

PENGUNAAN INSTRUMEN *HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* SEBAGAI METODE PENENTUAN KADAR KAPSAISIN PADA BUMBU MASAK KEMASAN “BUMBU MARINADE AYAM SPECIAL” MEREK SASA

Arif Satria Wira Kusuma, Raisha Metantryana Hajar Ismanto

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor 45363 Telp. 022 7996200
Fax. 0227796200 Sumedang-Indonesia

ABSTRAK

Instrumen *High-Performance Liquid Chromatography* dapat digunakan dalam proses penentuan kadar kapsaisin dalam “Bumbu Marinade Ayam Special” merek Sasa. Bumbu rempah yang sering digunakan dalam *seasoning* umumnya memiliki rasa pedas yang berasal dari kapsaisin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengukur secara kuantitatif kadar kapsaisin yang terkandung dalam bumbu masak instan yang diperoleh dari toko swalayan, digunakan merek Sasa sebagai pembandingan standar kapsaisin yang digunakan dengan gradien konsentrasi. metode yang digunakan menggunakan prinsip “*Like Dissolve Like*” dan ekstraksi sampel menggunakan kloroform untuk mengikat kapsaisin dari bumbu instan. Pada instrumen, waktu *running* alat dipilih pada panjang gelombang 227nm dan 281nm serta gradien konsentrasi dari standar dan ekstraknya (1ppm, 2ppm, 5ppm, 10ppm, 20ppm, 40ppm). Hasil menunjukkan bahwa kapsaisin yang terkandung di dalam ekstrak mengandung nilai AUC yang lebih tinggi pada 271nm dibanding 281nm. Ditemukan konsentrasi kapsaisin sejumlah 0,9905ppm pada panjang gelombang 227nm dan 3,0872ppm pada panjang gelombang 281nm.

Kata kunci : High Permonface Liquid Chromatography, Kapsaisin

ABSTRACT

Determining capsaicin content in “Bumbu Marinade Ayam Special” brand Sasa has been developed using High-Performance Liquid Chromatography instrument. The spices that used in seasoning usually has spicy flavour come from capsaicin. In order to know quantitatively how much capsaicin contain in the instant seasoning spices from market, it used brand Sasa as comparison with the standard capsaicin with gradient concentration. The method using “Like-Dissolve-Like” principle and using extraction method with chloroform to bound the capsaicin from the spices. In the instrument, it chosen running time from 10-15 minutes with lambda 227nm and 281nm and capsaicin gradient concentration from standard and extract itself (1ppm, 2ppm, 5ppm, 10ppm, 20ppm, 40ppm). The result show that capsaicin contain in the extract shows higher AUC value at 271nm than 281nm. It found capsaicin concentration 0,9905ppm at lambda 227nm and 3,0872ppm at lambda 281nm.

Keywords: High Permonface Liquid Chromatography, Capsaicin

PENDAHULUAN

Sebagai masyarakat Indonesia, cabai merupakan salahsatu komponen yang seringkali ditambahkan sebagai penambah

citarasa pada makanan yang dibuat, terutama pada makanan yang memiliki rasa pedas. Di dalam cabai dan beberapa rempah-rempah yang ada di muka bumi ini,

terdapat suatu senyawa kimia yang berperan dalam menciptakan rasa pedas tersebut, yaitu kapsaisin.

Kapsaisin memiliki asam amida dari vanilinamin dan asam lemak pada cabang karbon ke 9 dan 11. Dimana 69% kapsaisin memiliki efek untuk menstimulasi pertumbuhan rambut [1].

Kapsaisin merupakan suatu komponen aktif yang umumnya terdapat di dalam cabai yang menghasilkan panas. Kapsaisin bersifat iritan terhadap mamalia termasuk manusia, dan senyawa ini akan menimbulkan sensasi terbakar pada jaringan manapun yang mengalami paparan. Cabai juga mengandung minyak atsiri berupa capsicol [2].

Dalam bidang farmasi kapsaisin telah digunakan untuk meringankan rasa nyeri dan pegal serta memiliki aktivitas antikanker [2].

Pada dasarnya HPLC merupakan perkembangan dari metode kromatografi kolom. HPLC mengizinkan penggunaan partikel dengan ukuran yang sangat kecil dengan luas permukaan yang lebih besar sehingga interaksi akan semakin besar. Hal

ini akan membuat sistem pemisahan akan semakin baik [3].

Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran [4].

METODE

Sampel

Untuk mencapai tujuan analisis maka digunakan sampel bumbu masak dalam kemasan “bumbu marinade ayam special” merek SASA 40 gram dengan kode produksi 1 yang dibeli dari minimarket Indomaret Jl. Cileunyi no.700 RT01/RW05, Kabupaten Bandung 40393 dengan letak koordinat BS 6°56'32.7228" dan BT107°45'3.33".

