

ENKAPSULASI ISOLAT BETA KAROTEN EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* Ellis) SEBAGAI STANDAR ANALISIS TOTAL KAROTEN

I.B K.W. Yoga*, I M. Siaka, N.M. D. Wahyuni, N.W.T. Dewi

Laboratorium Penelitian Terpadu, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung-Indonesia

[*anargya696@gmail.com](mailto:anargya696@gmail.com)

ABSTRAK: Isolat beta karoten ekstrak etanol daun kacapiring yang diisolasikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) memiliki tingkat kemurnian 86,29%, hal ini dapat dijadikan inovasi dan diaplikasikan sebagai standar mengingat semakin langka dan mahalnya standar yang beredar dipasaran. Salah satu teknik pengawetan senyawa aktif agar memiliki umur simpan yang panjang adalah melalui enkapsulasi. Tujuan penelitian ini adalah memproduksi enkapsulan isolat beta karoten ekstrak daun kacapiring yang dianalisis secara spektrofotometri terhadap profil spektrum produk enkapsulasi isolat beta karoten. Metode penelitian yaitu membuat produk enkapsulan dengan menambahkan 0,02 g isolat pada 2,5 g enkapsulan, serta dilakukan 3 kali pengulangan. Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif. Isolat fraksi non polar dari 2 g ekstrak kasar adalah $0,1492 \pm 0,0002$ g, dan $0,02438 \pm 0,0011$ g isolat murni beta karoten, kemudian dicampurkan dengan 2,5 g enkapsulan sehingga konsentrasi beta karoten dalam enkapsulan 0,97%. Kurva standar dibuat pada konsentrasi 24,38 - 97,53 ppm yang menghasilkan persamaan regresi $y = 0,0014x - 0,0025$ dengan R^2 bernilai 0,9984, sedangkan persamaan regresi standar murni adalah $y = 0,0758x - 0,0107$ dengan R^2 sebesar 0,9991 sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat beta karoten dari ekstrak daun kacapiring dapat dipergunakan sebagai standar serta potensi isolat aktif terkoleksi dapat dikembangkan sebagai produk nutraceutical atau farmaseutikal

Kata kunci : beta karoten; daun kacapiring; enkapsulasi; standar analisis

ABSTRACT: Beta carotene isolated from ethanol extract gardenia leaves by thin layer chromatography (TLC) preparative has purity of 86.29% therefore it can be improved for innovation and applied as a standard analysis because the standard is rare and expensive. One of the technique to increase the self life of the standard of pure active compound is by encapsulation. The purpose of this research is to produce encapsulant of beta carotene isolated from gardenia leave extract and analyzed by spectrophotometry. The method was conducted by mixing 0.02 g of pure isolate with 2.5 g of maltodextrine 5% as encapsulant with 3 replicates. The result show that 2 g of crude extract yield of non polar fraction is 0.1492 ± 0.0002 g, and $0,02438 \pm 0,0011$ g of beta carotene isolate (0.97%). The standard curve made from isolate solution with concentration of 24.38 -97.53 ppm gave a equation of regression of $y= 0.0014x - 0.0025$ with R^2 value of 0,9984. The results were compared to the one made of pure standar beta carotene with concentration of 2.5-12.5 ppm that resulted the equation of $y = 0.0758x - 0.0107$ with R^2 value of 0.9991. The conclusion of this experiment is that beta carotene isolated from Gardenia leave can be used as a standard to determine of beta carotene of samples and can be improved to be nutraceutical or pharmaceutical product.

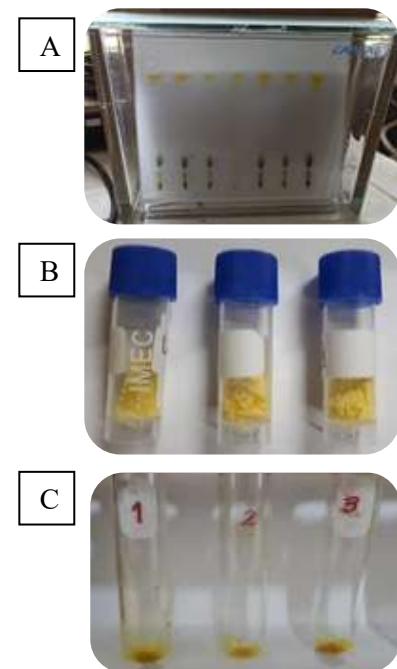
Keywords: beta carotene; gardenia leaves; encapsulation; standard

