilakukan menggunakan metode seperti Kromatografi Gas (KG), Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Senyawa tokotrienol dan tokoferol

dapat ditetapkan menggunakan metode Kromatografi Gas (GC), tetapi karena titik didih senyawa tokotrienol dan tokoferol sangat berdekatan sehingga menyulitkan proses pemisahannya maka menjadi kelemahan pada metode kromatografi gas (Widada, 2013). Penelitian ini menggunakan metode KCKT fase terbalik (*reversed-phase*) karena memiliki beberapa kelebihan yaitu waktu analisis cepat, kemudahan pencapaian kesetimbangan pada fase gerak, memiliki stabilitas dan sensitivitas tinggi, serta sistem pelarut fase gerak (metanol) lebih ramah lingkungan. *Reserved-phase C₁₈-bonded silica* dapat digunakan untuk menganalisis jenis tokoferol tertentu termasuk senyawa α -tokoferol (Martha *et al.*, 2013)

Berdasarkan uraian diatas tujuan penelitian ini untuk penentuan kadar α -tokoferol dalam minyak zaitun jenis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) menggunakan pelarut aseton menggunakan KCKT. Metode ini didasarkan pada parameter linearitas, presisi, akurasi, deteksi batas (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Manfaat dari penelitian ini diharapkan bisa memperoleh analisis metode yang valid dalam menentukan kadar α -tokoferol menggunakan KCKT.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian adalah :

Pertama, bagaimanakah optimasi kondisi analisis α -tokoferol menggunakan KCKT?

Kedua, berapakah kadar α -tokoferol yang dihasilkan dalam minyak zaitun metode KCKT menggunakan pelarut aseton?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah :

Pertama, memperoleh kondisi analisis yang optimal pada α -tokoferol menggunakan metode KCKT.

Kedua, untuk mengetahui kadar α -tokoferol pada minyak zaitun menggunakan pelarut aseton.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian diharapkan dapat diperoleh metode yang valid dan dapat dipercaya menggunakan alat KCKT sehingga bisa digunakan sebagai acuan dalam proses analisis selanjutnya dari senyawa α -tokoferol dalam minyak zaitun.