Peralatan

Peralatan yang digunakan berupa botol vial, seperangkat alat dan kolom HPLC (DIONEX® ultimate 3000), mikropipet, beaker glass, pipet, pipet ukur,

alat gelas, kertas perkamen, kertas saring, neraca analitik, sentrifugator, tabung eppendorf dan tabung sentrifugasi serta sonikator.

Bahan

Bahan yang digunakan berupa Aquadest, Kloroform, Metanol.

Cara Kerja

Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dengan menyiapkan 5 labu ukur berukuran 10mL dan masing-masing diberi label konsentrasi larutan baku kapsaisin yang akan dibuat yaitu sebesar 1ppm, 2ppm, 5ppm, 10ppm, 20ppm dan 40ppm. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan baku kapsaisin dengan varian konsentrasi yang ada (dengan pengenceran) ke dalam masing-masing labu ukur 10ml menggunakan metanol air 7:3 dan di ad 10mL, dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dilakukan injeksi pada alat HPLC dan kromatogram disimpan sebagai rekap data. Pengukuran dilakukan sebanyak triplo dan dilakukan perekaman grafik hasil pengukuran menggunakan komputer dengan software yang telah

tersedia pada panjang gelombang 227 dan 281nm.

Selanjutnya dibuat kurva baku dan didapatkan persamaan garis dan nilai R^2 .

Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan menggerus sampel didalam mortir hingga berbentuk serbuk halus, kemudian dilakukan penimbangan sebanyak 1 gram ke dalam perkamen dan dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan kloroform sebanyak 8mL. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 3000rpm selama 15 menit, supernatan disaring dan dimasukkan ke dalam botol vial, dikeringkan hingga seluruh kloroform menguap.

Selanjutnya dilakukan penambahan metanol sebanyak 2mL, dan dilakukan sonikasi selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tabung eppendorf, dan dilakukan lagi sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000rpm. Supernatan diambil menggunakan mikropipet sebanyak 10 μ L dan dicampurkan dengan menggunakan

metanol:air 7:3 sebanyak 990 μ L, kemudian divortex.

Pengukuran Konsentrasi Sampel

Disiapkan kolom HPLC. Kolom dimasukkan ke dalam wadah sampel pada instrumen, instrumen dinyalakan dan dipilih metode analisis dengan waktu running sekitar 10-15menit. Sampel yang telah divortex diinjeksikan ke dalam alat HPLC kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 227nm dan 281nm. Dihasilkan kromatogram yang kemudian dianalisis hingga ditemukan konsentrasi kapsaisin dalam sampel yang diperoleh.

HASIL DAN DISKUSI

Penggerusan sampel di dalam mortir dilakukan untuk mengekstrak kapsaisin yang terkandung dalam sampel agar mudah untuk dipisahkan karena akan berkontak dengan kloroform untuk ditarik menjadi lebih mudah sehubungan dengan luas permukaan yang lebih besar.

Penarikan kapsaisin menggunakan kloroform menggunakan prinsip “Like Dissolve Like” karena kloroform yang bersifat nonpolar akan lebih mudah menarik kapsaisin yang bersifat non polar juga.

Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan kapsaisin yang terlarut dalam kloroform dari matriksnya yang tidak terlarut.

Sampel dikeringkan dari kloroform untuk mendapatkan ekstrak kapsaisin murni yang kemudian akan dilarutkan menggunakan metanol dan dilakukan sonikasi untuk mendapatkan hasil pemecahan dari partikel kapsaisin dan partikel lainnya yang kemungkinan masih terbawa.

Sentrifugasi dilakukan kembali untuk mengambil kapsaisin yang benar-benar murni dan dicampurkan dengan metanol dan air untuk mengencerkan dan melarutkan kapsaisin tersebut.