1. PENDAHULUAN

Beta karoten adalah pro vitamin A, penyebaran senyawa ini cukup luas, disetiap tanaman tingkat tinggi, karena keberadaannya selalu tersembunyi di balik hijaunya warna daun. Hal ini dapat diketahui dengan melakukan pemisahan menggunakan teknik kromatografi baik kromatografi lapis tipis preparatif (KLTp) pada Gambar 1a, maupun dengan kromatografi kolom, menggunakan fase gerak dominan mengandung pelarut non polar seperti n-heksan, maupun petroleum eter. Hasil pemisahan sangat jelas dengan Rf yang sama dengan standar beta karoten murni. Gambar 1b menunjukkan hasil kerokan isolat beta karoten dengan KLTp yang masih bercampur dengan fase padat (selulose) dan hasil pemurnian isolat fraksi beta karoten (1c) yang berhasil dikoleksi untuk diaplikasikan sebagai standar beta karoten.

Isolat hasil isolasi dengan KLTp memiliki keterbatasan dalam hal mudah rusak karena pengaruh oksigen (mengalami oksidasi). Karotenoid sangat sensitif terhadap cahaya, panas, oksigen, asam, dan basa. Terekspose langsung oleh cahaya matahari/ UV, menyebabkan fotoisomerisasi cis-trans yang kemungkinan menyebabkan foto destruksi. Bahan biologis yang mengandung karotenoid dan terlarut harus dilindungi pengaruh cahaya [1], disamping itu penyimpanan yang kurang baik membuat isolat akan cepat mengalami penurunan mutu. Salah satu penanganan isolat yang bisa dilakukan adalah dengan inovasi menyalutkan isolat yang terkoleksi dengan bahan enkapsulasi. Palupi menyatakan bahwa enkapsulasi mampu mengikat/ menjerat bahan aktif, dan memberikan perlindungan terhadap komponen aktif yang sensitif terhadap oksidasi, hidolisis, penguapan [2], sehingga mampu memperpanjang umur simpan [3]. Bahan penyalut enkapsulasi seperti maltodekstrin, alginat, gum arab,

yang dikombinasi dengan penambahan emulsifier berupa tween 80. Ekstrak bunga kecombrang yang dimikroenkapsulasi dan menunjukkan perlakuan terbaik 1:2 gelatin dan maltodekstrin [4]. Enkapsulasi pigmen karotenoid *Neurospora intermedia* [5], diperoleh perlakuan terbaik pada campuran gelatin : maltodekstrin : ekstrak (1:2:1). Enkapsulan tunggal maltodekstrin dan tween 80 diaplikasikan pada ekstrak buah pandan [6], dengan menerapkan metode ini maka akan dicoba untuk membuat produk enkapsulasi isolat beta karoten dengan maltodekstrin dan tween 80 sebagai emulsifier.



Gambar 1. KLTp fraksi non polar ekstrak etanol daun kacapiring (A), Isolat beta karoten hasil TLC yang bercampur dengan selulose (B), Isolat murni (C)

Hasil penelitian pendahuluan lama waktu kontak bahan penyalut dan bahan inti pada ekstrak daun kacapiring, diperoleh waktu optimum homogenisasi adalah 60 menit dengan kadar senyawa aktif dan kapasitas antioksidan tertinggi. Yogaswara memilih

waktu homogenisasi selama 30 menit pada proses enkapsulasi pewarna buah pandan [7]. Berdasarkan hal tersebut maka pengembangan daya guna isolat beta karoten dari ekstrak daun kacapiring diolah menjadi produk enkapsulan yang dibuat dengan memilih komponen penyalut tunggal dari maltodekstrin.

2. PERCOBAAN

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan yang diperlukan adalah ekstrak daun kacapiring, etanol 96% (Brataco), alkohol pa (Merck), n-propanol (JT Baker), hexane (Merck), aseton (Merck), metanol (Merck), n-heksan (Merck), kertas saring, oven, spatula, tabung reaksi (pyrex), evaporator (IKA). Instrumen yang digunakan adalah spektrofotometer UV Vis (Shimadzu 1800).