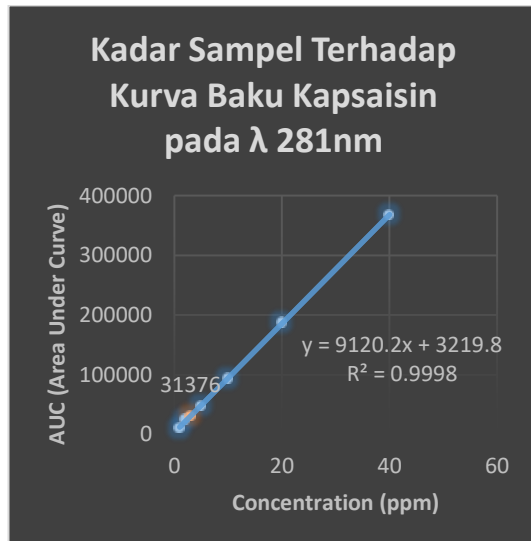
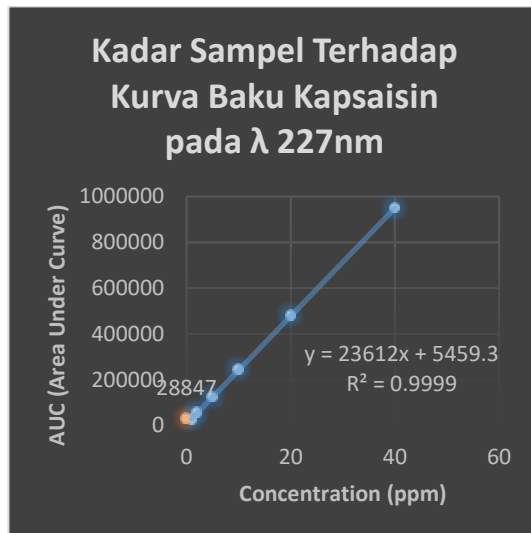
Hasil pengukuran baku dan sampel dapat diketahui dari nilai pada absorbansi 227 dan 281nm sebagai berikut:

1. Panjang gelombang 271nm

konsentrasi	AUC
1	25119
2	55718
5	122369
10	242640
20	480063
40	948584

2. Panjang gelombang 281nm

konsentrasi	AUC
1	10124
2	24741
5	47934
10	93263
20	187000
40	367630



Dari hasil pengukuran pada masing-masing gelombang didapatkan persamaan sebagai berikut :

271nm

$$Y = 23612X + 5459,3$$

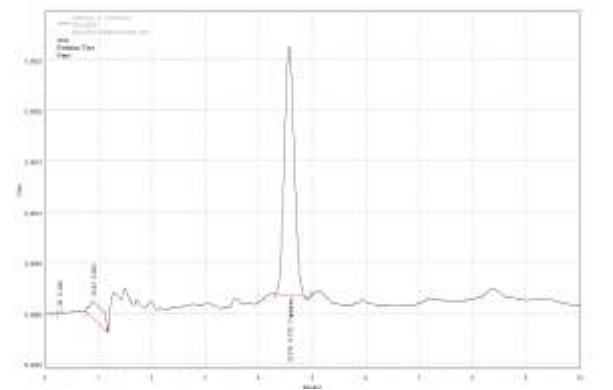
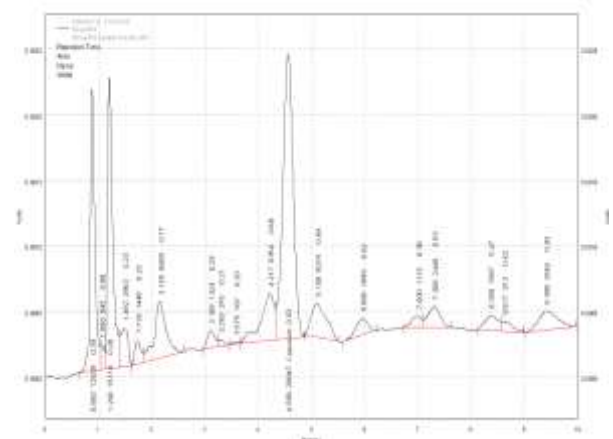
$$R^2 = 0,9999$$

281nm

$$Y = 9120,2X + 3219,8$$

$$R^2 = 0,9998$$

Hasil menunjukkan bahwa kurva baku telah memenuhi persamaan Hukum Lambert Beer, sehingga dapat dijamin akurasi dan presisi hasil pengukuran sampel. Dari persamaan tersebut diketahui sampel memiliki respon AUC sebesar 227nm; 28847, dan 281nm; 31376



Sehingga bila dimasukkan ke dalam persamaan pada kurva baku maka didapatkan konsentrasi kapsaisin pada gelombang 227nm sebesar 0,9905ppm dan pada 281nm sebesar 3,0872ppm.

SIMPULAN

Telah dihitung kadar kapsaisin menggunakan instrumen KCKT atau HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) pada bumbu masak dalam kemasan merek Sasa sebesar 0,9905ppm pada panjang gelombang 227nm dan 3,0872ppm pada panjang gelombang 281nm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Govindarajan VS. Capsicum production, technology, chemistry, and quality. Part III. Chemistry of the color, aroma, and pungency stimuli. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1986; 24: 245-355.
- [2]. Surh. 2002. "More than spice: capsaicin in hot chili peppers makes tumor cells commit suicide", *J. Natl. Cancer Inst.* 94: 1263–1265.
- [3]. Clark, Jim. 2007. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC). Available online at http://www.chemistry.org/materi_kimia/instrumen_analisis/kromatografi1/kromatografi_cair_kinerja_tinggi_hplc/ [Diakses pada tanggal: 9 Desember 2014].
- [4]. Hendayana, Sumar. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Rosdakarya Offset