2.2 Metode

Persiapan Ekstraksi dan Fraksinasi Bubuk Simplesia Daun Kacapiring

Bubuk daun kacapiring kering oven suhu 45°C (2 x 24 jam), diayak 40 mesh 100 g diekstrak dengan maserasi menggunakan etanol (1:10) 24 jam. Filtrat dievaporasi pada suhu 40°C, kecepatan putar 100 rpm dan tekanan 50 mBar. Ekstrak kasar difraksinasi cair-cair dengan n-heksan dan air (70:30), selanjutnya fraksi heksan dikoleksi dan diuapkan, dipurifikasi dengan TLC preparatif menggunakan larutan pengembang n-heksan : aseton: n-propanol dengan perbandingan 85 : 15 : 0,45. Isolat beta karoten dikoleksi, dilarutkan, diuapkan dan diformulasikan pada produk enkapsulan.

Pembuatan produk enkapsulan

Maltodektrin ditimbang 2,5 g dilarutkan dalam 50 ml aquades, ditambah 0,5 ml twen 80, dan diformulasikan dengan

isolat beta karoten yang terkoleksi, selanjutnya dihomogenisasi 1 jam, dikeringkan 50°C (2 x 24 jam) dan dihaluskan serta dicetak menjadi tablet menggunakan *hydraulic press*.

Scanning Panjang Gelombang Maksimum

Enkapulasi isolat beta karoten dilarutkan dengan heksan hingga volume 5 ml, selanjutnya dilakukan *scanning* panjang gelombang maksimum pada λ 200-800 nm dengan interval 1 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil *scanning* berupa spektrum dengan panjang gelombang maksimum tertentu, selanjutnya dibandingkan dengan spektrum beta karoten untuk interpretasi hasil.

Pembuatan Kurva Regresi Linier

Enkapsulan isolat beta karoten diencerkan dan dibuat beberapa titik konsentrasi 25-100 ppm sebanyak masing-masing 5 ml. Kemudian dibaca pada λ maksimum. Data absorbansi hasil pembacaan spektrofotometer di plot dan dibuat persamaan regresi linier.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar air bubuk simplia

Kadar air sebagai parameter penting terhadap simplisia kering untuk diekstraksi, dengan syarat di bawah 10%. Bubuk simplisia lolos ayakan 60 mesh, mengandung kadar air sebesar 8,5%. Hal ini mengindikasikan bahwa bubuk simplia daun kacapiring sudah memenuhi syarat sebagai bahan kering untuk diekstraksi.

Rendemen ekstrak bubuk simplisia

Ekstraksi bubuk simplisia daun kacapiring menggunakan etanol 96%. Etanol adalah pelarut efektif untuk ekstraksi polar dan beberapa komponen non polar. Etanol lebih baik digunakan

Tabel 1. Rendemen Isolat Fraksi Non Polar

Ulangan	Ekstrak Kasar (g)	Isolat fraksi non polar (g)
U1	2	0,1469
U2	2	0,1493
U3	2	0,1513
Rata-Rata		0,1492
SD		0,0022

untuk proses ekstraksi produk pangan dan obat-obatan, karena etanol memiliki profil toksik yang baik dengan limit residu menurut FDA 0,5% [8]. Etanol juga memiliki titik didih rendah, sehingga lebih mudah menghilangkan residu dari produk, dilaporkan juga lebih efektif untuk ekstraksi flavonoid dan zat aktif lain dari tanaman [9]. Teknik ekstraksi yang digunakan adalah maserasi sederhana, menghasilkan ekstrak dengan konsistensi kental sebanyak 8,69% (Gambar 2).



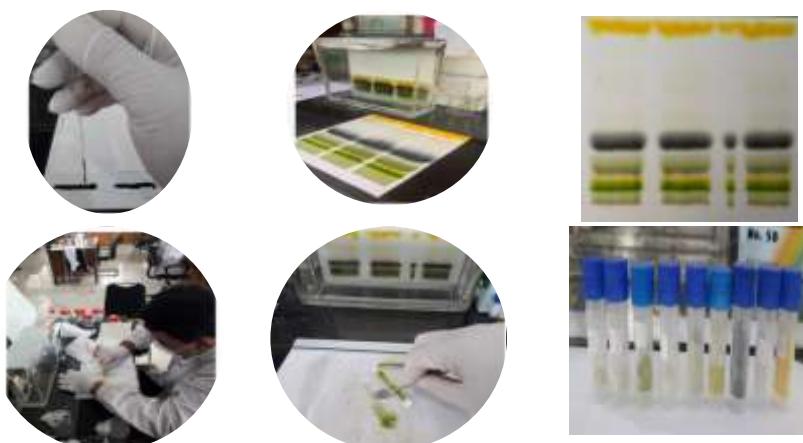
Gambar 2. Ekstrak kental bubuk simplisia daun kacapiring

Rendemen fraksi non polar

Rendemen fraksi non polar diperoleh sebanyak 7,46%. Heksan dipilih sebagai pelarut non polar untuk fraksinasi cair-cair karena heksan lebih baik aktivitasnya dalam menarik fraksi yang bersifat non polar dibandingkan dengan petroleum eter dan etanol serta memiliki kestabilan rendemen, termasuk senyawa targetnya adalah beta karoten yang bersifat larut dalam pelarut non polar.

Hasil pemisahan dengan Thin Layer Chromatography Preparatif

Thin-layer chromatography (TLC) digunakan secara luas untuk deteksi awal jumlah dan jenis pigmen alami pada sampel [10]. Pemisahan fraksi non polar ekstrak etanol daun kacapiring dilakukan dengan perbandingan fase gerak petroleum eter, aseton dan n-propanol (85:15:0,45), sehingga mampu memisahkan dengan baik senyawa pada fraksi yang bersifat non polar. Fraksi non polar yang dielusikan dengan sistem penotolan satu titik dan KLTp 2 cm (Gambar 3), menunjukkan bahwa senyawa fraksi non polar terpisah dengan jarak rambatan yang sama. Demikian pula dengan proses KLTp tampak bahwa pemisahan senyawa terisolasi dengan baik selama 90 menit pada jarak rambatan 18 cm menghasilkan pola pemisahan yang mudah untuk dipisahkan secara visual dengan terbentuknya warna yang bervariasi, terutama senyawa beta karoten pada fraksi ke- 9. Nilai *retardation factor* (*Rf*) senyawa target (fraksi F9) sebagai beta karoten, dengan karakter warna orange dan pemisahan yang sangat jelas. Hasil isolat beta karoten ini masih tercampur dengan serbuk fase padat, sehingga perlu dilarutkan, disaring dan diuapkan hingga memperoleh isolat murni. Hasil pemisahan memperoleh rata-rata berat 0,0243 g (6,28%). Penyimpanan karotenoid harus dilakukan di tempat gelap, kondisi vakum dan suhu -20°C, dan lebih baik dalam bentuk kristalisasi.



Gambar 3. Isolasi beta karoten menggunakan KLT preparatif

Tabel 2. Hasil Isolasi Senyawa Beta Karoten Setelah Diuapkan

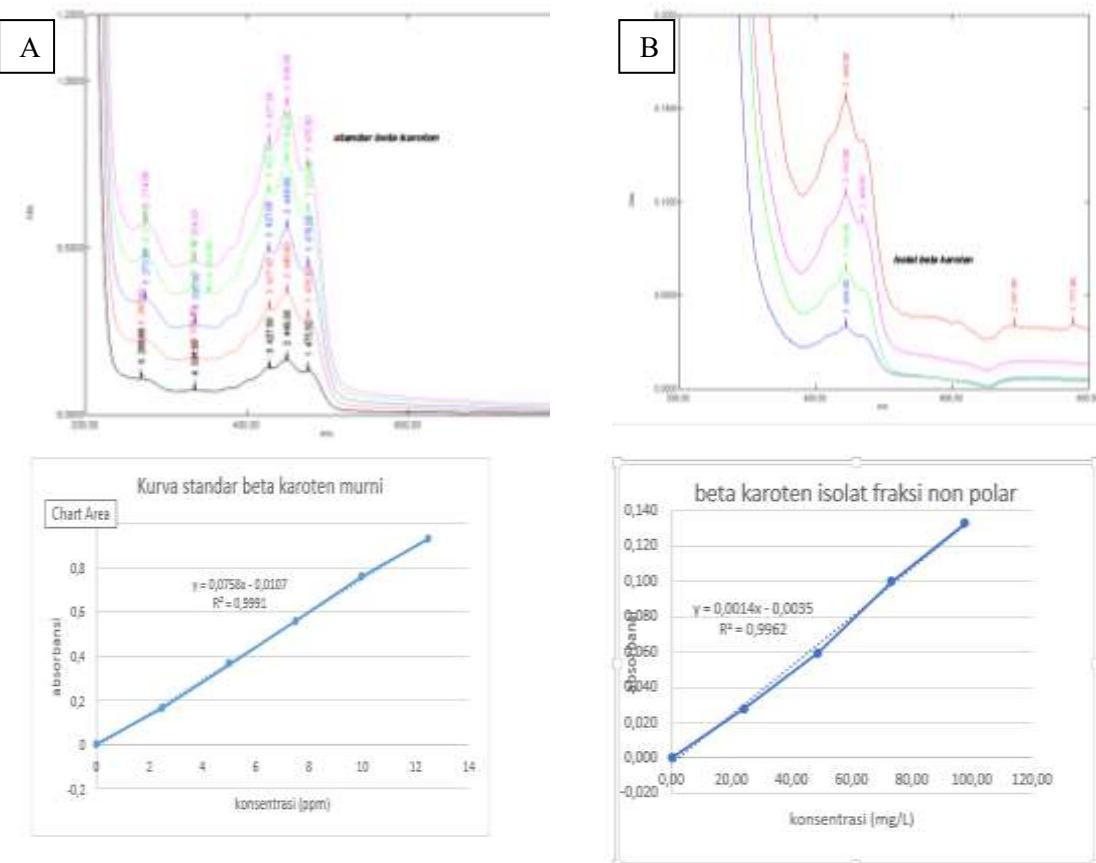
Ulangan	Isolat beta karoten hasil TLC g
U1	0,0231
U2	0,0255
U3	0,0244
Rata-Rata	0,0243
SD	0,0011

Enkapsulasi isolat beta karoten

Enkapsulasi bertujuan untuk menyalurkan senyawa aktif untuk mencegah kerusakan dan memperpanjang umur simpan. Komposisi bahan enkapsulan terdiri dari maltodekstrin 2,5 g, tween 80 sebanyak 0,5 ml serta aquades 50 ml, diaduk hingga homogen menggunakan stirer selama 1 jam, dikeringkan 24 jam. Hasil menunjukkan bahwa isolat dalam bentuk tablet menggunakan *press hydraulic* dengan berat 0,05 g, yang kemudian dilanjutkan dengan pelarutan menggunakan metanol.

Scanning panjang gelombang maksimum dan pembuatan kurva standar

Scanning dilakukan untuk mengamati pola spektrum sampel dan target enkapsulan isolat dibandingkan dengan standar murni beta karoten. Hasil menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum 450 nm untuk karoten murni dan 444,5 nm untuk enkapsulan. Hal ini kemungkinan oleh senyawa terkoleksi bukan tunggal, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang maksimum ke arah kiri (hipsokromik). Panjang gelombang maksimum pada *Gracilaria sp.* (449 nm) [11], demikian juga pada alga laut dalam hexane (449 nm) [12]. Ekstrak buah pandan dengan aseton (476 nm sedangkan pada pelarut etanol 481 nm [13], karoten dalam aseton memiliki panjang gelombang maksimum 454 nm [14]. Panjang gelombang beta karoten pada heksan (425, 450 dan 477 nm), pada etanol (427, 449, 475 nm), sedangkan pada petroleum eter 425,448,475 nm [1]. Meskipun demikian tampak bahwa isolat beta karoten fraksi non polar daun kacapiring , menunjukkan profil spektrum tunggal yaitu beta karoten. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat beta karoten yang ditambahkan ke bahan enkapsulan dan dalam sediaan tablet 0,05 g mengandung konsentrasi beta karoten 0,97%. Sehingga pengamatan kurva standar dibuat pada rentang 24,38-



Gambar 4. Spektrum dan kurva standar beta karoten murni (A) dan enkapsulan (B)

97,53 ppm, berbeda dengan beta karoten murni untuk memperoleh ideal nilai absorbansi sesuai persamaan hukum *Lambert Beer* pada konsentrasi 2,5-12,5 ppm (Gambar 8).

4. KESIMPULAN

Standar beta karoten murni pada konsentrasi 2,5-12,5 ppm, sedangkan isolat dalam enkapsulan dibuat pada konsentrasi 24,38-97,53 ppm menghasilkan kurva regresi yang baik. Hasil enkapsulan isolat beta karoten dapat dikembangkan sebagai produk pangan fungsional, nutraceuticalal dan farmaceutikal setelah melewati uji pra klinis.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih atas dana hibah penelitian Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) tahun 2024 kepada

LPPM Universitas Udayana, dari DIPA PNBP, sesuai Surat Perjanjian Nomor : B/255.349/UN14.4.A/PT.01.03/2024.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Butnariu, M. 2016. Methods of Analysis (Extraction, Separation, Identification and Quantification) of Carotenoids from Natural Products. J Ecosys Ecograph 6: 193. doi:10.4172/2157-7625.1000193
- [2] Palupi, N. W., P. K. Setiadi, dan S. Yuwanti. 2014. Enkapsulasi Cabai Merah dengan Teknik Coacervation Menggunakan Alginat yang Disubtitusi dengan Tapioka Terfotooksidasi. Jurnal Aplikasi Teknologi pangan 3 (3) : 1-5.
- [3] Nasrullah, F. 2010. Pengaruh Komposisi Bahan Pengkapsul Terhadap Kualitas Mikrokapsul Oleoresin Lada Hitam (*Piper nigrum*

- L.). Skripsi. Tidak dipublikasikan. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [4] Naufalin, R., Tobari, H. S. Rukmini. 2012. Karakterisasi Nanoenkapsulan Buah Kecombrang (*Nicolaia speciosa*). Jakarta.
- [5] Gusdinar, T., M. Singgih, S. Priatni, A. E. dan Sukmawati. 2011. Enkapsulasi dan stabilitas pigmen karotenoid dari neurospora intermedia n-1. Jurnal manusia dan lingkungan 18(3) : 206-211.
- [6] Wartini, N. M. dan Ganda-Putra. G. P. 2016. Pemanfaatan Buah Pandan Pewarna (*Pandanus tectorius*) Menjadi Pewarna Pangan Alami. Laporan Akhir Hibah Riset Invensif Udayana. Universitas Udayana, Bali.
- [7] Yogaswara, I.B. Wartini, N.M., Wrasiati, L.P. 2017. Karakteristik Enkapsulat Ekstrak Pewarna Buah Pandan (*Pandanus tectorius*) pada Perlakuan Enkapsulan Gelatin dan Maltodekstrin. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri ISSN : 2503-488X, Vol. 5, No. 4, Desember 2017 (31-40).
- [8] Chew, K.K. Ng, SY. Khoo, M.Z.Wan Aida, W.M. Ho, C.W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella astalica* extracts. Int. Food Res. K J. 18, 571-578.
- [9] Bucar, F. Wube, A. Schmid, M. 2013. Natural product isolation how to get from biological material to pure compounds. Nat. Prod. Rep. 1. 525-545.
- [10] Nollet, L.M.L. 2004. *Handbook of Food Analysis Vol.1*. Second Edition, Revised and Expanded. Physical Characterizatiion and Nutrient Analysis. New York. Marcel Dekker. Inc.
- [11] Ahmad, A.L., Chan,C.Y., Abd Shukor, S.R., Mashitah, M.D. and Sunarti, A.R. 2009. Isolation of carotenes from palm oil mill effluent and its use as a source of carotenes, Desalination and Water Treatment. 7:1-3, 251-256, DOI: 10.5004/dwt.2009.707.
- [12] Kavalappaa, Y.P. Rudresha, D.U. Gopala, S.S. Shivarudrappa, A.H. Stephen, N.M. Rangiah, K. Ponesakkia,G. 2019. Beta carotene isolated from the marine red alga, *Gracillaria sp.* potently attenuates the growth of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells by modulating multiple molecular pathways. Journal of Functional Foods 52.165–176.
- [13] Purnomo,T.A.B., Kurniawan, Y.S., Kesuma, R.F., Yuliati, L. 2020. Selection of maceration solvent for natural pigment extraction from red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) Indonesia. J. Nat. Pigm., Vol. 02, No. 1 (2020), 8–12.
- [14] Hiyama, T., Nishimura, M., Chance, B. 1969. Determination of carotenes by thin layer chromatography, Biochem, 29: 339-342.